

Medicinální chemie a chemická biologie

Jak se stalo tradicí, i letošní ročník Chemických listů věnuje první číslo farmaceutickému průmyslu. Loňský úvodník Dr. Jegorova (viz 1/2008) nám velmi jasně ukázal, že předpoklad rozvoje tohoto průmyslového oboru leží v základním výzkumu a ve schopnosti inovativně transformovat výsledky tohoto výzkumu do komerčního světa. Jaká je současná situace naší výzkumné kapacity a jak je to s přenosem výsledků do praktického použití? Abychom si mohli odpovědět na tyto otázky, je potřeba nejdříve jasně definovat, o jaké obory se vlastně jedná. Obory, které asi nejvíce zasahují do oblasti klasických nízkomolekulárních léčiv, jsou medicínální chemie a chemická biologie. Tyto dva pojmy jsou v podmínkách českého názvosloví relativně nové, ale je potřeba si uvědomit, že stejně jako se vyvíjí všechny vědecké obory, vyvíjí se i názvosloví samotných oborů. A tak už nevystačíme s pojmem farmaceutická chemie. Například, když vloží ctěný členář heslo „Pharmaceutical chemistry“ do (některými vědci zatracovaného nicméně všemi používaného) internetového nástroje Wikipedie, bude přesměrován na pojem „Medicinal chemistry“.

Označení oboru medicínální chemie získává v posledních deseti letech stále více na popularitě. Jedná se o obor, který představuje průsečík mezi organickou syntézou a farmaceutickou chemií. Význam tohoto oboru pochopíme, studujeme-li oblasti, kterými se zabývají přední vědecké instituce (jak univerzitní, tak akademické) v České republice. Například Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i. se věnuje tomuto oboru v několika vědeckých skupinách (prof. Holý, doc. Holec, Dr. Rosenberg) a podobně tomu je na Univerzitě Palackého v Olomouci, na Masarykově univerzitě v Brně, na Ústavu makromolekulární chemie AV ČR, v.v.i. či na VŠCHT Praha a dalších institucích.

Novým názvem v české terminologii je také pojem chemická biologie, který byl dlouho omezen jen na prostředí anglicky hovořících zemí. Nyní je chemická biologie (nebo biologická chemie) jedním z důležitých učebních programů na Jihočeské univerzitě v Českých Budějovicích a prosazuje se i na dalších univerzitách a akademických ústavech. Příkladem těchto hraničních oborů je i obor bioorganické chemie nově akreditovaný na Univerzitě Palackého v Olomouci.

Světově proslulé výsledky prof. Holého a motivace, kterou dávají mladým vědcům, spolu s kvalitní podporou uvedených oborů ze strany vedení jednotlivých institucí, poskytují dobrý předpoklad pro další rozvoj vývoje léků v České republice – tohoto rodinného stříbra, jak před rokem psal Dr. Jegorov. Stejně tak práce na vývoji chemické biologie a její kultivace v České republice dávají výborné předpoklady pro její další propojení s medicínální chemií. Toto propojení má jediný a velmi jednoduchý cíl: získat lepší pochopení vztahů mezi strukturou a účinkem, molekulárními cíly a farmakodynamickými vlastnostmi nových chemických molekul vhodných pro vývoj nových léčiv.

Dosud jsme hovořili jen o prvním kroku dané problematiky, o vědeckém vývoji. Jak je to s druhou stránkou tohoto řetězce? Jsme skutečně schopni předávat výsledky základního výzkumu a posunout je dál do komerčního využití? Uvedme nejdříve některé negativní faktory, které v České republice

působí proti uplatnění nových objevů v komerční praxi. V akademické sféře se jako největší problém jeví relativně nízká schopnost ochrany duševního vlastnictví, velmi omezené zkušenosti rozvoje duševního vlastnictví firmami typu spin-off, nedostatek zkušeností v managementu vědy, výzkumu a inovací, nedostatek nebo v některých regionech absence center pro technologický transfer a nízká úroveň komunikace mezi zainteresovanými subjekty. V oblasti přenosu technologií si dovoříme citovat klasika české literatury Karla Havlíčka Borovského, který v padesátých letech devatenáctého století napsal: „Byl by již čas, aby se nám to naše vlastenectví ráčilo konečně z úst vjeti do rukou a do těla, abychom totiž více z lásky pro svůj národ jednali, než o té lásce mluvili....“ A mohli bychom snad tento citát parafrázovat a přeměnit jej na výzvu: „Přestaňte již o přenosu technologií mluvit a začněte je uskutečňovat!“ V oblasti samotné farmaceutické výroby se často zmiňuje jako handicap České republiky to, že nemá na svém území výrobce originálních látek, a to zejména v kontextu problematické budoucnosti generického farmaceutického průmyslu v Evropě. Nemysleme si, že je to v globální společnosti 21. století zásadní problém.

Stejně jako Dr. Jegorov před rokem, tak i my chceme zakončit náš příspěvek pozitivně. Nedávno jsme zahájili pokus o vytvoření českého Klastru medicínální chemie a chemické biologie (MedChemBio), který by sdružoval střední a malé podniky, vybrané produkční velké podniky, akademická pracoviště, odborné společnosti, dodavatele, zástupce lokální samosprávy a aktivně napomáhal vzniku a zavádění inovací ve zmíněných oborech. Dalším, námi připravovaným projektem do prioritní osy 2 Operačního programu Věda a výzkum pro inovace je návrh projektu BIOMEDREG (Biomedicina pro regionální rozvoj a lidské zdroje, www.biomedreg.eu), jehož hlavní infrastruktura má být umístěna v Olomouci. Jedním z jeho primárních cílů je vytvořit dynamické a kolaborativní prostředí, které podpoří chemický a biomedicínský výzkum napříč institucemi, urychlí jeho přenos do klinické praxe pro zlepšení péče o pacienty a v neposlední řadě dosáhne lepší kapitalizace intelektuálního vlastnictví, souvisejícího s farmaceutickými aplikacemi nových syntetických molekul, přírodních látek, biomarkerů a diagnostik připravených nebo identifikovaných v České republice. Účastníci projektu (Univerzita Palackého v Olomouci, Fakultní nemocnice Olomouc, Ústav organické chemie a biochemie AV ČR v.v.i., Vysoká škola chemicko-technologická v Praze a Ústav makromolekulární chemie AV ČR v.v.i.) plánují založení nové technologické platformy, která umožní rutinní identifikaci nových cílových genů, biomarkerů, validaci biologických aktivit malých molekul s využitím vysoce kapacitních technologií a testů, pokročilý vývoj individuálních produktů, ochranu a licencování intelektuálního vlastnictví.

Věříme, že tyto nové příležitosti v podobě rozsáhlé podpory výzkumu a vzdělávání, kterých budeme v příštích letech svědky, povedou k nastartování inovací v našem (bio) farmaceutickém průmyslu a jeho zachování pro příští generace.

Martin Fusek a Marián Hajdúch

Redakce časopisu

Chemické listy

uděluje

**CENU
Karla PREISE
za rok 2008**



**Martinu Hrubému^a, Janu Kučkovi^{b,c}, Haně Mackové^a,
Ondřejovi Lebedovi^c a Karlu Ulbrichovi^a**

*^a Ústav makromolekulární chemie, v. v. i., AV ČR, Praha, ^b Přírodovědecká fakulta
Univerzity Karlovy v Praze, ^c Ústav jaderné fyziky, v. v. i., AV ČR Řež u Prahy*

za práci

**Termoresponzivní polymery – od laboratorní kuriozity
k perspektivním materiálům pro lékařské aplikace**

Chem. Listy 102, 21 (2008)

SRDEČNĚ BLAHOPŘEJEME

ZAHRADA

POLYMERNÍ TERAPEUTIKA U NÁS A VE SVĚTĚ

MICHAL PECHAR a KAREL ULBRICH

*Ústav makromolekulární chemie, v. v. i., Akademie věd České republiky, Heyrovského nám. 2, 162 06 Praha 6
pechar@imc.cas.cz*

Došlo 21.4.08, přijato 2.7.08.

Klíčová slova: polymerní léčiva, hydrofilní polymery, kancerostatika, cílená doprava léčiv, řízené uvolňování léčiv, genová terapie

Obsah

1. Úvod
2. Stručný pohled do historie
3. Výhody polymerních terapeutik ve světle dnešních poznatků
4. Příklady polymerních terapeutik, jejich členění a využití
 - 4.1. Kopolymery na bázi *N*-(2-hydroxypropyl) methakrylamidu
 - 4.2. Deriváty poly(ethylenglykolu)
5. Polymery pro genovou terapii
6. Vyhlídky do budoucnosti

1. Úvod

Současná medicína má k dispozici celou řadu léčiv, většinou látek nízkomolekulárních s relativní molekulovou hmotností pod 1000. Jejich vlastnosti zpravidla plně vyhovují požadavkům kladeným na jejich vysokou terapeutickou účinnost. Použití těchto léčiv je v praxi spojeno pouze s menším komfortem při jejich užívání, neboť vyžadují opakované podávání v určitých časových intervalech. U celé řady dalších léčiv je jejich použití spojeno s jistými riziky, projevujícími se v menší či větší míře jejich nežádoucími vedlejšími účinky, které mohou v některých případech vést i k částečnému poškození zdravých orgánů nebo částí organismu (kancerostatika, imunosupresiva). Konečně existují i takové nemoci, proti nimž současná medicína žádná účinná léčiva nemá.

Ve všech těchto případech se otevírají možnosti pro použití makromolekulárních látek, které ve spojení s dosud užívanými léčivy mohou odstranit řadu jejich nevýhodných vlastností, nebo dát léčivům vlastnosti zcela nové.

Na rozhraní makromolekulární chemie, farmakologie, biologie a medicíny se začal rozvíjet nový obor, který se zabývá vývojem systémů a lékových forem, umožňujících řízené uvolňování a cílený transport léčiv (v anglosaské literatuře „controlled drug release“ nebo „targeted drug delivery systems“). Většina těchto systémů je založena na využití makromolekulárních látek, buď přírodních, anebo, a to častěji, na míru připravených syntetických polymerů.

2. Stručný pohled do historie

Již v roce 1906 formuloval všestranně talentovaný německý lékař a nositel Nobelovy ceny za fyziologii Paul Ehrlich svou koncepci ideálního léčiva¹. Nazývá ho „magickou střelou“, která je specificky směřována pouze do místa požadovaného účinku (např. do nádoru) a zanechává zdravé části organismu zcela bez poškození. Pokud vyjdeme z této základní představy, můžeme formulovat požadavky na ideálně působící léčivo. Takové léčivo musí být zcela neaktivní při podání a v průběhu transportu organismem musí být specificky dopraveno do místa požadovaného účinku a teprve zde musí dojít k jeho aktivaci, která zajistí jeho působení pouze po dobu nezbytnou pro dosažení maximálního účinku. V konečné fázi pak musí být zbytky léčiva či jeho komponenty vyloučeny z organismu. Běžně používaná léčiva jsou tomuto ideálu značně vzdálena, neboť nezůstávají v místě působení po celou potřebnou dobu, rychle se vylučují a navíc podstatná část účinné látky se dostane i do těch částí organismu, kde její přítomnost není žádoucí, nebo je dokonce škodlivá.

Mnoho let po Ehrlichovi, v roce 1975, přišel další německý badatel, chemik Helmut Ringsdorf, s myšlenkou použít pro cílený transport léčiv syntetické polymery². Navrhl obecný model polymerního systému umožňujícího cílený transport a řízené uvolňování léčiv. Tento model se skládal ze syntetického polymeru, na který byly kovalentně vázány molekuly účinné látky prostřednictvím spojky štěpitelné v cílové tkáni. Dále byly k polymernímu nosiči připojeny tzv. solubilizační skupiny (zajišťující dobrou rozpustnost systému ve vodě) a směřující jednotky zodpovědné za účinné cílení do místa požadovaného terapeutického působení.

Na základě této koncepce byly v Ústavu makromolekulární chemie AV ČR (ÚMCH) v laboratoři biolékařských polymerů (vedené dříve Jindřichem Kopečkem a dnes Karlem Ulbrichem) od konce 70. let připravovány a průběžně zdokonalovány polymerní nosiče léčiv, jejichž struktura vycházela z Ringsdorfovy koncepce. Jeho obecné představy o funkci jednotlivých komponent systému však již byly u těchto nosičů řešeny zcela konkrétně. Páteř polymerního systému byla tvořena velmi dobře rozpustnými kopolymery *N*-(2-hydroxypropyl)methakrylamidu (HPMA)³⁻¹⁰, takže

odpadla nutnost použití výše zmíněných solubilizačních jednotek.

Volba HPMA jakožto základního monomeru pro syntézu vodorozpustných nosičů léčiv nebyla náhodná. Kromě toho, že z tohoto monomeru připravené polymery splňují nutné požadavky na dokonalou snášenlivost organismem, je monomer snadno připravitelný v krystalické podobě, což zásadním způsobem usnadňuje jeho čištění před polymerizací. Stojí za zmínku, že 2-hydroxyethylmethakrylát, monomer pro přípravu jednoho z nejvýznamnějších polymerů používaného v biolékařských aplikacích, navržený a připravený na počátku 60. let Drahoslavem Límem a Otto Wichterlem¹¹, a dodnes používaný pro výrobu některých typů hydrogelových kontaktních čoček, je kapalný. V důsledku toho je velmi obtížné zbavit ho příměsí síťujícího ethylendimethakrylátu a získat polymeraci čisté lineární polymer.

Studium kopolymerů HPMA pro různé medicínální aplikace představuje v současné době stále jeden z hlavních směrů výzkumu v naší laboratoři i ve světě. Další významnou skupinou polymerů, kterými se zabýváme, jsou vodorozpustné biodegradovatelné deriváty poly(ethylenglykolu)^{12–14}. Oba typy polymerů jsou využívány jako nosiče kancerostatik (např. doxorubicinu), pro modifikaci terapeuticky významných proteinů (např. enzymu ribonukleasy či protilátek) a v posledních letech také pro přípravu nových systémů pro přenos genů, tzv. vektorů pro genovou terapii. Příklady konkrétních struktur budou uvedeny v následujícím textu.

3. Výhody polymerních terapeutik ve světle dnešních poznatků

Mezi badateli pracujícími v oblasti studia systémů pro řízené uvolňování a cílený transport léčiv panuje v současnosti již poměrně dobrá shoda v odpovědi na otázku, jaké výhody přináší modifikace různých typů farmakosyntetickými polymery^{15–17}.

V případě terapeuticky významných proteinů jsou to zejména prodloužená doba cirkulace v krevním řečišti, zvýšení odolnosti vůči proteolýze a výrazně snížená imunogenita. Další, zřejmě nejvýznamnější skupinu léčiv, u nichž kovalentní (ale i nekovalentní) vazba na polymerní nosič může přinést dramatické zlepšení jejich farmakologických vlastností, představují kancerostatika. Bylo mnohokrát potvrzeno, že polymerní konjugáty protinádorových léčiv mají daleko nižší nespecifickou toxicitu, tj. mnohem méně poškozují zdravé části organismu, zejména imunitní systém, srdce, játra a ledviny.

Zvláště v případě použití cytotoxických látek, jakými jsou kancerostatika, je důležité zacílení jejich aktivity přednostně na nádorovou tkáň nebo dokonce na jednotlivé nádorové buňky. Při použití polymerních kancerostatik pro terapii pevných nádorů se velmi výrazně uplatňuje směřování do nádorové tkáně, k němuž dochází díky tzv. EPR

efektu^{18,19} (z anglického „Enhanced Permeability and Retention“, zvýšená propustnost a zadrž). Za účelem zásobení rostoucího nádoru kyslíkem a živinami dochází v nádorové tkáni k překotné tvorbě nových cév – angiogenezi. Tato nově vznikající vaskulatura poměrně snadno propouští makromolekuly skrz dosud nedokonale utvořené cévní stěny do okolní nádorové tkáně. Zároveň v nádorech zpravidla chybí lymfatický systém, který by odváděl nahromaděné makromolekulární látky z nádoru pryč. V důsledku EPR efektu tudíž dochází ke zvýšené akumulaci makromolekulárních látek (s dostatečně vysokou relativní molekulovou hmotností) v nádorové tkáni. Tento jev se někdy nazývá pasivní směřování makromolekulárních látek do pevných nádorů a je mnohými autory považován za nejdůležitější příčinu lepších farmakologických vlastností polymerních terapeutik ve srovnání s jejich nízkomolekulárními analogy.

