

sierung des Enprostil zu dem entsprechenden Prostaglandin A. Anschließend wird mit  $\beta$ -Naphthylsulfonyl-L-prolylchlorid zu den diastereomeren Sulfonateestern derivatisiert. Diese können auf einer achiralen Zorbax Sil Säule mit wassergesättigtem Dichlormethan getrennt werden. Der Nachweis erfolgt bei 270 nm. Das Verfahren wird auf die Analyse pharmazeutischer Präparate angewandt. — *J. Chromatogr.* **450**, 233–240 (1988). Anal. Environ. Res., Syntex Res., Syntex USA, Palo Alto, CA (USA)  
R.H.S.

**Spectrophotometric assay of R(-)-epinephrine.** R.J. Palma Sr. and N. Elbaum.

Zur Quantifizierung und Bestimmung der enantiomeren Reinheit von Epinephrin in Lösung pharmazeutischen Reinheitsgrades (US Pharm. XXI) wird ein Verfahren beschrieben, das schneller, genauer und spezifischer ist als die in der US Pharmakopöe angegebene Methode. Man stellt mindestens 5 Standardlösungen mit 1,00–3,50% R(-)-Epinephrin her: 20 ml Lösung + 0,5 g Natriumbisulfid; Ammoniak bis pH ca. 12. Der Niederschlag wird auf einer Filterfritte gewaschen (10 ml H<sub>2</sub>O, dann 30 ml Ethanol, 30 ml Petrolether), dann luftgetrocknet. 1 h Trocknen über Kieselgel, wiegen, in 5% HCl lösen ad 10,0 ml. Man mißt die optische Drehung bei 404, 435, 546 und 576 nm, gibt die Gewichte der Standards und die Drehungen bei den 4 Wellenlängen in einen Computer und berechnet die gesuchte Konzentration nach einem Programm, das vom Verf. angefordert werden kann. — *Anal. Lett.* **21**, 699–709 (1988). Dept. Chem., Midwestern State Univ., Wichita Falls, TX (USA)

W. Czysz

**Micro high-performance liquid chromatographic determination of cardiac glycosides in  $\beta$ -methylidigoxin and digoxin tablets.** Y. Fujii, Y. Ikeda and M. Yamazaki.

A micro high-performance liquid chromatographic (micro-HPLC) method has been developed for assay of  $\beta$ -methylidigoxin and digoxin tablets. Quantitation of cardiac glycosides in tablets was carried out by the incorporation of dexamethasone as an internal standard. The procedure consisted of disintegration of tablets, extraction with acetone/ethanol (9:1) and injection for micro-HPLC on an ODS micro column, using acetonitrile/water (28:72) for  $\beta$ -methylidigoxin tablets and methanol/water (1:1) for digoxin tablets; the effluent was monitored by UV detection at 220 nm. The average values of the contents in  $\beta$ -methylidigoxin and digoxin tablets were 99.6 and 100.2 of the labelled amounts, respectively. The proposed method is sufficiently precise and sensitive to examine the content uniformity of tablets. — *J. Chromatogr.* **448**, 157–164 (1988). School Pharm. Hokuriko Univ., Kanazawa (J)

**Identification and determination of norcocaine in illicit cocaine and coca leaves by gas chromatography-mass spectrometry and high-performance liquid chromatography.** M.J. LeBelle, S.A. Callahan, D.J. Latham and G. Lauriault.

Das Alkaloid Norcocain kann sowohl in Kokain-Rauschgiftproben als auch in Cocablättern nachgewiesen werden. Dazu werden die mit NaHCO<sub>3</sub> versetzten Proben mit Ethylacetat extrahiert (Cocablätter werden nach dem Verfahren von C.E. Turner, C.Y. Ma und M.A. Elsohly [*J. Ethnopharmacol.* **3**, 293 (1981)] extrahiert). Die Extrakte werden durch bekannte GC/MS-Verfahren oder durch HPLC auf einer LC-8 Reversed-Phase Säule mit Acetonitril/Tetrahydrofuran/0,1% Triethylamin in Wasser (40:10:50) chromatographiert. Der Nachweis wird bei 254 nm durchgeführt. Es können bis zu mehr als 1% Norcocain in den Proben nachgewiesen werden. — *Analyst* **113**, 1213–1215 (1988). Drug Ident. Div., Bureau Drug Res., Health Protect. Branch, Tunney's Pasture (CDN)  
R.H.S.

**Resolution and analysis of enantiomers of amphetamines by liquid chromatography on a chiral stationary phase: Collaborative study.** M.C. Alembik and I.W. Wainer.

A rapid, accurate method for separating and determining the enantiomeric composition of amphetamine bulk drug and commercial preparations was developed and subjected to collaborative study. Amide derivatives of the amphetamine enantiomers are formed by using achiral 2-naphthoyl chloride. The resulting enantiomeric amides are then chromatographed on a commercially available chiral stationary phase with hexane/isopropyl alcohol/acetonitrile (97:3:0.5) with detection at

254 nm. The method can detect the presence of as little as 0.5% of the *l*-enantiomer in *d*-amphetamine, with reproducibility between laboratories of  $\pm 7.1\%$ . The method has been adopted official first action for determination of the enantiomeric composition of amphetamine bulk drug and preparations. — *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71**, 530–533 (1988). U.S. Food Drug Admin., Div. Drug Chem., Washington, DC (USA)

\*\*\*\*\*

### 3 BIOCHEMICAL AND CLINICAL ANALYSIS

**Determination of natural penicillins in fermentation media by high-performance liquid chromatography using pre-column derivatisation with 1-hydroxybenzotriazole.** A.J. Shah, M.W. Adlard and G. Holt.

The separation and determination of trace amounts of 6-aminopenicillanic acid (6-APA) and penicillins G, V, X, K and penicillin G penicilloic acid in fermentation broths has been achieved using pre-column derivatisation with 1-hydroxybenzotriazole. Fermentation broth samples containing penicillins were mixed with benzoic anhydride and left to stand at room temperature for 3 min. The resulting mixture were then treated with aqueous 1-hydroxybenzotriazole containing mercury(II) chloride and incubated at 60°C for 45 min. Aliquots of the resulting solutions were injected on to a reversed-phase C-18 column and separated by gradient elution using a mobile phase consisting of phosphate buffer, sodium thiosulphate and acetonitrile. Following separation, the derivatised penicillins were detected spectrophotometrically at 328 nm. This method is both sensitive and selective and allowed the simultaneous detection of penicillins G, V and X at concentrations down to 1 ng ml<sup>-1</sup> with retention times of 35 min or less. The detection limits for 6-APA, penicillin K and penicillin G penicilloic acid were 10, 100 and 100 ng ml<sup>-1</sup>, respectively. Ten injections of antibiotic-free broths which had been spiked with penicillins (1  $\mu$ g ml<sup>-1</sup>) and subsequently derivatised gave peak area standard deviations of 8–10% for penicillins G, V, X, K and 6-APA. Ampicillin can be employed as an internal standard, and this together with all previously mentioned penicillins can be conveniently separated and detected using a gradient or isocratic HPLC procedure. The method described can also be used to determine simultaneously penicillin G penicilloic acid and penicillin G in the same solution. — *Analyst* **113**, 1197–1200 (1988). Polytechn. Central London, School Biotechnol., London W1 (GB)

**On-line analysis and control of production of antibiotics.** K. Schügerl.

Voraussetzungen für den Einsatz von on-line-Techniken zur Aufzeichnung und Kontrolle von biotechnologischen Produktionsprozessen werden diskutiert. Dazu gehören geeignete Geräte, anfangend mit aseptischen Filtern bis zu kompletten Analysatoren: luftsegmentierte, automatisch arbeitende Durchfluß-Analyzer, Fließinjektions-Analyzer und on-line-HPLC-Systeme. Getestet wurden sie in der Prozeßanalyse und -kontrolle der Produktion von Penicillin V und Cephalosporin C in verschiedenen Reaktoren. Die Ergebnisse von on-line-Analysen werden mit denen von off-line-Analysen verglichen. Es wird gezeigt, daß die on-line-Techniken richtige und vergleichbare Werte liefern. — *Anal. Chim. Acta* **213**, 1–9 (1988). Inst. Techn. Chemie, Univ., D-3000 Hannover  
W. Czysz

**Simple and rapid gas-chromatographic determination of volatile metabolites in fermentation broths.** M. Griot, B. Dettwiler, E. Heinze, F. Mayer and I.J. Dunn.

Der *Bacillus subtilis* K (AJ 1992) reagiert sehr empfindlich auf das Sauerstoffangebot bei der Exkretion von Acetoin und meso-2,3-Butandiol. Deren relative Mengen werden durch das Angebot von gelöstem Sauerstoff bestimmt. Für die Bestimmung der flüchtigen Metaboliten werden verschiedene gas-chromatographische Säulen und Arbeitsmethoden getestet. Weitgebohrte Capillarsäulen mit gepacktem Einlaßteil und Autosampler/Injektion gab gute Präzisionen (Standardabweichung

0,7% für Acetoin, 3,3% für 2,3-Butandiol). Eine vollständige Analyse erfordert 10 min. — Anal. Chim. Acta **213**, 11–22 (1988). Biol. React. Engin. Group, Chem. Engin. Dept., ETH, Zürich (CH) W. Czys

**From electronic to opto-electronic biosensors: an engineering view.** M.T. Flanagan, A.N. Sloper and R.H. Ashworth.

Elektronik spielt beim Aufbau von Biosensoren eine wichtige Rolle, insbesondere seit dem Auftreten der chemisch hochempfindlichen Feldeffekt-Transistoren (CHEMFET). Nach Überwindung anfänglicher Schwierigkeiten ergaben sich aus der Zusammenarbeit von Elektronikern und Herstellern von Biosensoren erfolgversprechende Lösungen. Insbesondere seit dem Einsatz von optoelektronischen Sensoren in Verbindung mit mikroelektronischen Fabrikationsmethoden. Diese Entwicklungsschritte werden an Beispielen demonstriert. — Anal. Chim. Acta **213**, 23–33 (1988). Dept. Electron. Electr. Engin., Univ. Coll. London, London WC (GB) W. Czys

**Surface plasmon resonance immunosensors: sensitivity considerations.** R.P.H. Kooyman, H. Kolkman, J. van Gent and J. Greve.

Oberflächen-Plasmon-Resonanz (SPR; R. Raether et al. (Eds.), Physics of Thin Films, Vol. 9, Academic, New York, 1977, p. 145) wird zur Detektion in Biosensoren vom Immuntyp eingesetzt. Aus Berechnungen und experimentellen Tests ergab sich, daß maximale Empfindlichkeit für eine ca. 55 nm dicke Silberschicht in direktem Kontakt mit der zu bestimmenden Species erhalten wird. Die Verwendung einer Zwischenschicht mit hoher Durchlässigkeit kann zur Unterdrückung von Untergrundsignalen nützlich sein. Im Experiment konnte eine oberflächenbedeckende Proteinfraction von ca. 0,1, entsprechend ca.  $10^{-10}$  mol/l Antikörper gemessen werden. Die dabei stattfindende Immunreaktion wird anhand einer Schemaskizze verdeutlicht; desgleichen das Meßprinzip mit Anregung durch einen 10 mW polarisierten 633 nm-He/Ne-Laser. — Anal. Chim. Acta **213**, 34–45 (1988). Dept. Appl. Physics, Univ. Twente, Enschede (NL) W. Czys

**Fluorescence monitoring of immobilized microorganism in cultures.** W. Müller, G. Wehnert and T. Scheper.

Verff. beschreiben ein experimentelles Reaktorsystem zur Messung der Fluoreszenz von suspendierten und immobilisierten Zellen. Das Wachstum von *S. cerevisiae* wurde so während der Fermentierung im Batchsystem über die Fluoreszenz der Kultur verfolgt. Die Fermentation und aeroben Bedingungen wurde mit suspendierten und immobilisierten Zellen verglichen. In Calciumalginat immobilisierte Zellen wiesen eine signifikant geringere Geschwindigkeit des Ethanolverbrauchs auf. Man führt diesen verlangsamten oxidativen Abbau auf einen begrenzten Massentransfer des Sauerstoffs zurück. Weitere Verwendungsmöglichkeiten der beschriebenen Versuchsanordnung „Fermenter:Reaktor“ werden diskutiert. — Anal. Chim. Acta **213**, 47–53 (1988). Inst. Techn. Chemie, Univ., D-3000 Hannover W. Czys

**On-line flow-injection monitoring of the enzyme inductor L-phenylalanine in the continuous cultivation of *Rhodococcus* sp. M4.** U. Nalbach, H. Schiemenz, W.W. Stamm, W. Hummel and M.-R. Kula.

L-Phenylalanin induziert die Bildung von L-Phenylalanin-Dehydrogenase (PheDH) in *Rhodococcus* sp. M4. Für die Produktion des Enzyms durch kontinuierliche Züchtung des Mikroorganismus dient L-Phenylalanin als Lieferant für C und N in einem definierten Mineralsalzmedium. Für die Bestimmung des L-Phenylalanins wird ein Fließinjektionsverfahren auf der Grundlage der o-Phthaldialdehyd-Methode verwendet. Durchführung und Ergebnisse werden beschrieben. — Anal. Chim. Acta **213**, 55–60 (1988). Inst. Enzymtechnol., Univ. Düsseldorf, D-5170 Jülich W. Czys

**Continuous, reliable on-line analysis of fermentation media by simple enzymatic/spectrophotometric assays.** T.D. Gibson and J.R. Woodward.

Für die on-line-Analyse von Fermentationsmedien bei der Überwachung von Fermentationsprozessen wird ein relativ einfaches, halbautomatisches Analysenverfahren beschrieben. Es arbeitet mit einer Dialysezonde mit enzymatisch/spektrophotometrischer und direkter Peroxid-Detektion zur Bestimmung von Ethanol und Glucose. Der Reaktionsablauf innerhalb der Sonde wird anhand einer Schnittzeichnung der Sonde erklärt. Die mit diesem Verfahren erhaltenen Ergebnisse stimmen gut

mit denen überein, die bei der Analyse direkt aus dem Fermenter entnommener Proben gefunden wurden. — Anal. Chim. Acta **213**, 61–68 (1988). Biotechn. Unit, Univ., Leeds (GB) W. Czys

**Application of microbiological sensors in fermentation processes.** I. Karube, E. Tamiya, K. Sode, K. Yokoyama, Y. Kitagawa, H. Suzuki and Y. Asano.

Es wird eine Übersicht über mikrobiologische Sensoren gegeben, die aus in einer Membran immobilisierten Mikroorganismen und damit verbundenem Sensorelement bestehen. Eine Reihe von häufig verwendeten Sensoren dieses Typs, z. B. solche zur Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs (BSB), von Ethanol und Essigsäure, werden kurz beschrieben. Neu ist ein CO<sub>2</sub>-Sensor auf der Basis eines chemoautotrophen Bakteriums (von Genus *Pseudomonas*), der von H. Suzuki et al. (Anal. Chim. Acta **199**, 85 (1987); vgl. diese Z. **330**, 671 (1988)) beschrieben wurde. Schließlich wird ein mikrobieller Feldeffekt-Transistor(FET)-Sensor für Ethanol vorgestellt. Von allen beschriebenen Sensoren werden die linearen Responsebereiche und ihre Langzeitstabilitäten angegeben. — Anal. Chim. Acta **213**, 69–77 (1988). Res. Lab. Resources Utiliz., Tokyo Inst. Technol., Midori-ku, Yokohama 227 (J) W. Czys

**Recording of the streaming potential over an affinity column in a continuous flow system as a means of quantifying proteins biospecifically.** B. Mattiasson and A. Miyabayashi.

