



spitäler schaffhausen

Opioid-Free Anesthesia: Physico Chemical Stability Studies on Multi- Analyte Mixtures Intended for Use in Clinical Anesthesiology

Diplomarbeit

zur Erlangung des Fachtitels FPH in Spitalpharmazie

von Larissa Schenkel

Schaffhausen, Januar 2022

Betreuer:

Irene Vogel Kahmann, Spitäler Schaffhausen
Dr. Christian Steuer, ETH Zürich

Verantwortliche Weiterbildnerin:

Irene Vogel Kahmann, Spitäler Schaffhausen

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung.....	3
2. Einführung/Hintergrund.....	4
2.1 Opioidfreie Anästhesie (OFA) an den Spitälern Schaffhausen.....	4
2.2 Risiken der Parenteralia-Zubereitung und Vorteile der zentralisierten Herstellung durch die Spitalapotheke	5
2.3 Notwendigkeit von Stabilitätsdaten	5
3. Durchführung der Stabilitätsstudie: Persönlicher Beitrag	6
4. Diskussion/Reflexion	7
5. Nutzen dieser Arbeit und Ausblick	8
6. Literaturverzeichnis	9
7. Anhänge.....	11

1. Zusammenfassung

Hintergrund

In den letzten Jahren hat die opioidfreie Anästhesie (OFA) zunehmend an Bedeutung gewonnen. Im Rahmen der OFA werden anstelle von Opioiden verschiedene andere Medikamente eingesetzt, um eine adäquate Analgesie und vegetative Stabilität zu erreichen. Auch an den Spitälern Schaffhausen findet die OFA zunehmend Anwendung. Während die Substanzen bei kürzeren Eingriffen primär separat (als Kurzinfusionen) verabreicht werden, werden die Substanzen Lidocain, Ketamin, Dexmedetomidin (und ggf. Magnesium) bei längeren Prozeduren gemeinsam als Mischung via Perfusor appliziert. Da die Patienten meist mehrere intravenöse Medikamente gleichzeitig erhalten/benötigen, stellt das Mischen von Lösungen bzw. die parallele Verabreichung von Parenteralia über dasselbe Katheterlumen im Praxisalltag eine wesentliche Vereinfachung dar. Durch eine zentralisierte Herstellung von Mischungen der oben genannten Substanzen in der Spitalapotheke könnte die Anästhesie entlastet und die Arzneimittel- bzw. Patientensicherheit erhöht werden.

Ziel

Bis anhin existieren in der Literatur keine Daten bezüglich Stabilität und Kompatibilität einer Mischung der vier Substanzen Lidocain, Ketamin, Dexmedetomidin und Magnesium. Ziel dieser Arbeit war es, die physikalisch-chemische Stabilität bzw. Kompatibilität verschiedener Mischungen definierter Konzentrationen über einen Zeitraum von mindestens acht Wochen bei verschiedenen Lagerbedingungen (Kühlschrank / Raumtemperatur und Lichtschutz / Raumtemperatur und Lichteinfluss) zu untersuchen.

Methode

Für die quantitative Bestimmung der Substanzen Lidocain, Ketamin und Dexmedetomidin wurde eine Ultra-Hochleistungs-Reversed-Phase-Flüssigkeitschromatographie-Methode, gekoppelt mit massenspektrometrischer Detektion (UPLC/MS), entwickelt und validiert. Die Quantifizierung von Magnesium erfolgte mittels potentiometrischer Titration.

Resultate

Im Rahmen der quantitativen Bestimmung (UPLC/MS) von Lidocain, Ketamin und Dexmedetomidin konnte bei keiner der untersuchten Mischungen eine kontinuierliche bzw. signifikante Abnahme der Konzentration über den gesamten Untersuchungszeitraum verzeichnet werden. Zudem liegen am letzten Untersuchungstag alle Mittelwerte oberhalb des Grenzwerts von 90% verglichen mit der Anfangskonzentration. Auch die Magnesium-Konzentration blieb über den Untersuchungszeitraum stabil. Die Resultate dieser Arbeit lassen damit auf die Stabilität bzw. Kompatibilität von Zweifach-, Dreifach- oder Vierfachmischungen der genannten Substanzen in 0.9%iger Natriumchlorid-Lösung bei verschiedenen Lagerbedingungen über den gesamten Untersuchungszeitraum schliessen.

Fazit

Die Resultate dieser Arbeit erlauben es, die Substanzen künftig in einer Mischung zu verabreichen. Zudem können die untersuchten Mischungen nun durch qualifiziertes Personal in der Spitalapotheke "auf Vorrat" bzw. im Vorfeld geplanter Operationen zubereitet werden. Dies führt zu einer Entlastung der Anästhesisten sowie zu einer erhöhten Medikations- und Patientensicherheit.

2. Einführung/Hintergrund

2.1 Opioidfreie Anästhesie (OFA) an den Spitälern Schaffhausen

Beim multimodalen Konzept der OFA werden additive und/oder synergistische Effekte von zwei oder mehreren Wirkstoffen genutzt, um die bekannten opioidbedingten unerwünschten Arzneimittelwirkungen zu umgehen und gleichzeitig eine adäquate Analgesie und Narkose zu gewährleisten [1, 2]. Daneben werden Vorteile wie ein geringerer postoperativer Opioid-Gebrauch, verbesserte postoperative Erholung ("enhanced recovery") und eine verbesserte postoperative Analgesie durch Vermeidung einer möglichen opioidinduzierten Hyperalgesie beschrieben [3, 4].

Für die Abdominalchirurgie konnte bisher am eindeutigsten gezeigt werden, dass durch den intraoperativen Einsatz von Lidocain sowohl die postoperativen Schmerz-Scores als auch der postoperative Opioidgebrauch gesenkt werden können [5]. Aus diesem Grund wird die OFA an den Spitälern Schaffhausen primär im Rahmen von abdominellen Eingriffen eingesetzt. Die OFA findet an den Spitälern Schaffhausen zudem bei Patienten mit obstruktiven Lungenerkrankungen (z.B. COPD) sowie generell bei adipösen Patienten Anwendung. Als ungeeignet für die OFA gelten hingegen kardial vorbelastete Patienten (z.B. Patienten mit höhergradigem AV-Block oder orthostatischer Hypotonie) [6].

In der Literatur werden diverse unterschiedliche Schemata bzw. Protokolle für die OFA beschrieben [6-8]. An den Spitälern Schaffhausen existieren zwei verschiedene Schemata für kurze und lange Eingriffe. Der "OFA-Mix" - bestehend aus den Substanzen Lidocain, Ketamin und Dexmedetomidin - kommt primär bei längeren Operationen zum Einsatz (vgl. Tabelle 1). Die Zusammensetzung des "OFA-Mix" basiert auf dem von Dr. Jan Mulier (Belgien) beschriebenen "Mulimix" [9].

Die Dosierung der "OFA-Medikamente" erfolgt nach Grösse und Gewicht des Patienten. Als Hilfestellung steht ein Excel-File zur Verfügung, mit welchem die Dosierungen automatisch berechnet werden können. Nebst Dexmedetomidin, Ketamin, Lidocain (und Magnesium) werden analog zu den konventionellen opioidbasierten Verfahren die üblichen Basis-Analgetika (Paracetamol, Metamizol, Diclofenac) und Antiemetika (Dexamethason, Ondansetron) eingesetzt. Postoperativ erfolgt die Schmerztherapie gemäss dem hausinternen Schmerz-Konzept bzw. nach dem WHO-Stufenschema. Folglich können bzw. sollen auch bei der OFA postoperativ Opioide zum Einsatz kommen, wenn diese benötigt werden.

Tabelle 1: Schema "OFA-Mix" (lange Operationen)

Vorbereitung	<ul style="list-style-type: none">- 1 x 10ml-Spritze mit Dexmedetomidin 10µg/ml (Verdünnung mit NaCl 0.9%)- 1 x 5ml-Spritze mit Ketamin 10mg/ml, 1 x 10ml-Spritze mit Lidocain 10mg/ml- 1 x Magnesiumsulfat in 100ml NaCl 0.9%- "OFA-Mix": 50ml Perfusor mit Dexmedetomidin 1µg/ml, Ketamin 1mg/ml und Lidocain 10mg/ml
Prämedikation	<ul style="list-style-type: none">- Fraktionierte Gabe von ca. 0.5mcg/kg Dexmedetomidin und ca. 1mg/kg Lidocain i.v. über 5-10min- 2-minütliche Blutdruckmessung ab der ersten Gabe
Einleitung	<ul style="list-style-type: none">- Propofol: Gabe als Bolus oder mittels Perfusor- Sobald Patient schläft: Muskelrelaxierung mit Rocuronium + Ketamin-Bolus (ca. 0.5mg/kg)
Nach Einleitung	<ul style="list-style-type: none">- 30mg/kg Magnesiumsulfat als Kurzinfusion (in 100ml NaCl 0.9%)- "OFA-Mix": via Perfusor- Narkoseunterhalt: mittels Propofol oder Desfluran- Dexmedetomidin bolusweise (10µg) falls inadäquate Sympathikolyse- Korrektur einer übermässigen Sympathikolyse mittels Ephedrin-Boli- Ketamin bolusweise falls inadäquate Analgesie- Vor Schnitt: Paracetamol 1g und Diclofenac 75mg als Kurzinfusion- PONV-Prophylaxe: mit 8mg Dexamethason i.v.
Vor Naht	<ul style="list-style-type: none">- OFA-Mix: Reduktion der Laufrate- PONV-Prophylaxe: mittels Ondansetron 4mg langsam i.v.- Metamizol 1-2g als Kurzinfusion
Aufwachraum	<ul style="list-style-type: none">- Ausschleichen "OFA-Mix", Stopp 30min vor Verlegung auf Normalstation

2.2 Risiken der Parenteralia-Zubereitung und Vorteile der zentralisierten Herstellung durch die Spitalapotheke

Der Umgang mit Parenteralia ist komplex und fehleranfällig. Daher gelten Parenteralia und insbesondere Opioide/Narkotika als Hochrisikomedikamente [10]. Gerade in der Anästhesie wird die Mehrheit der Medikamente intravenös verabreicht. Oftmals müssen Ärzte/Pflegende unter Zeitdruck und ohne "Doppel-Kontrolle" potente Arzneimittel mit enger therapeutischer Breite verabreichen. Deshalb ist es naheliegend, dass das Risiko für Medikationsfehler insbesondere in der Anästhesie hoch ist [11]. So konnte in einer Untersuchung gezeigt werden, dass bei diversen Infusionslösungen, welche auf der Anästhesie hergestellt wurden, teilweise hohe Diskrepanzen zwischen den verordneten und den tatsächlichen Wirkstoffkonzentrationen existieren [12].