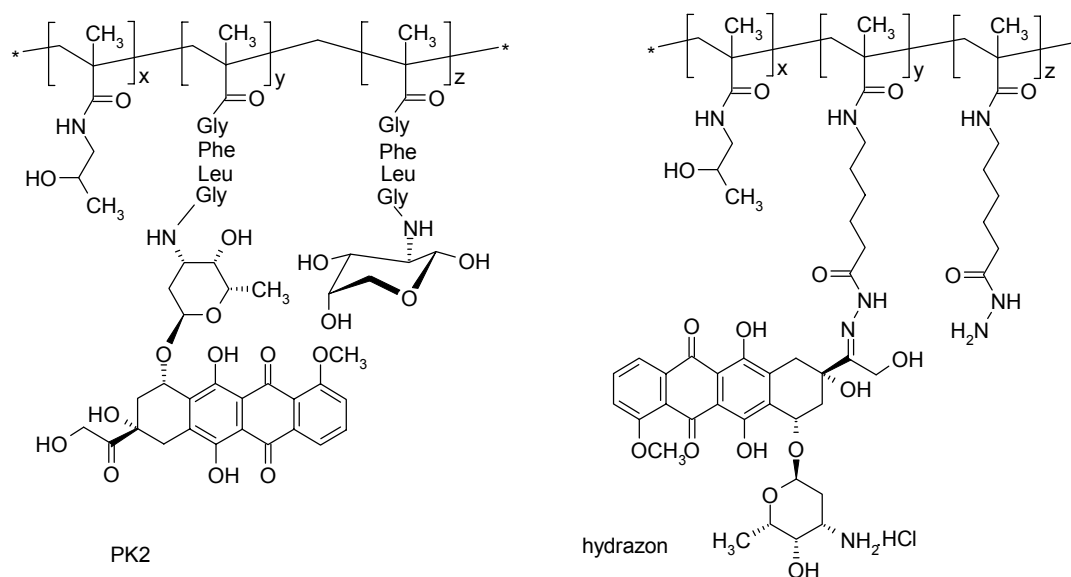
Vhodně zvolená struktura polymerního nosiče však umožňuje i navázání směřující jednotky, schopné více či méně specifické interakce s receptory, které se ve zvýšené míře vyskytují na povrchu cílových buněk, např. nádorových, a k těmto buňkám celé polymerní léčivo zavést. V takovém případě hovoříme o směřování aktivním. Jako směřující jednotky byly popsány a s různými úspěchy použity např. protilátky^{10,20} nebo jejich fragmenty²¹, lektiny²², růstové faktory²³, cytokiny²⁴, oligopeptidy^{25,26}, hormony²⁷, cukry²⁸, deriváty kyseliny listové²⁹ aj.

4. Příklady polymerních terapeutik, jejich členění a využití

Polymery pro lékařské aplikace lze z hlediska jejich použití rozdělit do mnoha skupin. Jak přírodní, tak syntetické polymery se běžně používají např. jako materiály pro různé tělní náhrady, kontaktní čočky, podložky pro kultivaci a následnou transplantaci buněk, materiály pro šití a krytí ran, součástí lékařské přístrojové techniky a v neposlední řadě i jako pomocné látky (tzv. excipienty) v tradičních lékových formách. V nedávné době se objevily poměrně sofistikované polymerní implantáty pro řízené uvolňování léčiv, např. hormonů či kancerostatik, z polymerní matrice, v níž je účinná látka zachycena nekovalentně.

Další skupinou, vývojově nejmladší, jsou polymerní terapeutika, na něž je zaměřen tento článek. Ta někteří autoři dále rozdělují podle složení na polymerní konjugáty léčiv, polymerní konjugáty proteinů, polymerní micely s kovalentně vázaným léčivem a polymerní komplexy DNA¹⁵.

Úplný a vyčerpávající přehled všech typů polymerních terapeutik by mnohonásobně přesahoval rámec a smysl tohoto článku. V následujících dvou kapitolách jsou proto podrobněji popsány jen kopolymery *N*-(2-hydroxypropyl)-methakrylamidu (HPMA) a deriváty poly(ethylenglykolu) (PEG), které jsou intenzivně studovány v naší v laboratoři.



Obr. 1. Příklady struktur polymerních konjugátů doxorubicinu vyvinutých v ÚMCH; aktivně směřovaný konjugát s enzymově štěpitelnou vazbou (PK2) a nesměřovaný konjugát s acidolabilní vazbou (Hydrazon)

4.1. Kopolymery na bázi *N*-(2-hydroxypropyl) methakrylamidu

Dnes již takřka klasickým polymerním léčivem vyvinutým v naší laboratoři je statistický kopolymer *N*-(2-hydroxypropyl)methakrylamidu (HPMA) s *N*-methakryloylovaným tetrapeptidem Gly-Phe-Leu-Gly (Ma-GFLG) nesoucím tetracyklinové antibiotikum doxorubicin (Dox). Toto polymerní protinádorové léčivo (označované jako polymerní konjugát PK1) bylo původně připraveno radikálovou srážecí kopolymerací HPMA se 4-nitrofenylovým esterem Ma-GFLG a následnou polymeranalogickou reakcí 4-nitrofenylových skupin s primární aminoskupinou Dox^{30,31}. Tetrapeptidová spojka mezi Dox a polymerním nosičem je během transportu v krevním řečišti stálá, avšak v přítomnosti intracelulárních enzymů, lysosomálních proteas, může v buňce dojít k odštěpení volného Dox³². Detailní mechanismus účinku a intracelulární osud PK1 je stále předmětem intenzivního zkoumání³³. Ve světle nejnovějších studií se zdá pravděpodobné, že intracelulární odštěpení Dox z polymeru nemusí být nutnou podmínkou cytotoxické aktivity PK1³⁴.

Vylepšenou verzi tohoto polymerního konjugátu Dox je směřované polymerní léčivo PK2, obsahující navíc jako cílicí jednotku 2-aminogalaktosu, která je zodpovědná za akumulaci polymerního konjugátu v játrech díky interakci cukerné jednotky s asialoglykoproteinovými receptory hepatocytů^{35,36}.

Oba popsané polymerní konjugáty byly prvními polymerními kancerostatiky na světě, které prošly první (PK2)^{37,38} a druhou (PK1)^{30,39} fází klinických zkoušek ve Velké Británii.

Dalšího výrazného vylepšení protinádorové aktivity kopolymerů na bázi HPMA a Dox vázaného přes GFLG sekvenci bylo dosaženo kovalentním navázáním směřujících protilátek^{40–45}. Bylo totiž zjištěno, že po modifikaci polymerem sice ztrácí protilátky část své vazebné aktivity na antigen (v závislosti na způsobu a rozsahu provedené modifikace), ale zároveň jsou chráněny polymerem vůči proteolytické degradaci, mají sníženou imunogenicitu a svou vysokou molekulovou hmotností (cca 150 000) přispívají k EPR efektu a tím ke zvýšené akumulaci polymerního terapeutika v nádoru. Polymerní konjugáty směřované monoklonálními protilátkami vykazovaly při léčbě myši nesoucích různé typy nádorů vysokou protinádorovou aktivitu a často až stoprocentní úspěšnost léčby. Velký potenciál polymerních konjugátů Dox s protilátkami (Intraglobin, Endobulin) byl ověřen i klinicky u menší skupiny pacientek s generalizovaným nádorem prsu^{46,47}.

Kromě Dox byla u nás i v zahraničí použita pro navázání na kopolymery HPMA i další léčiva, z nichž mnohá postoupila až do různých fází klinických zkoušek. Jsou to např. melphalan⁴⁸, cyklosporin⁴⁹, paclitaxel⁵⁰, camptothecin^{51,52}, komplexy platiny^{53,54} nebo methotrexat⁵⁵.

Navázání léčiva na polymerní nosič přes enzymově štěpitelnou spojku, jako je tomu např. u polymerního konjugátu PK1, není pochopitelně jediný způsob, jak zajistit odštěpení účinné látky z polymeru v nádorových buňkách, případně v jejich bezprostřední blízkosti uvnitř nádorové tkáně. V posledních letech je intenzivně studován kopolymer HPMA s hydrazidem *N*-methakryloyl-6-aminohexanové kyseliny, na který je hydrazonovou vazbou navázán Dox (obr. 1). Hydrazonová vazba mezi léčivem a polymerním nosičem je hydrolyticky poměrně stálá při pH 7,4

(odpovídajícím pH v krevním řečišti), ale v mírně kyselém prostředí endosomů uvnitř buněk (cca pH 5), dochází k rychlé hydrolyze hydrazonové vazby a uvolnění Dox^{56–58}.

Výsledky biologického testování kopolymerů s Dox v Mikrobiologickém ústavu AV ČR ukazují, že způsob připojení kancerostatika k polymernímu nosiči má zcela zásadní význam pro cytostatickou aktivitu konjugátů *in vitro* i jejich protinádorovou účinnost na myších nádorových modelech *in vivo*. Polymerní hydrazon má o několik řádů vyšší cytotoxicitu *in vitro* než PK1, je však méně toxický v *in vivo* podmínkách a může být tedy podáván při léčbě nádorů u myši ve vyšších dávkách. Léčba několika typů myších nádorů hydrazonovými polymery vedla k vyléčení všech pokusných zvířat i v případě, kdy bylo léčivo podáno v terapeutickém režimu jen v jedné dávce. Z hlediska možného budoucího klinického použití těchto polymerních léčiv je důležité, že kromě účinku cytotoxického vykazovala i výrazné efekty imunostimulační^{59,60}.

Sledování intracelulárního osudu obou typů polymerních konjugátů Dox fluorescenční mikroskopií také naznačuje odlišný mechanismus jejich účinku³⁴. Tento mechanismus je v současné době předmětem podrobného zkoumání, neboť jeho detailní poznání může mít zásadní význam při návrhu struktur nových polymerních terapeutik s ještě lepším terapeutickým účinkem.

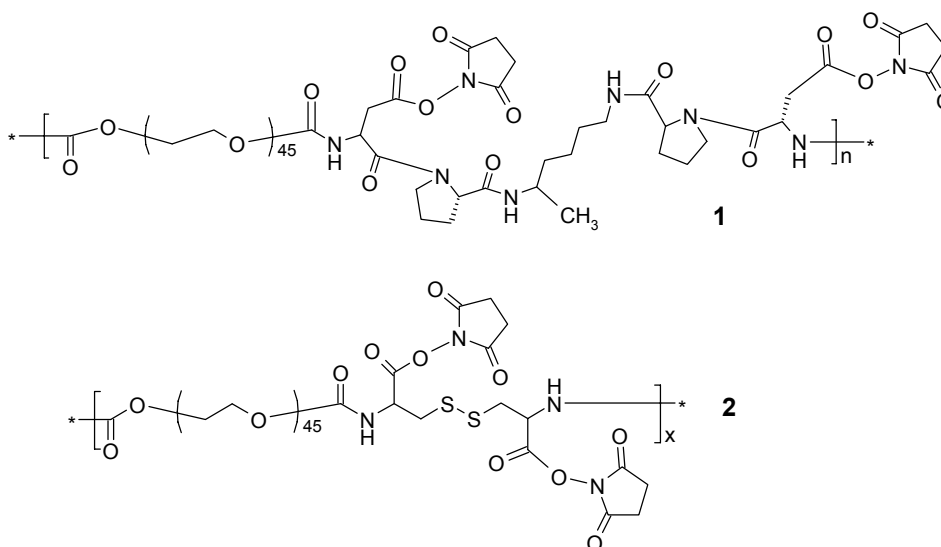
Kromě polymerních konjugátů s Dox lze HPMA kopolymeru využít (podobně jako PEG) i pro modifikaci terapeuticky důležitých proteinů. Příkladem může být např. polymerní konjugát hovězí semenné RNasy s kopolymeru na bázi HPMA, nesoucími reaktivní skupiny na polymerním řetězci. Zatímco nemodifikovaná RNasa vykazovala protinádorovou aktivitu pouze po intratumorální injekci a byla zcela neúčinná po intravenózní aplikaci (i.v.), polymerní konjugát byl účinný i při systémovém

podání i.v.^{61–64}. Lze se domnívat, že příčinou účinnosti polymerního proteinového konjugátu i při i.v. aplikaci je zřejmě stabilizace enzymu polymerem vůči proteolýze, prodloužená doba cirkulace v krevním řečišti a snížená imunogenita, jak již bylo uvedeno dříve.

4.2. Deriváty poly(ethylenglykolu)

Pravděpodobně nejrozšířenějším syntetickým polymerem používaným pro přípravu polymerních terapeutik je poly(ethylenglykol) (PEG) a jeho deriváty^{65–68}. Specifické biologické vlastnosti PEG jsou hlavním důvodem pro jeho využití v medicíně. Mezi tyto vlastnosti patří biokompatibilita, nízká imunogenita a, není-li molekulová váha polymeru nad prahem renální filtrace, i snadné vylučování z organismu. Nejčastěji je PEG používán pro modifikace různých terapeuticky významných proteinů. Výhodami této modifikace, tzv. PEGylace proteinů (např. enzymů, hormonů, cytokinů), jsou zvýšená odolnost jejich produktů vůči proteolýze, snížení imunogenicity (neboli imunitní reakce organismu), prodloužení doby cirkulace a tím snížení četnosti dávek oproti nemodifikované bílkovině. Například konjugáty PEG s adenosindeaminasou⁶⁹, aspariginasou⁷⁰ či s interferonem alfa⁷¹ se staly již prvními kliniky schválenými a komerčně dostupnými polymerními terapeutiky. Další „PEGylované“ proteiny jsou v různých stádiích klinických zkoušek^{15,72} a na trh bylo uvedeno i kancerostatikum na bázi PEGylovaného liposomu (DOXIL)⁷³.

Skutečnost, že molekula PEG obsahuje maximálně dvě koncové OH skupiny vhodné pro další derivatizaci, je sice výhodou při modifikaci proteinů, ale při přípravě polymerních konjugátů např. nízkomolekulárního kancerostatika je vhodnější navázat na polymerní nosič více mole-



Obr. 2. Reaktivní blokové polymery na bázi PEG vyvinuté v ÚMCH jako polymery vhodné pro navázání léčiva, modifikaci proteinů nebo povrchu vektorů pro dopravu DNA; enzymolyticky degradovatelný polymer 1 a redukčně štěpitelný polymer 2

kul léčiva. Rovněž je výhodné, když je molekulová hmotnost nosiče dostatečně vysoká, takže se může uplatnit EPR efekt a zvýšená akumulace léčiva v pevných nádorech. Proto byly navrženy a připraveny různé multiblokové polymery skládající se z bloků PEG vzájemně propojených enzymově či hydrolyticky štěpitelnými bifunkčními spojkami, nesoucími alespoň jednu volnou funkční skupinu, umožňující kovalentní navázání biologicky aktivních molekul do postranního řetězce. Při konstrukci biodegradovatelné spojky (štěpitelné *in vivo*) možná propojení jednotlivých bloků PEG byly použity např. deriváty kyseliny glutamové, asparagové nebo cysteinu (obr. 2). Mechanismus jejich degradace byl v prvním případě enzymová hydrolýza^{12,13}, ve druhém případě redukce disulfidových vazeb mezi cysteinovými zbytky kombinovaná s chemickou hydrolýzou⁷⁴.

Zavedení štěpitelné spojky do struktury vysokomolekulárního multiblokového nosiče umožní pasivní směrování do pevných nádorů a zároveň zajistí hladké odstranění nízemolekulárních degradačních produktů močí. Připojení Dox jako účinné látky k těmto multiblokovým PEG polymerům bylo provedeno podobně jako u HPMA konjugátů, buď amidickou vazbou prostřednictvím enzymově odbouratelné peptidové GFLG sekvence^{12,13} nebo acidolabilní hydrazonovou vazbou^{14,75}.

Oba zmíněné typy polymerních konjugátů vykazovaly při testování *in vivo* na myších srovnatelnou nebo vyšší protinádorovou aktivitu než analogické konjugáty na bázi HPMA.

5. Polymery pro genovou terapii

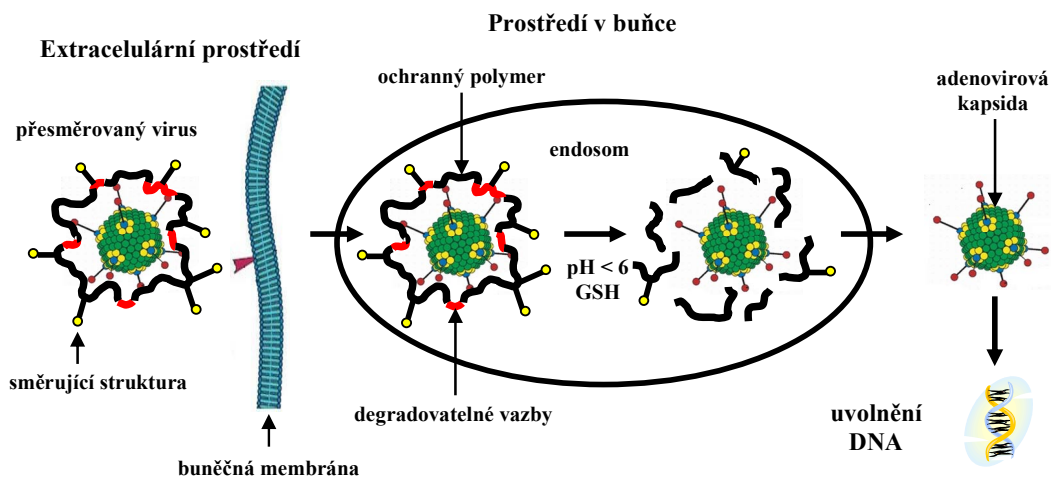
Jako poslední velmi významnou skupinu polymerních terapeutik, též studovanou v ÚMCH, uvádíme polymerní vektory pro genovou terapii. Vektorem pro genovou terapii se zde rozumí jakýkoliv transportní systém pro dopravu genetické informace (DNA, RNA) do cílové buňky. Vektory se podle svého původu rozdělují na syntetické a virové. Obě skupiny pak lze dělit do mnoha dalších podskupin, jejichž detailní popis by dalekosáhle překročil rozsah tohoto článku. Při přípravě jak syntetických, tak virových vektorů pro *in vivo* aplikace nalézají syntetické hydrofilní polymery, např. deriváty HPMA či PEG, nezastupitelné uplatnění.

