

summary, the most active compounds were 3-methyl-2-ethylsulfanylquinoxaline and 3-methyl-2-butylsulfanylquinoxaline. These substances showed higher activity against some atypical strains of mycobacteria as compared to the commercially used antituberculotic drug isoniazide.

This study thus represents a further confirmation of the hypothesis of the alkylsulfanyl group bond to an electron-deficient carbon atom being a pharmacophore of antituberculotic activity, as the results fall well in line with it.

Acknowledgements: This work was supported by Grant 203/99/0030 of the Grant Agency of the Czech Republic, and of project No. VS97124 by the Ministry of Education of the Czech Republic.

References

- 1 Waisser, K.; Klimešová, V.; Odlerová, Ž.: *Folia Pharm. Univ. Carol.* **18**, 31 (1995)
- 2 Waisser, K.; Kuneš, J.; Hrabálek, A.; Macháček, M.; Odlerová, Ž.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **61**, 791 (1996)
- 3 Kuneš, J.; Hrabálek, A.; Pour, M.; Pilař, M.; Waisser, K.; Odlerová, Ž.: *Zh. Org. Khim.* **34**, 786 (1998)
- 4 V. Klimešová, M. Svoboda, K. Waisser, M. Pour, J. Kaustová: *Farmaco* **54**, 666 (1999)

Received April 18, 2000

Accepted June 10, 2000

Dr. Jiří Kuneš
Department of Inorganic and Organic
Chemistry
Faculty of Pharmacy, Charles University
Heyrovského 1203
50005 Hradec Králové
Czech Republic
kunes@faf.cuni.cz

Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical Technology,
Bratislava, Slovakia

Determination of flurbiprofen in serum by capillary isotachophoresis

J. SÁDECKÁ, A. HERCEGOVÁ and J. POLONSKÝ

Flurbiprofen is non-steroidal anti-inflammatory drug which has a therapeutic range of 2–12 mg/l (0.008–0.049 mmol/l) in serum [1]. HPLC [2–6], high-performance thin-layer chromatography [7] and capillary zone electrophoresis [1] have been used to determine flurbiprofen in plasma, serum and urine. Each of these methods requires a sample preparation based on simple acetonitrile deproteinization [6], liquid-liquid extraction [2, 5, 7] or on-line dialysis [1]. The aim of this work was the development of a isotachophoretic method for the determination of flurbiprofen in serum samples. The method involved deproteinization of the biological sample with ethanol.

A series of standard curves ($n = 5$) of flurbiprofen were prepared both in ethanol and in serum over a concentration range of 0.006–0.060 mmol \cdot l $^{-1}$. The mean values of correlation coefficient (r^2), line slope (zone length \cdot l/ mmol) and intercept (zone length) were 0.999 ± 0.002 (standard deviation, SD), 170.1 ± 1.63 (SD), and 0.02 ± 0.01 (SD) for standard curve in ethanol, while those in serum showed mean values of 0.998 ± 0.003 (SD), 160.1 ± 4.15 (SD), and 0.24 ± 0.01 (SD), respectively. The limit of detection for flurbiprofen in serum was found to be 0.003 mmol \cdot l $^{-1}$. The limit of quantitation was 0.006 mmol \cdot l $^{-1}$. The accuracy and precision (Table) of the method were evaluated by analyzing five replicates of spiked serum at each concentration against calibration curve. Accuracy was given by the % bias (mean of measured – mean of added/mean of added) $\times 100$. The mean bias was -7.4% . The precision expressed as relative standard deviation (RSD) was 2.7% . The recovery of flurbiprofen was determined by comparing the zone length from drug-free serum spiked with known amounts of flurbiprofen with the zone length of the same concentration prepared in ethanol. The use of a protein denaturation with ethanol resulted in mean recovery of 93.7% . The utility of the method was assessed by determining the serum concentration of flurbiprofen following single oral administration of flurbiprofen in a set of patient's samples. A representative isotachopherogram of a serum sample from a patient who had received a single oral dose of 50 mg of flurbiprofen is demonstrated in the Fig. No interfering metabolite zones were observed in serum. Drugs which did not interfere with the assay are: amiloride, diclofenac, fenoprofen, ibuprofen, ketoprofen, labetalol, metoprolol, and naproxen.

