



**FAKULTET FOR NATURVITENSKAP**

**Institutt for bioingeniørfag**

Norges teknisk- naturvitenskapelige universitet  
Norwegian University of Science and Technology (NTNU)

**Validering av en UPLC-MSMS metode for  
kvantitering av moklobemid, sertindol og  
reboksetin i fullblod**

**Validation of a UPLC-MSMS method for  
quantitation of moclobemide, sertindole and  
reboxetine in whole blood**

*Av / by*

Andreas Husby Tømmerdal, Ingrid Høy og Hildegunn Dahl

**Trondheim, 2019**

## Forord

Denne rapporten skal dokumentere arbeidet som ble gjort i forbindelse med vår bacheloroppgave, som en del av studiet ved institutt for bioingeniørfag ved NTNU. Prosjektet ble gitt av Avdeling for klinisk farmakologi ved St. Olavs hospital, og det praktiske arbeidet ble også utført her. Oppgaven gikk ut på å validere en ny metode for analyse av moklobemid, sertindol og reboksetin på UPLC-MSMS ved avdelingen. Arbeidet med oppgaven ble gjort som et samarbeid, der vi har arbeidet samlet gjennom hele prosjektet.

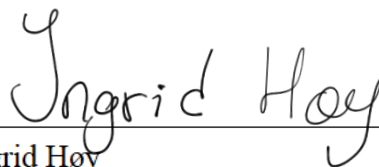
Vi vil rette en takk til Avdeling for klinisk farmakologi som har utarbeidet denne oppgaven for oss, og som har stilt laboratoriearealer og kontorarealer disponibelt for oss i løpet av prosjektperioden. Samt medarbeidere som har svart på utallige spørsmål og delt av sin kunnskap. Vi vil spesielt takke våre veiledere ved avdelingen, Maja Loevenich, Elin Nilssen og Astrid Dahn, som har bidratt med veiledning og evaluering av laboratoriearbeid og rapportskriving.

Til sist vil vi takke vår prosessveileder ved institutt for bioingeniørfag, Ragnhild Bach for at hun har holdt ut med vår Kule humor. Og for at hun har lest og evaluert flere utkast av oppgaven, gitt oss råd, og hjulpet oss med å finne svar på de spørsmål vi måtte ha tilknyttet rapportskrivningen.

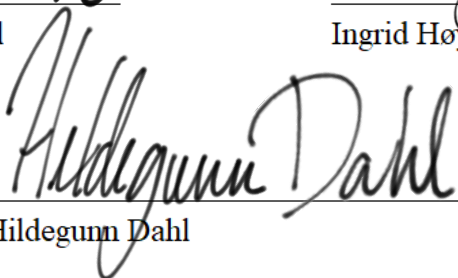
Trondheim, 14.05.2019



Andreas Husby Tømmerdal



Ingrid Høy



Hildegunn Dahl

## Sammendrag

Hensikten med prosjektet er å validere en ny metode for analyse av moklobemid, sertindol og reboksetin (MOSER) i fullblod ved Avdeling for klinisk farmakologi St. Olavs hospital. Den nye metoden skal erstatte tre gamle metoder for analyttene, hvor de ble analysert på HPLC-MS. Den nye metoden benytter færre helseskadelige stoffer, og er mer effektiv ettersom de tre analyttene kan analyseres i én samlet metode. Da den nye metoden benytter UPLC-MSMS, er den også mer sensitiv enn forgjengeren. I tillegg er det ønskelig å undersøke om det kan benyttes standarder løst i serummatrisks til kalibrering, fremfor standarder i blodmatrisks. Dette for å gjøre opparbeidingen av standarder enklere og mer effektiv for avdelingen.

For å validere den nye metoden for MOSER i fullblod, ble det gjort forsøk for å undersøke metodens signal-til-støy forhold, nedre kvantifiseringsgrense, repeterbarhet, reproduserbarhet og holdbarhet. I tillegg ble det gjort forsøk for å sjekke analysens ekstraksjonsutbytte, og holdbarheten til analyttene ved gjentatt frysing og tining.

Ut ifra resultatene for nedre kvantifiseringsgrense ble det vurdert at de samme konsentrasjonsnivåene kan benyttes i den laveste standarden for MOSER-analyttene i fullblodmetoden, som i serummetoden. Beregninger viste at standarder i serummatrisks ga god linearitet og god riktighet og derfor kan implementeres som standardrekke i MOSER i fullblod. Resultatene for innen serie variasjon og mellom serie variasjon viste at metoden har god repeterbarhet og reproduserbarhet. Holdbarhetsundersøkelsen bekreftet god stabilitet i opptil tre dager for analyttene i opparbeidede prøver. Resultatene fra beregningene for ekstraksjonsutbytte viste verdier innenfor akseptkriteriet, og høyere utbytte for moklobemid og reboksetin i MOSER i fullblod sammenlignet med serummetoden. Holdbarheten ved gjentatt tining og frysing viste stabile verdier.

Den nye metoden for MOSER i fullblod er dermed egnet til bestemmelse av analyttene moklobemid, sertindol og reboksetin i postmortale prøver. Standarder og kontroller i serummatrisks kan erstatte standarder og kontroller i blodmatrisks.

## Abstract

The purpose of this project was to validate a new method for analyzing moclobemide, sertindole, and reboxetine (MOSER) in whole blood samples, for the department of clinical pharmacology at St. Olav's hospital. The new method will be replacing three former methods for these analytes, where the analysis was performed on HPLC-MS. By implementing the new whole blood method for MOSER, fewer health-hazardous substances will be used in the analysis. The analysis will also become more efficient since all three analytes can be analyzed in one collective method. By using UPLC-MSMS the new method will also be more sensitive than its precursor. In addition, tests will be done to check if standards in serum matrix can be used to calibrate the new method, rather than whole blood standards. This is done in order to simplify the preparation of standards and to make the procedure more efficient for the department.

For the validation, several tests were done to determine signal-to-noise ratio, limit of quantification, repeatability, reproducibility, and durability for the method. In addition, tests were conducted to determine the extraction yield of the analysis, and the durability of the analytes through repeated freezing and thawing.

The signal-to-noise ratio results were used to evaluate the selectivity of the method in whole blood. Results from this test showed that the standard of the lowest concentration for MOSER in serum, could be used for MOSER in whole blood. Results also showed that standards in serum matrix yields good linearity and trueness, and that standards in serum matrix could be used to calibrate the whole blood method for MOSER. Within-run precision and between-run precision results showed good repeatability and reproducibility for the method, and the stability tests confirmed that the analytes were stable for up to three days after sample preparation. Recovery results were within the requirements of the department. In addition, the recovery for moclobemide and reboxetine was improved using the whole blood method, compared to the serum method. The stability of the analytes through repeated freezing and thawing was also acceptable.

MOSER in whole blood is thus suitable for analysis of moclobemide, sertindole, and reboxetine in postmortal blood samples. Standards and controls in serum matrix are suitable to replace standards and controls in blood matrix for this method.

## Innholdsfortegnelse

Forord .....	i
Sammendrag .....	ii
Abstract .....	iii
Innholdsfortegnelse .....	iv
1. Innledning .....	1
1.1. Hensikt med prosjektet .....	1
1.2. Analyttene .....	3
1.2.1. Moklobemid .....	3
1.2.2. Sertindol .....	3
1.2.3. Reboksetin .....	4
1.3. Prøveopparbeidelse .....	5
1.4. Standarder, kontroller og prøvemateriale .....	6
1.4.1. Standardrekke og kvalitetskontroll .....	6
1.4.2. Intern standard .....	7
1.4.3. Postmortale prøver .....	8
1.5. Kromatografi .....	10
1.6. Massespektrometri .....	16
1.7. UPLC-MSMS .....	19
1.8. Validering .....	21
1.9. Problemstillinger .....	23
2. Materiale og metode .....	24
2.1. Prinsipp for MOSER i fullblod .....	24
2.2. Materiale .....	24
2.2.1. Reagenser/Kjemikalier/Løsninger .....	24
2.2.2. Utstyr .....	26
2.3. Fremgangsmåte for MOSER i fullblod .....	27
2.3.1. Prøveopparbeidelse .....	27
2.3.2. Analyse .....	27
2.3.3. Analytisk kvalitet .....	29
2.3.4. Validering .....	29

3.	Resultater .....	33
3.1.	Analytisk kvalitet.....	33
3.2.	Std1 - S/N og selektivitet i fullblod .....	33
3.3.	Vurdering av standardrekker .....	34
3.4.	Presisjon og riktighet .....	37
3.4.1.	Reproduserbarhet og riktighet .....	37
3.4.2.	Repeterbarhet.....	38
3.5.	Holdbarhet ved 10 °C .....	39
3.6.	Tilleggsforsøk .....	40
3.6.1.	Ekstraksjonsutbytte .....	41
3.6.2.	Holdbarhet tin/frys .....	42
4.	Diskusjon .....	44
4.1.	Analytisk kvalitet.....	44
4.2.	Validering .....	44
4.2.1.	Std1 - S/N og selektivitet i fullblod.....	44
4.2.2.	Vurdering av standardrekker .....	45
4.2.3.	Presisjon og riktighet.....	45
4.2.4.	Holdbarhet ved 10 °C .....	46
4.3.	Tilleggsforsøk .....	46
4.3.1.	Ekstraksjonsutbytte .....	46
4.3.2.	Holdbarhet tin/frys .....	47
5.	Konklusjon .....	48
6.	Referanser .....	49
7.	Vedlegg .....	52

# 1. Innledning

## 1.1. Hensikt med prosjektet

Prosjektet utføres ved Avdeling for klinisk farmakologi (AKF) ved St.Olavs hospital, hvor det i hovedsak utføres analyser av lege- og rusmidler på urin, serum, blod og hår. Til analysering benyttes oftest væskechromatografi (liquid chromatography, LC) med tandem massespektrometri (MSMS) som deteksjonsmetode. Avdelingen utfører også en del rettstoksikologiske analyser, omtrent 300 i året, på tilsendte obduksjonsprøver. Hensikten med prosjektet er å validere den nye UPLC-MSMS metoden for analyttene *moklobemid*, *sertindol* og *reboksetin* (MOSER) i fullblod, slik at den kan implementeres som rutineanalyse ved avdelingen. MOSER i fullblod vil hovedsakelig benyttes til å analysere postmortale prøver.

AKF har allerede validert og etablert en ny metode for MOSER i serum, men ikke i fullblod. I dagens fullblodmetoder for MOSER-analyttene, må de tre analyttene analyseres hver for seg på HPLC-MS. Ved disse metodene benyttes væske-væske ekstraksjonsmetode, en svært tidkrevende prøveopparbeidelse som benytter ulike helsefarlige stoffer, blant annet heksan. Den nye metoden benytter UPLC-MSMS som er et svært sensitivt instrument, dermed kan det benyttes en enklere prøveopparbeidelse med mindre rensing og oppkonsentrering. Instrumentet er dessuten raskere og krever mindre prøvevolum enn sin forgjenger, HPLC-MS. Prøveopparbeidelsen vil derfor endres til proteinfelling med acetonitril (ACN) og filtrering med Ostro™-plate. Dette vil redusere bruken av helsefarlige stoffer i MOSER i fullblod. Hamilton pipetteringsrobot vil implementeres og erstatte manuell pipettering for overføring til Ostro™-plate, som gjør metoden mer automatisert. Ved sammenslåing og overføring av de gamle metodene til UPLC-MSMS vil analysering av MOSER-analyttene bli mer effektivisert. Dette medfører tids- og kostnadsbesparelser, og reduksjon i forbruket av intern standard (IS) og reagenser.

For videre effektivisering av metoden ønsker avdelingen å gå over til standardrekker av serummatriser fremfor standardrekker av blodmatriser. Dette fordi de fleste analyttene generelt har bedre holdbarhet i serum, samt for å unngå ekstraarbeid og redusere kostnader knyttet til tillaging og bruk av standardrekker. I dette prosjektet vil det bli undersøkt om dette kan gjøres, da en serumstandard og fullblodstandard kan gi ulike resultater.

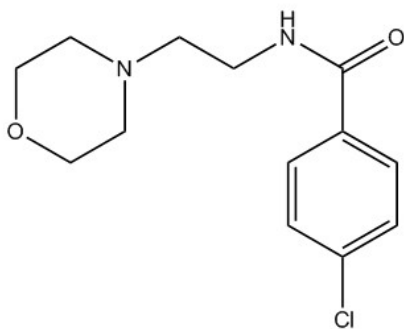
Som en del av valideringen til MOSER i fullblod, vil signal-til-støy (signal-to-noise, S/N) for standarden av lavest konsentrasjon (Std1) i fullblodmetoden sammenlignes med S/N for Std1 i serummetoden. S/N i fullblod vurderes også opp imot avdelingens krav for fullblodmetoder. Dette gjøres for å avgjøre om nedre kvantifiseringsgrense for fullblodmetoden kan settes lik grensen i serummetoden. Analysens presisjon og riktighet vil bli undersøkt, og det vil bli utført forsøk knyttet til holdbarheten til ferdig opparbeidede prøver. Det vil også bli utført forsøk som kommer utenom valideringen, men som kan være nyttige for å vurdere metodens egnethet som rutineanalyse: Ekstraksjonsutbytte i fullblod og tin/frys holdbarhet.



## 1.2. Analyttene

### 1.2.1. Moklobemid

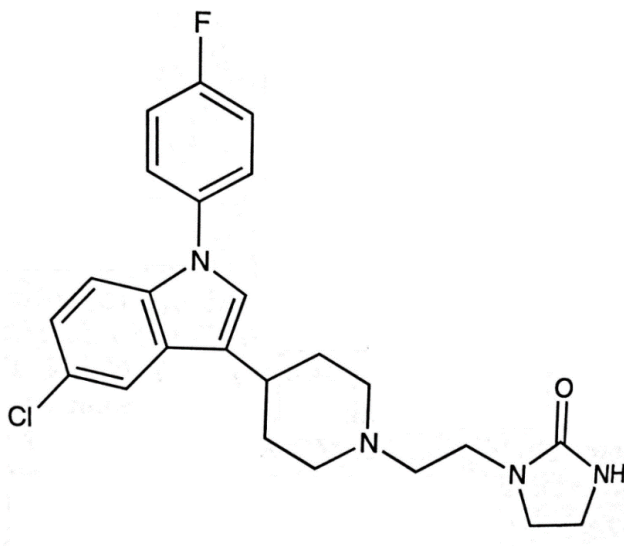
Moklobemid (se strukturformel i Figur 1.2-1) er et antidepressiva, som hemmer monoaminoksidase type A (MAO-A). Hemningen av dette enzymet fører til at nedbrytningen av noradrenalin, dopamin og serotonin avtar. Da akkumuleres disse neurotransmitterne i synapsespalten, og det oppstår en antidepressiv effekt. Dette demper vanligvis symptomer som ulystfølelse, tretthet, initiativløshet og konsentrasjonsvansker.(1–3)



Figur 1.2-1 viser strukturformelen til moklobemid.(4)

### 1.2.2. Sertindol

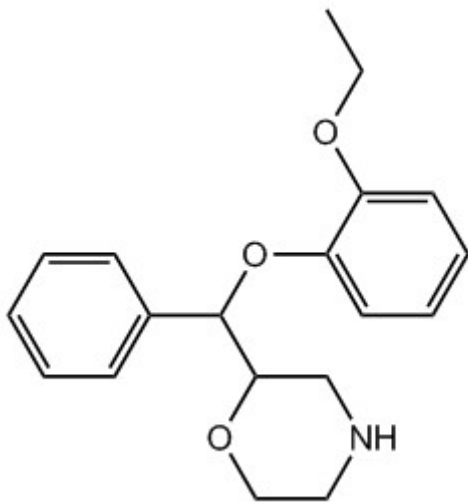
Medikamentet sertindol (se strukturformel i Figur 1.2-2) fungerer antipsykotisk og benyttes til behandling av schizofreni. Medikamentet inhiberer effekten av mesolimbiske dopaminerge nevroner og dopamin D2-, serotonin 5HT2- og  $\alpha$ 1-adnerge reseptorer. Inhiberingen av den mesolimbiske bane vil dempe ekstrem adferd og følelser hos schizofrene. Serotoninreseptor inhiberingen vil kunne dempe aggressiv atferd, mens inhiberingen av  $\alpha$ 1-adnerge reseptorer vil føre til at arterier dilateres, noe som gir et fall i blodtrykk og mindre tilfeller av angst.(5,6)



Figur 1.2-2 viser strukturformelen til sertindol.(7)

### 1.2.3. Reboksetin

Reboksetin (se strukturformel i Figur 1.2-3) er et medikament som blir forskrevet ved behandling av akutte depresjoner, og som videre blir benyttet til vedlikeholdsbehandling av pasienter som har hatt god respons på behandlingen i første omgang. Det benyttes spesielt til depresjoner preget av tilbaketrekning, nedsatt sosialisering og redusert energi. Reboksetin er en meget kraftig og selektiv noradrenalinreopptakshemmer, men medikamentet har også en svak hemming på serotonin reopptak. Ved hemming av noradrenalin reopptak til nervecellene, vil dette hormonet akkumuleres i synapsespalten og føre til nedregulering/desensitivisering av  $\beta$ - og  $\alpha_2$ -reseptorer.  $\alpha_2$ -reseptorer regulerer normalt frigjøring av noradrenalin, men ved blokkering vil det uhemmet frigjøres mer noradrenalin fra postsynaptisk celle ut i synapsespalten. Ved blokkering av  $\beta$ -reseptorene vil hjertets slagkraft og frekvens reduseres. Organismens metabolisme og hjertearbeid reduseres, dermed reduseres også blodtrykket og hjertets oksygenbehov noe som vil motvirke angst.(8,9)



Figur 1.2-3 viser strukturformelen til reboksetin.(7)

### 1.3. Prøveopparbeidelse

Før analysen utføres det en prøveopparbeidelse for å eliminere faktorer i prøvematerialet som kan ødelegge for analysen. Det kan være komponenter i prøvematerialet som kan skade analysesystemet eller interferere med analytten. Dersom en analytt gir signaler som ligger under nedre kvantifiseringsgrense i metoden, vil det være nødvendig å oppkonsentrere prøvene. Uønskede komponenter kan fjernes fra prøven for eksempel ved å isolere aktuell analytt eller ved rensing. Det finnes ulike metoder for prøveopparbeidelse: Væske-væske ekstraksjon, fast-fase ekstraksjon og felling med filtrering. Ved en prøveopparbeidelse vil ikke den fullstendige mengden av analytten bli overført. Det er derfor viktig å benytte en intern standard (IS) for å veie opp for tapet, dette beskrives ytterligere i avsnitt 1.4.2.(10)

Den høye sensitiviteten til en UPLC-MSMS analyse gjør at en enklere prøveopparbeidelse er tilstrekkelig for å oppnå gode analyseresultater. Det er likevel viktig å få eliminert komponenter i prøvematerialet som kan gi matrikseffekt. Dette er uønskede komponenter i prøvematriks som blant annet kan påvirke MS-responsen, og da spesielt komponenter som gir forsterkning eller suppressjon av ioner. Effekten oppstår blant annet ved at disse komponentene forlater kolonnen sammen med analytten og virker inn på ioniseringsprosessen i MSMS, som beskrives mer detaljert i avsnitt 1.6. Matrikseffekt vil føre til dårligere presisjon, selektivitet og sensitivitet for analysen.(11)

For MOSER i fullblod innebærer prøveopparbeidelsen proteinfelling med ACN og filtrering med Ostro™-plate. Proteinene må fjernes fra prøvematerialet, fordi de bidrar til matrikseffekt i analysen. Ved tilsats av ACN vil proteinene i prøvematerialet denatureres. Da felles proteinene ut, og den andelen av medikamentet som er bundet til proteiner blir frigjort i løsningen. Fosfolipider har en sterk ionisk natur, og utgjør hovedkilden til matrikseffekt i plasma ved at de påvirker ioniseringen i MS og skaper ionesuppressjon. Det er derfor viktig å få eliminert fosfolipidene før analysering. Dette skjer i fellingstrinnet der en Ostro™-plate (filtreringsplate) benyttes for å fjerne fosfolipider og rester av utfelte proteiner i prøven.(3,11–14)

## 1.4. Standarder, kontroller og prøvemateriale

### 1.4.1. Standardrekke og kvalitetskontroll

Ved kromatografianalyser kan kvantitering utføres med ulike metoder, en av disse metodene kalles *ekstern standard*. Det er denne som benyttes i MOSER i fullblod, i kombinasjon med intern standard. Ved ekstern standard-metoden lages det en kalibreringskurve ved å analysere kalibratorløsninger med kjente konsentrasjoner av analytten, og plote respons (ratio mellom  $\text{areal}_{\text{analytt}}$  og  $\text{areal}_{\text{IS}}$ ) som en funksjon av konsentrasjon. Analytten kan kvantiteres ved å benytte tilhørende kalibreringskurve, da kurven også er påvirket av recovery i metoden. For å finne konsentrasjonen kan responsen til analytten settes inn i en kalibreringsligning eller brukes i kalibreringskurven. Når det inngår en prøveopparbeidelse i metoden, må det lages kalibratorløsninger ved å tilsette ønskede konsentrasjoner av analytter til blank-prøver. Disse løsningene må, sammen med prøvene, gjennomgå prøveopparbeidelsen før de analyseres. En slik kalibreringsmetode egner seg best i metoder der volumet kan kontrolleres, noe som er tilfelle for en UPLC-analyse med proteinfelling.(12)

Kvalitetskontroller er essensielle for å bekrefte at kalibreringen blir riktig, og at analysen dermed gir korrekte svar på ukjente prøver. Kontrollene kan være eksterne eller interne og de kan kjøpes kommersielt eller lages internt. Kontrollene bør helst ha samme matriks som prøvene som skal analyseres og det bør benyttes kontroller i minst to ulike konsentrasjonsnivåer. For legemidler bør konsentrasjonsnivåene til kontrollene dekke både terapeutisk nivå og toksisk nivå av analytten i pasientprøver. Dersom kontrollmaterialet ikke er lett tilgjengelig kommersielt kan dette lages i laboratoriet. Dette er som regel også billigere. Disse lages ved at ren analytt veies ut og løses i ønsket matriks til ønsket konsentrasjon. For å overvåke kvaliteten på analysen kan kontrollene plottes grafisk i et Levey-Jennings-plot. Dette plottet tolkes som regel ved hjelp av Westgard-regler, men det kan også benyttes andre typer kontrollregler.(15)

MOSER i fullblod kalibreres med ekstern standard-metoden. Her benyttes flere kalibratorer i stigende nivå, som gjerne kalles for en standardrekke. Det tas også med intern standard til aktuelle analytter under prøveopparbeidelsen. Standardrekken og interne kontroller som benyttes i MOSER i fullblod er tilsvarende de som blir benyttet i serummetoden, og består av standard1-4 (Std1-4) og kvalitetskontroll1-3 (QC1-3). Std1 skal helst ha en konsentrasjon ved analyttens nedre kvantifiseringsgrense, mens konsentrasjonsnivåene for kontrollene er valgt ut

for å dekke kalibreringsområdet. Std1-4 og QC1-3 lages av materiale fra Avdeling for immunologi- og transfusjonsmedisin (blodgiverblod /serum) som tilsettes legemidlene moklobemid, sertindol og reboksetin. Det tas også med en Std0 som benyttes som en blank, og består av matriks som ikke inneholder noen av analyttene.(3,16)

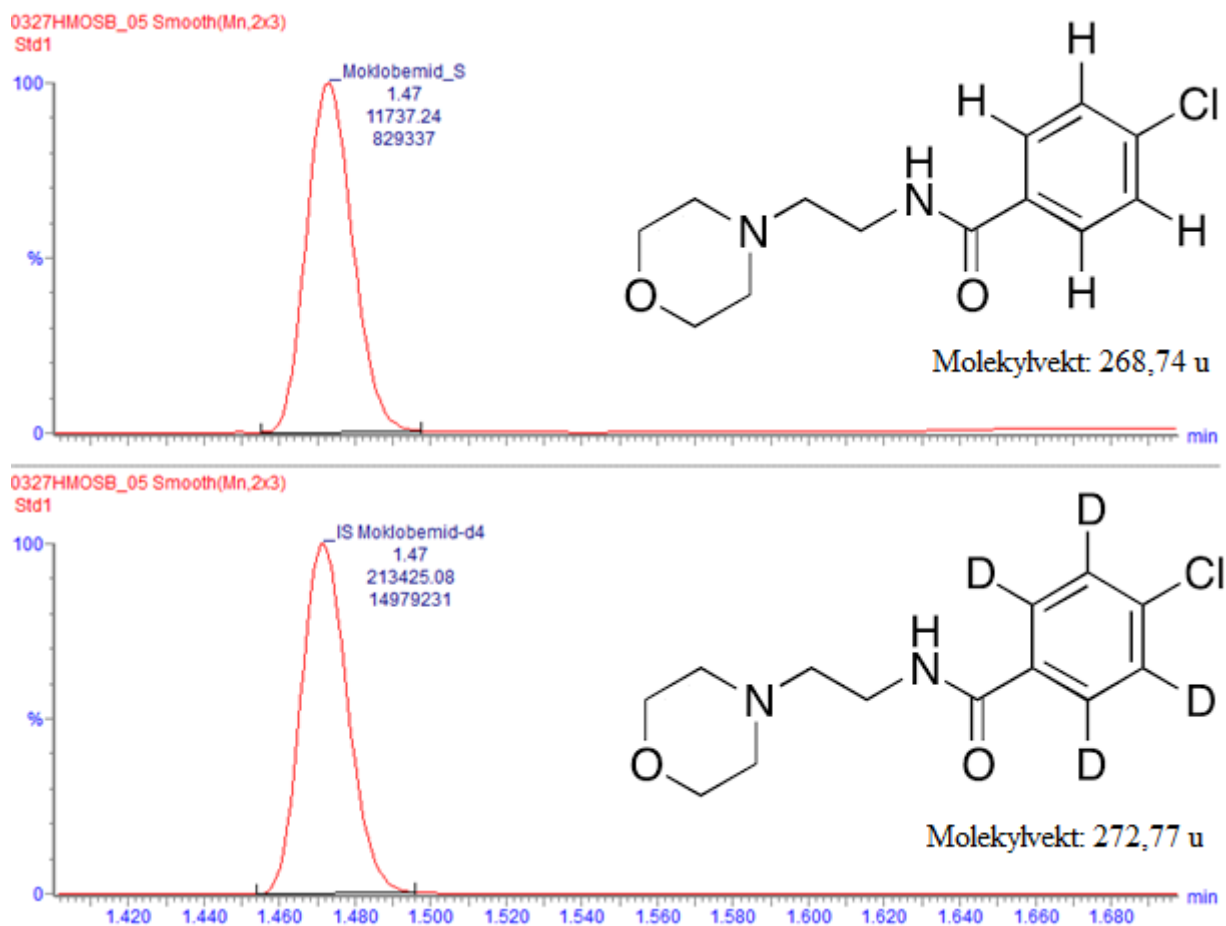
#### 1.4.2. Intern standard

En intern standard er et stoff som tilsettes Std, QC og prøver for å korrigere for tap av analytt under prøveopparbeidelse, og variasjoner som oppstår under analysing. Konsentrasjonen av tilsatt IS bør tilsvare et signal omtrent ved midten av måleområdet for analytten. For å velge ut et stoff som skal benyttes som IS i en analyse er det en rekke kriterier som må oppfylles:

- Det må være mulig å separere det fra andre stoffer som forekommer i matriksen.
- Det må ikke forekomme i matriksen naturlig.
- Det bør ha en retensjonstid ( $t_R$ ) tilnærmet lik analytten som skal bestemmes.
- De kjemiske egenskapene bør likne analyttens. Dette er spesielt viktig ved enkelte typer prøveopparbeidelse som benytter seg av analyttens spesielle kjemiske egenskaper.
- Det må være inert mot reagenser som benyttes i metoden og andre stoffer i matriks.
- Stoffet bør benyttes i sin rene form.(10)

Dersom det skal bestemmes flere analytter samtidig i en metode, kan det være nødvendig å benytte flere IS. IS skal tilsettes i lik mengde og konsentrasjon til alle standarder, kontroller og prøver før prøveopparbeidelsen utføres. Variasjoner og tap kan skje blant annet ved proteinfelling, overføring av prøvemateriale og filtrering. Under UPLC-MSMS analysen kan det også oppstå variasjoner i injeksjonsvolum, og ionisering.(13)

For MOSER benyttes IS lagd fra renstoff med deuteriummerkede analytter: Moklobemid- $d_4$ , sertindol- $d_4$ , reboksetin- $d_5$ . “d”-en står for deuterium, og tallet bak står for antall hydrogenatomer som er byttet ut med deuterium. Deuterium er en hydrogenisotop med ett ekstra nøytron. Analyttene som er merket vil veie omtrent 1 u mer per deuterium sammenlignet med umerket analytt, se eksempel i Figur 1.4-1. Ved å benytte deuteriummerkede analytter tilfredsstilles alle nevnte kriterier for å kunne benytte dette stoffet som IS i analysen.(17)



Figur 1.4-1 viser kromatogram og strukturformel til moklobemid og tilhørende IS, moklobemid-d4. Vekten mellom analytt og IS viser en forskjell på omtrent 4 u. (Skjerm bilde: TargetLynx og analysesertifikat)

### 1.4.3. Postmortale prøver

Postmortale prøver (prøver tatt etter døden inntraff) kan komme i mange former, men blodprøver er vanlig. Slike prøver brukes oftest til å stadfeste dødsårsak. Ved mistanke om påvirkning av kjente medikamenter og/eller andre stoffer, vil konsentrasjonen av disse bli undersøkt. Ettersom prøvene blir tatt post mortem må det tas hensyn til endringer som oppstår når avdødes kropp begynner å dekomponere, og prosesser som autolyse inntreffer. (18)

Postmortal redistribusjon er en av endringene som skjer i kroppen. Enkelte medikamenter kan opptre i lave konsentrasjoner i blodet, men kan være bundet i store mengder til ulikt vev. Etter døden inntreffer, vil disse medikamentene "løsne" fra vevet og diffundere fritt ut i blodet.

