

Journal of Chromatography, 183 (1980) 115-117

Biomedical Applications

Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam — Printed in The Netherlands

CHROMBIO. 571

Note

Nachweis von Glibornurid im Serum durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit umgekehrten Phasen

KLAUS HARZER

*Chemisches Untersuchungsaamt der Landeshauptstadt Stuttgart, Stafflenbergstrasse 81,
7000 Stuttgart 1 (B.R.D.)*

(Eingegangen am 13. November 1979; geänderte Fassung eingegangen am 4. Februar 1980)

Die oralen Antidiabetika, Derivate von Sulfonylharnstoff, sind eine Alternative zur Behandlung mit Insulin bei Altersdiabetes [1]. Zur Bestimmung von Blutspiegeln werden verwendet für Glibornurid die Flüssigkeitsszintillation [2], für Glibenclamid eine radioimmunologische Methode [3]. Schlicht et al. [4] beschrieben eine gaschromatographische Methode für die Antidiabetika Chlpropamid, Tolbutamid, Carbutamid, Tolazamid und Glykodiazin. Auch die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurde für den Nachweis von Tolbutamid und Chlorpropamid eingesetzt [5].

Unsere Problematik war die Spiegelbestimmung von Glibornurid im Serum von Patienten mit Altersdiabetes bei eingeschränkter Nierenfunktion. Für die Lösung dieses Problems haben wir die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie verwendet.

MATERIAL UND METHODEN

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Gerät: Hewlett-Packard Hochleistungsflüssigkeitschromatograph 1084B mit variablem UV-Detektor HP 79875 und automatischem Probengeber HP 79842A.

Säule: Hibar-Fertigstahlsäule (25 cm × 3 mm) mit C₈ Reverse-Phase-Material LiChrosorb (10 μm). Laufmittel: Methanol-Wasser (7:3).

Sonstige Bedingungen: Detektion bei 230 nm; Flussgeschwindigkeit 1.5 ml/min; Temperatur des Säulenraumes: 50°C.

Probenmaterial

Serum von Patienten, die therapeutisch Glibornurid erhalten haben. 1–3 ml werden mit Phosphatpuffer pH 3.0 (23.7 g Na₂HPO₄ · 2 H₂O und 12 ml H₃PO₄, gelöst in 1 l Wasser) auf 20 ml aufgefüllt und dann auf eine Extraktionssäule Extrelut^R [6] gegeben. Die Säule wird mit 40 ml Dichlormethan–Isopropanol (85:15) eluiert. Die organische Phase wird eingedampft, in 200 µl Methanol aufgenommen und je nach Konzentration 10–50 µl eingespritzt, wobei von jeder Probe eine Doppelbestimmung durchgeführt wurde.

Eichung

Die quantitativen Bestimmungen wurden über einen externen Standard durchgeführt. Hierfür wurden Eichlösungen von 0.5 µg/ml und 2 µg/ml Glibornurid in Rinderserum hergestellt, die analog aufgearbeitet wurden. Mit dieser Art der Auswertung haben wir gute Erfahrungen gemacht. Sollte ein interner Standard benötigt werden, kann hierfür Gliquidon verwendet werden.

ERGEBNISSE

Fig. 1 zeigt Leerserum, Fig. 2 einen Zusatz von Glibornurid und Gliquidon zu Serum. Fig. 3 zeigt das Serum eines Patienten mit 1.16 µg/ml Glibornurid (bestimmt über externe Standardisierung) nach Einnahme von 25 mg Glutril^R