Syntetické vektory mohou být přímo založeny na polymerech schopných vhodné interakce s nukleovou kyselinou. Typickým příkladem jsou polyelektrolytové komplexy (PEK) DNA a polykationtu^{76–78}. Polyaniontový řetězec nukleové kyseliny a polykationtový polymer, např. poly(L-lysin) nebo poly(ethylenimin), vytvoří díky mnohačetným elektrostatickým interakcím poměrně pevný a dostatečně malý komplex, ve kterém je DNA chráněna zejména během intracelulárního transportu do jádra cílové buňky. Samotné PEK vykazují sice jistou účinnost transgenní exprese *in vitro*, avšak jsou prakticky neúčinné *in vivo*⁷⁹. Důvodem je mimo jiné nadbytek kladného náboje na povrchu PEK (nutný pro zachování rozpustnosti

komplexu), který vede k nežádoucím interakcím se složkami krve a rychlému odstranění PEK z oběhu. Doba cirkulace PEK je tudíž příliš krátká na to, aby mohlo dojít k průniku vektoru do cílových buněk (např. nádorových). Výrazného zlepšení farmakokinetiky lze docílit po kovalentní modifikaci povrchu PEK hydrofilním polymerem^{80,81}, podobným jako byl výše popsán pro reakci s RNAsou. Pro reakci s polymerem jsou využity ty primární aminoskupiny poly(L-lysinu) či poly(ethyleniminu), které nejsou vázány interakcí s fosfátovými skupinami DNA. Polymerem modifikovaný PEK je alespoň zčásti odstíněn od nežádoucích interakcí během transportu v krvi. Podobného efektu bylo docíleno i po modifikaci PEK multiblokovým polymerem na bázi PEG, který byl již dříve studován jako nosič Dox. Takto modifikovaný polymer byl navíc směřován kyselinou listovou k buňkám nesoucím folátové receptory⁷⁹.

Ačkoliv jsou syntetické vektory v některých ohledech výhodnější než vektory virové (přijatelnější pro klinické schválení, méně imunogenní), vykazují doposud výrazně nižší účinnost přenosu genů než virové nosiče. Právě vysoká míra transgenní exprese (měřená zpravidla jako exprese genu nějakého vhodného fluorescenčního proteinu) je důvodem, proč mnoho badatelů dává přednost virovým vektorům. Bohužel, tato exprese není příliš specifická, neboť viry pronikají i do jiných než vybraných cílových buněk. To nastoluje opět otázku vhodného směrování. Navíc, podobně jako u PEK, doba cirkulace nemodifikovaných virů *in vivo* je příliš krátká, aby bylo možné dosáhnout dostatečně vysoké exprese bez nutnosti obrovského zvyšování dávky, aby alespoň část vektoru pronikla do cílových buněk. Vysoká dávka nemodifikovaného viru je podobně jako u proteinů spojena se silnou imunitní reakcí organismu.

Při řešení výše uvedených problémů hrají opět významnou roli reaktivní syntetické hydrofilní polymery. Ve spolupráci s kolegy na univerzitě v Oxfordu jsme zjistili, že modifikace povrchu viru multivalentním kopolymerem na bázi HPMA vede k výraznému prodloužení doby cirkulace (díky odstínění nežádoucích interakcí se složkami krve), ke snížení imunogenicity, ale i k dramatickému snížení infektivitu viru, t.j. jeho schopnosti pronikat do buněk. Aby byla infektivita polymerem modifikovaného viru obnovena, je možné na modifikující polymer zavést směřující ligandy, které se specificky vážou k cílovým buňkám^{82–84}. Při směrování HPMA polymerem modifikovaného adenoviru pomocí epidermálního růstového faktoru (EGF) v EGF pozitivních buňkách *in vitro* bylo dosaženo úrovně transgenní exprese srovnatelné nebo i vyšší než byla exprese dosažená s nemodifikovaným adenovirem⁸⁵. Oproti tomu, v kontrolních buňkách, EGF negativních, byla tato exprese o několik řádů nižší než s nemodifikovaným virem. Jiná skupina dosáhla velmi podobného výsledku použitím PEGylovaného adenoviru, též směřovaného pomocí EGF⁸⁶. Naše poslední práce^{87–89}, zabývající se pasivním i aktivním směřováním polymerem povrchově upravených adenovirů pomocí transferinu, FGF a vybraných oligopeptidů, ukazují na značnou perspektivu



Obr. 3. **Osud polymerem modifikovaného viru v cílové buňce**; díky směřujícím strukturám se polymerem modifikovaný (chráněný) virus dostává k cílové buňce, proniká do ní endocytózou a zde pak vlivem změny pH nebo reduktivního prostředí dochází k odštěpení ochranné polymerní vrstvy a uvolnění dopravované DNA nebo specifického plasmidu

takovýchto virálních vektorů (obr. 3).

Hlavní výhodou genové terapie ve srovnání např. s chemoterapií je skutečnost, že ke zničení nádorové buňky stačí pouze jediná kopie vhodně zvoleného genu vneseného do genomu cílové buňky. Aby tato výhoda mohla být plně využita, je třeba překonat výše zmíněné potíže s transportem DNA v organismu jak na systémové (v krevním oběhu a při extravazaci), tak i na intracelulární úrovni.

Výzkum genové terapie (nejen pro onkologická onemocnění) představuje směr, kterým se ubírá stále více badatelů z oborů na pomezí medicíny, biologie a chemie. Na základě dosud dosažených výsledků se zdá, že úspěšné zvládnutí genové terapie je reálné a navzdory některým počátečním neúspěchům virových vektorů v klinických zkouškách se tato metoda stane v dohledné době běžnou součástí lékařské praxe.

6. Vyhledky do budoucnosti

Oblast výzkumu a vývoje nových polymerních terapeutik v posledních dvaceti letech roste exponenciálně, alespoň měřeno počtem prací v odborných časopisech. Schválení ke klinickému použití se dočkalo několik PEGylovaných proteinů a zatím jediný polymerní konjugát s protinádorovým léčivem, kopolymer styrenu a maleinové kyseliny nesoucí kancerostatikum neocarzinostatin (SMANCS)⁹⁰. Počet polymerních konjugátů kancerostatik, které se dostávají do různých fází klinického testování, velmi rychle roste.

Od zahájení prvních klinických zkoušek polymerních kancerostatik uběhla poměrně dlouhá doba, aniž by tyto zkoušky vyústily ve schválení nového léčiva. V současné době bylo zveřejněno zahájení klinického zkoušení již minimálně 12 typů polymerních konjugátů kancerostatik.

Tak jako vždy při zavádění zcela nových principů a postupů do praxe se i zde projevuje jistá nezkušenost jak farmaceutických firem, tak i schvalujících institucí. Testování polymerních léčiv vyžaduje nejen nové výrobní postupy a způsoby charakterizace produktů, ale i nové metody jejich hodnocení. Bohužel, v řadě případů má na dlouhou dobu klinického testování negativní vliv také politika těchto firem, které se zdráhají investovat do velmi nákladného vývoje nových léčiv s nejistým výsledkem, mají-li monopolní postavení v příslušné oblasti, např. ve výrobě určitého typu klasických protinádorových léčiv.

Spolupráce několika vědních disciplín, zejména makromolekulární chemie, molekulární biologie a medicíny, vedla v poslední době k návrhu poměrně sofistikovaných struktur, jako jsou např. polymerem modifikované směrované virové vektory pro přenos genů, nebo protilátkami směrovaná polymerní léčiva. Na základě stále se zrychlujícího vývoje v této oblasti je možné předpokládat, že během několika let bude vývoj polymerních léčiv nejen předmětem základního výzkumu, ale i součástí klinického vývoje a snad i použití v klinické praxi. Je potěšitelné, že se Česká republika na tomto vývoji podílí významnou měrou.

Práce vznikla za podpory grantů Ministerstva školství mládeže a tělovýchovy (IM4635608802), Evropské unie (LSHB-CT-2004-512087) a Akademie věd ČR (KAN 200200651).

LITERATURA

1. Ehrlich P.: *Studies in Immunity*. Wiley, New York 1906.
2. Ringsdorf H.: *J. Polym. Sci., Part C: Polym. Symp.* 1975, 135.
3. Kopeček J., Bažilová H.: *Eur. Polym. J.* 9, 7 (1973).

4. Kopeček J.: *Polym. Med.* 7, 191 (1977).
5. Kopeček J., v knize: *Synthesis of Tailor-Made Soluble Polymeric Drug Carriers* (Anderson J. M., Kim S. W., ed.), str. 41. Plenum Press, New York 1984.
6. Kopeček J., Rejmanová P., Duncan R., Lloyd J. B.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 446, 93 (1985).
7. Kopeček J., Duncan R.: *J. Controlled Release* 6, 315 (1987).
8. Ulbrich K.: *J. Bioactiv. Compat. Polym.* 6, 348 (1991).
9. Ulbrich K., Šubr V., Pechar M., Strohalm J., Jelínková M., Říhová B.: *Macromol. Symp.* 152, 151 (2000).
10. Ulbrich K., Etrych T., Chytil P., Jelínková M., Říhová B.: *J. Drug Targeting* 12, 477 (2004).
11. Wichterle O., Lím D.: *Nature* 185, 117 (1960).
12. Pechar M., Ulbrich K., Šubr V., Seymour L. W., Schacht E. H.: *Bioconjugate Chem.* 11, 131 (2000).
13. Pechar M., Ulbrich K., Jelínková M., Říhová B.: *Macromol. Biosci.* 3, 364 (2003).
14. Pechar M., Braunová A., Ulbrich K.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 70, 327 (2005).
15. Greco F., Vicent M. J.: *Front. Biosci.* 13, 2744 (2008).
16. Pasut G., Veronese F. M.: *Prog. Polym. Sci.* 32, 933 (2007).
17. Duncan R., Ringsdorf H., Satchi-Fainaro R.: *Adv. Polym. Sci.* 192, 1 (2006).
18. Maeda H., Matsumura Y.: *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 6, 193 (1989).
19. Maeda H., Wu J., Sawa T., Matsumura Y., Hori K.: *J. Controlled Release* 65, 271 (2000).
20. Kovář M., Strohalm J., Etrych T., Ulbrich K., Říhová B.: *Bioconjugate Chem.* 13, 206 (2002).
21. Lu Z. R., Shiah J. G., Kopečková P., Kopeček J.: *Stp Pharma Sci.* 13, 69 (2003).
22. Říhová B., Jelínková M., Strohalm J., Šťastný M., Hovorka O., Plocová D., Kovář M., Dráberová L., Ulbrich K.: *Bioconjugate Chem.* 11, 664 (2000).
23. Morrison J., Briggs S. S., Green N., Fisher K., Šubr V., Ulbrich K., Kehoe S., Seymour L. W.: *Mol. Ther.* 16, 244 (2008).
24. Clark J. I., Mehrabi J., Sosman J. A., Logan T. F., Margolin K. A., Dutcher J. P., Urba W. J., Ernstoff M. S., McDermott D. F., Lau A. M., Atkins M. B.: *J. Immunother.* 30, 839 (2007).
25. Mitra A., Coleman T., Borgman M., Nan A., Ghandehari H., Line B. R.: *J. Controlled Release* 114, 175 (2006).
26. Pola R., Pechar M., Ulbrich K., Fabra A.: *J. Bioactiv. Compat. Polym.* 22, 602 (2007).
27. O'Hare K. B., Duncan R., Strohalm J., Ulbrich K., Kopečková P.: *J. Drug Targeting* 1, 217 (1993).
28. David A., Kopečková P., Minko T., Rubinstein A., Kopeček J.: *Eur. J. Cancer* 40, 148 (2004).
29. Ward C. M., Pechar M., Oupický D., Ulbrich K.: *J. Gene Med.* 4, 536 (2002).
30. Vasey P. A., Duncan R., Kaye S. B., Cassidy J.: *Eur. J. Cancer* 31A, 929 (1995).
31. Duncan R., Hume I. C., Kopečková P., Ulbrich K., Strohalm J., Kopeček J.: *J. Controlled Release* 10, 51 (1989).
32. Šubr V., Strohalm J., Ulbrich K., Duncan R., Hume I. C.: *J. Controlled Release* 18, 123 (1992).
33. Malugin A., Kopečková P., Kopeček J.: *J. Controlled Release* 124, 6 (2007).
34. Hovorka O., Etrych T., Šubr V., Strohalm J., Ulbrich K., Říhová B.: *J. Drug Targeting* 14, 391 (2006).
35. Duncan R., Kopeček J., Rejmanová P., Lloyd J. B.: *Biochim. Biophys. Acta* 755, 518 (1983).
36. Seymour L. W., Ulbrich K., Wedge S. R., Hume I. C., Strohalm J., Duncan R.: *Br. J. Cancer* 63, 859 (1991).
37. Ferry D. R., Seymour L. W., Anderson D., Hesselwood S., Julyan P., Boivin C., Poyner R., Guest P., Doran J., Kerr D. J.: *Br. J. Cancer* 80, 21 (1999).
38. Seymour L. W., Ferry D. R., Anderson D., Hesselwood S., Julyan P. J., Poyner R., Doran J., Young A. M., Burtles S., Kerr D. J.: *J. Clin. Oncol.* 20, 1668 (2002).
39. Vasey P. A., Kaye S. B., Morrison R., Twelves C., Wilson P., Duncan R., Thomson A. H., Murray L. S., Hilditch T. E., Murray T., Burtles S., Fraier D., Frigerio E., Cassidy J.: *Clin. Cancer Res.* 5, 83 (1999).
40. Říhová B., Kopeček J.: *J. Controlled Release* 2, 289 (1985).
41. Flanagan P. A., Říhová B., Šubr V., Ulbrich K., Duncan R.: *Br. J. Cancer* 60, 485 (1989).
42. Seymour L. W., Flanagan P. A., Alshamkhani A., Šubr V., Ulbrich K., Cassidy J., Duncan R.: *Select. Cancer Ther.* 7, 59 (1991).
43. Ulbrich K., Strohalm J., Šubr V., Plocová D., Duncan R., Říhová B.: *Macromol. Symp.* 103, 177 (1996).
44. Ulbrich K., Šubr V., Strohalm J., Plocová D., Jelínková M., Říhová B.: *J. Controlled Release* 64, 63 (2000).
45. Kovář M., Mrkvan T., Strohalm J., Etrych T., Ulbrich K., Šťastný M., Říhová B.: *J. Controlled Release* 92, 315 (2003).
46. Říhová B., Strohalm J., Prausová J., Kubáčková K., Jelínková M., Rozprimová L., Šírová M., Plocová D., Etrych T., Šubr V., Mrkvan T., Kovář M., Ulbrich K.: *J. Controlled Release* 91, 1 (2003).
47. Říhová B., Strohalm J., Kovář M., Mrkvan T., Šubr V., Hovorka O., Šírová M., Rozprimová L., Kubáčková K., Ulbrich K.: *Scand. J. Immunol.* 62, 100 (2005).
48. Duncan R., Hume I. C., Yardley H. J., Flanagan P. A., Ulbrich K., Šubr V., Strohalm J.: *J. Controlled Release* 16, 121 (1991).
49. Šťastný M., Ulbrich K., Strohalm J., Rossmann P., Říhová B.: *Transplantation* 63, 1818 (1997).
50. Terwogt J. M. M., Huinink W. W. T., Schellens J. H. M., Schot M., Mandjes I. A. M., Zurlo M. G., Rocchetti M., Rosing H., Koopman F. J., Beijnen J. H.: *Anti-Cancer Drugs* 12, 315 (2001).
51. Caiolfà V. R., Zamai M., Fiorino A., Frigerio E., Pellizzoni C., d'Argy R., Ghiglieri A., Castelli M. G., Farao M., Pesenti E., Gigli M., Angelucci F., Suarato A.: *J. Controlled Release* 65, 105 (2000).
52. Wachtors F. M., Groen H. J. M., Maring J. G., Gietsma J. A., Porro M., Dumez H., de Vries E. G. E., van