Dette vil gi en høyere konsentrasjon av medikamentet i blodet i enkelte deler av kroppen, da blodet ikke lenger sirkulerer. Medikamenter som fremdeles ligger i mage-tarm post mortem,

vil absorberes og skape høyere konsentrasjoner enn det var på dødstidspunktet. Medikamenter som stort sett befinner seg i serum vil få lavere konsentrasjoner på grunn av hemolyse. Det terapeutiske område til et medikament i serum kan gi en pekepinn på hvor store konsentrasjoner pasienten hadde i blodet før sin død, men egne terapeutiske områder for postmortale prøver i fullblod må benyttes for å konkludere om pasienten hadde et toksisk nivå.(18)

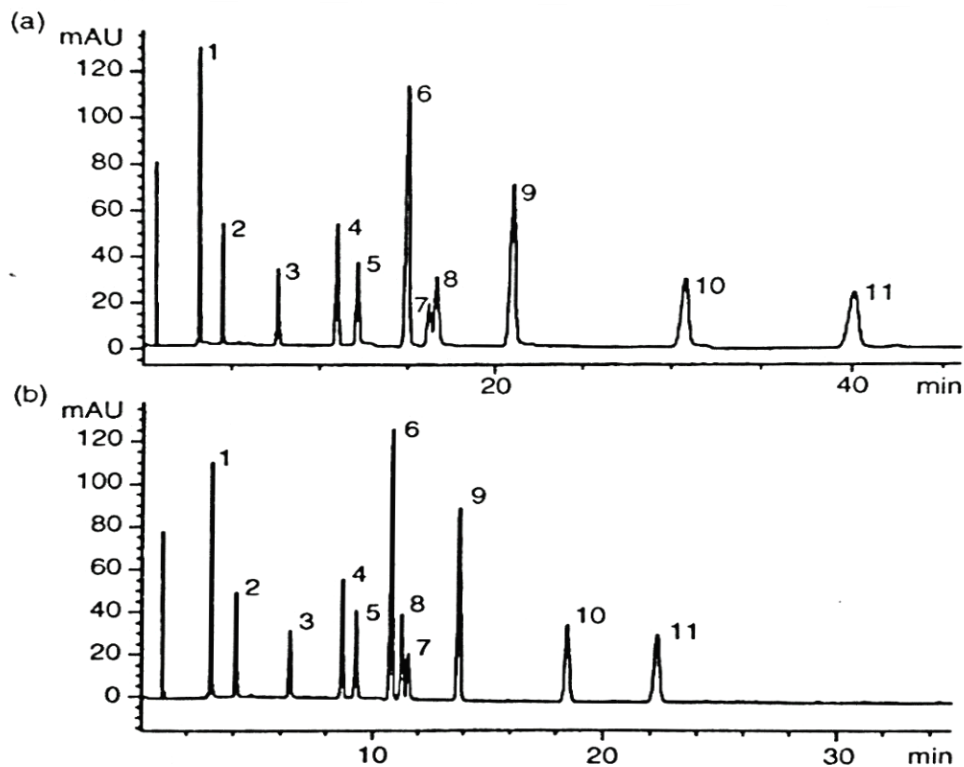
Postmortal endring i blodet skyldes i stor grad autolyse. Røde blodceller lyses og intracellulær væske strømmer ut. Denne væsken vil endre konsentrasjonsforholdet i blodet og føre til fall av pH. Intracellulær væske inneholder i tillegg en rekke enzymer som vil fortsette sine metabolske prosesser. Bakterier, som etter hvert vil invadere blod og vev, kan også bidra til de metabolske prosessene. Som følge av dette kan konsentrasjonen av ulike stoffer endres etter døden. Et eksempel er at blodsukker omdannes til etanol som fører til at den avdøde kan få falskt påvist promille. Endringen av pH vil føre til mer permeable membraner og dermed friere flyt til ekstracellulært rom. Medikamentets forhold mellom plasma/serum og blod kan variere mye. Eksempelvis ved hemolyse kan mengden av medikamentet amplifiseres dersom mesteparten er bundet til røde blodceller, eller reduseres dersom det aller meste allerede befinner seg i serum og væskevolumet øker. Post mortem vil blodet først koagulere før det blir flytende igjen. Avhengig av når blodprøven tas vil blodet være flytende, delvis klottet, eller fullstendig klottet. Etter at blodet har blitt flytende igjen kan det dannes sedimenter av cellulære komponenter inne i blodårene. Det er på grunn av alle disse prosessene at postmortalt blod analyseres som fullblod.(18)

### *Innveing*

Rettsmedisinske blodprøver ankommer i glass (25 ml) som er tilsatt mettet NaF-løsning (300 µl). Prøvene blir veid ut, heller enn pipettert, på grunn av den store variasjonen i viskositet på prøvematerialet. En følge av dette er at hele prøveopparbeidelsen ikke kan automatiseres ved hjelp av Hamilton pipetteringsrobot. Dermed må også standarder og kontroller opparbeides manuelt, da de skal behandles likt som prøvene.(19)

## 1.5. Kromatografi

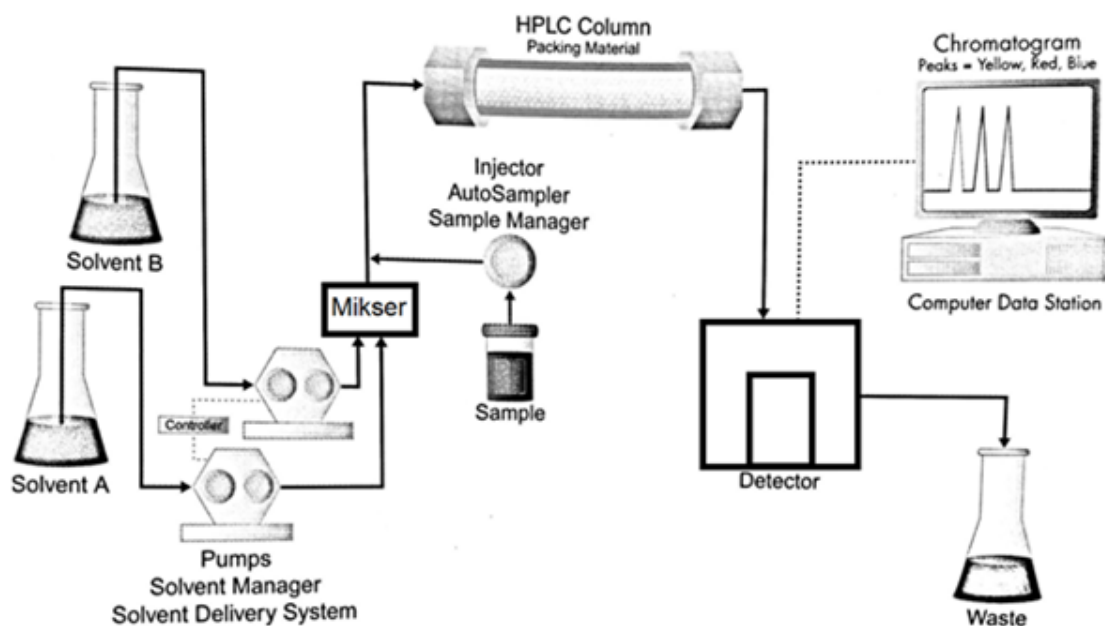
Kromatografi er en fellesbetegnelse på separasjonsmetoder hvor ulike stoffer skilles fra hverandre. Slike separasjonsmetoder benytter enten væske eller gass som mobilfase (MF) og væske eller fast stoff som stasjonærfase (SF). Mobilfasen er det bevegelige mediet i systemet, den fasen som prøven transporteres i, og den kan bestå av en blanding av flere ulike løsninger. MF transporterer prøven gjennom SF, som er en stillestående fase. SF vil redusere hastigheten til stoffer i prøvemateriale som har høyere affinitet til SF enn til MF. Separasjonsprinsippet som benyttes kan eksempelvis være basert på stoffenes størrelse, løselighet eller polaritet. Dersom separasjonen benytter polaritet til å separere stoffene, vil en av fasene bestå av upolare forbindelser, mens den andre vil bestå av polare forbindelser. Kromatografianalysen kan da være normalfase, der SF består av polare stoffer og MF av upolare stoffer, eller omvendt fase der MF består av polare stoffer og SF av upolare stoffer.(10)



Figur 1.5-1 viser to kromatogram av samme stoff hvor signalet (mAU) er plottet på y-aksen og retensjonstiden (i minutter) på x-aksen. (a) er analysert med isokratisk eluering og (b) med gradient eluering.(12)



Det finnes en rekke parametere som kan manipuleres for å påvirke separasjonen og som er med på å bestemme hvor god separasjonen blir. Disse parameterne er blant annet: Type SF og MF, lengde og eventuelt diameter på SF-festeanordning, trykk og temperatur. Under en LC-analyse kan det benyttes en isokratisk eluering eller en gradient eluering. I en isokratisk eluering vil sammensetningen av MF være konstant under hele analysen. Ved en gradient eluering vil sammensetningen av løsningene i MF endres i løpet av analysen. Dette kan være et nyttig verktøy for å skille to stoffer med omtrent lik  $t_R$  eller redusere analysetiden ved å fremskynde siste rest av prøven, se Figur 1.5-1. Endring av temperatur og trykk kan også påvirke separasjonen.(10,20)



Figur 1.5-2 viser en skematisk oversikt over de ulike komponentene i en LC, samt hvordan MF med prøve føres igjennom analyseinstrumentet.(20)

LC er en kromatografisk metode som kan skille stoffer basert på flere separasjonsprinsipper innenfor kromatografi. Ved denne metoden må prøvematerialet være løselig med MF for å kunne bli transportert gjennom en kolonne. Kolonnen er et rør hvor SF, i form av små, faste partikler er pakket tett sammen. MF med prøvemateriale pumpes gjennom kolonnen med SF og videre til en detektor, se Figur 1.5-2. High-performance liquid chromatography (HPLC) og Ultra-high-performance liquid chromatography (UPLC/UHPLC) er to av de vanligst brukte metodene innenfor LC. Mens HPLC kan benytte kolonner med partikler i størrelsesorden 5  $\mu\text{m}$  og et trykk på opptil 400 bar, kan UPLC benytte kolonner med partikler på 1,7  $\mu\text{m}$  og trykk opp til 1241 bar. Sistnevnte gir en raskere analysetid og bedre oppløsning.(21)

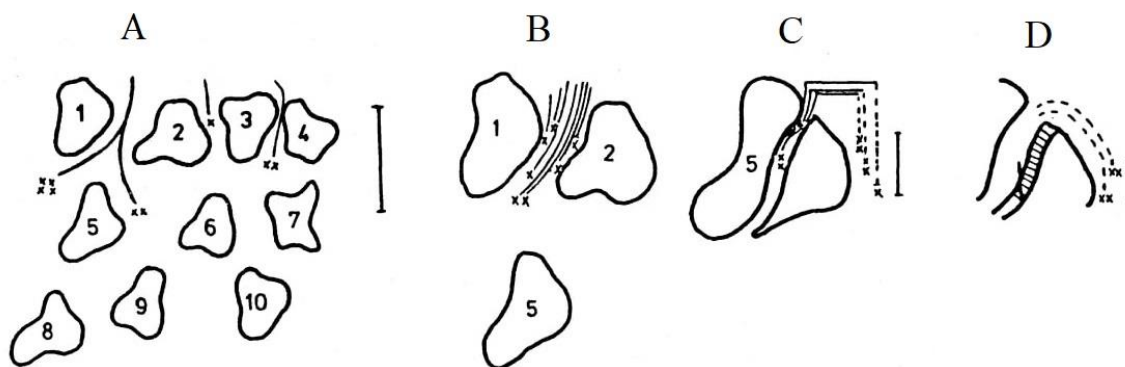
Oppløsningsevne er et mål på effektiviteten til kolonnen og benyttes for å beskrive graden av separasjon mellom to stoffer. De ulike stoffene i prøvematerialet blir skilt fra hverandre basert på deres interaksjoner med SF og MF, og vil forlate kolonnen på ulike tidspunkt. Tiden stoffet bruker på å komme seg gjennom kolonnen kalles retensjonstid ( $t_R$ ) og brukes til bestemmelse av stoffet. Dette gjøres ved å sammenligne  $t_R$  til ukjent stoff med  $t_R$  til kjente stoff. Noen stoffer vil ha ganske lik eller tilnærmet lik  $t_R$ , da må en eller flere av parameterne for separasjonen endres for å skape større separasjon. En detektor vil registrere  $t_R$  og mengden stoff som kommer ut av kolonnen. Det finnes en rekke ulike detektorer som kan benyttes i samarbeid med LC, deriblant UV- detektor og massespektrometer. Informasjonen fra detektoren brukes til slutt til å lage et kromatogram.(10,20,22,23)

MOSER i fullblod benytter UPLC med omvendt fase. Polariteten til stoffene avgjør hvordan de interagerer med SF og MF og fører til separasjon. I metoden er MF sammensatt av to ulike løsninger med en gradient eluering. MSMS benyttes til å filtrere og detektere stoffene som kommer ut av kolonnen.

### *Kromatogram fra LC*

Et kromatogram gir en visuell fremstilling av informasjonen fra detektoren, hvor signalet til stoffmengden settes som funksjon av  $t_R$ , se Figur 1.5-1. Kromatogrammet kan fortelle noe om graden av separasjon mellom ulike stoffer i prøven, deres  $t_R$  og mengden av hvert stoff. Mengden bestemmes ved hjelp av signalet, som arealet eller høyden til kromatogrammet. For å beskrive graden av separasjon benyttes en rekke begrep: Båndspredning,  $t_R$ , Gauss-kurve og båndseparasjon.(10)

Båndspredning, bredden på søylen til et stoff, oppstår naturlig ved kromatografisk separasjon. Årsaken til dette er flere fysiske prosesser som sprer molekylene i kolonnen slik at noe av stoffet kommer ut litt før og litt etter hovedandelen. Disse prosessene kalles: Eddy diffusjon, massetransport i MF, massetransport i stillestående MF og massetransport i SF. Prosessene er visuelt fremstilt i Figur 1.5-3.(10)



Figur 1.5-3 viser eddy diffusjon (A), massetransport i MF (B), massetransport i stillestående MF (C) og massetransport i SF (D).(10)

*Eddy diffusjon* oppstår når det dannes ulike strømninger i MF inne i kolonnen. Dette gjør at molekylene til stoffet beveger seg ulikt gjennom SF. Desto større rom det er mellom partiklene i SF, desto raskere vil MF kunne transportere analytten igjennom. *Massetransport i MF* viser til forskjellen i hastighet innenfor en enkelt strømning. Analytter som befinner seg nærmere SF vil bevege seg langsommere enn de analyttene som befinner seg midt i passasjen. *Massetransport i stillestående MF* viser til når analytten i MF presses inn i en av porene til SF og blir stillestående. Stoffer diffunderer inn og ut av disse porene, og hvor langt de diffunderer inn påvirker hvor lang tid de vil bruke på å bli diffundert ut igjen og fortsette gjennom kolonnen. *Massetransport i SF* viser til når noen molekyler av analytten diffunderer langt inn i SF eller på annen måte festes til SF. Da vil de bevege seg kortere i kolonnen, enn de andre molekylene av analytten, ved en gitt tid. I tillegg til disse prosessene finnes også *longitudinal diffusjon* som vil sørge for båndspredning uten innvirkning fra SF eller strømninger i MF. Denne prosessen baserer seg på tendensen stoffet har til å diffundere bort fra et område med høy konsentrasjon langs en søyle.(10)

Som en sum av disse prosessene vil molekylene til et stoff, statistisk sett, fordeles og detekteres som en symmetrisk kurve. Den ideelle topp-formen til kromatogrammet kalles en Gauss-kurve og  $t_R$  settes ved toppunktet. Det kan oppstå avvik fra denne formen, og det snakkes da gjerne om asymmetri, tailing og fronting. Båndspredningen, oftest omtalt som båndbredden, kan beregnes ut ifra kurvens krysning med grunnlinjen. Det ønskes å minimere effekten av alle disse prosessene slik at båndbredden blir smalest mulig. Dette gir bedre separasjon av ulike stoffer, spesielt dersom  $t_R$  ligger tett opp mot hverandre. Båndseparasjon forteller noe om hvor godt systemet klarer å skille to nærliggende bånd. Større forskjell gir bedre separasjon.(10)

## Asymmetri

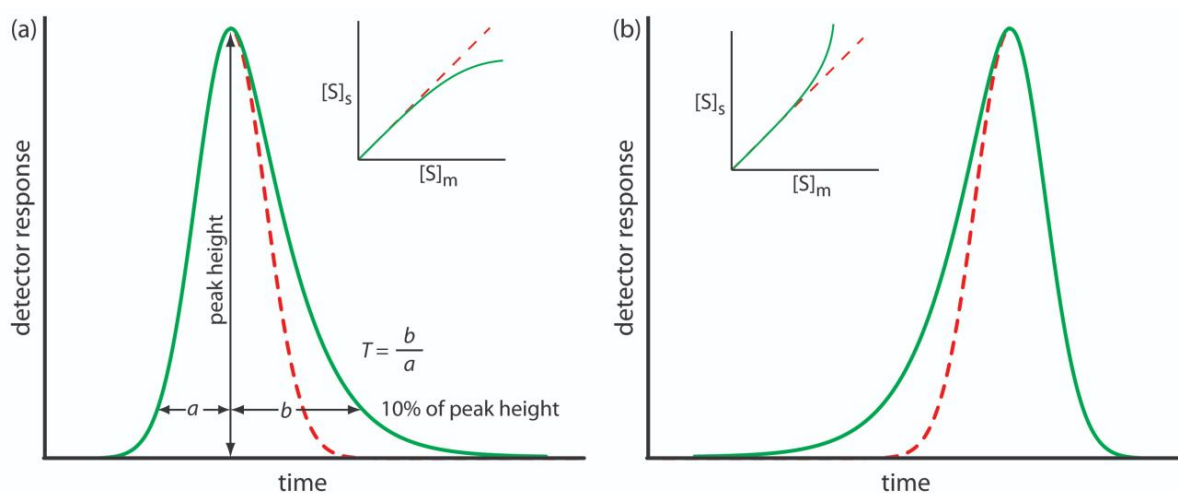
I kolonnen vil analytten fordele seg mellom MF og SF i et likevekts forhold, i samsvar med Formel 1.5-1, der distribusjonskonstanten ( $K_c$ ) gir et mål på analyttens tendens til å adsorberes i SF.  $K_c$  sier noe om migrasjonsraten til analytten gjennom kolonnen, en høy  $K_c$  tilsvarer en lav retensjonstid.

**Formel 1.5-1 for beregning av distribusjonskonstanten, der  $[S]$  vil si analyttens konsentrasjon.**

$$K_c = \frac{[S]_{MF}}{[S]_{SF}}$$

Ved den konsentrasjon av analytten der  $K_c$  er konstant, er  $[S]$  adsorbent i SF direkte proporsjonal med  $[S]$  i MF. Da er systemet lineært og den kromatografiske toppen som oppstår vil være symmetrisk, med ideell Gauss distribusjon (Figur 1.5-4). Gauss distribusjon er den teoretisk ideelle topp-fasongen i en kromatografisk analyse, der kurven er normalfordelt. Det gjennomsnittlige molekylet vil befinne seg ved midten av kurven, der toppen har sin maksimale høyde.(23)

Blant annet ved økte analyttkonsentrasjoner vil det etter hvert kunne observeres avvik fra den lineære grafen ved at den blir asymmetrisk. Asymmetri kan oppstå enten som tailing, eller som fronting i grafen. Tailing ses som topper med hale i etterkant, mens fronting ses som topper med hale i front. Både tailing og fronting kan føre til forskyvning av  $t_R$  i en kromatografisk analyse. Grafens asymmetri kan oppgis som asymmetrifaktor T, som er forholdet mellom avstanden a (fra midten av toppen til venstre utkant) og b (fra midten av toppen til høyre kant) målt ved 10 % av toppens maksimale høyde.(23)



Figur 1.5-4 viser ulike topp-former i kromatogrammet, samt fordeling av et stoff mellom SF og MF. Rød stiplet linje viser en Gauss-kurve, grønn linje viser ikke-ideelle kurvefasonger. I graf (a) viser grønn kurve tailing, mens i graf (b) viser grønn kurve fronting. I tillegg er beregning av asymmetrifaktor T vist i figur (a). (24)

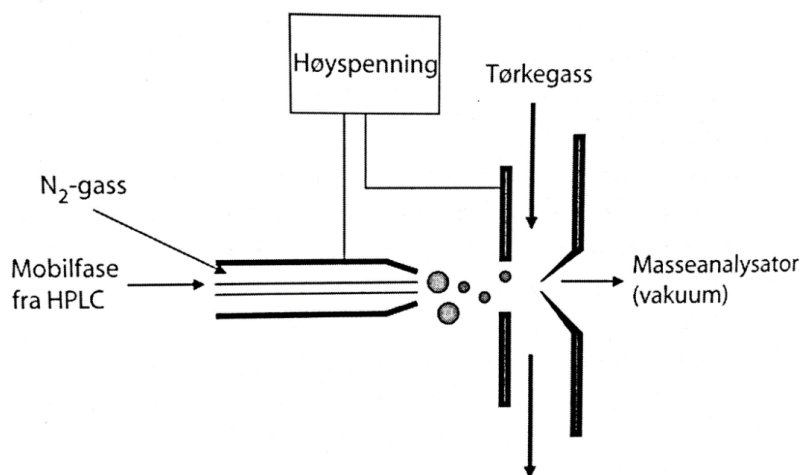
Tailing (Figur 1.5-4(a)) kan oppstå når noen områder av SF holder sterkere på analytten enn andre områder. Ved tailing vil  $K_c$  øke, og som vist i figuren vil det være en høyere konsentrasjon av analytten i MF, enn ved en ideel Gauss-kurve. Dette kan blant annet skje ved høye konsentrasjoner av analytten i en prøve, ved at adsorbsjonssteder i SF blir mettet og det ikke kan adsorberes flere molekyler. En av mekanismene for tailing er at de første molekylene som kommer inn i kolonnen adsorberes på de mest aktive bindingssetene i SF. For molekylene som kommer etter, vil overflaten i SF være mye mindre aktiv og adsorbere mindre analytt. Dette skjer spesielt dersom SF har områder som kan danne hydrogenbindinger med analytten. Ved tailing vil retensjonstiden for en gitt analytt synke når prøvemengden øker. (23–25)

Ved fronting (Figur 1.5-4(b)), som er mye mer uvanlig enn tailing, vil en større konsentrasjon av analytt være bundet til SF og dermed synker  $K_c$ . Dette er oftest et resultat av at det injiseres for stor mengde av prøven. Det kan også skyldes at de første bundne molekylene av analytt fremmer binding av mer analytt, ved at adsorbent analytt fungerer som et bindingssete i seg selv. Ved fronting vil  $t_R$  øke ved økt mengde prøve. (23–25)

## 1.6. Massespektrometri

Et massespektrometer benyttes til å undersøke massen av ioniserte molekyler, ved å registrere deres masse/ladning-ratio ( $m/z$ -ratio). Denne analysemetoden kalles massespektrometri. Et massespektrometer består av tre sentrale komponenter: Ionekilden, masseanalysatoren og detektoren.(26)

Ionekilden har som oppgave å konvertere analyttene i prøven til ioner. Denne konverteringen av nøytrale molekyler kan bli gjort på flere måter. For eksempel ved å benytte *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization (MALDI)*, *electron ionization (EI)* eller *elektronspray-ionisering (ESI)*. I metoden for MOSER benyttes *elektronspray-ionisering i positiv modus (ESI+)* for å konvertere analyttene til positive ioner. Metoden forutsetter at MF er en flyktig væske.(22,26)

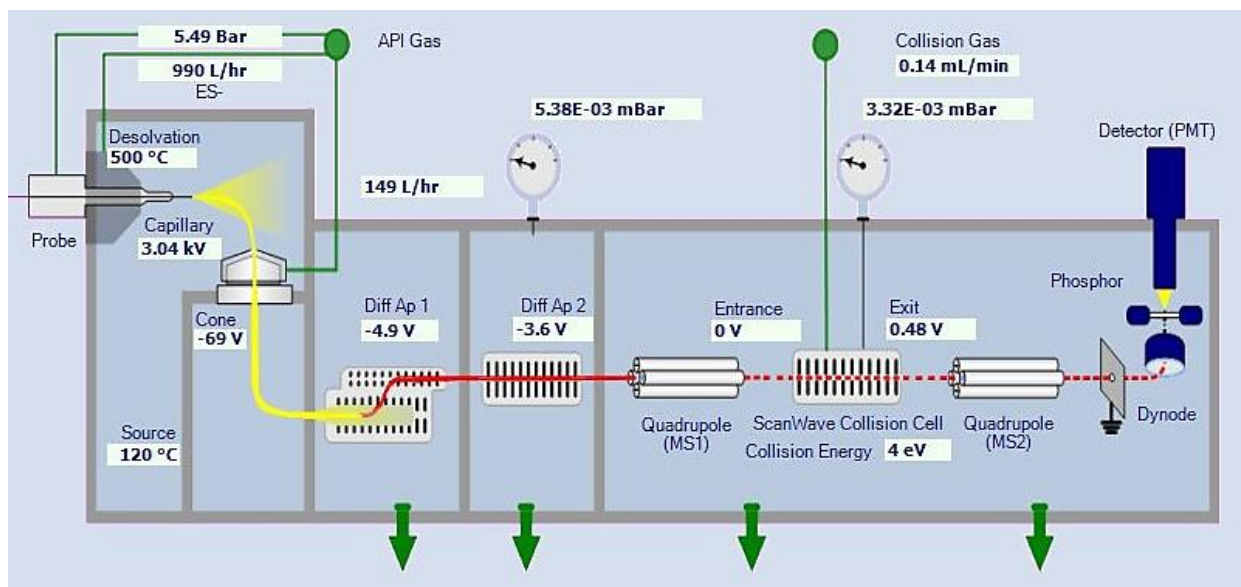


Figur 1.6-1 viser skjematisk oppbygning av ESI+-modulen.(22)

Analyttene i MF vil bli ført inn i ESI+-modulen via en dyse, se Figur 1.6-1. Ved enden av denne dysen vil analyttene og MF bli forstøvet til aerosoler ved hjelp av en strøm av nitrogengass (N<sub>2</sub>-gass) som går parallelt med dysen. Utenfor dysen finnes det en sirkelformet elektrode (cone). Mellom denne elektroden og dysen vil det være et elektrisk felt med et elektrisk potensial på 2-5 kV. Dette feltet vil fordampe aerosolene og ionisere stoffene som er inne i dem. Masseanalysatoren står i vakuum og sammen med et fall i spenning vil det trekke på analyttene. De vil nå opptre som en ionestrøm og trekkes inn i masseanalysatoren. Den fordampede MF vil bli ført ut av masseanalysatoren via en gasstrøm som kalles tørkegass. Ved bruk av *ESI i negativ modus (ESI-)* vil en økning i spenning trekke på analyttene.(22,26)

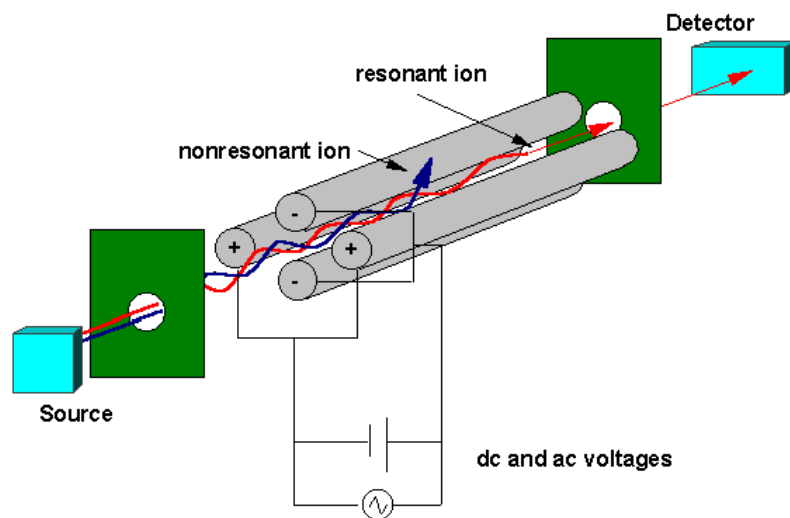
Analyseinstrumentet som benyttes i metoden for MOSER, *Xevo TQ-S*, er også utstyrt med en ionetransporteringsenhet, *StepWave*. Komponenten er montert imellom ESI+-modulen og masseanalysatoren og skal sørge for å transportere ioner til masseanalysatoren, mens nøytrale stoffer, som MF, aktivt fjernes.(27)

Masseanalysatoren har som oppgave å differensiere eller separere kationer og anioner basert på deres  $m/z$ -ratio, men også nøytrale molekyler fra ionekilden. Det finnes flere forskjellige masseanalysatorer, som for eksempel *time-of-flight* (TOF), singel kvadrupol masseanalysatorer eller MSMS. MOSER i fullblod benytter MSMS, som består av to kvadrupolanalysatorer (MS1 og MS2) og en kollisjonscelle som er plassert mellom dem, se Figur 1.6-2.(22,26)



Figur 1.6-2 viser en oversikt over MSMS (XEVO TQ-S) med enkeltkomponenter. Probe, capillary og cone utgjør ESI+-modulen. Diff Ap 1 og 2 utgjør ionetransportenheten, StepWave, MS1, ScanWave Collision Cell og MS2 utgjør masseanalysatoren. (Skjerm bilde: MassLynx)

En kvadrupolanalysator består av fire parallelle stenger som er pålagt et elektrisk felt. På en systematisk måte vil stengene i kvadrupolen skifte ladning og trekke på ionene som kommer ut fra ESI+-modulen. Ioner med passende  $m/z$ -ratio vil fraktes langs sentrum av kvadrupolen mens ionene som har høyere eller lavere  $m/z$ -ratio vil etter hvert avvike fra sentrum og bli fraktet ut av kvadrupolen. Slik vil passende ioner (resonante ion) sendes videre til detektoren, mens uønskede ioner (nonresonant ion) filtreres bort, se Figur 1.6-3.(22,26)

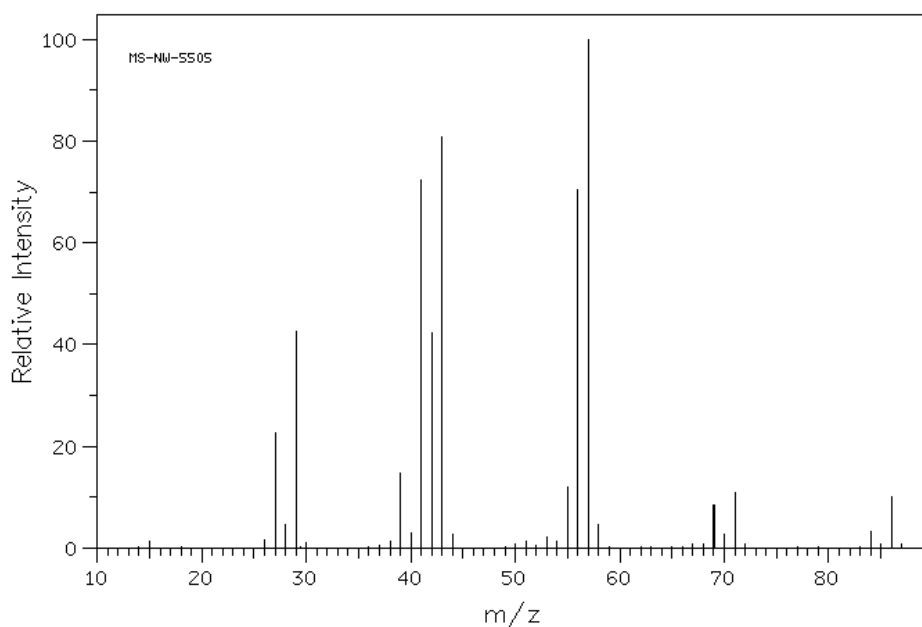


Figur 1.6-3 skjematisk oppbygning av en kvadrupol der stengene vekselvis skifter ladning hvor ioner med passende  $m/z$ -ratio vil gå videre til detektoren (resonant ion), mens resterende blir filtrert ut (nonresonant ion).(28)

Kvadrupolen blir kalibrert etter den kjente  $m/z$ -ratioen til analytten slik at den passere igjennom. Kollisjonscellen er annerledes fra kvadrupolene ved at den er lukket og inneholder en kollisjonsgass, i dette tilfellet argon. Kollisjonsgassen vil treffe analyttene og spalte dem opp i fragmenter med kjent  $m/z$ -ratio. Ionefragmentene vil så gå inn i neste kvadrupolanalytator hvor de utvalgte fragmentene vil bli sendt videre til detektoren mens resten filtreres ut.(26,27)

Detektoren vil registrere ionene i form av et signal. Signalet fra detektoren konverteres til digital informasjon og presenteres som et massespektrum, hvor  $m/z$ -ratioen er plottet på x-aksen og den relative signalstyrken på y-aksen, se Figur 1.6-4.