In vielen Spitätern werden Parenteralia zentralisiert in der Spitalapotheke als vorgefertigte Lösungen ("ready to use") hergestellt/zubereitet. In der Spitalapotheke können qualitativ hochstehende Herstellungs-/Zubereitungsprozesse gewährleistet werden, zumal die Produktion durch qualifiziertes Personal und unter Einhaltung der notwendigen hygienischen Bedingungen (kontrollierte Arbeitsumgebung) und des Vier-Augen-Prinzips erfolgt. Zudem werden die gesamten Arbeitsschritte dokumentiert und sind somit stets nachvollziehbar. Des Weiteren führt die zentralisierte Herstellung in der Spitalpharmazie zu einer Entlastung der Ärzteschaft bzw. des Pflegepersonals und gewährleistet letztendlich eine erhöhte Arzneimittel- und Patientensicherheit. So zeigten mehrere Untersuchungen eine geringere Fehlerquote (Dosierungsfehler, Fehler in der Zusammensetzung etc.) bei Zubereitung von Parenteralia durch pharmazeutisches Personal verglichen mit der Zubereitung durch Pflegekräfte [13]. Die Bereitstellung von ready to use - Formulierungen trägt zudem wesentlich zur Standardisierung von Behandlungen bei.

Diese Aspekte machen den Vorteil einer zentralisierten Herstellung der OFA-Mischungen (ob defektur- oder rezepturmässig) durch die Spitalapotheke deutlich. Gleichwohl muss hervorgehoben werden, dass die Eigenherstellung von Formula-Arzneimitteln durch die Spitalpharmazie mit einem grossen administrativen, personellen und finanziellen Aufwand verbunden ist. Insbesondere im Bereich der Sterilherstellung sind die Anforderungen an die Räumlichkeiten und Prozesse sowie an das Qualitätssicherungssystem enorm [14]. Aus diesen Gründen müssen die Vor- und Nachteile für jedes Präparat individuell geprüft bzw. gegeneinander abgewogen werden. Zur Evaluation, ob sich eine Produktion durch die Spitalpharmazie tatsächlich lohnt bzw. anbietet, könnte das von Martignoni (HUG) entwickelte "Entscheidungs-Tool" [15] als Hilfestellung herangezogen werden.

2.3 Notwendigkeit von Stabilitätsdaten

Grundvoraussetzung für die Gewährleistung der Wirksamkeit sowie der Arzneimittel- und Patientensicherheit stellt bei Parenteralia die Stabilität der pharmazeutischen Zubereitung bzw. die Kompatibilität verschiedener Wirk- oder Hilfsstoffen untereinander dar [16]. Der Gebrauch von instabilen oder inkompatiblen Infusionslösungen kann weitreichende Folgen für den Patienten haben, wobei diese von einem Therapieversagen über eine Thrombophlebitis bis hin zu einem Multiorganversagen reichen können [17].

Bei der zentralisierten Herstellung durch die Spitalapotheke muss diese folglich sicherstellen, dass die hergestellten Präparate vom Zeitpunkt der Herstellung über die gesamte Lagerzeit bis hin zum Zeitpunkt der Verabreichung stabil bleiben und ihre Eigenschaften aufrechterhalten [18].

Eine Instabilität eines Arzneistoffs kann durch verschiedene Faktoren hervorgerufen werden. So können chemische, physikalische oder mikrobiologische Veränderungen für die Instabilität einer Substanz verantwortlich sein. Zu den häufigsten chemischen Veränderungen gehören hydrolytische Reaktionen und Oxidationsreaktionen [19]. Bei flüssigen (und halbfesten) Arzneiformen kann sich die Instabilität zudem anhand physikalischer Phänomene wie das Auftreten von Trübung, Ausfällung, Schleierbildung, Viskositätsveränderung oder Phasentrennung bemerkbar machen. Zu einer Ausfällung kann es beispielsweise als Folge von pH-Verschiebungen oder einer Bildung von unlöslichen Salzen (Komplexierung) kommen [18]. Des Weiteren können Inhaltsstoffe Wechselwirkungen mit Verpackungsmaterialien eingehen und an deren Oberfläche-Strukturen anlagern (Sorptionsphänomene) [17]. Ferner kann es zu einer "Auswaschung" von Stoffen des Verpackungsmaterials kommen, was zu einer Instabilität oder gar Toxizität der Formulierung führen kann. Die Akkumulierung von "Leachables" und "Extractables" in pharmazeutischen Formulierungen wird insbesondere bei Fertigspritzen diskutiert bzw. als kritisch angesehen [20]. Nebst diesen Parametern hat auch die Temperatur einen wesentlichen Einfluss auf die Stabilität einer Zubereitung. Während eine Temperaturerhöhung Zersetzungreaktionen beschleunigen kann, kann eine Temperaturniedrigung eine Ausfällung induzieren [18]. Licht kann photochemische Reaktionen auslösen, was zu Wirkstoffverlusten sowie zur Entstehung schädlicher "Photoprodukte" führen kann [21].

Für die Pharmaindustrie stellen Stabilitätsprüfungen einen grundlegenden Teil der Zulassungsdokumente dar. Behördliche Anforderungen an Umfang und Inhalt von Stabilitätsprüfungen von Fertigarzneimitteln sind in den ICH-Leitlinien Q1A (R2) festgehalten [19]. Stabilitätsstudien, die von der pharmazeutischen Industrie durchgeführt werden, sind jedoch primär dazu bestimmt, die Zulassungsanforderungen zu erfüllen. Folglich sind die in der Fachinformation angegeben Stabilitätsdaten nach Verdünnung/Rekonstitution meist nur aus mikrobiologischen Gründen auf 24 Stunden beschränkt, unabhängig von der tatsächlichen chemischen Stabilität, die in vielen Fällen länger ist bzw. sein könnte [22]. Zudem gibt es auch hinsichtlich (In-)Kompatibilität in den meisten Fällen keine Angaben in der Fachinformation und die Pharmafirmen geben bei entsprechender Nachfrage meist nur sehr zurückhaltend Auskunft. Dies macht deutlich, dass die Leitlinien bzw. die Angaben in der Fachinformation nicht auf die Bedürfnisse der Spitalpharmazie bzw. des Klinikalltags ausgerichtet sind. Bei entsprechender Fragestellung müssen die Spitalpharmazeuten daher oft in einer weitergehenden Literaturrecherche nach entsprechenden Stabilitäts- und Kompatibilitätsdaten suchen. Existieren keine entsprechenden Daten, ist die Spitalpharmazie angehalten, selbst die benötigten Stabilitäts- bzw. Kompatibilitätsdaten zu generieren [23].

3. Durchführung der Stabilitätsstudie: Persönlicher Beitrag

Die Stabilitätsstudie wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Christian Steuer (Departement Chemie und angewandte Biowissenschaften) an der ETH Zürich durchgeführt. Herr Dr. Steuer stellte die Gerätschaften zur Verfügung und unterstützte die Weiterzubildende mit seinem Know-how. In einem ersten Schritt erfolgte der Versuch einer Methodenentwicklung mittels HPLC/UV. Da innerhalb des vorgesehenen Zeitraums jedoch keine befriedigenden Ergebnisse erzielt werden konnten, hat man sich im Verlauf entschieden, auf UPLC/MS zu wechseln. Mit diesem Verfahren wurde schliesslich die finale Methode entwickelt und validiert.

Die Weiterzubildende führte folgende Tätigkeiten durch:

- Literatursuche (z.B. Informationen/Stabilitätsdaten zu den einzelnen Wirkstoffen, Durchführung von Stabilitätsstudien, Leitlinien usw.)
- Überlegungen zur Durchführbarkeit der Stabilitätsstudie (z.B. benötigte Materialien)
- Methodenentwicklung und -validierung
- Definition der Messzeitpunkte, Lagerbedingungen, Untersuchungszeitraum etc.
- Zubereitung der Stock- und Referenzlösungen, Durchführung der Verdünnungsschritte, Messung der pH-Werte
- Arbeit mit/an den Geräten (HPLC/UV, UPLC/MS, pH-Meter)
- Auswertung der Resultate
- Verfassung des Papers

4. Diskussion/Reflexion

Eine Schwierigkeit bei dieser Stabilitätsuntersuchung war der grosse Unterschied zwischen den Konzentrationen der einzelnen Substanzen: Für Lidocain und Dexmedetomidin beträgt das Verhältnis 1:10'000 (10 mg/ml vs. 1 µg/ml). Um alle Substanzen mittels derselben Methode (UPLC/MS) detektieren zu können, musste ein zweistufiges Verdünnungsverfahren angewendet werden, was folglich ein Risiko für Ungenauigkeiten und Verdünnungsfehler mit sich bringt. Dies zeigt sich sowohl in den teils hohen Standardabweichungen im Rahmen der Methodenvalidierung ("intra- und interday precision") als auch in den Stabilitätsuntersuchungen (s. Tabelle 1 und 2 im Paper). Zudem streuen in den Stabilitätsuntersuchungen die Konzentrationen (Mittelwerte) der einzelnen Substanzen während des Untersuchungszeitraums teilweise bis zu $\pm 10\%$ um den Ausgangswert.

