

# Stanovení kyseliny valproové pomocí on-line spojení izotachoforézy a kapilární zónové elektroforézy s vodivostní detekcí

BUDÁKOVÁ L.<sup>1,3</sup>, BROZMANOVÁ H.<sup>1</sup>, KVASNIČKA F.<sup>2</sup>, GRUNDMANN M.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Ostravská Univerzita, Zdravotně sociální fakulta, Ústav klinické farmakologie FN, Ostrava

<sup>2</sup>Vysoká škola chemicko-technologická, Ústav konzervace potravin a technologie masa, Praha

<sup>3</sup>Univerzita Palackého, Farmakologický ústav LF, Olomouc

Došlo: 30. května 2007 / Přijato: 27. července 2007

## SOUHRN

### Stanovení kyseliny valproové pomocí on-line spojení izotachoforézy a kapilární zónové elektroforézy s vodivostní detekcí

Cílem práce bylo otestovat vhodné podmínky pro stanovení VPA v séru metodou ITP-CZE s vodivostní detekcí. Zjišťovalo se, zda pro metodu popsanou Ölveckou et al. se dá použít podobná příprava vzorku jako pro metodu plynové chromatografie, která se rutinně používá pro stanovení VPA v séru. 200 rl vzorku séra se extrahovalo 200 rl acetonu a po centrifugaci se odebralo 200 rl horní vrstvy a doplnilo do 10 ml demineralizovanou vodou. Spotřeba séra se při dávkování mikrostříkačkou dá snížit až na 5 l, což je výhodné hlavně pro terapeutické monitorování léků u dětí. Délka analýzy byla 20 minut. Metoda byla lineární v rozmezí 20–400 mg/l, což zahrnuje terapeutické rozmezí VPA (50 až 100 mg/l). Limit detekce a kvantifikace byl 2,5 a 8,5 mg/l. Variační koeficienty byly pod 10 % u všech tří koncentrací (30, 70 a 120 mg/l). Nová metoda byla porovnána s metodou plynové chromatografie pomocí regresní analýzy Passing-Bablok a zjistilo se, že obě metody dávají shodné výsledky.

**Klíčová slova:** elektromigrační metody – kapilární zónová elektroforéza – izotachoforéza – kyselina valproová – terapeutické monitorování léků

Čes. slov. Farm., 2007; 56, 249–253

## SUMMARY

### Determination of valproic acid by on-line coupled capillary isotachopheresis with capillary zone electrophoresis with conductometric detection

The paper aimed to test suitable conditions for the determination of VPA in serum using the ITP-CZE method with conductometric detection. It attempted to find whether for the method described by Ölvecká et al. it is possible to use a similar procedure of sample preparation as for the gas chromatographic method which is routinely employed for the assessment of VPA in serum. A 200 rl sample of serum was extracted with 200 rl of acetone and after centrifugation 200 rl of the upper layer was withdrawn and supplemented with demineralized water to make 10 ml. When a microsyringe is used for dosing, consumptions of serum can be reduced up to 5 rl, which is advantageous mainly for therapeutic drug monitoring in children. The length of analysis was 20 minutes. The method was linear within the range of 20–400 mg/l, which includes the therapeutic range of VPA (50–100 mg/l). The detection and quantification limits were 2.5 and 8.5 mg/l, respectively. The variation coefficients were below 10 % in all three concentrations (30, 70 and 120 mg/l). The new method was compared with the method of gas chromatography by means of the Passing-Bablok regression analysis and both methods were found to give identical results.