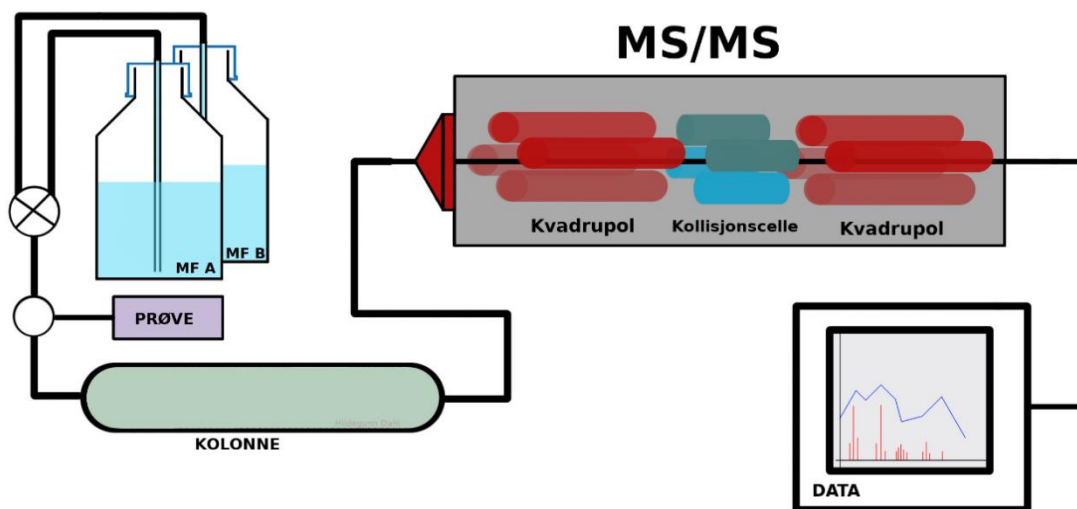


Figur 1.6-4 viser et massespekter med m/z-ratio på x-aksen og relativ intensitet på y-aksen. Fragmentet med 57 m/z er hovedionet.(29)

Y-aksen i et massespekter viser den relative signalstyrken til de forskjellige ionene i prøven. Høye topper tilsvarer stor andel ionefragmenter med samme m/z-ratio. Relativ signalstyrke beregnes ut ifra ionefragmentet med høyest signalstyrke. Dette fragmentet kalles hovedionet og blir satt til relativ signalstyrke 100 %, resterende fragmenter skaleres etter hovedionet. Signalstyrken vil være avhengig av hvor mye prøvemateriale som sendes inn i massespektrometeret.(22)

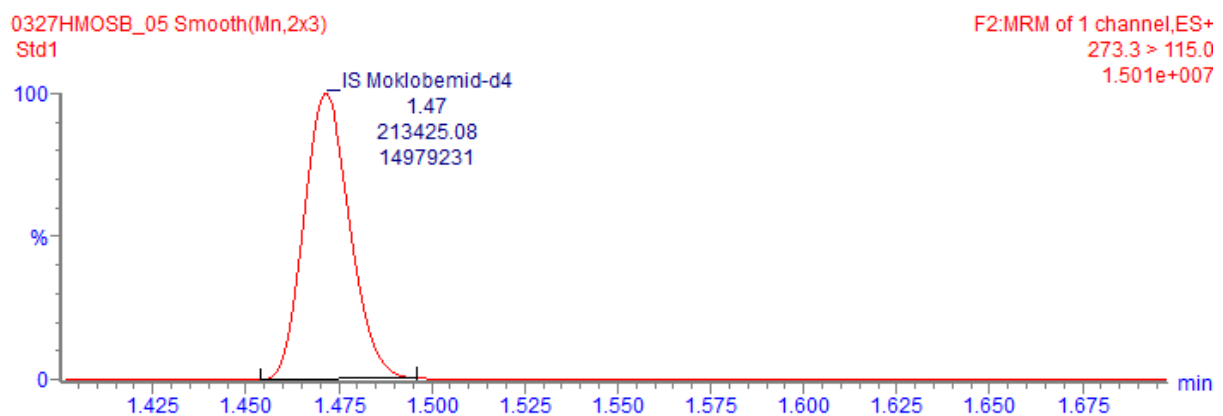
## 1.7. UPLC-MSMS

UPLC-MSMS er et analyseinstrument som kombinerer LC og MSMS, se Figur 1.7-1. Prøven vil først separeres i en kromatografisk kolonne og deretter føres inn i massespektrometeret, hvor den vil bli ionisert, fragmentert og filtrert basert på m/z-ratio. I hele denne prosessen vil massespektrometeret fungere som et filter og en avansert detektor.(21,26)



Figur 1.7-1 viser en skjematisk oversikt over instrumentet LC-MSMS.

I en UPLC-MSMS analyse vil resultatene bli presentert i et massekromatogram. I et massekromatogram vil relativ intensitet, målt i MSMS, plottes som en funksjon av retensjonstiden, se Figur 1.7-2.



Figur 1.7-2 viser et kromatogram av moklobemid intern standard. (Skjerm bilde: TargetLynx)

*Selected reaction monitoring* (SRM) eller *multiple reaction monitoring* (MRM) er metoder for kvantifisering av ionefragmenter i MSMS. Ved å benytte SRM detekteres det kun ett ionefragment, mens MRM kan detektere flere ionefragmenter av relativt lik  $m/z$ -ratio samtidig. Slike målinger vil ha svært høy følsomhet siden bakgrunnsstøy fra andre ioner har blitt eliminert av kvadrupolene i MSMS, og høy spesifisitet ettersom detektoren kun måler ionefragmenter med angitte  $m/z$ -ratioer.(26)

## 1.8. Validering

I et medisinsk laboratorium utføres validering først og fremst ved implementering av nye metoder, hvor valideringsdokumentasjon ikke allerede foreligger. De fleste diagnostiske leverandører vil sende med dokumentasjon som beskriver en metodes ytelsesevne, som for eksempel presisjon, utbytte og holdbarhet. Skulle dette være tilfelle er det kun nødvendig å utføre en verifisering av metoden, hvor det undersøkes om metoden fungerer som forventet. AKF benytter seg nesten utelukkende av egenutviklede metoder, og må dermed validere metodene før de kan benyttes.(30,31)

Omfanget av valideringsprosessen avhenger av en rekke faktorer. Først og fremst hva slags type analyse som skal implementeres og hvordan metoden skal benyttes, for eksempel kvalitativt eller kvantitativt, men også hvilken dokumentasjon som følger med metoden, altså hvilke undersøkelser som allerede er blitt gjort. Gitt denne variasjonen innad i valideringsprosessen, foreligger det ikke en fast valideringsprosedyre for alle metoder. Dermed anbefales det å lage en valideringsplan, hvor valideringsparametere og akseptkriterier er tilpasset den aktuelle metoden.(30)

Selv om valideringsprosedyrene vil variere er det fortsatt enkelte parametere som må undersøkes for at en valideringsplan skal være fullstendig. Disse er *klinisk nytteverdi*, *praktisk egnethet* og *analytisk kvalitet*. Klinisk nytteverdi omfatter analysens diagnostiske nøyaktighet, kliniske kvalitet, referansegrenser og beslutningskriterier, og er først og fremst evaluert av individer med medisinsk kompetanse. Disse parameterne skal hjelpe legen i å ta riktig beslutning. Praktisk egnethet blir ofte selvstendig vurdert av laboratoriet. Da undersøkes det hvor mye det vil koste å implementere og drifte metoden, holdbarheten til reagenser, datakommunikasjon og mye mer. Samlet vil dette vise konsekvensene av å implementere den nye metoden, med tanke på ressurser og miljø. Analytisk kvalitet, hvilke parametere som skal valideres, og hvilke krav som skal benyttes er helt avhengig av type analytt og metode. Vanlige parametere er blant annet riktighet, presisjon og interferens. Analytisk kvalitet vil gi et estimat på analysens evne til å gi mest mulig korrekt svar.(30–32)

Riktighet defineres som grad av overensstemmelse mellom sann verdi og målt verdi i en serie. I dette prosjektet vurderes riktigheten ved hjelp av %BIAS, som beregnes med Formel 1.8-1, og %avvik, som beregnes med Formel 1.8-2. Riktigheten vurderes også gjennom

gjenfinningsforsøk som ekstraksjonsutbytte, Formel 1.8-3. Analysens presisjon vil si i hvor stor grad uavhengige måleresultater som oppnås med denne metoden stemmer overens. Som et mål på presisjon beregnes standardavvik (SD), Formel 1.8-4, og variasjonskoeffisienten i prosent (%CV), Formel 1.8-5. Formelen for SD er samme formel som excel benytter i funksjonen STDAV.S, denne funksjonen antar at verdiene er et utvalg, og ikke hele populasjonen.(30,32)

**Formel 1.8-1 for beregning av %BIAS til gjennomsnittlig målt verdi.**

$$\%BIAS = \frac{\bar{x}_{M\ddot{a}lt} - x_{Teoretisk}}{x_{Teoretisk}} \times 100$$

**Formel 1.8-2 for beregning av %avvik.**

$$\%Avvik = \frac{x_2 - x_1}{x_1} \times 100$$

**Formel 1.8-3 for beregning av ekstraksjonsutbytte (%), der x er målt intensitet.**

$$Ekstraksjonsutbytte (\%) = \frac{\bar{x}_{Kvalitetskontroll}}{\bar{x}_{Kontrollpr\ddot{o}ve}} \times 100$$

**Formel 1.8-4 for beregning av standardavvik (SD), der n er utvalgsstørrelsen.**

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{(n-1)}}$$

**Formel 1.8-5 for beregning av variasjonskoeffisienten (%CV).**

$$\%CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

MOSER i fullblod vil bli validert etter AKF sine valideringsparametere og akseptkriterier. For at denne metoden skal bli validert må følgende parametere undersøkes: S/N og selektivitet i fullblod, vurdering av standarder i fullblod og serum, analysens presisjon og riktighet, holdbarhet ved 10 °C. I tillegg vil ekstraksjonsutbytte og tin/frys holdbarhet bli vurdert for denne metoden, men dette inngår ikke i selve valideringen.(13,30–33)

## 1.9. Problemstillinger

Hensikten med dette prosjektet var å validere den nye UPLC-MSMS metoden for moklobemid, sertindol og reboksetin i fullblod, og videre se om disse analyttene lot seg kvantitere ved bruk av standarder i serumatriks. Med bakgrunn i dette ble følgende problemstillinger satt:

- *Er MOSER i fullblod egnet til kvantitering av analyttene moklobemid, sertindol og reboksetin i postmortale prøver ved AKF?*
- *Kan standarder og kontroller i serumatriks erstatte standarder og kontroller i blodatriks for MOSER i fullblod?*

## 2. Materiale og metode

### 2.1. Prinsipp for MOSER i fullblod

Prøveopparbeidelsen ble basert på proteinfelling ved bruk av iskald ACN og filtrering av fosfolipider ved bruk av Ostro™-plate. Rester av utfelte proteiner og fosfolipider ble værende i Ostro™-platen etter filtrering. Eluatet ble analysert på UPLC-MSMS som omvendt fase kromatografi med gradient. For deteksjon og filtrering av stoffene ble det benyttet elektronspray-ionisering i positiv modus (ESI+) og MRM.

### 2.2. Materiale

#### 2.2.1. Reagenser/Kjemikalier/Løsninger

Alle reagenser, kjemikalier og løsninger som ble benyttet i MOSER i fullblod og tilhørende validering står beskrevet i Tabell 2.2-1, Tabell 2.2-2 og Tabell 2.2-3. Merk at alle standarder, kontroller og IS er laget i kalibreringslaboratoriet ved AKF.

Tabell 2.2-1 viser de aktuelle reagensene og kjemikaliene med innhold, konsentrasjon, kvalitet og produsent, samt hvor de ble benyttet i oppsettet.

Bruksområde	Navn	Molekylformel	Konsentrasjon	Kvalitet	Produsent /leverandør
Fellingsreagens	Acetonitril	CH <sub>3</sub> CN	≥ 99,95 %	HiPerSolv CHROMANORM Ultra	VWR Chemicals
Løsemiddel	Acetonitril	CH <sub>3</sub> CN	83 %	Fortynnet fra: HiPerSolv CHROMANORM Ultra	VWR Chemicals
	Metanol	CH <sub>3</sub> OH	20 %	Fortynnet fra: LiChrosolv® Hypergrade	Merck
Vaskeløsning	Metanol	CH <sub>3</sub> OH	100 %	LiChrosolv® Hypergrade	Merck
Mobilfase	Metansyre (FAc)	HCOOH	0,10 %	Fortynnet fra: Aristar	VWR Chemicals
	Acetonitril	CH <sub>3</sub> CN	≥ 99,95 %	HiPerSolv CHROMANORM Ultra	VWR Chemicals

Tabell 2.2-2 viser sammensetning og konsentrasjoner av analyttene i intern standard, samt produsent av renstoff. (TRC: Toronto Research Chemicals)

Intern standard	Moklobemid-d <sub>4</sub> (ng/ml)	Sertindol-d <sub>4</sub> (ng/ml)	Reboksetin-d <sub>5</sub> (ng/ml)
Renstoff løst i MeOH (20 %)	2 000	150	600
<b>Produsent</b> (Renstoff)	TLC Pharmaceutical standards	TRC	TRC

Tabell 2.2-3 viser sammensetningene og konsentrasjonene til de ulike analyttene i standarder, kontroller og renstoffløsninger, samt produsent av renstoff. (TRC: Toronto Research Chemicals)

		Moklobemid (nM)	Sertindol (nM)	Reboksetin (nM)
<b>Standardrekke</b> (Løst i serum- eller blodmatriks)	<b>Std0</b>	-	-	-
	<b>Std1</b>	100	10	50
	<b>Std2</b>	500	30	150
	<b>Std3</b>	2 000	100	500
	<b>Std4</b>	10 000	500	2 000
<b>Produsent</b> (Renstoff)		Merck	Sequinoa Research	Sequinoa Research
<b>Kontroller</b> (Løst i serum- eller blodmatriks)	<b>QC1</b>	150	15	75
	<b>QC2</b>	1 500	75	400
	<b>QC3</b>	7 500	300	1 500
<b>Produsent</b> (Renstoff)		TRC	Merck	TRC
<b>Renstoffløsninger</b> (Løst i ren metanol)	<b>QC1</b>	15 000	1 500	7 500
	<b>QC2</b>	150 000	7 500	40 000
	<b>QC3</b>	750 000	30 000	150 000
<b>Produsent</b> (Renstoff)		TRC	Merck	TRC

### 2.2.2. Utstyr

Spesielt utstyr som ble benyttet står oppført med modell og leverandør i Tabell 2.2-4.

Tabell 2.2-4 viser en oversikt over alt spesielt utstyr som ble benyttet til validering av MOSER i fullblod.

Utstyr	Modell	Leverandør
Sentrifuge	Hettich Mikro 20	Hettich
Hamilton pipetteringsrobot	Hamilton ML Star	Hamilton Robotics AB
Filtreringsplate	Ostro™ 96-brønnsplate 25 mg 1/Pkg	Waters
PPP-modul	Positive pressure 96-prosessor	Waters
96-dypbrønnsplate	2 ml square well collection plate	Waters
Forseglingsmaskin	MiniSeal II, Automatic single plate heat sealer 110 V/230 V	Provoir sciences
Aluminiumsfolie til 96-brønnsplate	Easily pierced 20 µM PP/PS lacquered aluminium foil – colour coded green	Provoir sciences
UPLC	AQUITY UPLC® I-class	Waters
Forkolonne	ACQUITY UPLC® HSS T3 VanGuard™ Pre-Column 1,8 µm, 2,1 x 5 mm	Waters
Analytisk kolonne	ACQUITY UPLC® HSS T3, 1,8 µm, 2,1 x 100 mm	Waters
Detektor (MSMS)	XEVO TQ-S	Waters
Instrument-software	MassLynx (TargetLynx)	Waters
Vannrenseanlegg	Milli-Q integral 3	Merck



## 2.3. Fremgangsmåte for MOSER i fullblod

### 2.3.1. Prøveopparbeidelse

Ved prøveopparbeidelse ble Std/QC (100 µl) og IS til MOSER (25 µl) pipettert over i et eppendorfrør og blandet på en whirlmikser. Videre ble iskald ACN ( $\geq 99,95$  %, 600 µl) tilsatt til to eppendorfrør av gangen. De to rørene ble deretter korket og mikset umiddelbart på whirlmikser i 15 sekunder (sek). Prøvene ble så sentrifugert ved 11.000 RPM i 3 minutter (min). Supernatanten fra hver prøve ble deretter dekantert over til hvert sitt TT-rør (test tube).

Innholdet i TT-rørene (725 µl) ble overført til en filtreringsplate ved hjelp av Hamilton pipetteringsrobot. Filtreringsplaten ble plassert over en 96-dypbrønnsplate og plassert på PPP-modul. Der ble platen påsatt et trykk på omtrent 6 bar i 2 min, etterfulgt av omtrent 8 bar i 1 min, slik at eluatet ble presset gjennom filteret i filtreringsplaten og ned i dypbrønnsplaten. Denne ble forseglet med aluminiumsfolie og satt inn i analyseinstrumentet, UPLC-MSMS.

### 2.3.2. Analyse

På UPLC-MSMS ble MassLynx åpnet og det ble opprettet et nytt prosjekt. Prøvenes rekkefølge og ID ble importert fra Hamilton pipetteringsrobot. I MassLynx ble det lagt inn tre blankprøver (Std0) før analyseringen av prøvene, for å prime systemet. Std0 prøven ble også lagt til mellom Std4 og QC1 for å sjekke og forhindre carry-over. Driftskontrollen fikk angitt posisjonen til QC2. Inlet file, MS tune file og MS file ble valgt for alle prøver. For første blankprøve ble det lagt inn en kondisjonering av kolonne. Det ble også lagt inn vask av kolonne. Til sist fikk alle prøvene angitt et fil-navn, og analysen ble lagret og startet. Oppsett i MassLynx kan ses i Vedlegg 1.

De tekniske dataene som ble benyttet var utformet av forskning og utvikling ved AKF eller basert på artikler fra tidligere eksperimenter. Øvrige innstillinger er basert på produsentens anbefalinger for analyseinstrumentet. Innstillingene for de tekniske dataene som er spesielt for MOSER i fullblod er beskrevet under.

#### *Inlet file*

For Inlet file velges gradient for UPLC, se Tabell 2.3-1 for en skjematisk oversikt over innstillingene. Andre innstillinger for kolonnen og UPLC er beskrevet i Tabell 2.3-2.

Tabell 2.3-1 viser gradientinnstillingene til UPLC for MOSER i fullblod. Kolonne 1 viser antall steg det er i gradienten. Videre vises tid, flow og MF sammensetning for hvert steg. Curve-type forklarer hvor raskt endringen av MF skal skje.

Gradient	Tid (min)	Flow (mL/min)	%A	%B	Curve-type
1	0,00	0,70	90,00	10,00	0
2	0,80	0,70	90,00	10,00	6
3	1,20	0,70	50,00	50,00	6
4	1,70	0,70	50,00	50,00	6
5	2,00	0,70	10,00	90,00	6
6	2,05	0,70	90,00	10,00	1
7	3,00	0,70	90,00	10,00	1
8	30,00	0,00	90,00	10,00	11

Tabell 2.3-2 viser kolonneinnstillingene til UPLC-delen av analysen.

Komponenter	Tallverdi	Benevning
Injeksjonsvolum	0,2	µl
Kolonne-temperatur	50	°C
Autosampler- temperatur	10	°C
Vask før injeksjon	2	sek
Vask etter injeksjon	6	sek
Nål-posisjon	Automatisk	-
Mobilfase	0,1 % FAc i vann	A
	ACN	B

*Tekniske innstillinger på XEVO TQ-S som ble benyttet i MOSER i fullblod*

MS Tune file inkluderer de tekniske innstillinger på ESI+ modulen og kan sees i Tabell 2.3-3.

Tabell 2.3-3 viser innstillingene på ESI+ modulen i MSMS-instrumentet

Instrumentelle innstillinger i ionekilden	Tallverdi	Benevning
Kapillærspenning	2,80	kV
Ionekildetemperatur	120	°C
Tørkegass temperatur	650	°C
Dyse gasstrøm	150	l/t
Tørkegass flow	1 000	l/t

MS file inkluderer de tekniske innstillinger for MS og MRM, og kan ses i Tabell 2.3-4.

Tabell 2.3-4 viser innstillingene til overgangene i masseanalysatoren i MSMS.

Stoff	Overgang Kvantifiserings- ion (m/z)	Cone (V)	Collision (eV)	Dwell- tid (sek)	t <sub>R</sub> (min)
Moklobemid	269,3>111,0	10	38	0,024	1,47
Sertindol	441,3>113,1	10	26	0,023	1,76
Reboksetin	314,3>176,2	16	12	0,023	1,60
Moklobemid-d4	273,3>115,0	10	38	0,024	1,47
Sertindol-d4	444,9>117,0	10	26	0,023	1,76
Reboksetin-d5	319,4>176,2	20	12	0,023	1,60

### 2.3.3. Analytisk kvalitet

For hver analyse ble den analytiske kvaliteten vurdert. Først ble %BIAS både for Std og QC vurdert, samt recovery for IS i forhold til metodens krav. Std0 mellom Std4 og QC1 ble vurdert i henhold til carry-over, som har et krav på  $\leq 50\%$  av Std1 konsentrasjonene. Deretter ble forklaringskoeffisientene ( $R^2$ ) til kalibreringskurvene vurdert sammen med kurvenes visuelle utseende. Videre ble asymmetrien og t<sub>R</sub> for Std- og QC-kromatogrammene for alle analyttene vurdert. For MOSER i fullblod er kravet for %BIAS  $\leq 20\%$ , IS-recovery på  $\pm 50\%$ ,  $R^2 \leq 0,995$  og t<sub>R</sub> på  $\pm 1\%$ .

### 2.3.4. Validering

#### *Signal-til-støy (S/N) og selektivitet i fullblod*

S/N, forholdet mellom støysignaler og analyttens signal i kromatogrammet, ble beregnet for MOSER-analyttene i Std1. Dette ga et estimat på hvor mye bakgrunnsstøyen påvirker kvantifiseringen av analyttene ved lave konsentrasjoner. Etersom Std1 er den kalibratoren som har lavest konsentrasjon, ble beregningen også benyttet til å bestemme analysens nedre kvantifiseringsgrense. Ønsket nedre kvantifiseringsgrense for MOSER i fullblod var allerede bestemt under valideringen av MOSER i serum av leger ved AKF.

Nedre kvantifiseringsgrense for MOSER i fullblod ble bestemt ved å sammenligne beregnet S/N for Std1<sub>blod/serum</sub> (MOSER i fullblod), med S/N for Std1<sub>serum</sub> fra referansemetoden (MOSER i serum). I tillegg til at S/N ble vurdert, ble også kromatogrammene for Std1<sub>blod</sub> og

Std1<sub>serum</sub> i fullblodmetoden vurdert med hensyn til interfererende topper, og sammenlignet med kromatogrammene for Std1<sub>serum</sub> i referansemetoden. For å kunne sette kvantifiseringsgrensen for MOSER i fullblod lik grensen i referansemetoden, måtte både verdiene for S/N og tilhørende kromatogrammer være tilfredsstillende i forhold til krav i avdelingens valideringsplan. Kravet her var at S/N skulle være  $\geq 30$ . Det var også ønskelig at S/N for analyttene skulle være i samme størrelsesorden eller høyere sammenlignet med tilsvarende verdier i serummetoden. Tilhørende kromatogrammer skulle ikke ha interfererende topper.

### *Vurdering av standardrekker*

Forsøket ble benyttet til å vurdere hvor god linearitet standarder i serum har, sammenlignet med standarder i blod, ved bruk av MOSER i fullblod. Dette kunne ses på avviket mellom målt og teoretisk verdi av analytt i Std- og QC-rekker, samt på forskjellen i S/N mellom serummetoden og fullblodmetoden, og forklaringskoeffisienten både for serum- og blodkurver. Ut ifra resultatene i dette forsøket, ble det bestemt om Std-rekke og QC-rekke kunne overføres fra blodmatriks til serummatriks.

Vurderingen ble gjort fra tre analyseoppsett, utført på hver sin dag, med Std-rekke<sub>serum</sub> og Std-rekke<sub>blod</sub>, kalibrert med Std-rekke<sub>serum</sub>. Resultatene fra Std-rekke<sub>blod</sub> ble vurdert opp mot gitt krav for avvik fra teoretisk verdi, %BIAS  $\leq 20$  %. Videre ble S/N forholdet for Std1<sub>serum</sub>, opparbeidet som fullblod, sammenlignet med S/N for Std1<sub>serum</sub> analysert med fullvalidert serummetode. Igjen var kravet at S/N skulle være  $\geq 30$ , og avdelingens ønske om at S/N for metoden skulle være i samme størrelsesorden, eller høyere. Forklaringskoeffisienten ( $R^2$ ) ble overvåket, både for serum- og blod kalibrering, over tre dager. Alle forklaringskoeffisientene ble vurdert opp mot gitt krav,  $R^2 \geq 0,995$ .

### *Reproduserbarhet og riktighet*

Reproduserbarheten ble beregnet som %CV (Formel 1.8-5) og riktighet som %BIAS (Formel 1.8-1) begge med et akseptkriterium på  $\leq 20$  %. Verdiene ble beregnet med resultatene fra de seks analyseoppsettene med to Std- og QC-rekker, en med blod og en med serum. Det ble kun benyttet seks analyseoppsett i dette forsøket, fordi det er dette som benyttes i avdelingens valideringsrutiner. Std-rekke<sub>serum</sub> ble benyttet som kalibrator, ellers ble kun resultatet fra QC-rekkene benyttet til å beregne reproduserbarhet og riktighet. Analyseoppsettene ble analysert hver sin dag, og gjennomførelsen av de seks oppsettene ble vekslet på mellom tre personer.

### Repeterbarhet

Presisjon ble beregnet ved hjelp av repeterbarhet, for å gi et anslag på den lavest mulige måleusikkerheten som kan forekomme med denne analysemetoden. Av samme årsak som for reproduserbarhet ble det kun benyttet seks paralleller. Repeterbarheten ble beregnet fra de seks parallellene med QC-rekker<sub>blod</sub>, med Std-rekke<sub>serum</sub> som kalibrering. Hele oppsettet ble utført i løpet av én dag av samme person. %CV ble beregnet for hvert konsentrasjonsnivå og sammenlignet med det oppgitte presisjonskravet, %CV ≤ 15 %.

### Holdbarhet ved 10 °C

Holdbarheten ble undersøkt ved å analysere en QC-rekke<sub>blod</sub>, med Std-rekke<sub>serum</sub> som kalibrator. Opparbeidede rekker ble først analysert dag0 og deretter reinjisert dag3 og dag7. I mellomtiden ble analyseoppsettet oppbevart ved 10 °C i kjøleskap. Konsentrasjonen for analytter og IS analysert dag3 og dag7 ble sammenlignet med dag0. Endring i konsentrasjon ble rapportert som %avvik fra dag0 og vurdert i forhold til kravet, ≤ 15 %.

### Ekstraksjonsutbytte

Ekstraksjonsutbytte, eller recovery, er definert som den relative mengden av en analytt som kan måles etter prøveoppbehandling, sammenlignet med opprinnelig innhold. Til forsøket ble analyttløsning QC1-3 lagd, ved å fortynne renstoff-løsninger (145 µl) i ACN (83 %, 4855 µl), for hvert av de tre nivåene. Konsentrasjonene i løsningene måtte tilpasses etter fortynningen med ACN og metanol som oppstår under prøveoppbehandling.

**Tabell 2.3-5 viser sammensetning av prøver og kontrollprøver som ble benyttet i ekstraksjonsutbytte. Analyttløsning ble tilsatt etter prøveoppbehandling.**

Prøve	Kontrollprøve
QC1	Std0 + analyttløsning QC1
QC2	Std0 + analyttløsning QC2
QC3	Std0 + analyttløsning QC3

Forsøket ble utført ved at seks paralleller av prøver (QC1-3) ble analysert. Sammen med prøvene ble det analysert kontrollprøver (Std0), en for hver parallell i hvert konsentrasjonsnivå, se Tabell 2.3-5 for prøvenes sammensetning. Det ble overført 100 µl av

hver prøve og kontrollprøve til eppendorfrør og tilsatt MeOH (20 %, 25  $\mu$ l). MeOH erstattet volumet til intern standard i det vanlige oppsettet. De ble blandet på whirlmikser før tilsatt av iskald ACN (99,95 %, 600  $\mu$ l) til to rør av gangen, med umiddelbar blanding på whirlmikser i 15 sek. Deretter ble de sentrifugert ved 11.000 RPM i 3 min.