Die Messung des Strömungspotentials über eine Affinitätssäule wird als Mittel zur Beobachtung der Affinitätsbindung von Proteinen an immobilisierte Liganden benutzt. Die Amplitude des Potential(mV)-Signals ist eine Funktion der Ladungsverteilung an der Oberfläche des festen Trägers zwischen zwei am oberen und unteren Säulenteil seitlich eingeführten Elektroden. Das anhand einer Schemaskizze erläuterte System arbeitet mit zwei Säulen; die Potentialdifferenz zwischen Proben- und Vergleichssäule gibt das Maß für das affinitätsgebundene Material. Eingesetzt wird diese Anordnung zur Bestimmung einer abgemessenen Probe und für kontinuierliche Durchflußmessungen. Außerdem wird über die Bestimmung von Antialbumin-Antikörpern und verschiedenen Glykoproteinen, die an immobilisiertes Concanavalin A gebunden werden, berichtet. Die für Proteine erreichte Nachweisgrenze (bis  $10^{-9}$  mol/l) ist für die Prozeßkontrolle ausreichend. — Anal. Chim. Acta **213**, 79–89 (1988). Dept. Biotechn. Chem. Center, Univ., Lund (S) W. Czys

**A flow-injection method for the amperometric determination of L-lactate with immobilized enzymes and a chemically modified electrode.** L. Gorton and A. Hedlund.

Verff. beschreiben ein empfindliches Fließinjektionssystem zur Bestimmung von L-Lactat. Man arbeitet an einer Säule mit porigem Silica-Träger, an dem Lactat-Dehydrogenase, LDH, und Glutamin/Pyruvat-Transaminase, GTP, unter Vermittlung von Glutaraldehyd immobilisiert wurden. L-Lactat wird in diesem Enzymreaktor in Gegenwart von NAD<sup>+</sup> über LDH zu Pyruvat (+ NADH und H<sup>+</sup>) oxidiert. Das Reaktionsgleichgewicht ist ungünstig, doch erreicht man durch die Zugabe von L-Glutamat, daß genügend „Druck“ entsteht, um in der Endabrechnung eine quantitative Oxidation des L-Lactat zu erhalten. Das bei der Reaktion gebildete NADH wird elektrokatalytisch an einer Elektrode bestimmt, die chemisch mit Meldolablauf modifiziert wurde; sie arbeitet bei 0 mV vs. Ag/AgCl. Bei Injektionen von 25 µl-Aliquots der Probe erfolgt zwischen 10 µM und 1,5 mM L-Lactat lineare Anzeige. Probenumsatz: max. 30/h. Der LDH/GPT-Reaktor ist bei täglichem Gebrauch (pH 8,8) vier Wochen stabil. — Anal. Chim. Acta **213**, 91–100 (1988). Dept. Anal. Chem., Univ., Lund (S) W. Czys

**In-line determination of metabolites and milk components with electrochemical biosensors.** M. Mascini, D. Moscone, G. Paleschi and R. Pilloton.

Zuerst erden elektrochemische Biosensoren für Lactat, Pyruvat und β-Hydroxybutyrat beschrieben. Sie basieren auf Sauerstoff-, Wasserstoffperoxid- und NADH-Sensoren, die mit den entsprechenden Oxidasen und Dehydrogenasen gekoppelt sind. Die Messungen werden unter Verwendung einer künstlichen Pankreasapparatur mit extrakorporaler Zirkulation durchgeführt. Dieser Aufbau ermöglicht es, den Verbleib und die Umwandlungen der am Glucose-Stoffwechsel beteiligten Species

während der Insulinbehandlung von Diabetikern zu klären. Aufbau und Apparatur und Durchführung der Versuche werden beschrieben. Die Ergebnisse werden diskutiert. Im zweiten Teil der Arbeit wird die amperometrische Bestimmung von Lactose, Lactat und Glucose in Milchproben unter Verwendung des Wasserstoffperoxid-Sensors, gekoppelt mit  $\beta$ -Galaktosidase, Lactat-Oxidase und Glucose-Oxidase, beschrieben. — *Anal. Chim. Acta* **213**, 101–111 (1988). Inst. Anal. Chem., Univ., Florenz (I)  
W. Czysz

**The determination of p-cresol in chloroform with an enzyme electrode used in the organic phase.** G.D. Hall, D.J. Best and A.P.F. Turner.

Verff. beschreiben eine Enzymelektrode, die in Chloroform-Medium arbeitet. Sie benutzen dabei Polyphenol-Oxidase (Tyrosinase; EC 1.14.18.1) zum Nachweis von p-Kresol über die elektrochemische Reduktion des Produkts der Enzymreaktion, 4-Methyl-1,2-benzochinon an einer Graphitelektrode. Deren besondere Konstruktion (Enzymlösung auf Hybond N-Nylonmembran; Fixierung auf einer Graphitfolie (5 × 6 × 1 mm)) wird beschrieben. Die Response ist linear im Konzentrationsbereich 0–0,10 mM p-Kresol; Nachweisgrenze 1  $\mu$ M. Das Stabilitätsverhalten der Elektrode wird diskutiert. Als Anwendung wird die p-Kresolbestimmung in Wasser empfohlen. — *Anal. Chim. Acta* **213**, 113–119 (1988). Biotechnol. Centre, Inst. Technol., Cranfield, Bedford. (GB)  
W. Czysz

**An acetylcholine receptor-based biosensor for the detection of cholinergic agents.** R.F. Taylor, I.G. Marenchic and E.J. Cook.

Verff. beschreiben einen Biosensor-Prototyp auf der Basis eines Acetylcholin-Rezeptors. Rezeptor und geeignete Stabilizer, Copolymere und Polymermischerungs-Agentien (R.F. Taylor et al.: U.S. Pat. Appl. 058389, 1987) werden als homogener Film auf einer Elektrode angebracht. Bei der Bindung spezifischer cholinergischer Liganden an dem immobilisierten Rezeptor (z. B. Nicotinsäure-Acetylcholinrezeptor) verändert sich das elektrische Feld der Elektrode („Biochip“) proportional der Menge des cholinergischen Liganden. Der Biosensor ist in der Lage, Mikro- bis Nanogrammengen cholinergischer Liganden innerhalb 1–5 s nachzuweisen. Der Sensor kann mit Acetylcholin regeneriert werden und ist dann jeweils für 72 h stabil. Insgesamt kann man ihn 1/2 Jahr benutzen, wenn er bei normaler Temperatur gelagert wird. — *Anal. Chim. Acta* **213**, 131–138 (1988). Appl. Biotechnol. Appl. Physics, A.D. Little, Inc., Cambridge, MA (USA)  
W. Czysz

**An enzyme electrode based on electromagnetic entrapment of the biocatalyst bound to magnetic beads.** A. Miyabayashi and B. Mattiasson.

Verff. beschreiben einen neuartigen Biosensor. Grundlage ist eine Sauerstoffelektrode vom Clark-Typ, die in einem elektromagnetischen Feld angeordnet ist. Die in dem Sensor benutzten Biomoleküle werden an kleinen magnetischen Kügelchen (Dynabeads M-450, Dynal, Oslo/N) immobilisiert. Durch Veränderung der Stärke des magnetischen Feldes erreicht man eine homogene Verteilung der Partikel an der Elektroden-spitze. Schnittzeichnungen der elektromagnetischen Sauerstoffsonde, der Durchflußelektrode und des Fließinjektionssystems mit Pumpe, Ventilen und Probeninjektor sind abgebildet. Angewendet wird der Biosensor zur Glucosebestimmung mit Hilfe von immobilisierter Glucose-Oxidase sowie auch von *Saccharomyces cerevisiae*. — *Anal. Chim. Acta* **213**, 121–130 (1988). Dept. Biotechnol., Chem. Center, Univ., Lund (S)  
W. Czysz

**Optical sensors. Part. 34. Fibre optic glucose biosensor with an oxygen optrode as the transducer.** W. Trettnak, M.J.P. Leiner and O.S. Wolfbeis.

A biosensor for the continuous determination of glucose is presented. Glucose oxidase was immobilised covalently on a nylon membrane and the consumption of oxygen was measured by following, via fibre optic bundles, the changes in the fluorescence of an oxygen-sensitive dye whose fluorescence is quenched dynamically by molecular oxygen. The dye is dissolved in a very thin silicone membrane placed beneath the enzyme layer. As a result of the oxidation by the enzyme a certain amount of oxygen is consumed. This amount is indicated by the fluorescent dye. The measurements were performed in flowing air-saturated solutions containing 0.1 M pH 7.0 phosphate buffer. The effects of the amount of immobilised enzyme and the thickness of the indicator layer on response times ( $t_{90} = 1–6$  min), analytical ranges (0.1–20 mM) and relative

signal changes (up to 26%) were investigated. — *Analyst* **113**, 1519–1523 (1988). Anal. Div., Inst. Org. Chem., Karl-Franzens Univ., Graz (A)

**Glucose-sensitive field-effect transistor with a membrane containing co-immobilized gluconolactonase and glucose oxidase.** Y. Hanazato, K.-K. Inatomi, M. Nakako, S. Shiono and M. Maeda.

Verff. untersuchen einen Glucose-empfindlichen Feldeffekt-Transistor (FET) mit einer Gluconolactonase und Glucose-Oxidase enthaltenden Membran. Die 1  $\mu$ m dicke Membran wird direkt auf der ionensensitiven Eingangsöffnung des FET durch Photopolymerisation gebildet. Durch Co-Immobilisierung von Gluconolactonase gewinnt er beträchtlich an Breite des bestimmbareren Glucosekonzentrationsbereichs. Als optimale Zusammensetzung der Zwei-Enzym/Photopolymer-Lösung wurde eine mindestens doppelte Gluconolactonase-Aktivität gegenüber der Glucose-Oxidase ermittelt. Die Photopolymerlösung wurde mit 200 mg des Natriumsalzes von 2,5-Bis(4'-azido-2'-sulfobenzyl)cyclopentanon in 10 ml einer 20%igen (w/v) PVC-Lösung in Wasser hergestellt. Für die Herstellung der Membran mischte man je 15  $\mu$ l der beiden Enzymlösungen mit 30  $\mu$ l der Photopolymerlösung. Die Erzeugung der Membran „in situ“ wurde von Y. Hanazato et al. (*Anal. Chim. Acta* **193**, 87 (1987); vgl. diese Z. **331**, 788 (1988)) beschrieben. Der lineare Eichkurvenbereich liegt zwischen 0,2 und 2 mM Glucose. — *Anal. Chim. Acta* **212**, 49–59 (1988). Central Res. Lab., Mitsubishi Electric Corp., Amagasaki, Hyogo 661 (J)  
W. Czysz

**Bioluminescent microassay of various metabolites using bacterial luciferase co-immobilized with multienzyme systems.** N.N. Ugarova, O.V. Lebedeva and I.G. Frumkina.

Co-immobilization methods have been developed for a bienzymatic system of luminescent *Beneckea harveyi* bacteria with formate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, and phosphoglucomutase. Bioluminescent assays have been devised for NADH, NAD, FMN, glucose 6-phosphate, and glucose 1-phosphate using the co-immobilized enzyme preparation. The lowest detection limits were in the picomole range with the bacterial extract and in the femtomole range with the partially purified enzymes, bacterial luciferase, and NADH:FMN oxidoreductase. — *Anal. Biochem.* **173**, 221–227 (1988). Chem. Dept., State Univ., Moscow (SU)

**Determination of nitrotriacetate in biological matrices using ion exclusion chromatography.** R.P. Schneider, F. Zürcher, T. Egli and G. Hamer.

A sensitive method for the determination of nitrotriacetate in biological growth media and cell-free extracts by ion exclusion chromatography is described using HCl as an eluant. The eluant conductivity was chemically suppressed with a membrane suppressor and a conductivity detector was used for subsequent detection. The membrane was continuously regenerated with a tetrabutylammoniumhydroxide solution. The detection limit for nitrotriacetate in cell-free extract was 11 mg/l, while for nitrotriacetate in growth media it was 1 mg/l. Interference by compounds present in biological matrices with the determination is discussed. — *Anal. Biochem.* **173**, 278–284 (1988). Inst. Aquatic Sci., Swiss Fed. Inst. Technol., Zürich (CH)

**Flame photometry: a simple method and reference range for erythrocyte sodium and potassium.** R.W.I. Siebers and T.B.B. Maling.

Zur Bestimmung von Na und K in Erythrocyten (E) wird Venenblut hepariniert, 10 min lang mit 2275 × g zentrifugiert und das Plasma entfernt. Die E werden 3mal mit eiskalter 115 mmol/l MgCl<sub>2</sub>-Lösung gewaschen, zentrifugiert (15 min bei 4°C) und der Überstand abgesaugt. Je 50  $\mu$ l dieses E-Rückstandes werden mit einer Digitron-Pipette entnommen und mit 1,0 ml (für Na) bzw. 10,0 ml (für K) einer 3,0 mmol/l LiCl-Lösung als interner Standard gemischt (Einzelheiten s. Text). Die Messung wird mittels eines 3-Flammen-Radiometers vorgenommen. Die Übereinstimmung der Resultate mit den durch Atom-Absorptionsspektrometrie erhaltenen Werten beträgt bei Na 0,99 bei K 0,98%. Die Arbeit enthält Diagramme, eine Wertetabelle und 21 Literaturhinweise. — *Med. Lab. Sci.* **45**, 270–272 (1988). Sect. Clin. Pharmacol., Dept. Med. School Med., Wellington (NZ)  
K. Söllner

**Determination of copper and zinc in serum and whole blood by ion chromatography.** C.N. Ong, H.Y. Ong and L.H. Chua.

Ein ionenchromatographisches Verfahren zur Bestimmung von Cu und Zn in Serum und Gesamtblut wird beschrieben. Zur Probenvorbereitung werden Serumproben 2:3 und Gesamtblut 1:3 mit 5% Trichloressigsäure verdünnt, zentrifugiert und der Überstand direkt auf eine HPIC-CS5-Trennsäule unter Vorschaltung einer HIPC-CG5-Schutzsäule gegeben. 50 mM Oxalsäure mit 95 mM LiOH (pH 4,8) wird als Eluens verwendet. Das Effluat wird mit  $4 \times 10^{-4}$  M 4-(2-Pyridylazo)resorcinol in 3 M  $\text{NH}_4\text{OH}$  umgesetzt, die Absorption des Reaktionsproduktes kann bei 420 nm gemessen werden. Eine Analyse dauert weniger als 8 min. Eichkurven werden durch ein Standardadditionsverfahren erstellt. Die Ergebnisse werden mit solchen verglichen, die durch AAS erhalten wurden. Der Korrelationskoeffizient für Cu in Serum liegt gegenüber GAAS-Ergebnissen bei 0,97. Empfindlichkeit und Nachweisgrenzen liegen im selben Bereich wie beim AAS-Verfahren. — *Anal. Biochem.* **173**, 64–69 (1988). Dept. Community Med., Nat. Univ. Singapore, Nat. Univ. Hosp., Kent Ridge (SGP) R.H.S.

**A method for determination of zinc in mononuclear leucocytes.** S. Bro, N.T. Pedersen, P.J. Jørgensen and M. Horder.

Ein Verfahren zur Bestimmung der Zink-Konzentration in gut-karakterisierten Fraktionen mononuclearer Leukocyten aus Humanblut wird beschrieben. Die Leukocyten werden aus dem Gesamtblut durch ein einstufiges Natriummetrizoat/Ficoll-Verfahren isoliert. Die Zellsuspensionen werden zentrifugiert und die erhaltenen Niederschläge durch Flammen-AAS bei 213,9 nm untersucht. Die Zn-Konzentration liegt bei  $1,14 \mu\text{mol}/10^{10}$  Zellen bzw.  $156 \mu\text{mol/g}$  Protein. — *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* **2**, 145–148 (1988). Dept. Clin. Chem., Dept. Pathol., Univ. Hosp., Odense C (DK) R.H.S.

**Cadmium and zinc determination by neutron activation analysis and biochemical tests in tissues of workers professionally exposed to cadmium.** J. Kučera, V. Senft, F. Hůzl and L. Soukal.