- Oosterom A. T.: *Br. J. Cancer* 90, 2261 (2004).
53. Gianasi E., Buckley R. G., Latigo J., Wasil M., Duncan R.: *J. Drug Targeting* 10, 549 (2002).
 54. Rademaker-Lakhai J. M., Terret C., Howell S. B., Baud C. M., de Boer R. F., Pluim D., Beijnen J. H., Schellens J. H. M., Droz J. P.: *Clin. Cancer Res.* 10, 3386 (2004).
 55. Šubr V., Strohalm J., Hirano T., Ito Y., Ulbrich K.: *J. Controlled Release* 49, 123 (1997).
 56. Etrych T., Jelínková M., Říhová B., Ulbrich K.: *J. Controlled Release* 73, 89 (2001).
 57. Etrych T., Chytil P., Jelínková M., Říhová B., Ulbrich K.: *Macromol. Biosci.* 2, 43 (2002).
 58. Etrych T., Mrkvan T., Říhová B., Ulbrich K.: *J. Controlled Release* 122, 31 (2007).
 59. Mrkvan T., Šírová M., Etrych T., Chytil P., Strohalm J., Plocová D., Ulbrich K., Říhová B.: *J. Controlled Release* 110, 119 (2005).
 60. Šírová M., Strohalm J., Šubr V., Plocová D., Mrkvan T., Ulbrich K., Říhová B.: *Cancer Immunol. Immunother.* 56, 35 (2007).
 61. Poučková P., Zadinová M., Hloušková D., Strohalm J., Plocová D., Špunda M., Olejář T., Zitko M., Matoušek J., Ulbrich K., Souček J.: *J. Controlled Release* 95, 83 (2004).
 62. Souček J., Poučková P., Zadinová M., Hloušková D., Plocová D., Strohalm J., Hrkal Z., Olejář T., Ulbrich K.: *Neoplasma* 48, 127 (2001).
 63. Souček J., Poučková P., Strohalm J., Plocová D., Hloušková D., Zadinová M., Ulbrich K.: *J. Drug Targeting* 10, 175 (2002).
 64. Ulbrich K., Strohalm J., Plocová D., Oupický D., Šubr V., Souček J., Poučková P., Matoušek J.: *J. Bioactiv. Compat. Polym.* 15, 4 (2000).
 65. Gaberc-Porekar V., Zore I., Podobnik B., Menart V.: *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* 11, 242 (2008).
 66. Pasut G., Veronese F. M.: *Prog. Polym. Sci.* 32, 933 (2007).
 67. Pasut G., Veronese F. M.: *Adv. Polym. Sci.* 192, 95 (2006).
 68. Greenwald R. B.: *J. Controlled Release* 74, 159 (2001).
 69. Davis F. F.: *Adv. Exp. Med. Biol.* 519, 51 (2003).
 70. Fu C. H., Sakamoto K. M.: *Expert Opin. Pharmacother.* 8, 1977 (2007).
 71. Akimov S., Adeyemi O. M.: *Future Virol.* 1, 689 (2006).
 72. Kratz F., Abu Ajaj K., Warnecke A.: *Expert Opin. Invest. Drugs* 16, 1037 (2007).
 73. Gabizon A., Goren D., Horowitz A. T., Tzemach D., Lossos A., Siegal T.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 24, 337 (1997).
 74. Braunová A., Pechar M., Laga R., Ulbrich K.: *Macromol. Chem. Phys.* 208, 2642 (2007).
 75. Pechar M., Braunová A., Ulbrich K., Jelínková M., Říhová B.: *J. Bioactiv. Compat. Polym.* 20, 319 (2005).
 76. Wong S. Y., Pelet J. M., Putnam D.: *Prog. Polym. Sci.* 32, 799 (2007).
 77. Park T. G., Jeong J. H., Kim S. W.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 58, 467 (2006).
 78. Eliyahu H., Barenholz Y., Domb A. J.: *Molecules* 10, 34 (2005).
 79. Read M. L., Logan A., Seymour L. W.: *Adv. Genet.* 53, 19 (2005).
 80. Carlisle R. C., Etrych T., Briggs S. S., Preece J. A., Ulbrich K., Seymour L. W.: *J. Gene Med.* 6, 337 (2004).
 81. Merdan T., Kunath K., Petersen H., Bakowsky U., Voigt K. H., Kopeček J., Kissel T.: *Bioconjugate Chem.* 16, 785 (2005).
 82. Fisher K. D., Stallwood Y., Green N. K., Ulbrich K., Mautner V., Seymour L. W.: *Gene Ther.* 8, 341 (2001).
 83. Seymour L. W.: *Toxicology* 194, 213 (2004).
 84. Fisher K. D., Green N. K., Hale A., Subr V., Ulbrich K., Seymour L. W.: *J. Drug Targeting* 15, 546 (2007).
 85. Morrison J., Briggs S. S., Green N., Fisher K., Subr V., Ulbrich K., Kehoe S., Seymour L. W.: *Mol. Ther.* 16, 244 (2008).
 86. Park J. W., Mok H., Park T. G.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 366, 769 (2008).
 87. Carlisle R. C., Benjamin R., Briggs S. S., Summer-Jones S., Gill D., Hyde S., Nathwani A., Fisher K. D., Šubr V., Ulbrich K., Seymour L. W.: *J. Gene Med.* 10, 400 (2008).
 88. Fisher K. D., Green N. K., Morrison J., Briggs S. S., Stevenson M., Ulbrich K., Seymour L. W.: *J. Gene Med.* 9, 528 (2007).
 89. Green N. K., Morrison G. J., Hale S., Briggs S. S., Stevenson M., Šubr V., Ulbrich K., Chandler L., Mautner V., Seymour L. W., Fisher K. D.: *J. Gene Med.* 10, 280 (2008).
 90. Maeda H.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 46, 169 (2001).

M. Pechar and K. Ulbrich (*Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Polymer Therapeutics**

Polymer therapeutics including polymer-drug conjugates, polymer-protein conjugates and polymer-modified gene delivery vectors are addressed in this review. Brief history of the polymer therapeutics is described with a focus on the pioneering work accomplished at the Institute of Macromolecular Chemistry in Prague. The advantages of polymer therapeutics compared with low-molecular-weight drugs are outlined. Polymer cancerostatics, polymer-protein conjugates with anti-cancer activity and polymer-modified viruses based on *N*-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymers and biodegradable multiblock poly(ethylene glycol) polymers are chosen as examples. The current status of clinical evaluation of the polymer therapeutics is also mentioned.

ROLE ANALYTICKÉ CHEMIE V SOUČASNÉ VĚDĚ A PRAXI

KAREL ŠTULÍK

*Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Katedra analytické chemie, Albertov 2030, 128 40 Praha 2
stulik@natur.cuni.cz*

Došlo 17.1.08, přijato 3.3.08.

Klíčová slova: analytická chemie, definice, současný stav, požadavky, příklady aplikací

Současné přírodní vědy se vyznačují, podobně jako řada technických disciplín, obrovským objemem konkrétních poznatků, který stále rychleji narůstá. Tento rozvoj je však dán především metodologickým a technologickým pokrokem, spíše než zásadními teoretickými objevy. Základní principy, jako jsou např. kvantová mechanika či teorie relativity, jsou již poměrně letité a rozvíjejí se podstatně pomaleji – kýžená „teorie všeho“, která by harmonicky spojila popis nejmenších součástí hmoty s popisem vesmíru, stále chybí. Nicméně možnosti racionálního uchopení dějů v přírodě a jejich predikce vzrůstají, více a více se ukazuje vzájemné propojení disciplín a jejich společný základ. Poněkud zjednodušeně řečeno je zde pohyb k rostoucí exaktnosti, např. ve směru:

biologie → chemie → fyzika → matematika.

Z tohoto základního stavu věcí vyplývají některé konkrétnější rysy současné přírodovědy. Jsou to např.:

- Prolínají se a vzájemně se využívají teoretické a experimentální obory – teorie poskytuje základ pro experiment a vysvětluje experimentální výsledky, experiment slouží k ověřování a modifikaci teorie.
- Stále větší je úloha matematických, informatických a fyzikálních přístupů v chemii, vědách o zemi, biologii a medicíně.
- Hlavní rozvoj nastává na hranicích klasických disciplín (viz např. biofyziku či biochemii) – to vyžaduje práci ve skupině specialistů a přináší problémy ve vzájemné komunikaci mezi specialisty.
- Obrovský objem experimentálních dat klade stále větší nároky na jejich systematizaci, kritické posouzení a zobecnění. Společenský tlak na vědeckou produktivitu a co nejrychlejší aplikaci a komercializaci činí tyto záležitosti ještě složitějšími.
- Všechny výše uvedené rysy moderní přírodovědy vedou k tomu, že se vědci záhy úzce specializují a je nedostatek lidí s dostatečným nadhledem, schopných zobecnění a propojení konkrétností do větších celků.

Analytická chemie se velmi dobře hodí pro demonstraci výše uvedených tvrzení. Myslím, že i široká veřejnost si uvědomuje důležitost informací o identitě

a množství nejrůznějších látek ve všemožných oblastech života. Není však vůbec jednoduché definovat analytickou chemii, jejímž úkolem je poskytovat tyto informace. Co je nesporné: analytická měření jsou historicky hlavním pilířem, na němž spočívaly základy chemie jako rodící se vědecké disciplíny a v mnohém se o něj opíraly i základy dalších vznikajících přírodních věd. Dále pak analytická chemie je aplikovaný obor, který využívá poznatků prakticky všech přírodovědných oborů a na oplátku jim poskytuje data, která nezbytně potřebují; slouží i široké oblasti nejrůznějších technologických a obecně lidských aktivit. Zde však jednoznačnost končí.

Co tedy je analytická chemie? Na tuto otázku odpovídá německý fyzikální chemik devatenáctého století, Wilhelm Ostwald, slovy: „Analytická chemie je řemeslo, služka“. Druhou krajnost představuje maďarský analytický chemik dvacátého století, Ernő Pungor, který praví: „Analytická chemie je věda o vytváření signálu a jeho interpretaci“ (takto by samozřejmě analytická chemie pohltila značný podíl všech přírodních a technických věd). Osobně se mi nejvíce líbí názor třetí, vyslovený americkým chemikem dvacátého století, Herbertem Laitinenem: „Analytická chemie je věda o chemické charakterizaci a měření“. Tomuto spektru názorů odpovídají i tři názvy disciplíny: „die Analytik“, „Analytical Chemistry“ a „Analytical Science“; myslím, že v současnosti je poslední název nejvýstižnější.

Z těchto představ vychází pokus o definici analytické chemie:

„Analytická chemie je obor přírodních věd, založený nejen na všech chemických disciplínách, ale i na fyzice, biologii, teorii informace a řadě technických oborů. Podává informace o identitě, struktuře a množství chemických species v přírodních i člověkem vytvořených objektech a o distribuci těchto species v prostoru a čase. Spolupracuje s ostatními přírodními vědami při hledání souvislostí mezi chemickým složením látek a jejich vlastnostmi. Je to aplikovaný multidisciplinární obor s mnoha zpětnými vazbami, který akcentuje kolektivní práci při řešení problémů“¹.

Stručnější je definice formulovaná Federací evropských chemických společností:

„Analytical chemistry is a scientific discipline which develops and applies methods, instruments and strategies to obtain information on the composition and nature of matter in space and time“².

Z výše uvedeného vyplývá, že pole působnosti analytické chemie lze zhruba rozdělit do tří částí:

- obecný metodologický výzkum, využívající poznatků širokého spektra vědních a technických disciplín;
- účast na výzkumu i praxi mnoha oborů – chemie, biologie, lékařství, ekologie, věd o zemi, technických disciplín atd.);
- servisní činnost v průmyslu, obchodu, monitorování přírodního a pracovního prostředí, ve zdravotnictví atd.

Z hlediska vědeckého rozvoje jsou jistě zdaleka nejvýznamnější první dvě části. V této souvislosti se často vynořuje otázka, zda analytický chemik má pouze poskytovat data pracovníkům ostatních přírodovědných a tech-

nických oborů, nebo má-li se podílet i na interpretaci těchto dat. Jsem přesvědčen, že by měl setrvat po celou dobu výzkumu i aplikace, jak ostatně vyplývá i z výše uvedených definic analytické chemie. Analytičtí chemici by měli být a věřím, že i jsou, přínosem řešitelským kolektivům při kritickém posuzování významu a spolehlivosti experimentálních dat, protože pojmy reprodukovatelnosti, opakovatelnosti, správnosti a nejistoty měření patří k základním kamenům jejich činnosti. Kdybych chtěl jít až do krajnosti, pak bych řekl, že chemii lze v zásadě rozdělit na pouhé dvě obsáhlé části, chemii analytickou a syntetickou, i když jsem si vědom schématicnosti takového rozdělení.

Nyní však k současnému stavu analytické chemie. Myslím, že hlavní faktory současného směřování jsou čtyři:

- nesmírný technologický rozvoj, umožňující složitá, citlivá a spolehlivá měření, často v nanoměřítku;
- obecná fyzikalizace měření (např. prudce narůstající význam hmotnostní spektrometrie, vibrační spektroskopie atd.);
- rozvoj výpočetní techniky a informatiky, který umožňuje softwarová řešení v mnoha případech, donedávna řešitelných pouze hardwarově (např. oddělování signálu od šumu a zlepšování selektivity při elektrochemických a spektroskopických měřeních);
- vzájemná inspirace s biologií – analytická chemie poskytuje obrovské soubory dat pro biologie a současně kopíruje či přímo využívá biologické procesy (viz např. rozsáhlé pole biosenzorů či aplikace biospecifických interakcí v afinitních separačních postupech).

Z rychle narůstajících nároků na objem analytických dat, na analýzy stále složitějších systémů, na kvalitu analytických informací (citlivost stanovení, selektivita, současná identifikace a stanovení velkých počtů velmi podobných látek, spolehlivost experimentálních dat) a na přijatelné technické a ekonomické podmínky analytických měření vyplývá řada konkrétnějších vývojových směrů. Především nezbytnou součástí stále většího počtu analýz je vysoce účinný a selektivní separační krok. Dále pak rychle vzrůstající počet analýz vyžaduje použití nikoli jediné měřicí techniky, ale optimalizované kombinace dvou nebo i více vzájemně propojených technik. Takovéto kombinace se s oblibou nazývají „hyphenated techniques“ (hyphen je pomlčka mezi slovy) a typickými příklady jsou chromatografické či elektromigrační separace se současným použitím dvou nebo více detekčních technik, třeba HPLC-UV/VIS-ED (vysokoučinná kapalinová chromatografie následovaná spektrofotometrickou a elektrochemickou detekcí), nebo CE-MS/MS (kapilární elektroforéza s tandemovou hmotnostně spektrometrickou detekcí). Kombinace technik jsou „šity na míru“ danému analytickému problému a mohou být i značně složité, se spojeními měřicích bloků jak sériovými, tak paralelními. Dobrymi příklady jsou v posledních letech tak populární molekulárně biologické projekty, genomika, proteomika, cellomika, aj. Veškerá analytická měření se neobejdou bez rozsáhlého použití výpočetních technik, od plánování experimentu, přes optimalizaci navržených experimentálních podmínek, vlast-

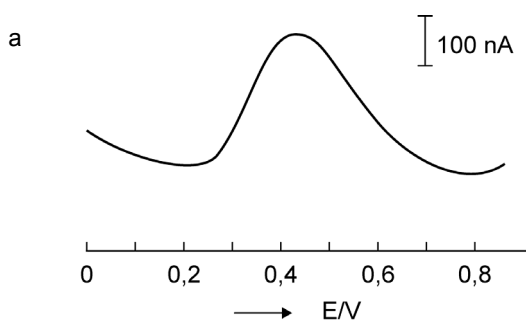
ní měření, až po zpracování a prezentaci naměřených dat.

Hlavní požadavky na analytika lze tedy shrnout takto:

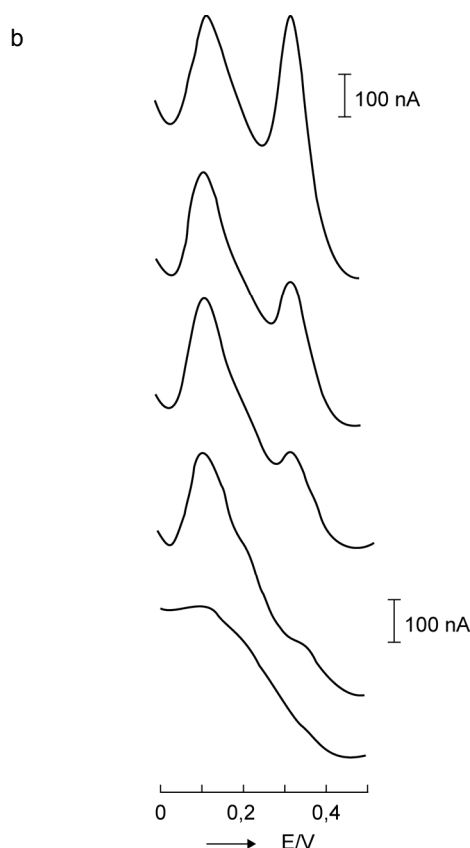
- Měl by poskytnout dostatečný (nikoli zbytečně velký) objem relevantní kvalitativní i kvantitativní informace v co nejkratším (mnohdy reálném) čase, co nejjednodušeji a co nejlevněji, s co nejmenším vynaložením lidské práce.
- Měl by být schopen kontinuálního (či alespoň periodického) měření, se zpětnou vazbou ke sledovanému systému – viz např. měření *in vivo* v lékařství a biologii (třebas monitorování úrovně důležitých iontů v krevním řečišti pacienta, který podstupuje dialýzu na umělé ledvině), sledování polutantů v přírodních vodách a v atmosféře či řízení kontinuálních průmyslových pochodů.
- Měl by poskytovat data o speciaci látek, to je o jejich rozdělení mezi různé chemické formy – typickým příkladem je rtuť, která v poslední době vzbuzuje až hysterický strach. Ve skutečnosti je kovová rtuť nepříliš nebezpečná. V přírodním prostředí se však vyskytuje i ve formě komplexů s organickými ligandy a ty jsou pro živé organismy toxické. Je tedy nezbytné identifikovat a stanovit tyto komplexy a určit distribuci iontů rtuti, především v přírodních vodách, v půdách a rostlinstvu.
- Měl by dodávat spolehlivá data o prostorovém složení látek, zejména např. v materiálových vědách a technologiích, při geologickém průzkumu apod.