Etter proteinfellingen ble supernatanten i eppendorfrørene dekantert til TT-rør, som ble satt inn på Hamilton pipetteringsrobot. Innholdet i rørene ble overført til en filtreringsplate, og filtrert over i en 96-dypbrønnsplate med PPP-modul. Etter filtreringen ble det manuelt overført eluat (200  $\mu$ l) fra hver av brønnene i den første 96-dypbrønnsplaten, til en ny 96-dypbrønnsplate. Til alle brønnene ble det tilsatt IS (10  $\mu$ l), og til brønnene med prøver (QC1-3) ble det i tillegg tilsatt ACN (80 %, 10  $\mu$ l). Til brønnene med kontrollprøver ble det tilsatt analyttløsning QC1-3 (10  $\mu$ l).

Analysen ble kalibrert med standardrekke i serum, som ble opparbeidet som normalt. Ekstraksjonsutbyttet (%) ble beregnet med Formel 1.8-3, og også sammenlignet med utbyttet i fullvalidert metode for serum. Akseptkriteriet for ekstraksjonsutbytte er blitt satt til 50-100 %. Ut ifra dette forsøket ble det kvantitert hvor stor andel av analytten som gikk tapt under prøveopparbeidelse.

### *Holdbarhet tin/frys*

Holdbarheten ved gjentatt frysing og tining ble undersøkt ved å analysere tre paralleller av QC-rekke<sub>blod</sub>. Dette for å avgjøre om etterrekvirert analyse av MOSER-analyttene kunne utføres på postmortale prøver, ettersom de lagres ved -80 °C. Hver QC ble fordelt i to prøverør hvor det ene ble oppbevart i kjøleskap (4-8 °C), mens det andre prøverøret ble fryst (-80 °C) og tint, tre ganger i løpet av samme dag. Prøvene fra kjøleskapet (kontrollprøvene) og prøvene som ble fryst og tint tre ganger, ble så opparbeidet og analysert i samme oppsett. Det ble benyttet en nytint Std-rekke<sub>serum</sub> til kalibreringen. Avviket mellom tin/frys-prøve og kontrollprøve ble så beregnet som %avvik. Avviket ble så vurdert opp mot anbefalt akseptkriterium for %avvik  $\leq$  20 %.

### 3. Resultater

#### 3.1. Analytisk kvalitet

For hvert oppsett ble den analytiske kvaliteten vurdert for å kvalitetssikre resultatene. Dette ble gjort ved å vurdere en rekke parametere: %BIAS, carry-over,  $t_R$ ,  $R^2$  og IS-recovery. Kromatogram og kalibreingskurver ble også vurdert visuelt. På grunn av mange oppsett ble kun oppsett 1 kommentert her, men resultatene gjenspeiler de resterende oppsettene.

For oppsett 1 finnes målte og beregnede verdier for disse parameterne, kalibreringskurver og kromatogram i Vedlegg 2 til Vedlegg 5. Ingen av verdiene er utenfor gitte krav. Det visuelle utseendet til kalibreringskurvene var tilfredsstillende, noe som gjenspeiles i  $R^2$ -verdiene. Kromatogrammene fra oppsett 1 hadde forventet  $t_R$ . For moklobemid og reboksetin var kromatogrammene symmetriske, mens det var antydning til asymmetri i sertindol-kromatogrammet.

#### 3.2. Std1 - S/N og selektivitet i fullblod

Disse undersøkelsene ble gjort for å avgjøre om den nedre kvantifiseringsgrensen for MOSER i fullblod kan settes lik som i serummetoden. For å bestemme Std1-S/N og selektivitet i fullblod ble det beregnet S/N for Std1<sub>blod/serum</sub> (fullblodmetode), og for Std1<sub>serum</sub> (serummetode). Kromatogrammene for Std1 i fullblodmetode ble sammenlignet med kromatogrammene for Std1<sub>serum</sub> serummetode spesielt med hensyn til interfererende topper. Resultatene for S/N vises i Tabell 3.2-1.

Tabell 3.2-1 viser S/N for de ulike analyttene i Std1 analysert med de to metodene.

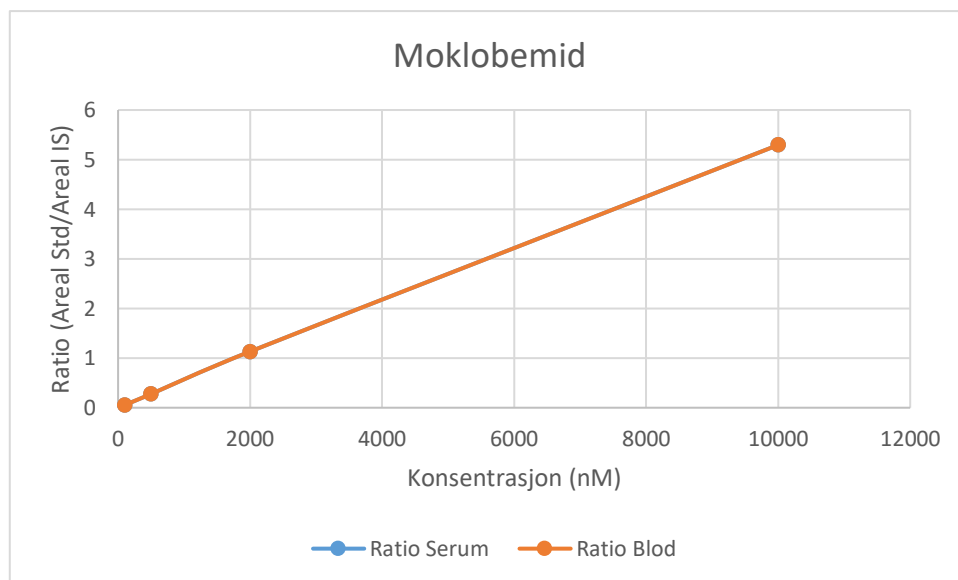
ID <sub>matriks</sub>	Metode	S/N		
		Moklobemid	Sertindol	Reboksetin
Std1 <sub>serum</sub>	Serum	1319,89	661,54	3665,87
Std1 <sub>serum</sub>	Fullblod	1427,74	729,26	2250,73
Std1 <sub>blod</sub>	Fullblod	875,49	276,51	2075,82

I tabellen over kan det observeres at alle verdiene for S/N er  $\geq 30$ , og at verdiene for hver av analyttene befinner seg i samme størrelsesorden, bortsett fra moklobemid i Std1<sub>blod</sub>. S/N for alle analyttene kan aksepteres etter kravene som er gitt for metoden.

Kromatogram for Std1<sub>blod/serum</sub> (fullblodmetode) og Std1<sub>serum</sub> (serummetode), som er sortert etter analytt og vist i Vedlegg 6, Vedlegg 7 og Vedlegg 8. Det er ingen synlige interfererende topper i noen av kromatogrammene. Kromatogrammet for Std1<sub>blod</sub> og Std1<sub>serum</sub> er relativt likt for alle analyttene. Toppene har et definert maksimalpunkt, og er relativt symmetriske, men har antydning til tailing.

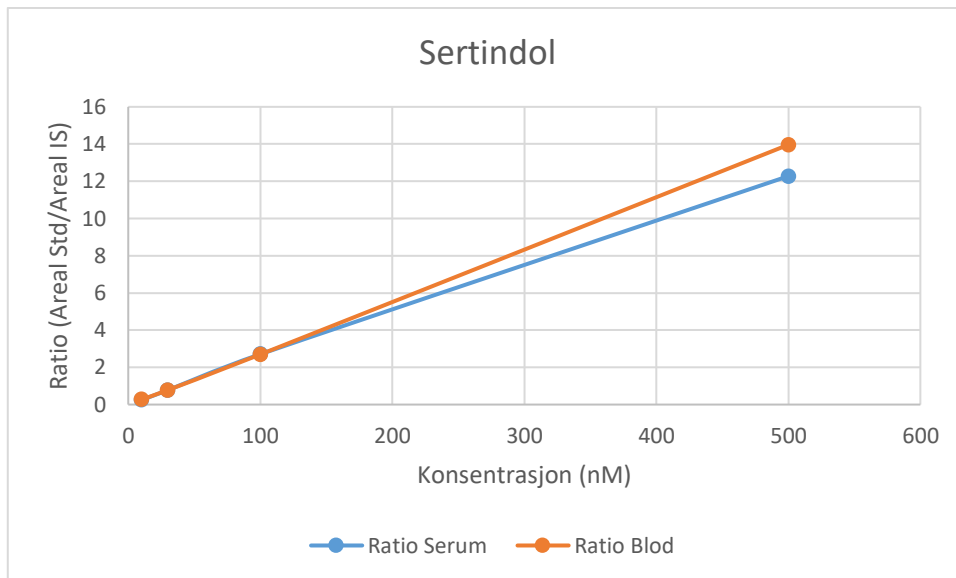
### 3.3. Vurdering av standardrekker

Etter ønske fra avdelingen ble muligheten for å overføre standardrekkene fra blodmatriks til serummatris undersøkt. For å avgjøre om dette er mulig, ble standardrekker i blod kvantitert med serum standardrekker, og målt verdi ble sammenlignet med teoretisk verdi. Standarder og kontroller i serum og fullblod ble analysert over tre ulike dager. Det ble beregnet % BIAS for de tre dagene, og  $R^2$  både for serum- og fullblodstandarder som kalibrator ble hentet ut fra MassLynx. Fra oppsett 3 ble også S/N beregnet ved hjelp av TargetLynx. Dette ble gjort på Std1 i serum analysert med fullblodmetoden og på Std1 i serum analysert med den fullvaliderte serummetoden.

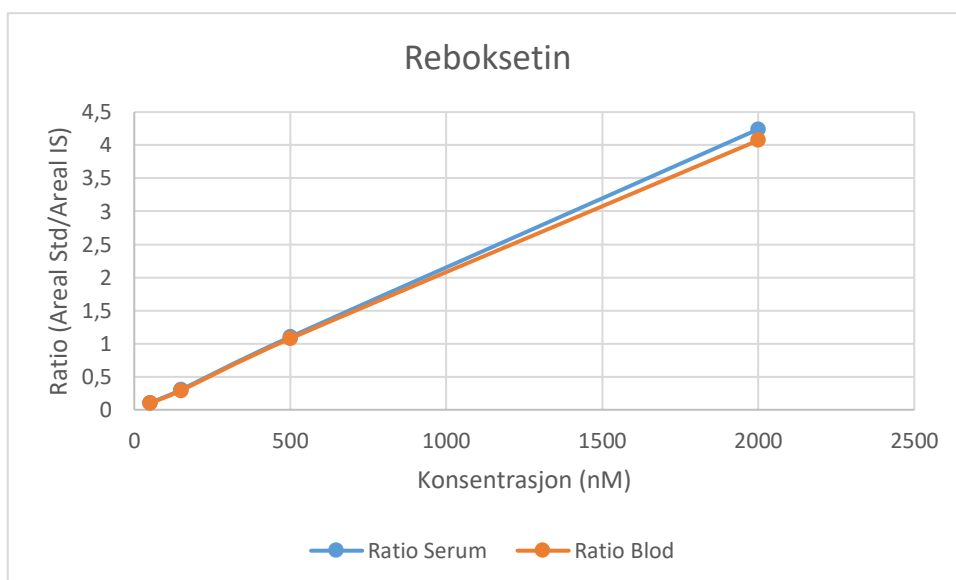


Figur 3.3-1 viser kalibreringskurvene for moklobemid i blod og i serum.





Figur 3.3-2 viser kalibreringskurvene for sertindol i blod og i serum.



Figur 3.3-3 viser kalibreringskurvene for reboksetin i blod og i serum.

I figurene over vises kalibreringskurvene for MOSER-analyttene i serum og i blod, analysert med fullblodmetoden. I Figur 3.3-1 vises de to kalibreringskurvene for moklobemid, kurvene er sammenfallende. Figur 3.3-2 viser sertindol sine to kalibreringskurver, kurven i blod har høyere ratio enn kurven i serum. For reboksetin er kalibreringskurvene vist i Figur 3.3-3, kurvene er tilnærmet sammenfallende, men kurven i serum har ett litt større stigningstall.

Tabell 3.3-1 viser verdier som ble benyttet til vurderingen av standardrekke<sub>serum</sub> i MOSER i fullblod.

Analytt (Matriks)		Teoretisk verdi (nM)	Gjennomsnittlig målt verdi (nM)	BIAS (%)
<b>Moklobemid</b> (Blod)	<b>Std1</b>	100	101,43	1,4
	<b>Std2</b>	500	490,45	-1,9
	<b>Std3</b>	2000	2009,69	0,5
	<b>Std4</b>	10000	9998,40	-0,0
	<b>QC1</b>	150	154,22	2,8
	<b>QC2</b>	1500	1486,18	-0,9
	<b>QC3</b>	7500	7645,45	1,9
<b>Sertindol</b> (Blod)	<b>Std1</b>	10	10,12	1,2
	<b>Std2</b>	30	29,53	-1,6
	<b>Std3</b>	100	100,44	0,4
	<b>Std4</b>	500	499,94	-0,0
	<b>QC1</b>	15	16,99	13,3
	<b>QC2</b>	75	80,41	7,2
	<b>QC3</b>	300	340,96	13,7
<b>Reboksetin</b> (Blod)	<b>Std1</b>	50	51,16	2,3
	<b>Std2</b>	150	145,22	-3,2
	<b>Std3</b>	500	504,41	0,9
	<b>Std4</b>	2000	1999,18	-0,0
	<b>QC1</b>	75	80,34	7,1
	<b>QC2</b>	400	396,12	-1,0
	<b>QC3</b>	1500	1561,02	4,1

I Tabell 3.3-1 vises beregnet %BIAS for Std- og QC-rekke i blod, analysert tre ulike dager, for analyttene moklobemid, reboksetin og sertindol. Maksimalt akseptabelt %BIAS for denne analysen er  $\leq 20$  %. Av tabellen kan det observeres at ingen av avvikene er utenfor kravet. Rådata for beregningene er vist i Vedlegg 2, Vedlegg 9 og Vedlegg 10.

Tabell 3.3-2 viser endringen av forklaringskoeffesienten ( $R^2$ ) over tre dager og er delt opp etter analytt og matriks.

Analytt	Matriks	$R^2$		
		Dag1	Dag2	Dag3
Moklobemid	Serum	1,0000	1,0000	1,0000
	Blod	0,9999	0,9999	0,9995
Sertindol	Serum	0,9999	1,0000	1,0000
	Blod	1,0000	1,0000	1,0000
Reboksetin	Serum	0,9998	0,9999	1,0000
	Blod	0,9995	1,0000	0,9998

Tabell 3.3-2 viser  $R^2$  for både blod- og serumstandarder. Kravet er at  $R^2$  skal være  $\geq 0,995$ . Av tabellen kan det observeres at ingen av kalibreringskurvene avviker fra kravet. Dette indikerer god linearitet for alle standardene.

Tabell 3.3-3 viser verdier for S/N for de tre analyttene, både i serummetoden og fullblodmetoden.

ID <sub>matriks</sub>	Metode	S/N		
		Moklobemid	Sertindol	Reboksetin
Std1 <sub>serum</sub>	Serum	1319,89	661,54	3665,87
	Fullblod	1427,74	729,26	2250,73

Til sist viser Tabell 3.3-3 verdier for S/N beregnet for Std1 i serum analysert med fullblodmetoden og med serummetoden. Her er kravet at S/N skal være  $\geq 30$ , og det er ønsket at de skal være i samme størrelsesorden i serummetoden og i fullblodmetoden. Ingen av verdiene for S/N er utenfor kravet.

### 3.4. Presisjon og riktighet

Reproduserbarhet, riktighet og repeterbarhet ble beregnet for å vurdere den analytiske måleusikkerheten.

#### 3.4.1. Reproduserbarhet og riktighet

Forsøk for reproduserbarhet og riktighet ble utført ved at tre individer analyserte seks analyseoppsett med hver sin QC-rekke. Hvert oppsett ble analysert hver sin dag. %CV og %BIAS ble beregnet fra resultatene og sammenlignet med presisjonskravet.

Tabell 3.4-1 viser resultater for reproduserbarhet, deriblant gjennomsnittlig verdi for parallellene, beregnet %CV og %BIAS.

Analytt (Matriks)		Teoretisk verdi (nM)	Gjennomsnittlig målt verdi (nM)	CV (%)	BIAS (%)
Moklobemid (Serum)	QC1	150	154,13	0,6	2,8
	QC2	1500	1484,65	1,7	-1,0
	QC3	7500	7492,07	2,4	-0,1
Moklobemid (Blod)	QC1	150	155,23	2,2	3,5
	QC2	1500	1479,16	3,2	-1,4
	QC3	7500	7480,97	0,8	-0,3
Sertindol (Serum)	QC1	15	16,90	1,8	6,8
	QC2	75	79,01	1,9	-1,2
	QC3	300	324,93	5,2	-0,1
Sertindol (Blod)	QC1	15	15,96	2,9	5,5
	QC2	75	78,81	3,4	-3,5
	QC3	300	324,93	3,2	-2,9
Reboksetin (Serum)	QC1	75	80,13	2,1	12,7
	QC2	400	1497,16	3,3	5,4
	QC3	1500	7480,97	7,1	8,3
Reboksetin (Blod)	QC1	75	79,09	7,4	6,4
	QC2	400	386,15	9,9	5,1
	QC3	1500	1457,23	13,5	-2,7

I Tabell 3.4-1 vises gjennomsnittlig konsentrasjon for de seks parallellene, ved de tre ulike QC-konsentrasjonene i både serum og fullblod, samt %CV og %BIAS. Kravet til reproduserbarhet er  $\%CV \leq 20\%$  og kravet til riktighet er  $\%BIAS \leq 20\%$ . Av tabellen kan det observeres at ingen av QC-konsentrasjonene overskrider disse kravene. Rådata for beregningene er vist i Vedlegg 2 og Vedlegg 9 til Vedlegg 13.

### 3.4.2. Repeterbarhet

Forsøket for repeterbarhet ble gjort ved at et individ analyserte seks paralleller av QC-rekken. Fra resultatene ble analysens %CV beregnet og sammenlignet med presisjonskravet.

Tabell 3.4-2 viser gjennomsnittet av målte verdier for repeterbarhet og beregnet %CV.

Analytt (Matriks)		Teoretisk verdi (nM)	Gjennomsnittlig målt verdi (nM)	CV (%)
Moklobemid (Blod)	QC1	150	154,27	3,3
	QC2	1500	1438,68	2,9
	QC3	7500	7376,80	2,0
Sertindol (Blod)	QC1	15	14,32	1,8
	QC2	75	68,27	2,8
	QC3	300	238,25	3,7
Reboksetin (Blod)	QC1	75	79,27	3,5
	QC2	400	377,05	3,2
	QC3	1500	1408,70	2,1

I Tabell 3.4-2 står det oppført gjennomsnittlig målt verdi og beregnet %CV for de seks parallellene, de er sortert etter analytt og QC-konsentrasjon. Kravet til repeterbarhet for metoden er  $\%CV \leq 15\%$ . I tabellen kan det observeres at ingen av parallellene overskrider dette kravet. Rådata for beregningene er vist i Vedlegg 11.

### 3.5. Holdbarhet ved 10 °C

Opparbeidede analyseoppsett som inneholder postmortale prøver lagres i visse tilfeller i opptil tre dager ved 10 °C, på analysemaskinens autosamplere eller i kjøleskap. Det ble derfor utført et holdbarhetsforsøk, for å anslå hvor mye prøvesvarene endres over denne perioden.

Avvikene i prøvesvar mellom dag0 og dag3, ble vurdert i forhold til oppgitte krav. For å få validert metoden, er det kun nødvendig å undersøke holdbarhet i tre dager. Men ettersom opparbeidede prøver oppbevares i sju dager før de kastes, ble holdbarheten i sju dager også undersøkt.

Holdbarheten ble undersøkt ved å analysere en QC-rekke på dag0, og deretter reinjisere oppsettet på dag3 og dag7, på samme analyseinstrument. Målt konsentrasjon for kvalitetskontroller reinjisert dag3 og dag7 ble sammenlignet med dag0, og endringen i konsentrasjon ble beregnet som %avvik.

Tabell 3.5-1 viser endring av analytt og IS over tre og sju dager. Avviket blir beregnet ut ifra resultatene fra dag0. Verdier uthevet i rødt er utenfor oppgitte krav.

Analytt (Matriks/IS)		Målt verdi (dag0) (nM)	Målt verdi (dag3) (nM)	Avvik (0-3) (%)	Målt verdi (dag7) (nM)	Avvik (0-7) (%)
Moklobemid (Blod)	QC1	153,95	154,00	0,0	153,27	-0,4
	QC2	1507,35	1468,30	-2,6	1490,10	-1,1
	QC3	7403,00	7401,40	0,0	7441,62	0,5
Moklobemid (IS)	QC1	1,05	1,00	-4,9	0,96	-9,0
	QC2	1,02	1,00	-1,8	1,00	-2,3
	QC3	0,86	0,80	-7,0	0,92	6,8
Sertindol (Blod)	QC1	16,42	18,00	9,6	19,42	<b>18,3</b>
	QC2	76,02	73,70	-3,1	82,92	9,1
	QC3	295,96	277,00	-6,4	297,55	0,5
Sertindol (IS)	QC1	0,89	0,80	-10,4	0,75	<b>-16,6</b>
	QC2	0,98	0,90	-7,9	0,93	-4,7
	QC3	0,93	0,90	-3,4	1,08	<b>15,8</b>
Reboksetin (Blod)	QC1	82,56	79,20	-4,1	76,91	-6,8
	QC2	396,94	401,90	1,2	390,01	-1,7
	QC3	1436,11	1492,90	4,0	1427,18	-0,6
Reboksetin (IS)	QC1	0,90	0,90	0,4	0,94	4,3
	QC2	0,93	0,90	-3,7	1,02	8,9
	QC3	0,87	0,90	3,7	1,09	<b>26,9</b>

Tabell 3.5-1 viser målte konsentrasjoner for QC1-3 ved dag0, dag3 og dag7, samt avviket mellom dag0 og dag3, og dag0 og dag7. Med et akseptkriterium for %avvik for kvalitetskontroller på  $\leq 15\%$ . I tabellen kan det observeres at ingen av verdiene fra dag3 er over akseptkriteriet, mens fire av verdiene fra dag7, merket rødt, er utenfor kravet. Rådata for beregningene er vist i Vedlegg 10, Vedlegg 14 og Vedlegg 15.

### 3.6. Tilleggsforsøk

Tilleggsforsøkene er forsøk som ikke er nødvendige for å validere en ikke-akkreditert metode ved AKF dersom det finnes en fullvalidert metode for analyttene i serum. Likevel kan de gi ekstra informasjon om analysens kvalitet og holdbarhet. Disse forsøkene ble utført da det var

tid til overs etter at valideringsforsøkene var utført. Selv om de ikke inngår i denne valideringen, er også disse forsøkene beskrevet i avdelingens valideringsplan, og utført etter deres retningslinjer. Avdelingen benytter vanligvis kun QC1 og QC3 i disse forsøkene, men i dette prosjektet ble alle tre nivåer tatt med. Grunnen var at det allerede var lagd QC-rekker for alle tre nivåer, som ikke skulle benyttes til andre forsøk eller analyser ved AKF.

### 3.6.1. Ekstraksjonsutbytte

Ekstraksjonsutbytte undersøkes for å finne ut hvor mye analytt som forsvinner under prøveopparbeidelse. Dette ble utført ved å benytte QC1-3 med seks paralleller på hvert nivå, der intern standard ble tilsatt etter prøveopparbeidelsen. For å kunne beregne ekstraksjonsutbytte måtte det også analyseres en kontrollprøve (Std0) for hver parallell. I kontrollprøvene ble både analytt og intern standard tilsatt etter prøveopparbeidelsen. Det beregnede ekstraksjonsutbyttet ble sammenlignet med utbytte i fullvalidert metode for serum, med et akseptkriterium på 50-100 %. I MassLynx ble resultatene for kalibrering og kontroller vurdert med hensyn på avvik fra teoretisk verdi. I tillegg ble recovery av IS vurdert etter satt grense i TargetLynx på 50-150 %. Verdiene er vist i Vedlegg 16, og verdier utenfor grensene ble markert med rød bakgrunn i programmet.

Tabell 3.6-1 viser de gjennomsnittlige arealene til kontrollprøvene og kvalitetskontrollprøvene. Ekstraksjonsutbytte er beregnet etter det gjennomsnittlige arealet for de seks parallellene.

Analytt		Kontrollprøve (Areal)	Kvalitetskontroll (Areal)	Utbytte (%)
Moklobemid	QC1	11415	10976	96,2
	QC2	102962	99710	96,8
	QC3	448712	436424	97,3
Sertindol	QC1	15087	11753	77,9
	QC2	74971	60367	80,5
	QC3	306580	243177	79,3
Reboksetin	QC1	15856	14350	90,5
	QC2	84189	76633	91,0
	QC3	309119	279847	90,5

Tabell 3.6-1 viser gjennomsnittlig areal for QC1-3 i kontrollprøvene og kvalitetskontrollene, samt utbytte beregnet ved hjelp av arealene. I tabellen kan det observeres at ingen av de

beregnete verdiene er utenfor akseptkriteriet på 50-100 %. Rådata for beregningene er vist i Vedlegg 17.

**Tabell 3.6-2 viser et utdrag fra tabellen for ekstraksjonsutbytte i valideringsrapport for MOSER i serum.(34)**

Analytt		Utbytte (%)
Moklobemid	QC1	84
	QC3	93
Sertindol	QC1	81
	QC3	91
Reboksetin	QC1	61
	QC3	76

I Tabell 3.6-2, som er hentet fra valideringsrapporten til fullvalidert metode for serum, vises resultatene fra ekstraksjonsutbytte til MOSER i serum. QC2 verdiene er ikke med i denne tabellen, fordi ekstraksjonsutbytte kun ble analysert for QC1 og QC3 i serummetoden.

Resultatene viser at ekstraksjonsutbyttet for MOSER i serum ligger noe lavere for moklobemid og reboksetin, men høyere for sertindol, sammenlignet med resultatene for MOSER i fullblod.

### 3.6.2. Holdbarhet tin/frys

Ved etterrekvirering av en MOSER-analytt på en postmortal blodprøve, vil denne bli tint fra -80 °C og analysert. Det er derfor interessant å undersøke hvordan gjentatt frysing og tining påvirker analysesvarene.

Forsøket ble utført ved å analysere tre paralleller av QC1-3. Hver QC ble delt i to prøverør, der ett rør ble oppbevart i kjøleskap (kontrollprøve), mens det andre ble fryst og tint tre ganger. Kontrollprøvene og frys-prøvene, ble så opparbeidet og analysert i samme oppsett.



Tabell 3.6-3 viser gjennomsnittlig målt verdi for tre paralleller med kontrollprøver og frys-prøver, samt beregnet %avvik mellom dem.

Analytt (Matriks)		Gjennomsnittlig målt verdi kontrollprøver (nM)	Gjennomsnittlig målt verdi frys-prøver (nM)	Avvik (%)
Moklobemid (blod)	QC1	156,03	154,45	2,3
	QC2	1503,90	1523,76	1,3
	QC3	7649,94	7597,66	-0,7
Sertindol (blod)	QC1	16,38	14,65	-10,5
	QC2	83,74	72,81	-13,0
	QC3	277,01	292,15	5,5
Reboksetin (blod)	QC1	76,71	76,07	-0,8
	QC2	376,41	376,85	0,2
	QC3	1412,87	1406,36	-0,4

Av Tabell 3.6-3 ses gjennomsnittlig målt konsentrasjon for prøvene og %avvik. Kravet til %avvik for analysen er  $\leq 20\%$ , og det vises i tabellen at ingen av prøvene har %avvik høyere enn dette kriteriet. Rådata for beregningene er vist i Vedlegg 12.

## 4. Diskusjon

### 4.1. Analytisk kvalitet

I dette prosjektet ble det satt opp sju forsøksoppsett, der et av oppsettene ble reinjisert to ganger med hensyn på holdbarhet. Videre ble tilleggforsøkene, ekstraksjonsutbytte og tin/frys, inkludert i to av forsøksoppsettene. For hvert oppsett ble standarder, blank og kvalitetskontroller vurdert med hensyn til %BIAS, IS-recovery, carry-over,  $t_R$  og  $R^2$ , hvor samtlige var innenfor gitte krav hos AKF. Kalibreringskurvene for MOSER var tilfredsstillende i henhold til linearitet og avvikende punkter. Kromatogrammene for både Std-rekke, QC-rekke og prøver, med tilhørende IS, ble også vurdert. Visuell vurdering av toppform for reboksetin og moklobemid viste at kromatogrammene var symmetriske og at det ikke var noen interfererende topper til stede.

Ved vurdering av toppform for sertindol, ble det oppdaget en kul på kromatogrammene til sertindol, både for analytten og for tilhørende IS. Denne asymmetriske kulen befinner seg på høyre side av kurven, og er med på å gjøre arealet til kurven større. Årsaken til denne kulen er uvisst, men kan skyldes ionefragmenter med m/z-ratio lik sertindol som oppstår under ionisering eller fragmentering. Denne kulen varierer noe fra prøve til prøve, men er som oftest synlig. Siden kulen varierer vil også arealet variere noe, dette medfører også enkelte større %BIAS for denne analytten enn de andre. Likevel kan resultatene aksepteres, da avvikene er innenfor avdelingens krav. Kromatogrammene kan ses i Vedlegg 6 til Vedlegg 8.

### 4.2. Validering

#### 4.2.1. Std1 - S/N og selektivitet i fullblod

Dette forsøket ble utført for å bestemme analysens nedre kvantifiseringsgrense, og om konsentrasjonsnivåene til Std1 i serummetoden også kan benyttes i fullblodmetoden. S/N for de tre analyttene, både i blodmatriks og serummatriks, ligger over kravet på  $\geq 30$ . S/N for analyttene i Std1<sub>serum</sub> fullblodmetode ligger alle i samme størrelsesorden som S/N til referansemetoden. For Std1<sub>blod</sub> fullblodmetode ligger alle verdiene for S/N lavere enn referansemetoden, men reboksetin og sertindol tilfredsstiller også ønsket om samme størrelsesorden, og ligger over kravet på  $\geq 30$ .