Cadmium and zinc levels in urine, serum, hair were determined by NAA. The study was completed by biochemical monitoring tests such as the  $\beta_2$ -microglobulin ( $\beta_2$ -MG) determination in urine and serum and the  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) determination in blood. Significantly increased levels of cadmium in urine, serum, and hair,  $\beta_2$ -MG in urine and serum, ALAD in blood and decreased levels of zinc in serum were found in the exposed group compared to the control group. The most distinct differences of the parameters studied were observed for cadmium in hair. Correlation among the parameters were preliminary evaluated, too. For quality assurance purposes, the cadmium and zinc concentrations were determined in biological (standard) reference materials. — *J. Radioanal. Nucl. Chem., Art.* **122**, 361–372 (1988). Nucl. Res. Inst., Řež near Prague (CS)

**Determination of lead in blood using electrothermal atomisation atomic absorption spectrometry with a L'vov platform and matrix modifier.** D.T. Miller, D.C. Paschal, E.W. Gunter, P.E. Stroud and J. D'Angelo.

In the proposed method, sample preparation consists of a simple dilution (1+9) with a matrix modifier which contains 0.5% V/V Triton X-100, 0.2% V/V 16 M nitric acid and 0.2% m/V dibasic ammonium phosphate. This matrix modifier stabilises lead so that the majority of the blood matrix may be removed during the char step. Maximum accuracy in dilution is achieved with the use of autopipettes which have been shown to deliver viscous materials such as blood and serum with high accuracy. The method described in this study has a detection limit of about  $0.07 \mu\text{mol l}^{-1}$  (3 SD) and a precision and accuracy of  $\pm 2$ –5% at the  $0.24$ – $2.4 \mu\text{mol l}^{-1}$  concentration level. Linearity has been demonstrated up to about  $4 \mu\text{mol l}^{-1}$ . Comparability has been established with the previous blood lead analytical method used in other surveys via the analysis of 435 specimens by both the previous (modified Delves cup) and proposed methods. — *Analyst* **112**, 1701–1704 (1987). Nutrit. Biochem. Branch, Div. Environ. Health Lab. Sci., US Dept. Health Human Serv., Atlanta, GA (USA)

**Determination of lead in sheep's blood by graphite furnace atomic absorption spectrometry using a modified chelation and extraction procedure.** P.G. Takla, H.A. Mohamed and F. Fahmy.

Ammonium tetramethylene dithiocarbamate and isobutyl methyl ketone are used to chelate and extract lead from haemolysed whole blood

in a procedure modified for use with a graphite furnace. The ketone layer separates readily without centrifugation. With a pre-atomisation temperature of  $350^\circ\text{C}$  to prevent loss of chelated lead and an atomisation temperature of  $1600^\circ\text{C}$  background correction is unnecessary, and the tubes can withstand about 1000 firings. The method has a detection limit of about  $0.018 \mu\text{g ml}^{-1}$  of lead. The between-run precision for a pooled sample of ovine blood containing  $0.135 \mu\text{g ml}^{-1}$  of lead ( $0.100 \mu\text{g ml}^{-1}$  of added lead) was 4.1%, calculated from the results of 41 analyses carried out over a period of 2 months. — *Analyst* **112**, 1697–1699 (1987). Welsh School Pharm., Univ. Wales Inst. Sci. Technol., Cardiff (GB)

**Determination of trimethyllead salts in blood using high-resolution gas chromatography-graphite furnace atomic absorption spectrometry.** O. Nygren and C.-A. Nilsson.

Trimethylbleisalze, die als Benzinzusätze verwendet werden, können aus Humanblut mit Ammoniumcitratpuffer (pH 9) unter Zusatz von EDTA und Natriumdiethylthiocarbamat als Komplexbildungsreagens extrahiert werden. Nach Eindampfen des Extraktes wird mit Butylmagnesiumchlorid in Tetrahydrofuran derivatisiert. Überschüssiges Grignard Reagens kann mit HCl zerstört werden. Die butylierten Derivate werden durch hochauflösende Gaschromatographie und Graphitofen-AAS bestimmt. Dabei wird auf einer OV-101 Quarzcapillarsäule von  $30$ – $220^\circ\text{C}$  gearbeitet. Mit dem Verfahren wird eine Nachweisgrenze von  $0,003 \mu\text{g/ml}$  erreicht. — *J. Anal. Atom. Spectrom.* **2**, 805–808 (1987). Nat. Inst. Occup. Health, Chem. Unit, Umea (S) R.H.S.

**Determination of selenium in blood serum by XRF.** M. Nagj, J. Injuk and V. Valković.

Direct determination of selenium in biological tissues by X-ray emission spectroscopy is not possible due to the limited sensitivity of all modes of sample excitation. Therefore, it is necessary to develop a preconcentration procedure to bring selenium to detectable level. In this paper a rapid and simple chemical preparation procedure including coprecipitation with APDC for the analysis of selenium in blood serum by X-ray emission spectroscopy is described. — *J. Radioanal. Nucl. Chem., Lett.* **127**, 243–252 (1988). Rudjer Bošković Inst., Zagreb (YU)

**Differential anodic stripping voltammetric determination of selenium in hair and flour at a gold-film electrode.** T.-G. Wu, W.-Z. Xiang, F.-Z. Zhang and J.-Q. Deng.

Ein Verfahren zur Bestimmung von Selenspuren in Haar und Mehl durch anodische Strippingvoltammetrie mit einer Goldfilmelektrode wird beschrieben. Dazu werden die Proben in Schwefelsäure/Perchlorsäure (3:4) aufgeschlossen und Natriummolybdatlösung als Katalysator zugegeben. Die gelbgrüne Lösung wird nach Abkühlung mit Wasser versetzt und in 0.5 M Schwefelsäure durch differentielle anodische Stripping Voltammetrie analysiert. Unter optimalen Bedingungen erhält man eine Nachweisgrenze von  $0,1 \mu\text{g Se pro l}$  Lösung. — *Analyst* **113**, 1431–1433 (1988). Dept. Chem., Fudan Univ., Shanghai (RC) R.H.S.

**Amperometric alcohol sensor based on an immobilised bacteria cell membrane.** Y. Kitagawa, M. Ameyama, K. Nakashima and E. Tamiya and I. Karube.

A simple amperometric alcohol sensor was developed using a cell membrane of acetic acid bacteria, a gas-permeable membrane and an oxygen electrode. The cell membrane of *Gluconobacter suboxydans* IFO 12528 was adsorbed on a nitrocellulose filter and attached to the Teflon membrane of the oxygen electrode and these membranes were then covered with the gas-permeable membrane (porous Teflon). When a sample solution containing ethanol was injected into the alcohol sensor system, the sensor current decreased markedly with time and reached a steady state after approximately 3 min. A linear relationship was observed between the decrease in current and the ethanol concentration up to  $25 \text{ mg l}^{-1}$ . The sensor was found to have a good selectivity, which was better than that of an enzyme electrode with alcohol oxidase. The response of the sensor decreased at temperatures greater than  $45^\circ\text{C}$ , and good responses were obtained over a period of 15 d. The sensor was applied to the determination of serum ethanol. — *Analyst* **112**, 1747–1749 (1987). Cent. Res. Lab., Asahi Breweries Ltd, Ohta-ku, Tokyo (J)

**Aromatic hydroxylation of phenylalanine as an assay for hydroxyl radicals: Application of activated human neutrophils and to the heme protein leghemoglobin.** H. Kaur, I. Fagerheim, M. Grootveld, A. Puppo and B. Halliwell.

Hydroxylradikale, die durch ein Fenton-System bei physiologischen pH-Werten produziert werden, reagieren mit L-Phenylalanin unter Bildung dreier isomerer Tyrosine, o-Tyrosin (2-Hydroxyphenylalanin), m-Tyrosin (3-Hydroxyphenylalanin) und p-Tyrosin (4-Hydroxyphenylalanin). Diese können durch HPLC auf einer Anachem S5 ODS-2-Reversed-Phase Säule unter Vorschaltung einer Anachem S5 ODS-1-Guard-Säule mit einer mobilen Phase aus 98% 30 mM Natriumcitrat/27,7 mM Natriumacetatpuffer (pH 4,5) + 2% Methanol getrennt werden. Der elektrochemische Nachweis wird mit einer Kohlelektrode mit einem Oxidationspotential von +0,82 V gegen eine Ag/AgCl-Vergleichselektrode durchgeführt. Da Phenylalanin relativ untoxisch wirkt, wird es als Reagens für den Nachweis von OH-Radikalen in biologischen Systemen vorgeschlagen. Hier wird die OH-Radikalproduktion von Leghemoglobin (plus  $H_2O_2$ ) und durch aktivierte Humanneutrophile beschrieben. Die Neutrophile benötigen zur Hydroxylradikalproduktion Fe-Ionen im Reaktionsgemisch. — *Anal. Biochem.* **172**, 360–367 (1988). Dept. Biochem., Univ. London King's Coll., London WC2 (GB) R.H.S.

**Measurement of biological disulfides by postcolumn sulfitolysis following separation by HPLC.** J.C. Crowthall and D. Kalant.

Ein Verfahren zur Bestimmung von Disulfiden in biologischen Flüssigkeiten wird beschrieben. Erst werden bestimmte Thiole und Disulfide durch HPLC getrennt und dann die eluierten Verbindungen mit 2-Nitro-5-thiosulfobenzoat in Gegenwart von Sulfit umgesetzt. Die Elutionscharakteristika von Thiolen und Disulfiden aus Cystein, Glutathion, Mercaptopropionylglycin (Thiola) und Cysteamin werden mit diesem Verfahren bestimmt. Penicillamin und sein Disulfid reagieren nicht. Cystin kann im Harn von Patienten mit diesem Verfahren bestimmt werden. Dazu werden die mit HCl auf pH 1 angesäuerten Urinproben filtriert, mit 0,1% EDTA verdünnt und mit N-Acetylcystein als internem Standard auf einer Spherisorb ODS II-Säule (5  $\mu$ m) mit 33 mM  $KH_2PO_4$ , 0,2 mM EDTA, 2 mM Tetrabutylammoniumhydroxid (pH 4,0) + 13% Acetonitril chromatographiert. Das post-column Derivatisierungsreagens wird in einer Konzentration von 0,1 g pro 10 ml 1 M  $Na_2SO_3$  (pH 7,5) verdünnt auf 1:100 mit 0,2 M Tris, 0,1 M  $Na_2SO_3$ , 3 mM EDTA (pH 9,5) verwendet. Die post-column Derivatisierungsreaktion wird bei 60°C durchgeführt. Das gelbe Reaktionsprodukt (2-Nitro-5-thiobenzoat) kann durch seine Absorption bei 412 nm bestimmt werden. — *Anal. Biochem.* **172**, 479–483 (1988). Div. Clin. Biochem., McGill Univ. Clinic, Royal Victoria Hosp., Montreal, Quebec (CDN) R.H.S.

**Conducting polymer-coated enzyme microsensor for urea.** P.C. Pandey and A.P. Mishra.

A microsensor for urea is described which is based on immobilised urease on the tip of a 10  $\mu$ m diameter ammonia gas electrode made from a polypyrrole film coated on to a platinum wire. The sensor responds rapidly, reaching a steady state within 20–40 s when the concentration of urea in solution is changed from 0.0001 to 0.05 M. The enzymatic response is current limiting. Responses in a wide range of substrate concentrations were achieved (0.001–0.05 M). High storage and operational stability (more than 32 d) have been recorded for the urea microsensor. — *Analyst* **113**, 329–331 (1988). Dept. Chem., Banaras Hindu Univ., Varanasi (IND)

**Sensitive determination of D-lactic acid in biological samples by high-performance liquid chromatography.** S. Ohmori and T. Iwamoto.

Ein empfindliches Verfahren zur Bestimmung von D-Lactat in biologischen Proben wird entwickelt. Dazu wird die Plasmaprobe mit  $HClO_4$  deproteinisiert, mit KOH neutralisiert und zentrifugiert. Der Überstand wird mit 21 mM Hydrazinsulfat und 0,1 M Kaliumphosphat (pH 7) 2 h bei 37°C reagieren gelassen, um endogenes Pyruvat zu zersetzen. Dann wird in Gegenwart von D-Lactatdehydrogenase und einem NADH-Reoxidationssystem unter Verwendung von Diaphorase, DL-6,8-Thioctamid und Hydrazin zum Hydrazon von Pyruvat umgesetzt. Dieses Hydrazon wird mit o-Phenylendiamin in HCl in das 2-Methylchinoxanol umgewandelt, welches durch HPLC auf einer Unisil ODS-QT-5K-Säule mit 10 mM Kaliumphosphat (pH 2,1)/Acetonitril (80:20) abgetrennt

und fluorimetrisch bei 341/416 nm nachgewiesen werden kann. Die Nachweisgrenze des Verfahrens liegt bei 600 fmol und die Eichkurve ist bis hinauf zu 60 nmol/ml linear. — *J. Chromatogr.* **431**, 239–247 (1988). Fac. Pharm. Sci., Univ. Okayama (J) R.H.S.

**Determination of plasma homovanillic acid by two-step solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with electrochemical detection.** J.-I. Semba, A. Watanabe and T. Takahashi.

Ein HPLC-ECD Verfahren zur Bestimmung von Homovanillinsäure (HVA) wird beschrieben, welches auf der Extraktion der HVA auf einer Kombination von Bond Elut  $C_8$ - und Bond Elut SAX-Säulen beruht. Dazu wird die Plasmaprobe mit 0,1 M EDTA versetzt, iso-HVA in 0,01 M HCl als interner Standard zugefügt und auf die Bond Elut  $C_8$ -Säule gegeben. Die Säule wird mit dest. Wasser gewaschen und HVA mit 50% Methanol eluiert, das Eluat wird mit 0,1 M Na-Acetatpuffer (pH 6) verdünnt und auf die Bond Elut SAX-Säule gegeben. Von dieser wird HVA mit 1 M HCl eluiert. Das Eluat wird auf einer 5-ODS-H (5  $\mu$ m) Reversed-Phase Säule mit 0,05 M Phosphat/Citratpuffer + 13% Acetonitril und 0,1 mM EDTA (pH 4,2) als mobiler Phase chromatographiert. Der elektrochemische Nachweis wird bei +0,7 V gegen eine Ag/AgCl-Elektrode durchgeführt. Die Nachweisgrenze bei diesem Verfahren liegt bei 20 pg (S/N=3). Im Bereich von 0,5–50 ng/ml erhält man eine lineare Eichkurve. Die Wiederfindungsrate von beiden Bond Elut-Säulen liegt um 80%. — *J. Chromatogr.* **430**, 118–122 (1988). Dept. Neuropsych., Fac. Med., Tokyo Med. Dental Univ., Tokyo (J) R.H.S.

**High-performance liquid chromatographic method for measuring homovanillic acid in cerebrospinal fluid using electrochemical detection with internal standardization.** G.K. Szabao, H. Davoudi and R. Durso.

Ein genaues isokratisches HPLC-Verfahren zur Bestimmung von Homovanillinsäure (HVA), dem wichtigsten Metaboliten von Dopamin, in Cerebrospinalflüssigkeit wird beschrieben. Dazu wird die Probe mit 3,4-Hydroxymethoxyphenylacetonitril als internem Standard versetzt, mit HCl auf pH 1 angesäuert und mit Methylenchlorid extrahiert. Der Rückstand der eingedampften organischen Phase wird in mobiler Phase aufgenommen und auf einer Partisil-5 ODS3 Säule mit einer mobilen Phase aus 20% Methanol in 0,075 M  $KH_2PO_4$  (pH 2,5) chromatographiert. Der elektrochemische Nachweis wird bei 1,0 V gegen Ag/AgCl durchgeführt. Die Wiederfindensrate für HVA liegt bei 96,5–105,3% (5–100 ng/ml). — *J. Chromatogr.* **430**, 112–117 (1988). Dept. Neurol. Pharmacol. Exp. Therapeutics, Boston Univ. School Med., Boston Veterans Adm. Med. Center, Boston, MA (USA) R.H.S.

**Determination of orotic acid (vitamin  $B_{13}$ ) in human serum and urine by differential-pulse polarography.** L. Calvo, J. Rodriguez, F. Vinagre and A. Sánchez.

