

TERAPEUTICKÉ MONITOROVÁNÍ LÉKŮ POMOCÍ ELEKTROMIGRAČNÍCH METOD

Lucie Pavlíková^{1,3}, Hana Brozmanová¹, František Kvasnička², Milan Grundmann^{1,3}

¹Ústav klinické farmakologie FN Ostrava a Zdravotně sociální fakulta Ostravské Univerzity, Ostrava

²Ústav konzervace potravin a technologie masa, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

³Farmakologický ústav LF UP, Olomouc

V práci jsou popsány elektromigrační metody, které se dají využít v terapeutickém monitorování léků (TDM). Protože se stanovení léků provádí v biologickém materiálu, jsou rovněž uvedeny metody, které se používají na přípravu vzorků, jako je extrakce na pevné fázi nebo extrakce z kapaliny do kapaliny. U některých stanovení lze využít i přímý nástřik vzorku, což je jedna z výhod elektromigračních metod oproti některým analytickým separačním metodám např. chromatografickým. Tento přehled uvádí princip kapilární elektroforézy a jejich jednotlivých módů a příklady stanovení léčiv v biologickém materiálu.

Klíčová slova: TDM, kapilární elektroforéza, kapilární zónová elektroforéza, nevodná kapilární zónová elektroforéza, micelární elektrokinetická kapilární chromatografie, kapilární elektrochromatografie, izotachoforéza.

THERAPEUTIC DRUG MONITORING BY MEANS OF ELECTROPHORESIS METHODS

The review of the electrophoresis methods for the therapeutic drug monitoring (TDM) is presented. In clinical analysis, usually the drugs must be analyzed in a complex matrix. For this reason, attention will be paid to sample pretreatment procedures used for TDM since it is a critical step in the analysis of biological samples. The method used for the preparation of sample solid-phase extraction or liquid-liquid extraction. For some determinations direct sample injection can be used, which is one of advantages of electrophoresis methods compared with some others separative analytical methods (chromatographic). This overview describes the principle of the capillary electrophoresis and their particular modes. The determinations of some drugs in the biological materials are presented.

Key words: TDM, capillary electrophoresis, capillary zone electrophoresis, non-aqueous capillary electrophoresis, micellar electrokinetic capillary chromatography, elektrokinetická kapilární chromatografie, isotachopheresis.

Klin Farmakol Farm 2007; 21(2): 79–83

Úvod

Terapeutické monitorování léků (TDM) slouží ke kontrolování účinků podaných léků. Kontrolním ukazatelem bývá terapeutický nebo farmakodynamický efekt tam, kde je to možné. V případě obtížné měřitelnosti účinku léčiv se používá stanovení hladin léčiv v krvi, plazmě, nebo v séru. U těchto léčiv musí být prokázána závislost účinku na koncentraci v krvi (plazmě, séru). Tyto látky mají obvykle úzké terapeutické rozmezí, jako např. antiepileptika, digoxin, vankomycin a aminoglykosidová antibiotika. TDM má tři rovnocenné součásti: analytiku, interpretaci naměřených hladin a akceptaci poslaných doporučení klinikem (1). Mezi nejvíce používané analytické metody patří metody chromatografické. Používá se především vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), dále tenkovrstevná chromatografie (TLC) a plynová chromatografie (GLC). Předností HPLC metody je její vysoká dělicí schopnost, rychlost analýzy, možnost automatické detekce, identifikace a kvantitativního vyhodnocení. Umožňuje dělit termolabilní a polární látky. Nevýhodou je drahé přístrojové vybavení. Metoda GLC je také přesná, citlivá a rychlá. K analýze se mohou použít malé objemy vzorku, látka však musí být termostabilní, jinak se musí před stanovením derivatizovat. Podobně jako HPLC využívá GLC také automatickou detekci, identifikaci a kvantitativní vyhodnocení. Mezi

předností TLC metody patří rychlost, možnost použít drastická činidla při detekci a nenáročnost na přístrojové vybavení. Nevýhodou je obtížná standardizace podmínek dělení, a proto je nutné analyzovat současně standardní roztoky a provádět kalibraci zvlášť pro každou desku. Tato metoda se využívá především v toxikologii. Mezi další metody na stanovení léčiv patří metody imunoanalytické. Imunoanalytické metody jsou jednoduché, rychlé a citlivé a dají se snadno automatizovat. Mezi nevýhody patří nemožnost stanovení metabolitů a nákladnost stanovení (2).