For sertindol var beregnet S/N for Std1<sub>blod</sub> (fullblodmetode) lavere enn S/N for Std1<sub>serum</sub> (serummetode). En årsak til dette var at kromatogrammet til Std1<sub>serum</sub> (serummetode), hadde en noe større støytopp like ved hovedtoppen enn de andre kromatogrammene, som ble unngått ved beregningen av S/N. Denne toppen kan ses til venstre i kromatogrammet for serummetoden i Vedlegg 7. Dersom denne toppen hadde blitt tatt med i beregningen, ville S/N for Std1<sub>serum</sub> (serummetode) vært nærmere 400, og også mer lik verdien for Std1<sub>blod</sub> (fullblodmetode). Kromatogrammene for samme analytter sammenlignes med kromatogrammene fra referansemetoden, disse kan ses i Vedlegg 6 til Vedlegg 8. Det blir ikke observert noen interfererende topper eller større forskjeller mellom kromatogrammene og en kan dermed godta verdiene for S/N.

Ut ifra resultatene i dette forsøket kan det konkluderes med at Std1, både i serummatris og blodmatris, har tilfredsstillende S/N. Std1 i MOSER i fullblod kan dermed ha samme konsentrasjonsnivå av analyttene som benyttes i serummetoden. S/N er en verdi som normalt kan ha store variasjoner, og beregninger fra et annet oppsett kunne derfor gi andre resultater.

#### 4.2.2. Vurdering av standardrekker

Av resultatene i avsnitt 3.3 kan det ses at %BIAS for standardrekker i blod, kalibrert med serumstandarder, var innenfor kravet på  $\leq 20\%$ .  $R^2$  både med kalibrering i blod og i serum var også over gitt krav på  $\geq 0,995$ , dette er også vist visuelt i Figur 3.3-1 til Figur 3.3-3, og tyder på god korrelasjon mellom standardene. S/N for Std1<sub>blod</sub> fullblodmetode ble sammenlignet med Std1<sub>serum</sub> serummetode og tilfredsstilte krav for S/N. Dette betyr at MOSER i fullblod kan benytte en standardrekke i serum til kalibrering og kontroll.

#### 4.2.3. Presisjon og riktighet

For reproduserbarhet ble det analysert seks oppsett og beregnet %CV for QC1-3 for de tre analyttene både i serum og blod. For riktighet ble det beregnet %BIAS for de seks oppsettene. %CV og %BIAS for alle analytter og konsentrasjonsnivåer kan godkjennes ut ifra akseptkriteriene.

Det ble også gjort forsøk på analysens repeterbarhet, og beregnet %CV for de seks parallellene av QC1-3. %CV ble kun vurdert for analyttene i blod, og ikke i serum, ettersom metoden er beregnet på å analysere fullblod. Beregnet %CV for alle analytter og konsentrasjonsnivåer var under akseptkriteriet  $\%CV \leq 15\%$ .

Resultatene viser god repeterbarhet, reproduserbarhet og riktighet, dette tyder på god analytisk kvalitet for metoden.

#### **4.2.4. Holdbarhet ved 10 °C**

Holdbarhetsforsøket ble utført for å finne ut om ferdigopparbeidede prøver lagret i tre og sju dager ved 10 °C gir korrekte svar for MOSER-analyttene.

%Avviket mellom dag0 og dag3 var innenfor gitt krav for alle analytter. Mens mellom dag0 og dag7 var kun avviket for moklobemid innenfor kravet. For reboksetin var avviket innenfor for konsentrasjoner til og med QC2, det var i tillegg kun intern standarden som hadde et for høyt %avvik. For sertindol var %avvik over gitt krav for QC1, samt for tilhørende intern standard i QC1 og QC3.

Resultatene i forsøket tyder på at samtlige analytter var holdbare for reinjisering innen tre dager, og det høyeste målte %avviket for dag3 var på 10 %. Moklobemid i opparbeidet prøve kan være holdbar i sju dager, mens reboksetin og sertindol bare kan reinjiseres innen tre dager.

### **4.3. Tilleggsforsøk**

#### **4.3.1. Ekstraksjonsutbytte**

For å bestemme den prosentvise mengden analytt som går tapt under prøveopparbeidelse, ble ekstraksjonsutbytte undersøkt. Akseptkriteriet for forsøket var et ekstraksjonsutbytte mellom 50-100 %. Resultatene fra forsøket viser at metoden har god gjenfinningsevne for samtlige av analyttene i de tre konsentrasjonsnivåene. Sammenligningen med ekstraksjonsutbytte for MOSER i serum, tyder på at utbyttet for moklobemid og reboksetin er høyere i fullblodmetoden. For sertindol er utbyttet i fullblodmetoden lavere enn i serummetoden.

Ettersom det skjer en fortykning av prøvematerialet under prøveopparbeidelsen, måtte det lages egne analyttløsninger som skulle tilsettes kontrollprøvene etter filtrering. Tillaging og tilsats av egne analyttløsninger til kontrollprøvene, kan ha innvirkning på resultatene for

ekstraksjonsutbytte. Eksempelvis dersom analyttløsningene er laget med for lave konsentrasjoner, vil ekstraksjonsutbytte bli falskt høyere enn det egentlig er.

I tillegg ble også tilsatsen av IS redusert noe, ettersom den ble tilsatt etter prøveopparbeidelse. Likevel kunne det av rådata-materialet observeres at samtlige IS hadde målte konsentrasjoner over 100 % recovery og nær grensen på 150 %. Av analyttene var det kun sertindol-IS som var utenfor grensene for IS recovery satt i TargetLynx (50-150 %), dette er vist i Vedlegg 16. Årsaken var at fortynningsberengningene tilsa at det skulle benyttes 7,24 µl IS, men i forsøket ble dette rundet opp til 10 µl. Resultatet av de forhøyede IS-verdiene, vil være at beregnet konsentrasjon, og signal, i prøvene blir lavere. Likevel er innvirkningen på disse resultatene neglisjerbar, ettersom både vanlige prøver og kontrollprøver hadde forhøyet IS-konsentrasjon. Men ved eventuell gjentakelse av forsøket burde tilsats av IS reduseres, slik at resultatene for prøvene og kontrollprøvene lettere kan vurderes opp imot teoretiske verdier, i tillegg.

#### 4.3.2. Holdbarhet tin/frys

Tin/frys forsøket ble utført for å undersøke om responsen for de tre analyttene endres i postmortale prøver etter gjentatt frysing og tining. Prøvene ble i dette forsøket fryst til -80 °C og tint til romtemperatur, og dette ble gjentatt tre ganger før prøvene ble analysert. Sammen med frys-prøvene ble det analysert kontrollprøver som ble oppbevart i kjøleskap, og %avvik mellom frys-prøver og kontrollprøver ble beregnet. Alle analyttene ved alle konsentrasjonsnivåene innfrir akseptkriteriet for %avvik  $\leq 20$  %. Selv om alle analyttene er godt innenfor kravet, kan det observeres av resultatene at sertindol har dårligere tin/frysholdbarhet sammenlignet med moklobemid og reboksetin. Resultatene tyder på at det kan utføres etterrevirente analyser på MOSER-analyttene på nedfrost prøvemateriale (fryst inntil tre ganger).

## 5. Konklusjon

I denne oppgaven ble en ny metode for analyse av moklobemid, sertindol og reboksetin på UPLC-MSMS i fullblod validert for Avdeling for klinisk farmakologi (AKF), ved St. Olavs hospital. Hensikten med den nye metoden var å gjøre analysen av disse stoffene mer effektiv og mindre helsefarlig. For å validere metoden ble presisjon, riktighet, holdbarhet, selektivitet, signal-til-støy (S/N) vurdert gjennom flere ulike forsøksoppsett, i tillegg ble det vurdert ekstraksjonsutbytte og tin/frys. For oppgaven ble følgende problemstillinger satt:

- *Er MOSER i fullblod egnet til kvantitering av analyttene moklobemid, sertindol og reboksetin i postmortale prøver ved AKF?*
- *Kan standarder og kontroller i serummatriser erstatte standarder og kontroller i blodmatriser for MOSER i fullblod?*

Resultatene for S/N og selektivitet i fullblod for Std1 ble benyttet til å vurdere nedre kvantifiseringsgrense for metoden, og tydet på at grensen kunne settes lik som for MOSER i serum. Vurderingen av standardrekker ble utført for å avgjøre om det kunne benyttes standardrekker i serum for MOSER i fullblod. Resultatene her tydet på at det kunne benyttes standardrekker i serum. Presisjon og riktighet for metoden var innenfor avdelingens akseptkriterier, og analysens kvalitet ble vurdert til å være god. Holdbarhet ved 10 °C var det siste forsøket som inngikk i valideringen, og her var det først og fremst holdbarheten i tre dager som var interessant. Resultatene viste at samtlige analytter var holdbare i opptil tre dager i ferdig opparbeidede prøver. Holdbarhet ved 10 °C i sju dager inngikk ikke i valideringen, men ble utført av eget ønske. Resultatene viste at moklobemid var holdbar i opptil sju dager, mens sertindol og reboksetin ikke kan reinjiseres etter sju dagers henstand. I tillegg ble det utført forsøk knyttet til metodens ekstraksjonsutbytte og tin/frys holdbarhet. Ekstraksjonsutbyttet for metoden var tilfredsstillende i henhold til avdelingens krav, noe som tyder på at prøveoppbevaringen har god recovery av analyttene. Resultatene for tin/frys holdbarhet tydet på at etterrevirerte analyser på MOSER-analyttene fint kan utføres selv om prøvematerialet har blitt fryst inntil tre ganger.

Forsøksresultatene for valideringen var alle innenfor gitte akseptkriterier ved avdelingen, og MOSER i fullblod er derfor egnet som en rutineanalyse ved AKF. Etersom vurderingen av standardrekkene også gav tilfredsstillende resultater, kan det også konkluderes med at standarder og kontroller i serummatriser kan erstatte standarder og kontroller i blodmatriser.

## 6. Referanser

1. L5.3.6.1 Moklobemid [Internett]. Norsk Legemiddelhåndbok. 2015 [sitert 15. mars 2019]. Tilgjengelig på: <https://www.legemiddelhandboka.no/L5.3.6.1/Moklobemid>
2. Aurorix - preparatomtale [Internett]. [sitert 15. mars 2019]. Tilgjengelig på: [https://www.legemiddelsok.no/\\_layouts/15/Preparatomtaler/Spc/0000-07547.pdf](https://www.legemiddelsok.no/_layouts/15/Preparatomtaler/Spc/0000-07547.pdf)
3. Steinkjer S. Metodebeskrivelse MOSER i serum EQS: 39531. St. Olavs Hospital, Avdeling for klinisk farmakologi; 2019.
4. Moklobemid [Internett]. Farmakologiportalen. 2018 [sitert 2. april 2019]. Tilgjengelig på: <http://www.farmakologiportalen.no/content/670/Moklobemid>
5. L5.2.4.11 Sertindol [Internett]. Norsk Legemiddelhåndbok. 2015 [sitert 15. mars 2019]. Tilgjengelig på: <https://www.legemiddelhandboka.no/legacy/chapter/L5.2.4.11>
6. Sertindol - preparatomtale [Internett]. [sitert 15. mars 2019]. Tilgjengelig på: [https://www.legemiddelsok.no/\\_layouts/15/Preparatomtaler/Spc/1996-00274.pdf](https://www.legemiddelsok.no/_layouts/15/Preparatomtaler/Spc/1996-00274.pdf)
7. O'Neil MJ. The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 13th ed. Whitehouse Station, N.J: Merck & Co; 2001. 744 s.
8. Simonsen T. Illustrert farmakologi. 3. utg. Bd. B. 2. Bergen: Fagbokforlaget; 2012. 384 s.
9. L5.3.3.1 Reboksetin [Internett]. Norsk Legemiddelhåndbok. 2015 [sitert 15. mars 2019]. Tilgjengelig på: <https://www.legemiddelhandboka.no/legacy/chapter/L5.3.3.1>
10. Greibrokk T. Kromatografi: separasjon og deteksjon [Internett]. 3. utg. Oslo: Universitetsforlaget; 1994 [sitert 15. mars 2019]. 300 s. Tilgjengelig på: [http://urn.nb.no/URN:NBN:no-nb\\_digibok\\_2007122100022](http://urn.nb.no/URN:NBN:no-nb_digibok_2007122100022)
11. Zhong D, Ji Q, Mess J-N. Advanced LC-MS Applications in Bioanalysis [Internett]. London, United Kingdom: Future Science Ltd; 2015 [sitert 2. april 2019]. Tilgjengelig på: <http://ebookcentral.proquest.com/lib/ntnu/detail.action?docID=5092549>
12. Lundanes E. Chromatography: basic principles, sample preparations and related methods. Weinheim: Wiley-VCH; 2014. xiv+207.

13. Xu QA, Madden TL. LC-MS in Drug Bioanalysis. Boston, MA: Springer US; 2012. 475 s.
14. Polson C, Sarkar P, Incledon B, Raguvaran V, Grant R. Optimization of protein precipitation based upon effectiveness of protein removal and ionization effect in liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 2003;785(2):263–275.
15. DasGupta A. Clinical chemistry, immunology and laboratory quality control: a comprehensive review for board preparation, certification and clinical practice. San Diego: Elsevier; 2014. 508 s.
16. Dahn A. Kalibreringslab. Test av 0-serum og 0-urin EQS: 26128. St. Olavs Hospital, Avdeling for klinisk farmakologi; 2018.
17. Yang J. Deuterium: discovery and applications in organic chemistry. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2016.
18. Skopp G. Postmortem toxicology. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*. 2010;6(4):314–325.
19. Frost J, Lervik R, Nilsen IE. Rettsmedisinske analyser EQS: 23957. St. Olavs Hospital, Avdeling for klinisk farmakologi; 2019.
20. Arsenault JC, McDonald PD. *Beginners guide to liquid chromatography*. Milford, Mass.: Waters Corporation; 2007.
21. Arsenault JC, McCabe DR, Grumbach ES. *Beginners guide to UPLC: ultra-performance liquid chromatography*. Milford: Waters Corporation; 2009.
22. Pedersen-Bjergaard S. *Legemiddelanalyse*. 2. utg. Bergen: Fagbokforl; 2010. 505 s.
23. James M. Miller. *Chromatography: concepts and contrasts*. 2nd ed. Hoboken, N.J: Wiley; 2005. xxvi+490.
24. Harvey D. *Analytical Chemistry 2.0* [Internett]. Chemistry LibreTexts; 2013 [sitert 2. april 2019]. Tilgjengelig på:



[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical\\_Chemistry/Book%3A\\_Analytical\\_Chemistry\\_2.0\\_\(Harvey\)](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Book%3A_Analytical_Chemistry_2.0_(Harvey))

25. Taylor T. Three Peak Shapes You Really Don't Want to See in Your Gas Chromatogram. The Column. 1. mars 2018;14(3):25–31.
26. Balogh MP. The mass spectrometry primer. Milford: Waters Corporation; 2013.
27. Sylten L. LC-MSMS Waters - Bytte og vask av StepWave EQS: 31013. St. Olavs Hospital, Avdeling for klinisk farmakologi; 2017.
28. Quadrupole Mass Spectrometry [Internett]. [sitert 2. april 2019]. Tilgjengelig på: <http://life.nthu.edu.tw/~labcjw/BioPhyChem/Mass/quadrupo.htm>
29. Schaller CP. Very introductory mass spectrometry [Internett]. 2008 [sitert 21. mars 2019]. Tilgjengelig på: <https://employees.csbsju.edu/cschaller/Principles%20Chem/structure%20determination/ms%20intro.htm>
30. Validering/Verifisering av klinisk kjemiske analyser [Internett]. Norsk klinisk-kjemisk kvalitetskontroll (NKK); 2002. Tilgjengelig på: [http://doc.noklus.no/handler.ashx?r=nkk&id=Val\\_NKK.pdf](http://doc.noklus.no/handler.ashx?r=nkk&id=Val_NKK.pdf)
31. Lunne K, Sæther G. AKF Kvalitetshåndbok EQS: 22245. St. Olavs Hospital, Avdeling for klinisk farmakologi; 2018.
32. Falch BMH, Hegstad S. Valideringsplan Mal EQS: 23000. St. Olavs Hospital, Avdeling for klinisk farmakologi; 2019.
33. Gundersen POM, Hegstad S. Valideringsplan i fullblod Retningslinje EQS: 24506. St. Olavs Hospital, Avdeling for klinisk farmakologi; 2019.
34. Liu J, Havnen H, Hegstad S, Falch BMH, Krabseth H-M. Valideringsrapport MOSER, serum UPLC-MSMS EQS: 23001. St. Olavs Hospital, Avdeling for klinisk farmakologi; 2019.

## 7. Vedlegg

Vedlegg 1	Analyseoppsett MOSER i fullblod .....	53
Vedlegg 2	Oppsett 1 Reproduserbarhet og standardrekke sammenligning .....	53
Vedlegg 3	Kalibreringskurver for analyttene i MOSER i fullblod .....	55
Vedlegg 4	IS-recovery for analyttene i MOSER i fullblod.....	56
Vedlegg 5	Kromatogram for analyttene i MOSER i fullblod .....	57
Vedlegg 6	Std1 Moklobemid kromatogrammer med S/N beregning .....	59
Vedlegg 7	Std1 Sertindol kromatogrammer med S/N beregning.....	60
Vedlegg 8	Std1 Reboksetin kromatogrammer med S/N beregning .....	61
Vedlegg 9	Oppsett 2 Reproduserbarhet og standardrekke sammenligning .....	62
Vedlegg 10	Oppsett 3 Reproduserbarhet, standardrekke sammenligning og holdbarhet .....	63
Vedlegg 11	Oppsett 4 Reproduserbarhet og repeterbarhet .....	65
Vedlegg 12	Oppsett 5 Reproduserbarhet og Tin/Frys .....	68
Vedlegg 13	Oppsett 6 Reproduserbarhet.....	70
Vedlegg 14	Holdbarhet dag3.....	72
Vedlegg 15	Holdbarhet dag7.....	73
Vedlegg 16	Oppsett 7 IS-recovery for ekstraksjonsutbytte.....	75
Vedlegg 17	Oppsett 7 Ekstraksjonsutbytte .....	76

## Vedlegg 1

### Analyseoppsett MOSER i fullblod

	File Name	Sample Type	Sample ID	MS File	MS Tune File	Inlet File	Bottle	Conc A	Conc B	Conc C
1	0327HMOSB_01			MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	Kondisjonerin...	3:1,A			
2	0327HMOSB_02			MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:1,A			
3	0327HMOSB_03			MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:1,A			
4	0327HMOSB_04	Blank	Std0	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:1,A			
5	0327HMOSB_05	Standard	Std1	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:1,B	100	50	10
6	0327HMOSB_06	Standard	Std2	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:1,C	500	150	30
7	0327HMOSB_07	Standard	Std3	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:1,D	2000	500	100
8	0327HMOSB_08	Standard	Std4	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:1,E	10000	2000	500
9	0327HMOSB_09	Blank	Std0	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:1,A			
10	0327HMOSB_10	QC	qc1MOSEB_...	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:1,F	150	75	15
11	0327HMOSB_11	QC	qc2MOSEB_...	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:1,G	1500	400	75
12	0327HMOSB_12	QC	qc3MOSEB_...	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:1,H	7500	1500	300
13	0327HMOSB_13		QC1_G	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:2,A	150	75	15
14	0327HMOSB_14		QC2_G	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:2,B	1500	400	75
15	0327HMOSB_15		QC3_G	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:2,C	7500	1500	300
16	0327HMOSB_16		QC1_N	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:2,D	150	75	15
17	0327HMOSB_17		QC2_N	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:2,E	1500	400	75
18	0327HMOSB_18		QC3_N	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:2,F	7500	1500	300
19	0327HMOSB_19	QC	qcDMOSEB_...	MOSEB_B_S...	MOSEB_MS...	MOSEB_B_S...	3:1,G	1500	400	75
20	0327HMOSB_20	Vask	Kolonnevask	MOSEB_MS...		Vask_kolonn...	1:48			

## Vedlegg 2

### Oppsett 1 Reproducerbarhet og standardrekke sammenligning

Compound 1: Moklobemid_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	
0315HMOSB_01								164,544	
0315HMOSB_02								177606,828	
0315HMOSB_03								238951,563	
0315HMOSB_04	Std0							218317,156	
0315HMOSB_05	Std1		100	103,3	3,3	12040,383	0,055	218268,797	
0315HMOSB_06	Std2		500	507,1	1,4	60676,828	0,276	219516,125	
0315HMOSB_07	Std3		2000	2076,7	3,8	223459,859	1,133	197280,047	
0315HMOSB_08	Std4		10000	9859,0	-1,4	857872,688	5,295	162016,172	
0315HMOSB_09	Std0			3,8		121,862	0,001	207250,703	
0315HMOSB_10	qc1MOSEB_B_PRO		150	158,0	5,3	17963,506	0,085	210951,203	
0315HMOSB_11	qc2MOSEB_B_PRO		1500	1525,3	1,7	167868,766	0,833	201638,344	
0315HMOSB_12	qc3MOSEB_B_PRO		7500	7728,3	3,0	680624,375	4,169	163248,188	
0315HMOSB_13	ST0f-I	Blank						202523,547	
0315HMOSB_14	ST1f-I	Standard	100	102,5	2,5	11187,189	0,055	204292,563	
0315HMOSB_15	ST2f-I	Standard	500	483,2	-3,4	50594,309	0,263	192163,703	
0315HMOSB_16	ST3f-I	Standard	2000	2016,9	0,8	205348,375	1,100	186642,031	
0315HMOSB_17	ST4f-I	Standard	10000	9997,3	0,0	806137,188	5,368	150182,078	
0315HMOSB_18	ST0f-I	Blank						190665,406	
0315HMOSB_19	QC1f-I	QC	150	153,6	2,4	16176,105	0,083	195527,359	
0315HMOSB_20	QC2f-I	QC	1500	1526,0	1,7	149420,375	0,833	179393,375	
0315HMOSB_21	QC3f-I	QC	7500	7461,4	-0,5	655282,813	4,028	162701,547	
0315HMOSB_22	qcDMOSEB_B_PRO	QC	1500	1519,7	1,3	151426,125	0,829	182555,031	
0315HMOSB_23	Vask								

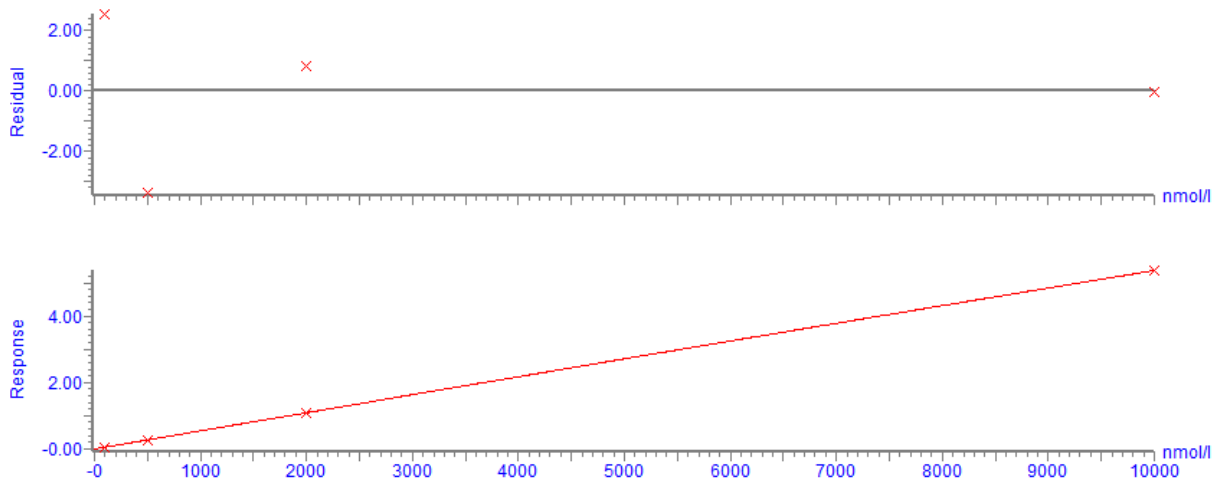
Compound 2: Reboksetin_S								
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area
0315HMOSB_01								1,661
0315HMOSB_02								130912,180
0315HMOSB_03								88832,008
0315HMOSB_04	Std0							83985,375
0315HMOSB_05	Std1		50	52,6	5,3	8065,492	0,100	80701,648
0315HMOSB_06	Std2		150	146,8	-2,2	25561,064	0,303	84224,445
0315HMOSB_07	Std3		500	520,7	4,1	85034,398	1,101	77249,445
0315HMOSB_08	Std4		2000	2086,6	4,3	319082,313	4,241	75241,375
0315HMOSB_09	Std0			7,9		213,324	0,003	77142,961
0315HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO		75	81,7	9,0	13186,952	0,163	80926,148
0315HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO		400	405,0	1,2	66098,547	0,856	77222,180
0315HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO		1500	1675,0	11,7	245166,047	3,446	71136,594
0315HMOSB_13	ST0f-I	Blank		7,6		164,082	0,002	75514,047
0315HMOSB_14	ST1f-I	Standard	50	52,4	4,7	7448,343	0,099	74990,938
0315HMOSB_15	ST2f-I	Standard	150	140,4	-6,4	20179,094	0,290	69656,930
0315HMOSB_16	ST3f-I	Standard	500	509,0	1,8	75377,945	1,076	70053,328
0315HMOSB_17	ST4f-I	Standard	2000	1998,3	-0,1	272281,219	4,072	66862,711
0315HMOSB_18	ST0f-I	Blank		7,9		188,962	0,003	70489,094
0315HMOSB_19	QC1f-I	QC	75	78,1	4,2	10723,974	0,155	69097,141
0315HMOSB_20	QC2f-I	QC	400	402,9	0,7	58093,648	0,852	68223,602
0315HMOSB_21	QC3f-I	QC	1500	1568,7	4,6	220434,859	3,238	68082,008
0315HMOSB_22	qcDMOSER_B_PRO	QC	400	424,3	6,1	62402,336	0,897	69572,102

Compound 3: Sertindol_S								
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area
0315HMOSB_01								0,439
0315HMOSB_02								43482,535
0315HMOSB_03								25523,883
0315HMOSB_04	Std0							25226,840
0315HMOSB_05	Std1		10	9,5	-5,5	6403,299	0,252	25399,623
0315HMOSB_06	Std2		30	29,1	-3,0	20399,031	0,774	26349,721
0315HMOSB_07	Std3		100	101,0	1,0	66698,891	2,705	24654,875
0315HMOSB_08	Std4		500	442,1	-11,6	320259,719	12,274	26091,852
0315HMOSB_09	Std0			0,3		204,493	0,009	24021,697
0315HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO		15	16,6	10,5	10849,677	0,441	24597,982
0315HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO		75	81,2	8,3	51837,664	2,171	23873,137
0315HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO		300	331,0	10,3	207676,016	9,084	22861,619
0315HMOSB_13	ST0f-I	Blank		0,2		135,321	0,006	22640,848
0315HMOSB_14	ST1f-I	Standard	10	10,2	1,7	6089,964	0,271	22460,354
0315HMOSB_15	ST2f-I	Standard	30	29,3	-2,3	16269,604	0,780	20857,756
0315HMOSB_16	ST3f-I	Standard	100	100,6	0,6	59693,359	2,694	22156,246
0315HMOSB_17	ST4f-I	Standard	500	499,9	0,0	298181,406	13,963	21354,869
0315HMOSB_18	ST0f-I	Blank		0,2		155,758	0,007	22726,389
0315HMOSB_19	QC1f-I	QC	15	16,6	10,6	9380,063	0,441	21250,865
0315HMOSB_20	QC2f-I	QC	75	84,2	12,3	50725,195	2,251	22529,695
0315HMOSB_21	QC3f-I	QC	300	301,1	0,4	177670,906	8,238	21567,717
0315HMOSB_22	qcDMOSER_B_PRO	QC	75	80,7	7,6	51063,215	2,157	23671,180
0315HMOSB_23	Vask							

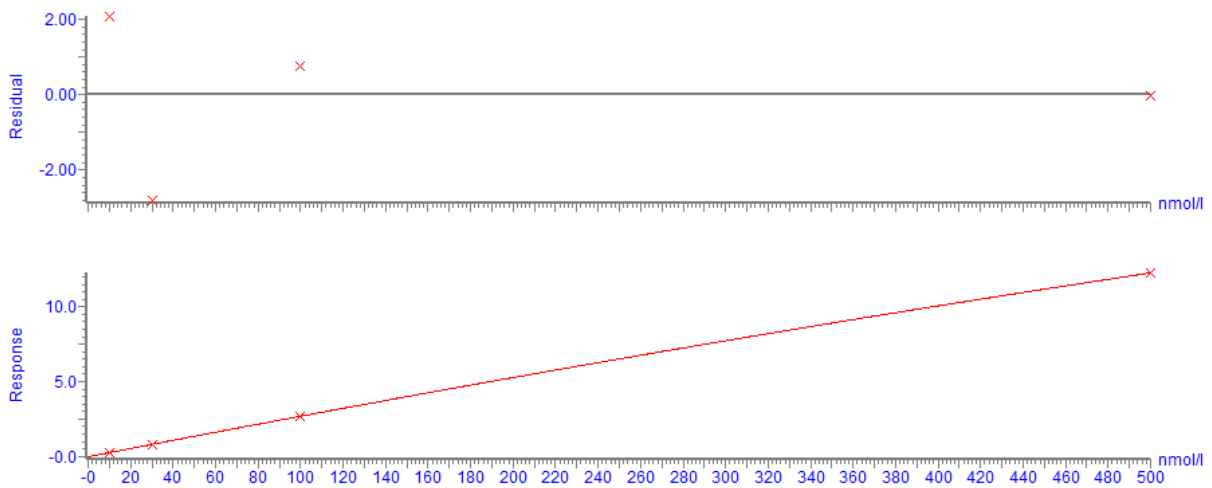
## Vedlegg 3

### Kalibreringskurver for analyttene i MOSER i fullblod

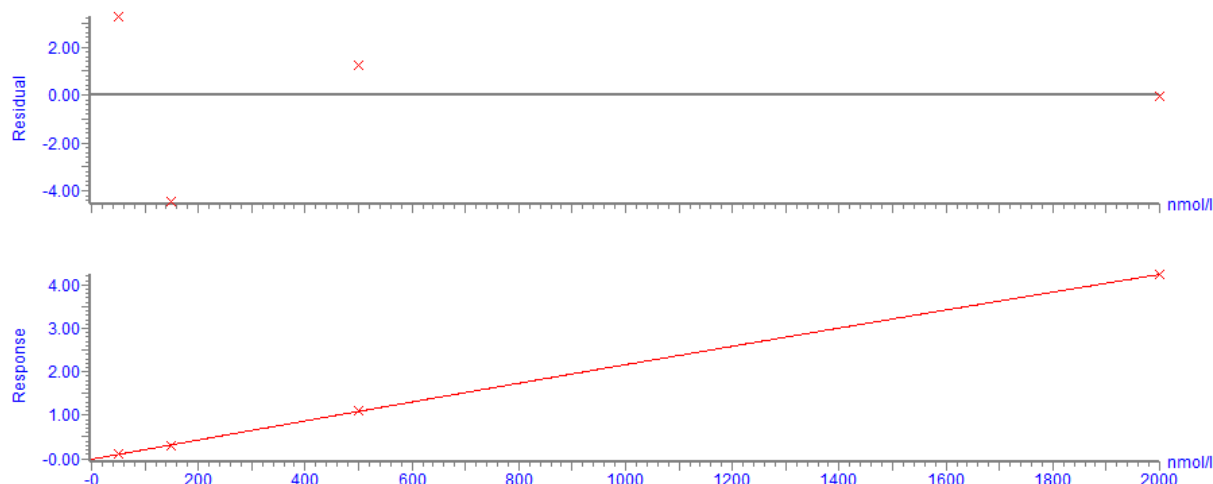
Compound name: Moklobemid\_S  
Coefficient of Determination:  $R^2 = 0.999929$   
Calibration curve:  $-1.14786e-009 * x^2 + 0.000548539 * x + -0.00147832$   
Response type: Internal Std ( Ref 6 ), Area \* ( IS Conc. / IS Area )  
Curve type: 2nd Order, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