**Key words:** electromigration methods – capillary zone electrophoresis – isotachopheresis – valproic acid – therapeutic drug monitoring

Čes. slov. Farm., 2007; 56, 249–253

Má

#### Adresa pro korespondenci:

Lucie Budáková  
Ústav klinické farmakologie FN  
17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava  
e-mail: lucie.pavlikova@fnspo.cz

## Úvod

Kyselina valproová (2-propylpentanová kyselina, VPA) byla uvedena do praxe v roce 1962. Patří do druhé generace antiepileptik (AEP). VPA se stala lékem první volby při léčbě absencí především v těch případech, kdy jsou provázeny generalizovanými tonicko–klonickými záchvaty a také u některých typů myoklonických záchvatů. Mezi její přednosti patří minimální ovlivnění kognitivních funkcí. Nevýhodou je riziko hepatálního poškození u malých dětí. Terapeutické rozmezí VPA je 50 až 100 mg/l. VPA je podávána buď samostatně, nebo v kombinaci s dalšími antiepileptiky, nejčastěji s karbamazepinem a její spotřeba stále stoupá<sup>1,2</sup>. Ačkoliv je v léčbě epilepsie preferována monoterapie, mnoho pacientů s různými typy záchvatů vyžaduje k dosažení lepší klinické kontroly terapii kombinacemi různých AEP<sup>3</sup>. Polyterapie často vede ke komplexním a nepředvídatelným farmakokinetickým a farmakodynamickým interakcím s možnými nežádoucími účinky<sup>4</sup>. Terapii různými AEP dnes běžně doprovází terapeutické monitorování léků (TDM). Stanovení jednotlivých AEP v tělních tekutinách, především v krvi umožňuje kontrolovat terapeutické a toxické účinky AEP a také sledovat compliance pacienta při terapii<sup>5–7</sup>.

Analytické metody, kterými se stanovuje VPA v biologickém materiálu, zahrnují především metodu plynové chromatografie (GC)<sup>8–17</sup>, plynové chromatografie využívající kapalnou fázi (GLC)<sup>18–22</sup> a vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC)<sup>23–29</sup>. V poslední době se také zvyšuje zájem o používání kapilární elektroforézy (CE) pro separaci a stanovení léčiv v tělních tekutinách. Pomocí CE lze stanovit VPA v biologickém materiálu za použití bezkontaktní vodivostní detekce<sup>30</sup>. Díky velmi nízké UV absorpci VPA existuje pouze několik málo metod micelární elektrokinetické kapilární chromatografie (MEKC) s UV detekcí. Uvedené metody využívají vlnovou délku 210 nm<sup>31–33</sup>. Mezi další metody CE patří kapilární zónová elektroforéza (CZE). CZE lze stanovit VPA pomocí nepřímé UV detekce<sup>34</sup> nebo laserem indukované fluorescenční detekce<sup>35</sup>. Pomocí spojení metod izotachoforézy (ITP) s CZE (ITP-CZE) s využitím poly(methyl metakrylátového) čipu a vodivostní detekce bylo popsáno stanovení VPA v séru<sup>36</sup>.

Cílem této práce bylo vypracovat podmínky pro separaci, identifikaci a kvantifikaci VPA v séru pomocí metody ITP-CZE. Vyvinutá metoda byla validována a porovnána s rutinně používanou GLC metodou<sup>37</sup> v rámci TDM AEP na Ústavu klinické farmakologie (ÚKF) Fakultní nemocnice Ostrava (FNO) u 50 patientských vzorků.

## POKUSNÁ ČÁST

### Chemikálie a roztoky

K přípravě elektrolytů, vzorků pro kalibraci, validaci a patientských vzorků pro metodu ITP-CZE se použila voda Milli-

Q kvality a k přípravě standardních vzorků VPA pro GLC metodu se použila HPLC voda (Aldrich, Buchs, Švýcarsko) a metanol, gradient grade for liquid chromatography (Merck, Darmstadt, Německo). Aceton, p.a. (Penta, ČR), síran amonný, p.a. (Lachema, ČR), kyselina chlorovodíková (Merck, Darmstadt, Německo), histidin, morfolinetansulfonová kyselina, VPA a kyselina kaprylová (Aldrich, Buchs, Švýcarsko). Nulové krevní sérum bylo z transfúzního oddělení FNO od zdravého dárce bez medikace. Patientská séra pocházela od pacientů z neurologických oddělení a z neurologických ambulancí, která jsou rutinně měřena na ÚKF FNO v rámci TDM.