V současné době se v analýze léčiv začínají uplatňovat i elektromigrační separační metody. Mezi předností těchto metod patří vysoká separační účinnost, nízká spotřeba vzorku i chemikálií (minimálně 10x nižší než pro kapalinovou chromatografii), což v konečném důsledku znamená velmi nízké zatížení životního prostředí a snížení nákladů na analýzu. Elektromigrační či elektroforetické metody jsou techniky, které využívají pohyb ionizovaných částic v elektrickém poli a lze je použít pro separaci nízkomolekulárních i vysokomolekulárních látek. Mezi elektromigrační separační metody patří kapilární elektroforéza (CE) a její ostatní módy, tj. kapilární zónová elektroforéza (CZE), micelární elektrokinetická kapilární chromatografie (MECC), kapilární elektrochromatografie (CEC), izotachoforéza (ITP), kapilární isoelektrická fo-

kuzace (CIEF) a kapilární gelová elektroforéza (CGE) (3).

Kapilární elektroforéza

Princip metody

CE využívá k dělení látek kapiláru naplněnou základním elektrolytem, který vede proud. Separace je založena na odlišnosti elektroforetických mobilit iontů v elektrickém poli. Kapilára prochází detektorem a zaznamenává se závislost odezvy detektoru na čase. Tento záznam se nazývá elektroforeogram. Poloha píků určuje kvalitu a plocha nebo výška píků kvantitu analyzované látky (3). CE je výkonná separační technika, která má vysoké rozlišení a kratší separační čas než HPLC. CE má vysokou selektivitu, jednoduché provedení a malou spotřebu vzorku. Mezi další výhody CE patří nízké provozní náklady a možnost automatizace. Mohou se stanovovat látky, které jsou termálně nestabilní nebo jsou netěkavé, bez nutnosti derivatizace analytů. Data získaná CE mohou být použita jako doplňující informace k retenčním datům HPLC, aby se získal spolehlivější důkaz o identitě látek (4).

Aplikace CE nacházejí uplatnění především v biochemii, farmácii, v analýze životního prostředí a v analýze potravin. Terapeutické monitorování hladin léčiv ještě donedávna nebylo typickou aplikační oblastí CE, nicméně v poslední době lze i v této

oblasti sledovat nárůst publikací (8, 11, 12, 15–19, 23–34, 37, 38, 40, 41).

Detektory v kapilární elektroforéze

V CE se nejčastěji používá jednoduchá UV-VIS detekce, i když má nejnižší citlivost. Citlivější jsou např. elektrochemické a laserem indukované fluorescenční (LIF) detektory, které jsou ale omezeny jen na určitý okruh látek. Naopak hmotnostní detektor (MS) je univerzální ale nákladný a jeho kombinace CE-MS je stále ještě na experimentální úrovni. Hlavním problémem je delší čas analýzy a především nedostatek vhodných těkavých pufovacích systémů. Dlouhý čas analýzy je následkem delší kapiláry, která je nutná ve spojení s MS. Tento problém ruší hlavní výhody CE, tedy její rychlost. Dalším problémem je nedostatek vhodných těkavých separačních pufrů slučitelných s MS. Mnoho elektrolytů používaných v CE s UV detekcí jsou pufrы anorganické a netěkavé povahy. Pro separaci v CE jsou výborné, ale jsou nevýhodné pro spojení CE-MS. Na druhou stranu těkavé elektrolyty jsou pro CE nevhodné kvůli jejich horší účinnosti a selektivitě (5, 6, 7, 8, 10). Elektrochemiluminiscence (ECL) je citlivá detekční metoda s dobrou selektivitou, širokým lineárním rozmezím a jednoduchým a levným zařízením (11). Bezkontaktní vodivostní detekce má také velkou citlivost, což je vhodné hlavně pro malé ionty, které se stanovují nepřímou detekcí (12). Na obrázku 1. je uveden izotachoforeogram septonexu stanoveného v lékovém přípravku Mukoseptonexu stanoveného pomocí vodivostní detekce.

Příprava vzorku pro analýzu

Analýza léčiv v tělních tekutinách přináší mnoho problémů, které jsou běžné pro všechny analytické separační techniky. Příčinou je přítomnost velkého množství různých sloučenin v organické matrici, které vedou k interferenci matrice s analytem a obtížnosti detekce nízkých koncentrací. Proto se provádí úprava vzorku před vlastní analýzou. Běžné postupy přípravy vzorku zahrnují precipitaci proteinů, extrakci na pevné fázi (SPE) nebo extrakci z kapaliny do kapaliny (LLE) (13). Zakoncentrování je dosaženo pomocí odpaření organického rozpouštědla a rekonstituce vzorku v malém objemu. K precipitaci proteinů jsou používány běžná organická rozpouštědla, jako je např. acetonitril nebo methanol. Jako optimální se používá organické činidlo a vzorek v objemovém poměru 1,5:1 (14).

