

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Izotachforetické stanovení vybraných antidepresiv

Kateřina Kosová

Diplomová práce

2021

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Kateřina Kosová**
Osobní číslo: **C17446**
Studijní program: **N3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Bioanalytik**
Téma práce: **Izotachforetické stanovení vybraných antidepresiv**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

ZÁSADY PRO VYPRACOVÁNÍ

1. Seznamte se s problematikou depresivních poruch a možnostmi jejich léčby pomocí antidepresiv. Podrobněji se zaměřte na skupinu antidepresiv s účinkem na serotoninový systém.
2. Provedte literární rešerši na téma stanovení antidepresiv typu SSRI v různých matricích, zvláštní pozornost věnujte jejich stanovení elektromigračními separačními technikami.
3. V praktické části se zaměřte na stanovení antidepresiv v lécích pomocí izotachoforézy.

Rozsah pracovní zprávy: 35 s.
Rozsah grafických prací: dle potřeby
Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Martin Bartoš, CSc.**

Katedra analytické chemie

Konzultant diplomové práce: **Ing. Michaela Janečková, Ph.D.**

Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **18. prosince 2020**

Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.

děkan

prof. Mgr. Roman Kand'ár, Ph.D.

vedoucí katedry

Prohlašuji:

Práci s názvem Izotachoforetické stanovení vybraných antidepresiv jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 28. 07. 2021

Kateřina Kosová

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala panu Ing. Martinu Bartošovi, CSc. a Ing. Michaele Janečkové, PhDr. za rady, připomínky a metodické vedení mé diplomové práce.

ANOTACE

Předložená diplomová práce se zabývá problematikou depresivních poruch a jejich léčby pomocí antidepresiv. Tato práce se dále věnuje stanovení antidepresiv typu SSRI pomocí separačních technik, se zaměřením na elektromigrační techniky, především kapilární izotachoforézu. Experimentální část práce je zaměřena na optimalizaci izotachoforetické metody vhodné pro stanovení antidepresiv typu SSRI.

KLÍČOVÁ SLOVA

Depresivní poruchy, Deprese, Antidepresiva, SSRI, Izotachoforéza.

TITLE

Izotachoretic determination of selected antidepressant.

ANNOTATION

This thesis deals with depressive disorders and their treatment with antidepressants. In this work determination of SSRI-type antidepressants by using separation techniques, especially electromigration separation techniques is mentioned. Experimental part is focused on optimization of isotachophoretic method which is suitable for determination of SSRI-type antidepressants.

KEYWORDS

Depression, Depression, Antidepressant, SSRI, Isotachopheresis.

OBSAH

ÚVOD.....	15
1. TEORETICKÁ ČÁST.....	16
1.1. Duševní zdraví.....	16
1.2. Depresivní poruchy.....	16
1.2.1. Deprese.....	17
1.3. Antidepressiva.....	18
1.3.1. Historie.....	19
1.4. Rozdělení antidepressiv.....	21
1.5. Inhibitory zpětného vychytávání monoaminů.....	23
1.5.1. Antidepressiva I. generace.....	23
1.5.2. Antidepressiva II. generace.....	24
1.5.3. Antidepressiva III. generace.....	25
1.5.3.1. SSRI – specifické inhibitory zpětného vychytávání serotoninu.....	25
1.5.3.2. ASRI – alosterická inhibice zpětného vychytávání serotoninu.....	31
1.5.3.3. SARI – antagonisté serotoninu a inhibitory zpětného vychytávání serotoninu.....	32
1.5.3.4. NARI – inhibitory zpětného vychytávání noradrenalinu.....	32
1.5.4. Antidepressiva IV. generace.....	33
1.5.4.1. SNRI – inhibitory zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu.....	33
1.5.4.2. NaSSa – noradrenergní a specificky serotonergní antidepressiva.....	35
1.5.4.3. DNRI – inhibitory zpětného vychytávání dopaminu a noradrenalinu.....	36
1.6. Antidepressiva přímo ovlivňující receptory.....	36
1.6.1. Blokátory α_2 -adrenoreceptorů.....	36
1.6.2. Agonisté 5-HT receptorů.....	37
1.6.3. MASSA – agonisté melatoninových receptorů a antagonisté serotoninových receptorů	
38	
1.7. Inhibice biodegradace – inhibitory monoaminoxidázy (MAO).....	38

1.8.	Ostatní antidepresiva.....	39
1.8.1.	SRE – stimulanty zpětného vychytávání serotoninu.....	39
1.8.2.	Inhibitory zpětného vychytávání - RUI.....	39
1.9.	Mechanismus účinku	40
1.9.1.	Mechanismus účinku thymoleptik	40
1.9.2.	Mechanismus účinku thymoeretik	42
1.9.3.	Interakce antidepresiv s membránovými složkami	43
1.10.	Farmakokinetika antidepresiv	44
1.11.	Toxicita a nežádoucí účinky.....	45
1.11.1.	Toxicita antidepresiv	45
1.11.2.	Nežádoucí účinky	46
1.12.	Terapeutické monitorování léčiv – TDM.....	47
1.13.	Metody stanovení antidepresiv	47
1.13.1.	Úprava vzorku	47
1.13.2.	Chromatografie.....	47
1.13.2.1.	Plynová chromatografie – GC.....	48
1.13.2.2.	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie – HPLC.....	49
1.13.3.	Elektromigrační separační metody	50
1.13.3.1.	Kapilární elektroforéza – CE.....	50
1.13.3.2.	Micelární elektrokinetická kapilární chromatografie – MEKC.....	51
1.13.3.3.	Izotachoforéza – ITP	52
2.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	53
2.1.	Použité chemikálie.....	53
2.2.	Pracovní podmínky ITP analýzy.....	53
2.3.	Přístroje a zařízení	53
2.3.1.	Elektroforetický analyzátor EA 102.....	54
2.4.	Příprava roztoků.....	54

2.4.1.	Příprava kalibračních roztoků	54
2.5.	Elektrolytové systémy / Elektrolyty pro ITP analýzu.....	55
2.5.1.	Elektrolytový systém I	55
2.5.2.	Elektrolytový systém II	55
2.6.	Reálné vzorky	55
2.6.1.	Příprava reálných vzorků k analýze	56
2.6.1.1.	Příprava celých tablet	56
2.6.1.2.	Příprava půlených tablet	57
3.	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	59
3.1.	Optimalizace podmínek separace	59
3.2.	Validace metody	66
3.2.1.	Stanovení opakovatelnosti	66
3.2.2.	Kalibrační závislosti.....	67
3.2.3.	Mez detekce a kvantifikace	68
3.2.4.	Stanovení výtěžnosti	68
3.2.5.	Analýza reálných vzorků.....	69
3.2.5.1.	Analýza celých tablet	69
3.2.5.2.	Analýza půlených tablet	70
	ZÁVĚR	72
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	74

SEZNAM ZKRATEK

ADHD	porucha pozornosti s hyperaktivitou
ASRI	alosterické inhibitory zpětného vychytávání serotoninu
CE	kapilární elektroforéza
CEC	kapilární elektrochromatografie
CGE	kapilární gelová elektroforéza
CIEF	kapilární isoelektrická fokusace
CIT	citalopram
CNS	centrální nervová soustava
COMT	katechol-o-methyltransferáza
CZE	kapilární zónová elektroforéza
DA	dopamin
DAD	detektor s diodovým polem
DARI	inhibitory zpětného vychytávání dopaminu
DNRI	inhibitory zpětného vychytávání noradrenalinu a dopaminu
DOPA	dioxyfenylalanin
ESI	elektrosprejová ionizace
GABA	kyselina gamaaminomáselná
GAD	generalizovaná úzkostná porucha
GC	plynová chromatografie
HFBA	heptafluorbutanová kyselina
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
MAO	inhibitory monoaminoxidasy
ITP	kapilární izotachoforéza
LC	kapalinová chromatografie
LE	„leading“ electrolyte
LLE	extrakce kapalina-kapalina
MAO	monoaminoxidasa
MASSA	agonisté melatoninových receptorů a antagonisté serotoninových receptorů
MEKC	micelární elektrokinetická chromatografie
MS	hmotnostní spektrometrie
NA	noradrenalin

NACE	nevodná kapilární elektroforéza
NARI	inhibitory zpětného vychytávání noradrenalinu
NaSSa	noradrenergní a specifická serotoninergní antidepresiva
NATT	noradrenalový transportér
OCD	obsedantně kompulzivní choroba
PTSD	posttraumatická stresová porucha
R	„reuptake“ – zpětné vychytávání
RIMA	reverzibilní inhibitory MAO-A
RUI	inhibitory zpětného vychytávání (třezalka tečkovaná)
S	serotonin
SARI	serotoninový antagonist a inhibitor zpětného vychytávání
SNRI	inhibitory zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu
SPE	extrakce na tuhé fázi
SRE	stimulanty zpětného vychytávání serotoninu
SSRI	inhibitory zpětného vychytávání serotoninu
TCA	tricyklická antidepresiva
TE	„terminating“ electrolyte
TeCA	tetracyklická antidepresiva
TPM	terapeutické monitorování léčiv
TRP	tryptofan
TYR	tyrosin
UV	ultra violet (ultrafialová oblast)
WHO	světová zdravotnická organizace (world health organization)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Epizoda depresivní poruchy. ⁷	17
Obrázek č. 2: Chemická struktura iproniazidu. ²⁰	20
Obrázek č. 3: Chemická struktura imipraminu. ²¹	20
Obrázek č. 4: Chemická struktura chlorpromazinu. ²²	20
Obrázek č. 5: Chemická struktura citalopramu. ³⁶	27
Obrázek č. 6: Chemická struktura fluoxetinu. ³⁷	28
Obrázek č. 7: Chemická struktura fluvoxaminu. ³⁹	29
Obrázek č. 8: Chemická struktura paroxetinu. ⁴¹	30
Obrázek č. 9: Chemická struktura sertralinu. ⁴³	31
Obrázek č. 10: Chemická struktura escitalopramu. ⁴⁵	32
Obrázek č. 11: Účinky blokátorů α_2 -adrenoreceptorů. ⁴⁷	37
Obrázek č. 12: Chemická struktura noradrenalinu. ⁵³	41
Obrázek č. 13: Chemická struktura dopaminu. ³⁷	41
Obrázek č. 14: Chemická struktura serotoninu. ³⁷	41
Obrázek č. 15: Schéma noradrenergické centrální synapse. ⁵¹	43
Obrázek č. 16: Balení potahových tablet Asentra 100mg (sertralin hydrochlorid). ⁷⁹	56
Obrázek č. 17: Balení potahových tablet Elicea 10mg (escitalopram oxalát). ⁸⁰	56
Obrázek č. 18: Ukázka dělení tablet půličkou (Asentra, Elicea).	57
Obrázek č. 19: Ukázka dělení tablet ručně (Asentra, Elicea).	58
Obrázek č. 20: Délka zón s měnícím se pH - citalopram.	59
Obrázek č. 21: Délka zón s měnícím se pH – escitalopram.	60
Obrázek č. 22: Délka zón s měnícím se pH – paroxetin.	60
Obrázek č. 23: Délka zón s měnícím se pH – fluvoxamin.	60
Obrázek č. 24: Délka zón s měnícím se pH – sertralin.	61

Obrázek č. 25: Izotachforeogramy jednotlivých analytů v elektrolytu o pH 5,3. Modrá křivka fluvoxamin, červená escitalopram, růžová citalopram, zelená paroxetin, hnědá sertralin.	61
Obrázek č. 26: Společný graf závislosti intenzity signálu na pH vedoucího elektrolytu.	62
Obrázek č. 27: Izotachforeogramy směšného standardu. Červená křivka pH vedoucího elektrolytu 4,3; modrá 4,6; růžová 5,0; zelená 5,3 a tyrkysová 5,7.....	62
Obrázek č. 28: UV-Vis spektrum citalopramu.	63
Obrázek č. 29: UV-Vis spektrum escitalopramu.	63
Obrázek č. 30: UV-Vis spektrum fluvoxaminu.	63
Obrázek č. 31: UV-Vis spektrum paroxetinu.	64
Obrázek č. 32: UV-Vis spektrum sertralinu.	64
Obrázek č. 33: UV-Vis spektrum směsi antidepresiv; pH 4,6.....	65
Obrázek č. 34: UV-Vis spektrum směsi antidepresiv; pH 5,0.....	65
Obrázek č. 35: UV-Vis spektrum směsi antidepresiv; pH 5,3.....	65
Obrázek č. 36: Analýza ITP směšného standardu; pH 5,3. Na horním obrázku je spektrofotometrická detekce při různých vlnových délkách a na dolním obrázku je vodivostní detekce.	66
Obrázek č. 37: Kalibrační závislost délky zóny na koncentraci, sertralin hydrochlorid.	67
Obrázku č. 38: Kalibrační závislost délky zóny na koncentraci, escitalopram oxalát.....	68
Obrázek č. 39: Izotachforeogram tablety Asentra 100.	70

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Rozdělení antidepresiv podle mechanismu účinku. ^{1,14,19}	22
Tabulka č. 2: Přehled jednotlivých antidepresiv a jejich obchodních názvů. ¹⁸	26
Tabulka č. 3: Seznam použitých chemikálií.	53
Tabulka č. 4: Absorpční maxima jednotlivých analytů.	64
Tabulka č. 5: Stanovení opakovatelnosti z délek zón.	66
Tabulka č. 6: Mez detekce a mez kvantifikace pro sertralin a escitalopram.	68
Tabulka č. 7: Výtěžnost metody pro sertralin a escitalopram.....	69
Tabulka č. 8: Přehled jednotlivých výsledných koncentrací sertralinu v tabletách.....	71
Tabulka č. 9: Přehled jednotlivých výsledných koncentrací escitalopramu v tabletách	71

ÚVOD

V současné uspěchané době plné stresu se pojem deprese objevuje stále častěji v mnoha různých oblastech. Pojem deprese pochází z latinského *depressio* (stlačení, potlačení). Jedná se o závažnou a dlouhotrvající poruchu psychiky, která se projevuje snížením, popř. vymizením schopnosti prožívat radost a potěšení, pokleslou náladou až patologickým smutkem. Depresi často doprovází také fyzické příznaky, které zahrnují především únavu, ale může se vyskytnout také nevolnost, zvracení, bolesti hlavy a další.

Léčba deprese zahrnuje podávání antidepresiv, často v kombinaci s psychoterapií. Antidepresiva byla uvedena na trh přibližně před 60 lety. Léčebné indikace zpočátku zahrnovaly pouze depresivní poruchu, avšak v současné době jsou využívány k léčbě mnoha dalších onemocnění. Díky rozvoji biochemických a molekulárních metod se v poslední době daří rozpoznat nové mechanismy účinku a také snižovat nežádoucí účinky léčby.

Vzhledem k rostoucímu použití antidepresiv je potřeba vyvíjet také nové analytické metody jejich stanovení, ať už z důvodu stanovení jejich obsahu v tělních tekutinách, zjišťování přítomnosti metabolitů, kontrolu kvality léčiv nebo také jejich monitorování v životním prostředí. K tomuto účelu se využívá mnoho technik. Jedná se převážně o separační techniky jako je plynová a kapalinová chromatografie, popř. kapilární elektroforéza. Jednou z možností stanovení těchto látek je také využití kapilární izotachoforézy, která v určitých případech může nahradit dražší a na přípravu vzorku náročnější kapalinovou chromatografií. Hlavní oblastí, ve které může být kapilární izotachoforéza úspěšně použita je kontrola kvality léčiv.

1. TEORETICKÁ ČÁST

1.1. Duševní zdraví

Zdraví je jedním ze základních indikátorů kvality života. Světová zdravotnická organizace (WHO) označuje zdraví jako stav kompletní fyzické, duševní a sociální pohody, ne pouze jako absenci nemoci nebo vady. Z tohoto hlediska se do zdraví promítá rozsáhlé pole dimenzí lidského bytí. Zdraví jedince není zcela kompletní, jestliže jedna z jeho základních složek není naplněna. Jedná se o velmi složitý mechanismus závisející na velkém množství dějů, struktur, vzájemných vztahů a vazeb, jež má schopnost se měnit, zanikat a znovu se obnovovat.

Naše zdraví ovlivňuje značné množství faktorů, nejvýznamnější z nich jsou faktory životního a pracovního prostředí, genetické predispozice, kvalita životního stylu a dostupnost zdravotní péče. Dohled nad duševním zdravím je zásadní pro kolektivní i individuální schopnost jedinců mimo jiné přemýšlet, vnímat a interagovat mezi sebou, a proto by měla být podpora a ochrana duševního zdraví zásadní věcí, a to na úrovni jednotlivců, komunit a společností.^{1,2,3,4,5}

1.2. Depresivní poruchy

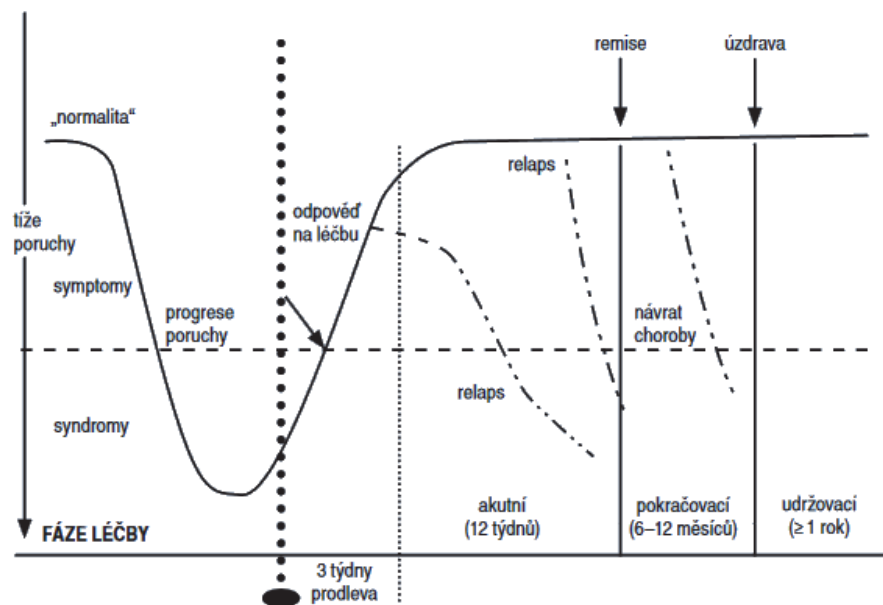
Depresivní poruchy se podle závažnosti rozlišují na několik typů a patří do kategorie afektivních poruch, tedy poruch nálady (F30 – F39). Hlavním znakem afektivních poruch je změna nálady směrem k depresi, k níž se může připojit také úzkost. Tyto poruchy mají sklon k relapsům – „znovuzplanutím“ způsobeným opětovnou stresovou situací nebo událostí, jež v minulosti proběhly.

Mezi nejpodstatnější kategorie v souvislosti s depresí patří depresivní epizoda/fáze (F32) a periodická (rekurentní) depresivní porucha (F33). Podle této klasifikace je depresivní epizoda charakterizována zhoršenou náladou, ztrátou zájmů a potěšení, smutkem, sníženou koncentrací, ale objevují se také pocity sebeobviňování a beznaděje. Výjimkou nejsou ani suicidální myšlenky a sebevražedné pokusy. Tyto epizody se v životě každého z nás mohou objevit jednou nebo také opakovaně, čemuž předcházejí životní události ovlivňující doposud normální život, stresující období, a dokonce se mohou objevit i bez zjevné příčiny. Průběh epizody depresivní poruchy je popsán na obrázku č. 1.

Dělí se, zjednodušeně řečeno, podle závažnosti, délky trvání a době rozpoznání, na lehkou mírnou, středně těžkou a těžkou depresivní fázi. U těchto fází mohou být přidruženy somatické a psychotické příznaky, není to však podmínkou. Délka depresivní epizody by měla trvat alespoň dva týdny a je doprovázena celkovou ztrátou zájmu a radosti z aktivit, které byly

obvykle příjemné. Objevují se ranní pesimistické myšlenky (pesima) ihned po probuzení a před spaním, jež způsobují poruchy spánku. Pacient ztrácí smysluplnost ve všech pracovních, domácích i společenských aktivitách. Pro tuto depresivní epizodu jsou stanovena diagnostická kritéria a musí být splněn určitý počet specifických znaků potvrzující výskyt depresivní fáze.

Periodická (rekurentní) depresivní porucha (F33) je charakterizována opakovanými epizodami deprese, kdy jednotlivé fáze trvají průměrně šest měsíců a jsou odděleny obdobím minimálně dvou měsíců bez jakýchkoliv příznaků poruch nálady. Stejně jako u depresivní epizody, rozděluje se rekurentní depresivní porucha na mírnou, středně těžkou a těžkou s psychotickými příznaky nebo bez nich. ^{6,1,2,7,8}



Obrázek č. 1: Epizoda depresivní poruchy.⁷

1.2.1. Deprese

Deprese je onemocnění, které je ve světě velmi rozšířené, a jeho výskyt je v poslední době stále častější. Tuto skutečnost dokazuje přes 350 milionů lidí všech věkových kategorií trpících touto poruchou. Nejedná se o krátkodobý stav projevující se smutnou náladou, lítostí či nespokojeností, ale o závažnou nemoc s psychickými i tělesnými projevy trvající po delší dobu. Mezi projevy psychické patří únava, beznaděj či snížení zájmů a aktivit. Bolesti hlavy a zad, změny chuti k jídlu či nespavost se řadí mezi projevy fyzické.

K rozvoji tohoto onemocnění přispívá více faktorů, z nichž jeden je vždy hlavním spouštěčem. Stres, tlak v práci, málo času na soukromé aktivity, zanedbávání péče o fyzické a psychické zdraví a mnoho dalších rizikových faktorů, patří do života v dnešní uspěchané době.

Riziko pro rozvoj deprese je u žen okolo 20 % a u mužů okolo 10 %. Deprese, jež vznikají jako reakce na reálné podněty (nemoc, odchod blízkého člověka či neštěstí) se nazývají deprese

reaktivní. Naproti tomu deprese endogenní spočívají v biochemické poruše, jež se projevuje neschopností řešit běžné každodenní úkoly a zvládat obvyklou zátěž. Do třetí skupiny spadají deprese periodické spojené s bipolárními psychózami, jež se projevují charakteristickým cyklickým střídáním stavů manických (hyperaktivita, nadměrná veselost, zvýšené sebevědomí) a stavů depresivních.

Podle dat Světové zdravotnické organizace (WHO) je z ekonomického hlediska deprese jedno z 5 nejdražších onemocnění na světě. Primární záměr je léčba deprese, a to v takové míře, že dokud se nevyléčí, nezlepší se v dlouhodobém horizontu ani tělesný stav pacientů. Deprese ovlivňuje také průběh přidružených nemocí, jako např. kardiovaskulární onemocnění, roztroušenou sklerózu, autoimunitní poruchy, infekce či onkologické onemocnění a mortalitu pacientů, která je 6x vyšší než v běžné populaci.

Jak již bylo zmíněno, většina z pacientů, jež depresí onemocněli, jí onemocní v budoucnu znovu. Jedná se o chronický průběh s periodicky se opakujícími epizodami, které jsou pokaždé delší a šance na úspěšnou léčbu je o něco složitější.