### Příprava elektrolytů pro ITP-CZE metodu

K přípravě elektrolytů se použila demineralizovaná voda Milli-Q kvality. Vedoucí elektrolyt (VE) obsahoval 10 mmol.l<sup>-1</sup> kyselinu chlorovodíkovou, 20 mmol.l<sup>-1</sup> histidin a 0,05% hydroxypropylmethylcelulózu; koncový elektrolyt (KE) 5 mmol.l<sup>-1</sup> kyselinu morfolinetansulfonovou, 2 mmol.l<sup>-1</sup> histidin a nosný elektrolyt 10 mmol.l<sup>-1</sup> kyselinu morfolinetansulfonovou a 10 mmol.l<sup>-1</sup> histidin. Hodnota pH VE a KE byla 5,6 a pH nosného elektrolytu bylo 5,0.

### Příprava patientských vzorků pro ITP-CZE metodu

Množství 200 µl vzorku séra se extrahovalo do 200 µl acetonu a poté se vzorek promíchal na laboratorním mixéru a centrifugoval 5 minut při 14 000 otáčkách/min. Po centrifugaci se odebralo 200 µl horní vrstvy a doplnilo do 10 ml vodou Milli-Q kvality; 30 µl takto připraveného vzorku se nastříklo mikrostříkačkou do přístroje. Každý vzorek se analyzoval dvakrát.

### Příprava vzorků pro validaci ITP-CZE metody

Na analytických vahách se navážilo přesně 200 mg kapalně VPA a rozpustilo se v 5 ml chlazeného metanolu. Pak se odebralo takové množství roztoku, které obsahovalo 125 mg VPA a doplnilo se do 50 ml směsi metanol:voda 1:1. Zásobní roztok se pak ředil vodou na pracovní roztok o koncentraci 1000 mg.l<sup>-1</sup>. Z pracovního roztoku VPA se poté připravily vzorky pro identifikaci VPA (v koncentraci 50, 100 a 200 mg.l<sup>-1</sup>) ředěním do vody Milli-Q kvality. Identifikace byla provedena proměřením vzorku VPA ve vodě metodou ITP-CZE s vodivostní detekcí. Dále se připravovaly vzorky pro kvantifikaci metody. Připravily standardní vzorky v séru o koncentraci v rozmezí 20–400 mg/l. Standardní vzorky se extrahovaly před analýzou stejně jako vzorky pacientů. Přesnost a správnost metody se zjistila na základě opakovaných stanovení (n=6) vzorku s třemi různými koncentracemi VPA v séru (30, 70 a 120 mg.l<sup>-1</sup>), přičemž vzorky byly analyzované v průběhu jednoho dne za použití stejných elektrolytů a pracovních podmínek. U všech tří koncentrací se každý vzorek (n=6) připravil kompletním postupem.

### Přístroje pro ITP-CZE metodu

Měření probíhalo na elektroforetickém analyzátoru EA 101 (Villa–Labeco, Spišská Nová Ves, SR) v dvoukolonovém uspořádání (předseparační teflonová kapilára 110 mm × 0,8 mm; analytická teflonová kapilára 90 × 0,3 mm) s vodivostní detekcí. Podmínky analýzy jsou uvedeny v tabulce 1. Použitý hnací

Tab. 1. Podmínky analýzy VPA v přeseparační (krok ITP) a analytické kapiláře (krok CZE)

Krok	čas (s)	proud (μA)	kapilára	vodivostní detekce
1. (ITP)	400	250	předseparační	
2. (ITP)	600	250	předseparační	
3. (ITP)	80	250	předseparační	x
4. (CZE)	30	50	analytická	
5. (CZE)	300	50	analytická	x

proud byl v předseparační kapiláře 250 μA a v analytické 50 μA. Sběr dat a vyhodnocení výsledků bylo provedené počítačovým programem dodaným s analyzátozem EA 101. Analýzy probíhaly v anionickém módu s přímým nástřikem vzorku, dávkovaný objem byl 30 μl. Teplota byla laboratorní a délka analýzy 20 minut.