K dělení se často využívá křemenná kapilára. Jako elektrolyty se používají pufrы, jejichž pH je blízké pKa analyzovaných látek. Analýza aniontů v CE vyžaduje v důsledku migrace k anodické straně zpětný přímý elektroosmotický tok v kapiláře (12).

Příkladem může být stanovení některých anti-epileptik, benzodiazepinů a některých psychotrop-

ních léků v biologických tekutinách (8, 11, 12, 15). Jednotlivé metody jsou uvedeny v tabulce 1.

Kapilární zónová elektroforéza

Kapilární zónová elektroforéza (CZE) je kapilární elektroforéza ve vodném roztoku a doplňuje CE. Rozpuštěné složky disociují v závislosti na pH základního elektrolytu. Ionty disociovaných složek jsou separovány v důsledku rozdílných poměrů náboje ku hmotnosti (3).

Pomocí CZE lze stanovit v plazmě nebo v séru např. antiepileptika nebo některé nesteroidní protizánětlivé léky (16, 17). Příklady jednotlivých stanovení jsou popsány v tabulce 1.

Nevodná kapilární zónová elektroforéza

CZE v organických rozpouštědlech, tzv. nevodná CZE (NACE) umožňuje separaci sloučenin, které se nedělí ve vodném prostředí. Zaměřuje se především na ty sloučeniny, které jsou nerozpustné nebo jen špatně rozpustné ve vodě, čímž se rozšiřuje pole působnosti CZE. Jako rozpouštědlo se často využívá methanol. NACE je velmi vhodná pro spojení s MS. Nevodné prostředí má nízké povrchové napětí a vysokou těkavost a zajišťuje stabilní rozprašování při ionizaci elektrosprejem. Snadné odpaření organického rozpouštědla umožňuje nízký průtok sušícího plynu, zvyšující množství iontů v MS (18).

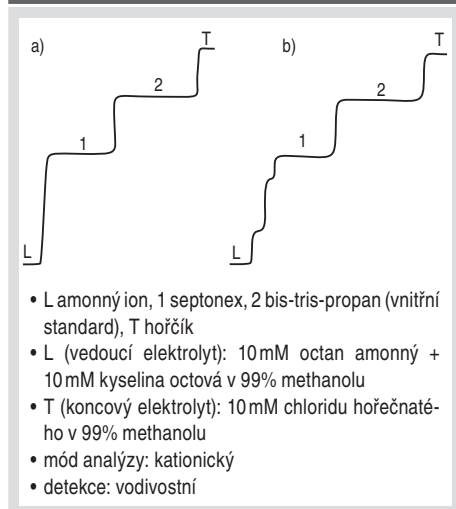
V tabulce 1 jsou příklady NACE analýz β -blokátů v moči a některých antidiabetik v plazmě (18, 19).

Micelární elektrokinetická kapilární chromatografie

Micelární elektrokinetickou kapilární chromatografií (MECC) lze stanovit jak neutrální látky, tak kationty nebo anionty. U MECC se používá pufr s přídavkem detergentu nad kritickou micelární koncentrací. Jako detergenty se mohou používat anionty jako je dodecylsulfát sodný (SDS) nebo kationty jako je např. alkylamoniová sůl. Micely mají hydrofóbní střed, který slouží jako pseudostacionární fáze. Tento chromatografický separační proces doplňuje elektroforetický postup a zlepšuje tak celkovou selektivitu separace. Na rozdíl od GLC a HPLC musí u MECC všechny látky rozpuštěné v roztoku migrovat směrem ke konci kolony v daném čase, což je migrační čas micel (13, 20). Rozlišení napolárních sloučenin se může zlepšit přidáním organického rozpouštědla, jako je methanol, 2-propanol nebo acetonitril. Díky tomuto přídavku napolární sloučeniny stráví více času ve vodné fázi, protože se sníží její polarita (21, 22).

Pomocí MECC metody se dají stanovit antiepileptika 1. generace (primidon, fenobarbital, fenytoin, ethosuximid), 2. generace (karbamazepin, kyselina valproová, benzodiazepiny) a 3. generace (lamotrigin, zonisamid)

Obrázek 1. Stanovení septonexu v modelové směsi (a) a v Mukoseptonexu (b) pomocí izotachoforézy s vodivostní detekcí



a jejich účinné metabolity v plazmě, séru, moči nebo ve slinách. Při přípravě vzorku se využívá LLE nebo lze u některých stanovení provést přímý nástřik bez předchozí úpravy vzorku. Všechny popsané MECC metody na stanovení antiepileptik používají SDS jako micelární fázi a UV detekci a jsou uvedené v tabulce 1 (23–34).