Základem je včasná a správná diagnostika následovaná účinnou léčbou antidepresivy v kombinaci s psychoterapií. Je třeba brát ohled na skutečnost, že antidepresiva vykazují latenci v nástupu účinku, která činí 2-3 týdny, než začnou zcela působit. V tomto období je proto velmi důležitá podpůrná terapie vykazující citlivý přístup a pocit pochopení, která pomáhá pacientovi při zorientování se v problémech i ve svém zdravotním stavu. ^{1,2,6,5,9,8,7,10,11,12,13}

1.3. Antidepresiva

Antidepresiva patří do skupiny léků nazývaných psychofarmaka (tento pojem je odvozený ze slov psyché (duše) a farmakon (lék)). Jedná se o látky, jež působí hlavně na centrální nervový systém a tím ovlivňují psychické funkce člověka. Antidepresiva jsou farmaka, která působí hlavně na patologicky pokleslou depresivní náladu a další přidružené poruchy, jako jsou panická porucha, obsedantně kompulzivní porucha (OCD), posttraumatická stresová porucha (PTSD), generalizovaná úzkostná porucha (GAD). Dále se mohou tyto léky podávat při léčbě nespavosti, poruch příjmu potravy, chronické bolesti, úzkosti, při neklidu a strachu, či celkového nezájmu. Antidepresiva mají široké spektrum užití a z tohoto důvodu není možné je v této práci zahrnout v plném rozsahu.

Za původ depresí se považuje snížený obsah neurotransmiterů noradrenalinu, serotoninu a dopaminu v oblasti příslušných synapsí. Antidepresiva zvyšují koncentraci neurotransmiterů

a tím potlačují jejich nedostatek. Podrobněji je mechanismus antidepresiv popsán v kapitole 1.9.

Cílem každého ošetřujícího lékaře je navrácení psychického zdraví pacienta a zlepšení nálady pomocí terapie založené, jak na spolupráci s terapeutem pomocí psychoterapie, tak na léčbě pomocí antidepresiv. Avšak příslušná léčiva se využívají i v jiných oborech, kdy depresivní stav pacienta nastal v důsledku jiného onemocnění. V tomto případě je sporné, zdali je vhodné používat antidepresiva při léčbě nepsychotických poruch. Je všeobecně známo, že se antidepresiva podávají v těchto případech příliš často a bez patřičných zdůvodnění.^{1,2,14,15,16,12,17}

1.3.1. Historie

Každá nemoc i deprese má svoji historii a provází lidstvo již od starověku. Významný řecký lékař Hippokrates (4. stol. p.n.l.) při léčbě zastával teorii rovnováhy čtyř základních tělesných šťáv, přičemž nadměrná koncentrace černé žluči v mozku (*cholé*) byla příčinou duševní poruchy *melancholie*.

Na počátku 20. století byla melancholie nahrazena výrazem *deprese*, jež je práce švýcarského psychiatra Adolfa Meyera (1866–1950).

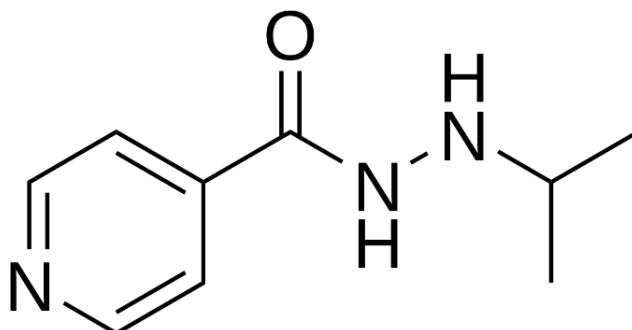
Antidepresiva se začala dostávat do podvědomí již v 70. letech 19. století, konkrétně v roce 1874, kdy Emil Fisher náhodně objevil fenylylhydrazin. Molekula, jež v reakci s alkoholem nebo ketonem dává aromatický heterocyklický indol. Za tento objev se stal držitelem Nobelovy ceny a tzv. hydrazinové deriváty se používají ve výrobě farmaceutik a barviv do dnes.

V 50. letech 20. století si lékaři všimli antidepresivních (psychostimulačních) účinků hydrazinových derivátů, konkrétně iproniazidu, a to jako nežádoucích účinků při léčbě tuberkulózy. Po tomto objevu byly iproniazid a další hydrazinové deriváty zavedeny v léčbě depresí. V roce 1956 začíná období psychofarmakoterapie, tedy aplikace farmak pro léčbu psychiatrických nemocí. Chlorpromazin jako první syntetizované a užívané antipsychotikum užívané k léčbě psychiatrických pacientů.

K dalšímu rozvoji antidepresiv došlo v 60. letech 20. století objevem antidepresivních účinků imipraminu, jež ovlivňuje především zpětné vychytávání noradrenalinu. Tímto způsobem byly položeny základy léčby deprese. Iproniazid a imipramin patří do základních skupin antidepresiv, tzv. thymoleptik a thymoeretik. Struktury obou sloučenin jsou znázorněny na obrázcích č. 2 - 4.

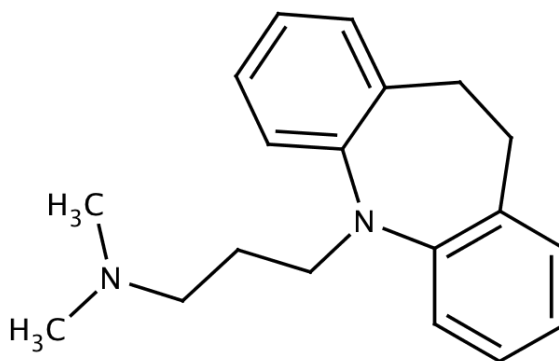
V 80. letech 20. století byl objeven serotonin, a to především díky rozvoji molekulární biologie. Následoval nástup selektivních blokátorů serotoninu a jejich derivátů, byly

objasňovány molekulární mechanismy deprese a v neposlední řadě byly připravovány nové látky. Nežádoucí účinky byly postupně eliminovány, a tak mohlo vzniknout několik generací antidepresiv, jež jsou známé do dnes.^{18,19}



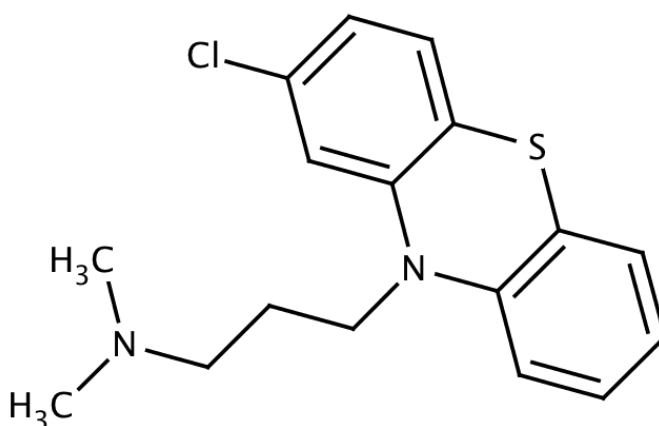
Obrázek č. 2: Chemická struktura iproniazidu.²⁰

HCl



Obrázek č. 3: Chemická struktura imipraminu.²¹

HCl



Obrázek č. 4: Chemická struktura chlorpromazinu.²²

1.4. Rozdělení antidepresiv

Antidepresiva jsou chemicky různorodá farmaka a můžeme je rozdělit na několik skupin podle svého biochemického účinku, především podle toho, jakým způsobem zvyšují koncentraci neurotransmiterů (noradrenalinu, serotoninu a dopaminu) v synaptické oblasti.

Základní rozdělení antidepresiv je na thymoleptika a thymoeretika. Do první kategorie patří tricyklická (TCA) a tetracyklická antidepresiva (TeCA), což jsou antidepresiva I. generace, mezi které patří především imipramin a amitriptylin. Následují antidepresiva II. generace, jejichž nejznámějším zástupcem je maprotilin. Mezi antidepresiva III. generace tzv. inhibitory zpětného vychytávání serotoninu jednoho neurotransmiteru řadíme specifické inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI z anglického *Selective Serotonin Reuptake Inhibitors*), alosterické inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (ASRI z anglického *Allosteric Serotonin Reuptake Inhibitors*), antagonisty serotoninu a inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SARI z anglického *Serotonin Antagonist Reuptake Inhibitors*), inhibitory zpětného vychytávání noradrenalinu (NARI z anglického *noradrenaline antagonist reuptake inhibitors*) a inhibitory zpětného vychytávání dopaminu (DARI z anglického *dopamine antagonist reuptake inhibitors*). Poslední skupinou jsou antidepresiva IV. generace, jež jsou novější formou antidepresiv působících jako inhibitory zpětného vychytávání dvou neurotransmiterů, v případě že se jedná o serotonin a noradrenalin, nazýváme je selektivní inhibitory serotoninu a noradrenalinu (SNRI z anglického *Serotonin and Noradrenaline Reuptake Inhibitors*), popř. noradrenergní a specifická serotoninergní antidepresiva (NaSSa z anglického *Noradrenergic and Specific Serotonergic Antidepressant*). V případě, že těmito dvěma neurotransmitery jsou dopamin a noradrenalin, jedná se o selektivní inhibitory dopaminu a noradrenalinu (DNRI z anglického *Dopamine and Noradrenaline Reuptake Inhibitors*).

Druhá kategorie představuje thymoeretika (IMAO), což jsou inhibitory monoaminoxidasy (MAO), enzymu odbourávajícího neurotransmitery. Vedoucí látkou této skupiny léčiv je iproniazid. Thymoeretika lze dále rozdělit podle funkční skupiny na hydrazinové a nehydrazinové, podle reverzibility inhibice na reverzibilní a ireverzibilní, podle selektivity na MAO-A a MAO-B, a také na neselektivní a selektivní IMAO. Významnou skupinu léčiv z výše uvedených thymoeretik představují především reverzibilní inhibitory MAO-A (RIMA z anglického *Reversible Inhibitors of Monoamine Oxidase A*). Přehledně jsou antidepresiva znázorněna v tabulce č. 1. ^{18,23,14,15,24,25,7,1,16,10}

Tabulka č. 1: Rozdělení antidepresiv podle mechanismu účinku.^{1,14,19}

Inhibice vychytávání monoaminů		
I. generace	tricyklicka tetracyklicka	imipramin amitriptylin nortriptylin klomipramin dosuleptin
II. generace	heterocyklicka	maprotilin
III. generace	SSRI	fluvoxetin, fluvoxamin citalopram paroxetin sertralin escitalopram
IV. generace	SARI	trazodon
	NARI	reboxetin atomoxetin
	DARI	amineptin
	SNRI	venflavaxin milnacipran duloxetin
	NaSSa	mianserin mirtazapin
	DNRI	bupropion
Přímé ovlivnění receptorů		
	α_2 - blokátory	mianserin mirtazapin
	Agonisté 5-HT _{1A}	busprion geprion
	MASSA	agomelatin
Inhibice biodegradace		
Inhibitory monoaminoxidázy:	1. generace neselektivní ireverzibilní 2. generace selektivní	tranylcypromin MAO -A: moklobemid MAO - B: selegin
Ostatní		
	SRE	tianeptin
	RUI	extrakt z třezalky
	MASSA	agomelatin

1.5. Inhibitory zpětného vychytávání monoaminů

1.5.1. Antidepresiva I. generace

Hlavními zástupci této skupiny jsou tricyklická (TCA) a tetracyklická antidepresiva (TeCA). Tyto látky jsou z hlediska historie nejstarší skupinou antidepresiv, jejichž mechanismus účinku spočívá v inhibici zpětného vychytávání noradrenalinu a serotoninu v různém poměru, čímž se zvyšuje jejich koncentrace v synaptické štěrbině. Další vlastností je blokáda muskarinových M_1 -, histaminových H_1 -, adrenalinových α_1 -receptorů v CNS a na periférii. Blokáda receptorů však způsobuje nežádoucí účinky, kterých mají tato antidepresiva velké množství. Podrobněji je o nežádoucích účincích zmíněno v kapitole 1.6.

Jsou určena pro léčbu těžkých a rezistentních forem deprese, dále panické, úzkostné a fobické poruchy, mentální bulimie a dalších onemocnění. Jejich užívání se nedoporučuje při hypertrofii prostaty, zácpě, hypotenzi, kardiálních onemocněních, demenci a dalších.

První pozitivní účinky nastupují po 3 – 6 týdnech užívání, a proto je nezbytné dodržovat užívání a mít trpělivost. K úspěšnému doléčení depresivní epizody je nezbytná doba podávání léčiva ve stabilní dávce přinejmenším 6 měsíců. ^{1,14,15,18,2,26,27,19}

Klomipramin

Je to derivát imipraminu, jež se používá v léčbě depresivních a úzkostných poruch, obsedantně kompulzivní poruchy, autismu a předčasné ejakulace. Má více serotonergní a méně noradrenergní účinek a zároveň působí anticholinergně, adrenolyticky a mírně antihistaminově. ^{1,24,27,18,}

Amitriptilin

Je využíván při léčbě deprese, panické a fobické poruchy, bulimie a poruchy pozornosti s hyperaktivitou a dalších poruch. Má silnější anticholinergní, adrenolytický a sedativní-antihistaminový účinek, což má značnou výhodu při překonávání gastrointestinálních obtíží. Vykazuje značnou toxicitu při vyšších dávkách, a proto je důležitá obezřetnost při riziku suicidálního vývoje a vzniku arytmií. ^{1,24,27,18,16}

Nortriptilin

Jedná se o metabolit amitriptilinu, jenž působí více stimulačně hlavně pro převahu noradrenergního působení. Nebezpečí suicidálních tendencí u pacientů je také velmi vysoké, stejně tak hrozí riziko kardiotoxicity. ^{1,24,27,18,16,}

Imipramin

Imipramin se po perorálním podání dobře vstřebává. Metabolizuje se metylací na dusíku a vzniká desmethylimipramin (desipramin), který je také klinicky účinný. Tento metabolit se eliminuje pomaleji než imipramin, v důsledku čehož dosahuje v krvi vyšších koncentrací, než samotný imipramin.

Bezprostředně po podání působí imipramin tlumivým a sedativním účinkem. Po delší době se rozvíjí vlastní antidepresivní účinek, kdy dochází ke zlepšení patologicky smutné nálady.

^{1,24,27,18,16}

Dosulepin

Jedná se o původní české léčivo, jež je uznávaným TCA antidepresivem. Využití nachází především v léčbě deprese, noční enurézy, algických syndromů, působí prokazatelně imunomodulačně. Má silné antihistaminové a anticholinergní působení a také vyšší noradrenergní vliv.^{1,18,16}

Dibenzepin

Řadí se mezi spolehlivá a oblíbená antidepresiva, i když vykazuje značnou toxicitu. Převažuje u něho noradrenergní účinek, naopak serotoninergní, anticholinergní a antihistaminový účinek je snížený.^{1,16,18}

1.5.2. Antidepresiva II. generace

Druhá generace antidepresiv je pacienty lépe snášena, neboť vykazují méně nežádoucích anticholinergních účinků, působí pouze na noradrenergní a serotoninergní systém. Na rozdíl od antidepresiv I. generace neovlivňují histaminové a α -adrenergní receptory, a proto je lze použít i u pacientů s hypertrofií prostaty, ischemickou poruchou srdeční a kongestivním glaukomem.^{1,2,14,16,18,15,26,24}

Maprotilin

Jedná se o léčivo, které má vyšší noradrenergní a antihistaminový sedativní účinek s mírným anticholinergním působením. Je určený především k léčbě depresivních poruch, avšak suicidální chování ovlivňuje jen velmi málo. Je značně toxický při předávkování.^{1,27}

1.5.3. Antidepressiva III. generace

Do třetí kategorie antidepressiv spadají selektivní inhibitory zpětného vychytávání pouze jednoho ze tří monoaminů – serotoninu (SSRI, SARI), noradrenalinu (NARI) a dopaminu (DARI). Ve srovnání s předchozími generacemi jsou mnohem bezpečnější při předávkování, nepůsobí výrazně sedativně, mají dlouhý vylučovací poločas, a proto je jejich dávkování jednoduché a celkově je jejich snášenlivost velmi uspokojivá. Velkou výhodou je užívání v jedné denní dávce. Z těchto důvodů jsou to v současné době léky první volby v terapii deprese. ^{1,2,14,16,26,15,18,24,28,29}

1.5.3.1. SSRI – specifické inhibitory zpětného vychytávání serotoninu

Jedná se o nejpoužívanější a nejčastěji předepisovanou skupinu antidepressiv. Všichni zástupci SSRI antidepressiv jsou lipofilní látky s různou chemickou strukturou, jenž jsou dobře absorbovány přes střevní sliznici. Kromě chemické struktury se liší i farmakokinetickými vlastnostmi, enzymovým metabolismem i interakcemi. Metabolismus probíhá pomocí specifických enzymů cytochromu P450, kam se řadí především CYP2D6, CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19, CYP2B6 a CYP1A2. O působení těchto enzymů je zmíněno dál v textu u každého zástupce SSRI

Účinnost SSRI v léčbě úzkostných a obsedantně kompulzivních poruch, panických atak, posttraumatických stresových poruch, poruch osobnosti, závislosti na návykových látkách a dalších onemocnění je velmi vysoká a opakovaně prokázána. Lépe potlačují suicidální sklony, anxieta, a také jsou účinnější v léčbě závažných depresí.

Mají nízkou afinitu k receptorům acetylcholinu, histaminu a alfa adrenergním receptorům, a tudíž vyvolávají nižší anticholinergní a kardiovaskulární nežádoucí účinky než TCA. Avšak objevují se specifické, krátkodobé nežádoucí účinky, které se u TCA neprojevují. Patří mezi ně nevolnost, zvracení, únava, bolest břicha a nechutenství. Do dlouhodobých nežádoucích účinků spadají tzv. funkční sexuální obtíže, projevující se u mužů i žen či poruchy spánku. Jelikož mají nízké teratogenní působení, je možné je užívat (kromě paroxetinu) také v graviditě a při laktaci.

Při dlouhodobém používání mají profylaktický účinek a snižují riziko další nebo opakované depresivní epizody. Dochází také ke snížení počtu beta adrenergních a serotonergních 5-HT₂ receptorů, čímž klesá aktivita („firing rate“) noradrenalinových neuronů v locus coeruleus, a proto působí SSRI proti traumatům a panickým stavům.

Kromě citalopramu a sertralinu jsou SSRI zatíženy farmakologickými a farmakodynamickými interakcemi, přičemž paroxetin, fluvoxamin a fluoxetin mohou zpomalovat metabolismus jiných léčiv. Kombinací s jinými serotonergně působícími léky (IMAO, SRI, SARI, SNRI, aj.) se projeví rychle se rozvíjející serotoninový syndrom. Tento syndrom je závažnou komplikací při léčbě a je proto nezbytné mu předcházet.
1,2,14,16,15,18,26,24,7,19,30,31,32,33,34

Syndrom z vysazení

Po náhlém vysazení především paroxetinu a fluoxetinu může nastat rozvoj tohoto syndromu, o kterém je zmíněno v článku pana MUDr. Spousty. Poukazuje na opomíjenou problematiku, jenž se týká ukončovací fáze léčby pomocí inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu (SSRI). Vhodným přístupem a předcházením je možné lépe rozpoznat a včas zareagovat na příznaky, které je potřeba zmírnit nebo odstranit. Výskyt syndromu je relativně častý a autor udává, že počet pacientů udávajících potíže se pohybuje v rozmezí od 5 % do 86 %. Toto rozmezí zahrnuje výskyt nejméně jednoho symptomu a také konkrétní druh antidepresiva. Antidepresiva ze skupiny SSRI se významně liší délkou vylučovacího poločasu a z toho vyplývá, že nejpravděpodobnější vznik syndromu se nachází u již zmiňovaného paroxetinu a fluoxetinu. Syndrom z vysazení se projevuje chřipkovými příznaky, nespavostí, nauzeou, závratěmi, neklidem, anxiétou a paresteziemi. Pro pacienta jsou to zatěžující faktory, jež vedou k obtížím, nepohodlí a výrazně tím komplikují léčbu. Vhodné řešení je včas rozpoznat příznaky ze syndromu z vysazení a předcházet dalším zbytečným komplikacím terapie.^{1,19,35}

Přehled jednotlivých zástupců pod obchodními názvy jsou vyobrazeny v tabulce č. 2.

Tabulka č. 2: Přehled jednotlivých antidepresiv a jejich obchodních názvů.¹⁸

Antidepresivum	Obchodní názvy
Fluoxetin	Deprex, Fluctin, Prozac
Fluvoxamin	Avoxin, Fevarin
Paroxetin	Paroxat, Paxil, Seroxat
Citalopram	Cipramil, Citalec, Citalex, Seropram
Escitalopram	Cipralex, Lexapro
Sertralin	Loderix, Zoloft

Citalopram

Systematický název:

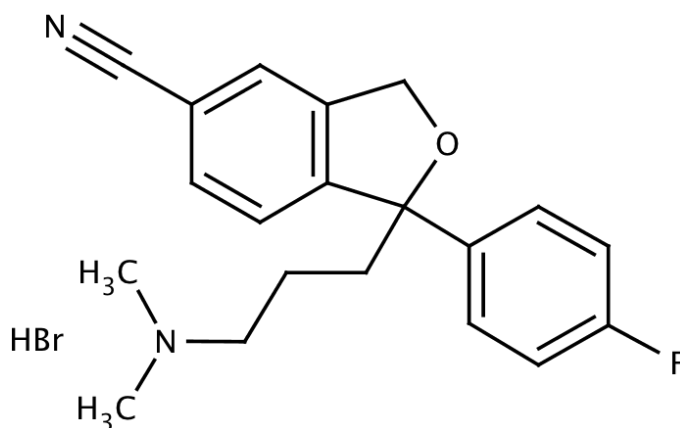
(1RS)-1-[3-(dimethylamino)propyl]-1-(4-fluorfenyl)-1,3-dihydroisobenzofuran-5-karbonitril hydrobromid ³⁶

Citalopram (CIT) je jeden ze zástupců antidepresiv skupiny SSRI. Ze systematického názvu je patrné, že je směsí enantiomerů, jenž tvoří tzv. racemickou směs. Jeden z enantiomerů (S - forma) této směsi je farmakologicky aktivní. Hlavní farmakodynamický účinek je potentní a selektivní inhibice zpětného vychytávání serotoninu (5-HT) a ani při dlouhodobém užívání nenastupuje k této inhibici tolerance.

Má zanedbatelně málo nebo žádné účinky na zpětné vychytávání noradrenalinu (NA), dopaminu (DA) a kyseliny gamaaminomáselné (GABA). Citalopram nevykazuje žádnou nebo jen velmi malou afinitu k serotoninergním (5-HT_{1A}, 5-HT₂), dopaminergním (D1, D2), α_1 α_2 , β -adrenoreceptorům, receptorům histaminu H₁ a cholinergním (muskarinovým) receptorům.

Po perorálním podání se vstřebává téměř úplně a nezávisle na příjmu potravy. Na plazmatické bílkoviny se váže společně se svými metabolity. Metabolizuje se prostřednictvím N-demetylace v játrech na účinný desmethylcitalopram, didemethylcitalopram, citalopram-N-oxid částečně prostřednictvím enzymů CYP2C19 a CYP2D6, a na neúčinný deaminovaný derivát propionové kyseliny. Veškeré účinné metabolity jsou také SSRI, avšak působí slaběji než samotný citalopram. Eliminační poločas citalopramu je 1,5 dne a je vylučován především játry, což tvoří 85 % a zbylých 15 % ledvinami. Z celkové denní dávky je přibližně 12-23 % vyloučeno v nezměněné formě močí.^{1,19,24,30,15,}

Chemická struktura citalopramu je na zobrazena na obrázku č. 5.