A differential-pulse polarographic method for the determination of orotic acid in urine and human serum is proposed. The effects of the amount of sample taken and the concentration of  $HClO_4$  present were investigated. The detection limit was  $1.54 \mu\text{g ml}^{-1}$ . The standard deviation of the determination of  $15.4 \mu\text{g ml}^{-1}$  of orotic acid in 5 ml of urine was  $0.50 \mu\text{g ml}^{-1}$  and that of the determination of  $15.4 \mu\text{g}$  of orotic acid in 1 ml of human serum was  $0.28 \mu\text{g ml}^{-1}$ . — *Analyst* **113**, 321–323 (1988). Dept. Anal. Chem. Electrochem., Univ. Extremadura, Badajoz (E)

**Separation of the stereoisomers of a homologous series of bis-amides on chiral stationary phases.** W.H. Pirkle and T.C. Pochapsky.

A homologous series of stereoisomeric bis-amides derived from racemic N-(3,5-dinitrobenzoyl)leucine and various  $\alpha,\omega$ -diamines has been chromatographed on chiral stationary phases (CSP) derived from N-(2-naphthyl)alanine. Plots of  $\alpha$ , the separation factor for enantiomers, versus N, the number of methylene groups in the  $\alpha,\omega$ -diamines, are convex in shape and show a maximum in  $\alpha$  when N=8. This maximum is attributed to optimal "bridging" between adjacent binding sites on the CSP. "Bridging" is simultaneous interaction of the two ends of the bis-derivative with sites on the CSP. Separation factors for the bis-analyses are approximately the square of those of corresponding mono-amides. — *Chromatographia* **25**, 652–654 (1988). Sch. Chem. Sci., Univ., Urbana, IL (USA)

**Quantitative high-performance thin-layer chromatography of dansyl derivatives of biogenic amines.** J.L. Eaton and D.E. Mullins.

Ein Verfahren zur Trennung, zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Picomolmengen von Dansylderivaten der biogenen Amine Dopamin, Norepinephrin, Octopamin und Serotonin wird beschrieben. Die Trennung erfolgt auf Silicagel-HPTLC-Platten. Als beste Fließmittel werden Butylacetat/Ethylacetat (5:1), Chloroform/Butylacetat/Ethylacetat (3:3:1) und Chloroform/Butylacetat/Ethylacetat/Triethylamin (6:1:2:0,5) gefunden. Nach Trocknung werden die Platten in 10% Paraffinöl in Cyclohexan getaucht und 30 sec bei 100°C getrocknet. Die getrockneten Platten können mit einem TLC-Scanner in Fluoreszenzartbeitsweise bei 366 nm ausgewertet werden. Die Nachweisgrenzen liegen zwischen 1 und 2 pmol. Die Aminderivate werden mit diesem Verfahren in Insekten nachgewiesen. — *Anal. Biochem.* **172**, 484–487 (1988). Dept. Entomol., Virginia Polytechn. Inst., State Univ., Blacksburg, VA (USA) R.H.S.

**Perfluorinated acids as ion-pairing agents in the determination of monoamine transmitters and some prominent metabolites in rat brain by high-performance liquid chromatography with amperometric detection.** M. Patthy and R. Gyenge.

Das Verhalten von Trifluoacetat und Heptafluorobutyrat als Ionenpaarungsgens für die Reversed-Phase Ionenpaartrennung von Monoamin-Transmittern und verwandten Metaboliten wird untersucht. Zur Bestimmung in Rattenhirn werden die Proben in der mit Phosphorsäure angesäuerten mobilen Phase deproteinisiert,  $10^{-4}$  M NaHSO<sub>3</sub> und  $\alpha$ -Methyldopamin-HBr als interner Standard zugegeben und direkt auf einer Nucleosil C<sub>18</sub> oder Servachrom RP-18-Säule (5  $\mu$ m) chromatographiert. Als mobile Phasen werden 15 mM Heptafluorbuttersäure oder Trifluoressigsäure in 6% Acetonitril bei pH 4,15 oder pH 4,20 eingesetzt. Der Nachweis wird mit einem amperometrischen Detektor durchgeführt. Die Ergebnisse werden mit solchen verglichen, die mit Natriumoctylsulfonat als Ionenpaarungsgens erhalten wurden. Mit den neuen Ionenpaarungsreagentien erhält man bessere Peakauftrennungen, bessere Reproduzierbarkeiten und eine schnellere Probenvorbereitung. Eine Analyse dauert 6–8 min. Die Nachweisgrenzen liegen zwischen 1,05 pg für Adrenalin und 12,5 pg für Homovanillinsäure. Die zwei untersuchten perfluorierten Säuren unterscheiden sich in dem Mechanismus der Ionenpaarbildung und weisen daher Selektivitätsunterschiede auf. — *J. Chromatogr.* **449**, 191–205 (1988). Inst. Drug. Res., Budapest (H) R.H.S.

**Reversed-phase liquid chromatographic separation and simultaneous fluorimetric detection of polyamines and their monoacetyl derivatives in human and animal urine, serum and tissue samples: an improved, rapid and sensitive method for routine application.** C. Löser, U. Wunderlich and U.R. Fölsch.

Ein hochempfindliches und genaues Verfahren zur Bestimmung der Polyamine Putrescin, Cadaverin, Spermidin und Spermin und aller ihrer Monoacetylderivate in einem einzigen Analysenschritt aus Proben wie Human- und Tierurin, Serum und Gewebeproben wird beschrieben. Die biologischen Flüssigkeiten werden dazu nach Zusatz von 1,7-Diaminohexan als internem Standard durch Säure hydrolysiert. Die hydrolysierten Proben werden über eine BondElut Silicagel Kartusche gereinigt, von der die Polyamine mit 1 M HCl eluiert werden. Die Eluate werden auf einer NovaPak C18-Säule unter Vorschaltung einer  $\mu$ Bondapak C<sub>18</sub>-Schutzsäule mit einem Gradienten zwischen Pufferlösung (pH 4,5) + 0,01 M Natriumoctansulfat bis 0,2 M Natriumacetat/Acetonitril (10:3) + 0,01 M Natriumoctansulfat chromatographiert. Das Effluat wird mit o-Phthalaldehyd/2-Mercaptoethanol derivatisiert und anschließend die Derivate fluorimetrisch nachgewiesen. Die Nachweisgrenze für die Polyamine liegt zwischen 0,5 und 1,0 pmol. Die Eichkurve ist im Bereich von 3 pmol bis mehr als 10 nmol linear. Der Einfluß der Temperatur der HPLC-Säule, der Derivatisierungssäule und der OPA-Durchflußrate auf die Empfindlichkeit des Verfahrens wird untersucht. — *J. Chromatogr.* **430**, 249–262 (1988). Div. Gastroenterol. Endocrinol., Dept. Med., Univ., D-3400 Göttingen R.H.S.

**Concurrent separation of catecholamines, dihydroxyphenylglycol, vasoactive intestinal peptide, and neuropeptide Y in superfusate and tissue extract.** L.W. Hunter, D.K. Rorie, T.L. Yaksh and G.M. Tyce.

A method is described for separation and quantification of 3,4-dihydroxyphenylglycol (DOPEG), norepinephrine (NE), dopamine (DA), vasoactive intestinal peptide (VIP), and neuropeptide Y (NPY) from single samples of tissue homogenate and from superfusate from *in vitro* dog blood vessel preparations using cartridges containing 0.4 g of octadecylsilane (Sep-Pak C-18). Samples were passed through the cartridge at pH 7.4. A step-gradient system was used to first selectively desorb the catechols (DOPEG, NE, DA) with a moderately polar eluent; subsequently VIP and NPY were eluted with 2.5 ml of a mixture of 1% trifluoroacetic acid, 80% acetonitrile. Five Sep-Pak catechol eluents were tested. Catechols were quantified by HPLC with electrochemical detection and peptides by radioimmunoassay. — *Anal. Biochem.* **173**, 340–352 (1988). Dept. Anesthesiol., Mayo Clinic and Mayo Foundation, Rochester, MN (USA)

**High-performance liquid chromatographic determination of forphenicine in mouse serum and muscle by pre-column fluorescence derivatisation using 1,2-diamino-4,5-ethylenedioxybenzene (DEB) as fluorogenic reagents.** W.-F. Chao, M. Kai and Y. Ohkura.

Ein einfaches und empfindliches HPLC-Verfahren zur Bestimmung des mikrobischen Fermentierungsproduktes Forphenicin, welches als Inhibitor von alkalischer Phosphatase wirkt, in biologischen Proben wird beschrieben. Dazu wird Forphenicin in den deproteinisierten Proben durch 30 min Erwärmen auf 60°C mit DEB derivatisiert. Das Reaktionsgemisch kann durch HPLC auf einer TSK Gel ODS-120T-Säule mit 30 mM Phosphatpuffer (pH 6,5)/Acetonitril (5:1) chromatographiert werden. Der Nachweis erfolgt fluorimetrisch. Die Wiederfindungsrate liegt zwischen 93 und 99% je nach Matrix. Bei Konzentrationen von 5 nmol/ml wird eine rel. Standardabweichung von 5,88% gemessen. Im Bereich von 0–250 nmol/ml erhält man eine lineare Eichkurve mit einer unteren Nachweisgrenze von 7,35 pmol/ml in Serum und 5,36 pmol/g in Muskelgewebe. — *J. Chromatogr.* **430**, 361–367 (1988). Fac. Pharm. Sci., Kyushu Univ., Fukuoka (J) R.H.S.

**Retention prediction of small peptides in reversed-phase liquid chromatography.** K. Jimno and E. Tanigawa.

Retention prediction of small peptides (up to four residues) in reversed-phase LC has been investigated, considering the contribution of side chains in each position to the peptide retention. In isocratic elution the retention of peptides could be predicted within about 8% relative error. — *Chromatographia* **25**, 613–617 (1988). Sch. Mater. Sci., Univ. Technol., Toyohashi (J)

**High-performance liquid chromatographic analysis of arginine-containing peptides in biological fluids by means of a selective post-column reaction with fluorescence detection.** G.R. Rhodes and V.K. Boppana.

Following HPLC separation, a post-column reaction of the guanidino group of the arginine moiety with ninhydrin under basic conditions is utilized to generate a fluorescent peptide product which can be measured at high sensitivity. Careful optimization of the post-column reaction conditions, and the use of HPLC columns of reduced internal diameter, resulted in on-column detection limits as low as 50 fmol. Application to the determination of synthetic arginine-containing vasopressin antagonists in human plasma resulted in a quantitative response which is linear over the range 0.5–100 pmol/ml. The assay method is sufficiently sensitive, accurate, and precise for use in pharmacokinetic studies of these synthetic peptides. The methodology also has general applicability in the detection of naturally occurring arginine-containing peptides. — *J. Chromatogr.* **444**, 123–131 (1988). Dept. Drug Metabolism, Smith Kline French Labs., King of Prussia, PA (USA)

**Application of Marfey's reagent in racemization studies of amino acids and peptides.** G. Szókán, G. Mezö and F. Hudecz.

RP-HPLC and pre-column derivatization with 1-fluoro-2,4-dinitrophenyl-5-L-alanine amide (Marfey's reagent) were used for monitoring racemization in peptides, amino acids and their derivatives by separation of optical isomers of amino acids. The technique was applied to the analysis of biological active peptides, amino acids, their N- and C-protected derivatives, branched polypeptides based on polylysine, and endothiopeptides, and to the detection of stereochemical consequences of side reactions and hydrolysis. The chromatographic samples were

mixtures of L- and D-amino acids obtained by hydrolysis of different peptides and derivatives. Baseline separations could be achieved on an ODS-Hypersil column with methanol/acetonitril/acetate buffer (pH 4) mixtures as the eluents. The rates of racemization were calculated. — *J. Chromatogr.* **444**, 115–122 (1988). Inst. Org. Chem., Eötvös Univ., Budapest (H)

**Chromatography of proteins on hydrophobic interaction and ion-exchange chromatographic matrices: Mobile phase contributions to selectivity.** M.L. Heinitz, L. Kennedy, W. Kopaciewicz and F.E. Regnier.

The effect of mobile phase pH on the retention characteristics of eleven proteins was examined in hydrophobic interaction chromatography (HIC) on a SynChropak propyl stationary phase. Selectivity was shown to change with eluent pH. The effect of the displacing salt on the separation of proteins on a weakly hydrophobic weak-anion-exchange chromatography (AEC) packing was examined. Some differences in selectivity were observed when sodium sulfate was used as the displacing salt, compared to that observed with sodium chloride in the eluent. It was demonstrated that these AEC packings exhibited both electrostatic and hydrophobic properties, depending upon the type and concentration of salt used in the mobile phase. The addition of 20% ethylene glycol to the mobile phase was shown to reduce the hydrophobic interactions. The application of weakly hydrophobic weak-cation-exchange packings to HIC of proteins was demonstrated. — *J. Chromatogr.* **443**, 173–182 (1988). U.S. Food Drug. Admin., Minneapolis, MN (USA)

**Separation of proteins by reversed-phase high-performance liquid chromatography. I. Optimizing the column.** W.G. Burton, K.D. Nugent, T.K. Slattery, B.R. Summers and L.R. Snyder.

In the process of developing a new analytical technology (the chromatophoresis process) which couples reverse-phase HPLC to sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis in a real-time automated system, it was apparent that improvements in resolving power for the first-dimension (HPLC) separation were necessary. The present paper describes the optimization of the column for our initial work on reversed-phase HPLC separations. Polymeric (polystyrene) packings having particle diameters of 5  $\mu\text{m}$  and pore diameters of 300  $\text{\AA}$  were generally superior in terms of resolution, sample recovery and minimization of "ghosting". Optimum column dimensions were 50% 1.0 mm I.D. for the flow-rates required in our system (10–100  $\mu\text{l}/\text{min}$ ). — *J. Chromatogr.* **443**, 363–379 (1988). Bionovus, Inc., Foster City, CA (USA)

**Separation of proteins by reversed-phase high-performance liquid chromatography. II. Optimizing sample pretreatment and mobile phase conditions.** K.D. Nugent, W.G. Burton, T.K. Slattery, B.F. Johnson and L.R. Snyder.

The effects of separation variables such as temperature, pH and composition of the mobile phase (including additives such as chaotropes, ion-pairing agents and surfactants), sample size and sample pretreatment for RP-HPLC of proteins is examined. Experimental optimization of these parameters using the preferred instrumental and column conditions described previously lead to well behaved chromatographic performance for most proteins. This allowed us to achieve the required level of performance for the first dimension (RP-HPLC) separation of most protein samples by the chromatophoresis process. — *J. Chromatogr.* **443**, 381–397 (1988). Bionovus, Inc., Foster City, CA (USA)

**Use of a scanning densitometer or an ELISA plate reader for measurement of nanogram amounts of protein in crude extracts from biological tissues.** S. Ghosh, S. Gepstein, J.J. Heikkila and E.B. Dumbroff.

Protein contents of crude extracts from plant and animal tissues can be rapidly assayed using a Coomassie blue dye-binding procedure combined with scanning densitometry. Total protein is extracted from 100 mg of fresh-frozen or dried-ground tissue using 1 ml of extraction buffer. One-microliter aliquots of standard solutions or crude extracts are spotted in rows on a suitably sized sheet of Whatman 3MM chromatography paper. The dried samples are stained with Coomassie brilliant blue R-250 (0.2%, w/v, in acidified 50% MeOH) for 20 min and rinsed twice with acidified 20% MeOH. After drying, protein concentrations are read as reflectance using a scanning densitometer and peak heights or peak areas

recorded using a digital integrator. In an alternative procedure, each spot is cut from the sample sheet and the dye-protein complex eluted in 1% sodium dodecyl sulfate (SDS) using an ultrasonic cleaner. Absorbance is subsequently read in a microwell sample holder at 590 nm with an enzyme-linked immunosorbent assay plate reader. Both procedures offer distinct advantages over previously reported methods. — *Anal. Biochem.* **169**, 227–233 (1988). Dept. Biol., Univ. Waterloo, Ontario (CDN); Technion-Israel Inst. Technol., Haifa (IL)

**High-performance liquid chromatography and photodiode-array detection of the human protein HC (human complex-forming glycoprotein heterogeneous in charge), a chromophore-associated protein.** J. Escribano, R. Matas and E. Méndez.