Kapilární elektrochromatografie

Kapilární elektrochromatografie (CEC) je technika, která kombinuje principy kapilární elektroforézy a HPLC. Ve srovnání s kapalinovou chromatografií rozdíl spočívá ve způsobu, jakým přes kolonu protéká mobilní fáze. Zatímco v kapalinové chromatografii způsobuje tok mobilní fáze tlakový rozdíl (vyvolaný většinou chromatografickou pumpou), u CEC je tok mobilní fáze vyvolán aplikací vysokého napětí na kapiláru a je tedy totožný s elektroosmotickým tokem. CEC má proti klasické kapalinové chromatografii tu výhodu, že elektroosmotický tok mobilní fáze má lineární rychlostní profil, což umožňuje dosahovat při separacích několikanásobně vyšších účinností. Použitím rozdílných náplní kapiláry je možné měnit selektivitu analyzovaných látek (35, 36).

Pomocí CEC se dají stanovit různá antiepileptika (37, 38). Příklady jsou popsány v tabulce 1.

Izotachoforéza

Izotachoforéza (ITP) je metoda pro dělení iontů (aniontů a kationtů) nebo látek, které mohou za určitých podmínek získat náboj. Separace probíhá ve stejnosměrném elektrickém poli podle jejich rozdílných pohyblivostí. Předností této metody je rychlost provedení a ostrost dělených složek do zón. Současně umožňuje stanovit větší počet aniontů nebo kationtů. Nevýhodou je požadavek na velmi čisté chemikálie (2).

V ITP se vzorek dává mezi dva základní elektrolyty, vedoucí (LE) a koncový (TE). Po zapnutí stejnosměrného elektrického proudu migrují zóny v po-