Wie die statistische Auswertung zeigt, weichen die Steigungen der Regressionslinien (Messzeitpunkte Tag 0 bis Tag 56 bzw. 148) bei allen Mischungen nicht signifikant von null ab (s. Abb. 1 im Paper bzw. Abb. S1 + S2 im Supplement). Somit kann eine starke Abnahme der Konzentrationen über den Untersuchungszeitraum ausgeschlossen werden. Aufgrund der grossen Standardabweichung und Streuung zwischen den einzelnen Messtagen ist es jedoch auch schwierig, einen geringen Trend erkennen zu können. Nichtsdestotrotz liegen alle Mittelwerte am letzten Untersuchungstag (Tag 56 bzw. Tag 148) über der 90%-Grenze im Vergleich zur Anfangskonzentration, was somit der Anforderung der Ph. Helv. entspricht [24]. Des Weiteren blieben auch die pH-Werte über den gesamten Messzeitraum konstant und auch in der visuellen Prüfung konnten keine Auffälligkeiten (Trübung, Niederschlag oder Verfärbung) festgestellt werden. Zudem wurde in anderen Studien die Stabilität der einzelnen Substanzen in wässrigen Lösungen sowie auch einzelner Zweierkombinationen bereits gezeigt (s. Paper). Diese Aspekte unterstreichen die Resultate dieser Studie.

Es sei hierbei erwähnt, dass es in der Literatur für Stabilitäts- bzw. Kompatibilitätsuntersuchungen ("stability indication methods") keine expliziten Empfehlungen bzw. Akzeptanzwerte für die Methodenvalidierung (Linearity, Accuracy, Precision) gibt. Folglich liegt die Festlegung der Akzeptanzwerte im Ermessensspielraum des Prüfers. Möglichkeiten, wie die Messunsicherheiten i.R. dieser Methode ggf. hätten verringert werden können, wären z.B. der Einsatz eines internen Standards sowie eine grössere Probenzahl ($n > 5$). Generell wäre eine Methode (ob mit UPLC/MS oder einem anderen Gerät, wie z.B. HPLC/UV) mit einer geringeren Streuung nötig und wünschenswert, um auch einen leichten Trend hinsichtlich eines möglichen Konzentrationsabfalls über den gewünschten Untersuchungszeitraum erkennen zu können.

Nebst der quantitativen Bestimmung der Analyten stellt die Untersuchung auf mögliche Abbauprodukte ein weiterer Bestandteil von Stabilitätsuntersuchungen dar [25]. Darauf wurde in dieser Arbeit jedoch verzichtet, da dies den Rahmen einer Diplomarbeit gesprengt hätte. Bis auf den pH-Wert und die visuelle Prüfung wurden in dieser Arbeit keine weiteren physikalischen Parameter (wie z.B. nicht sichtbare Partikel) untersucht. Dies ist im Rahmen von weitergehenden Prüfungen (z.B. anhand von Proben aus der Defektur) ergänzend zu prüfen, ebenso wie die Prüfung auf Sterilität (Sterilitätstests).

Wie bereits im Abschnitt 2.3 erwähnt, ist der Gebrauch von Fertigspritzen als Primärpackmittel aufgrund möglicher "Leachables" und "Extractables" nicht unumstritten. Die Verwendung von Fertigspritzen als Primärpackmittel ist im Vergleich zu Glas-Vials insofern vorteilhaft, dass keine Manipulationen (Aufziehen) durch das Pflegepersonal nötig sind. Dies erspart Zeit und senkt das Risiko für eine mikrobielle Kontamination. Da Untersuchungen auf mögliche "Leachables" und "Extractables" sowie deren toxikologische Bewertung schwierig und aufwendig ist, sind diese in der Regel nicht Gegenstand von Stabilitätsuntersuchungen. Somit müssen die Vor- und Nachteile der Packmittel in jedem Betrieb und für jedes Produkt individuell gegeneinander abgewogen werden. Im Rahmen dieser Arbeit entschied man sich aus den oben genannten Vorteilen für die Fertigspritzen als Primärpackmittel. Da nur ein geringes Volumen (50ml) einmalig verabreicht wird, wird das Risiko für eine toxikologische Wirkung durch mögliche "Leachables" und "Extractables" als gering eingeschätzt.

5. Nutzen dieser Arbeit und Ausblick

Diese Arbeit ist die erste und einzige, welche die vier Wirkstoffe Lidocain, Ketamin, Dexmedetomidin und Magnesium in einer Mischung hinsichtlich Stabilität und Kompatibilität untersucht. Aufgrund des weltweiten Einsatzes der OFA sind die Erkenntnisse dieser Arbeit nicht nur für die Spitäler Schaffhausen, sondern von internationalem Interesse.

Die Resultate dieser Arbeit ermöglichen es, die im Rahmen der OFA eingesetzten Substanzen Lidocain, Ketamin, Dexmedetomidin (und ggf. Magnesium) künftig als Mischung zu verabreichen. Zudem könnten die Mischungen in Zukunft auch als Fertigspritzen (Perfusor) durch die Spitalapotheke vorproduziert werden. Dies trägt wesentlich zu einem standardisierten Einsatz der OFA an den Spitälern SH bei. Obwohl bei den Lagerbedingungen (Raumtemperatur vs. Kühlschrank) keine signifikanten Unterschiede erkennbar sind, ist eine Lagerung im Kühlschrank aus mikrobiologischer Sicht zu bevorzugen. Eine Haltbarkeit von maximal vier Wochen wird als praktikabel und akzeptabel angesehen. Ergänzende Untersuchungen (z.B. Abbauprodukte, nicht-sichtbare Partikel) sowie die Entwicklung einer Methode mit geringerer Streuung sind wünschenswert, um die Resultate dieser Arbeit zu erhärten.

Durch eine zentralisierte Herstellung von gebräuchlichen Parenteralia in der Spitalpharmazie können die Anästhesisten entlastet und eine erhöhte Medikations- bzw. Patientensicherheit gewährleistet werden. Die Implementierung der in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse in die Praxis ist bis dato noch offen und mit den Anästhesisten zu diskutieren. Wird eine Herstellung durch die Spitalapotheke tatsächlich gewünscht/realisiert, müsste ergänzend zu dieser Arbeit sämtliche notwendige Dokumentation (Herstellvorschrift/-protokoll, Spezifikationen etc.) erstellt werden. Bei defektmässiger Produktion müsste zudem der Analysenaufwand risikobasiert festgelegt werden.

6. Literaturverzeichnis

- [1] Brown EN, Pavone KJ, Naranjo M. Multimodal General Anesthesia: Theory and Practice. *Anesth Analg.* 2018; 127:1246-1258.
- [2] Forget P. Opioid-free anaesthesia. Why and how? A contextual analysis. *Anaesth Crit Care Pain Med.* 2019; 38:169-172.
- [3] Lavand'homme P, Estebe JP. Opioid-free anesthesia: a different regard to anesthesia practice. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2018; 31:556-561.
- [4] Salomé A, Harkouk H, Fletcher D, Martinez V. Opioid-Free Anesthesia Benefit-Risk Balance: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Clin Med.* 2021; 10(10).
- [5] Swenson BR, Gottschalk A, Wells LT, Rowlingson JC, Thompson PW, Barclay M, Sawyer RG, Friel CM, Foley E, Durieux ME. Intravenous lidocaine is as effective as epidural bupivacaine in reducing ileus duration, hospital stay, and pain after open colon resection: a randomized clinical trial. *2010;* 35:370-376.
- [6] Mulier J. Opioid free general anesthesia: A paradigm shift? *Rev Esp Anestesiol Reanim.* 2017; 64:427-430.
- [7] Mauermann E, Ruppen W, Bandschapp O. Different protocols used today to achieve total opioid-free general anesthesia without locoregional blocks. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2017; 31:533-545.
- [8] Sultana A, Torres D, Schumann R. Special indications for Opioid Free Anaesthesia and Analgesia, patient and procedure related: Including obesity, sleep apnoea, chronic obstructive pulmonary disease, complex regional pain syndromes, opioid addiction and cancer surgery. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2017; 31:547-560.
- [9] Mulier J, Zadonsky I. 2017 "OFAM (opioid free general anesthesia mixture) (Mulimix) - keep it simple. Available at: <https://www.researchgate.net>. [Accessed Jun 2020].
- [10] Weber P. Masterarbeit Universität Basel: Der Umgang mit Parenteralia in Schweizer Spitätern. 2016; Available at: <https://www.gsasa.ch>. [Accessed Jun 2020].
- [11] Prabhakar A, Malapero RJ, Gabriel RA , Kaye AD, Elhassan AO, Nelson ER, Bates DW, Urman RD. Medication errors in anesthesia. *J Med Pract Manage.* 2015; 30:41-43.
- [12] Stucki C, Sautter AM, Wolff A, Fleury-Souverain S, Bonnabry P. Accuracy of preparation of i.v. medication syringes for anesthesiology. *Am J Health Syst Pharm.* 2013; 70:137-142.
- [13] Hedlund N, Beer I, Hoppe-Tichy T, Trbovich P. Systematic evidence review of rates and burden of harm of intravenous admixture drug preparation errors in healthcare settings. *BMJ Open.* 2017; 28;7(12).
- [14] GSASA Schweizerischer Verein der Amts- und Spitalapotheker. Positionspapier Eigenherstellung in der Spitalapotheke. 2017; Available at: <https://www.gsasa.ch>. [Accessed Jun 2020].
- [15] Martignoni, S. Université de Genève, travail de diplôme: Utilisation des médicaments injectables dans les services de soins suraigus. 2009; Available at: <https://pharmacie.hug.ch/enseignement/travaux-de-maitrise>. [Accessed Jun 2020].
- [16] Brown G. The Value of Drug Stability Studies and Their Publication. *Can J Hosp Pharm.* 2018; 71(3).