Photodiode-array ultraviolet-visible detection has been adapted to our high-performance liquid chromatographic system for the analysis and the characterization of the unknown yellow-brown chromophore associated with the human complexforming glycoprotein, heterogeneous in charge (Protein HC). By using several post-experiment data processing modes, such as multichromatograms, automatic spectrum analyses or three-dimensional plots, the technique allows a direct verification of purity, quantification, as well as the identification of Protein HC without the necessity for further analytical systems. At least thirteen different shoulders in the absorption spectrum in the visible region between 300 and 480 nm have been identified for urinary Protein HC. However, no chromophore was found to be associated with Protein HC complexed with immunoglobulin A (HC-IgA complex). Comparison of spectra between plasma or urinary protein HC allows one to distinguish spectral differences in its chromophore, at least in the range from 300 to 480 nm. The technique was useful for easy identification of chromophore-containing peptides from the digested Protein HC. — *J. Chromatogr.* **444**, 165–175 (1988). Serv. Endocrinol., Centro Ramón y Cajal, Madrid (E)

**Effect of steric exclusion on the separation of proteins by hydrophilic size-exclusion chromatography.** Q.C. Meng, Y.F. Chen, L.J. Delucas and S. Oparil.

On the basis of studying the retention and band broadening of proteins on the TSK SW column, diffusion coefficients ( $D_s$ ) of solute in stationary phase were obtained which elucidate the hydrodynamic process of chromatographic resolution of proteins by hydrophilic size-exclusion chromatography (SEC). After calculating the correlation between  $D_s$  and the molecular weight of the solute, the molecular dimensions of proteins in the process of chromatographic separation can be predicted. Deviations in diffusion coefficient of a protein from the calculated value reflect differences of measured molecular dimensions from molecular volumes predicted from the calibration curve of the SEC column. This study illustrates a convenient method for estimating the purity of proteins by SEC. — *J. Chromatogr.* **445**, 29–36 (1988). Dept. Med., Univ. Birmingham, Al (USA)

**Evaluation of amino acid analysis as reference method to quantitate highly purified proteins.** G.S. Sittampalam, R.M. Ellis, D.J. Miner, E.C. Rickard and D.K. Clodfelter.

The applicability of amino acid analysis for accurate quantitation of reference standard preparations of proteins has been evaluated. This approach is very useful since, in addition to absolute quantitative information, it also provides a measure of composition, partial identity, and purity in a single experiment. Comparisons with Kjeldahl nitrogen assay and/or UV measurements shows that amino acid analysis is reliable for the quantification of small-to-medium size proteins in the molecular weight range of 6–22 kDa. For larger proteins such as immunoglobulins (150 kDa), amino acid analysis may "underestimate" the total protein concentration. These results also show the effect of recovery of individual residues on protein quantitation. It is concluded that amino acid analysis is an appropriate reference method only when stable residues are employed for quantitation, particularly for highly purified proteins of rDNA origin. — *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71**, 833–838 (1988). Eli Lilly and Co., Lilly Res. Labs., Bioanal. Devel., Indianapolis, IN (USA)

**High-performance affinity chromatography of carbohydrate-binding proteins by two-stage separation on a resin carrying a number of oligosaccharides.** S. Honda, K. Suzuki, S. Suzuki and K. Takehi.

Oligosaccharides of ovalbumin were released by hydrazinolysis and converted to the glycamine derivatives by reductive amination. The resultant derivatives were immobilized on an epoxy-activated methacrylate polymer. Application of lectins on the column containing the resultant resin, followed by injection of the competing sugars and detection of the eluate using natural fluorescence, allowed differentiation of micro amounts of the lectins, owing to their high specificity. Stepwise elution with various competing sugars also permitted separation of lectins. Application of this method to serum samples enabled detection of various carbohydrate-binding proteins with specific affinity to the injected sugars. This method, based on two-stage separation at the adsorption and elution stages, was highly specific. It was also rapid, reproducible, and sensitive. — *Anal. Biochem.* **169**, 239–245 (1988). *Fac. Pharm. Sci., Kinki Univ., Higashi-osaka (J)*

**Selective silver-staining methods for RNA and proteins in the same polyacrylamide gels.** A. Paleologue, J.P. Reboud and A.M. Reboud.

Two silver-staining methods for selective and ultrasensitive detection of RNAs and proteins in the same polyacrylamide gels were developed, both derived from procedures recommended for protein staining. The first, a double-staining technic with Coomassie brilliant blue and ammoniacal silver, allows visualization of RNAs as negative bands and proteins as dark brown bands. The second is also a double-staining technique, but uses silver in both steps. This second method develops the RNA bands first and then the protein bands. These techniques, especially the second, permit characterization of the different components of ribonucleoprotein complexes in the same electrophoresis gels. — *Anal. Biochem.* **169**, 234–238 (1988). *Lab. Biochim. Méd., Univ. Claude Bernard, Lyon I, (F)*

**Separation of synthetic cycloalkylated bases, nucleosides and nucleotides by reversed-phase high-performance liquid chromatography.** B. Alick, C. Bridges, T. Cox Jr., V. Earl and R. Thedford.

RP-HPLC was used to determine the elution profiles of a series of synthetic cycloalkylated bases, nucleosides and their corresponding 5'-monophosphates. A 70% aqueous methanol solution proved to be the most efficient solvent system for the separation of a mixture of the bases, all of which were eluted in times ranging from 3.3 to 4.8 min at a flow-rate of 0.8 ml/min. Subsequently, the same percentage of methanol solvent, at 0.8 ml/min, eluted the nucleoside mixture as well, with retention times ranging from 3.3 to 5.0 min. Optimum separation and resolution were achieved with 70% methanol at a flow-rate of 0.6 ml/min for a mixture of the based and nucleoside series. A phosphate buffer, containing acetonitrile-tetrabutylammonium ion, was used to analyze the 5'-monophosphate derivatives. Elution times ranged from 2.6 to 6.1 min at a flow-rate of 1.0 ml/min. The procedures and conditions described herein have potential use as a monitoring system to detect modified nucleic acid derivatives which are prevalent in the body fluids of patients with certain metabolic disorders. — *J. Chromatogr.* **430**, 309–317 (1988). *Dept. Chem., Clark College, Atlanta, GA (USA)*

**Retention and selectivity surfaces of deoxyribonucleotides in reversed-phase chromatography.** E. Grushka, P.R. Brown and N.-J. Jang.

Retention and selectivity surfaces of four 5'-monophosphate deoxyribonucleotides were obtained by plotting capacity factors and selectivities as functions of pH and methanol content or temperature. Although each experimental factor influenced the retention and selectivity in a unique manner, little interdependence of these factors was found. In general, the effect of increasing the temperature, or the methanol content, was to decrease the retention times. On the other hand, the pH effect was dependent on the nature of the solute. The selectivity surfaces indicate that there can be several approaches to optimizing a particular separation. — *Anal. Chem.* **60**, 2104–2110 (1988). *Dept. Inorg. Anal. Chem., Hebrew Univ., Jerusalem (IL)*

**Monitoring the preparation of NAD analogs by reversed-phase high-performance liquid chromatography.** P.G. Pietta, P.L. Mauri, M. Pace and D. Agnellini.

Pig brain NAD glycohydrolase immobilized on Affi-Gel 10 or nylon 6 was used for the conversion of NAD into 3-acetylpyridine adenine dinucleotide (APAD) or 3-aminopyridine adenine dinucleotide (AAD).

A reversed-phase chromatographic system consisting of a C<sub>18</sub> Resolve column and phosphate buffer (pH 6.2)-methanol as the mobile phase was used to monitor the production of APAD and AAD. — *Chromatographia* **25**, 543–546 (1988). *Dipt. Sci. Tecnol. Biomed., Sez. Chim. Org., Milano (I)*

**Differential pulse polarography as a tool for the determination of trace levels of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>) and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP<sup>+</sup>) in aqueous solution.** S.T. Sulaiman.

Das differentienpuls-polarographische Verhalten von NAD<sup>+</sup> und NADP<sup>+</sup> wird in verschiedenen Phosphatpuffern (pH 5,0–9,0 aus 0,1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) untersucht. Zur Spurenbestimmung dieser Verbindungen werden pH 8,0 ( $E_p^{NAD^+} = -0,88$  V,  $E_p^{NADP^+} = -0,9$  V), eine Tropfzeit von 2 sec (Quecksilbertropfenelektrode; DME), eine Pulsamplitude von 100 mV und ein Spannungsvorschub von 5 mV/sec empfohlen. Das eingesetzte Dreielektrodensystem besteht neben der DME aus einer Ag/AgCl/KCl-Referenzelektrode und einem Platindraht als Gegenelektrode. Die Messungen erfolgen bei 20°C. Die Analysenlösung wird 15 min lang mit He entlüftet. Unter diesen Versuchsbedingungen erhält man lineare Eichkurven in den Konzentrationsbereichen 0,26–26 µM für NAD<sup>+</sup> und 2–40 µM für NADP<sup>+</sup>. Die Steigungen aus dem Verhältnis Peakspitzenstrom:Konzentration betragen  $2,53 \times 10^{-2} \pm 1,7 \times 10^{-4}$  µA/µM für NAD<sup>+</sup> und  $0,97 \times 10^{-2} \pm 2 \times 10^{-4}$  µA/µM für NADP<sup>+</sup>. — *Microchem. J.* **34**, 254–257 (1986). *Dept. Chem., Coll. Sci., Univ., Mosul (IRQ)*  
F.T. Bartsch

**Activity staining of blotted enzymes by reaction coupling with transfer membrane-immobilized auxiliary enzymes.** J. Sock and R. Rohringer.

A blotting method is described to detect enzymes that do not normally yield a colored product. The method can be used for dot blotting as well as blotting after gel electrophoresis of many enzymes if the reactions they catalyze can be coupled to an oxidase or a dehydrogenase. The latter, designated "auxiliary enzymes", are preimmobilized on membranes of nitrocellulose or positively charged nylon and the reaction they catalyze is coupled with reduction of tetrazolium salt to yield colored formazan on areas of the transfer membrane occupied by the blotted enzymes. In the examples reported here, preimmobilized glucose oxidase, L-amino acid oxidase, xanthine oxidase, malate dehydrogenase, and a mixture of hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase were used as auxiliary enzymes to detect blotted invertase, leucine aminopeptidase, purine nucleoside phosphorylase, fumarase, and adenylate kinase, respectively. Detection limits varied, but never exceeded 100 ng for these enzymes. — *Anal. Biochem.* **171**, 310–319 (1988). *Res. Stat. Agric. Canada, Winnipeg, Manitoba (CDN)*

**Determination of reduced and total ubiquinones in biological materials by liquid chromatography with electrochemical detection.** T. Okamoto, Y. Fukunaga, Y. Ida and T. Kishi.

Ein bequemes und verlässliches flüssigchromatographisches Verfahren mit elektrochemischer Detektion wird zur Bestimmung von reduziertem (Ubichinol) und Gesamt-Ubichinonen in biologischen Proben entwickelt. Zur Bestimmung von Ubichinol wird nach Extraktion der Proben mit n-Hexan auf einer Finepak SIL C<sub>18</sub>-Säule mit 0,05 M Natriumperchlorat in Ethanol/Methanol/Acetonitril/70% Perchlorsäure (400:300:300:1) chromatographiert. Der elektrochemische Nachweis erfolgt bei +0,6 V gegen Ag/AgCl. Die mittlere Wiederfindungsrate liegt um 100%. Der Gesamtwert des Ubichinons kann nach Reduktion des Ubichinons in die entsprechende reduzierte Form durch Behandlung mit Natriumborhydrid durchgeführt werden. Die Nachweisgrenzen liegen zwischen 50 pg (α-Tocopherol) und 2000 pg (Retinylpalmitat), Ubichinon-10 wird mit einer Nachweisgrenze von 150 pg bestimmt. — *J. Chromatogr.* **430**, 11–19 (1988). *Fac. Pharm. Sci., Kobe-Gakuin Univ., Kobe (J)*  
R.H.S.

**Determination of telencepine in human serum by gas chromatography-mass spectrometry.** E. Sturm and A. Junker.

Ein GC/MS-Verfahren zur Bestimmung des neuen antisekretorisch wirkenden Telenzepins, welches bei der Behandlung von Magengeschwüren eingesetzt wird, wird beschrieben. Dazu werden Serumproben alkalisch gemacht und über Reversed-Phase Octadecylsilan-gebundene Sili-



gagel-Kartuschen extrahiert. Das Desmethylanaloge von Telenzepin wird den Serumproben als interner Standard zugesetzt. Die C<sub>18</sub>-Kartuschen werden mit Methanol eluiert. Die Eluate werden durch ein zweistufiges Verfahren durch eine Benzodiazepinon/Benzimidazol-Rückbildung und gleichzeitige Bildung einer Methylesterfunktion derivatisiert. Die derivatisierten Extrakte werden gaschromatographisch auf einer Säule mit 3% OV-17 auf Chromosorb W-AW-DMCS (80–100 mesh) mit einem Temperaturprogramm von 150–300°C analysiert. Der anschließende massenspektrometrische Nachweis wird in SIM-Arbeitsweise durchgeführt. Quantitative Bestimmungen sind im Bereich von 2–40 ng/ml linear. Eine durchschnittliche Genauigkeit von 7% wird erhalten, im Bereich der Nachweisgrenze von 2 ng/ml ist sie jedoch höher (16%). Der Nachteil des Verfahrens liegt in dem aufwendigen Derivatisierungsschritt. — *J. Chromatogr.* **430**, 43–51 (1988). Byk Gulden Pharm., Konstanz (D) R.H.S.

**A specific high-performance liquid chromatographic method for the determination of BRL 24924 in urine.** H.C. Kelly and B.E. Davies.

BRL 24924 {4-Amino-5-chloro-2-methoxy-N[4-(1-azabicyclo-[3,3,1]-nonyl)benzamid]}, welches zur Behandlung gastrointestinaler Störungen getestet wird, kann aus alkalischen Urinproben nach Zusatz eines strukturanalogen internen Standards mit Dichlormethan extrahiert werden. Der Rückstand der eingedampften organischen Phase wird in mobiler Phase aufgenommen und auf einer Spherisorb 5 µm CN-Säule unter Vorschaltung einer Co:Pell ODS-Schutzsäule chromatographiert. Die Elution erfolgt mit 0,1 M pH 6 Phosphatpuffer/Acetonitril (60:40). Der Nachweis kann im UV bei 272 nm durchgeführt werden. Die Wiederfindungsraten liegen um 80%. Eichkurven sind von 2 ng/ml (Nachweisgrenze) bis 10 µg/ml linear. — *Anal. Proc.* **25**, 303 (1988). Drug Metabolism Pharmacokin. Dept., Beecham. Pharm. Res. Div., Harlow, Essex (GB) R.H.S.

**Determination of (4-chlorophenyl)thiomethylenbisphosphonic acid, a new bisphosphonate, in biological fluids by high-performance liquid chromatography.** J.-P. Fels, J. Guyonnet, Y. Berger and W. Cautereels.

Ein schnelles und empfindliches HPLC-Verfahren zur Bestimmung des neuen Bisphosphonats (4-Chlorphenyl)thiomethylenbisphosphonsäure, welches antiosteolytische und antiarthritische Wirkungen in Tieren zeigt, in biologischen Flüssigkeiten wird beschrieben. Es beruht auf der selektiven Fällung und Wiederauflösung von Ca-Salzen vor der HPLC. Dazu wird den Proben (3-Trifluormethyl)-thiomethylenbisphosphonsäure als interner Standard zugesetzt. Dann werden nach Zusatz von 1 M NaOH und 0,18 M CaCl<sub>2</sub> die unlöslichen Ca-Salze abgefällt. Der abzentrifugierte Rückstand wird in 1 M HCl gelöst. Anschließend wird eine zweite Fällung in NaOH mit CaCl<sub>2</sub> durchgeführt. Der Rückstand wird dann in mobiler Phase unter Zusatz von 0,1 M Na<sub>2</sub>EDTA gelöst. Diese Lösung wird auf einer PRP-1-Säule unter Verwendung von 0,005 M Tetrabutylammoniumphosphat/0,05 M Natriumhydrogenphosphat (pH 11,8)/Acetonitril (87:13) chromatographiert. Der Nachweis kann im UV bei 280 nm durchgeführt werden. Die Nachweisgrenze bei Verwendung von 200 µl Proben beträgt 50 ng/ml. — *J. Chromatogr.* **430**, 73–79 (1988). Sanofi-Rech., Montpellier (F) R.H.S.