Analytici mají nejmenší problémy s dosažením vysoké citlivosti měření. V současné době již lze postřehnout a určit i jednotlivé atomy (typickým příkladem je mikroskopie atomových sil, AFM – atomic force microscopy). Dosažení dostatečné selektivity měření a jednoznačná identifikace analytů jsou obtížnější, avšak různé kombinace experimentálních přístupů (viz např. hyphenated techniques), vtipné využívání rozdílů ve fyzikálně-chemických vlastnostech analytů, neobyčejně výkonné separační techniky, aplikace biospecifických interakcí a systematické užití výpočetních technik a databází většinou vede k přijatelným výsledkům. Nejméně uspokojivá situace je v „nejpřízemnějších“ stránkách analytických činností, jako jsou odběr a úprava vzorků materiálů, tak, aby vzorek skutečně reprezentoval mateřský materiál, dále nedostatek spolehlivých standardních materiálů, mnohdy i nedostatečné využívání „selského rozumu“, tj. nekritická důvěra v počítačová data, a konečně někdy i určitý úpadek manuální zručnosti při laboratorní práci. Hlavními důvody těchto problémů jsou nejen složitost reálných materiálů, reálných analytických podmínek i pracnost řešení konkrétních problémů a jejich generalizace, ale i jejich malá atraktivita z hlediska scientometrického posuzování pracovníků, a tudíž i malá ochota se jim věnovat.

Z výše uvedeného je zřejmé, že pole analytické chemie, rozsah a variabilita problémů i přístupů k jejich řešení jsou neobyčejně široké a je tedy nemožné podávat zde jakýsi systematický přehled. Uvádím proto na závěr jen pár typických konkrétních příkladů.



Obr. 1. Současné stanovení dopaminu (DA) a askorbové kyseliny (AA) na uhlíkové mikroelektrodě; a) směsný pík DA + AA před oxidací elektrody, b) oddělené píky při různých koncentracích analytů; (z výsledků K. Štulíka a spol.)

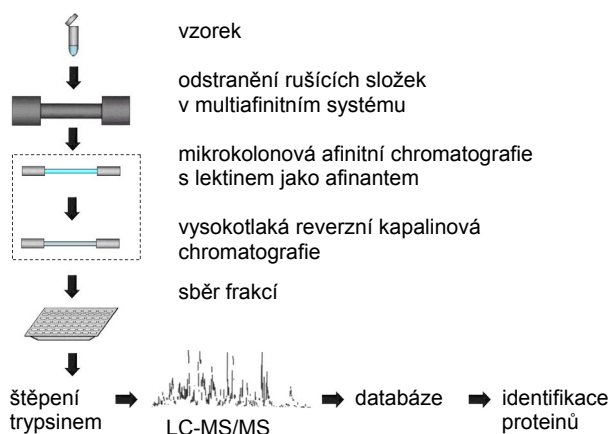


Příklad 1

Velmi jednoduché řešení důležitého problému pro biomedicínské studium a praxi je selektivní stanovení neurotransmiteru dopaminu a askorbové kyseliny, které jsou současně přítomny v buněčném materiálu. Mikroelektroda z uhlíkového vlákna se snadno zasune do vzorku, selektivního oddělení dvou signálů se dosáhne pulsní elektrochemickou oxidací uhlíkového vlákna – viz obr. 1.

Příklad 2

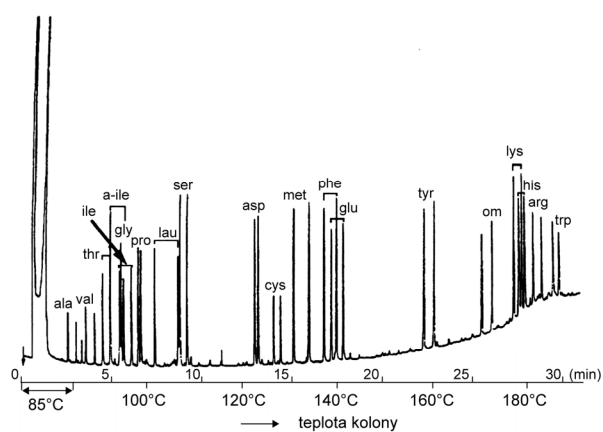
Tento příklad je opakem jednoduché analýzy uvedené v předchozím. Ilustruje využití složité kombinace měřicích technik a rozsáhlé databáze pro analýzu a jednoznačnou identifikaci početné skupiny vzájemně velmi podobných proteinů – viz obr. 2.



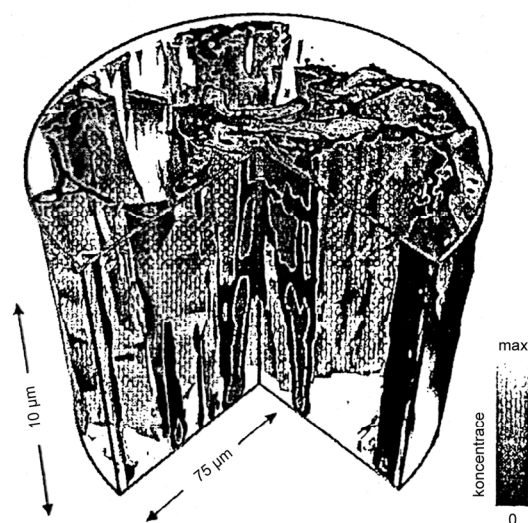
Obr. 2. Identifikace proteinů ve složité biologické matici s využitím afinitních separací, kombinace kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií a porovnání s hmotnostně spektrometrickou databází (podle doktorské disertační práce M. Maděry, UK PFF)

Příklad 3

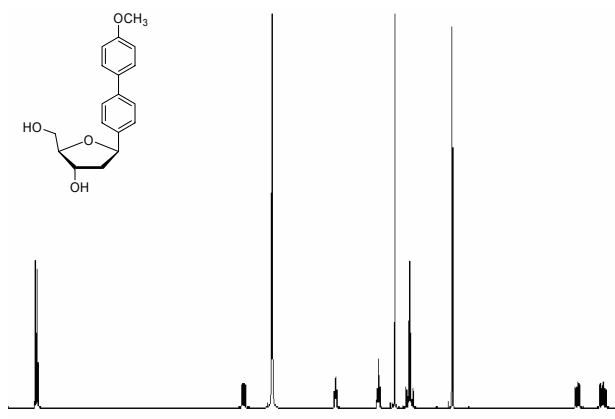
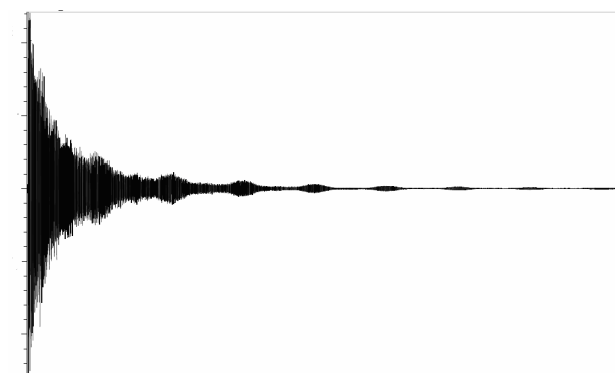
Při studiu biologických systémů je velice důležité rozlišovat enantiomery látek a pro tyto účely se výborně hodí vysokoúčinné chromatografické separace s enantioselektivními stacionárními fázemi – viz obr. 3.



Obr. 3. Plynově chromatografická separace aminokyselin jako *N-(O,S)*-pentafluoro-propanoylesterů na koloně Chirasil-Val (podle skript Analytické separační metody, Učební texty Univerzity Karlovy v Praze, 2004)



Obr. 4. Trojrozměrné zobrazení distribuce vanadu v legované oceli pomocí metody hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů (SIMS), spojené s rozsáhlým zpracováním primárních dat získaných pro sérii paralelních vrstev (převzato z technické literatury)



Obr. 5. NMR-spektrum: nahoře FID, záznam v časové doméně, dole ^1H NMR spektrum po Fourierově transformaci, ve frekvenční doméně (spektra laskavě poskytl RNDr. Miloš Buděšínský, CSc.)

Příklad 4

Tento příklad obrací naši pozornost k další důležité oblasti, k materiálovému výzkumu. Pro posouzení vlastností ušlechtilé oceli je zapotřebí spolehlivě určit prostorovou distribuci legujících prvků. Tento náročný úkol lze řešit použitím vysoce selektivní analytické techniky, spolu s rozsáhlým počítačovým zpracováním signálu - viz obr. 4.

Příklad 5

Tento příklad ilustrovaný obr. 5 ukazuje obrovský potenciál počítačového zpracování primárního analytického signálu, zejména z hlediska zlepšení poměru signálu k šumu.

LITERATURA

1. Štulík K., Zýka J.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 343, 832 (1992).
2. WPAC/FECS, 1993.

K. Štulík (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Science, Charles University, Prague*): **The Role of Analytical Chemistry in Contemporary Science and Practice**

The present state of science is briefly characterized and the definition of analytical chemistry is tentatively formulated. The principal tasks of analytical chemistry in research, technology, and everyday life are discussed. Some important approaches to the solution of analytical problems are pointed out and illustrated on specific examples.

KRÁSA A ROZMANITOST STRUKTUR PŘÍRODNÍCH ANTIBIOTIK

FRANTIŠEK HAMPL^a, JITKA MORAVCOVÁ^b,
JANA ČOPÍKOVÁ^c, LUBOMÍR OPLETAL^d,
OLDŘICH LAPČÍK^b a PAVEL DRAŠAR^b

^a Ústav organické chemie, ^b Ústav chemie přírodních látek,

^c Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha,
Technická 5, 166 28 Praha 6, ^d Katedra farmaceutické
botaniky a ekologie, Farmaceutická fakulta v Hradci Krá-
lové, Univerzita Karlova v Praze, Heyrovského 1203,
500 05 Hradec Králové
pavel.drasar@vscht.cz

Došlo 13.7.08, přijato 9.10.08.

Klíčová slova: přírodní látky, antibiotika, infekce, mikro-
organismy, houby

Obsah

1. Úvod
2. β-Laktamy
3. Aminoglykosidy
4. Makrolidy
5. Tetracykliny
6. Ansamyciny
7. Polypeptidy
8. Glykopeptidy
9. Glykosidy
10. Jiná antibiotika
11. Závěr

1. Úvod

Tento článek je dalším z řady přehledů, ve kterých popisujeme rozmanitost přírodních látek^{1–7}. Významným zdrojem informací v této oblasti je obsažná databáze „Antibase 2007“, která popisuje⁸ celkem 33 557 přírodních sloučenin. Její elektronická verze je dostupná ve formátu pro ISIS/Base (MDL), ChemFinder (CambridgeSoft) a SciDex (LCI Publisher). Relevantní data lze najít i v monografiích a přehledech^{9–12} i speciálním čísle časopisu Chemical Reviews¹³.

Prvním popsáním přírodním antibiotikem bylo modré barvivo izolované přesně před 120 lety německým vědcem Eduardem von Freudenreichem z kultury *Bacillus pyocyaneus*^{14,15}. Pionýrských bádání na tomto poli se zúčastnili

i Rudolf Emmerich a Oscar Low. Za objevitele antibiotik je však historicky považován skotský lékař Alexander Fleming, od jehož publikace popisující antibakteriální účinky plísně *Penicilium notatum* uplyne příští rok 80 let. Použitelné množství penicilinu izoloval pak tým, který vedl anglický lékař Howard W. Florey. Za objev penicilinu dostali A. Fleming, H. W. Florey a německý biochemik Ernest Chain v roce 1945 Nobelovu cenu. H. W. Florey později objevil ještě další antibiotikum – cefalosporin. V roce 1943 americký biochemik ruského původu Selman A. Waksman oznámil, že objevil nové antibiotikum izolované z plísně *Streptomyces*, které dostalo název streptomycin. Za objev streptomycinu, neomycinu a dalších antibiotik se stal v roce 1952 rovněž nositelem Nobelovy ceny. Termín „antibiotika“ pochází právě od něho a označují se tak látky produkované houbami a mikroorganismy, které vykazují antibakteriální účinky¹⁶. V současnosti se k antibiotikům často řadí kontroverzně i syntetická antibakteriální chemoterapeutika¹⁷. Počet dodnes izolovaných a charakterizovaných antibiotik se pohybuje v řádu tisíců, třebaže využití v medicíně našel jen malý zlomek z tohoto počtu látek, především kvůli vysoké toxicitě většiny z nich. V řadě případů farmaceutický průmysl rozvinul i syntetické obměny těchto přírodních materiálů a úpravami jejich lékových forem zlepšil terapeutickou využitelnost těchto substancí^{18–20}. Některá antibiotika se vyrábějí i plně syntetickou cestou²¹. Hledání nových účinných antibiotik ovšem nikdy nekončí, neboť bakterie vynikají vysokou rezistencí, která zahrnuje základní tři mechanismy: a) destrukci antibiotika enzymovým systémem bakterie, b) funkční změnu místa účinku tak, že je pro antibiotikum méně dostupné a c) snižování koncentrace antibiotika v bakteriálních buňkách pod toxickou koncentraci tím, že je vytěšňováno přes membránu pomocí efluxních pump.

Existují experimentální metody, kterými se zjišťuje případný vývoj nežádoucí rezistence, jsou to však metody s velmi omezenou platností. To, že si mikroorganismy na dané antibiotikum nevytvorí rezistenci, lze poznat až teprve potom, když se pohybuje v běžném přírodním biologickém cyklu alespoň 10 let. Jak se vyvíjela záležitost zkřížené rezistence na antibiotika u tzv. nemocničních kmenů *Staphylococcus aureus*, je humánní klinické mikrobiologii dostatečně dobře známo. Nelze pochybovat, že rezistence k antibiotikům má genetický původ. V podstatě lze říci, že některé bakteriální druhy jsou rezistentní primárně: např. gramnegativní střeptokok tyčinky jsou rezistentní vůči penicilinu, makrolidům a linkosamidům, zástupci rodu *Klebsiella* k ampicilinu, *Pseudomonas aeruginosa* je rezistentní na klotrimoxazol, zástupci rodu *Streptococcus* na aminoglykosidová antibiotika, rod *Enterococcus* na cefalosporiny. V současné době je však na celém světě problém s bakteriální rezistencí získanou. Její vznik je

možný realizací jedné ze tří cest: 1) genovou mutací chromosomu, 2) přenosem plazmidu obsahující gen rezistence při konjugaci bakterií, 3) přenosem plazmidu pomocí bakteriofágu.

Všechny tři způsoby jsou více než reálné. Průkaz přenosu rezistence z jednoho bakteriálního druhu do dalšího byl experimentálně prováděn už v 60. letech, a to s úspěchem.

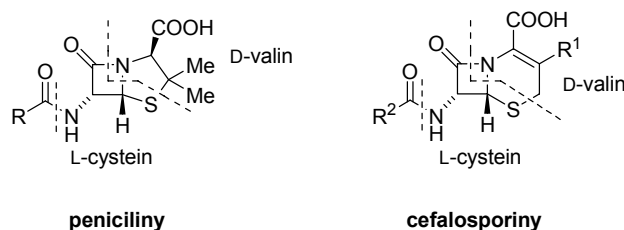
Antibiotika účinkují různými mechanismy. V tomto přehledu uvádíme v jednotlivých případech pouze principy účinku; pro podrobnosti odkazujeme např. na cit.²²

Předkládaný článek nemůže být vyčerpávajícím přehledem. Cílem tohoto přehledu je upozornit na různé typy významně účinných přírodních antibiotik, na jejich strukturní poezii a bezbřehou rozmanitost. Při klasifikaci antibiotik se zhruba přidržíme obvyklého schématu, založeného na jejich strukturní podobnosti.

2. β -Laktamy

β -Laktamová antibiotika (zejména peniciliny) jsou nejnámějšími a nejdéle používanými antibiotiky. Jejich charakteristickým strukturním rysem je čtyřčlenný β -laktamový kruh kondenzovaný s heterocyklem, např. 1,3-thiazolidinem (peniciliny), dihydro-1,3-thiazinem (cefalosporiny a cefamyciny) a 1,3-thiazolinem (penemy). β -Laktamová antibiotika se někdy označují též jako antibiotika peptidová vzhledem k jejich biogenezi - ve struktuře penicilinů a řadě cefalosporinů lze snadno identifikovat L-cystein a D-valin (obr. 1). Účinnost této skupiny antibiotik je dána přítomností reaktivního β -laktamového seskupení, kterým se tyto látky kovalentně váží na enzym DD-transpeptidasa. Důsledkem je inhibice tvorby peptidoglykanu mureinu, který zpevňuje bakteriální stěnu, a vlivem osmotického tlaku pak dochází k destrukci buněčné stěny bakterie²².

