Journal of Chromatography, 241 (1982) 189–192
Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam — Printed in The Netherlands

CHROM. 14,394

BESTIMMUNG VON TALINOLOL MIT HOCHLEISTUNGS-FLÜSSIGKEITS-CHROMATOGRAPHIE IN HUMANPLASMA

H. PÖTTER* und M. HÜLM
Forschungsabteilung 2 des VEB Arzneimittelwerk Dresden (Leiter: Dr. Dauth), D.D.R.-8122 Radebeul (D.D.R.)
und
K. RICHTER
Institut für Klinische Pharmakologie der Medizinischen Akademie "Carl Gustav Carus" (Direktor: MR Prof. Dr. sc. med. K. Feller), Dresden (D.D.R.)

SUMMARY

Determination of talinolol in human plasma by high-performance liquid chromatography

Talinolol, DL-1-[4-(3-cyclohexyl-ureido)-phenoxy]-2-hydroxy-3-*tert.*-butylaminopropane is a selective antagonist of cardiac beta-receptors (β_1), and was the prototypic drug in this category. The oral dosage ranges from 100–300 mg/day.

The present report describes a simple and rapid method for the determination of talinolol in plasma, utilizing high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection.

EINLEITUNG

Talinolol, DL-1-[4-(3-Cyclohexyl-ureido)-phenoxy]-2-hydroxy-3-*tert.*-butylaminopropan (Fig. 1) ist ein spezifischer β_1-Rezeptorenblocker, der infolge seiner Kompetetiven und reversiblen Verdrängung der β_1-adrenergen Stimulatoren am Rezeptor eine ausgeprägte selektive Blockade am Herzen bewirkt. Talinolol (Cordanum®) wird bei chronisch-ischämischer Herzkrankheit, arterieller Hypertonie, Herzrhythmusstörungen, hyperkinetischen Herzsyndrom sowie hypertrophischer, obstruktiver Kardiomyopathie eingesetzt. Die orale Dosis liegt zwischen 100–300 mg/Tag. Für pharmakokinetische Untersuchungen wurde eine Methode zur quantitativen Bestimmung von Talinolol in Humanserum gesucht. Auf Grund der grossen Selektivität und Empfindlichkeit schien uns für diesen Zweck die Hochleistungs-

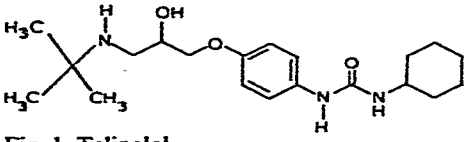


Fig. 1. Talinolol.

0021-9673/82/0000–0000/$02.75 © 1982 Elsevier Scientific Publishing Company

Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) besonders geeignet zu sein. Gaschromatographische Methoden, die zum Nachweis von Practolol eingesetzt wurden[1–3] sowie eine zur Bestimmung von Practolol beschriebene HPLC-Methode[4] eignen sich nicht zum Nachweis von Talinolol in Serum.

DURCHFÜHRUNG DER VERSUCHE

Die Versuche wurden mit dem Flüssigkeits-Chromatograph 3 der Fa. Pye Unicam durchgeführt. Die Trennung erfolgte an LiChrosorb Si 60-Säulen (250 mm × 4.6 mm I.D.) Merck, Partikelgrösse 5 μm. Als mobile Phase diente *n*-Heptan–Methanol–Dichlormethan–Wasser–Perchlorsäure unterschiedlicher Zusammensetzung. Die Fliessgeschwindigkeit betrug 1.5 ml/min. Die Detektion erfolgte bei 245 nm. Ausserdem wurden LiChrosorb RP-18-Säulen (250 mm × 4.6 mm I.D.) Merck, Partikelgrösse 10 μm, eingesetzt. Als mobile Phase diente Acetonitril–Wasser–Perchlorsäure unterschiedlicher Zusammensetzung. Die Fliessgeschwindigkeit betrug 1.5 ml/min. Die Detektion erfolgte gleichfalls bei 245 nm.