Obrázek č. 5: Chemická struktura citalopramu.³⁶

Fluoxetin

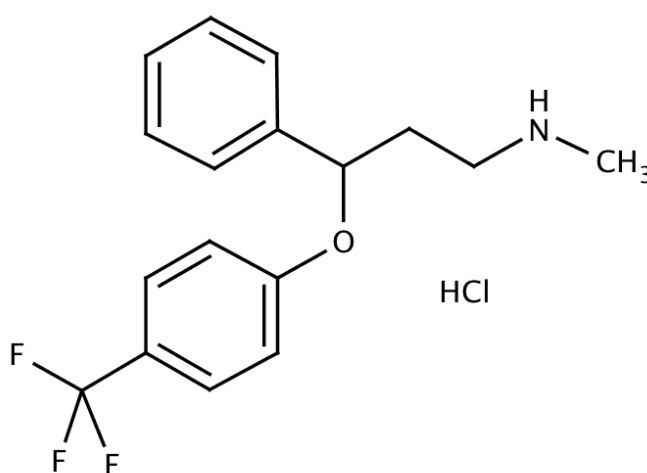
Systematický název:

(RS)-N-methyl-3-phenyl-3-[4-(trifluoromethyl)phenoxy]propan-1-amine³⁷

Fluoxetin je druhý ze zástupců antidepresiv skupiny SSRI, je racemickou směsí S a R stereoizomerů. Hlavní mechanismus jeho účinku je selektivní inhibice zpětného vychytávání serotoninu. Nemá žádnou afinitu k serotoningerním, dopaminerním, histaminerním, muskarinovým a GABA receptorům, dále k α_1 -, α_2 - a P-adrenergickým receptorům.

Po perorálním podání se z gastrointestinálního traktu dobře vstřebává a jeho biologická dostupnost není ovlivněna příjmem potravy. Váže se na plazmatické bílkoviny (okolo 95 %) a je široce distribuován. Následně je metabolizován N-demetylací primárně v játrech na aktivní metabolit norfluoxetin prostřednictvím CYP2D6 s přispěním dalších enzymů.

Fluoxetin má nejdelší vylučovací poločas z SSRI a to 3 dny. Tento fakt a přítomnost aktivního metabolitu, může mít za následek interakce s jinými léky a zároveň jeho působení přetrvává po ukončení terapie po několik týdnů. Chemická struktura fluoxetinu je zobrazena na obrázku č. 6.^{1,18,38,30,15}



Obrázek č. 6: Chemická struktura fluoxetinu.³⁷

Fluvoxamin

Systematický název:

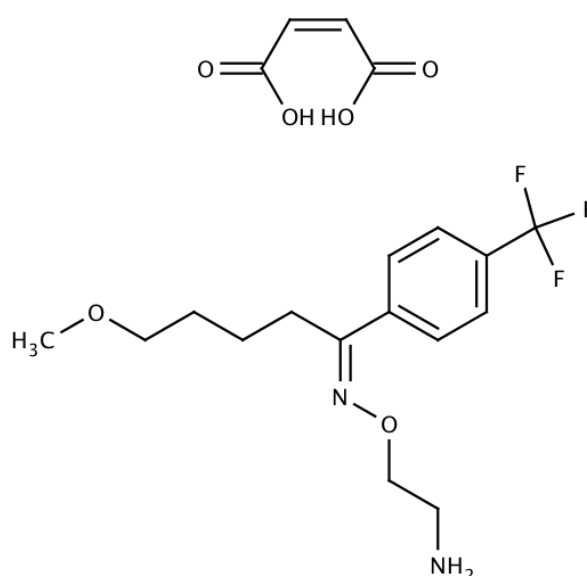
2-[(E)-[5-methoxy-1-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentylidene]amino]oxyethanamine maleate³⁹

Fluvoxamin je třetím zástupcem antidepresiv skupiny SSRI, a kromě mechanického účinku společného pro tuto kategorii, se váže i na σ_1 receptory, kde působí v terapeutických dávkách jako agonista. Je účinný inhibitor zpětného vychytávání serotoninu *in vitro* i *in vivo* a má

minimální afinitu k podtypům serotoninových receptorů. Zároveň je nepatrná jeho vazebná kapacita k alfa, beta-adrenergním, histaminergním, muskarinovým, cholinergním a dopaminergním receptorům.

Po perorálním podání je zcela vstřebán a není ovlivněn současným příjmem potravy. *In vitro* je vazba na plazmatické bílkoviny z 80 %. Podléhá rozsáhlé metabolické přeměně prostřednictvím CYP1A2 a CYP2D6 v játrech, hlavně oxidativní N-demetylace a oxidační deaminaci, kdy vznikají neaktivní metabolity vylučované ledvinami.

Podává se u OCD, kde velmi dobře přispívá k její léčbě a jeho sedativní účinek se využívá u poruch s usínáním, kdy je doporučeno podávání navečer. Chemická struktura fluvoxaminu je ukázána na obrázku č. 7. ^{1,18,40,30,15}



Obrázek č. 7: Chemická struktura fluvoxaminu.³⁹

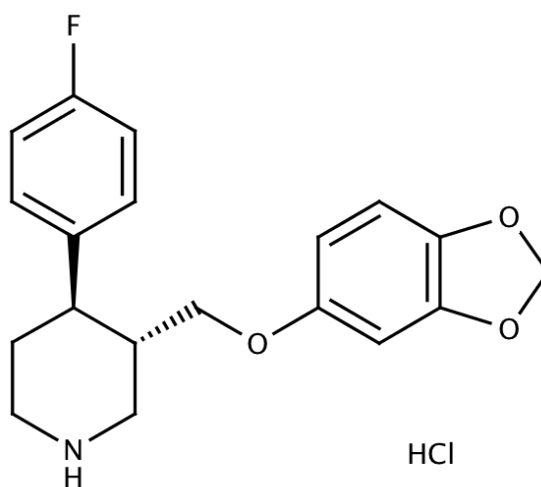
Paroxetin

Systematická název:

(3S,4R)3-[(1,3-benzodioxol-5-yl)oxy)methyl]-4-(4-fluorfenyl)piperidin⁴¹

Paroxetin je čtvrtým zástupcem antidepresiv typu SSRI. Vykazuje silný účinek ve zpětném vychytávání serotoninu (5-HT) a mírný vliv na zpětné vychytávání noradrenalinu. Kromě inhibice zpětného vychytávání serotoninu má anticholinergní (antimuskarinové) působení a dále inhibuje syntézu oxidu dusnatého. V porovnání s ostatními zástupci, především citalopramem, nevykazuje tak vysokou selektivitu k serotoninovým transportérům. Paroxetin má nízkou afinitu k cholinergním (muskarinovým) receptorům, dále k α_1 , α_2 , β - adrenergním, dopaminovým a histaminovým receptorům.

Při perorálním podání se dobře vstřebává a podléhá tzv. first-pass metabolismu, přičemž množství paroxetinu obsažené v systémové cirkulaci je menší než množství vstřebávané z gastrointestinálního traktu. Při terapeutických koncentracích se 95 % váže na plazmatické proteiny. Paroxetin je snadno vylučován ve formě farmakologicky neaktivních metabolitů (polární a konjugované produkty oxidace a methylace) působením enzymů CYP2D6 a CYP3A4. Močí se v nezměněné formě vyloučí 2 % podaného paroxetinu, avšak 64 % ve formě metabolitů a 36 % stolicí, pravděpodobně prostřednictvím žluče. Eliminační poločas je variabilní, v průměru to bývá 1 den. Jeho chemická struktura je znázorněna na obrázku č. 8.
1,42,15



Obrázek č. 8: Chemická struktura paroxetinu.⁴¹

Sertralin

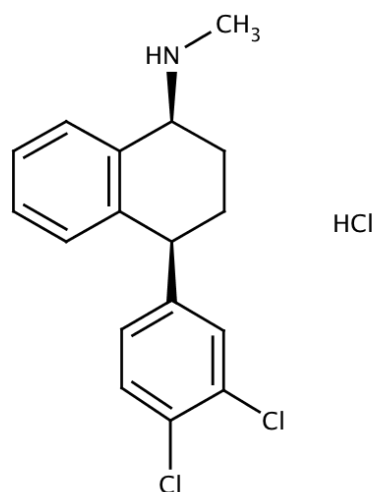
Systematický název:

(1*S*,4*S*)-4-(3,4-dichlorophenyl)-*N*-methyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-amine; v léčivech je přítomen ve formě hydrochloridu⁴³

Sertralin je nejsilnějším inhibítorem zpětného vychytávání serotoninu, a zároveň dopaminu. Slabě blokuje alfa receptory, váže se i na sigma receptory. Nevyznačuje se žádnou afinitou k muskarinovým (cholinergním), serotoninergním, dopaminergním, adrenergním, histaminergním, GABA nebo benzodiazepinovým receptorům.

Po perorálním podání vykazuje velmi dobrou vstřebatelnost a dostupnost není ovlivněna příjmem potravy. Přibližně 98 % cirkulujícího léku se váže na plazmatické bílkoviny. Sertralin je z velké části metabolizován játry na *N*-desmethylsertralin především působením enzymu CYP2B6 a v menší míře také CYP2C19, CYP2C9 a CYP3A4. Sertralin a jeho hlavní metabolit

jsou v lidském organismu metabolizovány ve značném rozsahu a jsou vylučovány ve stejném množství močí i stolicí. Chemickou strukturu sertralinu popisuje obrázek č. 9.^{1,44,15}



Obrázek č. 9: Chemická struktura sertralinu.⁴³

1.5.3.2. ASRI – alosterická inhibice zpětného vychytávání serotoninu

Escitalopram

Systematický název:

(1S)-1-[3-(dimethylamino)propyl]-1-(4-fluorophenyl)-3H-2-benzofuran-5-carbonitrile;
v léčivech je přítomen ve formě oxalátu⁴⁵

Escitalopram je derivát citalopramu, přesněji jeho purifikovaná S forma, která je jeho jediným účinným stereoizomerem. Považuje se za ASRI antidepressiva, neboť mechanismus účinku je duální, váže se na alosterické vazebné místo i na primární vazebné místo serotoninového transportéru. Výsledkem je déletrvající vazba a mnohem silnější inhibice.

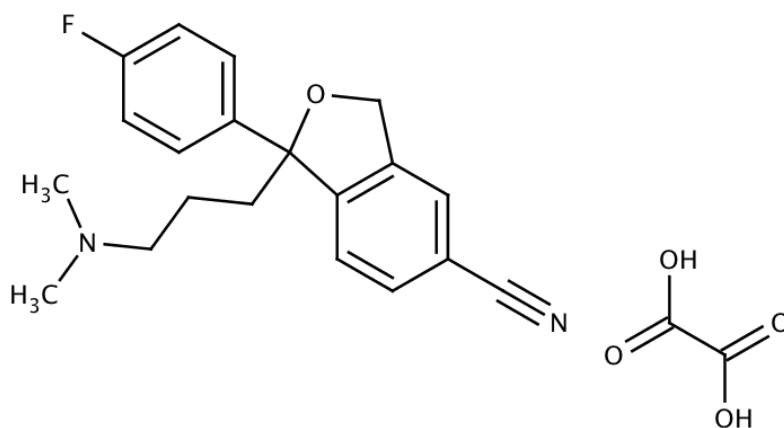
Neovlivňuje zpětné vychytávání noradrenalinu a dopaminu, ani žádné postsynaptické receptory (výjimku tvoří sigma zakončení), a proto představuje nejselektivnější SSRI antidepressivum. Jeho účinnost se využívá u těžkých depresí a depresí spojených se stavu úzkosti, dále při prevenci relapsů a recidiv depresivní poruchy, OCD a sociální fobie.

Nemá žádnou afinitu k receptorům 5HT_{1A}, 5HT₂, dopaminovým, histaminovým, muskarinovým ani cholinergním. Escitalopram je velmi dobře tolerován, ale mohou se v malé míře objevit nežádoucí účinky – únava, nevolnost, průjem, sucho v ústech, poruchy ejakulace, cefalgie, insomnie či somnolence.

Absorpce léčiva je zcela úplná a nezávislá na příjmu potravy. Látková přeměna probíhá v játrech, kde se escitalopram biotransformací zprostředkovanou enzymatickým systémem

CYP2C19, CYP3A4 a CYP2D6 metabolizuje na demetylované a didemetylované metabolity (oba jsou farmakologicky aktivní).

Eliminační poločas činí přibližně 30 hodin, poté jsou metabolity společně s escitalopramem eliminovány játry a ledvinami, z organismu jsou vyloučeny močí. Na obrázku č. 10 je znázorněna chemická struktura escitalopramu.^{1,46,15}



Obrázek č. 10: Chemická struktura escitalopramu.⁴⁵

1.5.3.3. SARI – antagonisté serotoninu a inhibitory zpětného vychytávání serotoninu

Mají zdvojený serotoninový účinek, působí jako inhibitory zpětného vychytávání serotoninu, a navíc jako antagonisté serotoninu (serotonine agonists/reuptake inhibitors). Jejich účinek je antidepresivní a anxiolytický. Příznivě ovlivňují nespavost, neboť mají sedativní až hypnotický vliv.

Hlavním zástupcem používaným v praxi je **trazodon**. Ten stejně jako SSRI selektivně inhibuje zpětný příjem serotoninu do nervového zakončení na presynaptické úrovni.^{1,2,14,}

1.5.3.4. NARI – inhibitory zpětného vychytávání noradrenalinu

Selektivně zabraňují vychytávání noradrenalinu zpět do nervové buňky, ze které byl uvolněn, a to má za následek delší dobu působení na receptory cílové nervové buňky.

Působení na noradrenalinovou transmissi je účinné v léčbě depresivních poruch a zlepšuje nemotivovanost, apatii a útlum. Nemají sedativní účinky, ale mohou provokovat přesmyk do mánie či záchvatu.^{1,2,14,15}

Reboxetin

Náleží mezi specifické inhibitory zpětného vychytávání noradrenalinu a jeho antidepresivní účinky jsou spolehlivé. Prospěšný vliv má především v léčbě utlumených depresí, neboť má stimulační účinek. Pacienty bývá dobře snášen, avšak mohou se objevit nežádoucí účinky jako je sucho v ústech, zácpa, neklid, úzkost, cefalgie, dysurie a insomnie. Při předávkování bývá bezpečný a nemá velké množství farmakokinetických interakcí. Syndrom z vysazení se může objevit při náhlém ukončení léčby. V České republice je v současné době jeho distribuce pozastavena. ^{1,18,15}

Atomoxetin

Atomoxetin je derivát fenoxypylaminu. Původně byl vyvíjen jako antidepresivum, avšak nečekaně prokázal dobrý vliv při léčbě ADHD u dětí a dospívajících. Mechanismus účinku je založen na vysoce selektivní inhibici presynaptického noradrenalinového transportéru. Zvýšení koncentrace noradrenalinu zlepšuje soustředění a potlačuje hyperaktivitu. Bývá dobře snášen, ovšem mohou se objevit nežádoucí účinky jako je nechutenství, snížení hmotnosti, nauzea, vomitus, závratě, suchost v ústech a poruchy libida. Kontraindikace byly prokázány při současné léčbě s inhibitory MAO. Výhodou je dávkování v jedné denní dávce, plně účinkuje za 2 – 4 týdny. ¹

1.5.4. Antidepresiva IV. generace

Tato generace antidepresiv zahrnuje tzv. dualistická antidepresiva působící vždy na dva mediátorové systémy. Řadí se sem duální inhibitory zpětného přenosu serotoninu i noradrenalinu (SNRI), noradrenergní a specificky serotonergní antidepresiva (NaSSA) a inhibitory zpětného přenosu dopaminu a noradrenalinu (DNRI). Tato antidepresiva slabě inhibují enzymy metabolismu léčiv a nepůsobí antihistaminově. Jsou vysoce účinná a bezpečná z hlediska předávkování. ^{1,2,14,15}

1.5.4.1. SNRI – inhibitory zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu

Svým účinkem zvyšují synaptickou koncentraci neurotransmiterů serotoninu, noradrenalinu a slaběji i dopaminu. Jsou to vysoce účinná antidepresiva, která působí anxiolyticky a analgeticky. Dále nepůsobí antihistaminově, anticholinergně a andrenolyticky. Vyznačují se krátkým vylučovacím poločasem, což výrazně zkracuje dobu určenou pro

vytvoření rovnovážných sérových koncentrací (2 – 4 dny). Mají také nízké riziko farmakokinetických interakcí, a to z důvodů nízké vazby na plazmatické bílkoviny, slabé inhibice cytochromu P 450 a lineární farmakokinetiku.

Jejich účinek je při malých koncentracích srovnatelný se SSRI, při zvýšení dávky je inhibováno i zpětné vychytávání noradrenalinu a pokud jsou koncentrace vysoké, dochází i ke zpětnému vychytávání dopaminu.

SNRI jsou ve větší míře dobře snášena, lépe než TCA, nicméně oproti SSRI jsou zatížena serotoninovými a noradrenalinovými nežádoucími účinky. Mezi serotoninové účinky patří nauzea, vomitus, diarea, insomnie, tenze, sexuální dysfunkce a do kategorie noradrenalinových účinků se řadí agitovanost, anxieta, tachykardie, zvýšení krevního tlaku.^{1,2,15,14}

Milnacipran

Jedná se o prvního zástupce skupiny SNRI, jehož specifická schopnost je blokování zpětného vychytávání noradrenalinu a serotoninu. Neinteraguje s cholinergními, histaminergními, serotonergními a adnrenergními receptory, což snižuje množství nežádoucích účinků. Jestliže se vyskytnou nežádoucí účinky, jedná se především o suchost v ústech, bolest hlavy, závratě, ospalost a zácpu.

Po podání se dobře vstřebává do gastrointestinálního traktu, biologická dostupnost přesahuje 85 %, poté se naváže na plazmatické bílkoviny, vazba je velmi nízká a představuje pouze 15 %. Z důvodu krátkého poločasu (8 hodin), je nutné podávat lék ve dvou denních dávkách. Metabolizován je pouze z 50 % játry, zbylých 50 % se vyloučí v nezměněné formě močí. Po ukončení léčby je z těla velmi rychle eliminován a není nutná čekací doba pro podání jiného antidepresiva.^{1,15,24,25}

Venlafaxin

Druhý zástupce skupiny antidepresiv SNRI, venlafaxin inhibuje zpětné vychytávání serotoninu, noradrenalinu a slabě i dopaminu. Antidepresivní účinnost je srovnatelná s TCA i SSRI, má anxiolytický a analgetický vliv, a proto je používán při léčbě depresivních poruch s přítomnými úzkostmi stavu. Se zvyšující se denní dávkou stoupá antidepresivní účinek, ovšem zároveň také stoupá výskyt nežádoucích účinků, mezi které se řadí nauzea, vomitus, pocení, insomnie, anxieta, závratě, sucho v ústech, sexuální dysfunkce a zvýšení krevního tlaku. Kombinace s inhibitory MAO není možná v důsledku vzniku serotoninového syndromu a hypertenzní krize.^{1,15,24,25}

Duloxetin

Jedná se o další selektivní inhibitor zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu ze skupiny antidepresiv SNRI užívaný pro léčbu depresivní poruchy, generalizované úzkostné poruchy, diabetické periferní neuropatické bolesti a močové inkontinence.

Nežádoucí účinky jsou srovnatelné s antidepresivy skupiny SSRI, tedy nauzea, sucho v ústech, závratě, únava, ospalost, pocení a snížení chuti k jídlu.^{1,15,24,25}

1.5.4.2. NaSSa – noradrenergní a specificky serotonergní antidepresiva

Tato novější noradrenergní a specifická serotonergní antidepresiva působí také duálním účinkem na noradrenalin a serotonin, čímž zvyšují produkci a uvolňování těchto mediátorů a tím působí v mozku na jejich receptory. Mají antagonistický vliv na α_2 -adrenergní receptory, což ruší inhibici serotoninové a noradrenalinové neurotransmise a tím jsou jejich účinky proadrenergní a proserotonergní. Z důvodu antagonistického působení i na 5-HT₂ a 5-HT₃ receptory, se neobjevují nežádoucí účinky spojené se stimulací právě těchto receptorů.^{1,2,15,14,24}

Mianserin

Je tetracyklické antidepresivum, avšak některými autory je zařazován mezi blokátory α_2 -adrenergních receptorů, čímž zvyšuje obrat noradrenalinu v mozku. Oproti amitriptylinu ovšem neomezuje zpětné vychytávání noradrenalinu na periférii. Inhibuje také postsynaptické α_1 -, serotoninové a histaminové receptory.

Má velmi dobré sedativní, hypnotické, analgetické a antidepresivní účinky, což je výhodné při léčbě depresí, úzkostných stavů a emočního napětí. Zlepšuje sexuální dysfunkce vyvolané SSRI. Na druhou stranu vyvolává únavu, ospalost, pocení, edémy a vzácně granulocytózu. Z důvodu vzniku hypertenzní krize nesmí být podáván spolu s IMA a alkoholem.^{1,24}

Mirtazapin

Jako dualistické antidepresivum působí na neuronech blokádu presynaptických α_2 a dalších receptorů, v synaptické štěrbině zvyšuje dostupnost noradrenalinu. Zároveň stimulací α_1 receptorů a současně blokádu α_2 -receptorů na serotoninových neuronech vyvolává vyšší dostupnost serotoninu. Rozdíl v mechanismu oproti jiným antidepresivům je v nulové inhibici zpětného vychytávání noradrenalinu a serotoninu.

Nežádoucí serotoninové účinky sám sobě blokuje inhibicí postsynaptických S₂ a S₃ receptorů, blokací 5HT₃ serotoninových receptorů zabraňuje bolestem hlavy, zvracení, nevolnosti a zablokováním 5HT₂ receptorů působí pozitivně na spánek (nenarušuje REM fázi a prodlužuje jeho celkovou dobu), neklid a sexuální dysfunkce.

Antihistaminové působení se projevuje zvýšenou chutí k jídlu a sedativními vlastnostmi. Nicméně má i nežádoucí účinky, kam spadá sucho v ústech, pocení a zvýšení hmotnosti. Ani v tomto případě nelze kombinovat mirtazapin s preparáty typu IMAO.^{1,24}

1.5.4.3. DNRI – inhibitory zpětného vychytávání dopaminu a noradrenalinu

Tyto inhibitory působí pouze na dva zmíněné mediátorové systémy a neovlivňují ostatní. Hlavním nejznámějším a u nás jediným dostupným zástupcem je Bupropion.^{1,25}

Bupropion

Tento zástupce antidepresiv typu DNRI je selektivní inhibitor zpětného vychytávání dopaminu a spolu se svým aktivním metabolitem (hydroxybupropionem) také noradrenalinu. Hydroxybupropion působí také jako antagonist nikotinových receptorů.

Bupropion zasahuje do dopaminergního a noradrenergního systému CNS a zatím neobjasněným způsobem zvyšuje koncentrace dopaminu a noradrenalinu v těchto synapsích. Toto antidepresivum s duálním působením je primárně používáno při léčbě depresivních poruch a při odvykání kouření.