Peniciliny obecně účinkují především proti grampozitivním bakteriím (polosyntetické také proti gramnegativním) a používají se v terapii široké škály infekčních chorob od streptokokových infekcí přes syfilis až po lymeskou boreliózu. Z přírodních penicilinů, kterých bylo dosud objeveno více než 10, je třeba zmínit především penicilin G (benzylpenicilin, penicilin II), produkt kultur *Penicilium* sp., *Aspergillus* sp., *Trichophyton* sp. a klasicky *P. notatum*. Jeho 4-hydroxybenzylderivát byl izolován z kultur *Penicillium* sp. Význam penicilinu G spočívá především v tom, že je prekurzorem celé řady semisyntetických penicilinů. Fermentačně připravený penicilin G se nejprve hydrolyzuje na kyselinu 6-aminopenicilanovou (6-APA), jejíž acylací se získá požadovaný penicilin (Schéma 1).



Obr. 1. Obecná struktura penicilinů a cefalosporinů

lium sp., *Aspergillus* sp., *Trichophyton* sp. a klasicky *P. notatum*. Jeho 4-hydroxybenzylderivát byl izolován z kultur *Penicillium* sp. Význam penicilinu G spočívá především v tom, že je prekurzorem celé řady semisyntetických penicilinů. Fermentačně připravený penicilin G se nejprve hydrolyzuje na kyselinu 6-aminopenicilanovou (6-APA), jejíž acylací se získá požadovaný penicilin (Schéma 1).

Z dalších přírodních penicilinů jmenujme alespoň penicilin O (almecillin, penicilin AT) produkovaný různými kulturami rodu *Penicillium* sp., ke kterým byla přidána (allylsulfanyl)octová kyselina. Penicilin K (heptylpenicilin, penicilin IV) byl izolován také z kultur *Penicillium* sp. O dva uhlíky kratší, avšak stejně aktivní pentylpenicilin (amylpenicilin, gigantic acid, Flavacidin, Flavacin), se nachází v izolátu z kultur *Aspergillus giganteus* a *Penicillium* sp. Kultury *Penicillium* sp. a *Aspergillus* sp. produkují penicilin F (penicilin I, 2-pentenylpenicilin, Flavacidin). Penicilin KPN izolovaný z kultur *Paecilomyces carneus*, *P. persicus* a *Penicillium carneus* je účinný proti stafylokokům *Staphylococcus aureus* a *Sarcina lutea*. Penicilin N, řazený často mezi cefalosporiny, obsahuje vázanou D-aminoadipovou kyselinu (Adicillin, Synnematin B, cefalosporin N, Salmotin), jehož producentem je *Streptomyces* sp., *Actinomadura cinereorectus* (zřejmě jde o *Streptomyces cinereorectus*) a *Cephalosporium salmosynnematum* a je aktivní proti *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces hygrosopicus*, *Klebsiella pneumoniae* a *Proteus vulgaris*. Podobně aktivní je i jeho diastereoisomer isopenicilin N, v jehož struktuře je L-aminoadipová kyselina. Isopenicilin N produkují kultury *Penicillium chrysogenum* a *Streptomyces*

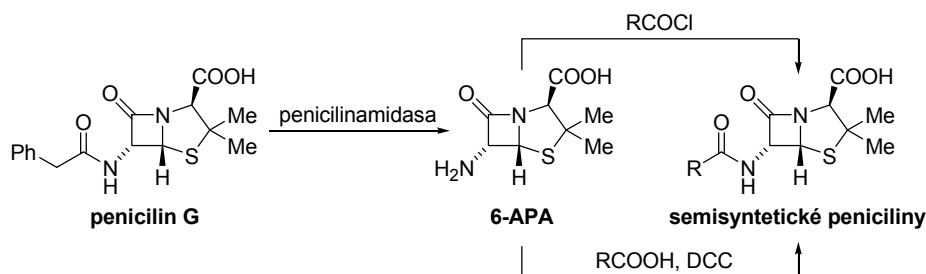
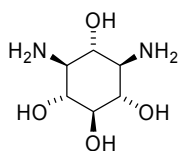


Schéma 1. Transformace penicilinu G na semisyntetické peniciliny

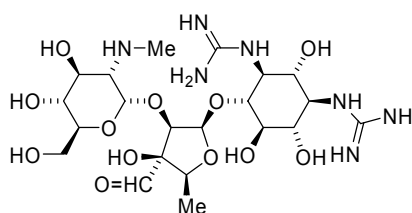
kteří jsou rezistentní na jiná antimikrobiální chemoterapeutika.

Patrně nejznámějším antibiotikem této skupiny aminoglykosidů je streptomycin (streptomycin A) vyskytující se např. v *Streptomyces griseus*, *S. bikiniensis*, *S. mashi-uensis*, *S. galbus*, *S. olivaceus* a *S. erythrochromogenes-narutoensis*. Přestože byl streptomycin objeven již v r. 1943 Waksmanem, dodnes patří spolu s dalším antibiotikem rifampicinem (viz dále) a se syntetickými antimykobakteriálními látkami²³ (isoniazid, ethambutol, pyrazinamid) k léčivům první linie nasazovaným proti TBC. Kromě streptomycinu A je známo ještě dalších 12 streptomycinů. Neomycin (Framycetin) ze *Streptomyces fradiae* byl rovněž objeven Waksmanem. Je účinný proti gramnegativ-

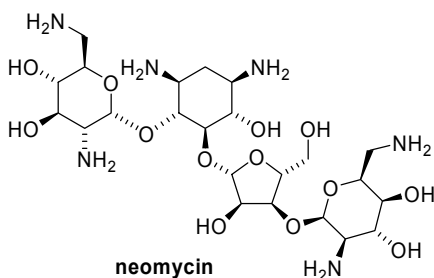
ním bakteriím a používá se převážně topicky. Skupina neomycinů čítá přibližně 20 látek. K neomycinům se řadí i paromomyciny, skupina asi 10 antibiotik, z nichž nejznámější je samotný paromomycin (Catenulin) získávaný ze *Streptomyces rimosus* subsp. *Paramomycinus* a používaný v terapii střevních infekcí a leishmaniózy. Gentamicin (gentamycin A, garamycin) je zástupcem skupiny asi 60 příbuzných látek, mezi kterými jsou i halogenaminocukry (např. 5-deoxy-5-fluorogentamicin C1 z *Micromonospora purpurea* ATCC 31119, jehož název zřejmě není správný, neboť poloha mezi hydroxylovanými uhlíky na samotném streptaminu je skutečně číslována C-5, ale v komplexu gentamicinu C1 je správněji C-2). Gentamicin se používá k léčení infekcí způsobených gramnegativními bakteriemi,



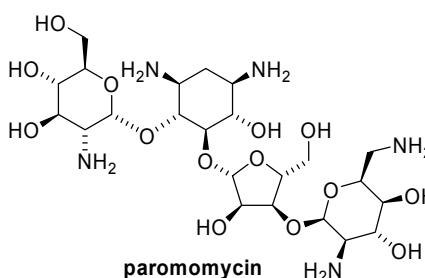
D-streptamin



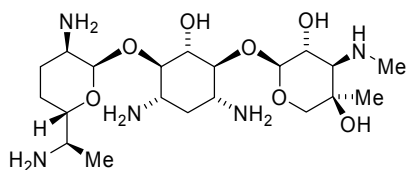
streptomycin A



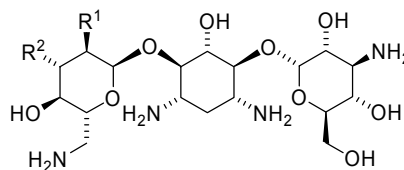
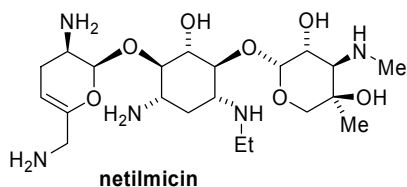
neomycin



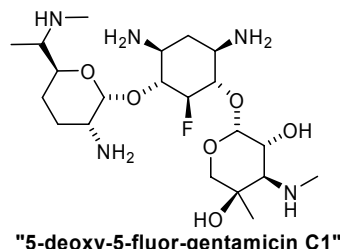
paromomycin



gentamicin

kanamycin R¹ = OH, R² = OH
tobramycin R¹ = NH₂, R² = OH

netilmicin



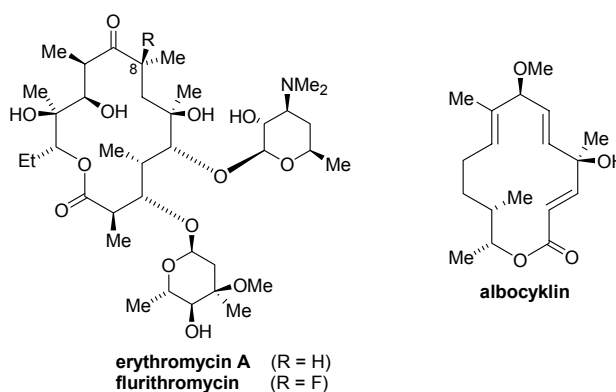
"5-deoxy-5-fluor-gentamicin C1"

rodů *Klebsiella sp.*, *Proteus*, *Serratia* a zejména *Pseudomonas aeruginosa*. Účinkuje však též proti grampozitivním bakteriím *Staphylococcus sp.* Kanamycin (kanamycin A, Kanacin, Resistomycin-Bayer) je produkován *Streptomyces kanamyceticus* a *S. takahuraensis*. Samotný kanamycin je z terapeutického hlediska bez významu, neboť je poměrně toxický. Z přírodních kanamycinů, kterých bylo dosud z různých zdrojů izolováno a identifikováno asi 30, se používá tobramycin (tobramycetin, Nebcin) ze *S. tenebrarius sp. nov.* a *Streptoalloteichus hindustanus*. Netilmicin (Netromycin) má podobné spektrum účinků jako předchozí aminoglykosidy. Získává se fermentačně z 1-*N*-ethyl- α -deoxy-D-streptaminu účinkem *Micromonospora inyoensis*²⁴.

4. Makrolidy

Makrolidy představují početnou skupinu antibiotik, Laatsch⁸ uvádí na 350 přírodních makrolidů, jejichž základním skeletem je makrocyclický lakton. Počet atomů v makrocyccku bývá nejčastěji 14 (např. erythromyciny), 15 nebo 16 (např. bafilomyciny). Existují ale i makrolidy s podstatně vyšším počtem atomů v laktonovém cyklu. Makrolidy inhibují syntézu proteinů reverzibilní vazbou na 50 S podjednotky ribosomů citlivých mikroorganismů.

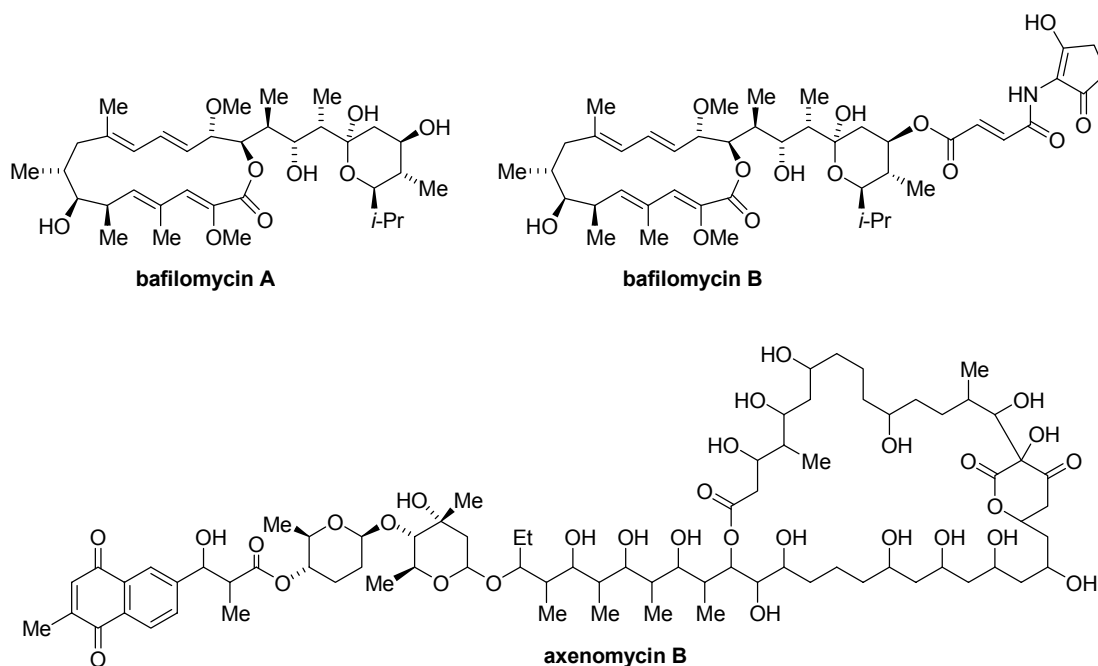
K nejznámějším makrolidům patří skupina erythromycinů, které mají podobné spektrum účinků jako peniciliny; často se proto používají u pacientů, kteří trpí alergií na penicilin. Léčí se jimi infekce dýchacích cest včetně infekcí způsobených atypickými mikroorganismy, jako jsou *Mycoplasma sp.* či *Legionella sp.* Používají se rovněž v terapii syfilis, kapavky (gonorrhoea) a lymeské borelió-

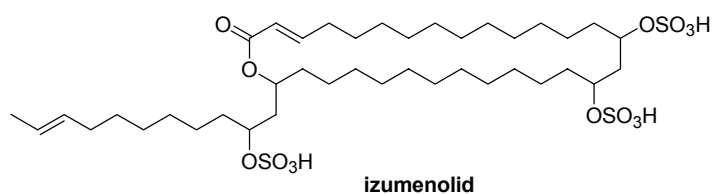
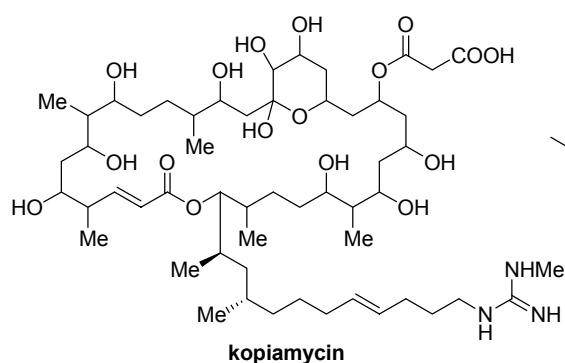


zy. Erythromycin (erythromycin A, Erythrocin) a flurithromycin byly izolovány ze *Streptomyces erythraeus*. Relativně jednoduchý makrolid albocyklin (Ingramycin), který ve své molekule nemá vázány žádné sacharidové jednotky, se nachází ve *Streptomyces bruneogriseus*, *S. roseocinereus* a *S. roseochromogenes*. Je aktivní nejenom proti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* a dalším mikroorganismům, ale působí i insekticidně²⁵.

Streptomyces griseus a jeho odrůdy jsou zdrojem bafilomycinů, kterých bylo dosud z přírodních zdrojů izolováno a identifikováno více než 10. Všechny bafilomyciny jsou inhibitory vakuolární H^+ -ATPasy (tzv. protonové pumpy). Typickým zástupcem je bafilomycin A1 s účinky antibakteriálními, antifungálními, antineoplastickými a imunosupresivními. Bafilomycin B (setamycin) je zmiňován jako látka s potenciálními antiosteoporotickými účinky.

Axenomycin B, makrolakton ze *Streptomyces lisantri*, působí proti *Candida albicans* a *Saccharomyces cere-*





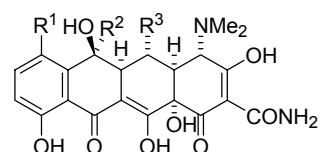
*visiae*²⁶ a překvapivě má i anthelmintické vlastnosti.

Streptomyces hygroscopicus var. *crystallogenes*, *S. violaceoniger* Tue 905 produkují kopiamyciny, makrolaktony s kruhem o 31 atomech. Kopiamycin (nifitricin) vykazuje antifungální aktivitu. Dále účinkuje proti *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* a dalším mikroorganismům. Zajímavou strukturou má izumenolid z *Micromonospora chalcea* subsp. *izumensis* SC 11133 (ATCC 31395), který je účinný proti *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* a *Pseudomonas aeruginosa*. Díky ionizovatelným sulfátovým skupinám vhodně orientovaným na nepolárním makrocycly se izumenolid chová jako bolaamfifil²⁷, a ovlivňuje tak vlastnosti buněčné membrány patogenu.

Podle definice uvedené na začátku tohoto oddílu lze formálně za makrolidy považovat i některá polyenová antibiotika, z nichž nejznámější je amfotericin B produkovaný *Streptomyces nodosus*. Jako řada dalších polyenů má antifungální účinky; používá se při léčení systémových infekcí způsobených patogenními houbami a kvasinkami. Předpokládá se, že polyeny tvoří komplexy s membránovými steroly za vzniku transmembránových kanálů způsobujících únik K^+ iontů z buňky patogenu. Dalším příkladem polyenu je makrocyclický keton HA-1-92 nalezený v *Streptomyces* CDRIL-312; v tomto případě se však již nejedná o makrolid.