- [17] Arzneimittel-Inkompatibilitäten: Risikoprävention in der Infusionstherapie. 2010; Available at: <https://www.bbraun.ch>. [Accessed Jul 2020].
- [18] Sautou V, Chedru-Lagros V, Crauste-Manciet S, Fleury-Souverain S, Lagarce F, Odou P, Roy A, Sadeghipour F. Methodological guidelines for stability studies of hospital pharmaceutical preparations. 2013; Available at: <https://www.gerpac.eu>. [Accessed Jul 2020].
- [19] Grimm W, Harnischfeger G, Tegtmeier M. Stabilitätsprüfung in der Pharmazie - Theorie und Praxis, 3.Edition. Tübingen: Editio Cantor Verlag, 2011.
- [20] Jenke DR. Extractables and leachables considerations for prefilled syringes. Expert Opin Drug Deliv. 2014; 11:1591-1600.
- [21] Coelho L, Almeida IF, Sousa Lobo JM, Sousa E Silva JP. Photostabilization strategies of photosensitive drugs. Int J Pharm. 2018; 541:19-25.
- [22] Bardin C, Astier A, Vulto A, Sewell G, Vigneron J, Trittler R, Daouphars M, Paul M, Trojniak M, Pinguet F; French Society of Oncology Pharmacy. Guidelines for the practical stability studies of anticancer drugs: a European consensus conference. Ann Pharm Fr. 2011; 69:221-231.
- [23] Prankerd RJ. Compounded products - stability studies in hospital pharmacy departments. Journal of Pharmacy Practice and Research. 2009; 39:5-7.
- [24] Swissmedic. Pharmacopoeia Helvetica, 2012.
- [25] Riddhiben P, Piyushbhai P, Natubhai P. Stability indicating HPLC method development - a review. Int. J Pharm. 2011; 2:79-87.

7. Anhänge

Anhang A: Paper

Anhang B: Supplemental Material

Anhang C: Herstellungsprotokolle

Opioid-Free Anesthesia: Physico Chemical Stability Studies on Multi-Analyte Mixtures Intended for Use in Clinical Anesthesiology

Hospital Pharmacy

1–7

© The Author(s) 2021



Article reuse guidelines:

sagepub.com/journals-permissions

DOI: 10.1177/00185787211016336

journals.sagepub.com/home/hpx

Larissa Schenkel¹, Irene Vogel Kahmann¹,
and Christian Steuer²

Abstract

Objectives: Opioid-free anesthesia is used increasingly often in hospitals around the world. In this type of anesthesia, opioids are replaced by other analgesics, such as ketamine, lidocaine, dexmedetomidine, and magnesium sulfate. Many clinicians prepare these agents as dual, triple, or quadruple admixtures within a single syringe. However, data on the stability of the individual substances within these preparations over time and in different storage conditions is very limited. Here, we aim to investigate various admixture of dexmedetomidine, ketamine, lidocaine, and magnesium sulfate with respect to the stability of the individual agents over time at different storage conditions. **Methods:** An ultra-high performance liquid chromatography method coupled to mass spectrometric detection was developed and validated to determine the stability of lidocaine, ketamine, and dexmedetomidine. Quantification of magnesium was carried out in parallel by potentiometric titration. **Results:** Our results demonstrate the stability of dual, triple or quadruple mixtures of selected substances in 0.9% saline under different storage conditions. Under all conditions, analyzed admixtures remain stable for at least 8 weeks. The quadruple mixture of lidocaine, ketamine, dexmedetomidine, and magnesium sulfate was storable for as long as 148 days without a significant loss of analyte. **Conclusion:** A new chromatographic method was successfully developed to analyze the stability of various pharmacological agents commonly used by clinicians in opioid-free anesthesia. The data we obtained indicate that mixing these agents together in a single syringe is safe and reliable and suggest that hospital pharmacies may prepare these solutions in advance of planned surgeries.

Keywords

anesthetics, drug stability, medication safety, drug information

Introduction

Synthetic opioids, such as morphine, fentanyl, and remifentanil, have been used in anesthesia for decades. These agents are well characterized by their strong analgesic potency and have comparatively little cardiovascular side effects. Their introduction has increased patient safety—of hemodynamically unstable patients, in particular—by diminishing the need for high-dose use of propofol, barbiturates or volatile anesthetics.¹ Nevertheless, opioids have numerous side effects, such as respiratory depression, decreased airway patency, nausea and vomiting, constipation, hyperalgesia, tolerance development and dependence.² A large meta-analysis from 2013 showed that opioid-related adverse events of clinical relevance occurred in about 12% of all operated patients, which led to longer hospital stays, a higher rate of re-entries and significantly higher costs.³ Consequently—especially in times of the prevailing opioid crisis in the

USA—there is a growing effort to reduce, or entirely prevent, the exposure of patients to opioids both during the intra- and postoperative periods.⁴ Accordingly, opioid-sparing anesthesia (OSA) and opioid-free anesthesia (OFA) are becoming ever more popular.⁵ Currently, the most common indication for applying OFA techniques is bariatric surgery.^{6,7} Other common indications include a history of postoperative nausea and vomiting (PONV), sleep apnoea, opioid dependence or chronic pain syndrome.^{6,8} In the context of OFA, multiple classes of pharmacological agents are used instead of the opioids to achieve sufficient analgesia and autonomic

¹Schaffhausen Hospital, Schaffhausen, Switzerland

²ETH Zurich, Zurich, Switzerland

Corresponding Author:

Christian Steuer, ETH Zurich, Institute of Pharmaceutical Sciences,
Vladimir-Prelog-Weg 1-5/10, 8093 Zurich, Switzerland.

Email: christian.steuer@pharma.ethz.ch

stability, such as α 2-agonists (e.g., clonidine, dexmedetomidine (Dex)), local anesthetics (e.g., lidocaine (Lid)), N-methyl-D-aspartate (NMDA) antagonists (e.g. ketamine (Ket)), or combinations thereof.⁶⁻⁸ Magnesium (Mg) is another important component of OFA; it acts as an NMDA antagonist (particularly in combination with Ket) but also has anti-inflammatory effects.⁶

At our hospital, OFA is used several times a week for a variety of indications. We generally apply Dex, intravenous Lid, Ket, and Mg, in addition to regular analgesic drugs such as diclofenac, metamizol, and acetaminophene. For shorter procedures, Dex, Lid, Ket, and Mg are administered separately because of the better controllability, but for longer procedures, Dex, Lid, and Ket are mixed in a perfusor syringe and administered continuously. Other hospitals use yet other combinations of the different "OFA ingredients" in their clinical practice. The existing data on the stability of different combinations of these agents in different carrier solutions and under different storage conditions is very limited. However, these stability and compatibility issues are obviously crucial: if it turned out that the mixed solutions are both compatible with each other and stable over time, well-trained pharmaceutical personnel could produce the mixtures for the clinicians' use ahead of time, both under optimized hygienic conditions and with increased accuracy regarding the concentrations of the individual agents.⁹⁻¹²

Several research groups have previously investigated the stability of single analytes of the aforementioned drugs in aqueous solution stored in polypropylene syringes. For example, ML Storms et al¹³ proved stability of a 20 mg/ml Lid solution at ambient temperature and 4°C in polypropylene syringes for up to 90 days. Furthermore, stability of 4 µg/ml Dex was proved by Anderson et al¹⁴ for at least 48 hours at 20°C to 25°C and 14 days at 5°C when stored in polypropylene syringes. Sarver et al¹⁵ showed that there is no consistent decrease in the concentration of a Mg in Lactated Ringer's solution or 0.9% saline at room temperature for a period of 3 months. Foy et al¹⁶ proved physico chemical stability of a 1 mg/ml Ket solution in portable PCA systems for 28 days at room temperature. Furthermore, some studies have demonstrated the stability and compatibility of dual combinations of the aforementioned drugs in polypropylene syringes. Recently, Beiler et al¹⁷ showed the physico chemical stability of a 20 mg/ml Lid and 2.5 mg/ml Ket in polypropylene syringes at 28°C over a time period of 48 hours. Along these lines, Houlihan et al¹⁸ proved the physical compatibility and chemical stability of Mg and Lid in prefilled polypropylene syringes at 25°C and 40°C over 6 months.

According to our knowledge, however, there are no reports on the stability of ternary or quaternary mixtures of the aforementioned target analytes. The aim of this study was therefore to evaluate the chemical stability and physical compatibility of different combinations of Dex, Ket, Lid, and Mg diluted with 0.9% saline stored in polypropylene syringes under clinically used storage conditions for 56 days. For this

purpose, an Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) method was developed and validated and pH measurements as well as visual checks for color changes and particle formation were carried out.