Tabulka 1. Příklady stanovení jednotlivých látek pomocí CE

látko	biologický materiál	příprava vzorku	mód CE	podmínky analýzy	detekce	použití	odkaz
Antiepileptikum Kyselina valproová	plazma	deproteinizace methanolem (4:1)	CE	15 mM benzoan, 0,5 mM cetyltri-methylamonium bromid pH 6,0, 25% methanol	nepřímá UV (210 ± 20 nm)	stanovení kyseliny valproové	8
kyselina valproová	plazma, sérum, moč	deproteinizace ACN (plazma, sérum), ředění deionizovanou vodou (moč)	CE	10 mM MES, 10 mM histidin, 50 μM HTAB; pH 6,0	vodivostní	TDM	12
Benzodiazepiny nitrazepam, diazepam, estazolam, bromazepam, triazolam, flurazepam	sérum, moč	vzorek ředěný boritanovým pufrům, SPE na C18 a eluce methylochlořidem nebo benzenová extrakce	CE	5 mM fosfátový-boritanový pufr (pH 8,5), 50 mM SDS a 15% methanol	UV (200 nm)	simultánní screening toxických hladin benzodiazepinů	15
Psychotropní léky amitriptylin, doxepin, chlorpromazin	moč	extrakce směsí heptan:ethylacetát (90:10 v/v)	CE	20 mM fosforečnan a 60% aceton; pH 7,2	ECL	TDM	11
Antiepileptikum lamotrigin	plazma, sérum	precipitace ACN	CZE	130 mM octan sodný, nastavení pH pufru pomocí kyseliny octové na pH 4,8	UV (210 nm)	TDM	16
Nesteroidní protizánětlivé léky aceklofenak, diklofenak	plazma	extrakce ACN	CZE	300 mM boritan sodný, 200 mM N-methyl-D-glukamin; pH 8,9	UV (290 nm)	farmakokinetické studie	17
β-blokátory alprenolol, atenolol, oxprenolol, propranolol	moč	SPE, eluce methanolem	NACE	methanolvý roztok 5 mM octanu sodného a 30 mM kyseliny octové; pH 8,9	UV (200 nm)	soudní analýzy, toxikologie, farmakokinetické studie	18
Antidiabetika metformin, fenformin, glyburid	plazma	SPE na C18, eluce methanolem s 3% kyselinou octovou	NACE	ACN s 5 mM octanem amonným a 5% kyselinou octovou	UV (240 nm)	farmakokinetické analýzy	19
Antiepileptika Fenobarbital s dalšími barbituráty	sérum, moč	přímý nástřik	MECC	50 mM SDS, 9 mM boritanu/15 mM fosforečnanu; pH 7,8	UV (195–320 nm)	simultánní stanovení antiepileptik	23
Fenobarbital, primidon, fenytoin, etosuximid	sérum	přímý nástřik	MECC	75 mM SDS, 6 mM boritanu/10 mM fosforečnanu; pH 9,2	UV (195–320 nm)	simultánní stanovení antiepileptik	24–26
Fenobarbital, karbamazepin	sérum, sliny	přímý nástřik	MECC	75 mM SDS, 6 mM boritan, 10 mM fosforečnan; pH 9,2	UV (240 nm)	simultánní stanovení antiepileptik	27
Fenobarbital s dalšími barbituráty	sérum, moč	LLE při pH 4,5 pomocí „toxi-tubes b“	MECC	100 mM SDS, 10 mM boritan/10 mM fosforečnan; pH 8,5, 15% ACN	UV (214 nm)	soudní analýzy	28
fenobarbital, primidon, fenytoin, karbamazepin, epoxy-karbamazepin, etosuximid, zonisamid	sérum	extrakce octanem ethylnatým a odparek rozpuštěn v 5% methanolu ve vodě	MECC	50 mM SDS, 10 mM fosforečnanu; pH 8,0	UV (210 nm)	simultánní stanovení antiepileptik	29
fenobarbital, primidon, fenytoin, etosuximid, karbamazepin, zonisamid	sérum	extrakce octanem ethylnatým a odparek rozpuštěn v 5% methanolu ve vodě	MECC	50 mM SDS, 25 mM fosforečnanu; pH 8,0	UV (210 nm)	TDM	30
etosuximid, fenobarbital, primidon, fenytoin	sérum	přímý nástřik	MECC	75 mM SDS, 6 mM boritan/10 mM fosforečnan; pH 9,2	UV (195–320 nm)	simultánní stanovení antiepileptik	24–26
etosuximid, fenobarbital, fenytoin, kyselina valproová, karbamazepin	plazma	extrakce octanem ethylnatým a odparek rozpuštěn ve směsi voda-methanol	MECC	50 mM SDS, 10 mM fosforečnan, pH 8,0	UV (210 nm)	simultánní stanovení antiepileptik	31
lamotrigin, karbamazepin, epoxy-karbamazepin, primidon, fenobarbital, fenytoin, fenylethylmalonamid	plazma	extrakce octanem ethylnatým a odparek rozpuštěn v 50% methanolu ve vodě	MECC	75 mM SDS, 6 mM boritan/10 mM fosforečnan; pH 9,0	UV (210–285 nm)	TDM	32
Benzodiazepiny flunitrazepam, diazepam, midazolam, clonazepam, bromazepam, temazepam, oxazepam, lorazepam	moč	enzymatická hydrolyza a SPE	MECC	75 mM SDS, 6 mM boritan, 10 mM fosforečnan, pH 9,1, 2-propanol	UV (195–320 nm)	soudní a klinické toxikologické analýzy	33
Nitrazepam, 7-aminonitrazepam, 7-acetamidonitrazepam	moč	extrakce pomocí C18	MECC	60 mM SDS, 6 mM fosforečnan/boritan, pH 8,5, 15% methanol	UV (220 nm)	soudní a klinické toxikologické analýzy	34

látko	biologický materiál	příprava vzorku	mód CE	podmínky analýzy	detekce	použití	odkaz
levetiracetam	sérum	přímý nástřík	CEC	140 mM boritanový pufr o pH 8,9 obsahující 13,8 mM SDS	UV (214 nm)	stanovení levetiracetamu	37
levetiracetam, primidon, fenobarbital, fenytoin, lamotrigin, karbamazepin	sérum	SPE hydrofilní-lipofilní rovnováhou	CEC	1,8% SDS, 0,48% n-octanu; 3,96% 1-butanolu v 10 mM boritanu; pH 9,2	UV (214 nm)	stanovení levetiracetamu s dalšími antiepileptiky	38
β-blokátory metoprolol, deacetylmepitranolol, labetalol; diuretika amilorid, furosemid	sérum, moč	SPE C18, eluce směsí ACN-dichlormethan (75:25) (amilorid, furosemid), ACN-dichlormethan (25:75) (metoprolol, labetalol a deacetylmepitranolol)	ITP	kationický systém (β-blokátory a amilorid) LE 10 mM morfolinethansulfonát sodný (pH 5,5), 0,1% MHEC; TE 5 mM kyselina glutamová; anionický systém (furosemid) LE 10 mM histidin-kyselina chlorovodíková (pH 6,2), 0,1% MHEC; TE 5 mM MPS	vodivostní	stanovení β-blokátorů a diuretik	40
antiepileptikum kyselina valproová	sérum	ředění ve vodě a filtrace nebo srážení ACN a centrifugace	ITP-CE	LE 10 mM histidin, kyselina chlorovodíková, MHEC; TE 5 mM MES, histidin, MHEC; nosný elektrolyt 10 mM MES, histidin, MHEC	vodivostní	stanovení kyseliny valproové	41