#### Metoda plynové chromatografie

Do zkumavky typu Eppendorf s vnitřním standardem (kyselina kaprylová) se napipetovalo 50 μl vzorku séra, 50 μl acetonu a přidala se malá odměrka, asi 45 mg pevného síranu amoného. Vzorky se zamíchaly na vibračním míchadle a centrifugovaly 5 minut při 4000 otáčkách/min. Na kolonu plynového chromatografu se nastříkaly Hamiltonovou stříkačkou 3 μl horní acetonové vrstvy. Každý vzorek se analyzoval dvakrát.

Analýza probíhala na plynovém chromatografu Chrom 5 s plamenově ionizačním detektorem (FID). Na chromatografickou analýzu se použila skleněná náplňová kolona dlouhá 1,2 m plněná 10% SP 1000 na Supelcoportu (Supelco). Kolona byla před plněním silikonována. Separace probíhala za izotermálních podmínek při teplotě kolony 185 °C a místa nástřiku 210 °C. Jako nosný plyn se použil dusík o průtoku 45 ml/min. Detekce byla FID. Průtok vodíku byl 40 ml a průtok vzduchu 400 ml za minutu. Analýza trvala 4 minuty<sup>37)</sup>.

## VÝSLEDKY A DISKUZE

V práci se testovaly vhodné podmínky pro stanovení VPA v séru metodou ITP-CZE s vodivostní detekcí. Zjišťovalo se, zda pro metodu popsanou Őlveckou et al.<sup>36)</sup> se dá modifikovaná příprava vzorku z GLC analýzy. Podle výše uvedené práce se vybraly následující elektrolyty, VE 10 mmol.l<sup>-1</sup> kyselina chlorovodíková, 20 mmol.l<sup>-1</sup> histidin a 0,05% hydroxypropylmethylcelulóza; KE 5 mmol.l<sup>-1</sup> kyselina morfolinetansulfonová, 2 mmol.l<sup>-1</sup> histidin a nosný elektrolyt 10 mmol.l<sup>-1</sup> kyselina morfolinetansulfonová a 10 mmol.l<sup>-1</sup> histidin. Hodnota pH VE a KE byla 5,6 a pH nosného elektrolytu bylo 5,0.

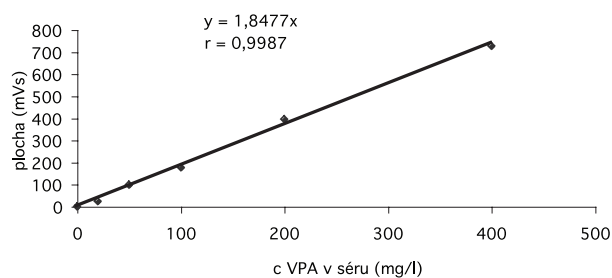
Byly testovány vhodné podmínky analýzy VPA v séru, přičemž se vycházelo z konstrukce přístroje, délky kapiláry a složení jednotlivých elektrolytů. V tabulce 1 jsou uvedeny jednotlivé parametry metody (čas v sekundách, proud v μA, použitá kapilára a detekce) v kroku ITP

a CZE. Aby bylo dosaženo přesné a správné analýzy je zapotřebí přesně dodržet uvedený časový režim přepínání proudu mezi kapilárami. V případě, že by se časový režim nedodržel a byl by kratší čas přepnutí z kroku ITP do kroku CZE, mohlo by se stát, že se do analytické kapiláry dostane příliš mnoho interferujících látek z matrice a VPA by se nedostatečně oddělila od interferujících látek matrice. Naopak jestliže by byl delší čas přepnutí z kroku ITP do kroku CZE, pak by se nedostalo veškeré množství VPA do analytické kapiláry a mohly by vycházet nižší hodnoty VPA.