Oproti jiným antidepresivům je dobře snášen, je vhodný při léčbě ADHD a u depresivních pacientů s Parkinsonovou chorobou. Zlepšuje sexuální dysfunkce způsobené antidepresivy typu SSRI. Mezi nežádoucí účinky patří bolest hlavy, sucho v ústech, závratě, nauzea, a insomnie. Nedoporučuje se z hlediska kontraindikací při epilepsii, úzkostných stavech, siuicidálních sklonech, mentální anorexii a bulimii. Souběžné používání inhibitorů MAO a alkoholu zvyšuje toxicitu.^{1,25}

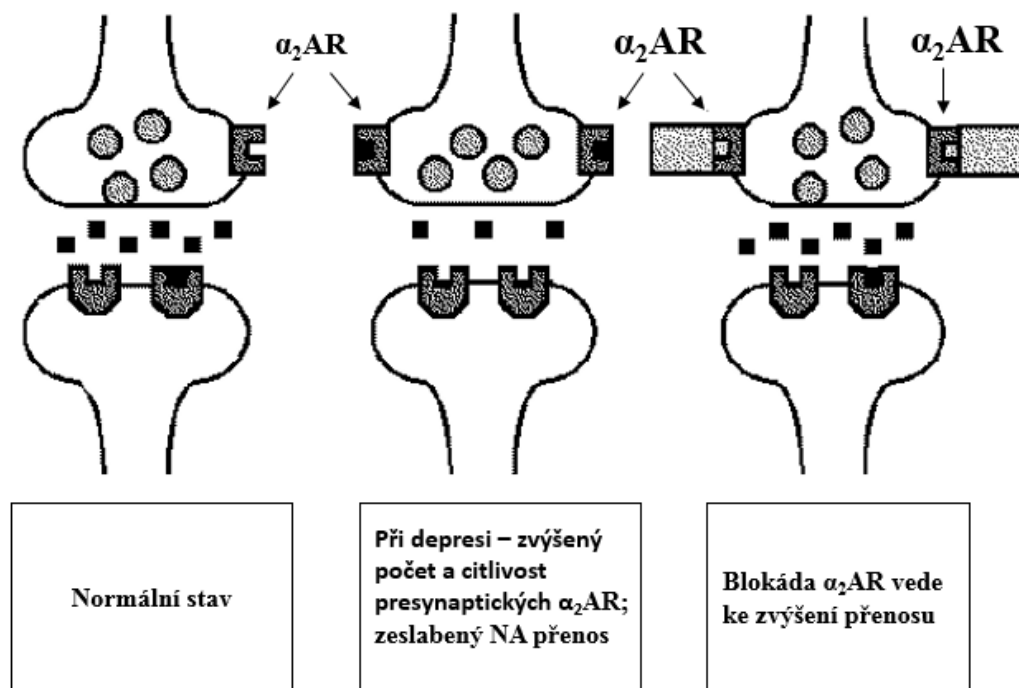
1.6. Antidepresiva přímo ovlivňující receptory

1.6.1. Blokátory α_2 -adrenoreceptorů

Deprese je zapříčiněna nedostatečným uvolňováním neurotransmiterů v oblastech mozku, regulujících náladu. Tento stav může být zapříčiněn i zvýšením počtu a citlivosti presynaptických α_2 -adrenoreceptorů na noradrenergních nebo serotonergních synapsích.

Jestliže dojde k blokaci těchto receptorů na noradrenergických receptorech, dochází ke zvýšení syntézy a uvolňování noradrenalinu. Při blokádě α_2 -adrenoreceptorů se na serotoninergních neuronech zvyšuje uvolňování serotoninu. Celý mechanismus účinku je znázorněn na obrázku č. 11.

Zástupci jsou tetracyklická antidepresiva mianserin a mirtazapin, které se označují jako NaSSA (noradrenergní a specificky serotoningerní antidepresiva).^{1,26}



Obrázek č. 11: Účinky blokátorů α_2 -adrenoreceptorů.⁴⁷

1.6.2. Agonisté 5-HT receptorů

Vedle účinku antidepresiv typu SSRI, lze dosáhnout podobného výsledku i podáváním agonistů 5-HT_{1A} - receptorů. Při akutním podání se sníží neurotransmise v důsledku aktivace somatodendritických 5-HT_{1A}-autoreceptorů. Naopak chronické užívání způsobí zvýšení neurotransmise desenzibilací 5-HT_{1A} – autoreceptorů.^{1,26}

Busprion

Je to derivát azapironu a jeho mechanismus účinku není přesně znám. Je pravděpodobné, že jeho účinky jsou zprostředkovány jeho působením na serotoningerní a dopaminergní systém.

V důsledku nebezpečí vzniku hypertenzní krize se nedoporučuje podávání společně s inhibitory monoaminoxidázy (IMAO) a také s dalšími léčivými (antidiabetiky, antipsychotiky, antidepresivy typu SSRI, srdečními glykosidy, aj.).²⁷

1.6.3. MASSA – agonisté melatoninových receptorů a antagonisté serotoninových receptorů

Antidepresiva stimulující receptory pro melatonin, hormon zodpovědný za střídání bdělosti a spánku, což má vliv na naši psychiku. Zároveň blokují serotoninové 5HT₂- receptory, jejich stimulace je příčinou některých nežádoucích účinků (nespavost, neklid, sexuální dysfunkce, aj.).¹

Agomelatin

Jedná se o syntetický derivát melatoninu a představuje novou generaci antidepresiv. Jeho antidepresivní účinek je umožněn stimulací melatoninových MT1 a MT2 receptorů a působí antagonisticky na SC₂ s 5HT_{2B} receptorech, kdy antagonismus SC₂ je odpovědný za anxiolytický efekt. Tento protichůdný vliv na receptorech nepřímo vede ke zvýšení dopaminu a noradrenalinu ve frontokortikální oblasti a hippocampu.

Podávání léčiva zlepšuje psychické symptomy úzkosti, sklony k suicidalitě a zlepšuje insomnii. Nemá riziko vzniku závislosti a nevyvolává syndrom z vysazení. Nepůsobí anticholinergně, neovlivňuje krevní tlak ani pulz, nevyvolává sexuální dysfunkce a nemá známé interakce s ostatními léky ani alkoholem. Z nežádoucích účinků se objevují nauzea, cefalea, somnolence a anxieta.¹

1.7. Inhibice biodegradace – inhibitory monoaminoxidázy (MAO)

Jedná se o první účinná a specifická antidepresiva, jež byla klinicky použita. Blokují účinky monoaminoxidázy (MAO), enzymu přirozeně odbourávajícího neurotransmitery (serotonin, adrenalin, noradrenalin, dopamin aj.). Následkem blokády monoaminoxidázy je zvýšení koncentrace těchto mediátorů, druhých posílů a některých růstových faktorů nervové tkáně.

Monoaminoxidáza je flavoproteinový enzym řadící se mezi oxidoreduktázy. Nachází se uvnitř neuronů v CNS a na vnější straně membrány mitochondrií. V těle se vyskytuje ve dvou základních formách: MAO-A a MAO-B, jež se liší svým substrátem a inhibitorovou specifitou.

MAO-A a MAO-B rozkládají substráty dopamin, tyramin a tryptamin. MAO-A specificky deaminuje serotonin, noradrenalin a adrenalin, zatímco MAO-B selektivně působí na rozklad 2-fenyletylaminu, benzylaminu a methylhistaminu. Dopaminové a noradrenergické neurony obsahují MAO-A i MAO-B, kdežto serotonergní neurony pouze MAO-B.

Při léčbě depresivních poruch jsou využívány hlavně inhibitory MAO-A, protože vykazují i anxiolytické účinky. Používají se při léčbě především farmakorezistentních a atypických depresí. Jejich antidepresivní účinek je srovnatelný s TCA.

V současné době jsou používaná léčiva této skupiny označovaná zkratkou RIMA – reverzibilní inhibitory monoaminoxidázy, což je druhá generace inhibitorů MAO blokující selektivně buď MAO-A nebo MAO-B. Zástupci selektivních a reverzibilních inhibitorů MAO - A jsou **moklobemid, brofaromin, toloxaton**. Mezi selektivní a reverzibilní inhibitory MAO - B se řadí **selegilin**.

I v této kategorii antidepresiv se vyskytují nežádoucí účinky, kdy nejzávažnější je hypertenzní krize, při níž dochází k výraznému zvýšení krevního tlaku s vysokým rizikem mozkového krvácení, srdečního selhání a smrti. Pacienti proto musejí být velmi opatrní s požíváním potravin s velkým obsahem tyraminu a s kombinací některých léků. Nervozita, hyperaktivita, poruchy spánku, zmatenost, cholinergní účinky či nepříjemné sexuální účinky jsou dalšími nežádoucími efekty.^{1,2,15,14,24,27}

1.8. Ostatní antidepresiva

1.8.1. SRE – stimulanty zpětného vychytávání serotoninu

Zástupcem této kategorie je **tianeptin**, který je svou chemickou strukturou řazen mezi tricyklická antidepresiva. Zvyšuje zpětné vychytávání serotoninu ze synaptické štěrbin, čímž se vymyká mechanismem svého účinku ostatním antidepresivům a řadí se do skupiny tzv. SRE (stimulantů zpětného vychytávání serotoninu). Snížení koncentrace serotoninu v synapsích CNS může blokovat působení stresu a také zabraňuje poškození hipokampu kortikosteroidy. Podává se při léčbě neurotických a reaktivních depresí, úzkostných stavů u alkoholiků v období abstinence, u OCD, kdy se díky svým příznivým účinkům podobá SSRI. Má zanedbatelné anticholinergní účinky, nemá kardiovaskulární nežádoucí účinky a je málo toxický. Při předávkování nehrozí fatální efekt, mimo jiné díky krátkému biologickému poločasu.¹

1.8.2. Inhibitory zpětného vychytávání - RUI

Třezalka tečkovaná – *Hypericum perforatum*

Rostlinné antidepresivum Jarsin, jako extrakt z třezalky tečkované, působí jako slabší blokátor zpětného vychytávání serotoninu, noradrenalinu, dopaminu, GABA a L-glutamátu. Třezalkový extrakt obsahuje více než dvacet účinných substancí, z nichž antidepresivně působí hyperforin, hypericiny a flavonoidy. Používá se při léčbě lehkých a středně těžkých

depresivních poruch, kde vykazuje srovnatelné účinky jako TCA a SSRI antidepresiva. Při podávání je dobře snášen, ale může vyvolat trávicí a srdeční potíže, při kontaktu se světlem může docházet k fototoxicitě.¹

1.9. Mechanismus účinku

Mechanismus působení antidepresiv a jejich účinku není dosud jednoznačně objasněn. Je prokázáno, že všechna antidepresiva ovlivňují metabolismus transmiterů v centrálním nervstvu, a to na základě ovlivnění koncentrace noradrenalinu, serotoninu a dopaminu v synaptických oblastech. Nicméně tyto jejich účinky jsou pouze akutní a závisejí na aktuální koncentraci farmaka. Jak již bylo uvedeno, terapie antidepresivy vykazuje určitou latenci v nástupu účinku. Toto prodlení souvisí s pozvolnými adaptačními procesy vznikajícími jako následek chronického zvýšení koncentrace neurotransmiterů v synapsích. Nepochybně se jedná o nápravu porušené rovnováhy mezi koncentrací neurotransmiterů a senzibilitou receptorů, což má za následek opětovný návrat k normálnímu stavu.

U jednotlivých skupin antidepresiv se mechanismus účinku liší a velmi záleží na tom, zdali se jedná o thymoleptika či thymoeretika.^{24, 48,49,50}

1.9.1. Mechanismus účinku thymoleptik

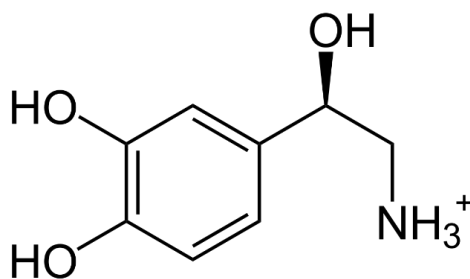
Do této skupiny léčiv náleží látky, které inhibují zpětné vychytávání noradrenalinu, serotoninu a dopaminu ze synaptické štěrby do presynaptického zakončení. **Noradrenalin** (norepinefrin) je jeden z neurotransmiterů (chemická látka uvolňovaná neurony k chemickému přenosu elektrického signálu mezi dvěma neurony a dále do CNS), jehož nedostatek je považován za příčinu depresivních nálad. Z chemického hlediska patří do skupiny katecholaminů, jež jsou hormony vylučované dřením nadledvin podílející se na činnosti sympatického vegetativního systému. Jeho syntéza probíhá z aminokyseliny tyrosinu (TYR), cestou přes dioxyfenylalanin a dopamin. Před příchodem signálu je skladován v zásobních granulích odkud se vylévá z presynaptického neuronu do synaptické štěrby a obsazuje noradrenergní receptory α_1 , α_2 , β -receptory. Receptory α_2 jsou inhibiční a fungují zde jako negativní zpětná vazba výdeje neurotransmiteru tím, že stimulují zpětný příjem (reuptake) noradrenalinu do synaptického zakončení (presynaptického neuronu), jež je zajištěn noradrenalinovým transportérem.

Další významný katecholamin řadící se mezi důležité nízkomolekulární neurotransmitery v CNS je **dopamin**. Funguje jako neurohormon, jenž je syntetizován z aromatické

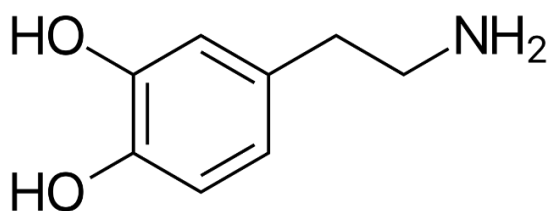
aminokyseliny L-tyrosinu, kdy přidáním hydroxylové skupiny vzniká L-DOPA a následným odstraněním karboxylové kyseliny z postranního ethylového řetězce spojeného s amino skupinou vzniká dopamin. Představuje významnou roli při řízení motorických a výkonných funkcí, iniciaci různých vzorců chování (motivaci, excitaci) a při modulaci aktivity viscerálních funkcí prostřednictvím signálních kaskád, jež jsou vyvíjeny vazbou na dopaminergní receptory. V současné době je známo pět dopaminových receptorů tzv. D₁₋₅.⁵¹

Serotonin (5-hydroxytryptamin, 5-HT) je dalším neurotransmiterem, který je ovlivňován touto skupinou léčiv. Je to hormon syntetizovaný z aminokyseliny tryptofanu (TRP). Fyziologické účinky serotoninu jsou vykonávány pomocí aktivace obsáhlé skupiny specifických membránových receptorů lokalizovaných v centrálním nervovém systému. Po uvolnění do synaptické štěrbině obsazuje serotoningerní 5-HT receptory. Existuje sedm rodin receptorů značených 5-HT₁ až 5-HT₇ a některé z nich mají další podtypy. Působení na tyto receptory může způsobovat antidepresivní účinky.⁵²

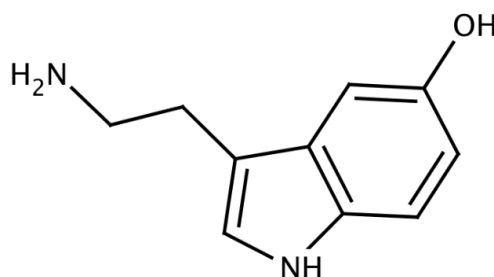
Na obrázcích č. 12-14 jsou zobrazeny chemické struktury noradrenalinu, dopaminu a serotoninu.



Obrázek č. 12: Chemická struktura noradrenalinu.⁵³



Obrázek č. 13: Chemická struktura dopaminu.³⁷



Obrázek č. 14: Chemická struktura serotoninu.³⁷

Inhibice zpětného vychytávání noradrenalinu a serotoninu (i dopaminu) ze synaptické štěrbině do presynaptického neuronu je mechanismus účinku tricyklických antidepresiv (TCA). Tento proces je způsoben ovlivněním serotoningerních a noradregergických receptorů nebo inhibicí serotoninových a noradrenalinových transportérů. Tricyklická antidepresiva mimo jiné ovlivňují i další receptory (adrenergní, histaminové, muskarinové), což může mít za následek vznik nežádoucích účinků. Nežádoucí účinky jsou popsány v následujících kapitolách.

U antidepresiv typu SSRI se nachází podobný mechanismus účinku jako u TCA, nicméně s odlišností v selektivní inhibici zpětného vychytávání serotoninu (serotoninovými transportéry). To má za následek zmírnění nežádoucích účinků a lepší snášenlivost.

Skupina antidepresiv typu SNRI má mechanismus účinku stejný jako u SSRI, avšak navíc kromě serotoninu dochází ke zpětnému vychytávání noradrenalinu a slaběji i dopaminu. Oproti SSRI preferenčně ovlivňují dva neurotransmitterové systémy, a proto se také používá název duální antidepresiva. SNRI nepůsobí antihistaminově, anticholinergní ani adrenolyticky. ^{24,51,54}

1.9.2. Mechanismus účinku thymoeretik

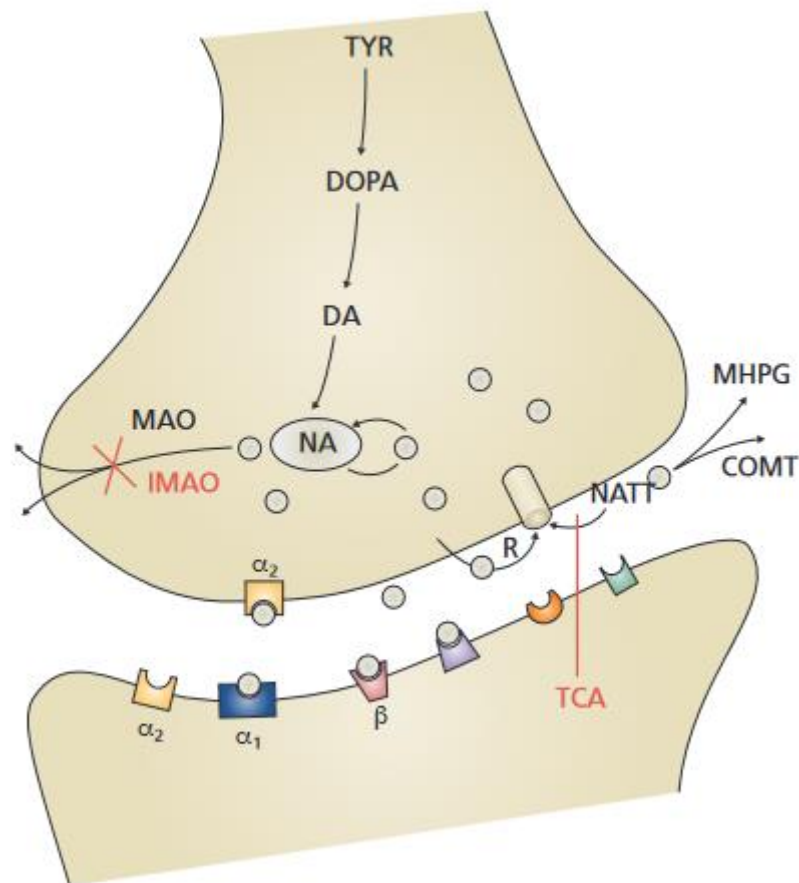
Thymoeretika jsou inhibitory enzymů monoaminoxidas (MAO), což má za následek zvýšení koncentrace neurotransmiterů v synaptické štěrbině. Již zmíněné hormony noradrenalin, serotonin i dopamin patří do skupiny tzv. monoaminů, jež jsou metabolizovány právě enzymy monoaminoxidasami (MAO).

Jsou známé dvě formy výskytu MAO, a to MAO-A a MAO-B, kdy pro každou z obou forem existují specifické inhibitory (moklobemid a seleginin). Jak uvádí autor, byly provedeny rozsáhlé klinické studie, kde však nebyla splněna očekávání a léčba přinesla řadu nežádoucích účinků.

Mechanismus účinku antidepresiv na koncentraci noradrenalinu v synaptické štěrbině a jeho syntéza je popsána na obrázku č. 15. Syntéza noradrenalinu (NA) vede přes aminokyselinu tyrosin (TYR), dioxyfenylalanin (DOPA) a dopamin (DA). Noradrenalin je skladován v zásobních granulích, ze kterých je při příchodu signálu uvolňován a vyléván do presynaptické štěrbině. V tomto místě obsazuje α_1 , α_2 , a β -receptory, kdy α_2 receptory mají inhibiční účinek a fungují jako negativní zpětná vazba výdeje neurotransmiteru. Katecholamin je metabolizován monoaminoxidázou (MAO) a katechol-o-methyltransferázou (COMT), zpětně přijímán do synaptického zakončení noradrenalinovým transportérem (NATT).

Z obrázku č. 15 je zřejmé působení tricyklických antidepresiv (TCA) na přenos noradrenalinovým transportérem (NATT), kdežto inhibitory monoaminoxidázy (IMAO)

působí na metabolismus noradrenalinu monoaminoxidasou (MAO). Tricyklická antidepresiva mají kromě dalších účinků, hlavně inhibiční účinek na zpětný příjem do zakončení („reuptake“, R), zatímco IMAO brání cytoplazmatickému rozkladu mediátorů, čímž zvyšují jeho nabídku na štěrbině.⁵¹



Obrázek č. 15: Schéma noradrenergní centrální synapse.⁵¹

1.9.3. Interakce antidepresiv s membránovými složkami

Antidepresiva se v rovnovážném stavu nacházejí v mimobuněčném prostoru, v buněčných membránách a v cytoplazmě. V plazmě se nacházejí volná, ale také vázaná na transportní proteiny (albumin), lipoproteiny a glykoprotein. Po dlouhodobém podávání dochází v krvi k ustanovení koncentrace, avšak v mozku je distribuce nerovnoměrná.

Antidepresiva jsou amfifilní molekuly nesoucí za fyziologických podmínek kladný náboj. Tyto molekuly mají hydrofilní i lipofilní vlastnosti, a proto se mohou vázat jak ke specifickým proteinovým vazebným místům, tak se mohou nespecificky akumulovat v lipidové dvojvrstvě.

Amfifilní molekuly léčiv nesou kladný náboj, o který přichází po vazbě do lipidové dvojvrstvy a jako nepolární se akumulují v hydrofobním vnitřku membrány. Tam mohou

snadno difundovat v rovině membrány a interagovat s případnými hydrofobními vazebnými místy na proteinech. Průchodem na vnitřní stranu membrány získávají opět kladný náboj a mohou opět interagovat s proteiny a záporně nabitými fosfolipidy na vnitřní straně membrány. Dále se uvolňují do nitrobuněčného prostředí, kde mohou ovlivňovat procesy v cytosolu, organelách a buněčném jádře.

Z těchto skutečností je zřejmé, že působení antidepresiv není omezeno pouze na části receptorů, transportních proteinů a enzymů, jež se nacházejí na povrchu membrán, ale také mohou být ovlivněny procesy probíhající v hydrofobním vnitřku membrán a vzniku případných interakcí antidepresiv se složkami efektorových systémů, druhých a třetích posílů, v mitochondriích a také v jádře.

Předmětem dalšího výzkumu je vliv antidepresiv nacházejících se v bezprostřední blízkosti buněčného povrchu a jejich působení, akumulace v lipidové dvojvrstvě a jejich následné uvolňování i po jejich vysazení. Cílem je najít spojitost mezi farmakologickým ovlivněním membránových lipidů a zlepšením příznaků afektivních poruch.^{55,56}

1.10. Farmakokinetika antidepresiv

Farmakokinetika se zabývá osudem léčiv v organismu, procesy ovlivňující koncentraci léčiva v místě účinku, a to vše v závislosti na čase. Jedná se především o absorpci, distribuci, biotransformaci a eliminaci léčiva a jeho metabolitů z organismu.

Antidepresiva jsou po perorálním podání dobře absorbována z gastrointestinálního traktu, což poukazuje na jejich vysokou biodostupnost. Váží se ke krevním bílkovinám (plazmatickým albuminům) i z více jak 90 %, touto afinitou je ovlivněna i následná distribuce léčiva.

Vzhledem k rozdílným skupinám a jednotlivým zástupcům antidepresiv, je i jejich metabolismus různý. Tricyklická antidepresiva (TCA) jsou vysoce lipofilní a dobře se vstřebávají z gastrointestinálního traktu. K metabolismu dochází v játrech N-demethylací – jedná se o velmi variabilní přeměnu. Terciální aminy jsou přeměněny na aminy sekundární, například imipramin je demetylován na desipramin a v následujícím kroku hydroxylován na 2-hydroxyimipramin a 2-hydroxydesipramin, posledním krokem je konjugace s kyselinou glukuronovou. U antidepresiv typu SSRI představuje stereochemie klíčovou roli v metabolismu. Fluvoxetin (i citalopram) jsou racemickou směsí S a R stereoizomerů a ve zpětném vychytávání serotoninu jsou oba enantiomery téměř rovnocenné, ovšem dokud z fluvoxetinu N-methylací nevznikne metabolit norfluoxetin, u kterého je aktivní jedine S - enantiomer.