ACN acetonitril; HTAB hexadecyltrimethylammonium bromid; MES morfolinethansulfonová kyselina; SPE extrakce na pevné fázi; LLE extrakce z kapaliny do kapaliny; SDS dodecylsulfát sodný; TDM terapeutické monitorování léků; CE kapilární elektroforéza; CZE kapilární zónová elektroforéza; NACE nevodná kapilární zónová elektroforéza; MECC micelární elektrokinetická kapilární chromatografie; CEC kapilární elektrochromatografie; ITP izotachofóza; MHEC methylhydroxyethylcelulóza; MPS morfolinpropansulfonová kyselina; LE vedoucí elektrolyt; TE koncový elektrolyt

řadí jejich pohyblivosti. Detektor je umístěn na konci kapiláry a analytické údaje se vyhodnocují on-line. V ITP jsou nejpoužívanější typy detekce vodivostní a gradientová (univerzální), které využívají rozdílné vodivosti resp. gradientu elektrického pole v jednotlivých zónách. Nejpoužívanější specifický detektor je UV detektor. Optimální variantou je kombinace univerzálního detektoru s UV detektorem. Mezi další specifické detektory patří fluorimetrický, chemický a radioimetrický (39). Kvalitativní informaci v ITP poskytuje výška vlny na záznamu z univerzálního detektoru. Kvantitativní informaci vyjadřuje délka zóny.

Kapilární ITP lze použít také na stanovení některých léčiv v biologickém materiálu. V séru a moči lze stanovit β-blokátory a některá diuretika (40). ITP se využívá také jako prekoncentrační technika, jak v dvoukapilární ITP, tak i ve spojení ITP a dalších metod např. CE. Příkladem může být stanovení kyseliny valproové v séru (41). Jednotlivé metody jsou uvedeny v tabulce 1.

Závěr

V předloženém přehledu jsou shrnuty elektromigrační metody, které umožňují stanovit léčiva v biologickém materiálu, především v plazmě, séru a v moči, a mohou být také využity pro TDM. Kapilární elektroforéza (CE) je analytická technika, umožňující separaci ionogenních i neionogenních látek. Mezi její výhody oproti HPLC patří nízká spotřeba vzorku, chemikálií, a tím i snížení nákladů na analýzu a nízké zatížení životního prostředí. CE lze stanovit v plazmě, séru nebo v moči některá antiepileptika (8, 12), benzodiazepiny (15) nebo psychotropní léky (11). Kapilární zónová elektroforéza (CZE) doplňuje CE a umožňuje stanovit v plazmě nebo v séru některé antiepileptika (16) nebo nesteroidní protizánětlivé léky (17). Dalším módem CE je nevodná kapilární zónová elektroforéza (NACE), která dělí i sloučeniny nerozpustné nebo jen špatně rozpustné ve vodě. Pomocí NACE lze stanovit např. β-blokátory v moči (18) nebo některá antidiabetika v plazmě (19). Stanovení léčiv v biologickém materiálu umožňuje i MECC metoda. Nejvíce používaným detergentem u MECC je dodecylsulfát sodný (SDS). Primární příčinou rostoucího zájmu o MECC separace je kombinace vysoké účinnosti, selektivity, rychlosti a snadnosti použití. Velkou výhodou oproti chromatografickým technikám představuje použití přímého nástříku vzorku. Kromě přímého nástříku vzorku se také často využívá LLE použitím organických činidel. MECC je vhodná pro analýzu antiepileptik v plazmě, séru nebo v moči (23–34). Kapilární elektrochromatografie (CEC), stejně jako MECC představuje vhodný nástroj pro sta-

novení neutrálních sloučenin, mezi něž patří i mnohá antiepileptika. Pomocí CEC lze stanovit také některá antiepileptika v séru (37, 38). ITP je analytická separační metoda využitelná pro separaci ionogenních látek nebo těch látek, které se dají na ionogenní sloučení převést. Mezi její přednosti patří vysoká separační kapacita (nástřík velkého objemu zředěného vzorku), krátký čas analýzy, nízké provozní náklady a minimální předúprava vzorku. V ITP je v jedné analýze lze dělit buď anionty nebo kationty (39). Pomocí ITP lze stanovit β-blokátory a některá diuretika v séru a moči (40). Lze ji použít i jako koncentrační předstupeň pro další elektromigrační metody např. pro CE. Pomocí spojení ITP-CE lze stanovit kyselinu valproovou v séru (41).

