

SOUHRN

Předkládaná dizertační práce popisuje formou komentáře k vlastním originálním publikacím vývoj analytických postupů pro analýzu léčiv popř. metabolitů z různých terapeutických skupin. Vedle optimalizace preanalytické a analytické fáze, je věnován velký prostor validaci a interpretaci získaných výsledků. Práce je složena ze tří tématických okruhů: chirální stanovení tramadolu a jeho metabolitu, stanovení antihypertenziv a kvalitativní analýza benzodiazepinů.

V prvním okruhu je popsán vývoj metodik pro chirální analýzu tramadolu a jeho demetylovaného metabolitu *O*-desmethyltramadol (ODT) v moči a v plazmě. Tramadol je centrálně působící analgetikum, jež se užívá v terapii jako racemát. Chování každého enantiomeru se liší: (+)-tramadol inhibuje především zpětné vychytávání serotoninu a (-)-tramadol inhibuje zpětné vychytávání noradrenalinu, (+)-tramadol je desetkrát terapeuticky účinnější než druhý enantiomer. *O*-demetylaci katalyzovanou enzymem CYP2D6 v játrech vzniká neaktivnější metabolit (ODT), který je zodpovědný za vznik lékově navozené opioidní analgezie. (-)-ODT vykazuje schopnost inhibice zpětného vychytávání monoaminů zatímco (+)-ODT vykazuje 200 krát vyšší afinitu k opioidním receptorům než mateřská látka. Také metabolická přeměna tramadolu vykazuje stereoselektivní selektivitu. Z toho důvodu je pro fenotypizaci polymorfního cytochromu P450 2D6 výhodné detekovat enantiomery ODT i tramadolu. Nejprve byla analyzována moč a plazma u zdravých dobrovolníků po požití tramadolu a následně byl porovnán výsledek s konkrétním fenotypem. Výsledky dobře korelovaly s genotypizací: poměr ODT/tramadol u středních a rychlých metabolizátorů byl výrazně posunut ve prospěch metabolitu, u pomalých metabolizátorů naopak. Vyvinuté metody byly dále použity pro analýzu moče a plazmy pacientů hospitalizovaných na dětské jednotce intenzivní péče, jimž byl tramadol podán pro tišení bolesti. Koncentrace analytů dobře korelovaly s účinkem a výskytem nežádoucích účinků.

V další části jsou popsány metody pro kvantifikaci antihypertenziv v séru pomocí LC-MS/MS. Stanovení bylo prováděno u pacientů léčených pro potenciální farmakorezistentní hypertenzi, u kterých bylo vysloveno podezření na nedodržování předepsané terapie. Dodržování farmakoterapie u léčby hypertenze, stejně jako např. u léčby epilepsie nebo depresí, má zásadní význam pro úspěšnost léčby. Neužívání předepsané medikace nutí lékaře k hledání příčiny selhání zvolené terapie a navíc ohrožuje také samotného pacienta. Dalším, neméně zanedbatelným aspektem, je i ekonomická stránka věci. Vedle nejčastěji stanovených preparátů-verapamilu a doxazosinu, bylo sledováno dalších 13 léčiv nebo jejich metabolitů užívaných při léčbě hypertenze. Zkoumaný soubor obsahoval 215 pacientů ve věku od šestnácti do devadesáti let, u kterých bylo provedeno 496 analýz. Zastoupení pohlaví bylo vyvážené: 104 žen a 111 mužů. Interpretace naměřených dat byla prováděna na základě publikovaných doporučených hladin léčiv, což kromě potvrzení non-compliance pomohlo odhalit nedostatečné nebo naopak vysoké dávkování léčiva. Výsledky analýz byly dány do souvislosti s věkem, pohlavím, počtem užívaných léčiv a způsobem léčby pacienta. Všeobecně lepší výsledky ve smyslu dodržování terapie byly pozorovány u mužů, zatímco ženy, především nižšího a středního věku, dodržovaly předepsanou farmakoterapii méně často. Dále se ukázalo, že pacienti užívající více preparátů častěji léčbu neužívali, než ti, kteří měli předepsaný jeden nebo dva léky. Naopak konkrétní typ léčiva na dodržování terapie vliv neměl.

Poslední díl je věnován kvalitativní analýze benzodiazepinů nebo jejich metabolitů v moči pro potřeby toxikologické analýzy. Benzodiazepiny tvoří podstatnou část nálezů v toxikologické praxi. Bohužel jejich intenzivní metabolizace znemožňuje v řadě případů detekci mateřské látky v moči. Z tohoto důvodu bylo nutné vyvinout takové analytické metody, které umožní detekovat jak mateřské látky, tak i metabolity, nebo produkty kyselé hydrolýzy konjugátů. Vzhledem ke zdoluhavým a ne vždy lehce proveditelným současným metodám bylo nutné nalézt takový postup, který vyhovuje dnešním vysokým nárokům na přesnost, citlivost a časovou nenáročnost. Vyvinutá metoda v sobě zahrnuje LC-MS/MS analýzu s předřazenou kyselou hydrolýzou a dvojitou extrakcí z bazického a neutrálního prostředí. Pomocí vyvinuté metody je možné prokázat užití všech běžně se vyskytujících benzodiazepinů. Uvedený postup byl úspěšně implementován do laboratorních postupů, běžně užívaných v rámci systematické toxikologické analýzy.