Dále se hledala taková příprava vzorku, která by vyhovovala rutinnímu použití v rámci TDM AEP, což vyžaduje snadnou a rychlou přípravu vzorku a malou spotřebu séra. Pro tento účel se modifikovala původní příprava vzorku pro GLC analýzu<sup>37)</sup>. Výhodou této přípravy je, že se dá ještě snížit spotřeba vzorku až na 5 μl séra tím, že se extrahuje 5 μl acetonu a do přístroje se dává 1 μl vzorku Hamiltonovou mikrostříkačkou.

Po vývoji metody ITP-CZE následovala validace. Identifikace VPA byla provedena na základě proměření vzorků VPA o koncentraci 50, 100 a 200 mg.l<sup>-1</sup> ředěným ve vodě pomocí metody ITP-CZE s vodivostní detekcí. Kvantifikace byla provedena na základě kalibrace. Při volbě kalibrační oblasti pro měření kalibrační závislosti se vycházelo z terapeutického rozmezí VPA v séru. Linearita byla hodnocena v rozmezí 20–400 mg.l<sup>-1</sup> VPA v séru. Bylo zjištěno, že metoda je lineární v uvedeném rozmezí, což zahrnuje terapeutické rozmezí VPA (50–100 mg.l<sup>-1</sup>). Kalibrační křivka VPA v séru, regresní rovnice a hodnota korelačního koeficientu je na obrázku 1. Hodnota korelačního koeficientu ( $r=0,9987$ ) je blízká jedné, což potvrzuje dobrou linearitu kalibrační závislosti.

Přesnost a správnost metody byla hodnocena na základě opakovaných stanovení ( $n=6$ ) vzorku séra o třech různých koncentracích (30, 70 a 120 mg/l), přičemž vzorky byly analyzovány v průběhu jednoho dne s použitím stejných elektrolytových roztoků a pracovních podmínek. U výsledků se vyhodnocoval průměr ( $\bar{x}$ ), směrodatná odchylka (SD), relativní směrodatná odchylka vyjádřená v % jako variační koeficient (VK), který charakterizuje přesnost metody. Hodnota VK nepřekročila 10 %. Správnost metody byla vyjádřena jako recovery (R), neboli



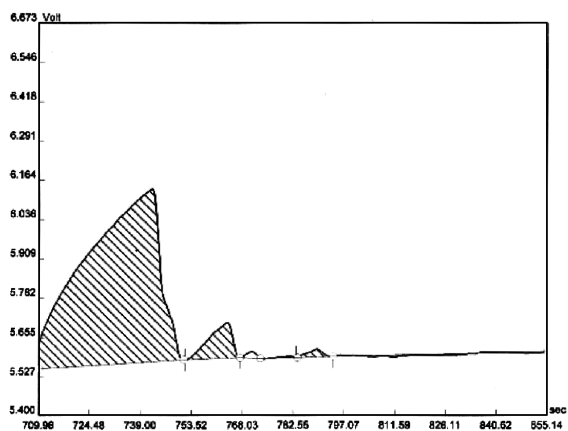
Obr. 1. Kalibrační křivka VPA v séru

výtěžnost v %. Hodnota výtěžnosti byla v rozmezí 80 % až 120 %. V tabulce 2 je uveden  $\bar{x}$ , SD, VK a průměr R.