Materials and Methods

Chemicals and Reagents

Formic acid (FA) and analytical reference standard of Lid and Ket were obtained from Sigma Aldrich (Buchs, Switzerland). Dex was obtained from Tokyo Chemical Industry (Tokyo, Japan). Acetonitrile (ACN) and water were purchased from Merck (Massachusetts, USA) and were of LC-MS grade. HPLC vials, screwcaps and inlets were purchased from BGB (Boeckten, Switzerland).

Hydrochloride acid, EDTA 0.1 M (Titrisol® Triplex III) and calcium carbonate were obtained from Merck (Massachusetts, USA), ammonia solution 25% from VWR Chemicals (Pennsylvania, USA) and ammonium chloride from Sigma Aldrich (Buchs, Switzerland). These substances were used for titration of magnesium sulfate.

For all experiments, Gilson pipettes and Gilson DIAMOND tips were used (Mettmenstetten, Switzerland). pH meter was calibrated using commercially available standards (ROTI® Calipure) from Carl Roth GmbH (Karlsruhe, Germany).

Chromatographic Conditions

All samples were analyzed on a Waters Acquity UPLC system equipped with an autosampler, a binary pump, and a column oven (Waters, Milford (MA), USA). Detection was done on a Thermo LTQ XL linear ion trap mass spectrometer (Thermo Scientific, San Jose (CA), USA). For all separations, water with 0.1% FA (solvent A) and ACN with 0.1% FA (solvent B) were used. Analytes were separated on Acquity BEH C18, 50 × 2.1 mm, 1.7 µm (Waters, Milford (MA), USA). Chromatographic conditions were as follows: flow set 0.5 ml/minute; 0 to 5.5 minute 95% A, 5.5 to 6.0 minute 60% A, 6.0 to 8.5 minute 5% A, 8.5 to 11.0 minute 95% A. Column oven temperature was set to 30°C. Autosampler was kept at 10°C and injection volume was 10 µl. Settings of the mass spectrometry (MS) detector are used as reported previously.¹⁹ Analysis was performed in the positive ionization mode. The LTQ-XL was equipped with a heated ESI II source set to 150°C. Sheath gas 40 arbitrary units (AU); auxiliary gas 20 AU; source voltage 3.00 kV; ion transfer capillary 300°C; capillary voltage 31 V; tube lens voltage 80 V. Automatic gain control was set to 15 000 ions for full scan and 5000 for MSn. Collision induced dissociation (CID)-MSn experiments were performed on precursor ions selected for MS1. Using information dependent acquisition. MS1 was performed in full scan mode (m/z 100-500). MS2 and MS3 were performed in the IDA mode: 4 IDA MS2 experiments

were performed on the 4 most intensive signal from MS1 and additionally 8 MS3 scan filters were chosen to record the most and second most ions from MS2.

Method Validation

The assay was validated according to international guidelines in respect of accuracy, precision and linearity.^{20,21} In short, 8 replicates (on 8 different days) were analyzed according to the procedure described above. Regression lines based a non-weighted or weighted ($1/x^2$) least-squares regression model. Each calibrant (CAL 1-4) was back-calculated using daily regression concentrations and was compared to corresponding theoretical values. QC samples (QC low, QC high) were prepared and analyzed in duplicate on each of 8 days. Bias was defined as the percent deviation of the mean calculated concentration at each QC level from their respective nominal concentration. Bias should not exceed $\pm 10\%$ of target concentration. Intra-day and inter-day imprecision were calculated as relative standard deviation (RSD) according to Peter et al.²⁰ During the validation period, the solutions of the quality controls and the calibrations were stored in the freezer at -18°C .

Sample Preparation

Preparation of calibration and quality control samples. Calibration solutions (CAL) and quality control solutions (QC) were prepared from independent stock solutions in solvent A. Concentration of stock solutions was 50 mg/ml Lid, 5 mg/ml Ket and 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Dex, respectively. Stock solutions were diluted with solvent A to obtain final concentrations.

Preparation of therapeutic samples. Three different therapeutic solutions were prepared using commercially available finished medicinal products (Lidocain[®] 2%, Streuli Pharma AG, Uznach, Switzerland; Ketamin[®] 10 mg/ml, Sintetica SA, Mendrisio, Switzerland; Dexdor[®] 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$, Orion Pharma AG, Zug, Switzerland; Magnesiumsulfat[®] 20% and 50%, Bichsel, Interlaken, Switzerland). 0.9% saline (250 ml Ecoflac), 20 ml propylene syringes and corresponding plastic tip caps were obtained from B. Braun (Sempach, Switzerland). Substances were diluted with 0.9% saline to the final concentration. Each solution was distributed to 20 ml polypropylene syringes and closed with plastic tip caps. For each mixture, syringes ($n=5$) were stored at ambient temperature (15°C - 25°C) with or without light protection or in the refrigerator (2°C - 8°C).

Sample preparation for chromatographic analysis. Before analysis, CAL, QC, and test samples were diluted with solvent in 2 different schemes. For determination of Dex, 20 μl of sample were diluted in 980 μl solvent A. Subsequently, 50 μl of this solution were further diluted with 950 μl of solvent A for the determination of Lid and Ket, respectively. The content

of test solutions were determined on day 0, 2, 7, 14, 28, and 56. Content of mixture containing Lid-Ket-Dex-Mg was analyzed on day 148 instead of day 56. On the selected days, solutions were also examined for obvious changes in color and precipitation. The mixture was considered stable if the concentration was not less than 90% of the original concentration for all drugs. This is in accordance with the requirements of the Pharmacopoeia Helvetica (Ph. Helv., 11th edition, chapter 17.1.2.1): The content of the active pharmaceutical ingredient (API) in preparations must be within 90% to 110% of the declared content until the expiry date.²²

Titration and pH Determination

The content of magnesium was determined by complexometric titration as described in the European Pharmacopoeia (Ph. Eur., 10th edition, chapter 2.5.11) with minor modifications.²³ Titration was done in triplicate on day 0 and day 56 or day 148 respectively, using an automatic titrator (809 Titrand, Metrohm AG). Standard solutions were adjusted using 100 mg of calcium carbonate as primary standard. Test solutions (2.0 ml, 100 mg/ml) were diluted with water to 300 ml. After addition of 10 ml ammonium chloride buffer solution (pH 10.0) and 50 mg Eriochrome black T trituration, titration was performed with 0.1 M EDTA solution. Titration was monitored using an optrode (Metrohm AG) set to $\lambda=610\text{ nm}$. On indicated time points, pH was determined in each syringe using a calibrated pH-electrode (Schott Instruments).

Data Analysis

Peak integration was performed in Agilent EZChrom Elite (Version 3.3.2 SP2) software. GraphPad Prism 8.2 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) was used for regression analysis, 95% confidence interval (CI) determination and visualization. Outlier tests were performed according to Dixon's Q test.²⁴

Results

Method Validation

In here, a new chromatographic method for the determination of Dex, Lid, and Ket is developed and validated. The described method is useful for the quantification of aforementioned analytes in pharmaceutical preparations using 0.9% saline as excipient. The retention time was 3.3 minute for Lid, 3.6 minute for Ket and about 4.5 minute for Dex. Since therapeutically applied concentrations of Dex, Lid, and Ket are up to 10^4 fold different (e.g. Dex-Lid), a 2-step dilution scheme was applied prior to analysis. In the selected concentration range, analytes concentrations showed a linear relationship to the detector response. Correlation coefficient (R^2) for all analytes is above 0.96. For Lid lowest accuracy

Table I. Method Validation Data.

Analyte	Calibration range			QC low				QC high			
	Ret. time (min)	mg/mL	R ²	Nom. Conc. (mg/mL)	Accuracy (%)	RSD _R (%)	RSD _T (%)	Nom. Conc. (mg/mL)	Accuracy (%)	RSD _R (%)	RSD _T (%)
Lid	3.3	8-12	0.99	9	98.6	1.8	3.3	11	97.0	2.0	4.9
Ket	3.6	0.8-1.2	0.96	0.9	99.6	4.2	5.2	1.1	98.4	5.6	6.7
Dex	4.5	0.0008-0.0012	0.98	0.0009	100.6	5.1	5.4	0.0011	101.2	7.6	7.3

Note. R², mean correlation coefficient.

was found for QC high (97%), whereas lowest intra-day (RSD_R) and inter-day impression (RSD_T) at QC low and QC high level were detected (<5%). Ket showed highest accuracies at all levels and imprecision of less than 7%. Highest imprecision was detected for Dex (QC high). Intra-day (RSD_R) and inter-day precision (RSD_T) was 7.6% and 7.3%, respectively. Metrics of the method validation are shown in Table 1. Blank runs were performed after both the highest calibrator and QC high samples and were evaluated for detectable peaks. No carry-over was observed.

Stability

pH measurement and visual examination. All preparations remained clear and colorless at visual inspection for the duration of the study. Additionally, no precipitation was detected. The pH-value remained unchanged over the whole measurement period among all mixtures and all 3 storage conditions (Table 2). Slight deviations were observed for Mix Lid-Mg (5.6 to 5.8). For all other combinations, pH was 5.8.