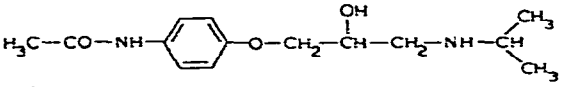
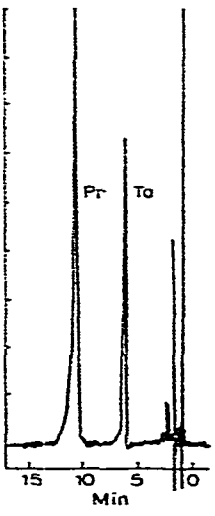
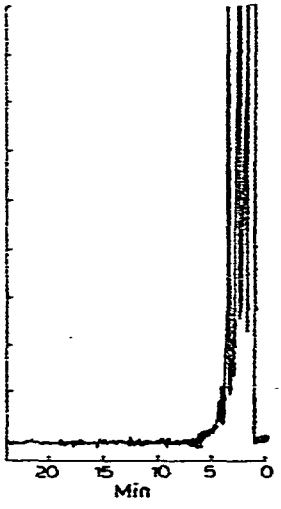


Fig. 2. Practolol.

Die Extraktion des Wirkstoffes aus dem Humanserum wurde wie nachstehend beschrieben vorgenommen: 1 ml Serum wird mit 0.5 ml Wasser und 1000 ng 4-(2-Hydroxy-3-isopropylaminopropoxy)-acetanilid (Practolol) (Fig. 2) als innerer Standard versetzt und zweimal mit je 4 ml Äthylacetat extrahiert. Die vereinten Extrakte werden im Luftstrom zur Trockne eingeengt und der Rückstand in der mobilen Phase gelöst. Zur Ermittlung der Empfindlichkeit und der Wiederfindungsrate werden Konzentrationsreihen von Talinolol im Bereich von 20–200 ng/ml in mobiler





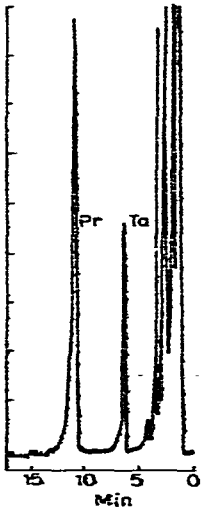


Fig. 3. HPLC-Chromatogramm von Talinolol (Ta) und Practolol (Pr).

Fig. 4. HPLC-Chromatogramm von Kontrollserum.

Fig. 5. HPLC-Chromatogramm von Talinolol (Ta) und Practolol (Pr) aus Humanserum extrahiert.

Phase und nach Extraktion aus Humanserum bestimmt. Für die Methode wurde die Standardabweichung ermittelt.

ERGEBNISSE

Im Serumextrakt vorhandene Verunreinigungen lassen sich auf LiChrosorb Si 60-Säulen mit *n*-Heptan–Methanol–Dichlormethan–Wasser–Perchlorsäure (60:30:10:0.1:0.02) als mobile Phase bei einer Fliessgeschwindigkeit von 1.5 ml/min von Talinolol und Practolol abtrennen (Figs. 3–5). Die Injektion erfolgt über eine 20 µl Dosierschleife. Die Retentionszeit beträgt für Talinolol etwa 6 min und für Practolol 10 min. Bei der Reversed-Phase-Chromatographie treten Störungen durch Verunreinigungen des Serums auf. Die Eichkurve von Talinolol und aus Serum extrahier-

Fig. 6. Eichkurven von Talinolol (○) und Talinolol aus Serum extrahiert (●).

TABELLE I

STANDARDABWEICHUNG BEI DER BESTIMMUNG VON TALINOLOL AUS HUMANPLASMA

Vergeben 202 ng.

N	*Talinolol (ng/ml)*	*Talinol aus Serum extrahiert (ng/ml)*
1	200	222
2	195	200
3	199	188
4	222	199
5	200	193
6	199	218
7	199	198
8	203	206
9	211	211
10	205	182
$\bar{x}$	203.3	201.7
n	10	10
S.D.	7.87	12.73
C.V. (%)	3.9	6.3

tem Talinolol sind im Bereich von 20–200 ng/ml linear. Die Nachweisgrenze liegt bei 10 ng/ml (Fig. 6). Bei der Extraktion werden 100% des Talinolol wiedergefunden. Die Standardabweichung beträgt ± 6.3% (Tabelle I). Die beschriebene Methode eignet sich, bedingt durch ihre einfache Probenvorbereitung und schnelle Elution, für Serienanalysen. Sie kann im Rahmen pharmakokinetischer Untersuchungen sehr gut zur Bestimmung von Talinolol in Humanserum eingesetzt werden.

LITERATUR

1 B. Scales und M. B. Cosgrave, *J. Pharmacol Exp. Ther.*, 175 (1970) 338.
2 T. Walle, *J. Pharm. Sci.*, 63 (1974) 1885.
3 J. P. Desager und C. Harvengt, *J. Pharm. Pharmacol.*, 27 (1975) 52.
4 M. J. Cooper und B. L. Mirkin, *J. Chromatogr.*, 163 (1979) 244.