Tab. 2. Přesnost a správnost metody (n=6)

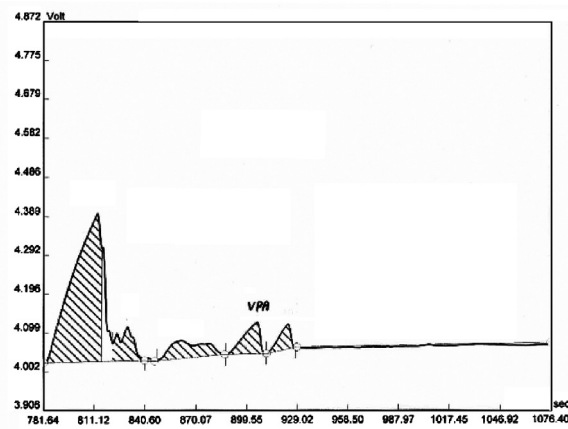
c VPA (mg/l)	x	SD	VK (%)	průměr R (%)
30	25,7	1,83	7,14	85,6
70	70,6	1,59	2,25	100,9
120	136	3,63	2,67	113,4

Limit detekce (LOD) pro stanovení VPA za uvede-  
ných pracovních podmínek, při kterých se analyzo-  
valy pacientské vzorky, byl na základě proměření nul-  
ové linie vypočten jako trojnásobná výška šumu  
a z kalibrační křivky byla odečtena jeho koncentrace.  
Limit kvantifikace (LOQ) byl vypočten jako  
10násobná výška šumu. Hodnoty LOD a LOQ jsou  
2,5 a 8,5 mg/l.

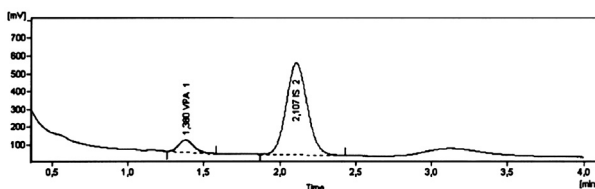


Obr. 2. Záznam stanovení nulového séra metodou ITP-CZE s vodivostní detekcí

Na obrázku 2 je záznam stanovení nulového séra meto-  
dou ITP-CZE s vodivostní detekcí. Ze záznamu je zřejmé,  
že za daných pracovních podmínek neinterferují žádné  
jiné složky ze séra, což potvrzuje selektivitu metody.



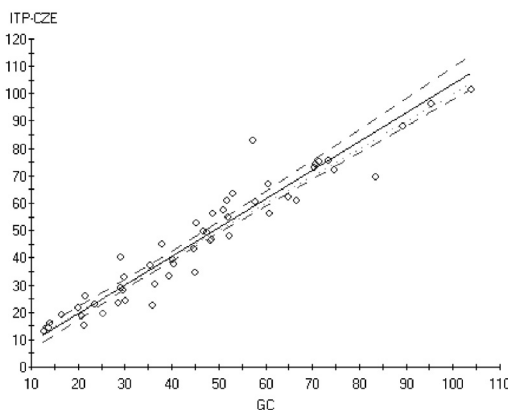
Obr. 3. Záznam stanovení pacientského séra metodou ITP-CZE s vodivostní detekcí VPA v séru 88,3 mg/l



Obr. 4. Záznam stanovení pacientského séra s VPA (50,1 mg/l) metodou GLC s FID detekcí

Na obrázku 3 je uveden záznam stanovení pacientské-  
ho vzorku (VPA 88,3 mg/l) metodou ITP-CZE s vodi-  
vostní detekcí a na obrázku 4 je záznam stanovení pa-  
cientského vzorku (VPA 50,1 mg/l) metodou plynové  
chromatografie s FID detekcí.

Pomocí nové ITP-CZE metody se proměřilo 50  
pacientských vzorků a výsledky se porovnály s těmi,  
které byly získány rutinní GLC metodou. Regresní  
analýza Passing-Bablok ukázala, že 95% konfidenční  
interval pro směrnici byl v rozmezí 0,89–1,03, což  
ukazuje, že odchylka směrnice od 1 je statisticky  
nevýznamná a 95% konfidenční interval pro úsek byl  
–1,73 až + 4,25, což ukazuje, že úsek na ose Y od nuly  
je statisticky nevýznamný. Obě metody tedy poskytují  
v rámci zvolené pravděpodobnosti (95% hladina  
významnosti) shodné výsledky. Výsledný graf je na  
obrázku 5.