Antidepressiva a jejich metabolity jsou z těla vylučovány prostřednictvím moče a stolice. SSRI a TCA mají dlouhý eliminační poločas (řádově až dny), u některých metabolitů jsou ještě delší. Eliminační poločasy IMAO jsou oproti tomu mnohem kratší (řádově několik hodin).^{30,51,57,58}

1.11. Toxicita a nežádoucí účinky

Není výjimkou, že i antidepressiva mají své nežádoucí účinky, jež se mohou objevit i při nízkých terapeutických koncentracích. To je zapříčiněno vlivem na různé druhy receptorů v nervovém systému. Při předávkování nebo použití vyšších dávek léčiva jsou tyto látky toxické a mohou vyvolat v různém rozsahu poškození organismu, až smrt.

1.11.1. Toxicita antidepressiv

Ze skupiny thymoleptik jsou podstatná TCA známá pro svou toxicitu. V případě předávkování, lékové intolerance a abstinčních příznaků způsobených náhlým vysazením, vykazují závažnou toxicitu. Toxické účinky TCA jsou způsobeny čtyřmi hlavními farmakokinetickými vlastnostmi – inhibice zpětného vychytávání norepinefrinu na nervových zakončeních; přímý α adrenergní blok; membránu stabilizující účinek nebo chinidinu podobný účinek na myokard a anticholinergní účinek.

Předávkování TCA je velmi nebezpečné, může k němu dojít při překročení i malé koncentrace léčiva a hrozí riziko vážných klinických symptomů. Ty lze rozdělit podle jejich účinků na několik skupin. Do první skupiny spadají účinky na periferní autonomní systém (anticholinergní účinky), jako jsou snížení pocení a následná horečka, změna termoregulace, výrazné rozšíření tlustého střeva (megakolon) a perforace střev. Toxické účinky na kardiovaskulární systém patří do druhé skupiny, kdy nejvýznamnější je ovlivnění depolarizace srdečního akčního potenciálu blokováním sodíkových kanálů, což zpomaluje šíření depolarizace jak myokardem, tak vodivou tkání. To má za následek prodloužení QRS komplexu a predispozici k srdeční arytmii, sinusové tachykardii, disrytmii, srdeční zástavě a dalším příznakům. Třetí skupina zahrnuje neurotoxicitu, projevující se bolestí hlavy, zmatením, zvracením, nauzeou, záchvaty a v horším případě kómatem, vyskytující se velmi často.

TCA vzájemně reagují s velkým počtem běžně používaných léků. SSRI antidepressiva jsou oproti TCA méně toxické a mají širší terapeutický index, jenž informuje o relativní bezpečnosti léčiva. Vysoké dávky léčiva mohou přivodit tzv. serotoninový syndrom, který je způsoben vysokou koncentrací serotoninu v těle. Jedná se o závažnou a potenciálně smrtelnou

komplikaci. Nejčastěji vzniká při používání SSRI v kombinaci s inhibitory monoaminoxidáz (IMAO) nebo tricyklickými antidepresivy (TCA). Tyto léky by se tedy v kombinaci neměly nikdy podávat. Při rozvoji syndromu se objevují pestré nežádoucí příznaky (úzkost, zmatenost, zimnice, horečka, třes, záchvaty, vomitus, nauzea, tachykardie, a další). Léčba je založena především na okamžitém vysazení léků, které zvyšují hladiny serotoninu.

U 1. generace antidepresiv IMAO je toxicita způsobena především kombinací s tyraminem, jež se nachází v určitých potravinách (v mase, sýrech, ovoci, alkoholických nápojích), s thymoleptiky a dalšími léčivy. Pokud by se kombinovaly IMAO se serotonergními léky (SSRI, klomipraminem, tramadolem), došlo by k rozvoji již zmiňovaného serotoninového syndromu či dokonce až k nebezpečné hypertenzní krizi.^{24,23,59,60, 61}

1.11.2. Nežádoucí účinky

S postupným vyvíjením antidepresiv se také zdokonaluje minimalizování jejich nežádoucích účinků. Nejstarší preparáty mají prokazatelně nejvíce nežádoucích účinků, jedná se o antidepresiva 1. generace – TCA. Nicméně postupným vývojem docházelo k poklesu těchto účinků, a proto je jejich výskyt u každé další generace nižší.

Avšak velmi záleží na typu antidepresiv, na dávce medikace, době podání, na interakci s ostatními užívanými léky, na stravě a životním stylu, na přidružených onemocněních a dalších faktorech, na které je třeba brát ohled.

Charakter nežádoucích účinků jednotlivých antidepresiv závisí na postsynaptické afinitě v různých částech mozku. Zvýšení tělesné hmotnosti či ospalost je zapříčiněna ovlivněním histaminových receptorů. Naproti tomu afinita k muskarinovým receptorům způsobuje suchost sliznic, rozmazané vidění, poruchy paměti, eventuálně retenci moči nebo zácpu.

Při léčbě pomocí antidepresiv typu SSRI může serotonergní působení vyvolávat nauzeu, vomitus, insomni, tenzi a sexuální dysfunkce. Na počátku léčby není výjimkou ani přítomnost tzv. „jitteriness syndrome“, což má za následek začínající aktivační efekt antidepresivní terapie. Zahrnuje zvýšené pocity úzkosti, nespavost, bolest hlavy a třes. Mezi nežádoucí účinky noradrenergního působení patří závratě, hypotenze, reflexní tachykardie a poruchy ejakulace.

I přes více či méně výraznější nežádoucí účinky by však neměly být hlavní překážkou v léčbě depresivních a úzkostných poruch, které velmi významně ovlivňují život pacienta.^{19,7,1}

1.12. Terapeutické monitorování léčiv – TDM

V současné době roste prevalence psychických poruch a s tímto faktem souvisí i nárůst užívání psychofarmak. Běžně se při léčbě psychofarmaky používá monoterapie, ale i polyterapie. V takovém případě je vhodné zvolit metody umožňující stanovení více léčiv současně a zároveň vzniklých aktivních i neaktivních metabolitů působením metabolismu.

Současně je třeba klást důraz nejen na vývoj nových léčiv, ale také na optimalizaci farmakoterapie dostupnými psychofarmaky, neboť řada pacientů léčených psychofarmaky na léčbu neodpovídá nebo účinek není zcela uspokojivý. Neméně podstatné je snížení toxicity, interakce s jinými léčivy a prevence intoxikací. A právě z těchto důvodů je vhodné terapeutické monitorování léčiv.⁶²

1.13. Metody stanovení antidepresiv

Ke stanovení léčiv (psychofarmak) v biologických tekutinách, především v krvi, séru, plazmě, moči a slinách, se používají imunochemické, elektromigrační a chromatografické metody. Tyto metody s velmi citlivou detekcí umožňují stanovení nízkých koncentrací léčiv.⁶²

1.13.1. Úprava vzorku

Biologické tekutiny obsahují kromě samotného léčiva, jenž se nachází v nízkých koncentracích, také další sloučeniny v organické matrici. Takové sloučeniny vedou k vzájemnému ovlivňování této matrice s léčivem. Ke standardním postupům úpravy vzorků patří precipitace proteinů, extrakce na tuhé fázi (SPE) nebo extrakce kapalina-kapalina (LLE). U precipitace se obvykle volí běžná organická rozpouštědla jako je methanol nebo acetonitril. Výhodou imunochemických metod je stanovení léčiv s absencí předchozích úprav vzorku.⁶²

1.13.2. Chromatografie

Chromatografie je separační metoda založená na rozdílech v distribuci látek mezi dvě fáze – mobilní a stacionární fází. Vzorek je unášen mobilní fází separační kolonou, zatímco náplň kolony je fáze stacionární. A právě při průchodu kolonou jsou zadržovány jednotlivé složky vzorku stacionární fází a tím dochází k jejich separaci. Tyto složky se postupně dělí, vznikají jednotlivé zóny a po průchodu kolonou jsou detekovány na detektoru. Záznam odezvy detektoru (intenzita signálu) na čase se nazývá chromatogram. Na něm jsou znázorněny jednotlivé píky, jenž představují jednotlivé složky obsažené ve vzorku.

Z chromatografických metod se pro stanovení psychofarmak využívá nejčastěji plynová chromatografie (GC) a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC).^{62,63,62,64,65,66,67}

1.13.2.1. Plynová chromatografie – GC

V plynové chromatografii je mobilní fáze nosný plyn, nejčastěji se volí inertní plyn (nemá vliv na separaci) a stanovení je vhodné pro těkavé látky snadno převeditelné do plynného stavu. Jednotlivé složky interagují pouze se stacionární fází a společně jsou unášeny mobilní fází kolonou, kde se různě zadržují. Separace je založena na schopnosti různě silně se poutat se stacionární fází. Signál z detektoru se vyhodnocuje jako plynový chromatogram, z časového průběhu intenzity signálu se stanoví druh a kvantitativní zastoupení jednotlivých složek ve vzorku.

Mnohá antidepresiva mají strukturu aminů, a proto je GC vhodná pro jejich stanovení. Jedná se o jednoduchou, levnou a zároveň citlivou a rozlišující metodu. Vzhledem k tomu, že se aminy absorbují na kyselé koloně, kde se následně rozkládají, využívá se k odstranění těchto problémů derivatizace, čímž se sníží polarita aminů. GC se častěji používají ve spojení s plamenově-ionizačními NP detektory a hmotnostními (MS) detektory.^{63,62,64,65,66}

Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí GC-MS

Khraiwesh a kol. publikovali metodu stanovení sertralinu a jeho hlavního metabolitu desmethylsertralinu v plné krvi pomocí GC-MS. Příprava vzorku zahrnovala extrakci obou analytů na pevné fázi a jejich derivatizaci anhydridem heptafluorbutanové kyseliny (HFBA). Pro kvantifikaci obou analytů byl použit vnitřní standard protriptylin. Navrhovaná metoda je vhodná pro stanovení sertralinu a desmethyl-sertralinu ve vzorcích plné krve pro farmakokinetické studie, pro sledování hladiny terapeutického léčiva za účelem úpravy dávky sertralinu u pacientů léčících se sertralinem nebo pro vyšetřování forenzních případů a účely soudního lékařství.⁶⁸

Rosado a kol. se zabývali metodou stanovení antidepresiv (fluoxetin, venlafaxin, amitriptylin, mianserin, trimipramin, nortriptylin, mirtazapin, sertralin, dosuleptin, citalopram a paroxetin) a jejich metabolitů ve vzorcích lidské moči a plazmy pomocí (GC – MS). Antidepresiva byla před stanovením extrahována na tuhé fázi (SPE). Vyvinutá metoda se ukázala jako vhodná pro screening studovaných léků ve vzorcích moči a plazmy, a dále

zásluhou vysoké citlivosti umožňuje detekci malého množství analytů. To poskytuje značnou výhodu, zejména při dostupnosti malého množství vzorků.⁶⁹

Pujadas a kol. publikovali metodu stanovení třiceti různých druhů léčiv, antidepresiv, antipsychotik a omamných látek ve slinách pomocí GC-MS. Všechny látky byly extrahovány na tuhé fázi (SPE). Vyvinutá analytická metoda byla použita k vyšetřování přítomnosti psychoaktivních drog ve slinách zraněných osob přivezených na nemocniční pohotovost.

Pablo Lamas a kol. se zabývali kontaminací povrchových vod farmaceutickými přípravky, což je velmi důležité z hlediska životního prostředí. Pro stanovení antidepresiv typu SSRI (venlafaxinu, fluvoxaminu, fluoxetinu, citalopramu a sertralinu) ze tří typů vod (říční voda, odpadní voda a voda z městské čistírny odpadní vod), byla použita extrakce na tuhou fázi a následná metoda GC-MS. Byla prokázána přítomnost zástupců antidepresiv v odpadních vodách kontaminovaných močí pacientů, jež přípravky užívali.⁷⁰

1.13.2.2. Vysokoučinná kapalinová chromatografie – HPLC

Kapalinová chromatografie (LC) má jako mobilní fázi kapalinu, jenž má vliv na separaci analytů. Z toho vyplývá, že oddělování složek závisí na interakcích se stacionární i mobilní fází. Chromatografický systém je nejčastěji v kolonovém, ale i plošném uspořádání. Výhodou je analýza jak netěkavých, tak i tepelně nestálých sloučenin, stanovovaných při laboratorní teplotě.

V současné době se kapalinová chromatografie v kolonovém uspořádání provádí jako vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC) a ultraúčinná kapalinová chromatografie (UPLC). U zmíněných metod se jako stacionární fáze využívají malá zrnka sorbentu, která kladou kapalině značný odpor. Aby byl průtok mobilní fáze stacionární fází dostatečný, je nutné pracovat při vyšším tlaku.

HPLC je rychlá, spolehlivá a účinná metoda, která má širokou oblast použití. Lze jí analyzovat ionty, látky polární i nepolární, málo těkavé, tepelně nestabilní i vysokomolekulární. Běžně používané detektory v HPLC jsou spektrofotometrické, fluorimetrické, elektrochemické a hmotnostní.^{62,63,64,66,65}

Vysokoučinná kapalinová chromatografie s fluorescenční detekcí HPLC-FL

⁷¹Porto a kol. se zabývali stanovením antidepresiv typu SSRI (citalopramu, fluoxetinu, paroxetinu a venlafaxinu) v lidské plazmě pomocí HPLC-FL. Tato metoda poskytuje dobrou alternativu využívajících LPME (liquid-phase microextraction) pro stávající analýzu

antidepresiv. Široký lineární rozsah a přesnost metody umožňují analýzu těchto léčiv v plazmě především v biomedicínských a toxikologických oborech.

Vysokoučinná kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí HPLC- MS/MS

⁷²Uřinová a kol. publikovali stanovení vybraných psychofarmak a jejich aktivních i neaktivních metabolitů v lidském séru metodou rychlé a jednoduché HPLC-MS/MS. Zároveň je zde použita elektrosprejová ionizace (ESI). Metoda umožňuje stanovení dosud nepublikované skupiny léčiv včetně jejich metabolitů, jejichž analýza je velmi rychlá. To je nespornou výhodou při rutinním stanovení intoxikace psychofarmaky.

Vysokoučinná kapalinová chromatografie s UV detekcí HPLC-UV

⁷³Malfara a kol. popsali metodu stanovení často předepisovaných TCA a SSRI antidepresiv (imipramin, amitriptylin, klomipramin, fluoxetin, sertralin, paroxetin, citalopram, mirtazapin, moklobemid a duloxetin) ve farmaceutických přípravcích. Metoda byla úspěšně aplikována na analýzu reálných vzorků pro monitorování antidepresiv. Tato rychlá a proveditelná metoda je vhodná pro rutinní terapeutické monitorování léčiv u pacientů s depresivními poruchami.

1.13.3. Elektromigrační separační metody

V analýze psychofarmak se tyto metody uplatňují především z důvodů jejich vysoké separační účinnosti, nízké spotřebě vzorku a chemikálií. To má za následek nižší náklady na stanovení i snížení vzniku odpadu. Jsou založené na pohybu 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 módy, tj. kapilární zónová elektroforéza (CZE), micelární elektrokinetická kapilární chromatografie (MEKC), kapilární elektrochromatografie (CEC), izotachoforéza (ITP), kapilární isoelektrická foksace (CIEF) a kapilární gelová elektroforéza (CGE). Kapilární elektroforéza v organických rozpouštědlech se označuje jako nevodná (NACE). Touto metodou se dají separovat hydrofobní látky jen těžko dělitelné ve vodném prostředí.^{62,64,65,66}

1.13.3.1. Kapilární elektroforéza – CE

V kapilární elektroforéze dochází k separaci látek v důsledku různé rychlosti pohybu iontů v elektrickém poli. V případě CE tato separace probíhá v kapiláře naplněné roztokem

základního elektrolytu (pufu). Vzorek je nastříknut do vodného roztoku pufu a jednotlivé složky vzorku se dělí na zóny podle svých mobilit. Umožňuje separaci kationtů a aniontů, nikoliv však neutrálních látek. Tato technika patří mezi nejpoužívanější především díky své jednoduchosti a rychlosti.^{62,64,66,65}

⁷⁴Catai a kol. publikovali jednoduchou metodu pro současné stanovení čtyř antidepresiv (fluoxetinu, sertralínu, citalopramu a paroxetinu) v lidské plazmě pomocí nevodné kapilární elektroforézy. Vzorky léčiv byly nejprve rozděleny pomocí extrakce kapalina-kapalina (LLE). Kombinace LLE jako kroku přípravy vzorku a NACE jako separační techniky, poskytovala jednoduchou a citlivou metodu pro analýzu antidepresiv ve vzorcích plazmy.

Metoda může být užitečným nástrojem pro monitorování terapeutického léčiva a lze ji také použít k hodnocení plazmatických hladin v urgentní toxikologické analýze v případech náhodného nebo cíleného předávkování.

⁷⁵Himmelsbach a kol. se zabývali metodou kvantitativního stanovení sedmi hlavních antidepresiv v povrchových i odpadních vodách, a také z čistíren odpadních vod pomocí kapilární elektroforézy s hmotnostní detekcí ESI-MS. Bylo odebráno osm vzorků odpadních vod a vod z čistíren, kdy šest vzorků vykazovalo pozitivní výsledek na přítomnost antidepresiv, zejména venlafaxinu, citalopramu a trazodonu v koncentracích řádově desítky ng/l. Předkládaná práce ukazuje, že CE-ESI-TOF-MS je vhodným prostředkem pro analýzu stopových množství antidepresiv ve vodných vzorcích. Aby bylo možné stanovit antidepresiva v koncentračním rozmezí běžně se vyskytujícím ve vzorcích vodního prostředí, je nutná předúprava vzorku založená na SPE. Hmotnostní detekce navíc poskytuje zvýšenou citlivost ve srovnání s UV detekcí.

1.13.3.2. Micelární elektrokinetická kapilární chromatografie – MEKC

Jedná se o separační techniku, jenž je na pomezí elektroforézy a chromatografie. Umožňuje separaci elektricky nabitých látek, včetně látek neutrálních. K separaci neutrálních látek dochází v důsledku jejich rozdílné interakce s micelami (vznikají přidávkem dostatečného množství tenzidu do pufu). Micely v kapiláře tvoří tzv. pseudostacionární fázi.⁷⁶

⁷⁷Zhou a kol. navrhli účinnou metodu stanovení pěti antidepresiv (sertralínu, paroxetinu, fluvoxaminu, citalopramu a fluoxetinu) pomocí micelární elektrokinetické chromatografie

(MEKC). Pro úpravu vzorků byla použita mikroextrakce kapalina-kapalina (HF-LLME). Vyvinutá metoda prokázala vynikající výsledky a vysokou citlivost. Z těchto důvodů byla úspěšně aplikována na analýzu cílových analytů (spotřebitelsky nejpoužívanějších antidepresiv) ve vzorcích lidské plazmy a moči. Metoda může být dále rozšířena o analýzu biologických vzorků s velmi nízkými koncentracemi analytů.

1.13.3.3. Izotachoforéza – ITP

Kapilární izotachoforéza je elektromigrační separační technika, která je schopná separovat ionty na základě jejich pohyblivosti v elektrickém poli. Během jedné analýzy lze stanovit pouze ionty stejné polarity, tzn. buď kationty nebo anionty. K separaci je využíván elektrolytový systém sestávající se ze dvou různých elektrolytů – vedoucí („LE“ – leading electrolyte) a koncový („TE“ – terminatoring electrolyte). Vedoucí elektrolyt vykazuje největší pohyblivost v elektrickém poli a migruje do detektoru jako první. Naopak koncový elektrolyt má nejmenší pohyblivost v elektrickém poli a migruje jako poslední. Ionty analyzovaného vzorku jsou rozseparovány na základě jejich pohyblivosti mezi vedoucí a koncový elektrolyt. K detekci se nejčastěji používá vodivostní a spektrofotometrický detektor.⁶⁵

⁷⁸Buzinkaiová a kol. publikovali metodu stanovení pro tricyklická antidepresiva (klomipramin a imipramin) a tetracyklická antidepresiva (maprotilin) pomocí kapilární izotachoforézy (ITP) ve farmaceutických přípravcích.

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. Použité chemikálie

V tabulce č. 3 je přehledně uveden seznam použitých chemikálií pro práci v laboratoři.

Tabulka č. 3: Seznam použitých chemikálií.

Název	Výrobce
Octan sodný	Lachema
Kyselina octová	Lachema
MES	Fluka
NaOH	Penta
β-alanin	Serva
Analyty	
Sertralin hydrochlorid	Glenthman Life sciences
Paroxetin hydrochlorid	Glenthman Life sciences
Escitalopram oxalát	Glenthman Life sciences
Citalopram hydrobromid	Glenthman Life sciences
Fluvoxamin maleát	Glenthman Life sciences

2.2. Pracovní podmínky ITP analýzy

Analýza byla prováděna v kationtovém módu. Pracovní proud v předseparační koloně byl nastaven na hodnotu 400 μA . V analytické koloně byl nastaven na hodnotu 50 μA . Analýzy byly prováděny v předseparační a analytické koloně.

2.3. Přístroje a zařízení

Elektroforetický analyzátor EA102, Villa Labeco, Slovensko

Laboratorní pH-metr HI4221 Hanna Instrumens, Česká republika

Skleněná elektroda OP-0808P Radelkis, Maďarsko

Analytické váhy KERN ABT 120 – 4M, Gottel, KERN & Sohn GmbH., Německo

Ultrazvuková lázeň K2, Krainek s.r.o., Slovensko

Pipety Biohit o různých objemech

2.3.1. Elektroforetický analyzátor EA 102

Přístroj je vybaven dvěma teflonovými kolonami, předseparační a analytickou. Předseparační kolona má délku 160 mm a vnitřní průměr 0,8 mm a je vybavena kontaktním vodivostním detektorem. Analytická kolona má stejnou délku jako kolona předseparační, její vnitřní průměr je 0,3 mm a je také vybavena vodivostním detektorem.

Dávkování vzorku je prováděno pomocí dávkovacího kohoutu o objemu 30 μ l. K analytické koloně je pomocí optovodičů připojen spektrofotometrický DAD detektor (ECOM FLASH 12 DAD 800 detector, Česká republika). Získané záznamy z vodivostní detekce jsou zpracovávány v programu ITPPro dodávaném společně s analyzátozem a záznamy ze spektrofotometrické detekce v programu Clarity (verze 7.4.01.088, DataApex, Česká republika).

2.4. Příprava roztoků

K přípravě roztoků byla použita demineralizovaná voda z laboratorního rozvodu a běžně používané laboratorní odměrné nádoby. Pro získání menších objemů roztoků byly použity mikropipety značky Biohit, jež jsou k dispozici v různých objemech.

Pro optimalizaci podmínek separace jednotlivých analytů byly připraveny standardní roztoky o koncentraci přibližně 1 mmol/l. Navážka paroxetin hydrochloridu byla 0,0187 g, sertralin hydrochloridu 0,0171 g, fluvoxamin maleátu 0,0220 g, escitalopram oxalátu 0,0209 g a citalopram hydrochloridu 0,0204 g. Jednotlivé navážky byly převedeny do 50 ml odměrných baněk a doplněny po rysku destilovanou vodou. Takto vzniklé roztoky byly následně analyzovány v různých elektrolytových systémech.

2.4.1. Příprava kalibračních roztoků

Bylo naváženo 100 mg standardu sertralin hydrochloridu, který byl převeden do 100 ml zásobní baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku. Za zásobního roztoku byly dále připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 10, 25, 50 a 100 mg/l odpipetováním 0,5; 1,25; 2,5 a 5 ml do 50 ml odměrných baněk a doplněním destilovanou vodou po rysku.