**Determination of ibuprofen and its major metabolites in human urine by high-performance liquid chromatography.** B. Chai, P.E. Minkler and C.L. Hoppel.

Ein empfindliches und selektives HPLC-Verfahren zur Bestimmung von freiem und Gesamt-Ibuprofen und seinen wichtigsten Metaboliten in Humanurin wird beschrieben. Ibuprofen, welches als entzündungshemmender Wirkstoff bei der Arthritisbehandlung eingesetzt wird, kann aus angesäuerten Urinproben zusammen mit seinen Metaboliten in Hexan/Propanol (6:1) nach Zusatz von Ibufenac und 2-Phenylpropionsäure als internen Standards extrahiert werden. Dann wird in Natriumbicarbonat rückextrahiert, neutralisiert und auf einer NOVA-PAK C<sub>18</sub>-Säule unter Vorschaltung einer Co:Pell ODS-Schutzsäule analysiert. Es wird mit einem Stufengradienten gearbeitet. Erst wird 9 min isokratisch mit verdünnter Phosphorsäure eluiert und dann mit einem Gradienten bis zu Wasser/Acetonitril (400:600). Der Nachweis wird im UV bei 214 nm durchgeführt. Die Extraktionsausbeuten liegen für alle Verbindungen zwischen 94 und 100%. Die Empfindlichkeit des Verfahrens ist ausreichend, um 2,5 µg/ml freien Ibuprofens in 100 µl Urinproben nach-

zuweisen. — *J. Chromatogr.* **430**, 93–101 (1988). Med. Res., VA Med. Center, Cleveland, OH (USA) R.H.S.

**Detection of β-blocking drugs in urine by capillary column gas chromatography-negative ion chemical ionization mass spectrometry.** G.P. Cartoni, M. Ciardi, A. Giarrusso and F. Rosati.

Eine GC-Bestimmung von β-Blockern in menschlichem Urin mit Identifizierung der Stoffe und deren Metaboliten mittels NIC-Ionisierung wurde ausgearbeitet. — *Arbeitsweise.* 5 ml Urin werden zusammen mit 1 ml 6N HCl und 100 mg Cystein 1 h bei 70°C hydrolysiert und nach Abkühlen mit Diethylether extrahiert. Danach wird die Lösung mit Boratpuffer auf pH 9,5 gebracht und 2 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zugefügt. Die Mischung wird dann mit Ether/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) extrahiert, der Extrakt eingedampft, in Cyclohexan aufgenommen und mit 50 µl Pentafluoropropionsäureanhydrid und 25 µl Pyridin bei 70°C innerhalb 15 min derivatisiert. Nach Waschen mit 1 ml 0,1 M NaBO<sub>3</sub> werden 2–3 µl chromatographiert; ein Hewlett-Packard Gaschromatograph (Mod. 5890) bzw. ein Mod. 5836A Quadropol-Massenspektrometer werden benutzt. — *J. High Resolut. Chromatogr.* **11**, 528–532 (1988). Dipt. Chim., Univ., Roma (I) J. Eliassaf

**High-performance liquid chromatographic determination of diltiazem and four of its metabolites in plasma: Evaluation of their stability.** L.M. Dubé, N. Mousseau and I.J. McGilveray.

Ein schnelles, spezifisches und reproduzierbares HPLC-Verfahren zur gleichzeitigen Bestimmung des Ca-Blockers Diltiazem und vier seiner Metabolite in Plasma wird vorgeschlagen. Dazu wird der Plasmaprobe Ethylmethylglycinexylidid als interner Standard zugegeben und mit Methyl-tert.-butylether extrahiert. Dann wird in 0,017 M Phosphorsäure rückextrahiert und auf einer Spherisorb ODS-Säule (3 µm; 15 cm lang) mit einer mobilen Phase aus Acetonitril/0,01 M Ammoniumphosphatpuffer + 0,06% TEA (pH 3,75) (60:40) chromatographiert. Der Nachweis wird im UV bei 273 nm durchgeführt. Im Bereich von 10–250 ng/ml erhält man eine lineare Eichkurve mit Variationskoeffizienten unter 12%. Das Verfahren wird zur Untersuchung der Stabilität von Diltiazem in Plasmaproben eingesetzt. — *J. Chromatogr.* **430**, 103–111 (1988). Pharm. Chem. Div., Bureau Drug Res., Health Protect. Branch, Tunney's Pasture, Ottawa, Ontario (CDN) R.H.S.

**Simultaneous determination of the prodrug zofenopril and its active drug in plasma by capillary gas chromatography-mass selective detection.** M. Jemal, E. Ivashkiv, D. Teitz and A.I. Cohen.

After oral administration of zofenopril, the active sulfhydryl angiotensin-converting enzyme inhibitor is released. Zofenopril is currently under clinical investigation as an antihypertensive. Blood samples are reacted with N-ethylmaleimide, immediately after collection, processed into plasma and stored frozen for subsequent analysis. After addition of two internal reference standards, one each for the prodrug and the active compound, the plasma samples are purified by a combination of liquid-liquid and solid-phase extractions. The dried methylated extracts are reconstituted with tetramethylbenzene and chromatographed by automated splitless injection on a fused-silica capillary column connected to a mass-selective detector. The analytes and the internal reference standards are chromatographically resolved and a common fragment ion is monitored for the analytes. A limit of quantitation of approximately 1 ng/ml of plasma is achieved. — *J. Chromatogr.* **428**, 81–92 (1988). Squibb Inst. Med. Res., Anal. Res. Devel. Dept., New Brunswick, NJ (USA)

**High-performance liquid chromatographic determination of propranolol and its metabolites in rat serum.** S.A. Qureshi and H.S. Buttar.

Der β-Adrenergo-Rezeptorblocker Propranolol und seine 5 Metabolite können schnell und einfach aus Rattenserumproben mit einem HPLC-Verfahren bestimmt werden. Dazu werden die Serumproben nach Zusatz von 0,5% Ascorbinsäure und Carbonatpuffer (pH 10) mit Diethylether extrahiert. Die etherische Phase wird in 0,1 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> umextrahiert und die wäßrige Phase mit den basischen Metaboliten durch HPLC analysiert. Die etherische Phase, die Propranololglykol enthält, wird eingedampft, der Rückstand in mobiler Phase aufgenommen und durch HPLC analysiert. Die wäßrige Phase wird angesäuert, mit Ether extrahiert und ebenfalls nach Eindampfen in mobiler Phase analysiert.

Die HPLC erfolgt auf einer 5  $\mu\text{m}$   $\text{C}_{18}$ -Säule mit Methanol/Acetonitril/0,1% Triethylamin in Wasser (25:25:50) (pH 2,5). Der Nachweis wird fluorimetrisch bei 300/375 nm durchgeführt. Durch die Vorfractionierung in saure, neutrale und basische Metabolite werden klare Extrakte und schnellere HPLC-Trennungszeiten erreicht (10–15 min). Die Wiederfindungsraten liegen zwischen 58 und 106%. — *J. Chromatogr.* **431**, 465–470 (1988). *Biochem. Toxicol. Sect., Drug Toxicol. Div., Bureau Drug Res., Sir Frederick Banting Res. Cent., Health Protect. Branch, Tunney's Pasture, Ottawa, Ontario (CDN)* R.H.S.

**Simultane gaschromatographische Bestimmung von Methylphenobarbital und Phenobarbital im Serum.** B. Quednow und H. Walther.

Für Methylphenobarbital und seinen Hauptmetaboliten Phenobarbital wurde eine gaschromatographische Methode entwickelt, welche den Anforderungen für pharmakokinetische Untersuchungen genügt. *Ausführung.* 1 ml Serum wird mit 0,1 ml gesätt. Ammoniumsulfatlösung und 1 ml Aceton geschüttelt und zentrifugiert. Nach Dekantieren werden zu der klaren Lösung eine Spatelspitze Ammoniumsulfat und 2,5 ml Benzol gegeben, geschüttelt und zentrifugiert. 2 ml Benzolphase werden eingedampft. Zum Rückstand werden 1 ml Methanol/Wasser (4:1) und 2 ml Hexan gegeben. Nach dem Zentrifugieren wird die Hexanphase verworfen, die Methanolphase eingedampft und der Rückstand in 50  $\mu\text{l}$  Internstandardlösung (2 mg Tricosan in 100 ml Aceton) aufgenommen. Diese Lösung wird für die GC in einem GC HF 18.3 (Chromatron Berlin, DDR) mit FID auf der stationären Phase GP 2% SP-2110/1% SP-2510-DA auf Supelcoport 100/120 (Trägergas nicht angegeben), bei 210°C Säulentemperatur, verwendet. Die Eichkurve ist im Bereich 1–10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  Serum linear. — *Zentralbl. Pharm., Pharmakother. Lab.diagn.* **127**, 513–514 (1988). *Inst. Klin. Pharmakol., Med. Akad., Magdeburg (DDR)* A. Niemann

**A simple HPLC method for the quantitation of molindone in human plasma or serum.** N. Narasimhachari, A.K. Pandurangi and B. Landa.

Zur HPLC des neuroleptischen Agens Molindone (Moban) in menschlichem Plasma und Blut wird eine Mischung von 0,5 ml Serum, 250 ng Trazadon (Innenstandard) und 0,5 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (5%) mit 5 ml Ethylacetat/Hexan/Isoamylalkohol (50:49,5:0,5) 30 sec gemischt und dann 10 min zentrifugiert. Die obere Schicht wird unter  $\text{N}_2$  eingedampft und in 100  $\mu\text{l}$  der mobilen Phase (Phosphatpuffer pH 7,1/ $\text{CH}_3\text{CN}/\text{MeOH}$  (65:26:9)) aufgenommen. Eine Supelco cyano 5  $\mu\text{m}$  Säule wird benutzt. UV-Detektion bei 247 nm. Die untere Nachweisgrenze ist 10 ng/ml, die Wiederfindungsrate >95% und der Variationskoeffizient 3,5%. — *J. Liquid Chromatogr.* **11**, 983–989 (1988). *Dept. Psychiatry, Med. Coll. Virginia, Virginia Commonwealth Univ., Richmond, VA (USA)* J. Eliassaf

**Detection and determination of common benzodiazepines and their metabolites in blood samples of forensic science interest. Microcolumn cleanup and high-performance liquid chromatography with reductive electrochemical detection at a pendent mercury drop electrode.** J.B.F. Lloyd and D.A. Parry.

Benzodiazepine können aus Blutproben (100–250  $\mu\text{l}$ ) nach Verdünnung mit wässrigem Natriumoctylsulfat zur Unterdrückung der Proteinbildung auf Mikrosäulen mit Porapak-T extrahiert werden. Die Elution erfolgt mit wässrigem Acetonitril (60  $\mu\text{l}$ ). Die Eluate können direkt durch HPLC auf einer ODS-Hypersil-Säule (3  $\mu\text{m}$ ) bei 40°C mit Methanol/1-Propanol/wässr. Phosphatpuffer (pH 6,0) analysiert werden. Zur Detektion wird reduktiv amperometrisch mit einer Hg-Tropfelektrode bei Spannungen von –1,2 V gegen Ag/AgCl gearbeitet. Zur Erhöhung der Empfindlichkeit kann bei Bedarf ein coulometrischer Detektor vorgeschaltet werden. Mit diesem Verfahren können alle gebräuchlich verwendeten Benzodiazepine mit Ausnahme von Clobazam (enthält keine Azomethingruppe) nachgewiesen werden. Die Nachweisgrenzen liegen im Bereich von 1–5 ng/ml in Blutproben. Die Wiederfindungsraten werden zu 84–95% ermittelt. — *J. Chromatogr.* **449**, 281–297 (1988). *Home Office Forensic Sci. Lab., Birmingham (GB)* R.H.S.

**Sensitive determination of diazepam and N-desmethyldiazepam in human material using capillary gas chromatography-mass spectrometry.** K. Kudo, T. Nagata, K. Kimura, T. Imamura and M. Noda.

Ein verlässliches und empfindliches gaschromatographisches Verfahren mit massenspektrometrischer Detektion wird zur Bestimmung des Benzodiazepins Diazepam und seines wichtigsten Metaboliten, dem N-Desmethyldiazepam, in Humanproben entwickelt. Medazepam wird als interner Standard eingesetzt. Dazu wird die Blut- oder Gewebeprobe nach Zusatz von Boratpuffer (pH 9) mit tert.-Butylmethylether extrahiert, in 2 M HCl rückextrahiert und die wässrige Schicht mit Bromthymolblau als Indikator versetzt, mit 2 M NaOH bis zur Blaufärbung versetzt und mit tert.-Butylmethylether extrahiert. Der Rückstand der eingedampften organischen Phase wird in Ethylacetat aufgenommen und auf einer CBP1 Capillarsäule mit einem Temperaturprogramm von 200–300°C analysiert. Der massenspektrometrische Nachweis erfolgt bei m/z 242 und 256. Die Nachweisgrenzen liegen bei 1 ng/g und die Wiederfindungsraten bei 98% für Diazepam und seinen Metaboliten. Im Bereich von 1,0 ng/g bis 1,0  $\mu\text{g}/\text{g}$  erhält man eine lineare Eichkurve. Das Verfahren wird zum Nachweis des Benzodiazepins in Autopsiegewebe eingesetzt. — *J. Chromatogr.* **431**, 353–359 (1988). *Dept. Legal Med., Fac. Med., Kyushu Univ., Fukuoka (J)* R.H.S.

**Alprazolam,  $\alpha$ -hydroxy and 4-hydroxyalprazolam analysis in plasma by high-performance liquid chromatography.** R.L. Miller and C.L. DeVane.

Das wichtige Triazolobenzodiazepin Alprazolam, welches antidepressiv und angstlösend wirkt, kann aus Plasmaproben nach Zusatz Nitrazepam als internem Standard bei pH 9,12 (Boratpuffer) mit Ethylacetat/Heptan (85:15) zusammen mit seinen  $\alpha$ -Hydroxy- und 4-Hydroxy-Metaboliten extrahiert werden. Der Rückstand der eingedampften organischen Phase wird in mobiler Phase aufgenommen und auf eine 5  $\mu\text{m}$  Octadecyl  $\text{C}_{18}$  Silansäule injiziert. Die mobile Phase besteht aus Acetonitril/50 mM Kaliumphosphat (pH 6). Der Nachweis kann im UV bei 214 nm durchgeführt werden. Die Wiederfindungsraten liegen zwischen 96 und 85%. Die Empfindlichkeit des Verfahrens ist für pharmakokinetische Untersuchungen ausreichend. — *J. Chromatogr.* **430**, 180–186 (1988). *Dept. Pharm. Psych. Coll. Pharm., Univ. Florida, Gainesville, FL (USA)* R.H.S.

**A high-performance liquid chromatographic method for the determination of doxofazepam in human plasma using a solid-phase extraction column.** G. Carlucci.