Obr. 5. Grafické znázornění korelace dvou metod (GLC a ITP-CZE) podle regresní analýzy Passing-Bablok

Z dosažených výsledků vyplývá, že nová metoda  
ITP-CZE vyhovuje všem validačním požadavkům,  
jako je přesnost, správnost, linearita a selektivita a má  
přijatelné LOD a LOQ. Metoda byla porovnána  
s původní GLC metodou pomocí regresní analýzy Pas-  
sing-Bablok na základě proměření 50 pacientských  
vzorků a zjistilo se, že obě metody poskytují shodné  
výsledky. Metoda ITP-CZE má obdobnou přípravu  
vzorku jako metoda GLC a potřebné množství séra  
k analýze se dá snížit až na 5 µl, což je velmi význa-  
mné zvláště pro TDM u dětí.



## LITERATURA

1. **Kořistková, B., Grundmann, M.:** Klin. farmakol. farmac., 2000; 14, 24-28.
2. **Kořistková, B., Grundmann, M.:** Klin. farmakol. farmac., 2000; 14, 22-25.
3. **Deckers, C. L., Czuczwar, S. J., Hekster, Y. A. et. al.:** Epilepsia, 2001; 41, 1364-1374.
4. **Macdonald, R. L., Kelly, K. M.:** Epilepsia, 1995; 36, 2-12.
5. **Eadie, M. J.:** Br. J. Clin. Pharmacol., 1998; 46, 185.
6. **Perucca, E.:** Clin. Pharmacokin., 2000; 38, 191.
7. **Eadie, M. J.:** Br. J. Clin. Pharmacol., 2001; 52, 11-20.
8. **Dusci, L. J., Hackett, L. P.:** J. Chromatogr., 1977; 132, 145.
9. **Sioufi, A., Colussi, D., Marfil, F.:** J. Chromatogr., 1980; 182, 241.
10. **Nishioka, R., Kawai, S., Toyoda, S.:** J. Chromatogr., 1983; 277, 356.
11. **Nishioka, R., Takeuchi, M., Kawai, S. et. al.:** J. Chromatogr., 1985; 342, 89.
12. **Basaran, N., Hincal, F.:** Analyst, 1988; 113, 1873.
13. **Peyton, G. A., Harris, S. C., Wallace, J. E.:** J. Anal. Toxicol., 1979; 3, 108.
14. **Unruh Von G. E., Jancik, B. C., Hoffmann, F.:** Biomed. Mass Spectrom., 1980; 7, 164.
15. **Tatsuhara, T., Muro, H., Matsuda, Y. et. al.:** J. Chromatogr., 1983; 277, 356.
16. **Fischer, E., Wittfoht, W., Nau, H.:** Biomed. Chromatogr., 1992; 6, 24.
17. **Nakajima, M., Yamato, S., Shimada, K. et. al.:** Ther. Drug Monit., 2000; 22, 716.
18. **Levy, R. H., Martis, L., Lai, A. A.:** Anal. Lett., 1978; 257.
19. **Kumps, A., Mardens, Y.:** Clin. Chem., 1980; 26, 1759.
20. **Odusote, K. A., Sherwin, A. L.:** Ther. Drug Monit., 1981; 103.
21. **Lin, W., Kelly, A. R.:** Ther. Drug Monit., 1985; 7, 336.
22. **Wohler, A., Shannon, P. A.:** J. Anal. Toxicol., 1997; 21, 306.
23. **Kline, W. F., Enagonio, D. P., Reeder, D. J. et. al.:** J. Liq. Chromatogr., 1982; 5, 1697.
24. **Nakamura, M., Kondo, K., Nishioka, R. et. al.:** J. Chromatogr., 1984; 310, 450.
25. **Lovett, L. J., Nygard, G. A., Erdmann, G. R. et. al.:** J. Liq. Chromatogr., 1987; 10, 687.
26. **Liu, H., Forman, L. J., Montoya, J. et. al.:** J. Chromatogr., 1992; 576, 163.
27. **Hara, S., Kamura, M., Inoue, K. et. al.:** Biol. Pharm. Bull., 1999; 22, 975.
28. **Rukhadze, M. D., Gonashvili, M. V., Zirakishvili, A. N. et. al.:** Pharm. Chem. J., 2002; 36, 45.
29. **Lin, M. C., Kou, H. S., Chen, C. C. et. al.:** J. Chromatogr. B, 2004; 810, 169.
30. **Belin, G. K., Krähenbühl, S., Hauser, P. C.:** J. Chromatogr. B, 2007; 847, 205-209.
31. **Lee, K. J., Heo, K. S., Kim, N. J. et. al.:** J. Chromatogr., 1992; 608, 243-250.
32. **Makino, K., Goto, Y., Sueyasu, M. et. al.:** J. Chromatogr. B, 1997; 695, 417-425.
33. **Kataoka, Y., Makino, K., Oishi, R.:** Electrophoresis, 1998; 19, 2856-2860.
34. **Pucci, V., Mandrioli, R., Raggi, M. A.:** Electrophoresis, 2003; 24, 2076-2083.
35. **Jin, L. J., Wang, T. L., Li, S. F. Y.:** Electrophoresis, 1999; 20, 1856-1861.
36. **Ólvecká E., Koníková M., Grobuschek N. et. al.:** J. Sep. Sci., 2003; 26, 693-700.
37. **Brozmanová, H., Grundmann, M.:** Stanovení kyseliny valproové metodou GLC, nepublikované výsledky, 1990.