Obdobným způsobem bylo naváženo 100 mg escitalopram oxalátu, který byl převeden do 100 ml zásobní baňky. Ze zásobního roztoku byly v tomto případě připraveny kalibrační roztoky escitalopram oxalátu roztoky o koncentracích 5, 10, 25, 50, 100 a 200 mg/l odpipetováním 0,25; 0,5; 1,25; 2,5; 5 a 10 ml do 50 ml odměrných baněk.

2.5. Elektrolytové systémy / Elektrolyty pro ITP analýzu

2.5.1. Elektrolytový systém I

Vedoucí elektrolyt L: 10 mM octan sodný a kyselina octová (pH 4,0 – 5,3)

Bylo naváženo 0,4102 g octanu sodného, obsah byl převeden do 500 ml odměrné baňky. Odměrná baňka byla doplněna destilovanou vodou po rysku. Tento roztok byl převeden do kádinky a za stálého míchání byla přidávána kyselina octová tak, aby bylo dosaženo pH 4,0. Obdobným způsobem byly připraveny vedoucí elektrolyty o různém pH (4,3; 4,6, 5,0; 5,3).

Koncový elektrolyt T: 10 mM β -alanin

Do 500 ml odměrné baňky bylo naváženo 0,4455 g 0,01 M β -alaninu. Odměrná baňka byla doplněna po rysku destilovanou vodou.

2.5.2. Elektrolytový systém II

Vedoucí elektrolyt L: 10 mM hydroxid sodný a kyselina morfolinethansulfonová (pH 5,7)

Bylo naváženo 0,2051 g hydroxidu sodného, obsah byl převeden do 500 ml odměrné baňky. Odměrná baňka byla doplněna destilovanou vodou po rysku. Tento roztok byl převeden do kádinky a za stálého míchání byla přidávána kyselina morfolinethansulfonová tak, aby bylo dosaženo pH 5,7.

Koncový elektrolyt T: 10 mM β -alanin

2.6. Reálné vzorky

K analýzám byly vybrány léčiva Asentra 100 (Krka, Slovinsko) obsahující 111,9 mg sertralin hydrochloridu v jedné tabletě a Elicea 10 (Krka, Slovinsko) obsahující 12,78 mg escitalopram oxalátu v jedné tabletě.

Složení potahované tablety Asentra 100: Sertralin hydrochlorid 111,9 mg, pomocnými látkami jsou dihydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého, mikrokrytalická celulosa, sodná sůl karboxymethylškrobu (typ A), hyprolosa, mastek, magnesium-stearát v jádru tablety a soustava opadry bílá 03H28758 (hypromelosa, oxid titaničitý, mastek, propylenglykol) v potahové vrstvě. Vzhled balení léčiva je znázorněn na obrázku č. 16.

Složení potahované tablety Elicea 10: Escitalopram oxalát 12,78 mg, pomocnými látkami jsou monohydrát laktosy, krospovidon K30, mikrokrytalická celulosa, předboptnalý kukuřičný škrob, magnesium stearát v jádru tablety, hypromelosa, oxid titaničitý, makrogol 3000 a triacetin v potahové vrstvě. Vzhled balení léčiva je znázorněn na obrázku č. 17.



Obrázek č. 16: Balení potahových tablet Asentra 100mg (sertralin hydrochlorid).⁷⁹



Obrázek č. 17: Balení potahových tablet Elicea 10mg (escitalopram oxalát).⁸⁰

2.6.1. Příprava reálných vzorků k analýze

Pro tuto práci byla k analýze vybrána antidepresiva typu SSRI, konkrétně léčivo Asentra s účinnou látkou sertralin hydrochlorid a léčivo Elicea s účinnou látkou escitalopram oxalát.

2.6.1.1. Příprava celých tablet

Celá tableta léčiva Asentra byla náhodně vybrána ze zásobního plata, rozdrovena ve třecí misce, následně převedena do 100 ml odměrné baňky, ředěna 20x a doplněna destilovanou vodou pod rýsku. Následně byla odměrná baňka vložena do ultrazvukové lázně z důvodu lepšího rozpuštění a zabránění usazování léčiva na dně baňky. Poté byla odměrná baňka promíchána a doplněna po rýsku destilovanou vodou. Z této baňky bylo dále odpipetováno 2,5 ml roztoku do 50 ml odměrné baňky a 2,5 ml roztoku do druhé odměrné baňky, ke které byl přidán standardní přídavek o koncentraci 50mg sertralin hydrochloridu/l. Obě baňky byly následně doplněny destilovanou vodou. Tímto způsobem byly náhodně vybrány a připraveny tři tablety z celé krabičky léčiva.

Celá tableta léčiva Elicea byla taktéž náhodně vybrána ze zásobního plata, rozdrovena ve třecí misce, následně převedena do 100 ml odměrné baňky, ředěna 20x a doplněna destilovanou vodou pod rýsku. V dalším kroku byla odměrná baňka vložena do ultrazvukové lázně z důvodu lepšího rozpuštění a zabránění usazování léčiva na dně baňky. Poté byla odměrná baňka

promíchána a doplněna po rysku destilovanou vodou. Z této baňky bylo dále odpipetováno 25 ml roztoku do 50 ml odměrné baňky a 25 ml roztoku do druhé odměrné baňky, ke které byl přidán standardní přídavek o koncentraci 50 mg escitalopram oxalátu/l. Obě baňky byly následně doplněny destilovanou vodou po rysku. Takto byly náhodně vybrány a připraveny tři tablety z celé krabičky léčiva.

2.6.1.2. Příprava půlených tablet

Půlení pomocí půličky tablet:

Tableta byla náhodně vybrána z plata, vložena do půličky tablet a rozpuštěna. Obě poloviny jsou vidět na obrázku č. 18. Poté byla první polovina rozdrovena v třecí misce a převedena do 100 ml odměrné baňky a doplněna pod rysku destilovanou vodou. Následně byla odměrná baňka vložena do ultrazvukové lázně z důvodu lepšího rozpuštění a zabránění usazování léčiva na dně baňky. Poté byla odměrná baňka promíchána a doplněna po rysku destilovanou vodou. Z této baňky bylo dále odpipetováno 2,5 ml roztoku do 50 ml odměrné baňky a 2,5 ml roztoku do druhé odměrné baňky, byl přidán standardní přídavek o koncentraci 50 mg escitalopram oxalátu/l. Obě baňky byly následně doplněny destilovanou vodou po rysku. Obdobně byla připravena i druhá polovina tablety. Stejný postup byl použit pro léčivo Asentra (sertralín) a léčivo Elicea (escitalopram).



Obrázek č. 18: Ukázka dělení tablet půličkou (Asentra, Elicea).

Ruční půlení:

Tableta byla náhodně vybrána z plata, vložena do dlaně a silou rozpůlena. Obě poloviny jsou vidět na obrázku č. 19. Poté byla první polovina rozdrčena v třecí misce a převedena do 50 ml odměrné baňky a doplněna po rysku vodou. Celý postup přípravy je obdobný jako u půlení půličkou. Obdobně byla připravena i druhá polovina tablety. Stejný postup byl pro léčivo Asentra (sertralin) a léčivo Elicea (escitalopram).



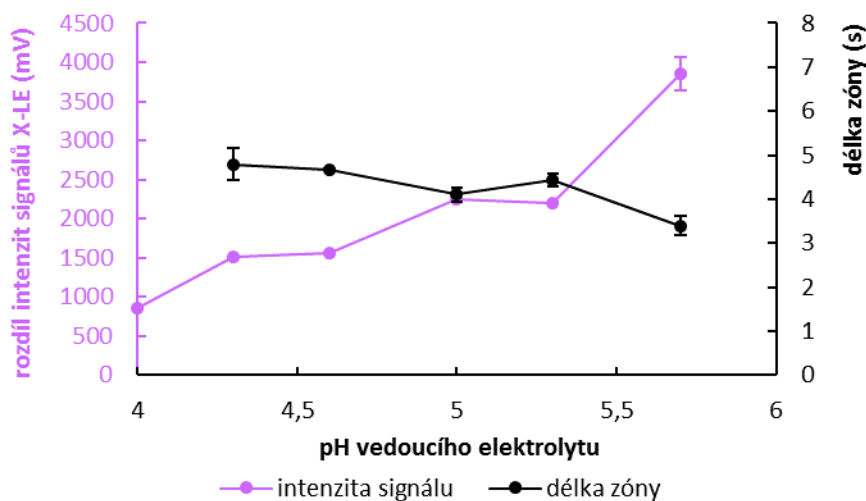
Obrázek č. 19: Ukázka dělení tablet ručně (Asentra, Elicea).

3. VÝSLEDKY A DISKUZE

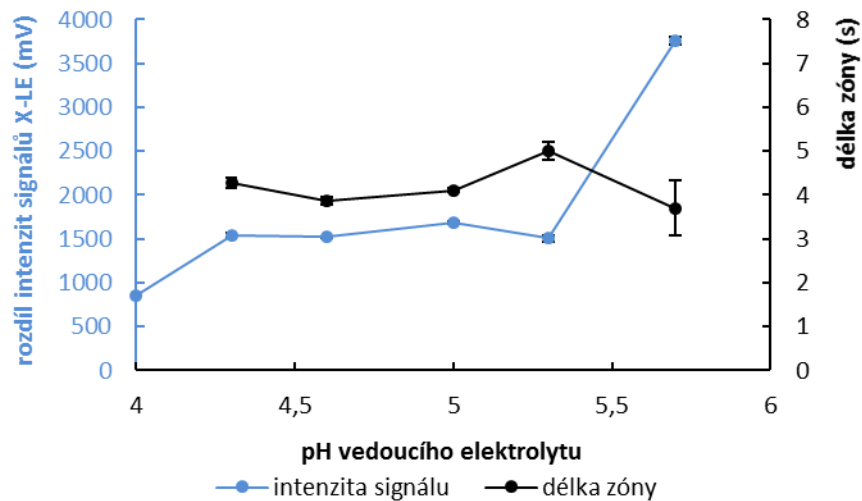
3.1. Optimalizace podmínek separace

Vzhledem k tomu, že všechny stanovované analyty, tj. sertralin, paroxetin, citalopram, escitalopram a fluvoxamin, obsahují dusík, který je schopen protonace, je možné je převést na kationty, které lze následně stanovit pomocí kapilární izotachofórey v kationtovém módu. Vzhledem k hodnotám pK_b , které se pohybují v rozmezí od 4,15 do 5,14 byly zkoušeny vedoucí elektrolyty v rozmezí pH 4,0 – 5,7, jejichž složení je popsáno v kapitole 2.12. Jako koncový elektrolyt byl zvolen 10 mM β -alanin, který má při všech zkoušených pH dostatečně malou pohyblivost, aby migroval jako poslední za všemi analyty.

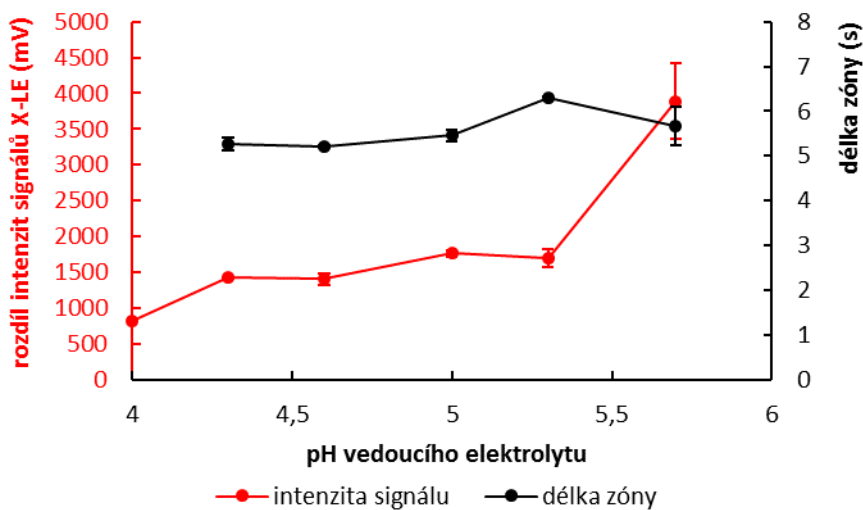
Všechny analyty byly postupně proměřeny ve výše zmíněných elektrolytových systémech. Bylo zjištěno, že chování všech analytů je obdobné, se zvyšujícím se pH vedoucího elektrolytu dochází ke zvyšování odstupů signálů od vedoucího elektrolytu. Délky zón se s měnícím se pH vedoucího elektrolytu příliš nemění, nicméně největších hodnot nabývají při pH 5,3. Výjimku tvoří pouze citalopram, jehož délka zóny je nejdelší při pH 4,3, jak je zobrazeno na obrázcích č. 20-24. Dále jsou pro představu na obrázku č. 25 znázorněny izotachoforeogramy jednotlivých analytů v elektrolytovém systému s vedoucím elektrolytem o pH 5,3.



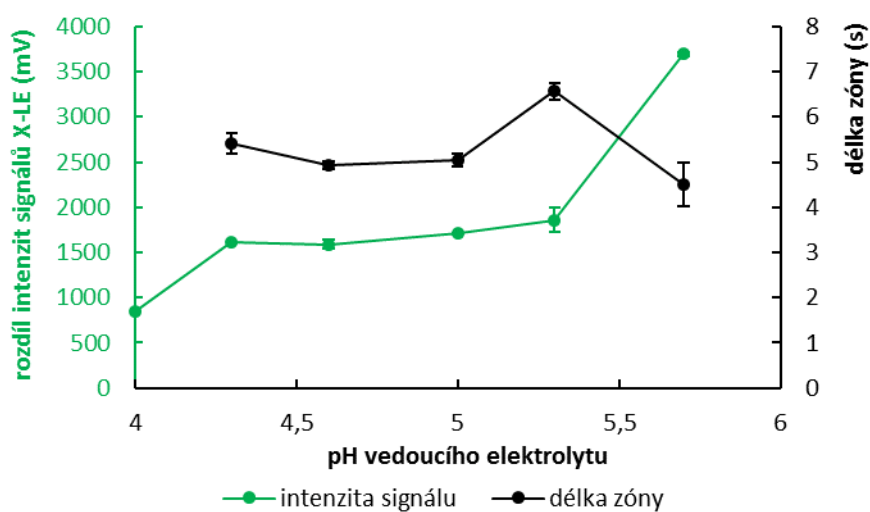
Obrázek č. 20: Délka zón s měnícím se pH - citalopram.



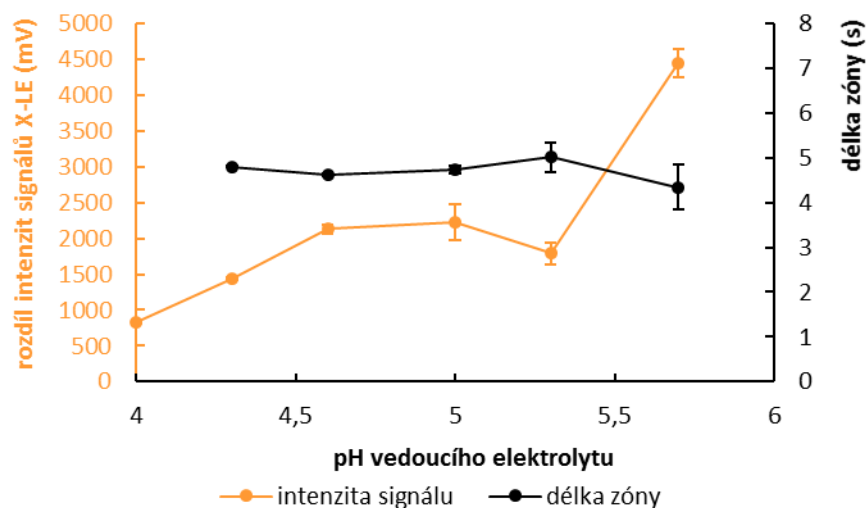
Obrázek č. 21: Délka zón s měnícím se pH – escitalopram.



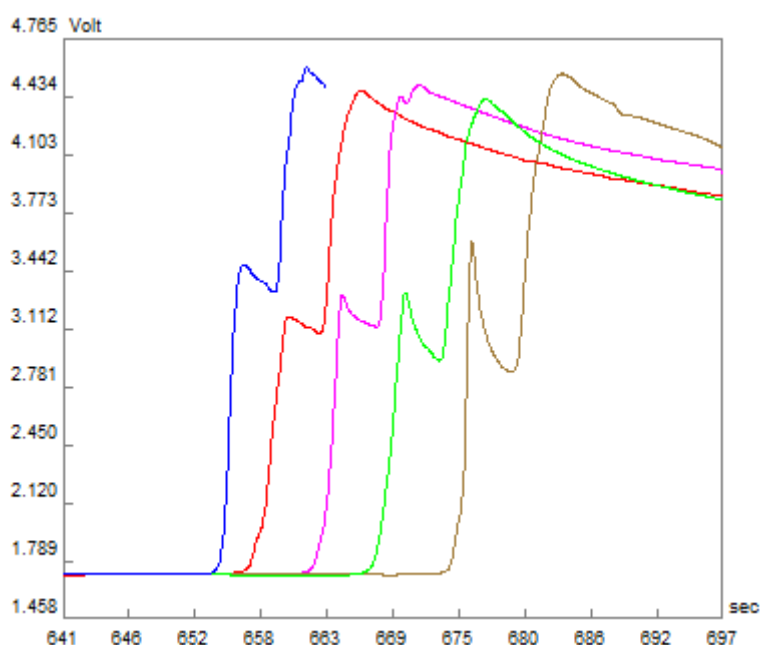
Obrázek č. 22: Délka zón s měnícím se pH – paroxetin.



Obrázek č. 23: Délka zón s měnícím se pH – fluvoxamin.

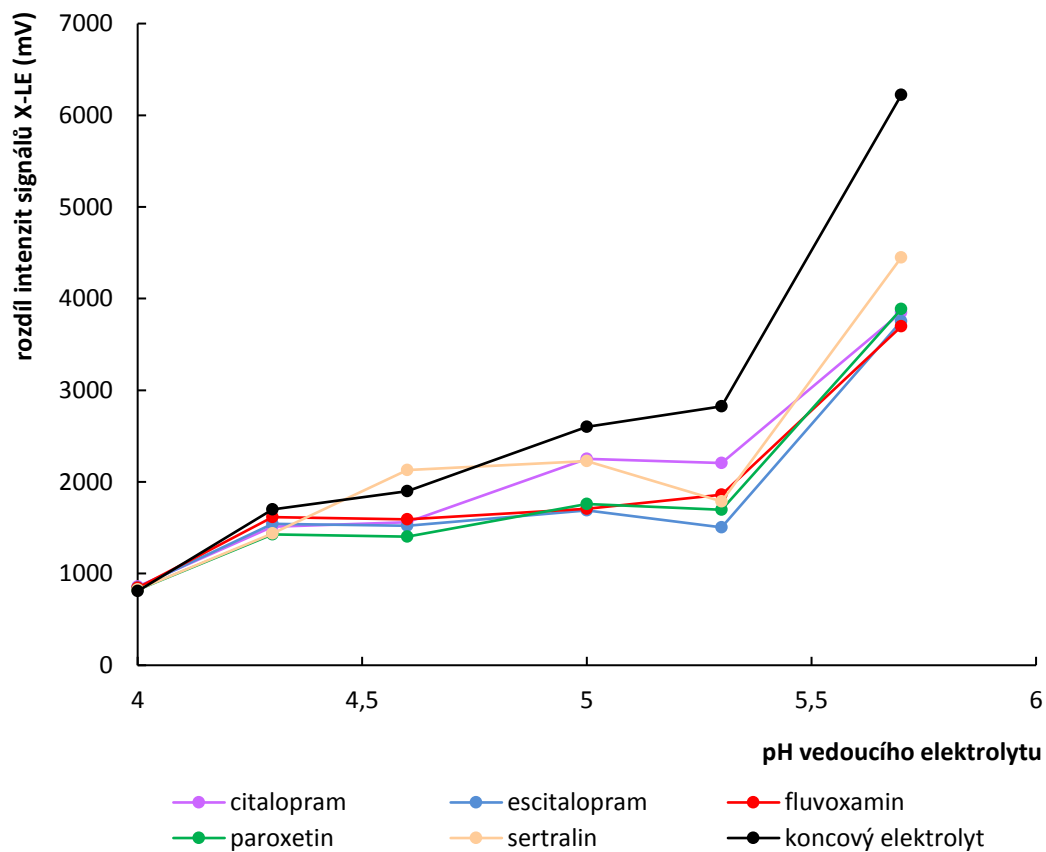


Obrázek č. 24: Délka zón s měnícím se pH – sertralin.

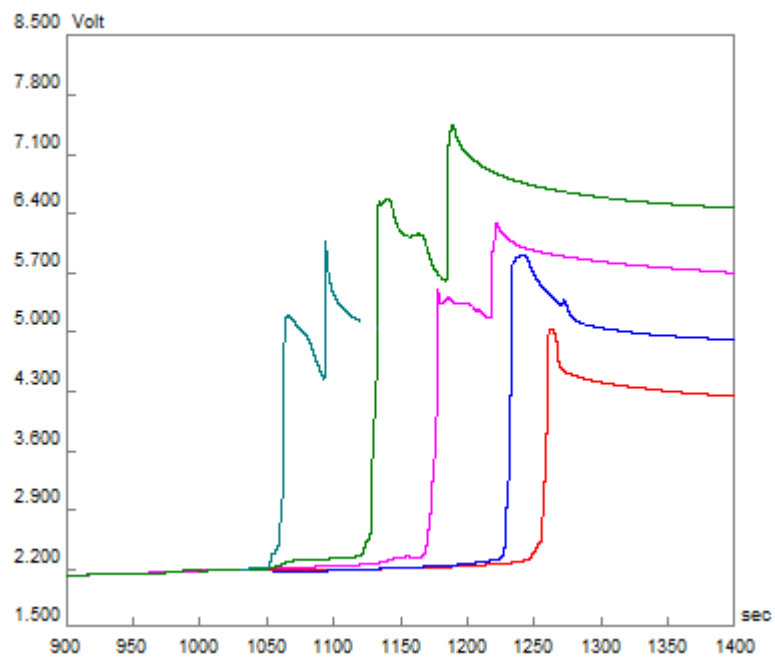


Obrázek č. 25: Izotachforeogramy jednotlivých analytů v elektrolytu o pH 5,3. Modrá křivka fluvoxamin, červená escitalopram, růžová citalopram, zelená paroxetin, hnědá sertralin.

Získaná data intenzit signálů jednotlivých analytů byla vynesena do společného grafu což je obrázek č. 26, kde při porovnání intenzit bylo zjištěno, že nejlepšího rozdělení analytů by mělo být dosaženo při pH vedoucího elektrolytu 5,3, proto bylo toto pH zvoleno pro další experimenty. Jedním z cílů totiž bylo vyvinout ITP metodu, která by umožňovala simultánní stanovení všech analytů během jedné analýzy. Při analýze směsného standardu v tomto elektrolytovém systému ovšem nedošlo k dostatečné separaci jednotlivých analytů, a proto byl směsný standard dále analyzován také při dalších pH vedoucího elektrolytu. Ukázalo se ale, že ani v jednom případě nedošlo k dobrému rozseparování, jak je vidět na obrázku č. 27.