Compound name: Sertindol\_S  
Coefficient of Determination:  $R^2 = 0.999924$   
Calibration curve:  $-6.3648e-006 * x^2 + 0.0277985 * x + -0.030985$   
Response type: Internal Std ( Ref 5 ), Area \* ( IS Conc. / IS Area )  
Curve type: 2nd Order, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



Compound name: Reboksetin\_S  
 Coefficient of Determination: R<sup>2</sup> = 0.999787  
 Calibration curve:  $-5.0365e-008 * x^2 + 0.00222983 * x + -0.015062$   
 Response type: Internal Std ( Ref 4 ), Area \* ( IS Conc. / IS Area )  
 Curve type: 2nd Order, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



## Vedlegg 4

### IS-recovery for analyttene i MOSER i fullblod

IS Moklobemid-d4								
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	RT
0315HMOSB_04	Std0	Blank	1	1,1	9,6	218317,156	218317,156	1,47
0315HMOSB_05	Std1	Standard	1	1,1	9,5	218268,797	218268,797	1,47
0315HMOSB_06	Std2	Standard	1	1,1	10,2	219516,125	219516,125	1,47
0315HMOSB_07	Std3	Standard	1	1	-1,0	197280,047	197280,047	1,47
0315HMOSB_08	Std4	Standard	1	0,8	-18,7	162016,172	162016,172	1,47
0315HMOSB_09		Blank	1	1	4,0	207250,703	207250,703	1,47
0315HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	1	1,1	5,9	210951,203	210951,203	1,47
0315HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	1	1	1,2	201638,344	201638,344	1,47
0315HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	1	0,8	-18,1	163248,188	163248,188	1,47

IS Sertindol-d4								
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	RT
0315HMOSB_04	Std0	Blank	1	1	-1,6	25226,840	25226,840	1,81
0315HMOSB_05	Std1	Standard	1	1	-0,9	25399,623	25399,623	1,8
0315HMOSB_06	Std2	Standard	1	1	2,8	26349,721	26349,721	1,8
0315HMOSB_07	Std3	Standard	1	1	-3,8	24654,875	24654,875	1,8
0315HMOSB_08	Std4	Standard	1	1	1,8	26091,852	26091,852	1,8
0315HMOSB_09		Blank	1	0,9	-6,3	24021,697	24021,697	1,8
0315HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	1	1	-4,0	24597,982	24597,982	1,8
0315HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	1	0,9	-6,8	23873,137	23873,137	1,8
0315HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	1	0,9	-10,8	22861,619	22861,619	1,8

IS Reboksetin-d5								
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	RT
0315HMOSB_04	Std0	Blank	1	1,1	5,8	83985,375	83985,375	1,62
0315HMOSB_05	Std1	Standard	1	1	1,7	80701,648	80701,648	1,62
0315HMOSB_06	Std2	Standard	1	1,1	6,1	84224,445	84224,445	1,62
0315HMOSB_07	Std3	Standard	1	1	-2,7	77249,445	77249,445	1,62
0315HMOSB_08	Std4	Standard	1	0,9	-5,2	75241,375	75241,375	1,62
0315HMOSB_09		Blank	1	1	-2,8	77142,961	77142,961	1,62
0315HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	1	1	2,0	80926,148	80926,148	1,62
0315HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	1	1	-2,7	77222,180	77222,180	1,62
0315HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	1	0,9	-10,4	71136,594	71136,594	1,62

## Vedlegg 5

### Kromatogram for analyttene i MOSER i fullblod

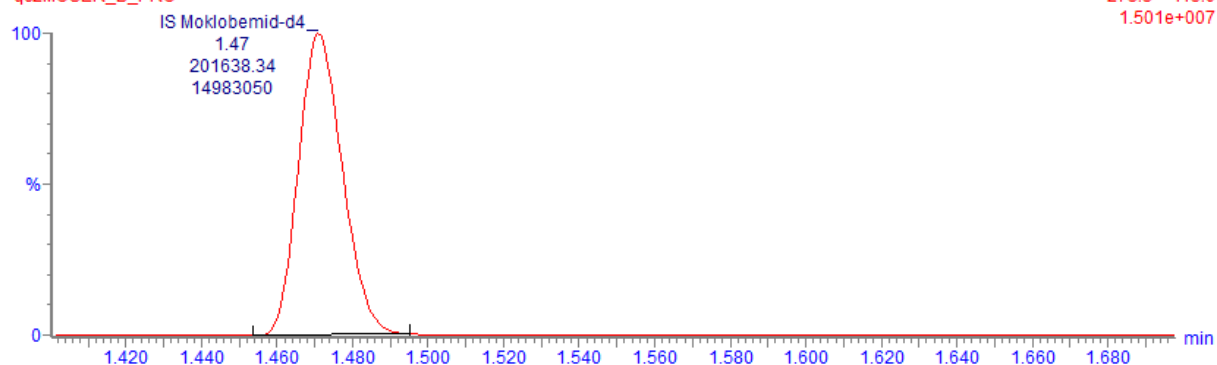
0315HMOSB\_11 Smooth(Mn,2x3)  
qc2MOSER\_B\_PRO

F1:MRM of 1 channel,ES+  
269.3 > 111.0  
1.249e+007



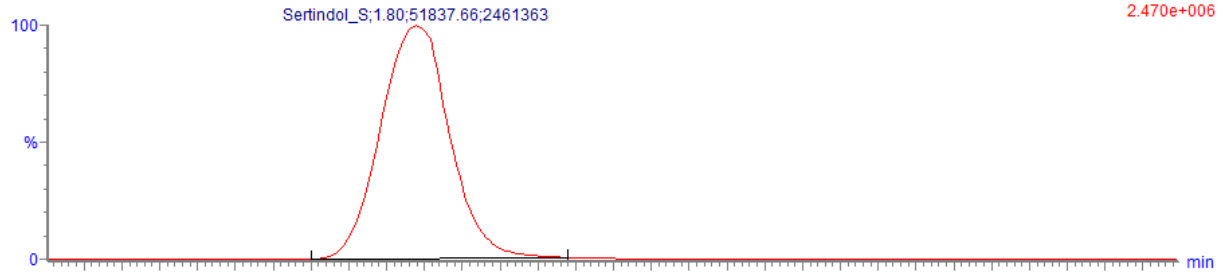
0315HMOSB\_11 Smooth(Mn,2x3)  
qc2MOSER\_B\_PRO

F2:MRM of 1 channel,ES+  
273.3 > 115.0  
1.501e+007



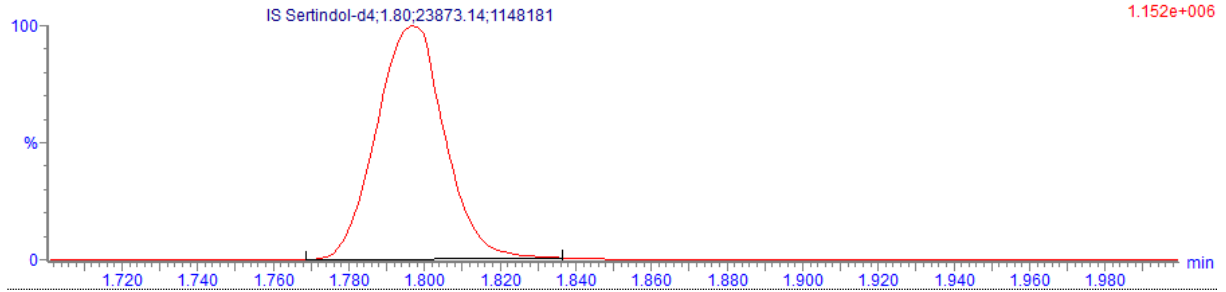
0315HMOSB\_11 Smooth(Mn,2x3)  
qc2MOSEB\_B\_PRO

F5:MRM of 1 channel,ES+  
441.3 > 113.1  
2.470e+006



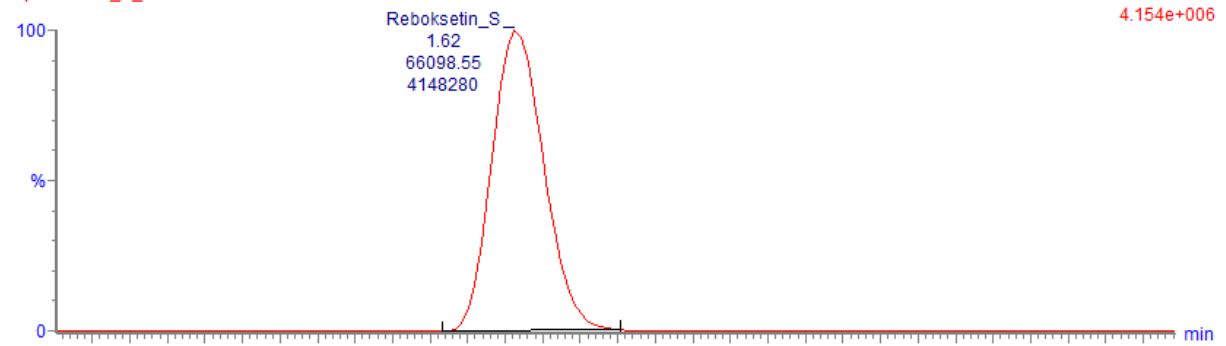
0315HMOSB\_11 Smooth(Mn,2x3)  
qc2MOSEB\_B\_PRO

F6:MRM of 1 channel,ES+  
444.9 > 117.0  
1.152e+006



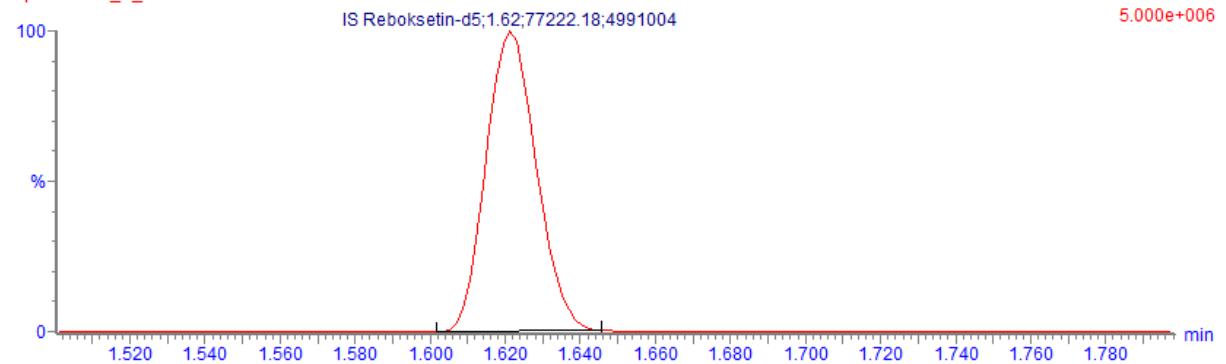
0315HMOSB\_11 Smooth(Mn,2x2)  
qc2MOSEB\_B\_PRO

F3:MRM of 1 channel,ES+  
314.3 > 176.2  
4.154e+006



0315HMOSB\_11 Smooth(Mn,2x2)  
qc2MOSEB\_B\_PRO

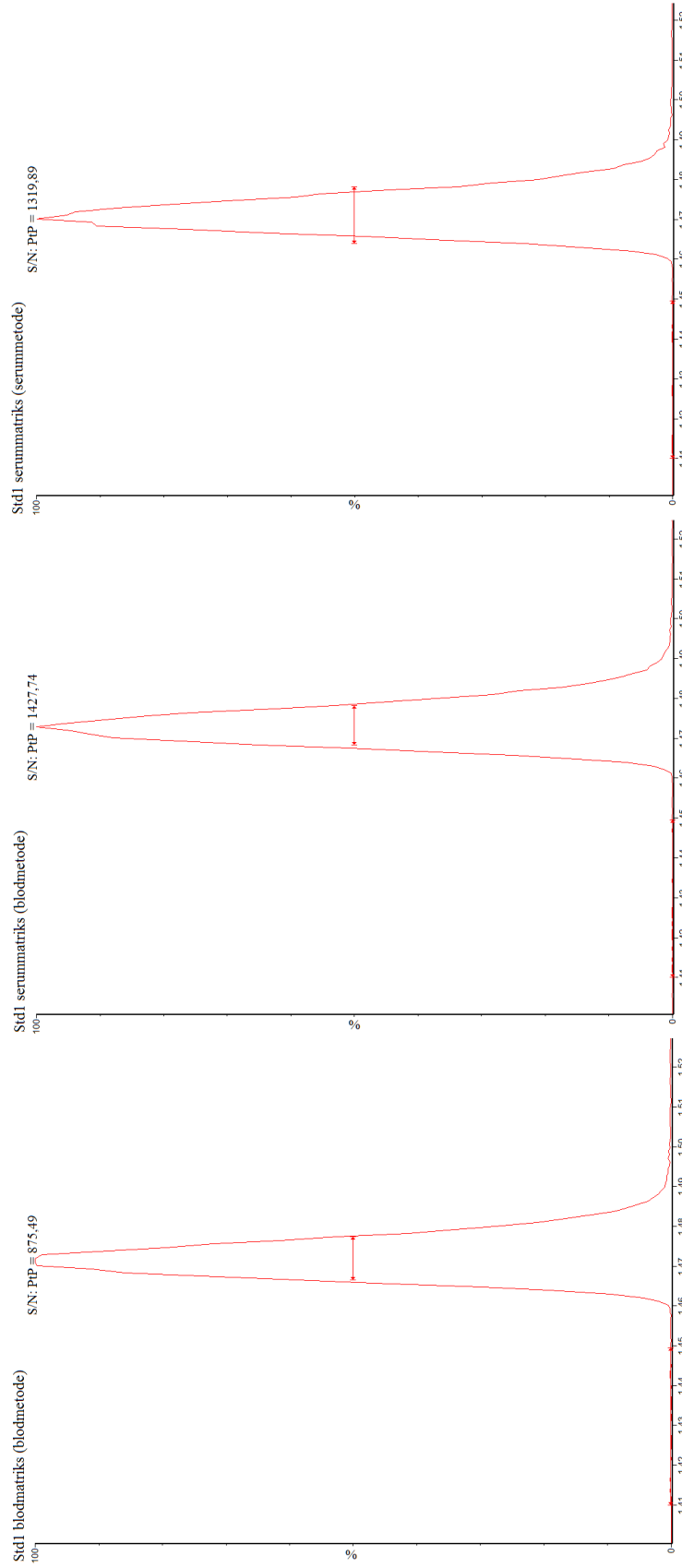
F4:MRM of 1 channel,ES+  
319.4 > 176.2  
5.000e+006





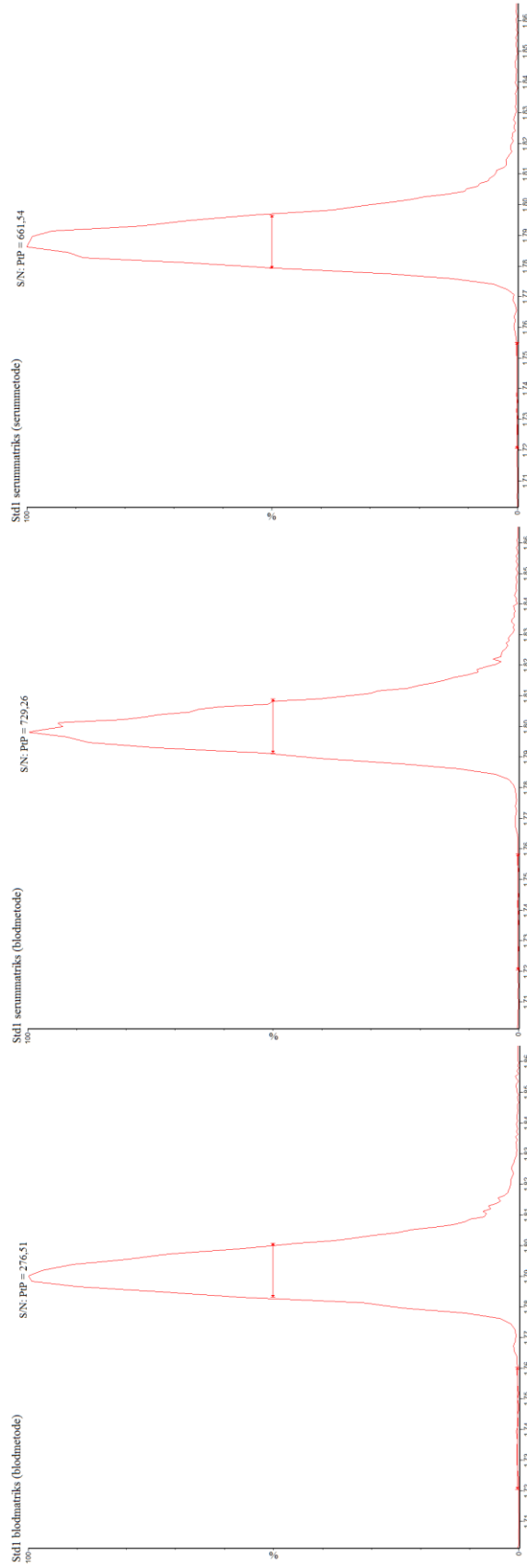
# Vedlegg 6

## Std1 Moklobemid kromatogrammer med S/N beregning



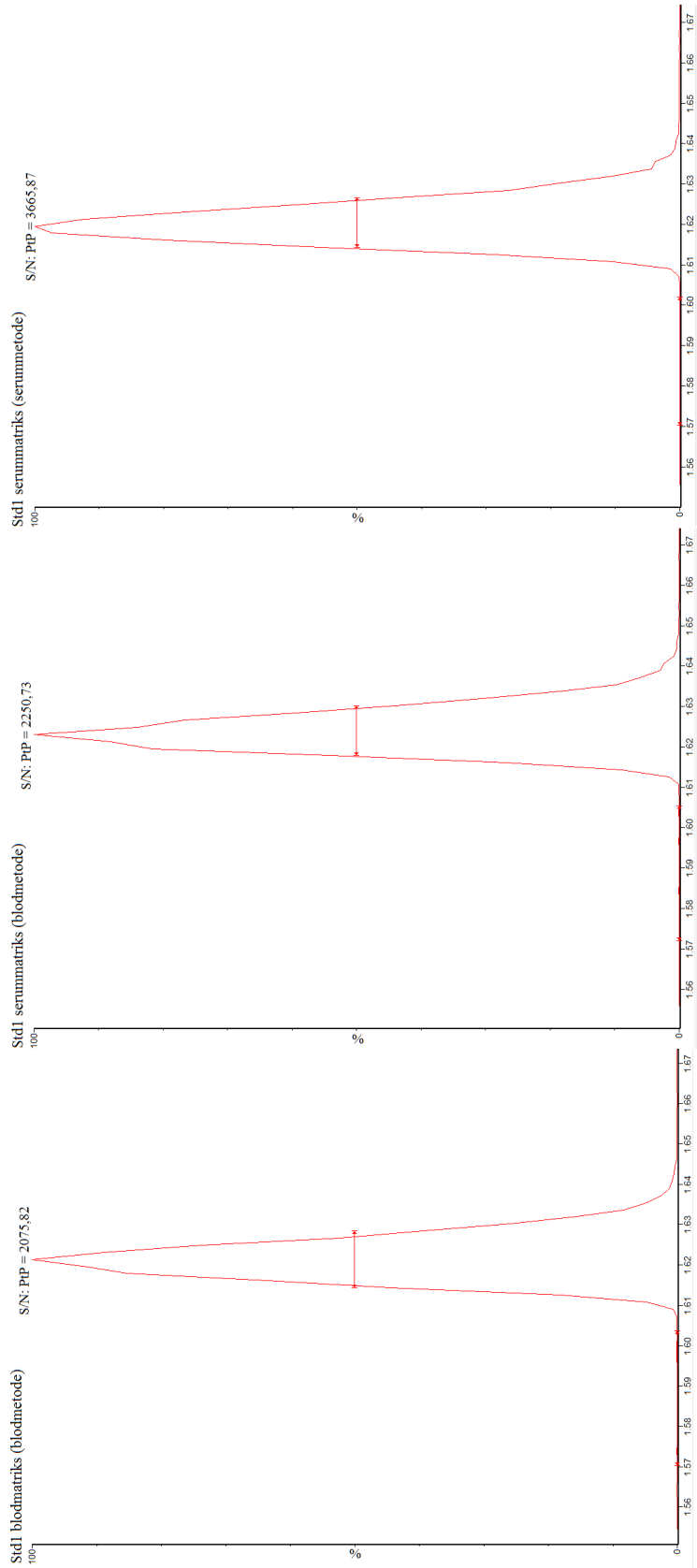
# Vedlegg 7

## Std1 Sertindol kromatogrammer med S/N beregning



# Vedlegg 8

## Std1 Reboksetin kromatogrammer med S/N beregning



## Vedlegg 9

### Oppsett 2 Reproduserbarhet og standardrekke sammenligning

Compound 1: Moklobemid_S										
	Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
1	0318HMOSB_01				5970,20		181,444	3,146	57,676	1,43
2	0318HMOSB_02								157099,781	
3	0318HMOSB_03								202682,938	
4	0318HMOSB_04	Std0							191673,406	
5	0318HMOSB_05	Std1			100,8		10010,498	0,053	190183,156	1,47
6	0318HMOSB_06	Std2			488,6		48934,723	0,261	187284,703	1,47
7	0318HMOSB_07	Std3			2002,5		190670,750	1,070	178194,953	1,47
8	0318HMOSB_08	Std4			9885,5		761277,875	5,132	148329,250	1,47
9	0318HMOSB_09								178983,984	
10	0318HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO			153,7		14735,460	0,081	181629,047	1,47
11	0318HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO			1476,3		135238,844	0,790	171199,172	1,47
12	0318HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO			7535,6		601699,375	3,948	152424,609	1,47
13	0318HMOSB_13	ST0f-H	Blank						182158,641	
14	0318HMOSB_14	ST1f-H	Standard	100	102,2	2,2	9429,402	0,053	176655,578	1,47
15	0318HMOSB_15	ST2f-H	Standard	500	485,3	-2,9	45968,199	0,259	177144,031	1,47
16	0318HMOSB_16	ST3f-H	Standard	2000	2014,9	0,7	183424,219	1,077	170376,313	1,47
17	0318HMOSB_17	ST4f-H	Standard	10000	9997,6	0,0	727881,375	5,188	140292,219	1,47
18	0318HMOSB_18								185301,453	
19	0318HMOSB_19	QC1f-H	QC	150	153,5	2,4	14648,497	0,081	180796,406	1,47
20	0318HMOSB_20	QC2f-H	QC	1500	1497,1	-0,2	135427,594	0,801	169068,016	1,47
21	0318HMOSB_21	QC3f-H	QC	7500	7510,1	0,1	573484,688	3,935	145755,922	1,47
22	0318HMOSB_22	qcDMOSER_B_PRO	QC	1500	1471,3	-1,9	134547,156	0,787	170902,000	1,47
23	0318HMOSB_23	Vask								

Compound 2: Reboksetin_S										
	Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
1	0318HMOSB_01								0,429	
2	0318HMOSB_02								159176,313	
3	0318HMOSB_03								113293,961	
4	0318HMOSB_04	Std0							111146,648	
5	0318HMOSB_05	Std1			51,2		10713,610	0,096	111471,141	1,62
6	0318HMOSB_06	Std2			145,0		33728,781	0,294	114805,148	1,62
7	0318HMOSB_07	Std3			511,3		117160,227	1,058	110717,141	1,63
8	0318HMOSB_08	Std4			2067,0		431868,906	4,163	103737,297	1,62
9	0318HMOSB_09				6,9		265,858	0,002	110811,148	1,62
10	0318HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO			79,6		16837,465	0,156	107912,281	1,62
11	0318HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO			395,1		84530,570	0,817	103471,914	1,62
12	0318HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO			1548,9		327737,688	3,154	103897,047	1,62
13	0318HMOSB_13	ST0f-H	Blank		6,8		222,806	0,002	102299,711	1,62
14	0318HMOSB_14	ST1f-H	Standard	50	50,1	0,1	9434,453	0,094	100767,313	1,62
15	0318HMOSB_15	ST2f-H	Standard	150	149,8	-0,2	29749,848	0,304	97925,945	1,62
16	0318HMOSB_16	ST3f-H	Standard	500	500,2	0,0	103653,070	1,035	100128,367	1,62
17	0318HMOSB_17	ST4f-H	Standard	2000	2000,0	0,0	378705,906	4,034	93879,578	1,62
18	0318HMOSB_18				6,9		240,559	0,002	99984,211	1,62
19	0318HMOSB_19	QC1f-H	QC	75	77,4	3,1	14891,911	0,151	98457,008	1,62
20	0318HMOSB_20	QC2f-H	QC	400	397,7	-0,6	78276,250	0,822	95175,641	1,62
21	0318HMOSB_21	QC3f-H	QC	1500	1537,1	2,5	278844,000	3,131	89057,906	1,62
22	0318HMOSB_22	qcDMOSER_B_PRO	QC	400	404,5	1,1	80447,094	0,837	96161,727	1,62
23	0318HMOSB_23	Vask								

Compound 3: Sertindol_S										
	Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
1	0318HMOSB_01								0,468	
2	0318HMOSB_02								25417,307	
3	0318HMOSB_03								14270,580	
4	0318HMOSB_04	Std0							13864,686	
5	0318HMOSB_05	Std1			11,3		6178,355	0,419	14759,413	1,80
6	0318HMOSB_06	Std2			31,2		18986,961	1,333	14248,573	1,80
7	0318HMOSB_07	Std3			101,4		64979,129	4,556	14262,733	1,80
8	0318HMOSB_08	Std4			490,2		308154,125	22,425	13741,242	1,80
9	0318HMOSB_09				2,5		173,220	0,013	13451,725	1,80
10	0318HMOSB_10	qc1MOSEB_B_PRO			18,1		10089,079	0,728	13862,539	1,80
11	0318HMOSB_11	qc2MOSEB_B_PRO			78,9		48167,184	3,524	13667,641	1,80
12	0318HMOSB_12	qc3MOSEB_B_PRO			316,0		204000,422	14,417	14150,402	1,80
13	0318HMOSB_13	ST0f-H	Blank		2,4		117,473	0,009	13710,030	1,80
14	0318HMOSB_14	ST1f-H	Standard	10	10,0	-0,2	5508,655	0,357	15428,563	1,79
15	0318HMOSB_15	ST2f-H	Standard	30	30,1	0,2	16349,185	1,279	12779,746	1,79
16	0318HMOSB_16	ST3f-H	Standard	100	99,9	-0,1	58004,191	4,489	12921,350	1,79
17	0318HMOSB_17	ST4f-H	Standard	500	500,0	0,0	284984,719	22,878	12456,826	1,79
18	0318HMOSB_18				2,5		173,458	0,012	13911,913	1,80
19	0318HMOSB_19	QC1f-H	QC	15	18,4	22,6	8735,056	0,743	11749,985	1,79
20	0318HMOSB_20	QC2f-H	QC	75	90,9	21,1	44717,090	4,072	10981,988	1,79
21	0318HMOSB_21	QC3f-H	QC	300	334,7	11,6	164868,422	15,277	10791,631	1,79
22	0318HMOSB_22	qcDMOSEB_B_PRO	QC	75	78,3	4,4	48412,664	3,493	13859,454	1,79
23	0318HMOSB_23	Vask								

## Vedlegg 10

### Oppsett 3 Reproduserbarhet, standardrekke sammenligning og holdbarhet

Compound 1: Moklobemid_S										
	Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
	0320HMOSB_01								73,482	
	0320HMOSB_02								191382,297	
	0320HMOSB_03								228584,047	
	0320HMOSB_04	Std0							220825,047	
	0320HMOSB_05	Std1			100,4		12294,516	0,055	223498,281	1,47
	0320HMOSB_06	Std2			494,1		58404,840	0,273	214209,375	1,47
	0320HMOSB_07	Std3			2017,8		229415,156	1,112	206223,625	1,47
	0320HMOSB_08	Std4			9969,8		935829,188	5,429	172368,594	1,47
	0320HMOSB_09	Std0							214558,875	
	0320HMOSB_10	qc1MOSEB_B_PRO			153,8		18259,510	0,085	215985,281	1,47
	0320HMOSB_11	qc2MOSEB_B_PRO			1511,6		169872,422	0,834	203710,000	1,47
	0320HMOSB_12	qc3MOSEB_B_PRO			7601,1		732760,438	4,155	176358,453	1,47
	0320HMOSB_13	ST0f-A	Blank						211622,203	
	0320HMOSB_14	ST1f-A	Standard	100	102,1	2,1	11560,984	0,056	206585,141	1,47
	0320HMOSB_15	ST2f-A	Standard	500	485,8	-2,8	56373,871	0,268	210276,984	1,47
	0320HMOSB_16	ST3f-A	Standard	2000	2014,2	0,7	222752,594	1,110	200590,719	1,47
	0320HMOSB_17	ST4f-A	Standard	10000	9997,8	0	949175,875	5,444	174344,875	1,47
	0320HMOSB_18	ST0f-A	Blank						216577,797	
	0320HMOSB_19	QC1f-A	QC	150	153,6	2,4	18114,715	0,084	214606,531	1,47
	0320HMOSB_20	QC2f-A	QC	1500	1515,1	1	173743,797	0,836	207865,234	1,47
	0320HMOSB_21	QC3f-A	QC	7500	7401,7	-1,3	710738,813	4,047	175609,297	1,47
	0320HMOSB_22	qcDMOSEB_B_PRO	QC	1500	1505,8	0,4	170972,484	0,831	205810,016	1,47
	0320HMOSB_23	Vask								