Table: Accuracy, precision and recovery of the analytical procedure for flurbiprofen

| Added (mmol \cdot l $^{-1}$) | Found (mmol \cdot l $^{-1}$) | Accuracy Bias (%) | Precision RSD (%) | Recovery | |
|------------------------------------|------------------------------------|----------------------|----------------------|----------|---------|
| | | | | Mean (%) | RSD (%) |
| 0.0060 | 0.0054 | -10 | 3.7 | 90.1 | 3.7 |
| 0.0100 | 0.0095 | -5.0 | 4.2 | 94.9 | 3.8 |
| 0.0015 | 0.0142 | -5.3 | 1.8 | 94.1 | 2.1 |
| 0.0200 | 0.0190 | -5.0 | 2.2 | 95.0 | 2.1 |
| 0.0300 | 0.0288 | -12.0 | 4.0 | 96.0 | 4.0 |
| 0.0500 | 0.0455 | -9.0 | 1.8 | 91.1 | 1.7 |
| 0.0600 | 0.0568 | -5.3 | 1.3 | 94.7 | 1.4 |
| | Mean | -7.4 | 2.7 | 93.7 | 2.4 |

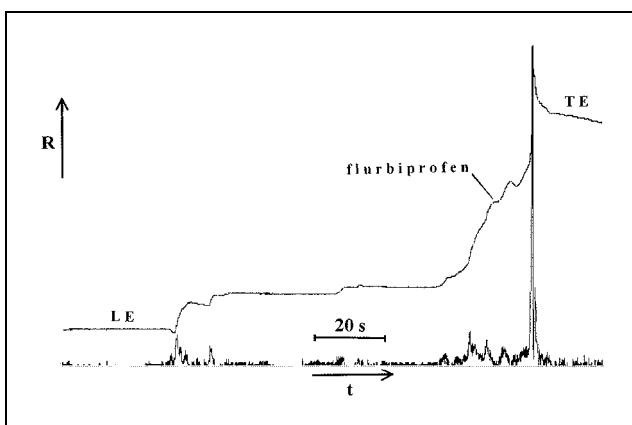


Fig: Isotachopherogram from serum from an patient 2 h after investigation of 50 mg of flurbiprofen, LE - leading ion, TE - terminating ion

Experimental

1. Apparatus

Isotachophoretic separations were performed using a Villa Labeco ZKI 02 column-coupling isotachophoretic analyzer equipped with a conductivity detector. The analytical capillary (160 mm \times 0.3 mm I.D.) was connected with a preseparation capillary (160 mm \times 0.8 mm I.D.). The capillaries were made of fluorinated ethylene-propylene copolymer. The driving current was 200 μ A for the preseparation capillary and 25 μ A for the analytical capillary.

2. Reagents

Flurbiprofen (Sigma) was obtained as a gift from Dr. H. Shintani (National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan). Control serum was obtained from Imuna (Slovakia). The leading electrolyte 10 mmol \cdot l⁻¹ hydrochloric acid adjusted with creatinine to pH 4.5 plus 0.1% methylhydroxyethylcellulose. The terminating electrolyte: 10 mmol \cdot l⁻¹ 4-morpholineethanesulfonic acid adjusted with tris(hydroxymethyl)aminomethane to pH 6.9 plus 20% (v/v) ethanol.

3. Precipitation procedure

0.5 ml of serum containing various amounts of flurbiprofen with a range of 0.006 to 0.060 mmol \cdot l⁻¹ was prepared in 20 \times 15 mm centrifuge tube, then 0.5 ml of ethanol was added. After vortex mixing and centrifugation at 9000 g for 10 min, the upper layer was transferred to a clear tube, then 30 μ l of this solution were injected into the ITP. Care must be taken not to inject any precipitate, since this will affect the analysis results.

References

- 1 Veraart, J. R.; Groot, M. C. E.; Gooijer, C.; Lingeman, H.; Velthorst, N. H.; Brinkman, U. A. Th.: *Analyst* **124**, 115 (1999)
- 2 Geisslinger, G.; Menzel-Soglowek, S.; Schuster, O.; Brune, K.: *J. Chromatogr.* **573**, 163 (1992)
- 3 Spraul, M.; Hofmann, M.; Wilson, I. D.; Lenz, E.; Lindon, J. C.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* **10**, 1009 (1993)
- 4 Kumbhat, S.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* **12**, 131 (1994)
- 5 Chi, S.-C.; Kim, H.; Lee, S.-C.: *Anal. Lett.* **27**, 377 (1994)
- 6 Park, K.-M.; Gao, Z.-G.; Kim, Ch.-K.: *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **20**, 1849 (1997)
- 7 Dhavse, V. V.; Parmar, D. V.; Devarajan, P. V.: *J. Chromatogr. B* **694**, 449 (1997)