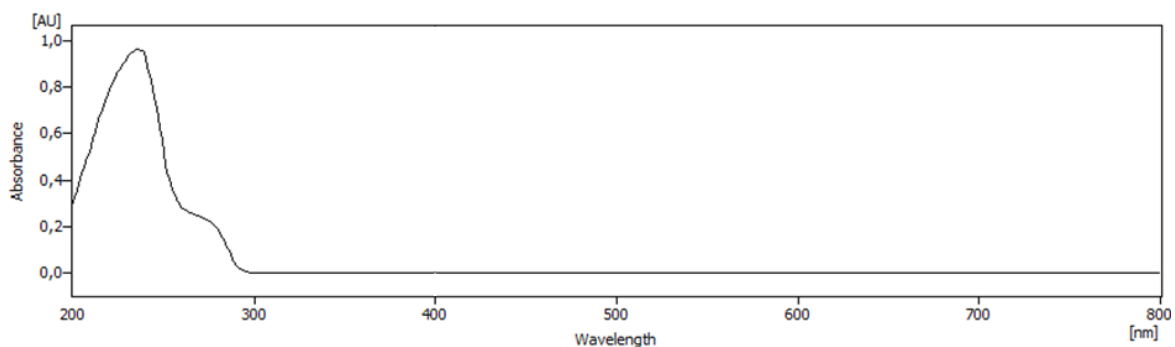


Obrázek č. 26: Společný graf závislosti intenzity signálu na pH vedoucího elektrolytu.

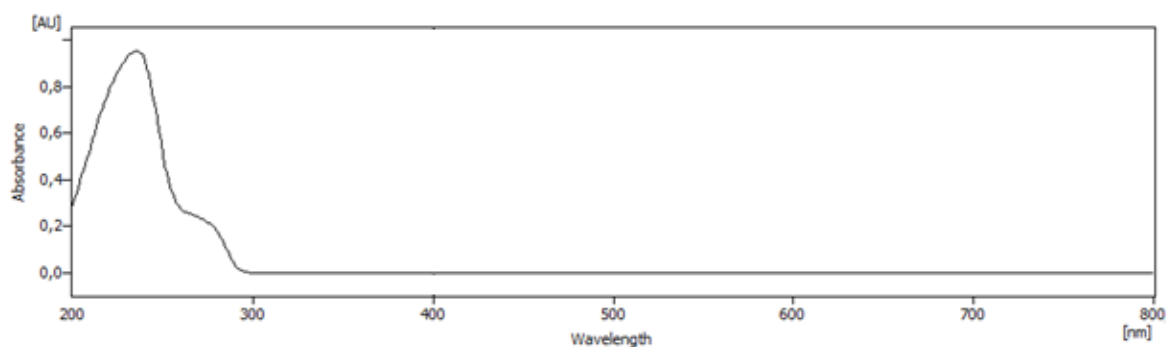


Obrázek č. 27: Izotachoforeogramy smíšeného standardu. Červená křivka pH vedoucího elektrolytu 4,3; modrá 4,6; růžová 5,0; zelená 5,3 a tyrkysová 5,7.

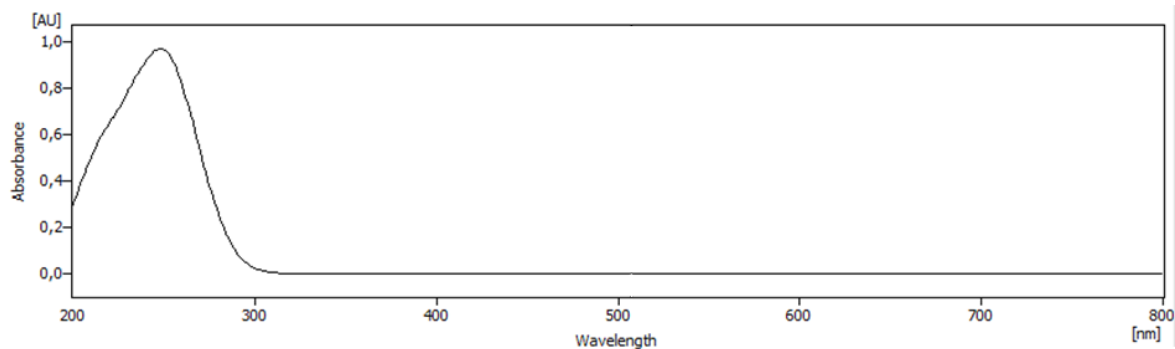
Další možností, pomocí které by bylo možné jednotlivé analyty rozdělit, je využití spektrofotometrické detekce. Z tohoto důvodu byla pro všechny analyty proměřena spektra v rozmezí vlnových délek 200 – 800 nm, což je vidět na obrázcích č. 28-32 a odečtena absorpční maxima jednotlivých analytů, která jsou uvedena v tabulce č. 4.



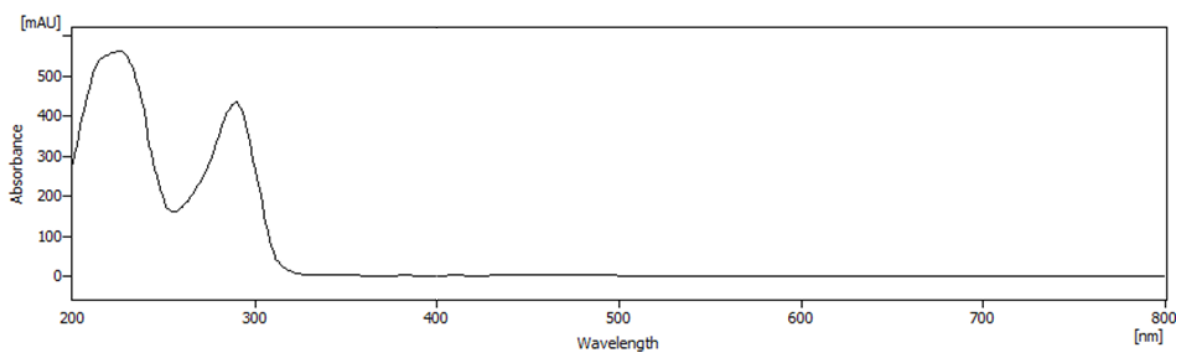
Obrázek č. 28: UV-Vis spektrum citalopramu.



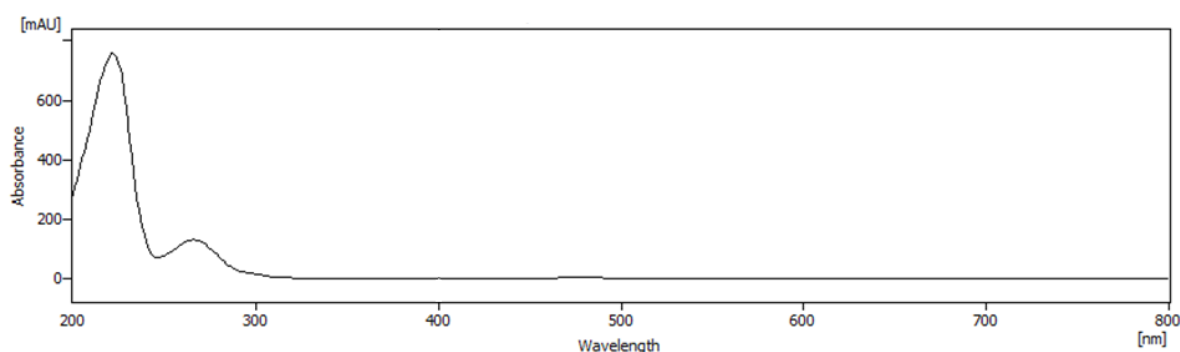
Obrázek č. 29: UV-Vis spektrum escitalopramu.



Obrázek č. 30: UV-Vis spektrum fluvoxaminu.



Obrázek č. 31: UV-Vis spektrum paroxetinu.

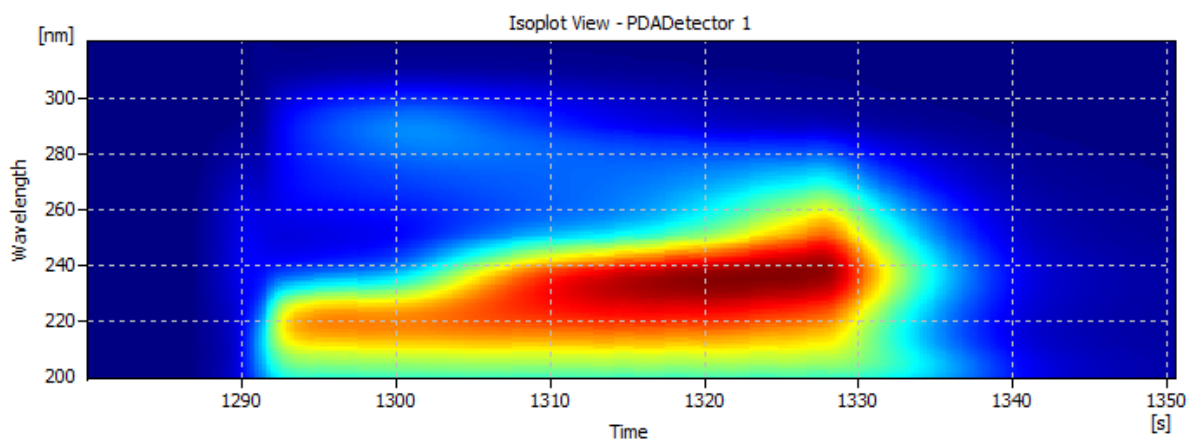


Obrázek č. 32: UV-Vis spektrum sertralinu.

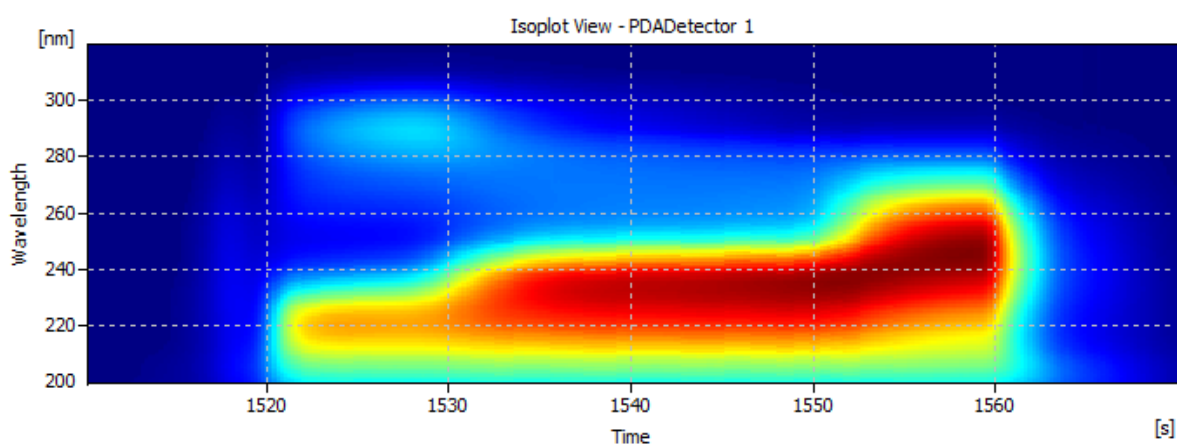
Tabulka č. 4: Absorpční maxima jednotlivých analytů.

Analyty	Vlnová délka [nm]
Citalopram	235
Escitalopram	233
Fluvoxamin	248
Paroxetin	227 a 289
Sertralin	222

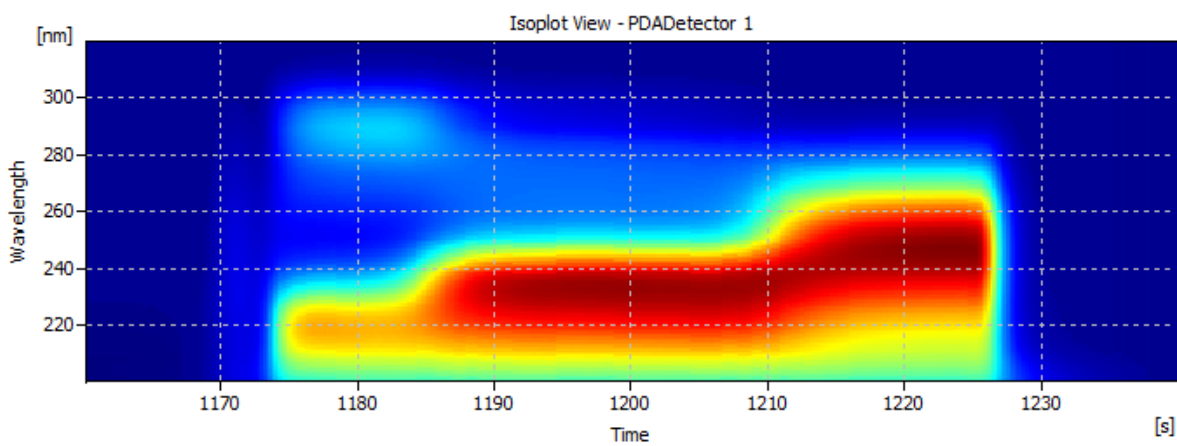
Poté byla provedena ITP analýza směšného standardu s využitím spektrofotometrické detekce a třech vedoucích elektrolytů o pH 4,6; 5,0; a 5,3, (viz. obrázky č. 33 až 35), ve kterých bylo pomocí vodivostní detekce dosaženo nejlepšího možného rozdělení analytů. Bohužel ani pomocí spektrofotometrické detekce se nepodařilo dosáhnout optimálního výsledku, nejlepší záznam byl získán v elektrolytovém systému s vedoucím elektrolytem o pH 5,3 zobrazený na obrázku č. 36. Nicméně ani v tomto případě nedochází k tak dobrému rozdělení, aby mohly být jednotlivé analyty kvantifikovány. Ze získaných spektrálních záznamů je maximálně možné určit, které analyty jsou ve vzorku přítomny.



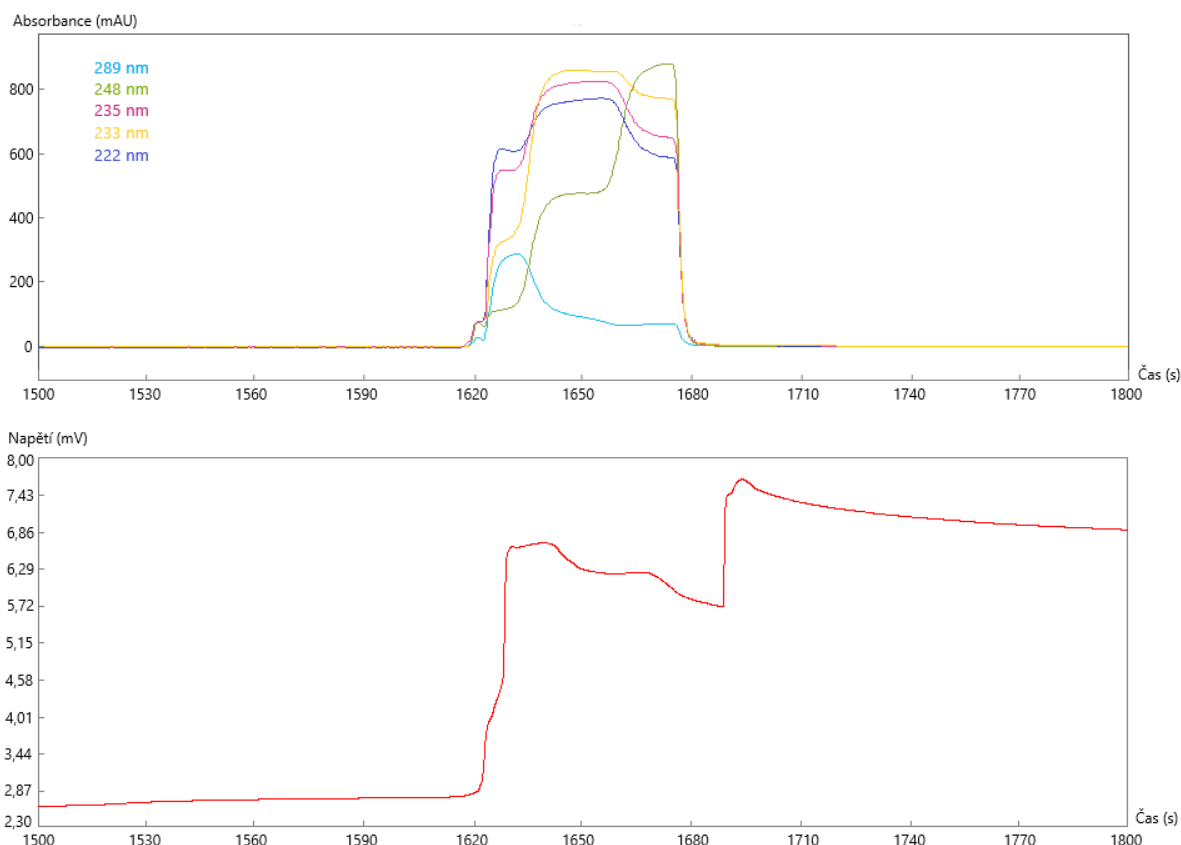
Obrázek č. 33: UV-Vis spektrum směsi antidepresiv; pH 4,6.



Obrázek č. 34: UV-Vis spektrum směsi antidepresiv; pH 5,0.



Obrázek č. 35: UV-Vis spektrum směsi antidepresiv; pH 5,3.



Obrázek č. 36: Analýza ITP směsného standardu; pH 5,3. Na horním obrázku je spektrofotometrická detekce při různých vlnových délkách a na dolním obrázku je vodivostní detekce.

3.2. Validace metody

Pro všechny analyty byla stanovena opakovatelnost, ale vzhledem k tomu, že k analýzám byly k dispozici pouze vzorky s obsahem sertralinu a escitalopramu, byly ostatní parametry metody stanoveny pouze pro tyto dva analyty.

3.2.1. Stanovení opakovatelnosti

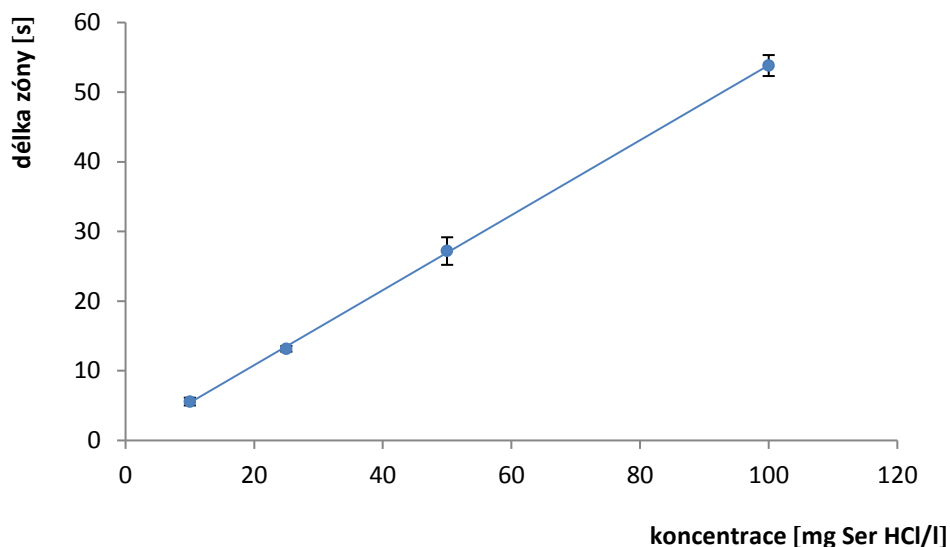
Opakovatelnost byla stanovena pro všechny analyty jako relativní směrodatná odchylka pěti po sobě následujících měření standardních roztoků o koncentraci 50 mg/l. Opakovatelnost byla stanovována z délek zón v předseparační i analytické koloně a je přehledně uvedena v tabulce č. 5.

Tabulka č. 5: Stanovení opakovatelnosti z délek zón.

Analyt	opakovatelnost (předseparační kolona)	opakovatelnost (analytická kolona)
Citalopram	7,9 %	6,2 %
Escitalopram	14,5 %	5,2 %
Fluvoxamin	10,9 %	6,5 %
Paroxetin	6,1 %	2,3 %
Sertralin	10,0 %	1,3 %

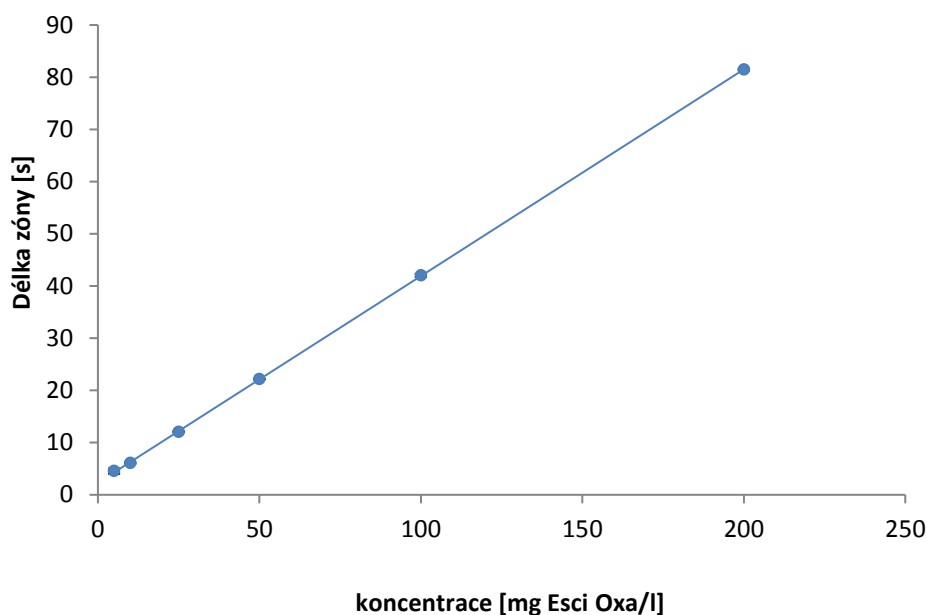
3.2.2. Kalibrační závislosti

Z výsledků analýz kalibračních roztoků sertralinu ve formě sertralin hydrochloridu o koncentracích 10, 25, 50 a 100 mg sertralin hydrochloridu/l byla sestavena kalibrační křivka jako závislost délek zón na koncentraci. V tomto koncentračním rozmezí lze kalibrační křivku popsat rovnicí přímky $L (s) = 0,5383 c (mg/l) + 0,0429$ a vykazuje velmi dobrou linearitu s koeficientem determinace $R^2 = 0,9999$. Kalibrační křivka sertralin hydrochloridu je uvedena v následujícím obrázku č. 37.



Obrázek č. 37: Kalibrační závislost délky zóny na koncentraci, sertralin hydrochlorid.

Pro sestavení kalibrační křivky escitalopramu byly zvoleny koncentrace 5, 10, 25, 50, 100 a 200 mg escitalopram oxalátu/l. V tomto koncentračním rozmezí je kalibrační křivka lineární ($R^2 = 1,0000$) a lze ji popsat rovnicí přímky $L (s) = 0,396 c (mg/l) + 2,312$. Kalibrační křivku escitalopram oxalátu je možné vidět na obrázku č. 38.



Obrázku č. 38: Kalibrační závislost délky zóny na koncentraci, escitalopram oxalát.

3.2.3. Mez detekce a kvantifikace

Meze kvantifikace byly vypočteny z kalibračních křivek a odpovídají koncentracím analytů poskytujících zónu o délce 1 sekundy. Vzhledem k tomu, že kalibrační křivky mají kladné hodnoty úseků, byly pro určení mezí kvantifikace tyto hodnoty zanedbány a brány jako nulové. Meze detekce byly následně stanoveny jako 1/3 mezí kvantifikace. Hodnoty jsou přehledně znázorněny v tabulce č. 6.