Compound 2: Reboksetin_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0320HMOSB_01								1,145	
0320HMOSB_02								174913,953	
0320HMOSB_03								115854,211	
0320HMOSB_04	Std0							108834,125	
0320HMOSB_05	Std1			51,5		11784,635	0,104	113816,641	1,62
0320HMOSB_06	Std2			147,8		35947,277	0,333	107951,375	1,62
0320HMOSB_07	Std3			500,5		125840,617	1,161	108389,688	1,62
0320HMOSB_08	Std4			2070		465702,969	4,595	101340,531	1,62
0320HMOSB_09	Std0			9,5		294,729	0,003	103989,016	1,62
0320HMOSB_10	qc1MOSEB_B_PRO			82,1		19274,375	0,177	109194,070	1,62
0320HMOSB_11	qc2MOSEB_B_PRO			401,6		99368,688	0,931	106747,023	1,62
0320HMOSB_12	qc3MOSEB_B_PRO			1598,6		368285,281	3,607	102108,828	1,62
0320HMOSB_13	ST0f-A	Blank		9,2		228,298	0,002	104615,500	1,62
0320HMOSB_14	ST1f-A	Standard	50	51,6	3,2	10356,310	0,104	99851,461	1,62
0320HMOSB_15	ST2f-A	Standard	150	143,4	-4,4	33054,199	0,323	102490,703	1,62
0320HMOSB_16	ST3f-A	Standard	500	506,2	1,2	115688,828	1,174	98522,492	1,62
0320HMOSB_17	ST4f-A	Standard	2000	1998,8	-0,1	441162,625	4,449	99171,047	1,62
0320HMOSB_18	ST0f-A	Blank		9,6		297,557	0,003	99737,672	1,62
0320HMOSB_19	QC1f-A	QC	75	83,1	10,9	17318,531	0,179	96730,266	1,62
0320HMOSB_20	QC2f-A	QC	400	395,3	-1,2	92329,969	0,916	100771,500	1,62
0320HMOSB_21	QC3f-A	QC	1500	1463,6	-2,4	310621,719	3,317	93651,773	1,62
0320HMOSB_22	qcDMOSEB_B_PRO	QC	400	406,8	1,7	94621,922	0,943	100328,250	1,62
0320HMOSB_23	Vask								

Compound 3: Sertindol_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0320HMOSB_01								0,051	
0320HMOSB_02								25366,240	
0320HMOSB_03								15277,873	
0320HMOSB_04	Std0							15400,668	
0320HMOSB_05	Std1			9,3		7329,237	0,469	15634,077	1,8
0320HMOSB_06	Std2			27,9		21279,506	1,448	14697,890	1,8
0320HMOSB_07	Std3			95,3		73465,781	4,989	14726,975	1,8
0320HMOSB_08	Std4			447,6		355915,656	23,780	14966,721	1,8
0320HMOSB_09	Std0			0,6		215,304	0,015	14175,734	1,79
0320HMOSB_10	qc1MOSEB_B_PRO			16,1		12005,106	0,828	14503,389	1,79
0320HMOSB_11	qc2MOSEB_B_PRO			78,8		58677,176	4,118	14249,739	1,79
0320HMOSB_12	qc3MOSEB_B_PRO			318,8		232512,563	16,855	13794,873	1,79
0320HMOSB_13	ST0f-A	Blank		0,6		178,202	0,013	13442,907	1,79
0320HMOSB_14	ST1f-A	Standard	10	10,2	1,8	6321,511	0,517	12237,032	1,79
0320HMOSB_15	ST2f-A	Standard	30	29,3	-2,4	19482,617	1,517	12840,171	1,79
0320HMOSB_16	ST3f-A	Standard	100	100,6	0,6	65736,070	5,270	12473,807	1,79
0320HMOSB_17	ST4f-A	Standard	500	499,9	0	356791,313	26,607	13409,896	1,79
0320HMOSB_18	ST0f-A	Blank		0,6		228,298	0,016	14543,929	1,79
0320HMOSB_19	QC1f-A	QC	15	15,3	2,3	10551,042	0,787	13403,483	1,79
0320HMOSB_20	QC2f-A	QC	75	72,2	-3,7	55354,688	3,773	14671,631	1,79
0320HMOSB_21	QC3f-A	QC	300	273,2	-8,9	201550,078	14,422	13975,117	1,79
0320HMOSB_22	qcDMOSEB_B_PRO	QC	75	75,4	0,6	60246,863	3,943	15279,976	1,79
0320HMOSB_23	Vask								

# Vedlegg 11

## Oppsett 4 Reproduuserbarhet og repeterbarhet

Compound 1: Moklobemid_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0322HMOSB_01								167,067	
0322HMOSB_02								165662,844	
0322HMOSB_03				5,7		323,397	0,001	217408,594	1,67
0322HMOSB_04	Std0	Blank		3,9		101,156	0,000	211747,438	1,66
0322HMOSB_05	Std1	Standard	100	101,4	1,4	11127,508	0,053	208649,938	1,47
0322HMOSB_06	Std2	Standard	500	490,4	-1,9	54046,746	0,263	205115,344	1,47
0322HMOSB_07	Std3	Standard	2000	2009,7	0,5	209564,172	1,077	194658,922	1,47
0322HMOSB_08	Std4	Standard	10000	9998,4	0,0	852231,063	5,147	165567,609	1,47
0322HMOSB_09	Std0	Blank		4,3		153,704	0,001	211244,156	1,48
0322HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	150	152,5	1,7	16821,502	0,081	207732,469	1,47
0322HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	1500	1455,5	-3,0	159613,297	0,781	204257,281	1,47
0322HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	7500	7395,0	-1,4	665294,500	3,858	172423,609	1,47
0322HMOSB_13	QC1A		150	158,8	5,8	16553,377	0,084	196249,734	1,47
0322HMOSB_14	QC1B		150	162,4	8,2	16331,661	0,086	189245,313	1,47
0322HMOSB_15	QC1C		150	150,5	0,4	16826,730	0,080	210579,984	1,47
0322HMOSB_16	QC1D		150	150,7	0,5	16021,602	0,080	200263,703	1,47
0322HMOSB_17	QC1E		150	151,8	1,2	16333,981	0,081	202672,281	1,47
0322HMOSB_18	QC1F		150	151,4	1,0	15751,588	0,080	195959,734	1,47
0322HMOSB_19	QC2A		1500	1386,1	-7,6	146049,688	0,744	196214,938	1,47
0322HMOSB_20	QC2B		1500	1385,1	-7,7	148466,078	0,744	199603,469	1,47
0322HMOSB_21	QC2C		1500	1469,7	-2,0	152443,094	0,789	193210,938	1,47
0322HMOSB_22	QC2D		1500	1458,2	-2,8	149123,750	0,783	190483,813	1,47
0322HMOSB_23	QC2E		1500	1458,5	-2,8	153895,344	0,783	196545,750	1,47
0322HMOSB_24	QC2F		1500	1474,5	-1,7	152805,594	0,792	193042,063	1,47
0322HMOSB_25	QC3A		7500	7462,9	-0,5	651905,750	3,893	167474,844	1,47
0322HMOSB_26	QC3B		7500	7124,3	-5,0	604566,938	3,722	162413,891	1,47
0322HMOSB_27	QC3C		7500	7290,2	-2,8	641326,313	3,806	168512,391	1,47
0322HMOSB_28	QC3D		7500	7525,4	0,3	657804,000	3,924	167640,797	1,47
0322HMOSB_29	QC3E		7500	7456,8	-0,6	638384,063	3,890	164129,641	1,47
0322HMOSB_30	QC3F		7500	7401,2	-1,3	657238,188	3,862	170198,438	1,47
0322HMOSB_31	qcDMOSER_B_PRO	QC	1500	1449,6	-3,4	152105,266	0,778	195447,000	1,47
0322HMOSB_32	Vask								

Compound 2: Reboksetin_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0322HMOSB_01								4,463	
0322HMOSB_02								152655,547	
0322HMOSB_03								95820,906	
0322HMOSB_04	Std0	Blank						91893,953	
0322HMOSB_05	Std1	Standard	50	51,2	2,4	10303,825	0,114	90409,672	1,62
0322HMOSB_06	Std2	Standard	150	145,1	-3,3	31925,781	0,359	89046,844	1,62
0322HMOSB_07	Std3	Standard	500	504,5	0,9	108571,438	1,286	84396,578	1,62
0322HMOSB_08	Std4	Standard	2000	1999,2	0,0	415615,094	5,007	83002,203	1,62
0322HMOSB_09	Std0	Blank		8,7		273,717	0,003	89093,688	1,62
0322HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	75	80,3	7,1	16722,734	0,190	88043,016	1,62
0322HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	400	392,1	-2,0	88633,164	0,997	88859,492	1,62
0322HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	1500	1456,8	-2,9	309617,375	3,683	84073,570	1,62
0322HMOSB_13	QC1A		75	80,1	6,7	15634,528	0,189	82631,445	1,62
0322HMOSB_14	QC1B		75	84,2	12,3	15569,843	0,200	77794,992	1,62
0322HMOSB_15	QC1C		75	77,7	3,6	15996,596	0,183	87380,242	1,62
0322HMOSB_16	QC1D		75	76,7	2,3	15327,438	0,181	84874,891	1,62
0322HMOSB_17	QC1E		75	79,7	6,3	15520,585	0,188	82434,703	1,62
0322HMOSB_18	QC1F		75	77,2	2,9	14470,021	0,182	79619,883	1,62
0322HMOSB_19	QC2A		400	372,3	-6,9	77631,797	0,946	82020,688	1,62
0322HMOSB_20	QC2B		400	355,5	-11,1	76051,023	0,903	84189,477	1,62
0322HMOSB_21	QC2C		400	388,3	-2,9	81003,555	0,988	82002,695	1,62
0322HMOSB_22	QC2D		400	379,3	-5,2	75520,961	0,964	78303,258	1,62
0322HMOSB_23	QC2E		400	385,6	-3,6	78282,930	0,981	79821,906	1,62
0322HMOSB_24	QC2F		400	381,3	-4,7	77874,703	0,970	80299,586	1,62
0322HMOSB_25	QC3A		1500	1401,6	-6,6	273372,875	3,546	77084,945	1,62
0322HMOSB_26	QC3B		1500	1377,1	-8,2	253030,531	3,486	72593,703	1,62
0322HMOSB_27	QC3C		1500	1378,7	-8,1	273892,156	3,490	78487,586	1,62
0322HMOSB_28	QC3D		1500	1440,1	-4,0	280572,688	3,641	77048,664	1,62
0322HMOSB_29	QC3E		1500	1406,9	-6,2	276694,219	3,559	77734,117	1,62
0322HMOSB_30	QC3F		1500	1447,8	-3,5	280825,156	3,660	76717,789	1,62
0322HMOSB_31	qcDMOSER_B_PRO	QC	400	398,1	-0,5	84961,734	1,013	83860,555	1,62
0322HMOSB_32	Vask								



Compound 3: Sertindol_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0322HMOSB_01								0,208	
0322HMOSB_02								31719,209	
0322HMOSB_03								18886,889	
0322HMOSB_04	Std0	Blank						17744,912	
0322HMOSB_05	Std1	Standard	10	10,3	3,1	7772,334	0,429	18120,436	1,8
0322HMOSB_06	Std2	Standard	30	28,7	-4,2	23799,141	1,300	18313,285	1,79
0322HMOSB_07	Std3	Standard	100	101,1	1,1	78193,180	4,688	16678,332	1,79
0322HMOSB_08	Std4	Standard	500	499,8	0,0	384050,531	22,409	17138,174	1,79
0322HMOSB_09	Std0	Blank		1,5		234,201	0,013	18659,545	1,79
0322HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	15	17,2	14,5	12894,438	0,754	17102,383	1,79
0322HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	75	79,5	6,0	65305,672	3,680	17744,391	1,79
0322HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	300	322,3	7,4	251827,891	14,715	17113,195	1,79
0322HMOSB_13	QC1A		15	14,1	-5,9	11325,896	0,609	18595,246	1,79
0322HMOSB_14	QC1B		15	14,8	-1,4	10981,915	0,641	17141,355	1,79
0322HMOSB_15	QC1C		15	14,4	-3,9	11528,581	0,623	18509,104	1,79
0322HMOSB_16	QC1D		15	14,1	-5,9	10942,071	0,609	17974,074	1,79
0322HMOSB_17	QC1E		15	14,3	-4,5	11422,035	0,619	18447,969	1,79
0322HMOSB_18	QC1F		15	14,2	-5,2	10895,030	0,614	17747,225	1,79
0322HMOSB_19	QC2A		75	67,7	-9,7	57645,090	3,132	18405,102	1,79
0322HMOSB_20	QC2B		75	64,7	-13,7	57157,676	2,992	19105,771	1,79
0322HMOSB_21	QC2C		75	69,4	-7,4	58889,574	3,211	18339,123	1,79
0322HMOSB_22	QC2D		75	70,4	-6,2	56804,359	3,255	17449,590	1,79
0322HMOSB_23	QC2E		75	68,4	-8,7	59309,301	3,165	18740,109	1,78
0322HMOSB_24	QC2F		75	68,6	-8,6	58824,895	3,170	18555,867	1,79
0322HMOSB_25	QC3A		300	238,0	-20,7	210998,672	10,950	19268,508	1,79
0322HMOSB_26	QC3B		300	245,8	-18,1	198430,438	11,302	17557,680	1,78
0322HMOSB_27	QC3C		300	222,9	-25,7	205475,234	10,271	20004,578	1,78
0322HMOSB_28	QC3D		300	242,6	-19,1	208790,734	11,161	18706,525	1,78
0322HMOSB_29	QC3E		300	232,9	-22,4	203305,141	10,721	18962,727	1,78
0322HMOSB_30	QC3F		300	245,8	-18,1	220971,016	11,304	19548,205	1,78
0322HMOSB_31	qcDMOSER_B_PRO	QC	75	76,5	2,0	66425,023	3,543	18750,803	1,78
0322HMOSB_32	Vask								

## Vedlegg 12

### Oppsett 5 Reproduserbarhet og Tin/Frys

Compound 1: Moklobemid									
Name	ID	Type	Std. Conc	Conc.	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0326HMOSB_01				1644,8		43,349	0,904	47,943	1,43
0326HMOSB_02				3,1		7,009	0,000	143720,938	1,41
0326HMOSB_03								217687,375	
0326HMOSB_04	Std0	Blank						217410,672	
0326HMOSB_05	Std1	Standard	100	101,1	1,1	11610,467	0,054	213934,234	1,47
0326HMOSB_06	Std2	Standard	500	493,0	-1,4	56005,082	0,271	206786,453	1,47
0326HMOSB_07	Std3	Standard	2000	2007,0	0,4	217470,969	1,102	197256,125	1,47
0326HMOSB_08	Std4	Standard	10000	9998,9	0,0	912009,500	5,365	169985,781	1,47
0326HMOSB_09	Std0	Blank		5,7		307,978	0,002	201970,531	1,48
0326HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	150	155,6	3,7	17025,463	0,084	201645,453	1,47
0326HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	1500	1524,8	1,7	161553,031	0,838	192685,688	1,47
0326HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	7500	7288,8	-2,8	661218,875	3,944	167666,750	1,47
0326HMOSB_13	QC1BLOD			158,9		15923,587	0,086	184640,672	1,47
0326HMOSB_14	QC2BLOD			1495,9		148867,828	0,823	180974,938	1,47
0326HMOSB_15	QC3BLOD			7510,2		641581,750	4,061	157997,328	1,47
0326HMOSB_16	QC1AK			155,5		15231,987	0,084	180473,891	1,47
0326HMOSB_17	QC1BK			155,9		14976,380	0,085	177007,281	1,47
0326HMOSB_18	QC1CK			156,6		15065,043	0,085	177206,172	1,47
0326HMOSB_19	QC2AK			1491,9		144305,125	0,820	175905,063	1,47
0326HMOSB_20	QC2BK			1510,5		141842,031	0,831	170773,938	1,47
0326HMOSB_21	QC2CK			1509,3		137693,656	0,830	165910,109	1,47
0326HMOSB_22	QC3AK			7734,4		633648,500	4,179	151624,047	1,47
0326HMOSB_23	QC3BK			7534,0		645861,625	4,073	158560,578	1,47
0326HMOSB_24	QC3CK			7681,4		616582,188	4,151	148533,000	1,47
0326HMOSB_25	QC1AF			147,8		14161,890	0,080	176724,172	1,47
0326HMOSB_26	QC1BF			157,2		14989,390	0,085	175656,219	1,47
0326HMOSB_27	QC1CF			158,3		14925,295	0,086	173665,547	1,47
0326HMOSB_28	QC2AF			1515,6		141961,750	0,833	170341,297	1,47
0326HMOSB_29	QC2BF			1518,2		137837,375	0,835	165115,484	1,47
0326HMOSB_30	QC2CF			1537,5		141897,344	0,845	167853,219	1,47
0326HMOSB_31	QC3AF			7705,7		624797,625	4,164	150049,656	1,47
0326HMOSB_32	QC3BF			7443,4		578023,563	4,025	143593,938	1,47
0326HMOSB_33	QC3CF			7643,9		610509,125	4,131	147775,031	1,47
0326HMOSB_34	0-BLOD			5,7		263,774	0,002	172161,797	1,48
0326HMOSB_35	qcDMOSER_B_PRO	QC	1500	1523,4	1,6	139217,359	0,838	166197,953	1,47
0326HMOSB_36	Vask								

Compound 2: Reboksetin									
Name	ID	Type	Std. Conc	Conc.	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0326HMOSB_01				183,5		1,053	0,394	2,671	1,59
0326HMOSB_02				10,7		7,136	0,000	145017,188	1,62
0326HMOSB_03				10,7		0,905	0,000	96083,469	1,6
0326HMOSB_04	Std0	Blank		10,7		7,348	0,000	90596,289	1,6
0326HMOSB_05	Std1	Standard	50	51,7	3,3	8523,199	0,094	90680,727	1,62
0326HMOSB_06	Std2	Standard	150	143,2	-4,6	25517,248	0,303	84286,219	1,62
0326HMOSB_07	Std3	Standard	500	506,4	1,3	96076,422	1,117	85999,008	1,62
0326HMOSB_08	Std4	Standard	2000	1998,7	-0,1	338853,156	4,220	80289,875	1,62
0326HMOSB_09	Std0	Blank		10,7		6,426	0,000	83518,945	1,59
0326HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	75	77,8	3,7	12907,146	0,154	83967,781	1,62
0326HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	400	386,5	-3,4	70455,922	0,851	82796,586	1,62
0326HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	1500	1402,8	-6,5	240796,938	3,028	79523,797	1,62
0326HMOSB_13	QC1BLOD			77,7		11677,036	0,153	76111,367	1,62
0326HMOSB_14	QC2BLOD			366,8		62345,277	0,807	77257,813	1,62
0326HMOSB_15	QC3BLOD			1413,4		226981,156	3,050	74429,281	1,62
0326HMOSB_16	QC1AK			77,2		11608,705	0,152	76165,367	1,62
0326HMOSB_17	QC1BK			76,0		11050,523	0,150	73809,008	1,62
0326HMOSB_18	QC1CK			76,9		11124,597	0,152	73351,781	1,62
0326HMOSB_19	QC2AK			369,6		59675,109	0,813	73382,172	1,62
0326HMOSB_20	QC2BK			385,8		59921,137	0,849	70560,070	1,62
0326HMOSB_21	QC2CK			373,8		58135,754	0,823	70676,578	1,62
0326HMOSB_22	QC3AK			1448,7		220248,938	3,122	70548,289	1,62
0326HMOSB_23	QC3BK			1345,5		220225,281	2,910	75677,297	1,62
0326HMOSB_24	QC3CK			1444,4		215692,109	3,113	69282,977	1,62
0326HMOSB_25	QC1AF			73,8		10551,615	0,145	72907,148	1,62
0326HMOSB_26	QC1BF			75,9		10818,599	0,149	72426,484	1,62
0326HMOSB_27	QC1CF			78,5		11174,366	0,155	71933,445	1,62
0326HMOSB_28	QC2AF			379,1		59546,063	0,834	71362,984	1,62
0326HMOSB_29	QC2BF			364,7		57098,895	0,802	71177,664	1,62
0326HMOSB_30	QC2CF			386,7		60488,434	0,851	71048,664	1,62
0326HMOSB_31	QC3AF			1392,8		218538,094	3,007	72667,586	1,62
0326HMOSB_32	QC3BF			1401,7		209191,078	3,026	69136,750	1,62
0326HMOSB_33	QC3CF			1424,6		214335,781	3,073	69757,367	1,62
0326HMOSB_34	0-BLOD			12,0		212,207	0,003	72332,359	1,62
0326HMOSB_35	qcDMOSER_B_PRO	QC	400	395,9	-1,0	63589,859	0,872	72930,992	1,62
0326HMOSB_36	Vask								

Compound 3: Sertindol									
Name	ID	Type	Std. Conc	Conc.	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0326HMOSB_01				26,8		1,445	1,481	0,976	1,78
0326HMOSB_02								22712,670	
0326HMOSB_03				1,2		6,807	0,001	12935,822	1,81
0326HMOSB_04	Std0	Blank		1,2		5,070	0,000	12791,720	1,8
0326HMOSB_05	Std1	Standard	10	10,2	2,2	6931,010	0,521	13298,995	1,8
0326HMOSB_06	Std2	Standard	30	29,1	-3,0	20565,684	1,612	12760,765	1,8
0326HMOSB_07	Std3	Standard	100	100,8	0,8	73526,375	5,714	12866,668	1,8
0326HMOSB_08	Std4	Standard	500	499,9	0,0	354565,969	27,393	12943,650	1,79
0326HMOSB_09	Std0	Blank		1,6		252,602	0,019	13100,378	1,79
0326HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	15	16,3	8,5	11754,135	0,871	13491,217	1,79
0326HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	75	76,1	1,5	59055,660	4,309	13705,758	1,79
0326HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	300	303,3	1,1	223829,969	16,962	13196,233	1,79
0326HMOSB_13	QC1BLOD			15,9		9581,688	0,851	11252,747	1,79
0326HMOSB_14	QC2BLOD			82,1		50363,547	4,650	10830,525	1,79
0326HMOSB_15	QC3BLOD			1,9		439,044	0,040	10905,243	1,73
0326HMOSB_16	QC1AK			16,2		9614,432	0,869	11069,348	1,79
0326HMOSB_17	QC1BK			17,1		9790,685	0,918	10665,199	1,79
0326HMOSB_18	QC1CK			15,8		9745,192	0,846	11524,581	1,79
0326HMOSB_19	QC2AK			84,6		51838,328	4,792	10818,004	1,79
0326HMOSB_20	QC2BK			82,8		49813,574	4,692	10615,609	1,79
0326HMOSB_21	QC2CK			83,8		49823,672	4,747	10495,437	1,79
0326HMOSB_22	QC3AK			276,8		189387,094	15,517	12205,331	1,79
0326HMOSB_23	QC3BK			270,0		197861,734	15,147	13062,479	1,79
0326HMOSB_24	QC3CK			284,2		188242,547	15,921	11823,322	1,79
0326HMOSB_25	QC1AF			14,0		9137,754	0,740	12348,239	1,79
0326HMOSB_26	QC1BF			15,1		10132,517	0,802	12632,076	1,79
0326HMOSB_27	QC1CF			14,9		9845,232	0,790	12465,007	1,79
0326HMOSB_28	QC2AF			72,0		52779,043	4,072	12960,132	1,79
0326HMOSB_29	QC2BF			72,6		49746,340	4,111	12102,043	1,79
0326HMOSB_30	QC2CF			73,8		52986,785	4,179	12678,670	1,79
0326HMOSB_31	QC3AF			287,5		194569,641	16,103	12082,679	1,79
0326HMOSB_32	QC3BF			285,2		184365,906	15,975	11540,670	1,79
0326HMOSB_33	QC3CF			303,7		195714,828	16,981	11525,568	1,79
0326HMOSB_34	0-BLOD							10304,415	
0326HMOSB_35	qcDMOSER_B_PRO	QC	75	80,7	7,6	60163,297	4,569	13167,137	1,79
0326HMOSB_36	Vask								

## Vedlegg 13

### Oppsett 6 Reproduerbarhet

Compound 1: Moklobemid_S										
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT	
0327HMOSB_01								1,193		
0327HMOSB_02								171497,281		
0327HMOSB_03				4,6		210,598	0,001	222265,906	1,67	
0327HMOSB_04	Std0	Blank		4,5		185,210	0,001	216455,453	1,66	
0327HMOSB_05	Std1	Standard	100	101,9	1,9	11737,243	0,055	213425,078	1,47	
0327HMOSB_06	Std2	Standard	500	487,3	-2,5	56946,414	0,269	211856,984	1,47	
0327HMOSB_07	Std3	Standard	2000	2012,8	0,6	226933,141	1,110	204509,078	1,47	
0327HMOSB_08	Std4	Standard	10000	9998,0	0,0	950016,313	5,372	176851,969	1,47	
0327HMOSB_09	Std0	Blank		4,1		138,785	0,001	208463,203	1,48	
0327HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	150	154,0	2,7	17941,402	0,084	213733,516	1,47	
0327HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	1500	1469,0	-2,1	169641,109	0,811	209199,766	1,47	
0327HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	7500	7332,3	-2,2	728733,625	3,975	183329,234	1,47	
0327HMOSB_13	QC1_G			150	155,7	17393,928	0,085	204988,672	1,47	
0327HMOSB_14	QC2_G			1500	1509,3	163490,063	0,833	196254,516	1,47	
0327HMOSB_15	QC3_G			7500	7482,6	-0,2	702549,625	4,054	173277,219	1,47
0327HMOSB_16	QC1_N			150	160,5	7,0	17413,797	0,088	198931,359	1,47
0327HMOSB_17	QC2_N			1500	1505,9	0,4	160648,734	0,831	193274,969	1,47
0327HMOSB_18	QC3_N			7500	7778,9	3,7	723207,313	4,211	171747,594	1,47
0327HMOSB_19	qcDMOSER_B_PRO	QC	1500	1474,5	-1,7	161098,453	0,814	197932,859	1,47	
0327HMOSB_20	Vask									

Compound 2: Reboksetin_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0327HMOSB_01								0,126	
0327HMOSB_02				6,1		104,678	0,001	140544,594	1,76
0327HMOSB_03								87016,328	
0327HMOSB_04	Std0	Blank						81733,961	
0327HMOSB_05	Std1	Standard	50	52,1	4,1	7838,782	0,096	81738,898	1,62
0327HMOSB_06	Std2	Standard	150	141,6	-5,6	23603,590	0,281	83908,461	1,62
0327HMOSB_07	Std3	Standard	500	507,7	1,5	84978,078	1,037	81947,922	1,62
0327HMOSB_08	Std4	Standard	2000	1998,6	-0,1	314976,719	4,075	77290,656	1,62
0327HMOSB_09	Std0	Blank		7,2		229,013	0,003	80887,945	1,62
0327HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	75	81,7	8,9	12924,597	0,157	82196,289	1,62
0327HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	400	405,3	1,3	67535,219	0,826	81770,977	1,62
0327HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	1500	1449,8	-3,3	242937,516	2,964	81958,734	1,62
0327HMOSB_13	QC1_G		75	80,4	7,2	12013,660	0,155	77670,805	1,62
0327HMOSB_14	QC2_G		400	395,1	-1,2	62349,238	0,805	77462,953	1,62
0327HMOSB_15	QC3_G		1500	1484,6	-1,0	226980,250	3,035	74792,328	1,62
0327HMOSB_16	QC1_N		75	82,7	10,2	11776,605	0,159	73912,023	1,62
0327HMOSB_17	QC2_N		400	417,8	4,4	64466,145	0,852	75688,344	1,62
0327HMOSB_18	QC3_N		1500	1595,0	6,3	232990,625	3,259	71492,211	1,62
0327HMOSB_19	qcDMOSER_B_PRO	QC	400	393,4	-1,6	62614,820	0,802	78121,063	1,62
0327HMOSB_20	Vask								

Compound 3: Sertindol_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0327HMOSB_01								0,171	
0327HMOSB_02				2,1		263,939	0,012	21177,348	1,81
0327HMOSB_03								11312,693	
0327HMOSB_04	Std0	Blank						11215,891	
0327HMOSB_05	Std1	Standard	10	10,2	2,1	7436,975	0,611	12165,858	1,8
0327HMOSB_06	Std2	Standard	30	29,1	-2,8	22244,496	2,000	11124,346	1,8
0327HMOSB_07	Std3	Standard	100	100,8	0,8	77075,555	7,206	10696,545	1,8
0327HMOSB_08	Std4	Standard	500	499,9	0,0	375258,031	34,942	10739,308	1,8
0327HMOSB_09	Std0	Blank		2,2		245,819	0,024	10407,566	1,79
0327HMOSB_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	15	17,0	13,2	12529,125	1,108	11312,016	1,79
0327HMOSB_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	75	77,1	2,8	60888,230	5,494	11082,208	1,79
0327HMOSB_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	300	300,9	0,3	241101,469	21,384	11274,894	1,79
0327HMOSB_13	QC1_G		15	15,1	0,8	10378,615	0,971	10686,863	1,79
0327HMOSB_14	QC2_G		75	73,8	-1,6	53974,961	5,257	10267,508	1,79
0327HMOSB_15	QC3_G		300	250,6	-16,5	188841,094	17,875	10564,336	1,79
0327HMOSB_16	QC1_N		15	17,1	13,9	11156,324	1,116	9997,131	1,79
0327HMOSB_17	QC2_N		75	74,9	-0,1	54792,980	5,337	10266,374	1,79
0327HMOSB_18	QC3_N		300	327,2	9,1	220424,938	23,211	9496,624	1,79
0327HMOSB_19	qcDMOSER_B_PRO	QC	75	70,4	-6,1	59370,160	5,009	11853,259	1,79
0327HMOSB_20	Vask								