Elektromigrační metody představují perspektivní část analytických separačních technik a oproti běžně používaných metodám stanovující léčiva v biologickém materiálu nabízí i další výhody, mezi které patří přímý nástřík vzorku bez předchozí úpravy. Dále umožňuje použít malé objemy vzorku, nízkou spotřebu chemikálií, což vede k nízkým provozním nákladům a minimální zátěži životního prostředí.

Mgr. Lucie Pavlíková
Fakultní nemocnice Ostrava, Ústav klinické farmakologie
17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava
email: lucie.pavlikova@fnspo.cz

Literatura

- Grundmann M. Zpravodaj klinické farmakologie a farmacie 1998; 13: 39 – 40.
- Doležalová V. Laboratorní technika v klinické biochemii a toxikologii. Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví v Brně. 1995: 115–126, 180–183, 236–237.
- Klouďa P. Moderní analytické metody. 2003: 33–39.
- PrinCE Technologies. The Analysis of drugs in CE. 1997: 1.
- Smyth WF. Recent applications of capillary electrophoresis-electrospray ionisation-mass spectrometry in drug analysis. Review. Electrophoresis 2005; 26: 1334–1357.
- Vassort A, Barrett DA, Shaw PN, et al. A generic approach to the impurity profiling of drugs using standardised and independent capillary zone electrophoresis methods coupled to electrospray ionisation mass spectrometry. Electrophoresis 2005; 26: 1712–1723.

- Huck ChW, Stecher G, Scherz H, Bonn G. Analysis of drugs, natural and bioactive compounds containing phenolic groups by capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry. Electrophoresis 2005; 26: 1319–1333.
- Pucci V, Mandrioli, Raggi MA. Determination of valproic acid (2-propylpentanoic acid) in human plasma by capillary electrophoresis with indirect UV detection. Electrophoresis 2003; 24: 2076–2083.
- Hartinger ChG, Schluga P, Galanski M, et al. Tumor-inhibiting platinum(II) complexes with aminoalcohol ligands: Comparison of the mode of action by capillary electrophoresis and electrospray ionisation-mass spectrometry. Electrophoresis 2003; 24: 2038–2044.
- Vanhoeacker G, de l'Escaille F, Keukeleire DD, Sandra P. Analysis of Benzodiazepines in Dynamically Coated Capillaries by CE-DAD, CE-MS and CE-MS2. J Pharm Biomed Anal 2004; 34: 595–606.