Tabulka č. 6: Mez detekce a mez kvantifikace pro sertralin a escitalopram.

	sertralin hydrochlorid	escitalopram oxalát
Mez detekce	0,62 mg/l	0,84 mg/l
	1,81 $\mu\text{mol/l}$	2,03 $\mu\text{mol/l}$
Mez kvantifikace	1,86 mg/l	2,53 mg/l
	5,43 $\mu\text{mol/l}$	6,09 $\mu\text{mol/l}$

3.2.4. Stanovení výtěžnosti

Ke stanovení výtěžnosti sertralinu byl připraven modelový vzorek o koncentraci 25 mg sertralin hydrochloridu/l. Výtěžnost byla stanovena metodou kalibrační křivky a metodou standardního přídávku jako podíl naměřené a skutečné koncentrace modelového vzorku. Modelový vzorek byl nejprve dvakrát analyzován bez standardního přídávku, následně k němu byl přidán standardní přídavek o koncentraci 50 mg sertralin hydrochloridu/l a nakonec byl takto upravený vzorek opět dvakrát proměřen. Ze získaných délek zón byla vypočtena

koncentrace sertralin hydrochloridu a stanovena výtěžnost pro obě metody kvantifikace, která je uvedena níže v tabulce č. 7.

Stejným způsobem bylo postupováno při stanovení výtěžnosti escitalopramu, rozdíl byl pouze v tom, že standard byl ve formě oxalátu a nikoliv hydrochloridu.

Tabulka č. 7: Výtěžnost metody pro sertralin a escitalopram.

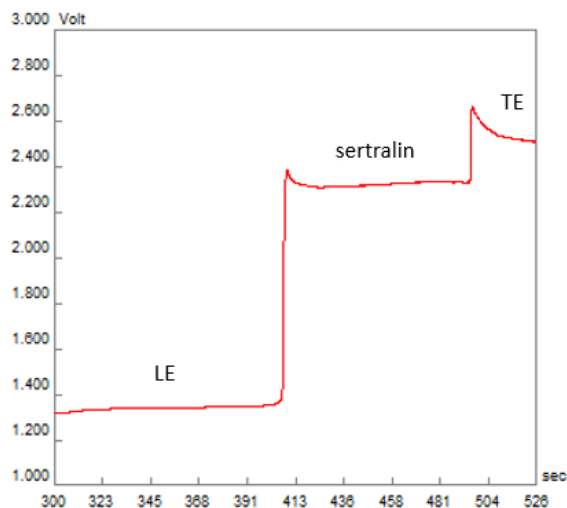
Analyt	sertralin hydrochlorid	escitalopram oxalát
Koncentrace modelového vzorku	25 mg/l	25 mg/l
Koncentrace získaná metodou kalibrační křivky	27,55 ± 0,63 mg/l	24,55 ± 0,28 mg/l
Koncentrace získaná metodou standardního přídatku	27,79 ± 1,00 mg/l	24,95 ± 0,75 mg/l
Výtěžnost získaná metodou kalibrační křivky	110,2 ± 2,5 %	98,2 ± 1,1 %
Výtěžnost získaná metodou standardního přídatku	111,1 ± 4,0 %	99,8 ± 3,0 %

3.2.5. Analýza reálných vzorků

3.2.5.1. Analýza celých tablet

Vzorky byly připraveny tak, jak je uvedeno v kapitole 2.6.1. Vzorek bez standardního přídatku i se standardním přídatkem byl analyzován 3x. Měření probíhalo pouze pomocí vodivostního detektoru, UV-Vis detektor nebyl nakonec použit. Vzhledem k tomu, že byl přítomen pouze jeden analyt a nedocházelo k interferenci, použití UV-Vis detektoru nebylo třeba.

Z naměřených hodnot byla vypočtena koncentrace analytu ve vzorku pomocí dvou metod kvantifikace, tj. metodou kalibrační křivky a metodou standardního přídatku. V tabulce č. 8 jsou uvedeny výsledky pro sertralin a v tabulce č. 9 pro escitalopram. Naměřené výsledky jsou téměř shodné s hodnotami deklarovanými výrobcem.



Obrázek č. 39: Izotachoforeogram tablety Asentra 100.

Měření probíhalo pouze pomocí vodivostního detektoru, UV-Vis detektor nebyl nakonec použit. Vzhledem k tomu, že byl přítomen pouze jeden analyt a nedocházelo k interferenci, použití UV-Vis detektoru nebylo třeba.

Na obrázku č. 39 je znázorněn izotachoforeogram tablety Asentra 100 mg. Vedoucí elektrolyt 10 mM octan sodný a kyselina octová (pH 5,3). Jako koncový elektrolyt byl použit 10 mM β -alanin.

3.2.5.2. Analýza půlených tablet

Kromě celých tablet byly analyzovány i poloviny tablet. Pro každé léčivo (Asentra, Elicea) byly z plata v krabičce náhodně vybrány dvě tablety, z nichž jedna byla rozpůlena pomocí půličky tablet (tableta IV) a druhá ručně (tableta V). Tyto dvě metody byly zvoleny pro ověření přesnosti půlení a jejich výhody či nevýhody. Tato analýza byla prováděna s ohledem na denní dávkování pacienta a případné nestejně koncentrace v denní dávce, jestliže by došlo k nepřesnému půlení (obě léčiva mají tablety, které podle příbalového letáku lze půlit). Zjištění, jak moc se liší koncentrace v jednotlivých půlkách tablet, bylo jedním z cílů práce.

Při přípravě prášku ve třecí misce bylo zjištěno, že tableta léčiva Asentra 100 byla hůře dritelná z důvodů složení potahové vrstvy tablety. Jednotlivé části povrchové vrstvy tablety držely u sebe, při drcení tablety vznikl hrubší prášek, jehož následné rozpuštění v destilované vodě trvalo delší dobu. Při dělení tablety ručně i půličkou má tato skutečnost pravděpodobně vliv na rovnocenné rozpůlení tabletky, i přesto že dělicí rýha je méně výrazná.

Oproti tomu tableta léčiva Elicea 10 měla půlicí rýhu výraznější a půlení ručně i děličkou bylo mnohem lehčí. Vzhledem k tomu, že potahová vrstva tablety neobsahovala látky, které držely jednotlivé části pohromadě, bylo půlení tablety méně přesné a vzniklé části nebyly

očividně stejné. Při drcení tablety docházelo k úplnému rozdrčení na jemný prášek a rychlejšímu rozpouštění v odměrné baňce.

Získané výsledky koncentrací jednotlivých polovin tablet jsou uvedeny v tabulkách č. 8 a 9. Z výsledků je patrné, že pro tablety Asentra jsou vhodné oba způsoby pūlení, neboť koncentrace sertralinu je téměř stejná v obou částech tablety. Nicméně u tablet Elicea se jako vhodnější ukázalo ruční pūlení, neboť vzniklé části tablet obsahovaly téměř stejnou koncentraci účinných látek. Pūlení pomocí pūličky tablet nebylo vhodné vzhledem ke vzniku dvou nestejně velkých částí tablety, což potvrdila i analýza – obsah escitalopramu byl v každé části tablety odlišný.

Tabulka č. 8: Přehled jednotlivých výsledných koncentrací sertralinu v tabletách.

Tableta č.	Kalibrační křivka (mg Ser HCl/tab)	Standardní přídavek (mg Ser HCl/tab)	Deklarováno výrobcem (mg Ser HCl/tab)
Tableta I	94,7 ± 8,4	101,8	111,9
Tableta II	115,4 ± 6,2	107,4	111,9
Tableta III	101,8 ± 8,6	107,9	111,9
1. 1/2 tablety IV	55,2 ± 6,3	53,9	55,95
2. 1/2 tablety IV	52,5 ± 4,8	59,8	55,95
1. 1/2 tablety V	55,4 ± 2,1	53,7	55,95
2. 1/2 tablety V	56,8 ± 2,0	58,2	55,95

Tabulka č. 9: Přehled jednotlivých výsledných koncentrací escitalopramu v tabletách

Tableta č.	Kalibrační křivka (mg Esci oxa/tab)	Standardní přídavek (mg Esci oxa/tab)	Deklarováno výrobcem (mg Esci oxa/tab)
Tableta I	16,9 ± 0,3	18,3	12,78
Tableta II	14,0 ± 0,2	14,9	12,78
Tableta III	13,0 ± 0,1	11,1	12,78
1. 1/2 tablety IV	8,1 ± 0,1	9,0	6,39
2. 1/2 tablety IV	4,7 ± 0,1	5,8	6,39
1. 1/2 tablety V	7,6 ± 1,3	7,0	6,39
2. 1/2 tablety V	6,1 ± 0,3	7,0	6,39

ZÁVĚR

V teoretické části této diplomové práce je shrnuta problematika depresivních poruch a jejich léčby. K tomuto účelu jsou používána antidepresiva, což jsou léčiva ovlivňující především patologicky pokleslou náladu. Jejich mechanismus účinku je různý a v mnoha případech ještě dostatečně neprobádaný. Vzhledem k přibývajícimu výskytu depresivních poruch a s tím souvisejícím používáním antidepresiv je důležité vyvíjet stále nové analytické metody, které se používají k jejich stanovení, ať už v tělních tekutinách, léčivech nebo životním prostředí. Nejvíce používanými technikami jsou plynová a kapalinová chromatografie a kapilární elektroforéza. Jednou z možností je také využití kapilární izotachoforézy, která je především v oblasti kontroly léčiv levnější a na přípravu vzorku méně náročnou metodou než právě výše zmíněná kapalinová chromatografie. V této práci jsou uvedeny vybrané metody, které byly v posledních letech použity ke stanovení antidepresiv v různých matricích.

Experimentální část práce je zaměřena na optimalizaci izotachoforetické metody, která by mohla být použita k simultánnímu stanovení antidepresiv typu SSRI, tj. sertralinu, paroxetinu, citalopramu, escitalopramu a fluvoxaminu. Vzhledem k tomu, že se jedná o látky obsahující dusík schopný protonace, byl zvolen kationtový mód izotachoforézy. Během optimalizace byly zkoušeny elektrolytové systémy o různém složení i pH. Jako nejvhodnější se jevil elektrolytový systém složený z vedoucího elektrolytu o pH 5,3 obsahující 10 mM octan sodný a kyselinu octovou k úpravě pH. Koncový elektrolyt tvořil 10 mM β -alanin. Nicméně dokonalé separace všech analytů za použití vodivosti i spektrofotometrické detekce nebylo dosaženo ani v tomto, ani v jiném elektrolytu. Při tomto uspořádání jsme schopni určit pouze kvalitativní složení vzorku.

Dále jsme se tedy zaměřili na kontrolu kvality léčiv, ve kterých je přítomen vždy pouze jeden analyt. K tomuto účelu jsme použili pouze vodivostní detekci, jejíž vyhodnocení je rychlejší a přesnost stanovení při takto vysokých koncentracích je dostačující. Pro všechny výše zmíněné analyty byla stanovena opakovatelnost, která se v analytické koloně pohybovala v rozmezí od 1,3 do 6,5 %. Další parametry metody jsme stanovovali pouze pro dva analyty, a sice sertralin a escitalopram, vzhledem k tomu, že jsme měli k dispozici léčiva pouze s těmito obsahovými látkami. Byla stanovena mez detekce, která se pohybovala řádově okolo 1 mg/l, a mez kvantifikace okolo 2 – 3 mg/l. Dále byly proměřeny kalibrační křivky v rozmezí řádově jednotek až stovek mg/l, kdy v tomto rozmezí byly lineární s koeficienty determinace min.

0,9999. Pomocí metody kalibrační křivky a metody standardního přídatku byla stanovena výtěžnost, která se pohybovala v rozmezí od přibližně 98 do 110 %.

Metoda byla vyzkoušena na analýze léčivých tablet Asetra s obsahem sertralin hydrochloridu a Elicea s obsahem escitalopram oxalátu. Naměřené obsahy léčiv byly v dobré shodě s těmi, které deklaroval výrobce. Dalším cílem bylo zjistit, zda koncentrace léčiva je stejná v obou polovinách tablet, vzhledem k tomu, že se jedná o léčiva, která je možno púlit. Bylo zjišřeno, že koncentrace léčiva je v obou polovinách téměř stejná, nicméně púlení tablet na přesné poloviny se ukázalo jako velmi obtížné.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Dušek Karel & Večeřová-Procházková, A. *Diagnostika a terapie duševních chorob*. (Grada Publishing a.s. 2015).
2. Orel, M. a kolektiv. *Psychopatologie, Nauka o nemocech duše*. (Grada Publishing a.s. 2015).
3. Sandmire, H. F., Austin, S. D. & Bechtel, R. C. Experience with 40,000 Papanicolaou smears. *Obstet. Gynecol.* **48**, 56–60 (1976).
4. WHO (World Health Organization). Mental disorders. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders> (2019).
5. Facts, K. Key Facts , Figures , and Activities Mental Health in the EU. *Prevention* (2008).
6. Vaculčíková Sedláčková, Z. & Praško, J. *Deprese a poruchy osobnosti*. (Olomouc 2019). doi:10.5507/ff.19.24455907.
7. Janů Ph.D, L. & Racková, S. Jak správně poznat a léčit depresi. *Medicína pro praxi* **4**, 24–27 (2007).
8. Praško, J., Kyrálová, I., Minaříková, V. & Prašková, H. *Skupinová kongitivně-behaviorální terapie deprese*. (Psychiatrické centrum Praha 1998).
9. WHO (World Health Organization). Depression. (2020).
10. Kryl, M. Deprese v somatické medicíně. *Interní medicína pro praxi* **3**, 4–8 (2005).
11. Kamarádová, D. & Ph, D. Depresivní příznaky u jednotlivých neurologických poruch. *Neurol. pro praxi* **21**, 222–225 (2020).
12. Češková CSc, E. Možnosti farmakoterapie deprese. *Psychiatr. pro praxi* **9**, 233–236 (2006).
13. Anders, M. *Praktické otázky diagnostiky a léčby depresivních poruch* /. (2015).
14. Hosák, L., Hrdlička, M., Libiger, J. & a kolektiv. *Psychiatrie a pedopsychiatrie*. (Nakladatelství Karolinum 2015).
15. Bouček, J. & Pidrman, V. *Psychofarmaka v medicíně*. (Grada Publishing a.s. 2005).
16. Praško, J. & a kolektiv. *Obecná psychiatrie*. (Univerzita Palackého v Olomouci 2011).
17. Češková, E. Jak správně zvolit Antidepresivum. *Psychiatr. pro praxi* **8**, 229–231 (2007).
18. Hampl, F., Rádl, S. & Paleček, J. *Farmakochemie*. (Vysoká škola Chemicko-Technologická v Praze).
19. Fujáková, M. & Kopeček, M. Antidepresiva - od teorie ke klinické praxi. *Klin. Farmakol.*

- a Farm.* **26**, 29–37 (2012).
20. MCE - MedChemExpress. Iproniazid.
<https://www.medchemexpress.com/iproniazid.html>.
 21. Glentham Life Sciences. Imipramine hydrochloride.
<https://www.glentham.com/en/products/product/GP6668/>.
 22. Glentham Life Sciences. Chlorpromazine hydrochloride.
<https://www.glentham.com/en/products/product/GP7266/>.
 23. Joffe, R. T. *The pharmacotherapy of depression. Journal of Psychiatry and Neuroscience* vol. 16 (1991).
 24. Lüllmann, H., Mohr, K. & Wehling, M. *Farmakologie a Toxikologie*. (Grada Publishing 2004).
 25. Látalová, K. & Pidrman, V. Antidepresiva s duálním působením - účinnost a indikace. *Klin. Farmakol. a Farm.* **18**, 218–222 (2004).
 26. Fišar, Z. a kol. *Vybrané kapitoly z biologické psychiatrie*. (Grada Publishing a.s. 2009).
 27. Hynie, S. *Psychofarmakologie v praxi*. (Galén 1995).
 28. Gałęcki, P., Mossakowska-Wójcik, J. & Talarowska, M. The anti-inflammatory mechanism of antidepressants – SSRIs, SNRIs. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* **80**, 291–294 (2018).
 29. Mandrioli, R., Mercolini, L., A. Saracino, M. & A. Raggi, M. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRIs): Therapeutic Drug Monitoring and Pharmacological Interactions. *Curr. Med. Chem.* **19**, 1846–1863 (2012).
 30. Dostálek, M. & Kolektiv, A. *Farmakokinetika*. (Grada Publishing a.s. 2006, 2006).
 31. Dharmshaktu, P., Tayal, V. & Kalra, B. S. Efficacy of antidepressants as analgesics: A review. *J. Clin. Pharmacol.* **52**, 6–17 (2012).
 32. Van Den Berg, S. J., Duphar, S. & Houtenlaan, V. From Chemistry to Clinical Choice. **10**, (1993).
 33. Prokeš, M. & Suchopár, P. Serotoninový syndrom: co bychom o něm měli vědět. *Medicína pro praxi* **11**, 226–230 (2014).
 34. Artigas, F. Future directions for serotonin and antidepressants. *ACS Chem. Neurosci.* **4**, 5–8 (2013).
 35. Spousta, S. Syndrom z vysazení SSRI. *Psychiatr. pro praxi* **2**, 18–19 (2005).
 36. Glentham Life Sciences. Citalopram hydrobromid.
<https://www.glentham.com/en/products/product/GP8111/>.
 37. Glentham Life Sciences. Fluoxetin hydrochlorid.

- <https://www.glenthams.com/en/products/product/GP4431/>.
38. Fluoxetine Vitabalans 20. Příbalový leták <https://pribalovy-letak.info/fluoxetine-vitabalans-20-mg-potahovane-tablety/souhrn>.
 39. Glenthams Life Sciences. Fluvoxamine maleat. <https://www.glenthams.com/en/products/product/GP8417/>.
 40. Příbalový leták. Fevarin 50. <https://pribalovy-letak.info/fevarin-50/souhrn>.
 41. Glenthams Life Sciences. Paroxetin hydrochlorid. <https://www.glenthams.com/en/products/product/GP8602/>.
 42. Příbalový leták. Paroxetin Orion 20. <https://pribalovy-letak.info/paroxetin-orion-20-mg-potahovane-tablety/souhrn>.
 43. Glenthams Life Sciences. Sertraline hydrochlorid. <https://www.glenthams.com/en/products/product/GP7667/>.
 44. Příbalový leták. Asentra 100. <https://pribalovy-letak.info/asentra-100/souhrn>.
 45. Glenthams Life Sciences. Escitalopram oxalate. <https://www.glenthams.com/en/products/product/GP5432/>.
 46. Příbalový leták. Eliea 10. <https://pribalovy-letak.info/eliea-10-mg/souhrn>.
 47. CUNI. Účinky blokátorů α_2 -adrenoreceptorů.
 48. Anders, M. & Fišar, Z. Buněčné membrány jako cíl působení antidepresiv. 413–419.
 49. Fi, Z., Hroudová, J. & Raboch, J. Biochemické mechanismy účinků antidepresiv. **0**, 531–540 (2021).
 50. Rot, M. A. H., Mathew, S. J. & Charney, D. S. Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. *Can. Med. Assoc. J.* **180**, 305–313 (2009).
 51. Höschl, C. Neurotrofní účinky antidepresiv. 223–228.
 52. Fišar, Z. & Raboch, J. SEROTONERGNÍ ÚČINKY ANTIDEPRESIV. *Česká a Slovenská Psychiatrie* 115–120 <http://www.cspsychiatr.cz/detail.php?stat=697> (2011).
 53. Nordrenalin. <https://www.wikiskripta.eu/w/Noradrenalin>.
 54. Dalley, J. W. & Roiser, J. P. Dopamine, serotonin and impulsivity. *Neuroscience* **215**, 42–58 (2012).
 55. Fišar, Z. Antidepresiva a membránové lipidy. *Klin. Farmakol. a Farm.* **18**, 198–202 (2004).
 56. Anders, M. & Fišar, Z. Buněčné membrány jako cíl působení antidepresiv. (2015).
 57. Cohen, L. J. & Lindsay Devane, C. Clinical implications of antidepressant pharmacokinetics and pharmacogenetics. *Ann. Pharmacother.* **30**, 1471–1479 (1996).
 58. Devane, L. Pharmacokinetics of the Newer Antidepressant: Clinical Relevance. **97**,

- (1994).
59. Woolf, A. D. *et al.* Tricyclic antidepressant poisoning: An evidence-based consensus guideline for out-of-hospital management. *Clin. Toxicol.* **45**, 203–233 (2007).
 60. Kerr, G. W., McGuffie, A. C. & Wilkie, S. Tricyclic antidepressant overdose: A review. *Emerg. Med. J.* **18**, 236–241 (2001).
 61. Johnson, D. J., Sanderson, H., Brain, R. A., Wilson, C. J. & Solomon, K. R. Toxicity and hazard of selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants fluoxetine, fluvoxamine, and sertraline to algae. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **67**, 128–139 (2007).
 62. Uřinová, R., Turjap, M., Brozmanová, H. & Grundmann, M. PŘEHLEDY A ODBORNÁ SDĚLENÍ Analytické metody pro stanovení vybraných psychofarmak. 103–111 (2021).
 63. Praus, P. & Vontorová, J. *Analytická chemie II.* (Ostrava, VŠB- Technická Univerzita Ostrava 2015, 2015).
 64. Klouda, P. *Moderní analytické metody.* (Ostrava 2003, 2003).
 65. Štulík, K. *Analytické separační metody.* (Karolinum 2004, 2004).
 66. Pce, U. Dokumenty - UNIVERZITA PARDUBICE. <https://dokumenty.upce.cz/FCHT/kbbv-vk/instrumentalni-met-anal.html>.
 67. Brozmanová, H. Laboratory methods in therapeutic drug monitoring. *Klin. Farmakol. a Farm.* **34**, 56–62 (2020).
 68. Khraiweh, A. *et al.* Development and validation of an EI-GC/MS method for the determination of sertraline and its major metabolite desmethyl-sertraline in blood. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **879**, 2576–2582 (2011).
 69. Rosado, T. *et al.* Simultaneous Quantification of Antidepressants and Metabolites in Urine and Plasma Samples by GC–MS for Therapeutic Drug Monitoring. *Chromatographia* **80**, 301–328 (2017).
 70. Pujadas, M. *et al.* A simple and reliable procedure for the determination of psychoactive drugs in oral fluid by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **44**, 594–601 (2007).
 71. Eduardo, C. *et al.* Liquid- phase microextraction for simultaneous chromatographic analysis of three antidepressant drugs in plasma. **35**, 72–76 (2012).
 72. Uřinová, R. *et al.* Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for determination of five antidepressants and four atypical antipsychotics and their main metabolites in human serum. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **907**, 101–107 (2012).

73. Malfará, W. R. *et al.* Reliable HPLC method for therapeutic drug monitoring of frequently prescribed tricyclic and nontricyclic antidepressants. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **44**, 955–962 (2007).
74. Catai, A. P. F., Carrilho, E., Lanças, F. M. & Queiroz, M. E. C. Fast separation of selective serotonin reuptake inhibitors antidepressants in plasma sample by nonaqueous capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A* **1216**, 5779–5782 (2009).
75. Himmelsbach, M., Buchberger, W. & Klampfl, C. W. Determination of antidepressants in surface and waste water samples by capillary electrophoresis with electrospray ionization mass spectrometric detection after preconcentration using off-line solid-phase extraction. *Electrophoresis* **27**, 1220–1226 (2006).
76. CUNI. Capillary Electro-separation, CES. <http://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/ces.html>.
77. Zhou, X., He, M., Chen, B. & Hu, B. Hollow fiber based liquid-liquid-liquid microextraction combined with sweeping micellar electrokinetic chromatography for the sensitive determination of second-generation antidepressants in human fluids. *Analyst* **140**, 1662–1671 (2015).
78. Buzinkaiova, T. & Vlasev, E. Short Communication Isotachophoretic. **638**, 231–234 (1993).
79. Asentra 100 - krabička. <https://www.catena.ro/medicamente/sistemul-nervos/asentra-100-mg-28-comprimat-filmate>.
80. Elicea 10 - obrázek krabičky. <https://www.krka.co.uk/uk/media-centre/news/2653/>.