Doxofazepam ist ein Arzneistoff mit hypnotischer Wirkung. Wesentliches Kennzeichen der beschriebenen analytischen Methode ist die Bestimmung der Substanz durch HPLC nach Vorreinigung der Proben über eine LC-18-Säule. Diese Vorsäule (Supelguard LC-18, Supelco 0,4  $\times$  2 cm) wird mit 1 ml Methanol und 2 ml Wasser mit Hilfe von Vakuum gespült. 1 ml Plasmaprobe, welche vorher mit 100  $\mu\text{l}$  Internstandard (2  $\mu\text{g}$  Diazepam/ml Methanol) gemischt wurde, wird auf diese Säule gegeben, mit Hilfe von Vakuum eingesaugt und dann mit dem doppelten Säulenvolumen Wasser sowie 100  $\mu\text{l}$  Methanol gespült. Die Elution der Säule erfolgt ohne Vakuum mit 400  $\mu\text{l}$  Methanol. Nach Eindampfen unter Stickstoff wird das Eluat in der mobilen Phase 20% Methanol-Wasser gelöst und der HPLC-Apparatur injiziert. Diese enthält eine  $\mu\text{Bondapak C18}$ -reversed-phase-Säule und wird mit UV-Licht 280 nm detektiert. Doxofazepam und Diazepam werden einwandfrei getrennt und nicht durch andere Substanzen gestört, wie die abgedruckten Diagramme erkennen lassen. Die Eichkurven sind im Bereich 0,1–2,0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  linear. Die statistische Auswertung wird ebenfalls mit geteilt. — *J. Liquid Chromatogr.* **11**, 1559–1568 (1988). *Dipt. Chim., Ingegn. Chim. Mater., Univ., L'Aquila (I)* A. Niemann

**Automatic determination of clomipramine, imipramine and their demethylated metabolites in plasma by high-performance liquid chromatography.** P. Ni, F. Guyon, M. Caude and R. Rosset.

Determination of the tricyclic antidepressant drugs in plasma can be carried out by extraction on a precolumn (n-octyl bonded silica gel) and washing with phosphate buffer (0.005 M, pH 11.5). The elution is carried out on-line (with back-flush) on an alkylsilica bonded silica gel column with the mobile phase acetonitrile/methanol/phosphate buffer 0.005 M, pH 7.2 (50:25:30). The AASP (Advanced Automated Sample Processor) allows full automatization for this determination. The total analysis time is only 10 min. The obtained reproducibility is 5.6% for clomipramine and 4% for demethylclomipramine while the detection limit (10  $\mu\text{g}/\text{l}$ ) is lower than the therapeutic concentrations of these antidepressants (and

metabolites) in plasma. The correlation with the classical (but tedious) method involving liquid-liquid extraction is excellent. — *J. Liquid Chromatogr.* **11**, 1087–1106 (1988). *Lab. Chim. Anal. Ecole Super., Phys. Chim., Paris (F)*

**HRGC assay of antihistaminic drugs in plasma samples using a nitrogen-phosphorus detector.** C. Giachetti, P. Poletti and G. Zanola.

13 Antihistaminogen, nämlich Mepyramin, Tripelenamin, Diphenylhydramin, Carbinoxamin, Cyclizin, Meclizin, Cinnarizin, Flunarizin, Pheniramin, Cl-Pheniramin, Br-Pheniramin, Promethazin und Mianserin, werden durch GC mit einem N-P-Detektor bestimmt. *Arbeitsweise.* 1 µl Plasma, 50 µl 1N NaOH und 200 ng 7-Methylmianserin (Innenstandard) werden zweimal im Wirbelmischer mit 2,5 ml Pyridin/Trimethylchlorosilan/Hexamethyldisilazan (5:1:1) gemischt und anschließend zentrifugiert. Die organische Schicht wird abgetrennt, eingedampft und in 100 µl Hexan aufgenommen. 1 µl dieser Lösung werden in die Silica-Capillarsäule (mit einem Film von CP-Sil 5 und NPD 40) eingespritzt. Trägergas He, Temperaturprogrammierung von 140–260°C. Die durchschnittliche Wiedergewinnrate ist 96,6–98,3% und die Eichkurve im Bereich 5–250 ng/ml linear. — *J. High Resolut. Chromatogr.* **11**, 525–527 (1988). *Biochem. Res. Inst., RBM, Ivrea/Turin (I)* J. Eliassaf

**Screening procedure for the detection of alkanolamine antihistamines and their metabolites in urine using computerized gas chromatography-mass spectrometry.** H. Maurer and K. Pflieger.

A GC/MS screening procedure for the detection of the following alkanolamine antihistamines and their metabolites in urine after acid hydrolysis and acetylation is described: bencyclane, carbinoxamine, chlorbenzoxamine, chlorphenoxamine, clemastine, diphenhydramine, diphenylpyraline, doxylamine, mecloxamine, medrylamine, orphenadrine and phenyltoloxamine. The acetylated extract was analysed by computerized GC/MS. An on-line computer allows rapid detection using ion chromatography with the ions *m/z* 58, 139, 165, 167, 179, 182, 218 and 260. Possible interference with related compounds that yield the same hydrolysis products or metabolites are discussed. The ion chromatograms, reference mass spectra and GC retention indices (OV-101) are documented. The procedure presented is integrated in a general screening procedure (general unknown analysis) for several groups of drugs. — *J. Chromatogr.* **428**, 43–60 (1988). *Inst. Pharmakol. Toxikol., Univ., Homburg/Saar (D)*

**4-Bromomethyl-6,7-dimethoxycoumarin (Br-MDMC) as a fluorescence reagent for precolumn derivatization of 5-fluorouracil compounds in high-performance liquid chromatography.** S. Yoshida, T. Adachi and S. Hirose.

Das neue Derivatisierungsverfahren unter Verwendung von Br-MDMC wird zur Derivatisierung von 5-Fluorouracil-Verbindungen und deren fluorimetrischem Nachweis nach HPLC-Trennung eingesetzt. Dazu werden Humanserumproben über eine DEAE-Cellulofine AM-Säule gegeben, die mit 0,001 M HCl eluiert wird. Das kondensierte Eluat wird in Ethylacetat extrahiert, der Überstand eingedampft, in wasserfreiem Aceton aufgenommen und mit Br-MDCM (750 µg/ml), 18-Krone-6-Lösung (250 µg/ml in Aceton) und wasserfreiem K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> durch 15 min Erhitzen auf 70°C derivatisiert. Die MDMC-Derivate werden auf einer Reversed-Phase C<sub>18</sub>-Säule mit Methanol/Wasser (60:40) als mobiler Phase chromatographiert. Der spektralphotometrische Nachweis kann bei 340/420 nm durchgeführt werden. Die MDMC-Derivate sind mehrere Wochen im Reaktionsgemisch stabil. Konzentrationen bis hinunter zu 0,1 µg/ml 5-Fluoro-2'-desoxyuridin, 0,06 µg/ml 5-Fluorouracil und 0,006 µg/ml 1-(Tetrahydro-2-furyl)-5-fluorouracil können mit diesem Verfahren nachgewiesen werden. Die Eichkurven sind von der Nachweisgrenze bis hinauf zu 10 µg/ml für alle Verbindungen linear. — *J. Chromatogr.* **430**, 156–162 (1988). *Kyoto Pharm. Univ., Yamashina-ku, Kyoto (J)* R.H.S.

**Bioanalysis of fluorouracil applying liquid chromatography and valve switching.** U.R. Tjaden, H. Lingeman, H.J.E.M. Reeuwijk, E.A. de Bruijn, H.J. Keizer and J. van der Greef.

Fluorouracil has been analyzed with a reversed-phase ion-pair liquid chromatographic system applying PRP-1 as the stationary phase. A valve switching technique was applied for the separation of the analyte and some other chemotherapeutic agents. The described procedure gives

a rapid screening for the analyte in urine and plasma samples without interferences from late eluting solutes. Biological samples are pretreated by means of a liquid-liquid extraction resulting in a recovery of about 52% for plasma and urine with minimum detectable amounts of about 5 ng/ml. The sensitivity and the selectivity of the procedure allows the monitoring of fluorouracil in body fluids and subsequent pharmacokinetic studies of the fluoropyrimidine. — *Chromatographia* **25**, 806–810 (1988). *Div. Anal. Chem., Cent. Bio-Pharmac. Sci., Univ., Leiden (NL)*

**Development of an assay for the estimation of N<sup>10</sup>-propargyl-5,8-dideazafoolic acid polyglutamates in tumor cells.** E. Sikora, D.R. Newell, A.L. Jackman, A.J. Simmonds, T.R. Jones and A.H. Calvert.

A method is described herein for the isolation and quantitation of polyglutamates of the thymidylate synthase (TS) inhibitor N<sup>10</sup>-propargyl-5,8-dideazafoolic acid (CB3717) in tumor cells exposed to the drug *in vitro*. Cells were incubated with 50 µM <sup>3</sup>H-CB3717 for 12 h and then disrupted by sonication. CB3717 and its polyglutamates were extracted by boiling in 0.01 M Tris-HCl pH 10. The extract was concentrated by lyophilization and analyzed by reverse phase HPLC (10 × 0.46 cm Polygosil 5 µm C<sub>18</sub> column) using linear gradient elution (5–16% acetonitrile in 0.1 M sodium acetate, pH 5, over 15 min, 2 ml/min). Recovery of radioactivity at each stage of the method was >70%. CB3717 and its polyglutamates were identified by co-chromatography with synthetic standards and by inhibition of partially purified TS. Quantitation was by means of radiochemical analysis. — *Anal. Biochem.* **172**, 344–355 (1988). *Drug Develop. Sect., Inst. Cancer Res., Sutton, Surrey (GB)*

**Optimisation of a reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the determination of flavone acetic acid and its major human metabolites in plasma and urine.** J. Cummings, D.J. Kerr, S.B. Kaye and J.F. Smyth.

A HPLC method for the determination of flavone acetic acid (FAA) and its major human metabolites in plasma and urine is described. Two factors were identified as being the key to resolving the metabolites; pH and buffer ionic strength. Run at optimal conditions of 10 mM ammonium acetate, pH 5.5/propan-2-ol (80:20) and a column temperature of 40°C on a µBondapak C<sub>18</sub> 10 µm particle column (30 cm × 3.8 mm I.D.), two major metabolites were identified [FAA, retention time (*t<sub>R</sub>*) 6.02 min ± 0.5% coefficient of variation (C.V.); metabolite 1, *t<sub>R</sub>* 4.13 min ± 1.1% C.V., metabolite 2, *t<sub>R</sub>* 5.10 min ± 0.5% C.V. and hesperidin, internal standard, *t<sub>R</sub>* 4.69 min ± 1.6% C.V.]. A solid-phase technique using Bond Elut C<sub>2</sub> 40-µm particles is described which extracts FAA, metabolites and internal standard with efficiencies in excess of 90%. — *J. Chromatogr.* **431**, 77–85 (1988). *Imp. Cancer Res. Fund, Western Gen. Hosp., Edinburgh, Scotland (GB)*

**Ion-pair liquid chromatographic determination of some penicillins in canine and equine sera.** K. Tyczkowska and A.L. Aronson.

A sensitive LC method was developed for determining oxacillin, cloxacillin, and dicloxacillin (simultaneously), and penicillin G, amoxicillin, carbenicillin, and ticarcillin in canine and/or equine serum. The method involves filtering diluted serum through a 30000 molecular weight cut-off filter and separating penicillins from other serum components by ion-pair LC using a reverse-phase column eluted with acetonitrile-water solutions. The UV absorbance of the column effluent was monitored at 230 nm. Recoveries of oxacillin, cloxacillin, dicloxacillin, and penicillin G (spiked at 2.5 µg/ml), amoxicillin (spiked at 5 µg/ml), and carbenicillin and ticarcillin (spiked at 10 µg/ml) from canine and equine serums ranged from 78.3 to 104.4% with coefficients of variation ranging from 3.35 to 5.95%. The limit of detection for these penicillins was 0.02–0.05 µg/ml. — *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71**, 773–775 (1988). *College Veterin. Med., Clin. Pharmacol. Lab., State Univ., Raleigh, NC (USA)*

**One step assay for serum chloramphenicol by HPLC.** D.F. Davidson.

Zur HPLC-Bestimmung von Chloramphenicol in Blut werden 200 µl Serum mit 1.0 ml Lösung des Innenstandards (Mephesisin, 30 mg/l MeOH) gemischt und anschließend zentrifugiert. 25 µl Überstand werden in die Säule C 18 5 µm Radial-Pak™ Patrone) eingespritzt. UV-

Detektion bei 278 nm. Das Verhältnis Peakhöhe + Konzentration war bis mindestens 50 mg/l linear und die Wiederfindungsrate 96.5–101.25%. Die Genauigkeit war 2.9%. – *J. Liquid Chromatogr.* **11**, 1139–1142 (1988). Biochem. Dept., Crosshouse Hosp., Kilmarnock, Scotland (GB) J. Eliassaf

**Microbore liquid chromatography for pediatric and neonatal therapeutic drug monitoring and toxicology: Clinical analysis of chloramphenicol.** S.H.-Y. Wong, B. Cudny, O. Aziz, N. Marzouk and S.R. Sheehan.

Microbore LC of chloramphenicol was developed, using 5 µl samples and a C-18, 20% carbon load column. For protein precipitation, serum samples were mixed with 20 µl of methanolic internal standard solutions. After centrifugation, 0.5 µl aliquots were injected for analysis. Two procedures were evaluated: Procedure A: column C-18, 3 µm, carbon load of 10%, mobile phase acetate/acetonitrile/tetrahydrofuran (85:15:1.5), flow rate 80 µl/min, temperature 50°C; procedure B: column C-18, 5 µm, carbon load of 20%, mobile phase acetate/acetonitrile (8:2), and flow rate 60 µl/min. Procedure B was chosen for clinical efficacy study. The retention volumes of chloramphenicol and internal standard were 360 and 840 µl respectively. Calibration curve was linear between 3 to 40 mg/l. And day-to-day coefficient of variation was 6.8%. – *J. Liquid Chromatogr.* **11**, 1143–1158 (1988). Drug Anal. Div., Dept. Lab. Med., Univ. Connecticut School Med., Farmington, CT (USA)

**Determination of clindamycin in plasma or serum by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection.** G. La Follette, J. Gambertoglio, J.A. White, D.W. Knuth and E.T. Lin.

Ein schnelles, einfaches, empfindliches HPLC-Verfahren zur Bestimmung des Antibiotikums Clindamycin in Humanplasma oder Serum, bei welchem die endogenen Verbindungen abgetrennt werden, wird beschrieben. Dazu werden die Proteine aus einer 200 µl-Probe mit Acetonitril, welches Triazolam als internen Standard enthält, abzentrifugiert. Der Überstand wird unter Stickstoff eingedampft und dann ohne Extraktionsschritt direkt auf einer Octadecylsilan-Säule mit Acetonitril/Wasser/Phosphorsäure/7,6 mM Tetramethylammoniumchlorid (30:70:0.2:0.075) (pH 6,7) als mobiler Phase und UV-Detektion bei 198 nm analysiert. Unter den beschriebenen Bedingungen werden keine Störungen durch endogene Verbindungen beobachtet. Die Wiederfindungsrate liegt bei 96–118%. – *J. Chromatogr.* **431**, 379–388 (1988). Div. Clin. Pharm., Univ. Calif., San Francisco, CA (USA) R.H.S.

**Method for the determination of ofloxacin, a quinolone carboxylic acid antimicrobial, by high-performance liquid chromatography.** L.J. Notariani and R.W. Jones.

Das antimikrobisch wirkende Ofloxacin kann aus Plasmaproben nach Zusatz von Phosphatpuffer, internem Standard (Flufenaminsäure) in Phosphatpuffer (pH 7) und Chloroform extrahiert werden. Urinproben werden nur mit Acetonitril deproteinisiert und durch HPLC analysiert. Bei den Plasmaproben werden die Rückstände der Chloroformextraktion mit Phosphatpuffer (pH 7) auf einer Hypersil ODS 5 µm-Säule mit Acetonitril/0,04 M Phosphorsäure (45:55) (pH 2.56–2.59) chromatographiert. Bei Plasmaproben wird fluorimetrisch bei 370/400–700 nm und bei Urinproben, wo nicht eine so große Empfindlichkeit erreicht werden muß, UV-spektrometrisch bei 254 nm nachgewiesen. Im Bereich von 10–5000 mg/l erhält man für UV-Nachweis und von 2,5–1000 ng/ml für fluorimetrischen Nachweis lineare Eichkurven. Mit UV-Nachweis wird eine unter Nachweisgrenze von 1000 ng/ml und bei fluorimetrischem Nachweis von 2,5 ng/ml erreicht. – *J. Chromatogr.* **431**, 461–464 (1988). School Pharm. Pharmacol., Univ. Bath (GB) R.H.S.