Stability of Active Pharmaceutical Ingredients

Detected concentrations of Dex, Ket, Lid, and Mg at indicated time points are summarized in Table 2. Data are given as a percentage of the initial concentration remaining. No continuous decrease in concentration can be observed for all combinations over 56 and 148 days respectively. Content of all analytes was higher than 90% at the final measurement day in all mixtures. Only in mixtures containing Lid, Ket, and Dex and stored in the refrigerator, the concentration of Lid fell below 90% of the initial content at day 2. Figure 1 shows the course of the measured concentrations of Lid in 0.9% saline stored in combination with Mg under different conditions over the whole storage period. 95% CI bands indicate the likely location of the true curve. Statistical analysis revealed that the slope of the regression lines is not significant different from zero. Therefore, no loss of Lid is expected. In Supplemental Figures S1 and S2, the course of the measured concentrations of Lid, Ket, and Dex without Mg and with Mg is visualized with the 95% CI bands. Regression lines indicate no loss of the API in the prepared admixtures. Only for Dex, a slightly decline in the regression line is observed. Obviously, decline is more prominent for

mixtures stored at room temperature. However, the slope of the regression line is not significant from zero. Additionally, it needs to be mentioned that last measuring point of this mixture corresponds to day 148. For all storage conditions, final values are always higher than 90% of the initial reported values and pre-set goals are fulfilled.

Discussion

Knowledge about physicochemical stability of drugs in carrier solutions supports preparation of anesthetics in centralized hospital pharmacies. Data on stability of Dex, Ket, and Lid in 0.9% saline as single preparation for parenteral use is available in current literature. However, dual or triple combination with magnesium have not been investigated yet. Chromatographic method development was challenging, since there is a large difference regarding the therapeutic concentrations of the target substances. Ratio of Dex/Lid and Dex/Ket is 1:10⁴ (10 mg/ml vs 1 µg/ml) and 1:10³ (1 mg/ml vs 1 µg/ml), respectively. In order to detect all target analytes, a 2-step dilution procedure was developed and applied. For the determination of Dex, therapeutic solutions were diluted 50 times with mobile phase A. Subsequently, a 20-fold dilution with the same solvent was applied and was sufficient for Lid and Ket determination. The linear range of the analytical method was set according to clinical target concentration of selected API's. Therefore, lower limit of detection and lower limit of quantification was not investigated systematically. The developed analytical procedure was validated in terms of accuracy, linearity and repeatability. QC low was set at the 90% level of starting concentration and defined as acceptance threshold for stability. Accuracy for all analytes were in the acceptable range at QC high and QC low level. However, inter-day imprecision was higher at QC high level for all analytes. One may speculate, if low concentration of Dex and the 2-step dilution process for Lid and Ket can explain these variations. In general, also higher relative standard deviations were recorded with LC/MS methods compared to LC-UV methods in other studies.²⁵

In general, our results confirm previous findings obtained for single analytes and compatibility with polypropylene syringes is given. The current study extends information on stability of dual, triple and quadruple combinations of selected analytes and the stability of admixtures after 56 or 148 days, respectively. The lower content of Lid at starting

Table 2. Stability Data for All Tested Combinations.

Day	Mix Lid-Mg			Mix Lid-Ket-Dex			Mix Lid-Ket-Dex-Mg			Dex	Mg
	pH	Lid	Mg	pH	Lid	Ket	pH	Lid	Ket		
0	5.71 ± 0.00	8.90 ± 0.43 (mg/ml)	101.9 ± 0.2 (mg/ml)	5.80 ± 0.01	10.0 ± 0.39 (mg/ml)	0.95 ± 0.07 (mg/ml)	1.04 ± 0.01 (μg/ml)	5.92 ± 0.01	8.96 ± 0.42 (mg/ml)	0.98 ± 0.03 (mg/ml)	1.01 ± 0.03 (μg/ml)
% of initial concentration remaining (mean ± RSD)											101.9 ± 0.6 (mg/ml)
Storage at room temperature											
2	5.61 ± 0.01	100.9 ± 2.0	nd	5.80 ± 0.01	107.7 ± 3.7	103.5 ± 5.1	90.7 ± 7.4	5.85 ± 0.01	97.4 ± 3.1	97.5 ± 3.3	97.6 ± 4.4
7	5.65 ± 0.00	102.4 ± 4.3	nd	5.85 ± 0.01	90.8 ± 7.6	106.4 ± 5.9	102.4 ± 8.9	5.88 ± 0.01	100.3 ± 1.7	100.3 ± 2.1	92.1 ± 4.2
14	5.68 ± 0.00	108.1 ± 4.0	nd	5.82 ± 0.00	98.3 ± 4.4	97.0 ± 7.5	96.2 ± 2.0	5.86 ± 0.01	102.9 ± 2.3	99.5 ± 2.5	97.0 ± 4.0
28	5.74 ± 0.00	109.5 ± 3.2	nd	5.83 ± 0.00	94.7 ± 4.3	98.7 ± 4.7	93.1 ± 7.9	5.87 ± 0.02	99.1 ± 3.5	93.1 ± 2.4	94.4 ± 7.0
56	5.82 ± 0.02	101.5 ± 4.4	99.9 ± 0.2	5.81 ± 0.02	99.7 ± 5.4	110.7 ± 8.0	97.1 ± 7.9	nd	nd	nd	nd
148	nd	Nd	nd	nd	nd	nd	nd	5.82 ± 0.01	103.0 ± 2.1	102.5 ± 2.7	92.1 ± 1.1
Storage at room temperature and protected from light											
2	5.63 ± 0.00	103.4 ± 4.3	nd	5.80 ± 0.01	97.5 ± 9.1	109.6 ± 4.2	101.2 ± 3.8	5.84 ± 0.01	100.7 ± 2.2	95.7 ± 3.3	99.2 ± 1.2
7	5.66 ± 0.00	102.1 ± 2.2	nd	5.83 ± 0.02	94.1 ± 2.0	107.9 ± 3.2	99.3 ± 9.2	5.85 ± 0.00	102.9 ± 2.3	99.7 ± 3.9	95.6 ± 2.3
14	5.68 ± 0.00	106.6 ± 5.0	nd	5.82 ± 0.01	101.1 ± 1.9	105.2 ± 4.5	99.4 ± 2.3	5.84 ± 0.01	101.2 ± 2.5	97.0 ± 4.7	nd
28	5.72 ± 0.01	110.8 ± 3.1	nd	5.84 ± 0.02	95.6 ± 1.6	94.2 ± 6.9	93.7 ± 4.0	5.87 ± 0.02	100.6 ± 2.1	92.2 ± 6.1	92.5 ± 4.0
56	5.82 ± 0.01	101.9 ± 5.3	100.3 ± 0.3	5.80 ± 0.01	102.5 ± 4.4	110.5 ± 7.4	102.3 ± 1.7	nd	nd	nd	nd
148	nd	Nd	nd	nd	nd	nd	nd	5.80 ± 0.00	100.5 ± 2.3	101.1 ± 4.6	94.2 ± 4.1
Storage in refrigerator											
2	5.63 ± 0.00	103.3 ± 2.7	nd	5.80 ± 0.02	93.9 ± 3.3	111.1 ± 2.3	99.6 ± 5.0	5.84 ± 0.01	99.2 ± 2.5	100.8 ± 1.1	99.6 ± 3.6
7	5.65 ± 0.00	103.3 ± 2.1	nd	5.85 ± 0.02	88.8 ± 6.2	107.0 ± 8.5	96.4 ± 5.2	5.87 ± 0.01	101.5 ± 2.2	99.8 ± 5.2	91.4 ± 3.3
14	5.69 ± 0.01	108.8 ± 2.2	nd	5.82 ± 0.00	101.9 ± 3.6	101.1 ± 7.9	98.4 ± 3.4	5.84 ± 0.00	100.4 ± 2.3	94.9 ± 3.7	nd
28	5.72 ± 0.01	111.3 ± 2.9	nd	5.83 ± 0.00	95.9 ± 2.7	100.9 ± 2.1	99.7 ± 1.8	5.89 ± 0.01	104.0 ± 2.2	93.3 ± 3.7	96.9 ± 4.5
56	5.83 ± 0.01	101.5 ± 4.8	100.4 ± 0.2	5.82 ± 0.02	94.6 ± 10.6	108.5 ± 10.2	101.1 ± 10.0	nd	nd	nd	nd
148	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	5.84 ± 0.01	101.1 ± 3.5	103.3 ± 5.6	93.9 ± 1.4
											99.7 ± 0.3

nd = not determined.

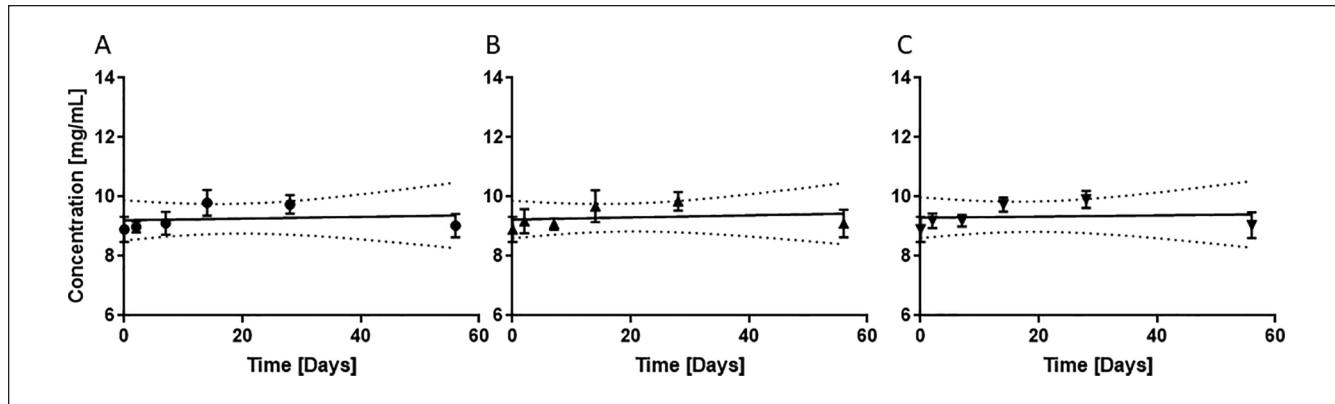


Figure 1. Stability of Lid in 0.9% saline in combination with Mg at different storage conditions: (A) room temperature, (B) room temperature and light protection, and (C) refrigerator (2°C-8°C); Dotted lines represent 95% CI bands.

conditions for Mix Lid-Mg and Mix Lid-Ket-Dex-Mg is a result of using syringes for preparation of the therapeutic solutions. Physical stability of prepared mixtures was given, since no precipitation and color changes were observed. Also, pH was constant over time and in the acceptable range for parenteral preparations.²⁶ Additionally, influence of the bivalent cation magnesium was investigated in detail. It is known that magnesium can accelerate the degradation of analytes in tablet formulations.²⁷ Since titration experiments are time consuming and laborsome, Mg content was only analyzed at day 0 and on the last day of the study. Admixtures containing Mg (Lid-Mg, Lid-Ket-Dex-Mg) showed no lower concentration of any target analyte. Accordingly, storage in the refrigerator and at room temperature (with and without light protection) is appropriate. Nevertheless, storage in refrigerator would be more reasonable according to the microbial stability. It is noteworthy to say, that co-administration of other API's to the aforementioned admixtures needs further evaluation particularly regarding compatibility and precipitation.