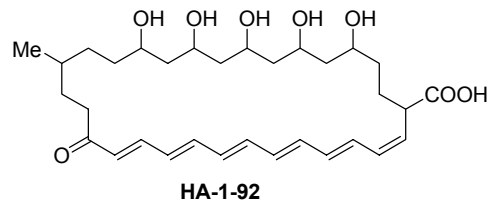
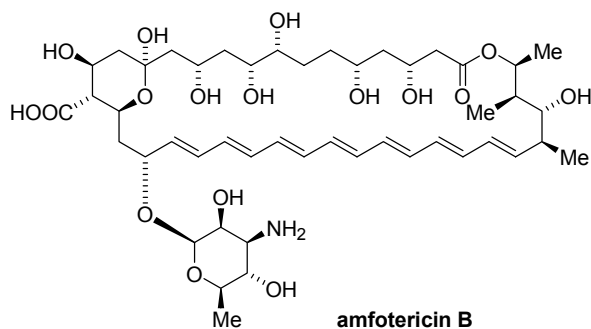
5. Tetracykliny

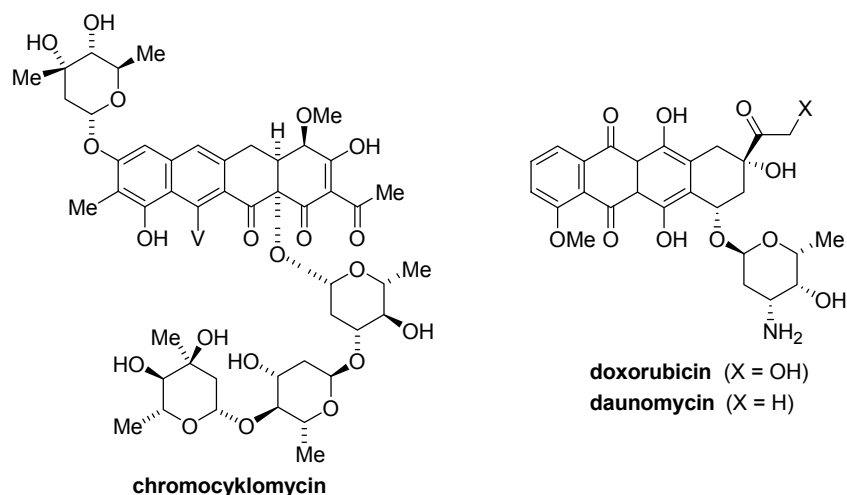
Tetracykliny jsou deriváty naftacenu. Jsou to antibio-



R ¹	R ²	R ³	Název
Cl	Me	H	chlortetracyklin
Cl	H	H	demeclocyklin
H	Me	OH	oxytetracyklin
H	Me	H	tetracyklin

tika se širokým spektrem účinku, zahrnujícím i infekce chlamydiemi, mykoplazmaty a riketsiemi. Tetracykliny, podobně jako mnohé z výše zmíněných typů antibiotik, inhibují syntézu mukopeptidas vazbou na ribosomální podjednotky 30S, a tím způsobují zeslabování vnitřních vrstev buněčné stěny bakterie. Bohužel tetracykliny vykazují i řadu závažných vedlejších účinků. Jejich podávání v období růstu, a to i v prenatalním stadiu, může způsobit deformace kostí a trvalé zbarvení zubů. Jejich absorpci významně snižuje současné podání antacid a mléčných výrobků. Prvním objeveným antibiotikem z této skupiny byl chlortetracyklin (Aureomycin) izolovaný ze *Streptomyces aureofaciens*. Je aktivní proti *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a dalším. Podobné spektrum účinků mají i další tetracykliny, jako např. demeclocylin (demethylchlortetracyklin, Demebronc, Declomycin) ze *S. aureofaciens* či *S. viridofaciens*, oxytetracyklin (hydroxytetracyklin, Terramycin) ze *S. rimosus* či doxycylin (Vibramycin) ze *S. rimosus* cr 1244/u.v.



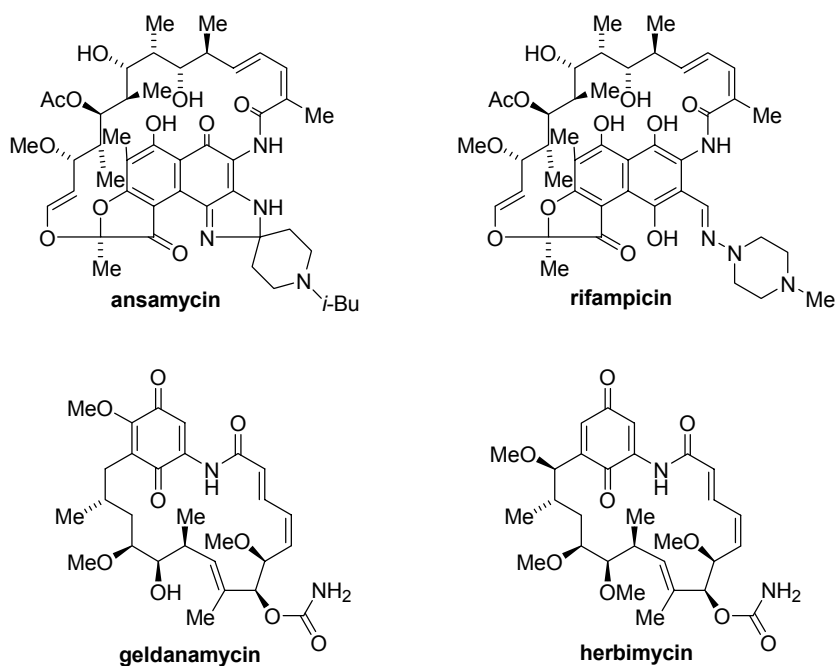


(FERM-p 2581). Velmi populární je tetracyklin (Achromycin) izolovaný ze *S. alboblavus*, *S. viridifaciens*, *S. aureofaciens* a *S. fuscofaciens*.

Aby to nebylo s tou strukturou tetracyklinů tak jednoduché, jak se píše v učebnicích, existují tetracykliny i složitější, konjugované, jako např. chromocyclomycin z kultur *Streptomyces*, (*S. argillaceus*) používaný jako cytostatikum. Ke skupině tetracyklinů se často řadí i anthracyklinová antibiotika, izolovaná ze *Streptomyces peucetius*. Anthracykliny se používají při léčení různých nádorových onemocnění. Významnými zástupci jsou např. doxorubicin a daunomycin (daunorubicin). U tetracyklinových cytostatik se předpokládá, že podstatou jejich účinku je jejich interkalace do DNA.

6. Ansamyciny

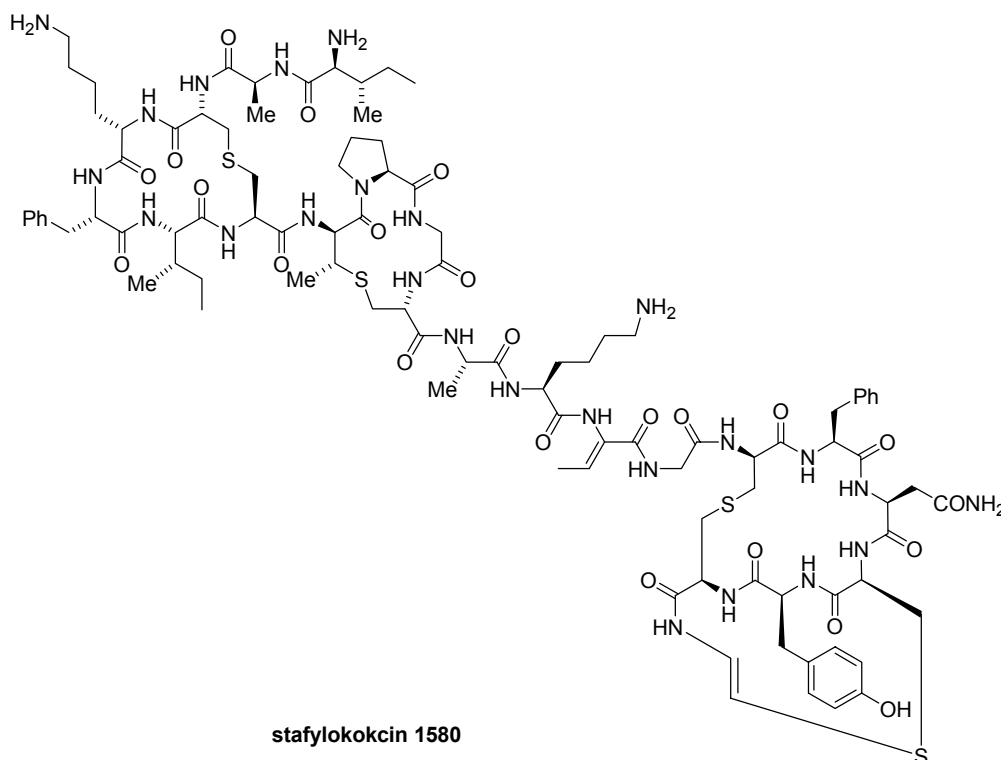
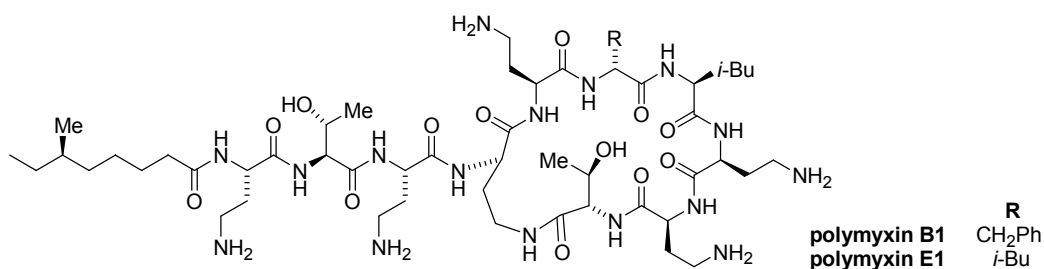
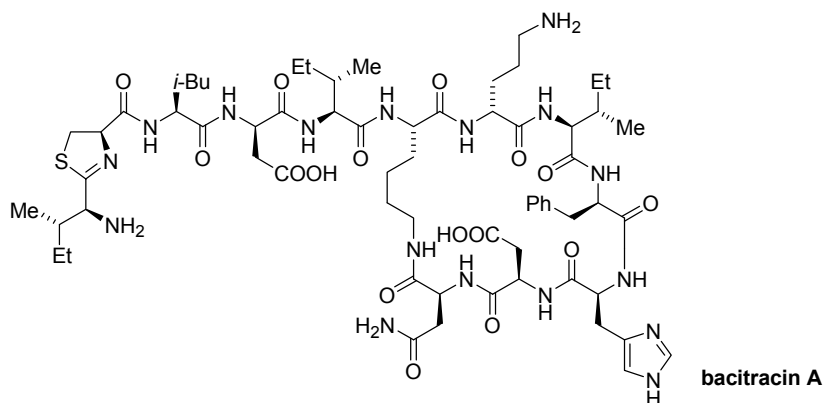
Ansamyciny je skupina antibiotik objevená v *Amycolaptopsis mediterranei*. Kromě ansamycinu sem patří známější rifampicin (rifampin, Rifadin, Rimactane), který je jedním z léčiv první linie proti TBC. Rifampicin se váže k β podjednotce DNA-dependentní RNA polymerasy, a tak inhibuje transkripci genetické informace do RNA a následně i syntézu proteinů u gram pozitivních bakterií a mykobakterií. Zajímavé je, že způsobuje červenooranžovou barvu potu, slz a moči. Geldanamycin a herbimycin, dvě ze šesti antibiotik vyskytujících se ve *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *geldanus* a *S. hygroscopicus* subsp. *duamyceticus*, se testují jako potenciální protinádorová léčiva.



7. Polypeptidy

K antibiotikům patří i některé nízkomolekulární oligopeptidy a proteiny. V jejich strukturách často nacházíme neobvyklé aminokyseliny, jak co se týče konstituce, tak i konfigurace (aminokyseliny řady D); součástí molekul těchto antibiotik bývají i strukturální jednotky, které nejsou

aminokyselinami. Většinou jde o tzv. neribosomální peptidy, což jsou sekundární metabolity peptidů. Nevznikají tedy přímo proteosyntézou probíhající v ribosomech za účasti *m*-RNA. Díky atypickým strukturám bývají peptidová antibiotika poměrně rezistentní vůči účinkům proteolytických enzymů. Všechny níže uvedené polypeptidy ovlivňují různými mechanismy bakteriální cytoplasmatickou

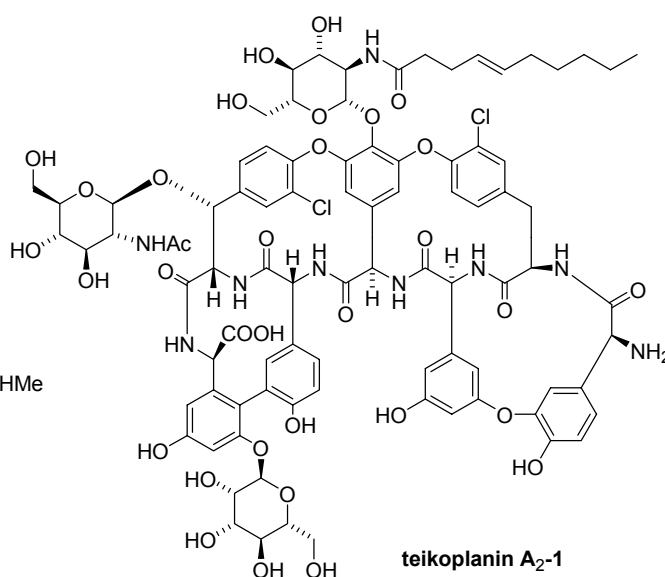
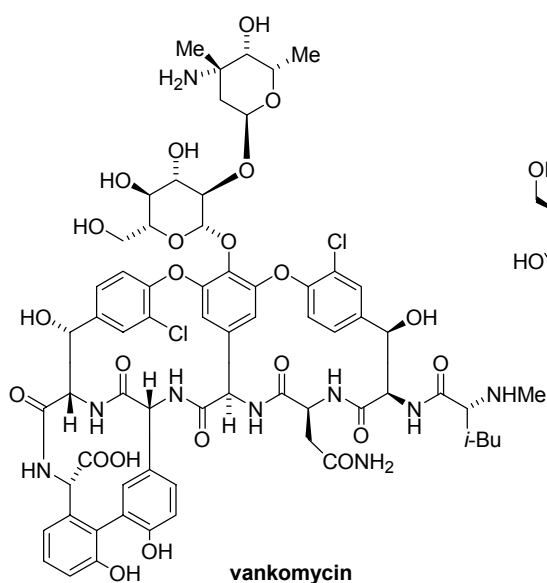


membránu. Používají se především topicky (zvně) a z vnitřních aplikací se uvádí zejména terapie infekcí močového měchýře.

Ze skupiny asi 20 bacitracinů uvádíme bacitracin A z *Bacillus subtilis* a *B. lichenformis*, který má výraznou aktivitu proti *Staphylococcus aureus*. Jeho zinečnatá sůl je součástí známého přípravku Framykoin. Další významnou skupinou polypeptidových antibiotik jsou kolistiny a polymyxiny; oba názvy se často používají jako synonyma. Jako příklad uvádíme polymyxin B1 a polymyxin E1 (colistin A, Colimycin) z *Bacillus polymyxa* ex *Plautia stali*, *B. colistinus* či *B. polymyxa* subsp. *Colistinus*; látka má široké spektrum použití, mj. proti *Klebsiella pneumoniae* a *Proteus vulgaris*. Stafylokokcin 1580 (Epidermin), vyskytující se v *Staphylococcus epidermidis* je aktivní proti grampozitivním bakteriím a *Micrococcus luteus*.

8. Glykopeptidy

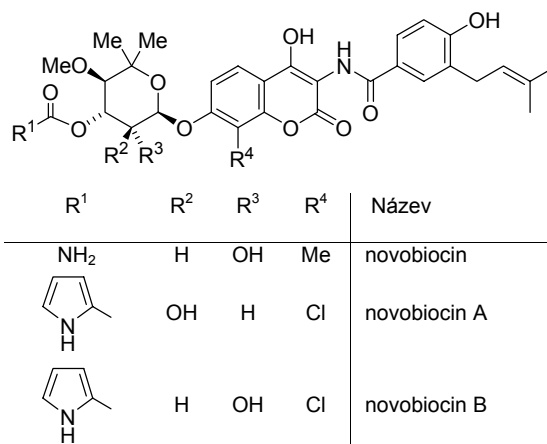
Glykopeptidy lze charakterizovat jako antibiotika, která ve své struktuře obsahují glykosylované neribosomální peptidy (viz předchozí oddíl). Nejznámějším a nejdéle používaným glykopeptidem je vankomycin (Vancocin), jeden ze skupiny 7 přírodních derivátů z kultur *Amycolatopsis orientalis*. Vankomyciny jsou v současnosti vytlačovány teikoplaniny, někdy označovány i jako teichomyciny, z *Actinoplanes teichomyceticus*. Je známo zhruba 15 teikoplaninů lišících se strukturou lipofilního acylu vázaného k dusíku D-glukosaminu; jako příklad zde uvádíme teikoplanin A₂-1 (Targocid). Glykopeptidová antibiotika inhibují tvorbu bakteriální buněčné stěny inhibicí syntézy peptidoglykanů. Glykopeptidy jsou poměrně toxické, a proto se používají jako „drugs of the last resort“ při potlačování závažných a život ohrožujících infekcí způsobených grampozitivními bakteriemi včetně



MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*), *Enterococcus faecalis* apod.