11. Li J, Zhao F, Ju H. Simultaneous determination of psychotropic drugs in human urine by capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection. *Anal Chim Acta* 2006; 575: 57–61.
12. Belin GK, Krähenbühl S, Hauser PC. Direct determination of valproic acid in biological fluids by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2006; 25: [Epub ahead of print]
13. Loyd DK. Capillary electrophoretic analyses of drugs in body fluids: sample pretreatment and methods for direct injection of biofluids. *J Chromatogr A* 1996; 735: 29–42.
14. Shihabi ZK. Sample matrix effects in capillary electrophoresis : II. Acetonitrile deproteinization. *J Chromatogr A* 1993; 652: 471.
15. Tomita M, Okuyama T. Application of capillary electrophoresis to the simultaneous screening and quantitation of benzodiazepines. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1996; 678: 331–337.
16. Theurillat R, Kuhn M, Thormann W. Therapeutic drug monitoring of lamotrigine using capillary electrophoresis. Evaluation of assay performance and quality assurance over a 4-year period in the routine area. *J Chromatogr A* 2002; 979: 353–368.
17. Zinellu A, Carru C, Sotgia S, et al. Separation of aceclofenac and diclofenac in human plasma by free zone capillary electrophoresis using N-methyl-D-glucamine as an effective electrolyte additive. *Eur J Pharm Sci* 2005; 24: 375–380.
18. Siren H, Kuldvee R, Karla T, Ekstrom T, Riekkola ML. Capillary zone electrophoresis of cationic and anionic drugs in methanol. *J Chromatogr A* 2005; 1068: 89–97.
19. Lai EPC, Feng SY. Solid phase extraction-Non-aqueous capillary electrophoresis for determination of metformin, phenformin and glyburide in human plasma. *J Chromatography B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2006; 843: 94–99.
20. Pacáková V, Coufal P, Štulík K, Gaš B. The importance of capillary electrophoresis, capillary electrochromatography, and ion chromatography in separations of inorganic ions. *Electrophoresis* 2003; 24: 1883–1891.
21. Bjørnsdóttir I, Honoré Hansen S. Comparison of separation selectivity in aqueous and non-aqueous capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 1995; 711: 311–322.
22. Leung GNW, Tang HPO, Tso TSC, Wan TSM. Separation of basic drugs with non-aqueous capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 1996; 738: 141–154.
23. Thormann W, Meier P, Marcolli C, Binder F. Analysis of barbiturates in human serum and urine by high-performance capillary electrophoresis—micellar electrokinetic capillary chromatography with on-column multi-wavelength detection. *J Chromatogr* 1991; 545: 445–460.
24. Schmutz A, Thormann W. Determination of phenobarbital, ethosuximide, and primidone in human serum by micellar electrokinetic capillary chromatography with direct sample injection. *Ther Drug Monit* 1993; 15: 310–316.
25. Caslavská J, Lienhard S, Thormann W. Comparative use of three electrokinetic capillary methods for the determination of drugs in body fluids : Prospects for rapid determination of intoxications. *J Chromatogr* 1993; 638: 335–342.
26. Schmutz A, Thormann W. Assessment of impact of physico-chemical drug properties on monitoring drug levels by micellar electrokinetic capillary chromatography with direct serum injection. *Electrophoresis* 1994; 15: 1295–1303.
27. Thormann W, Zhang CX, Schmutz A. Capillary electrophoresis for drug analysis in body fluids. *Ther Drug Monit* 1996; 18: 506–520.
28. Ferslew KE, Hagardorn AN, McCormick WF. Application of micellar electrokinetic capillary chromatography to forensic analysis of barbiturates in biological fluids. *J Forensic Sci* 1995; 40: 245–249.
29. Kataoka Y, Makino K, Oishi R. Capillary electrophoresis for therapeutic drug monitoring of antiepileptics. *Electrophoresis* 1998; 19: 2856–2860.
30. Makino K, Goto Y, Sueyasu M, Futagami K, Kataoka Y, et al. Micellar electrokinetic capillary chromatography for therapeutic drug monitoring of zonisamide. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1997; 695: 417–425.
31. Lee KJ, Heo GS, Kim NJ, Moon DC. Analysis of antiepileptic drugs in human plasma using micellar electrokinetic capillary chromatography. *J Chromatogr* 1992; 608: 243–250.
32. Lancas FM, Sozza MA, Queiroz MEC. Simultaneous plasma lamotrigine analysis with carbamazepine, carbamazepine 10,11 epoxide, primidone, phenytoin, phenobarbital, and PEMA by micellar electrokinetic capillary chromatography (MECC). *J Anal Toxicol* 2003; 27: 304–308.
33. Schafroth M, Thormann W, Allemann D. Micellar electrokinetic capillary Chromatography of benzodiazepines human urine. *Electrophoresis* 1994; 15: 72–78.
34. Tomita M, Okuyama T, Sato S, Ishizu H. Simultaneous determination of nitrazepam and its metabolites in urine by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J Chromatogr* 1993; 621: 249–255.
35. Knox JH, Grant IH. Miniaturization in pressure and electroosmotically driven liquid chromatography: some theoretical considerations. *Chromatographia* 1987; 24: 135–143.
36. Knox JH, Grant IH. Electrochromatography in packed tubes using 1.5 to 50 μm gels and ODS bonded silica gels. *Chromatographia* 1991; 32: 317–328.
37. Shihabi ZK, Oles K, Hinsdale M. Analysis of the antiepileptic drug keppra by capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 2003; 1004: 9–12.
38. Ivanova M, Piunti A, Marziali E, et al: Microemulsion electrokinetic chromatography applied for separation of levetiracetam from other antiepileptic drugs in polypharmacy. *Electrophoresis* 2003; 24: 992–998.
39. Kvasnička F. Uživatelská příručka pro obsluhu izotachoforetického analyzátoru Ionosep 2003.
40. Sádecká J, Polonský J. Determination of some cardiovascular drugs in serum and urine by capillary isotachopheresis. *J Chromatogr A* 1996; 735: 403–408.
41. Ölvecká E, Koníková M, Grobuschek N, Kaniánský D, Stanislawski B. Direct determination of valproate in serum by zone electrophoresis-isotachopheresis on a column-coupling chip. *J. Sep. Sci.* 2003; 26: 693–700.