Limitations

In this study, there are also some limitations. Although several combination and conditions were investigated, only a limited number of therapeutic samples was analyzed ($n=5$). However, the validated chromatographic methods provides a reliable starting point for further stability and compatibility studies.

Conclusion

In here, we presented a fast and accurate method for analysis of commonly used anesthetics in OSA and OFA settings. It has been shown, that selected admixtures can be prepared as ready to use syringes. The results of our study indicated no

significant loss of compounds in different mixtures and storage conditions over a time period of 56 and 148 days respectively. All admixtures showed a constant pH value and the content remained higher than 90% of their initial concentration. None of the composition of the admixture and none of the investigated storage conditions showed a significant influence on the stability of the substances over the test period. These results will support anesthetists in daily practice, especially as the mixtures could be prepared in advance by well-trained pharmaceutical personal. Due to the worldwide use of OFA, the results are not only of local but also of international interest.

Acknowledgments

We would like to thank Danielle Lüthi for her assistance with the titration experiments. We are grateful to Dr. Kaspar Meyer for advises in writing the introduction

Authors' Contributions

All mentioned authors significantly contributed to the current study. LS and CS prepared and analyzed selected mixtures. LS, IV, and CS designed the study protocol. LS, CS, and IV interpreted all obtained data. Writing the manuscript was equally done by LS and CS.

Declaration of Conflicting Interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Funding

The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

ORCID iD

Christian Steuer  <https://orcid.org/0000-0002-6102-3367>

Supplemental Material

Supplemental material for this article is available online.

References

1. Ippolito A, Raimann F, Warszawska J, Zacharowski K, Pape A. Opioide in der Anästhesie. *Arzneimitteltherapie*. 2016;34:235-242.
2. Ramsin B, Trescot AM, Sukdeb D, et al. Opioid complications and side effects. *Pain Physician*. 2008;11(suppl 2):105-120.
3. Oderda GM, Gan TJ, Johnson BH, Robinson SB. Effect of opioid-related adverse events on outcomes in selected surgical patients. *J Pain Palliat Care Pharmacother*. 2013;27(1):62-70.
4. Lavand'homme P, Estebe J-P. Opioid-free anesthesia: a different regard to anesthesia practice. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2018;31(5):556-561.
5. Forget P. Opioid-free anaesthesia: Why and how? A contextual analysis. *Anaesth Crit Care Pain Med*. 2019;38(2):168-172.
6. Sultana A, Torres D, Schumann R. Special indications for opioid free anaesthesia and analgesia, patient and procedure related: including obesity, sleep apnoea, chronic obstructive pulmonary disease, complex regional pain syndromes, opioid addiction and cancer surgery. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2017;31(4):547-560.
7. Mauermann E, Ruppen W, Bandschapp O. Different protocols used today to achieve total opioid-free general anesthesia without locoregional blocks. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2017;31(4):533-545.
8. Mulier J. Opioid free general anesthesia: a paradigm shift? *Rev Esp Anestesiol Reanim*. 2017;64(8):427-430.
9. Aeberhard C, Steuer C, Saxer C, Huber A, Stanga Z, Muhlebach S. Physicochemical stability and compatibility testing of levetiracetam in all-in-one parenteral nutrition admixtures in daily practice. *Eur J Pharm Sci*. 2017;96:449-455. doi:10.1016/j.ejps.2016.10.015
10. Steuer C, Müller U, Haller F, Wiedemeier P. Filling gaps on stability data: development, validation and application of a multianalyte UHPLC-DAD method to determine the stability of commonly administered drugs in different carrier solutions used in palliative care. *Analytica*. 2020;1:1-11.
11. Hedlund N, Beer I, Hoppe-Tichy T, Trbovich P. Systematic evidence review of rates and burden of harm of intravenous drug preparation errors in healthcare settings. *BMJ Open*. 2017;7(12):e015912.
12. Schneider MP, Cotting J, Pannatier A. Evaluation of nurses' errors associated in the preparation and administration of medication in a pediatric intensive care unit. *Pharm World Sci*. 1998;20(4):178-182. doi:10.1023/a:1012087727393
13. Storms ML, Stewart JT, Warren FW. Stability of Lidocaine Hydrochloride Injection at ambient temperature and 4°C in polypropylene syringes. *Int J Pharm Compd*. 2002;6(5):388-390.
14. Anderson CR, MacKay MW, Holley M, Kay BA. Stability of dexmedetomidine 4 µg/mL in polypropylene syringes. *Am J Health Syst Pharm*. 2012;69(7):595-597.
15. Sarver JG, Pryka R, Alesander KS, Weinstein L, Erhardt PW. Stability of magnesium sulfate in 0.9% sodium chloride and lactated ringers solutions. *Int J Pharm Compd*. 1998;2(5):385-388.
16. Foy G, Poinsignon V, Mercier L, Laurent S, Paci A. Microbiological and physico-chemical stability of ketamine solution for patient-controlled analgesia systems. *Res Rev J Hosp Clin Pharm*. 2015;1:31-37.
17. Beiler B, Barraud D, Vigneron J, Demoré B. Physicochemical stability of an admixture of lidocaine and ketamine in polypropylene syringe used in opioid-free anaesthesia. *Eur J Hosp Pharm*. 2019;27(e1):79-83.
18. Houlihan S, Decarie D, Benes C, et al. Magnocaine: physical compatibility and chemical stability of magnesium sulphate and lidocaine hydrochloride in prefilled syringes. *J Obstet Gynaecol Can*. 2016;38(10):936-944.
19. Wissenbach DK, Meyer MR, Remane D, Philipp AA, Weber AA, Maurer HH. Drugs of abuse screening in urine as part of a metabolite-based LC-MSn screening concept. *Anal Bioanal Chem*. 2011;400(10):3481-3489. doi:10.1007/s00216-011-5032-1
20. Peter FT, Hartung M, Herbold M, Schmitt G, Daldrup T, Musshoff F. *Requirements for the Validation of Analytical Methods*. Toxicem Krimtech; 2009: 185.
21. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1) (International Council on Harmonisation. 2005.
22. Swissmedic. *Pharmacopoeia Helvetica*. Swissmedic; 2012.
23. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) (European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare EDQM). 2020.
24. Dean RB, Dixon WJ. Simplified statistics for small numbers of observations. *Anal Chem*. 1951;23(4):636-638. doi:10.1021/ac60052a025
25. Verdu C, Gatto J, Freuze I, Richomme P, Laurens F, Guillet D. Comparison of two methods, UHPLC-UV and UHPLC-MS/MS, for the quantification of polyphenols in cider apple juices. *Molecules*. 2013;18(9):10213-10227.
26. Nemec K, Kopelent-Frank H, Greif R. Standardization of infusion solutions to reduce the risk of incompatibility. *Am J Health Syst Pharm*. 2008;65(17):1648-1654. doi:10.2146/ajhp070471
27. Thakur AB, Morris K, Gross JA, et al. Mechanism and kinetics of metal ion-mediated degradation of fosinopril sodium. *Pharm Res*. 1993;10(6):800-809. doi:10.1023/a:1018940623174

Opioid-free Anaesthesia: physico chemical stability studies on multi-analyte mixtures intended for use in clinical anaesthesiology