## NOVÉ KNIHY

Serno, P., Kleinebudde, P., Knop, K.: **Granulieren: Grundlagen, Verfahren, Formulierungen.** Aulendorf, ECV, Cantor Verlag, 2007, 200 s., 124 obr., 17 tab. Cena 48 Euro.

Nová monografie zaměřená na metody granulování je prvním svazkem z edice APV basic, v níž budou vydávány postupně další svazky jako doplněk a učební texty pro odborné kurzy APV v Německu. Následující svazky z této edice se zaměří na farmaceutické využívání sušení, lyofilizačních metod a na problematiku úpravy vody pro farmaceutické používání. Tato monografie pojednává o výrobě zrněných prášků, které jsou nezbytnou součástí tablet, příp. lze je adjustovat do tvrdých želatinových tobolek a mezi nimi lze také rozlišit tzv. pelety (částice získávané nabalováním vrstev na jádra).

Problematika granulace se probírá v 8 hlavních kapitolách vnitřně členěných na další tematické celky a se závěrečným dalším soupisem odborné literatury (celkem je zde 142 citací). V úvodu publikace je její stručné posláná a předmluvy všech

spoluautorů. V prvních dvou kapitolách jsou podrobně probírány teoretické základy vlastních dějů ať za vlhké nebo suché granulace a uvedeny i metody vhodné pro hodnocení všech vlastností granulátů (podle požadavků v nejnovějších lékopisech a normách). Další kapitoly se zaměřují na novější metody přípravy granulátů, a to jak při vlhké granulaci ve vzduchu nebo při mísení (v jedné nádobě), tak i způsoby granulace za sucha. Na to navazuje stručná kapitola o způsobech správné volby při granulaci a kapitola, která se zaměřuje na některé speciální způsoby: kontinuální postupy, zrnění ve vakuu s organickými rozpouštědly, granulace tavenin aj. Závěrečná kapitola se věnuje přednostem pelet, jejich metodice výroby – extruzí, sferonizací aj. Text kapitol doplňují obrázky výrobních zařízení, tabulky, grafy a matematické vzorce vhodné pro hodnocení jakosti granulátů.

Recenzovaná publikace shrnuje teoretické i praktické poznatky z oblasti farmaceutické granulace jak za vlhka, tak za sucha a uvádí nové možnosti při výrobě pelet obsahujících vybraná léčiva a jejich přednosti při správné aplikaci.

J. Malý