# Vedlegg 14

## Holdbarhet dag3

Compound 1: Moklobemid_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0320HMOSB_3_01								94,141	
0320HMOSB_3_02								189405,641	
0320HMOSB_3_03				6,7		436,487	0,002	270788,313	1,65
0320HMOSB_3_04	Std0	Blank		5,3		218,285	0,001	259220,344	1,68
0320HMOSB_3_05	Std1	Standard	100	101,7	1,7	13924,782	0,054	259562,750	1,47
0320HMOSB_3_06	Std2	Standard	500	488,8	-2,2	65113,660	0,265	245459,906	1,47
0320HMOSB_3_07	Std3	Standard	2000	2011,4	0,6	263108,344	1,092	240930,391	1,47
0320HMOSB_3_08	Std4	Standard	10000	9998,2	0,0	1019366,000	5,281	193041,000	1,47
0320HMOSB_3_09	Std0	Blank		5,2		193,108	0,001	250788,438	1,48
0320HMOSB_3_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	150	153,3	2,2	19872,781	0,082	242597,781	1,47
0320HMOSB_3_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	1500	1469,7	-2,0	184941,203	0,799	231475,141	1,47
0320HMOSB_3_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	7500	7533,4	0,4	814724,000	4,015	202942,688	1,47
0320HMOSB_3_13	ST0f-A			4,7		133,854	0,001	249486,984	1,48
0320HMOSB_3_14	ST1f-A			101,6		13083,889	0,054	244078,750	1,47
0320HMOSB_3_15	ST2f-A			476,6		63518,910	0,259	245592,922	1,47
0320HMOSB_3_16	ST3f-A			1984,6		248587,313	1,078	230685,781	1,47
0320HMOSB_3_17	ST4f-A			9928,6		969469,813	5,245	184831,625	1,47
0320HMOSB_3_18	ST0f-A			6,1		316,947	0,001	246918,422	1,49
0320HMOSB_3_19	QC1f-A			154,0		19787,418	0,082	240466,547	1,47
0320HMOSB_3_20	QC2f-A			1468,3		180835,813	0,798	226548,047	1,47
0320HMOSB_3_21	QC3f-A			7401,4		763939,125	3,946	193594,828	1,47
0320HMOSB_3_22	qcDMOSER_B_PRO	QC	1500	1466,6	-2,2	179358,969	0,797	224964,688	1,47
0320HMOSB_3_23	Vask								

Compound 2: Reboksetin_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0320HMOSB_3_01						106,947	403,574	0,265	1,62
0320HMOSB_3_02				5,7		104,118	0,001	184160,063	1,74
0320HMOSB_3_03								117834,539	
0320HMOSB_3_04	Std0	Blank						108608,609	
0320HMOSB_3_05	Std1	Standard	50	50,9	1,9	11891,397	0,108	109696,625	1,62
0320HMOSB_3_06	Std2	Standard	150	146,2	-2,5	35805,188	0,336	106684,008	1,62
0320HMOSB_3_07	Std3	Standard	500	503,5	0,7	131224,766	1,186	110674,516	1,62
0320HMOSB_3_08	Std4	Standard	2000	1999,4	0,0	480971,000	4,718	101939,766	1,62
0320HMOSB_3_09	Std0	Blank		6,7		308,621	0,003	109096,250	1,62
0320HMOSB_3_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	75	81,4	8,6	19030,734	0,181	105046,969	1,62
0320HMOSB_3_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	400	416,2	4,1	100836,422	0,978	103073,227	1,62
0320HMOSB_3_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	1500	1527,1	1,8	364926,906	3,608	101149,891	1,62
0320HMOSB_3_13	ST0f-A			6,5		268,273	0,003	105822,367	1,62
0320HMOSB_3_14	ST1f-A			50,8		11524,668	0,108	106601,680	1,62
0320HMOSB_3_15	ST2f-A			143,2		34093,742	0,328	103826,602	1,62
0320HMOSB_3_16	ST3f-A			505,7		123000,352	1,191	103265,844	1,62
0320HMOSB_3_17	ST4f-A			2044,7		468076,750	4,824	97021,703	1,62
0320HMOSB_3_18	ST0f-A			6,8		321,243	0,003	104165,031	1,62
0320HMOSB_3_19	QC1f-A			79,2		17853,828	0,176	101590,578	1,62
0320HMOSB_3_20	QC2f-A			401,9		95602,727	0,944	101232,750	1,62
0320HMOSB_3_21	QC3f-A			1492,9		341898,969	3,527	96938,102	1,62
0320HMOSB_3_22	qcDMOSER_B_PRO	QC	400	418,5	4,6	100375,484	0,984	102039,227	1,62
0320HMOSB_3_23	Vask								

Compound 3: Sertindol_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0320HMOSB_3_01									
0320HMOSB_3_02								59845,293	
0320HMOSB_3_03								34235,160	
0320HMOSB_3_04	Std0	Blank						34093,137	
0320HMOSB_3_05	Std1	Standard	10	10,2	1,9	9770,151	0,275	35464,230	1,79
0320HMOSB_3_06	Std2	Standard	30	29,2	-2,6	28745,799	0,883	32567,871	1,79
0320HMOSB_3_07	Std3	Standard	100	100,7	0,7	100492,117	3,145	31950,014	1,79
0320HMOSB_3_08	Std4	Standard	500	499,9	0,0	489172,750	15,342	31883,639	1,79
0320HMOSB_3_09	Std0	Blank		1,9		303,477	0,010	31489,143	1,79
0320HMOSB_3_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	15	17,8	18,3	15670,830	0,517	30324,447	1,79
0320HMOSB_3_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	75	79,0	5,3	76757,414	2,460	31198,504	1,79
0320HMOSB_3_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	300	327,6	9,2	317457,094	10,170	31215,535	1,79
0320HMOSB_3_13	ST0f-A			1,8		209,260	0,007	30427,047	1,79
0320HMOSB_3_14	ST1f-A			11,2		9021,782	0,307	29352,715	1,79
0320HMOSB_3_15	ST2f-A			31,3		27167,943	0,948	28654,576	1,79
0320HMOSB_3_16	ST3f-A			106,7		88472,586	3,333	26540,838	1,79
0320HMOSB_3_17	ST4f-A			549,5		453950,188	16,804	27014,977	1,79
0320HMOSB_3_18	ST0f-A			1,8		268,532	0,009	31512,969	1,78
0320HMOSB_3_19	QC1f-A			18,0		14019,471	0,525	26681,330	1,79
0320HMOSB_3_20	QC2f-A			73,7		71008,320	2,295	30936,926	1,79
0320HMOSB_3_21	QC3f-A			277,0		257810,438	8,626	29886,807	1,79
0320HMOSB_3_22	qcDMOSER_B_PRO	QC	75	79,5	6,1	77923,969	2,478	31440,143	1,79
0320HMOSB_3_23	Vask								

## Vedlegg 15

### Holdbarhet dag7

Compound 1: Moklobemid_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0320HMOSB_7_01								210,994	
0320HMOSB_7_02								207939,406	
0320HMOSB_7_03								312660,375	
0320HMOSB_7_04	Std0	Blank		3,7		181,458	0,001	300979,188	1,67
0320HMOSB_7_05	Std1	Standard	100	101,6	1,6	15904,677	0,057	280116,5	1,47
0320HMOSB_7_06	Std2	Standard	500	489,2	-2,2	73336,016	0,279	263258,969	1,47
0320HMOSB_7_07	Std3	Standard	2000	2011,0	0,5	283489,063	1,142	248344,234	1,47
0320HMOSB_7_08	Std4	Standard	10000	9998,2	0,0	1118747,13	5,463	204797,75	1,47
0320HMOSB_7_09	Std0	Blank		3,6		154,959	0,001	270933,531	1,48
0320HMOSB_7_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	150	152,9	1,9	21637,621	0,086	251124,875	1,47
0320HMOSB_7_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	1500	1483,0	-1,1	216261,594	0,844	256371,609	1,47
0320HMOSB_7_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	7500	7594,6	1,3	1073840,63	4,199	255731,984	1,47
0320HMOSB_7_13	ST0f-A			3,8		190,329	0,001	279258,938	1,48
0320HMOSB_7_14	ST1f-A			102,5		13978,322	0,057	244053,203	1,47
0320HMOSB_7_15	ST2f-A			482,0		65495,125	0,274	238621,375	1,47
0320HMOSB_7_16	ST3f-A			1999,3		260912,281	1,135	229890,281	1,47
0320HMOSB_7_17	ST4f-A			10101,7		1014524,5	5,516	183911,156	1,47
0320HMOSB_7_18	ST0f-A			3,6		150,152	0,001	282375,688	1,48
0320HMOSB_7_19	QC1f-A			153,3		20597,871	0,086	238471,313	1,47
0320HMOSB_7_20	QC2f-A			1490,1		210158,859	0,848	247953,016	1,47
0320HMOSB_7_21	QC3f-A			7441,6		943067,5	4,118	229033,969	1,47
0320HMOSB_7_22	qcDMOSER_B_PRO	QC	1500	1476,0	-1,6	210823,906	0,84	251099,813	1,47
0320HMOSB_7_23	Vask								

Compound 2: Reboksetin_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0320HMOSB_7_01								0,607	
0320HMOSB_7_02								174056,234	
0320HMOSB_7_03								118920,734	
0320HMOSB_7_04	Std0	Blank						117552,547	
0320HMOSB_7_05	Std1	Standard	50	51,1	2,2	10373,99	0,099	105274,656	1,62
0320HMOSB_7_06	Std2	Standard	150	145,6	-2,9	31085,947	0,309	100664,648	1,62
0320HMOSB_7_07	Std3	Standard	500	504,1	0,8	110564,141	1,099	100582,086	1,62
0320HMOSB_7_08	Std4	Standard	2000	1999,2	0,0	400492,25	4,278	93621,148	1,62
0320HMOSB_7_09	Std0	Blank		8,1		286,935	0,003	107907,031	1,62
0320HMOSB_7_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	75	82,3	9,8	16464,43	0,168	97935,516	1,62
0320HMOSB_7_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	400	389,4	-2,7	89812,188	0,848	105969,141	1,62
0320HMOSB_7_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	1500	1506,9	0,5	402576,281	3,252	123786,508	1,62
0320HMOSB_7_13	ST0f-A			8,1		312,656	0,003	117248,977	1,62
0320HMOSB_7_14	ST1f-A			51,0		9897,188	0,098	100617	1,62
0320HMOSB_7_15	ST2f-A			143,5		29002,174	0,304	95332,813	1,62
0320HMOSB_7_16	ST3f-A			503,2		106858,594	1,097	97387,008	1,62
0320HMOSB_7_17	ST4f-A			1993,7		373632,969	4,266	87577,633	1,62
0320HMOSB_7_18	ST0f-A			8,0		290,239	0,003	114509,703	1,62
0320HMOSB_7_19	QC1f-A			76,9		14594,04	0,156	93510,563	1,62
0320HMOSB_7_20	QC2f-A			390,0		86353,672	0,849	101720,75	1,62
0320HMOSB_7_21	QC3f-A			1427,2		337250,969	3,084	109347,531	1,62
0320HMOSB_7_22	qcDMOSER_B_PRO	QC	400	395,5	-1,1	89750,797	0,861	104239,422	1,62
0320HMOSB_7_23	Vask								

Compound 3: Sertindol_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0320HMOSB_7_01								0,248	
0320HMOSB_7_02								25269,867	
0320HMOSB_7_03								15388,993	
0320HMOSB_7_04	Std0	Blank						15427,327	
0320HMOSB_7_05	Std1	Standard	10	10,3	3,0	10609,951	0,738	14379,877	1,8
0320HMOSB_7_06	Std2	Standard	30	28,8	-4,1	30391,525	2,234	13601,586	1,8
0320HMOSB_7_07	Std3	Standard	100	101,1	1,1	105132,961	8,041	13075,136	1,8
0320HMOSB_7_08	Std4	Standard	500	499,8	0,0	502142	38,739	12962,13	1,8
0320HMOSB_7_09	Std0	Blank		1,5		309,943	0,023	13725,138	1,8
0320HMOSB_7_10	qc1MOSER_B_PRO	QC	15	16,9	12,6	16561,217	1,272	13021,1	1,79
0320HMOSB_7_11	qc2MOSER_B_PRO	QC	75	79,4	5,9	87844,422	6,31	13921,736	1,79
0320HMOSB_7_12	qc3MOSER_B_PRO	QC	300	348,1	16,0	438094,969	27,325	16032,511	1,79
0320HMOSB_7_13	ST0f-A			1,5		290,075	0,022	13202,269	1,79
0320HMOSB_7_14	ST1f-A			11,9		9352,88	0,868	10769,25	1,79
0320HMOSB_7_15	ST2f-A			34,5		27575,998	2,699	10216,635	1,79
0320HMOSB_7_16	ST3f-A			111,5		94687,008	8,875	10668,563	1,79
0320HMOSB_7_17	ST4f-A			626,3		469375,531	48,004	9777,8	1,79
0320HMOSB_7_18	ST0f-A			1,5		328,132	0,024	13600,654	1,79
0320HMOSB_7_19	QC1f-A			19,4		14849,188	1,476	10057,127	1,79
0320HMOSB_7_20	QC2f-A			82,9		82921,063	6,59	12583,78	1,79
0320HMOSB_7_21	QC3f-A			297,6		341405,281	23,449	14559,19	1,79
0320HMOSB_7_22	qcDMOSER_B_PRO	QC	75	77,5	3,4	91616,055	6,157	14880,414	1,79
0320HMOSB_7_23	Vask								



## Vedlegg 16

### Oppsett 7 IS-recovery for ekstraksjonsutbytte

ID	Std. Conc	IS Raboksetin-d5	IS Sertindol-d4	IS Moklobemid-d4
Std0	1	1	1	1,2
Std1	1	1	1	1,1
Std2	1	1	1	1,1
Std3	1	1	1	1
Std4	1	1	1	0,8
Std0	1	1	1	1
qc1MOSEB_B_PRO	1	1	1	1
qc2MOSEB_B_PRO	1	1	1	0,9
qc3MOSEB_B_PRO	1	1	1	0,9
QC1-N	1	1	0,9	1
QC2-N	1	1	0,9	0,9
QC3-N	1	1	0,9	0,8
QC1_A	1	1,4	1,5	1,3
QC1_B	1	1,4	1,6	1,3
QC1_C	1	1,4	1,6	1,3
QC1-D	1	1,4	1,6	1,3
QC1-E	1	1,4	1,6	1,3
QC1_F	1	1,3	1,6	1,3
0-QC1-A	1	1,5	1,7	1,3
0-QC1-B	1	1,4	1,7	1,3
0-QC1-C	1	1,4	1,7	1,3
0-QC1-D	1	1,3	1,6	1,2
0-QC1-E	1	1,4	1,7	1,3
0-QC1-F	1	1,3	1,6	1,2
QC2_A	1	1,4	1,7	1,2
QC2_B	1	1,4	1,7	1,2
QC2_C	1	1,4	1,7	1,3
QC2_D	1	1,4	1,6	1,2
QC2_E	1	1,3	1,6	1,1
QC2_F	1	1,4	1,7	1,3
0-QC2-A	1	1,4	1,7	1,2
0-QC2-B	1	1,3	1,5	1,1
0-QC2-C	1	1,3	1,6	1,1
0-QC2-D	1	1,4	1,6	1,2
0-QC2-E	1	1,2	1,6	1,1
0-QC2-F	1	1,3	1,6	1,1
QC3_A	1	1,3	1,7	1,1
QC3_B	1	1,2	1,6	1
QC3_C	1	1,2	1,6	1
QC3_D	1	1,3	1,7	1
QC3_E	1	1,3	1,7	1
QC3_F	1	1,2	1,5	1
0-QC3-A	1	1,3	1,5	1
0-QC3-B	1	1,3	1,5	1
0-QC3-C	1	1,3	1,4	1
0-QC3-D	1	1,3	1,4	1
0-QC3-E	1	1,3	1,5	1
0-QC3-F	1	1,3	1,5	1

## Vedlegg 17

### Oppsett 7 Ekstraksjonsutbytte

Compound 1: Moklobemid_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0402HMOSB_01								183,187	
0402HMOSB_02								152072,688	
0402HMOSB_03								190690,672	
0402HMOSB_04	Std0	Blank						181478,938	
0402HMOSB_05	Std1	Standard	100	102,6	2,6	8759,315	0,051	172815,031	1,47
0402HMOSB_06	Std2	Standard	500	482,8	-3,4	41708,672	0,250	166569,891	1,47
0402HMOSB_07	Std3	Standard	2000	2017,3	0,9	161643,938	1,053	153549,969	1,47
0402HMOSB_08	Std4	Standard	10000	9997,3	0,0	679776,438	5,128	132550,109	1,47
0402HMOSB_09	Std0	Blank		7,5		108,339	0,001	159308,391	1,48
0402HMOSB_10	qc1MOSEB_B_PRO	QC	150	158,2	5,5	12783,751	0,080	159928,078	1,47
0402HMOSB_11	qc2MOSEB_B_PRO	QC	1500	1474,8	-1,7	114099,695	0,770	148232,656	1,47
0402HMOSB_12	qc3MOSEB_B_PRO	QC	7500	7436,1	-0,9	513363,219	3,838	133759,156	1,47
0402HMOSB_13	QC1-N		150	160,6	7,0	12532,685	0,081	154415,047	1,47
0402HMOSB_14	QC2-N		1500	1525,4	1,7	116208,453	0,796	145962,797	1,47
0402HMOSB_15	QC3-N		7500	7781,1	3,7	519436,188	4,013	129445,938	1,47
0402HMOSB_16	QC1_A			110,3		10900,824	0,055	199077,828	1,47
0402HMOSB_17	QC1_B			106,7		10957,683	0,053	207350,016	1,47
0402HMOSB_18	QC1_C			107,9		10870,323	0,053	203350,313	1,47
0402HMOSB_19	QC1-D			108,3		10946,779	0,054	203823,156	1,47
0402HMOSB_20	QC1-E			112,5		11176,914	0,056	199982,172	1,47
0402HMOSB_21	QC1_F			112,5		11001,714	0,056	196794,734	1,47
0402HMOSB_22	0-QC1-A			112,1		11575,996	0,056	207812,016	1,47
0402HMOSB_23	0-QC1-B			113,0		11427,435	0,056	203426,594	1,47
0402HMOSB_24	0-QC1-C			113,7		11094,706	0,057	196270,234	1,47
0402HMOSB_25	0-QC1-D			126,6		11779,442	0,063	186058,844	1,47
0402HMOSB_26	0-QC1-E			114,1		11418,422	0,057	201306,516	1,47
0402HMOSB_27	0-QC1-F			122,3		11196,439	0,061	183413,656	1,47
0402HMOSB_28	QC2_A			1009,8		101571,984	0,527	192877,922	1,47
0402HMOSB_29	QC2_B			1004,9		100617,797	0,524	191993,359	1,47
0402HMOSB_30	QC2_C			981,0		100044,039	0,512	195569,219	1,47
0402HMOSB_31	QC2_D			1032,4		97117,945	0,538	180373,969	1,47
0402HMOSB_32	QC2_E			1083,0		100415,133	0,565	177752,859	1,47
0402HMOSB_33	QC2_F			960,7		98492,680	0,501	196629,078	1,47
0402HMOSB_34	0-QC2-A			1031,0		103202,313	0,538	191929,859	1,47
0402HMOSB_35	0-QC2-B			1111,9		102639,633	0,580	176959,188	1,47
0402HMOSB_36	0-QC2-C			1117,9		103260,305	0,583	177064,250	1,47
0402HMOSB_37	0-QC2-D			1071,3		103010,430	0,559	184338,672	1,47
0402HMOSB_38	0-QC2-E			1133,5		103707,063	0,591	175369,969	1,47
0402HMOSB_39	0-QC2-F			1099,2		101953,305	0,573	177808,516	1,47
0402HMOSB_40	QC3_A			5091,0		436462,344	2,642	165215,688	1,47
0402HMOSB_41	QC3_B			5239,5		433539,500	2,718	159512,813	1,47
0402HMOSB_42	QC3_C			5359,9		435172,156	2,780	156557,938	1,47
0402HMOSB_43	QC3_D			5122,0		434283,844	2,658	163406,813	1,47
0402HMOSB_44	QC3_E			5174,1		438627,063	2,684	163400,250	1,47
0402HMOSB_45	QC3_F			5421,6		440456,125	2,811	156677,672	1,47
0402HMOSB_46	0-QC3-A			5403,3		441678,125	2,802	157637,828	1,47
0402HMOSB_47	0-QC3-B			5360,4		439978,125	2,780	158272,266	1,47
0402HMOSB_48	0-QC3-C			5575,8		457734,813	2,890	158373,891	1,47
0402HMOSB_49	0-QC3-D			5323,2		443350,469	2,761	160586,063	1,47
0402HMOSB_50	0-QC3-E			5429,8		450116,156	2,815	159873,969	1,47
0402HMOSB_51	0-QC3-F			5620,5		459416,094	2,913	157707,078	1,47
0402HMOSB_52	qcDMOSEB_B_PRO	QC	1500	1464,3	-2,4	101389,578	0,764	132668,188	1,47
0402HMOSB_53	Vask								

Compound 2: Reboksetin_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0402HMOSB_01								0,794	
0402HMOSB_02								126484,625	
0402HMOSB_03								99973,156	
0402HMOSB_04	Std0	Blank						98543,820	
0402HMOSB_05	Std1	Standard	50	51,1	2,3	9124,779	0,092	99068,078	1,62
0402HMOSB_06	Std2	Standard	150	145,3	-3,1	29031,813	0,303	95835,148	1,63
0402HMOSB_07	Std3	Standard	500	504,3	0,9	104936,375	1,103	95099,266	1,62
0402HMOSB_08	Std4	Standard	2000	1999,2	0,0	405515,406	4,387	92446,102	1,62
0402HMOSB_09	Std0	Blank		11,3		279,200	0,003	98150,172	1,62
0402HMOSB_10	qc1MOSEB_B_PRO	QC	75	84,5	12,6	16236,373	0,167	97366,563	1,62
0402HMOSB_11	qc2MOSEB_B_PRO	QC	400	402,7	0,7	82954,086	0,877	94540,844	1,62
0402HMOSB_12	qc3MOSEB_B_PRO	QC	1500	1477,0	-1,5	313059,813	3,249	96358,492	1,62
0402HMOSB_13	QC1-N		75	84,7	12,9	15899,821	0,167	95091,531	1,62
0402HMOSB_14	QC2-N		400	411,7	2,9	86183,305	0,897	96042,125	1,62
0402HMOSB_15	QC3-N		1500	1562,6	4,2	320332,656	3,436	93224,461	1,62
0402HMOSB_16	QC1_A			57,9		14570,869	0,107	135802,313	1,62
0402HMOSB_17	QC1_B			57,2		14390,119	0,106	136183,406	1,62
0402HMOSB_18	QC1_C			58,6		14528,397	0,109	133492,531	1,62
0402HMOSB_19	QC1-D			56,5		13921,972	0,104	133804,078	1,62
0402HMOSB_20	QC1-E			58,4		14169,391	0,108	130745,359	1,62
0402HMOSB_21	QC1_F			61,5		14516,533	0,115	125799,656	1,62
0402HMOSB_22	0-QC1-A			61,3		16018,158	0,115	139522,813	1,62
0402HMOSB_23	0-QC1-B			62,4		15784,195	0,117	134633,953	1,62
0402HMOSB_24	0-QC1-C			63,0		15423,809	0,119	129973,289	1,62
0402HMOSB_25	0-QC1-D			68,2		16259,946	0,130	124885,117	1,62
0402HMOSB_26	0-QC1-E			62,7		15685,512	0,118	132934,000	1,62
0402HMOSB_27	0-QC1-F			67,7		15963,529	0,129	123644,234	1,62
0402HMOSB_28	QC2_A			271,8		77165,891	0,585	131810,984	1,62
0402HMOSB_29	QC2_B			271,3		76707,289	0,584	131284,234	1,62
0402HMOSB_30	QC2_C			263,2		76861,164	0,566	135733,703	1,62
0402HMOSB_31	QC2_D			270,6		75329,945	0,583	129237,914	1,62
0402HMOSB_32	QC2_E			294,3		77850,016	0,636	122479,539	1,62
0402HMOSB_33	QC2_F			254,8		75885,156	0,547	138613,016	1,62
0402HMOSB_34	0-QC2-A			293,6		84238,648	0,634	132814,141	1,62
0402HMOSB_35	0-QC2-B			315,4		84066,695	0,683	123118,445	1,62
0402HMOSB_36	0-QC2-C			318,8		83382,977	0,690	120774,273	1,62
0402HMOSB_37	0-QC2-D			303,4		84826,914	0,656	129286,602	1,62
0402HMOSB_38	0-QC2-E			330,4		85098,359	0,716	118828,891	1,62
0402HMOSB_39	0-QC2-F			309,9		83520,242	0,671	124553,719	1,62
0402HMOSB_40	QC3_A			1030,6		275986,156	2,269	121649,594	1,62
0402HMOSB_41	QC3_B			1053,5		276485,406	2,319	119225,781	1,62
0402HMOSB_42	QC3_C			1061,4		276938,313	2,337	118523,500	1,62
0402HMOSB_43	QC3_D			1020,6		279134,219	2,246	124253,000	1,62
0402HMOSB_44	QC3_E			1042,5		288295,406	2,295	125632,180	1,62
0402HMOSB_45	QC3_F			1096,8		282241,938	2,415	116890,969	1,62
0402HMOSB_46	0-QC3-A			1141,8		302347,781	2,513	120290,844	1,62
0402HMOSB_47	0-QC3-B			1100,6		298383,156	2,423	123158,023	1,62
0402HMOSB_48	0-QC3-C			1190,2		321294,844	2,620	122632,797	1,62
0402HMOSB_49	0-QC3-D			1129,4		304517,563	2,486	122486,438	1,62
0402HMOSB_50	0-QC3-E			1170,7		314884,781	2,577	122187,359	1,62
0402HMOSB_51	0-QC3-F			1174,7		313288,375	2,586	121157,945	1,62
0402HMOSB_52	qcDMOSER_B_PRO	QC	400	414,4	3,6	81939,430	0,903	90705,242	1,62
0402HMOSB_53	Vask								

Compound 3: Sertindol_S									
Name	ID	Type	Std. Conc	nmol/l	%Dev	Area	Response	IS Area	RT
0402HMOSB_01								2,262	
0402HMOSB_02								40057,121	
0402HMOSB_03								24308,070	
0402HMOSB_04	Std0	Blank						24968,643	
0402HMOSB_05	Std1	Standard	10	10,1	1,2	7613,982	0,302	25228,723	1,8
0402HMOSB_06	Std2	Standard	30	29,5	-1,7	23223,826	0,919	25279,324	1,8
0402HMOSB_07	Std3	Standard	100	100,4	0,4	79563,633	3,157	25199,834	1,8
0402HMOSB_08	Std4	Standard	500	499,9	0,0	397475,438	15,181	26182,246	1,8
0402HMOSB_09	Std0	Blank		1,0		265,690	0,011	25275,016	1,79
0402HMOSB_10	qc1MOSEB_B_PRO	QC	15	16,2	8,2	12604,594	0,496	25397,389	1,79
0402HMOSB_11	qc2MOSEB_B_PRO	QC	75	78,9	5,2	62602,887	2,480	25238,301	1,79
0402HMOSB_12	qc3MOSEB_B_PRO	QC	300	341,4	13,8	258883,094	10,528	24588,979	1,79
0402HMOSB_13	QC1-N		15	17,5	16,7	12870,462	0,537	23959,682	1,79
0402HMOSB_14	QC2-N		75	85,2	13,6	63874,523	2,678	23850,459	1,79
0402HMOSB_15	QC3-N		300	353,4	17,8	262251,313	10,887	24089,135	1,79
0402HMOSB_16	QC1_A			10,1		11352,790	0,299	37906,820	1,79
0402HMOSB_17	QC1_B			9,6		11551,929	0,285	40531,734	1,79
0402HMOSB_18	QC1_C			9,7		12003,327	0,290	41458,070	1,79
0402HMOSB_19	QC1-D			9,6		11658,425	0,286	40811,434	1,79
0402HMOSB_20	QC1-E			9,8		11944,127	0,292	40865,848	1,79
0402HMOSB_21	QC1_F			9,9		12008,068	0,296	40584,961	1,79
0402HMOSB_22	0-QC1-A			11,6		14884,025	0,347	42840,590	1,79
0402HMOSB_23	0-QC1-B			11,7		15145,652	0,352	43045,563	1,79
0402HMOSB_24	0-QC1-C			11,5		14668,114	0,345	42460,074	1,79
0402HMOSB_25	0-QC1-D			12,7		15477,471	0,385	40196,074	1,79
0402HMOSB_26	0-QC1-E			11,4		15158,327	0,344	44126,320	1,79
0402HMOSB_27	0-QC1-F			12,7		15190,481	0,384	39595,168	1,79
0402HMOSB_28	QC2_A			44,7		60639,148	1,402	43250,688	1,79
0402HMOSB_29	QC2_B			44,7		60178,293	1,399	43003,129	1,79
0402HMOSB_30	QC2_C			44,5		60287,184	1,396	43197,363	1,79
0402HMOSB_31	QC2_D			46,2		59410,523	1,449	41009,020	1,79
0402HMOSB_32	QC2_E			49,0		61140,387	1,539	39738,945	1,79
0402HMOSB_33	QC2_F			44,3		60545,617	1,387	43654,996	1,79
0402HMOSB_34	0-QC2-A			55,4		74753,164	1,738	43008,066	1,79
0402HMOSB_35	0-QC2-B			60,4		74325,672	1,896	39200,148	1,79
0402HMOSB_36	0-QC2-C			60,1		74785,031	1,888	39600,805	1,79
0402HMOSB_37	0-QC2-D			58,3		75585,875	1,831	41274,168	1,79
0402HMOSB_38	0-QC2-E			60,4		74997,367	1,897	39526,973	1,78
0402HMOSB_39	0-QC2-F			58,0		75381,414	1,822	41369,926	1,78
0402HMOSB_40	QC3_A			179,1		237425,641	5,605	42363,234	1,78
0402HMOSB_41	QC3_B			188,9		238547,516	5,905	40397,320	1,78
0402HMOSB_42	QC3_C			192,7		241619,969	6,021	40131,609	1,78
0402HMOSB_43	QC3_D			185,1		246223,375	5,789	42532,781	1,78
0402HMOSB_44	QC3_E			184,6		248480,875	5,773	43045,426	1,78
0402HMOSB_45	QC3_F			204,6		246762,281	6,389	38624,703	1,78
0402HMOSB_46	0-QC3-A			252,8		297550,250	7,859	37860,789	1,78
0402HMOSB_47	0-QC3-B			253,7		298710,156	7,887	37871,832	1,78
0402HMOSB_48	0-QC3-C			276,5		316560,656	8,577	36908,848	1,79
0402HMOSB_49	0-QC3-D			262,7		300489,875	8,161	36820,672	1,78
0402HMOSB_50	0-QC3-E			257,5		311534,594	8,002	38931,980	1,78
0402HMOSB_51	0-QC3-F			267,4		314632,875	8,304	37889,250	1,78
0402HMOSB_52	qcDMOSER_B_PRO	QC	75	80,7	7,6	68567,883	2,537	27026,842	1,78
0402HMOSB_53	Vask								