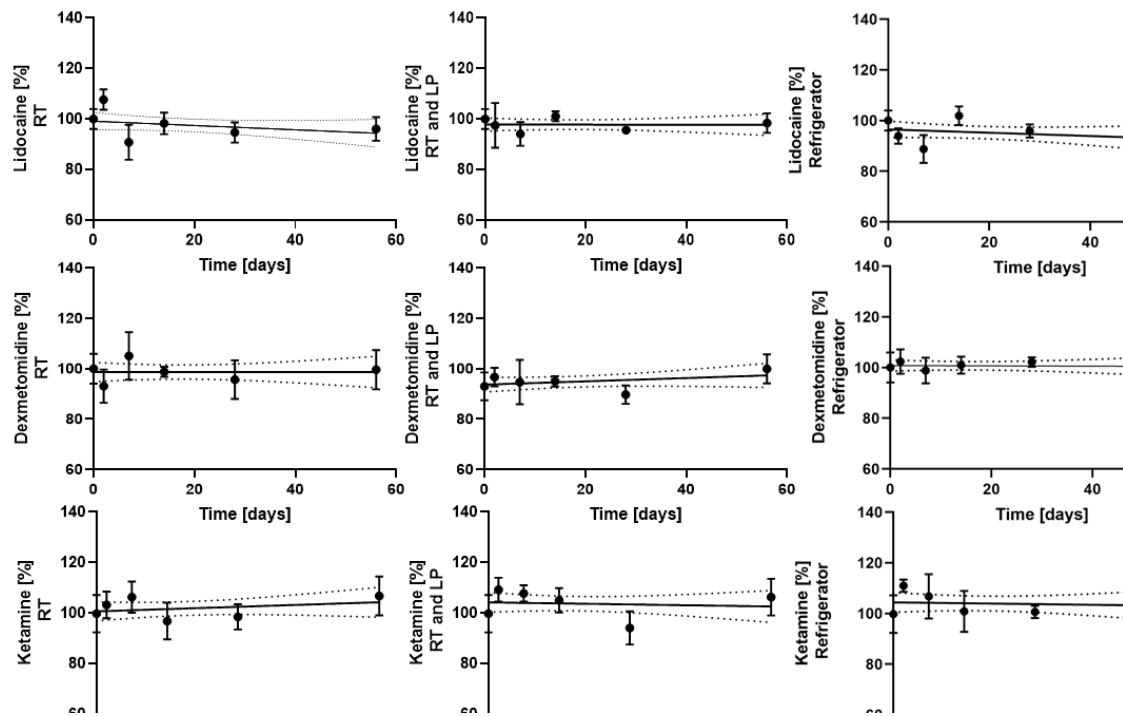
Larissa Schenkel¹, Irene Vogel Kahmann¹, Christian Steuer^{2*}

¹Schaffhausen Hospital, Hospital Pharmacy, Geissbergstrasse 81, 8208 Schaffhausen, Switzerland

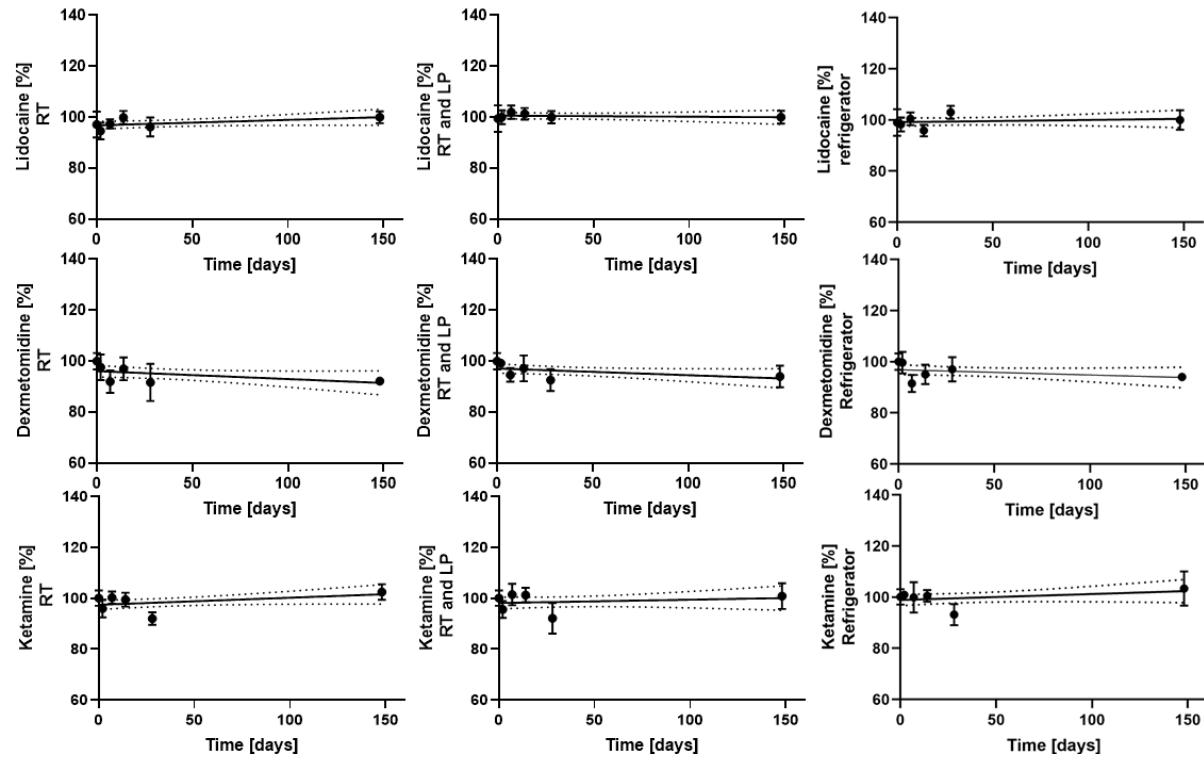
²ETH Zurich, Institute of Pharmaceutical Sciences, Vladimir-Prelog-Weg 1-5/10, 8093 Zurich, Switzerland

*corresponding author

Short Title: Stability studies on lidocaine, ketamine, dexmedetomidine and magnesium sulfate stored in polypropylene syringes



S1: Stability of Lid, Ket and Dex in 0.9% NaCl at different storage conditions. Dotted lines represent 95% CI bands. RT, room temperature; LP, light protection



S2: Stability of Lid, Ket and Dex in 0.9% NaCl in combination with Mg at different storage conditions. Dotted lines represent 95% CI bands. RT, room temperature; LP, light protection

Herstellungsprotokoll: OFA-Mischungen

Bezeichnung Mischung: Mix Lid-Mg

Zusammensetzung: Lidocain HCl 10 mg/ml, Magnesiumsulfat (-Heptahydrat) 100 mg/ml

Datum Herstellung: 13.11.19

Präparat	Charge	Verfall	Volumen soll	Volumen ist	Visum
Lidocain 2% Streuli 1000mg/50ml	1970062A	02/24	200ml	200ml	LS
Magnesiumsulfat 20% Bichsel	A08039 L190913	03/22 05/22	200ml	200ml	LC
Total			400ml	400ml	LS

Konfektionierung: 15x 20ml Spritzen

Material	Charge	Verfall	Anzahl	Visum
Original Perfusorspritzen 20ml B. Braun	18M26C8	11/23	15	LS
Combi-Stopper B. Braun	19D0418171	04/24	15	LS

Lagerung:

- 5 Spritzen bei Raumtemperatur (15-25°C) und unter Lichtschutz
- 5 Spritzen bei Raumtemperatur (15-25°C) und unter Lichteinfluss
- 5 Spritzen im Kühlschrank (2-8°C)

Herstellungsprotokoll: OFA-Mischungen

Bezeichnung Mischung: Mix Lid-Ket-Dex-Mg

Zusammensetzung:

Lidocain HCl 10 mg/ml, Ketamin 1 mg/ml, Dexmedetomidin 1 µg/ml,
Magnesiumsulfat (-Heptahydrat) 100 mg/ml

Datum Herstellung: 21.1.20

Präparat	Charge	Verfall	Volumen soll	Volumen ist	Visum
Lidocain 2% Streuli 1000mg/50ml	1970154A	07/24	250ml	250ml	LS
Ketamin Sintetica 100mg/10ml	19201	06/22	50ml	5ml	LS
Dexdor 200µg/2ml	1897369	12/21	5ml	5ml	LS
Magnesiumsulfat 50% Bichsel	1911480	08/22	100ml	100ml	LS
NaCl 0.9% B. Braun	192518131	05/22	ad 500ml	ad 500ml	LS
Total			500ml	500ml	LS

Konfektionierung: 15x 20ml Spritzen

Material	Charge	Verfall	Anzahl	Visum
Original Perfusorspritzen 20ml B. Braun	19H 19C8 18M 26C8	08/24 11/23	15	LS
Combi-Stopper B. Braun	19D 04A8171	04/24	15	LS

Lagerung:

- 5 Spritzen bei Raumtemperatur (15-25°C) und unter Lichtschutz
- 5 Spritzen bei Raumtemperatur (15-25°C) und unter Lichteinfluss
- 5 Spritzen im Kühlschrank (2-8°C)

Herstellungsprotokoll: OFA-Mischungen

Bezeichnung Mischung: Mix Lid-Ket-Dex

Zusammensetzung: Lidocain HCl 10 mg/ml, Ketamin 1 mg/ml, Dexmedetomidin 1 µg/ml

Datum Herstellung: 25. 8. 20

Präparat	Charge	Verfall	Einwaage/ Volumen soll	Einwaage/ Volumen ist	Visum
Lidocain 2% Streuli 1000mg/50ml	2070008A	12/24	200ml	4 x 50 = 200ml	LS
Ketamin Sintetica 100mg/10ml	20160	03/23	40ml	2 x 20 = 40ml	LS
Dexdor 200µg/2ml	1991541	12/22	4ml	4ml	LS
NaCl 0.9% B. Braun	20177404	03/23	ad 400ml =156ml	156ml	LS
Total			400ml	400ml	LS

Konfektionierung: 15x 20ml Spritzen

Material	Charge	Verfall	Anzahl	Visum
Original Perfusorspritzen 20ml B. Braun	20A06C8	01/25	15	LS
Combi-Stopper B. Braun	19M07A8101	11/24	15	LS

Lagerung:

- 5 Spritzen bei Raumtemperatur (15-25°C) und unter Lichtschutz
- 5 Spritzen bei Raumtemperatur (15-25°C) und unter Lichteinfluss
- 5 Spritzen im Kühlschrank (2-8°C)