Received February 21, 2000

Accepted April 5, 2000

Assoc. Prof. Jozef Polonský
Department of Analytical Chemistry
Faculty of Chemical Technology
Radlinského 9
81237 Bratislava
Slovakia

Institut für Pharmazeutische Chemie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Zur Analyse von Solen sowie von Salzen zur Solebereitung

H. LAHL, A. AZIZKABIRI und B. UNTERHALT

Die zu den Heilwässern zählenden Solen werden für balneotherapeutische Zwecke verwendet [1]. Daher ist ihre Zusammensetzung von hohem Interesse. Im Rahmen des von uns durchgeführten Projekts „Zur Penetration und Permeation von Na⁺- und Mg²⁺-Ionen aus verdünnten und konzentrierten Lösungen an Human- und Schweinehaut“ wurden Solen unterschiedlicher Herkunft und kommerziell erhältliche Salze zur Solebereitung mit der ICP-AES analysiert [2, 3]. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 aufgelistet und mit den von anderen Autoren gefundenen Werten verglichen; für das „Mineral-Badesalz Biomin“ liegt keine Fremd-Analyse vor.

Die Aufbereitung der Bentheimer Sole beeinflusst deren Zusammensetzung nicht; Eisen²⁺- und Mangan-Gehalt sind erwartungsgemäß reduziert (Tabelle 1). Analysenergebnisse aus unterschiedlichen Jahren stimmen gut überein. Dies gilt auch für das Verhältnis der Makroelemente Natrium, Calcium, Magnesium und Kalium der Sylter sowie der drei erstgenannten Elemente der Rappenauer Sole (Tabelle 1).

Im Vergleich zur Bentheimer Sole weist die Sole aus Hengelo eine ähnliche Natriumkonzentration auf, die übrigen Elemente liegen jedoch in erheblich geringerer Konzentration vor. Die Sylter Sole zeigt deutliche Unterschiede zur Bentheimer und Hengelo-Sole, beispielsweise beträgt die Natriumkonzentration nur etwa den 5. Teil. Lediglich die Strontiumkonzentration entspricht dem Wert der Bentheimer Sole.

Das „Mineral Badesalz-Biomin“ hat erwartungsgemäß einen Natriumgehalt, der dem des „Toten-Meer-Wassers“ entspricht; der Calciumgehalt beträgt nur etwa 1/30 und der Magnesiumgehalt die Hälfte, während der Kaliumanteil etwa viermal so hoch liegt.

Sole, die aus Tomesa-Salz bereitet wird, unterscheidet sich ebenfalls erheblich vom „Toten-Meer-Wasser“. So beträgt der Natrium- und Magnesiumgehalt etwa die Hälfte, der Calciumgehalt den 100. Teil.

Mit Hilfe der uns zur Verfügung stehenden Salzproben kann somit nur bedingt „Totes-Meer-Wasser“ hergestellt werden. Der Grund für die schwankende Zusammensetzung der Produkte mag in der unterschiedlichen Gewinnung [11] bzw. Herstellung liegen.

Experimenteller Teil

1. Geräte und Methoden

Geräte und Methoden wurden bereits früher beschrieben [12]. Ein Aufschluss wird hier jedoch nicht durchgeführt.

2. Material und Probenvorbereitung

Untersucht werden Solen aus Sylt, Bad Rappenau, Hengelo und Bad Bentheim sowie das kommerziell erhältliche Tomesa-Salz und das Mineral Badesalz der Firma Biomin Pharma. Die Probennahme erfolgt vor Ort durch Angestellte der Institutionen. Zur Analyse der Bentheimer Sole wird Roh- und das nach Enteisung, Erdgasentfernung und Entmanganisierung als Badewasser dienende Reinwasser genommen. Alle Proben werden bei laufendem Betrieb mit einem Vorlauf von 5 min genommen. Die Probennahme der Salze aus 10-kg-Gebinden erfolgt nach Homogenisierung sowie 5 h langer Trocknung einer größeren Salzmenge bei 80 °C; 322,13 g Salz, die durchschnittlich in 1 l Wasser des Toten Meeres enthalten sind, werden in 1 l AquaMilliQ gelöst [7].