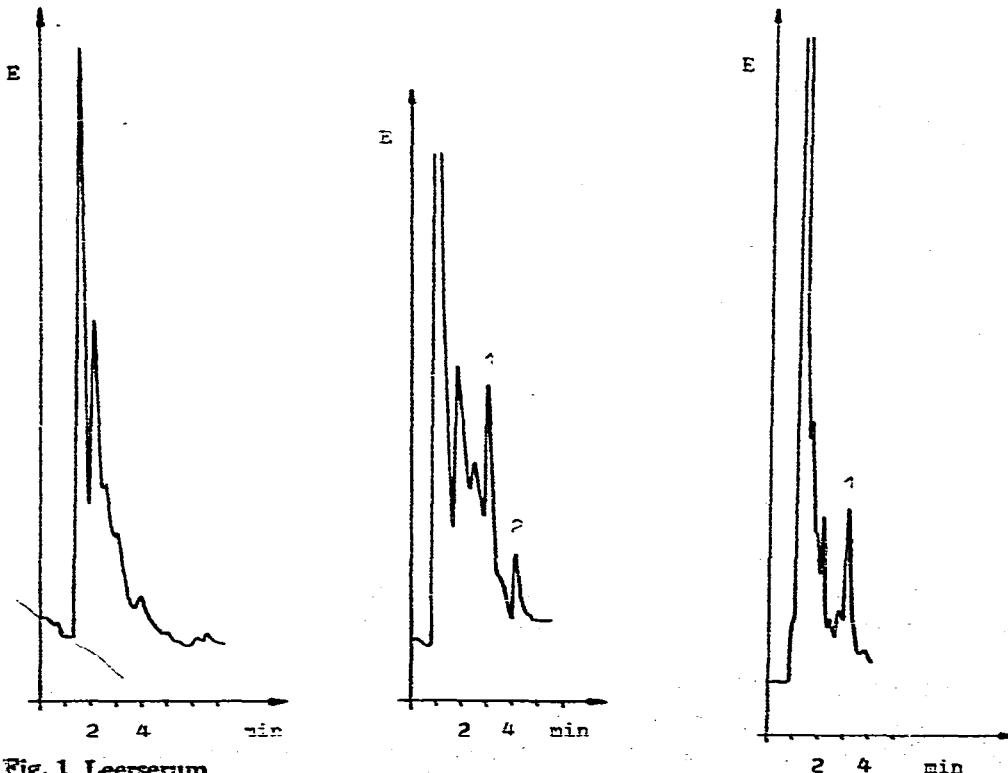


Fig. 1. Leerserum.

Fig. 2. Zusatz von 2.5 µg/ml Glibornurid (1) und 2.6 µg/ml Gliquidon (2) zum Serum.

Fig. 3. Patientenserum mit 1.16 µg/ml Glibornurid (1).

ca. 8 Stunden zuvor. Die Erfassungsgrenze für Glibornurid im Serum betrug unter den beschriebenen Bedingungen $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$.

Die Eichgerade war von $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ bis $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ linear. Die Standardabweichung betrug 3% ($n = 6$).

DISKUSSION

Mit der Methode können ohne weiteres therapeutische Spiegel von Glibornurid erfasst werden, die zwischen 1.6 und $3.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ liegen [2]. Das Maximum der UV-Extinktion in Methanol von Glibornurid liegt bei 212 nm. Trotz der dadurch bedingten geringeren Empfindlichkeit wurde die Wellenlänge 230 nm gewählt, da bei niedrigen Wellenlängen Störpeaks mit derselben Retentionszeit wie Glibornurid auftreten können.

DANK

Wir danken den Firmen Dr. Karl Thomae GmbH und Hoffmann-La Roche für die Überlassung von Reinsubstanz.

LITERATUR

- 1 E. Mutschler, Arzneimittelwirkungen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1973, S. 204.
- 2 G. Rentsch, H.A.E. Schmidt und J. Rieder, Arzneim.-Forsch., 22 (1972) 2309–2312.
- 3 F.H. Schmidt und V.E. Hrstka, Le Progrès Medical, 101 (1973) 278.
- 4 H.J. Schlicht, H.P. Gelbke und G. Schmidt, J. Chromatogr., 155 (1978) 178–181.
- 5 R.E. Hill und J. Crechiolo, J. Chromatogr., 145 (1978) 165–168.
- 6 J. Breiter, R. Helger und H. Lang, J. Forensic Sci., 7 (1976) 131.
- 7 Z. Kopitar und F.-W. Koss, Arzneim.-Forsch., 25 (1975) 1933–1938.