**High-performance liquid chromatographic determination of a new β-lactamase inhibitor and its metabolite in combination therapy with piperacillin in biological materials.** T. Marunaka, M. Maniwa, E. Matsushima and Y. Minami.

[2S-(2α,3β,5α)]-3-Methyl-7-oxo-3-(1H-1,2,3-triazol-1-yl-methyl)-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]-heptane-2-carboxylic acid 4,4-dioxide (YTR-830H) is a new β-lactamase inhibitor and the combination therapy of this compound with piperacillin is now under study. For the determination of

the β-lactamase inhibitor and piperacillin in biological materials, plasma and visceral tissue homogenates were deproteinized, whereas diluted urine and filtered faeces homogenates were treated with a Sep-Pak C<sub>18</sub> cartridge. In order to assay the inactive metabolite of β-lactamase inhibitor, each sample was treated with a Sep-Pak C<sub>18</sub>-cartridge. Aliquots of each preparation were chromatographed using ion-pair and reversed-phase chromatographic techniques using UV detector, set at 220 nm. The detection limits of β-lactamase inhibitor and piperacillin were 0.2 µg/ml in plasma, 2.5–5.0 µg/ml in urine and 0.2–0.5 µg/g in visceral tissue and faeces. Those of the metabolite were 1.0 µg/ml in plasma, 2.5–5.0 µg/ml in urine and 1.0 µg/g in visceral tissue and faeces. A precise and sensitive assay for the determination of the β-lactamase inhibitor, its metabolite and piperacillin is described, and their stabilities in several media are reported. – *J. Chromatogr.* **431**, 87–101 (1988). Biol. Res. Lab., Taiho Pharm. Co., Ltd., Hiraishi, Kawachi-cho, Tokushima (J)

**Determination of dantrolene and its reduced and oxidized metabolites in plasma by high-performance liquid chromatography.** M. Lalande, P. Mills and R.G. Peterson.

Das als Muskelrelaxans eingesetzte Dantrolen, Natriumsalz von 1-[5-(p-Nitrophenyl)furfurylideno]hydantoin, kann aus kleinen Plasmaproben (50 µl) mit einer Empfindlichkeit von 1,0 µg/ml mit einem HPLC-Verfahren bestimmt werden. Dazu wird die Plasmaprobe mit Methyl-dantrolen (Synthese ist beschrieben) in Acetonitril als internem Standard versetzt. Nach Zentrifugation wird der Überstand direkt auf eine Lichrosorb RP-18-Säule injiziert. Als mobile Phase wird Acetonitril/20 mM Glycin (35:45 (pH 3,6) eingesetzt. Der Nachweis erfolgt bei 375 nm. Im Bereich von 1–10 µg/ml erhält man eine lineare Eichkurve. Die Wiederfindungsraten liegen zwischen 106 und 121%. – *J. Chromatogr.* **430**, 187–191 (1988). Ontario Reg. Poison Inf. Centre, Children's Hosp., Eastern Ontario, Ottawa, Ont. (CDN) R.H.S.

**Fluorometric determination of biguanides in serum by high-performance liquid chromatography with reagent-containing mobile phase.** Y. Kobayashi, H. Kubo, T. Kinoshita and T. Nishikawa.

Ein einfaches post-column Derivatisierungsverfahren für die fluorimetrische Bestimmung von Biguaniden (Buformin und Phenformin) in Serum nach HPLC-Trennung wird beschrieben. Dazu werden die Proteine aus den Serumproben mit 4% HClO<sub>4</sub> gefällt und der Überstand direkt auf eine Radial-Pak µBondapak C<sub>18</sub> Kartusche (10 µm, 10 cm × 8 mm) injiziert. Die mobile Phase besteht aus 5 mM Natriumhexansulfonat in Wasser/Acetonitril (80:20 für Buformin und 75:25) für Phenformin, welcher 2 mM 9,10-Phenanthrenchinon-sulfonat als fluorogenes Reagens zugesetzt wird. Nach der Trennung wird 0,3 M NaOH zugefügt und nach Derivatisierung bei 70°C fluorimetrisch bei 300/500 nm nachgewiesen. Die Nachweisgrenze des Verfahrens liegt für beide Verbindungen bei 20 ng/ml. Im Konzentrationsbereich von 0,6 µg/ml erhält man Variationskoeffizienten von um 2,5%. Eine vollständige Analyse einschließlich der Probenvorbereitungszeit dauert weniger als 15 min. – *J. Chromatogr.* **430**, 65–71 (1988). School Pharm. Sci., Kitasato Univ., Minato-ku, Tokyo (J) R.H.S.

**Improved high-performance liquid chromatographic method for the determination of quinine in plasma.** K. Rauch, J. Ray and G. Graham.

Ein verbessertes HPLC-Verfahren zur Trennung von Chinin und seinen wichtigsten Metaboliten und endogenen Verbindungen in Plasmaproben wird beschrieben. Dazu werden die Plasmaproben mit Acetonitril deproteinisiert und der Überstand des Zentrifugats direkt auf eine 5 µm Nitril-Säule gegeben, die mit Acetonitril/Methanol/Phosphatpuffer (6:2:2) (pH 3,7) als mobiler Phase eluiert wird. Der Nachweis wird fluorimetrisch bei 350/450 nm durchgeführt. Im Bereich von 0,1–5,0 µg/ml erhält man lineare Eichkurven mit Korrelationskoeffizienten unter 0,998. Die Variationskoeffizienten lagen in allen Konzentrationsbereichen unter 10%, die Empfindlichkeit liegt bei 50 ng/ml Plasma und die Extraktionsausbeute bei 99,8 ± 2,7%. – *J. Chromatogr.* **430**, 170–174 (1988). Dept. Clin. Pharmacol. Toxicol., St. Vincent's Hosp., Darlinghurst, N.S.W. (AUS) R.H.S.

**Specific determination of dihydroquinidine and its major metabolites in biological fluids by high-performance liquid chromatography.** G. Replandy, A. Roux, I. Dupas, C. Viel, M. Plat, B. Flouvat.

A specific assay have been developed for the determination of dihydroquinidine (DHQ) and its major metabolites: 11-hydroxydihydroquinidine (11-OH DHQ), 3(S)3-hydroxydihydroquinidine (3-OH DHQ), dihydroquinidine 1-N-oxide (DHQ N-oxide) in human urine and plasma. The assay uses a RP-HPLC system with fluorescence detection; the mobile phase consists of acetonitrile/acetic acid/water (7:4:89). After adding internal standard, biological samples (0.5 ml) are extracted at alkaline pH by methylene chloride/isopropanol (8:2). The organic extract is dehydrated and evaporated, the residue dissolved in 150 µl mobile phase and an aliquot injected onto the column. Lower limits of sensitivity range from 1 ng of 11-OH DHQ to 15 ng of DHQ. The standard curves are linear and results are reproducible over the concentration ranges: DHQ 0.1 to 3 µg/ml, 11-OH DHQ 2.5 to 250 ng/ml, 3-OH DHQ 10 to 1000 ng/ml and DHQ N-oxide 5 to 500 ng/ml. The assays have been tested successfully in pharmacokinetic and metabolic studies of dihydroquinidine. — *J. Liquid Chromatogr.* **11**, 1495–1511 (1988). Dept. Pharmacol. Clin., Lab. Toxicol. Pharmacoc., Hôp. AMBROISE PARE, Boulogne (F)

**HPLC with polarographic detection of artemisinin and its derivatives and application of the method to the pharmacokinetic study of artemether.** Zhou Zhongming, Huang Xuexian, Xie Guanghua, Sun Xiaomiao, Wang Yanli, Fu Linchung, Jian Huaxing, Guo Xingbou and Li Guoqiao.

Eine HPLC-Methode zur Bestimmung des Antimalariamittels Artemisinin und seiner Derivate, Dihydroartemesinin, Artemether und Artesunat, mit polarographischer Detektion wurde ausgearbeitet. 1.0 ml Plasma werden mit 2,5 ml Ethylacetat 1 min gemischt und 10 min zentrifugiert. Die organische Phase wird abgetrennt, eingedampft und in 0,3 ml MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1) aufgenommen und ein Aliquot in die Säule eingespritzt. Diese ist eine Nirostasäule, mit YWG-C<sub>18</sub>H<sub>37</sub> (10 µm) gepackt. Die mobile Phase ist MeOH/0,02 M Ammoniumsulfat (75:25), welche sauerstofffrei gemacht wurde. Ein PAR 310 model polarographischer Detektor wird benutzt. Die Standardabweichung war kleiner als 7% und die Meßkurve im Bereich 10 ng–1,6 µg linear. — *J. Liquid Chromatogr.* **11**, 1117–1137 (1988). Inst. Chinese Materia Medica, Acad. Tradit. Chinese Med., Beijing (RC) J. Eliassaf

**Determination of methanesulfonyl fluoride in blood matrix with a fluoride ion-selective electrode.** C.A. Chang, G.-C. Lin and D.E. Moss.

Methanesulfonyl fluoride (MSF) has been determined in blood matrix by measuring the fluoride ion activity with a fluoride ion-selective electrode after a quantitative transformation reaction between MSF and isopropanol in basic aqueous solution. It was found that the blood matrix did not affect the conversion of MSF into fluoride ion nor did it interfere with the detection of fluoride ion by the electrode. The detection limit is at least 0.1 ppm of MSF under normal conditions, which is adequate for clinical applications, with a therapeutic range of 0.12–10.0 ppm. — *Analyst* **113**, 1485–1486 (1988). Dept. Chem., Univ., El Paso, TX (USA)

**Utility of cyclodextrin in mobile phase for high-performance liquid chromatographic separation of cardenolides.** K. Shimada, T. Oe, C. Kanno and T. Nambara.

Durch Zusatz von  $\gamma$ -Cyclodextrin zur mobilen Phase kann die HPLC-Trennung isomerer Cardenolide verbessert werden. Es wird dazu auf einer Develosil ODS-5-Säule mit Acetonitril/Wasser-Gemischen als mobiler Phase gearbeitet. Der Einfluß der  $\gamma$ -Cyclodextrinkonzentration auf die Trennung wird untersucht. Digoxigenin, 3-Dehydrodigoxigenin und 3-Epidigoxigenin können beispielsweise gut in Acetonitril/Wasser (1:3) unter Zusatz von 1,16 mM  $\gamma$ -Cyclodextrin getrennt werden. Der Nachweis wird jeweils bei 240 nm durchgeführt. Das Verfahren wird zur Trennung von Herzglykosiden aus Pflanzenmaterial eingesetzt. — *Anal. Sci.* **4**, 377–380 (1988). Fac. Pharm. Sci., Univ. Takaramachi, Kanazawa (J) R.H.S.

**Gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of dimethylacetamide and metabolites in whole blood.** B. Lindström, P. Sjöberg and S. Floberg.

Dimethylacetamid, eine Flüssigkeit mit ausgezeichneten Lösungseigenschaften, die daher als Lösungsmittel für intravenös einzugebene pharmazeutische Wirkstoffe eingesetzt wird, kann zusammen mit seinen Metaboliten Monomethylacetamid und Acetamid in Gesamtblut mit einem GC-MS-Verfahren bestimmt werden. Dazu werden die mit dest. Wasser verdünnten Blutproben mit <sup>2</sup>H-Dimethylacetamid als internem Standard versetzt und mit Acetonitril/Ethanol (4:1) nach Sättigung der Lösung mit NaCl extrahiert. Die organische Phase wird auf einer DB Wax Capillarsäule bei 160°C analysiert. Der Nachweis erfolgt massenspektrometrisch. Die Wiederfindungsrate beträgt je nach Verbindung 70–90%. Die Nachweisgrenzen liegen zwischen 1 und 0,5 µg/ml Blut. Das Verfahren wird zur Untersuchung der Toxizität von Dimethylacetamid eingesetzt. — *J. Chromatogr.* **428**, 156–159 (1988). Dept. Drugs, Nat. Board Health, Uppsala (S) R.H.S.

**Identification of polychlorinated phenols in urine by gas and thin-layer chromatography.** M. Balíková, E. Nováková and J. Kohlíček.

Ein Verfahren durch einfache Kombination von Gaschromatographie und Dünnschichtchromatographie wird zur Identifizierung polychlorierter Phenole in Urin eingesetzt. Dazu werden Urinproben mit 5 M KOH 20 min durch Kochen hydrolysiert. Nach Ansäuern mit 6 M HCl wird mit n-Hexan extrahiert. Der alkalisch gemachte Extrakt wird mit Acetanhydrid derivatisiert. Der n-Hexanextrakt der Derivate wird gaschromatographisch auf einer Säule mit 3% SP 2250 auf Supelcoport (80–100 mesh) isotherm bei 160°C mit einem ECD analysiert. Außerdem wird der underivatisierte n-Hexanextrakt dünnenschichtchromatographisch auf Silufol-Dünnschichten in Benzol/Methanol (95:5); Petrolether/Benzol (1:1) oder n-Hexan/Aceton (3:1) getrennt. Die GC-Retentionsdaten der Acetylivate der chlorierten Phenole und die dünnschichtchromatographisch erhaltenen R<sub>f</sub>-Werte der chlorierten Phenole werden angegeben. Die Empfindlichkeit der GLC/ECD liegt bei 10<sup>-3</sup> ppm und die der TLC bei 1 ppm, was vergleichbar der der GLC/FID-Verfahren ist. Durch Kombination von GLC und TLC können unbekannte chlorierte Phenole im toxikologischen Labor identifiziert werden. — *J. Chromatogr.* **431**, 431–437 (1988). Inst. Forensic Toxicol., Med. Fac., Charles Univ. Prag (CS) R.H.S.

**Development of a simple, fluoroimmunoassay for paraquat.** R.E. Coxon, C. Rae, G. Gallacher and J. Landon.

Im Serum von Schafen wurde nach dem Verfahren von R. Fatori und W.M. Hunter (*Clin. Chim. Acta* **100**, 81 (1980)) eine hochaktive Population von Paraquat(P)-Antikörpern in hoher Konzentration präpariert. Verff. entwickelten einen einfachen Fluorimmuntest für die schnelle Messung von P in Plasma, wobei Fluorescein-markiertes P dem Testmaterial zugesetzt wird. Die Arbeit enthält die umfangreichen Vorschriften für die Durchführung der einzelnen Arbeitsgänge (Reaktionsschema und 14 Literaturhinweise im Text). — *Clin. Chim. Acta* **175**, 297–306 (1988). Dept. Chem. Pathol., St. Bartholomew's Hosp., London (GB) K. Söllner

**Detection of trace levels of thiodiglycol in blood, plasma and urine using gas chromatography-electron-capture negative-ion chemical ionisation mass spectrometry.** R.M. Black and R.W. Read.

Ein empfindliches Verfahren zur Bestimmung des als Hydrolyseprodukt des Senfgases auftretenden Thiodiglykols in Blut, Plasma und Urin von Kriegsoffizieren nach Senfgaseinsatz wird beschrieben. Dazu werden die Proben über Clin Elut-Säulen extrahiert und über C<sub>18</sub> Sep-Pak Kartuschen (Blut, Plasma) oder Florisil Sep-Pak-Kartuschen (Urin, nach enzymatischer Hydrolyse) gereinigt. Die Elution erfolgt jeweils mit Ethylacetat. Tetradeuthiothiodiglykol wird als interner Standard zugesetzt. Thiodiglykol wird in sein Bis-(pentafluorobenzoat)-Derivat durch Reaktion mit Pentafluorbenzoylchlorid in Pyridin umgewandelt und die Derivate in Toluol durch Capillarschichtchromatographie auf einer OV-1701 Capillare mit ECD/NI-CI-MS analysiert. Zur quantitativen Bestimmung dient das Peakflächenverhältnis m/z 510: m/z 514. Konzentrationen bis hinunter zu 1 ng/ml (1 ppb) Thiodiglykol können in den biologischen Flüssigkeiten nachgewiesen werden. Die Eichkurven sind von 5–100 bzw. 10–100 ng/ml linear. — *J. Chromatogr.* **449**, 261–270 (1988). Chem. Defence Establishm., Salisbury, Wiltshire (GB) R.H.S.