9. Glykosidy

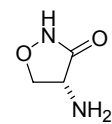
Tato skupina se najisto překrývá s některými individui ostatních skupin, leč čtenáře jistě nepřekvapí fakt, že rozdělení přírodních látek do skupin podle citění organického chemika není vždy snadné. Z antibiotik, v jejichž molekule se nachází glykosidová vazba, uvádíme na prvním místě tzv. aminokumariny. Tato antibiotika – podobně jako fluorované chinolony²³ – účinkují jako inhibitory DNA gyrazy (topoisomerasy II). Novobiocin (Albamycin, Albacycline) izolovaný ze *Streptomyces niveus* je účinným agens proti stafylokokovým infekcím, a to dokonce i v případech MRSA; v současnosti se používá pouze ve veterinární medicíně. Novobiocin A (2562A, 2562-I, chlorobiocin) a novobiocin B (2562-II, 2562-B), jeho diastereomer s opačnou konfigurací na C-4 L-noviosy, oba izolo-



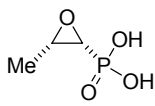
vysoké toxicitě a vedlejším účinkům se používají pouze u pacientů alergických na penicilin a v případě léčby infekcí bakteriemi rezistentními vůči běžnějším antibiotikům. Linkomyciny a od nich odvozený klindamycin jsou někdy řazeny samostatně mezi tzv. linkosamidy.

10. Jiná antibiotika

Cykloserin (D-Cykloserin, Orientomycin) ze *Streptomyces garyphalus* či *S. orchidaceus* a fosfomycin (fosfonomycin) produkovaný různými kmeny *Streptomyces sp.* jsou důkazem, že antibiotika mohou mít i velice jednoduchou strukturu. Obě látky inhibují syntézu peptidoglykanu mureinu, a tím oslabují buněčnou stěnu bakterií. Třebaže spektrum účinků cykloserinu je poměrně široké, je díky své antimykobakteriální aktivitě využíván především k léčbě TBC. Fosfomycin se často používá k léčbě infekcí močových cest. Vzhledem k tomu, že se vůči němu snadno vytváří rezistence, používá se obvykle v jediné dávce.

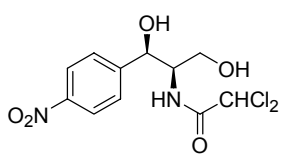


cykloserin

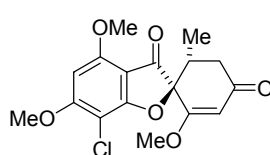


fosfomycin

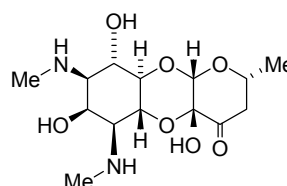
Chloramfenikol (Chloromycetin) původně izolovaný ze *Streptomyces venezuelae* byl prvním synteticky vyrobeným antibiotikem. Po řadu let se používal jako levné a přitom vysoce účinné širokospektrální antibiotikum proti gram pozitivním i gram negativním bakteriím, spirochetám a riketsiím. Chloramfenikol blokuje proteosyntézu inhibicí peptidyl-transferasy v bakteriálních ribosomech. Pro řadu jeho vedlejších účinků, jako je např. aplastická anémie



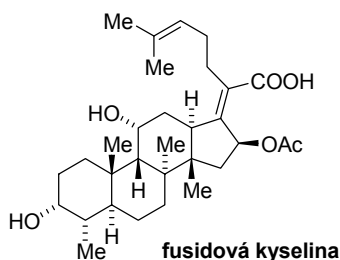
chloramfenikol



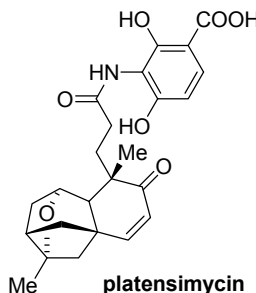
griseofulvin



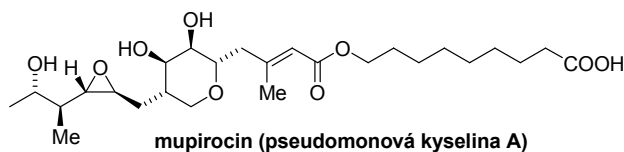
spektinomycin



fusidová kyselina



platensimycin



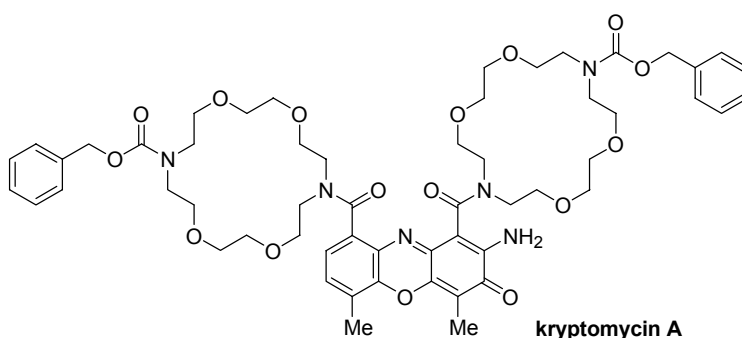
mupirocin (pseudomonová kyselina A)

a poškozování kostní dřeně, se však s výjimkou zemí třetího světa již v současnosti prakticky neužívá. Je rezervován pouze pro velmi závažné případy infekcí, kdy jiná, méně toxická antibiotika, neúčinkují. Chloramfenikol je někdy řazen do samostatné skupiny amfenikolů.

Griseofulvin z *Penicillium griseofulvum* je významné antifungální léčivo. Inhibuje mitózu ovlivněním funkce mikrotubulů během tohoto procesu. Tento mechanismus účinku vybízí rovněž k testování možnosti jeho využití při léčbě rakoviny. Spektinomycin (Actinospectacin, Trobicin) ze *Streptomyces spectabilis* inhibuje syntézu bakteriálních proteinů vazbou na ribosomální podjednotku 30 S. Používá se k léčbě kapavky u pacientů alergických na penicilin.

Mupirocin (pseudomonová kyselina, Bactroban) je směsí několika strukturně příbuzných nonanových kyselin z *Pseudomonas fluorescens*, mezi nimiž převažuje pseudomonová kyselina A (cca 90 %). Všechny pseudomonové kyseliny inhibují proteosyntézu u patogenů. Mupirocin se používá topicky proti gram pozitivním bakteriím; je účinný i proti *Staphylococcus aureus* rezistentnímu proti methicilinu (MRSA).

Fusidová kyselina (Fusidic acid, Fusidinic acid, Fusidin) je jedním ze zhruba 15 steroidních antibiotik z *Fusidium coccineum*, *Calcarisporium antibioticum*, *Isaria kogana* či *Mucor ramannianus*. Tyto látky inhibují syntézu bakteriálních proteinů. Fusidová kyselina se používá především topicky. Ačkoliv je účinná pouze proti gram pozitivním bakteriím (např. typu *Staphylococcus*); je významná její aktivita proti MRSA.



Platensimycin s bezesporu zajímavou strukturou základního hydridu, izolovaný teprve nedávno ze *Streptomyces platensis*, je dosud ve stadiu preklinických studií. Ukazuje se, že je účinný proti grampozitivním bakteriím včetně MRSA.

Perličkou na závěr je kryptomycin A izolovaný ze *Streptomyces rutgersensis*. Kryptomycin A má fungicidní účinky, působí např. proti *Candida albicans*. Lze jen obdivovat, že takový nádherný bis(azacrown) je vytvořen přírodou.

11. Závěr

Zavedení antibiotik do terapie bakteriálních infekcí lze považovat za jeden z největších úspěchů medicíny ve 20. století, který způsobil, že úmrtnost na infekční onemocnění poklesla ze 797 případů v roce 1900 na 36 v roce 1980 (vztaženo na 100 tis. onemocnění). Ovšem počáteční nadšené a často neuvážené podávání antibiotik způsobilo v delším časovém horizontu vzestup četnosti výskytu rezistentních bakteriálních kmenů. Bitva proti patogenním bakteriím tak nikdy neskončí. V současné době je výzkum směřován právě na hledání nových struktur antibiotik na straně jedné a porozumění molekulárnímu mechanismu rezistence na straně druhé. To je ale jiná povídka.

Autoři tímto děkují MŠMT za podporu v rámci výzkumných záměrů č. MSM6046137305 a MSM6046137301 a grantu NAZV ČR č. 71284/2007.

LITERATURA

- Čopíková J., Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 100, 778 (2006).
- Čopíková J., Uher M., Lapčík O., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 99, 802 (2006).
- Lapčík O., Čopíková J., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 101, 44 (2007).
- Řeháková Z., Karlíčková J., Jahodář L.: Chem. Listy 102, 116 (2008).
- Skokanová M., Dercová K.: Chem. Listy 102, 262 (2008).
- Zaoral M.: Chem. Listy 102, 40 (2008).
- Opletal L., Čopíková J., Uher M., Lapčík O., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 101, 895 (2007).
- Laatsch H.: *Antibase 2007: The Natural Product Identifier*. Wiley-VCH, Weinheim 2007.
- Turner W. B., Aldridge D. C.: *Fungal Metabolites*. Academic Press, London 1997.
- Thomson R. H.: *Naturally Occurring Quinones*, Vol. I. Butterworth, London 1957; Vol. II: Academic Press, London 1971; Vol. III: Springer, Heidelberg 1987; Vol. IV, Springer, Heidelberg 1996.
- ACD/Dictionary, součást ACD/ChemSketch*, ver. 11. Advanced Chemistry Development, Toronto 2007.
- Bycroft B. W. (ed.): *Dictionary of Antibiotics and Related Substances*. CRC Press Inc., London 1987.
- Chem. Rev. 105, (2) 391 (2005).
- Von Freudenreich E., Jensen O.: *Centralblatt Bakteriologie. Parasit. Infekt., 2 Abteilung* 3, 545 (1897).
- Jordan E. O.: *J. Exp. Med.* 4, 627 (1899).
- Hejzlar M., Hylmar B., Teplý M., v knize: *Antibiotika*, str. 15. SNTL, Praha 1980.
- Lincová D., Farghali H. (ed.), v knize: *Základní a aplikovaná farmakologie*, str. 429. Galén, Karolinum, Praha 2005.
- Rabišková M., Häring A., Minczingerová K., Havlásek M., Musilová P.: Chem. Listy 101, 70 (2007).
- Zajoncova L., Šebela M.: Chem. Listy 101, 36 (2007).
- Doležal M., Opletalová V., Kešetovičová D.: Chem. Listy 101, 936 (2007).
- Parker P. M.: *The 2007-2012 World Outlook for Synthetic Organic Antibiotics Excluding Preparations*. ICON Group International, Inc., San Diego 2006.
- Katzung B. G. (ed.): *Basic & Clinical Pharmacology, section VIII. Chemotherapeutic Drugs*. McGraw-Hill, New York 2004.
- HAMPL F., Rádl S., Paleček J.: *Farmakochemie*, 2. vyd., kap. 16. Vydavatelství VŠCHT Praha, Praha 2007.
- Kleemann A., Engel J.: *Pharmaceutical Substances, Syntheses, Patents, Applications*. 4. vyd. Thieme, Stuttgart 2001.
- Oh S. R., Lee H. K., Choi S. K., Kim J. I. L.: *Han'guk Nonghwa Hakhoechi* 37, 234 (1994); Chem. Abstr. 122, 314576 (1995).
- Arcamone F., Barbieri W., Franceschi G., Penco S., Vigevani A.: *J. Am. Chem. Soc.* 95, 2008 (1973).
- Fuhrhop J. H., Fritsch D.: *Acc. Chem. Res.* 19, 130 (1986).

F. Hampl^a, J. Moravcová^b, J. Čopíková^c, L. Opletal^d, O. Lapčík^b, and P. Drašar^b (*^aDepartment of Organic Chemistry, ^bDepartment of Chemistry of Natural Compounds, ^cDepartment of Carbohydrate Chemistry and Technology, Institute of Chemical Technology, Prague; ^dDepartment of Pharmaceutical Botany and Ecology, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové*): **Beauty and Diversity of Natural Antibiotics**

The aim of the brief survey of natural antibiotics is to show the importance of this group of renewable materials. The examples of these secondary metabolites which are frequently utilized in human and veterinary medicine demonstrate their structural diversity.

VŠCHT Praha přijme na poloviční úvazek vědeckého pracovníka pro řešení evropského grantu zaměřeného na korozní monitoring v muzeích na Ústav kovových materiálů a korozního inženýrství.

Požadavky:

- VŠ vzdělání přírodovědného nebo technického zaměření,
- základní znalosti o kovových materiálech a korozi,
- znalost anglického jazyka,
- vztah k oboru péče o kulturní památky výhodou.

Nabízíme:

- zajímavé finanční ohodnocení,
- pracoviště v blízkosti metra,
- práci se zahraničními partnery,
- 30 dní dovolené,
- zaměstnanecké výhody (pružnou pracovní dobu, příspěvek na stravování, rekreaci, penzijní připojištění, návštěvu kulturních zařízení).

Nástup: únor 2009
na dobu určitou (12 měsíců) s možností prodloužení

Kontakt: Ing. Milan Kouřil, Ph.D.
milan.kouril@vscht.cz, tel. 220 443 750

SULFAN – DALŠÍ PLYNNÝ HORMON ?

LUBOSLAV STÁRKA

Endokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1
lstarka@endo.cz

Došlo 26.8.08, přijato 11.9.08.

Klíčová slova: sulfan, biosyntéza, katabolismus, cystathionin- β -syntethasa, cystathionin- γ -lyasa, účinek

Obsah

1. Úvod
2. Biosyntéza H₂S
3. Katabolismus H₂S
4. Účinky sulfanu v organismu
 - 4.1. H₂S v CNS
 - 4.2. H₂S a kardiovaskulární systém
 - 4.3. Účinky H₂S na svalstvo
 - 4.4. Účinky H₂S na zánětlivé procesy
 - 4.5. Další účinky H₂S
5. Závěr

1. Úvod

Sulfan H₂S (sirovodík) je dlouho známý jako toxický plyn se zápachem zkažených vajec. O jeho toxikologických účincích víme dlouhá léta a literatura o tomto jeho působení je velmi rozsáhlá (přehled viz cit.¹). Toxické účinky se projevují nejvýrazněji v centrálním nervovém systému a v účinku na respirační funkci.

Důležitým poznáním bylo, že sulfan je produkován také endogenně, takže jeho koncentrace v cirkulaci v potkaním séru dosahují 0–46 $\mu\text{mol l}^{-1}$ a v CNS dokonce 50–160 $\mu\text{mol l}^{-1}$. Sulfan vzniká metabolismem různých sirných sloučenin. Blíže je známa cesta vycházející z L-cysteinu nebo homocysteinu, na které se podílí působení dvou enzymů: cystathionin γ -synthasy (CBS, EC 2.5.1.48), cystathionin β -lyasy (CSE, EC 4.4.1.8). Další cestou je působení 3-merkaptosulfotransferasy (EC 2.8.1.2).

Endogenně produkován sulfan je studován asi dvě desetiletí a poznání jeho fyziologických účinků jej přiřazuje k dvěma dříve známým plyným hormonům, oxidu dusnatému (NO) a oxidu uhelnatému (CO). Zejména o NO se objevilo řada článků o jeho úloze v nečekaných situacích u člověka², ale i o úloze ve fyziologii rostlin³. Sulfan stejně jako NO a CO není ovšem přítomen v organismu

v podobě plynu. Sulfan je slabou kyselinou disociující ve vodných roztocích na kation H⁺ a hydrosulfidový anion HS⁻, který se dále při vyšším pH disociuje na H⁺ a S²⁻. Disociační konstanty jsou $K_{a1} = 1,3 \cdot 10^{-7}$ M a $K_{a2} = 1 \cdot 10^{-19}$ M.



Sulfidový anion není za fyziologických podmínek v organismu, t.j. pH kolem 7,4 prakticky přítomen. Sulfan se dobře rozpouští ve vodě a asi třetina ho zůstává ve vodném roztoku nedisociována. Rozpustnost v lipofilním prostředí je ještě asi pětikrát vyšší než ve vodě. V tom se sulfan podobá dvěma dalším „hormonálním plynům“ NO a CO. Lipofilní charakter všem těmto třem látkám umožňuje přestup přes buněčnou membránu. Vzhledem k částečné disociaci však permeabilita sulfanu je o něco nižší než u NO a CO.

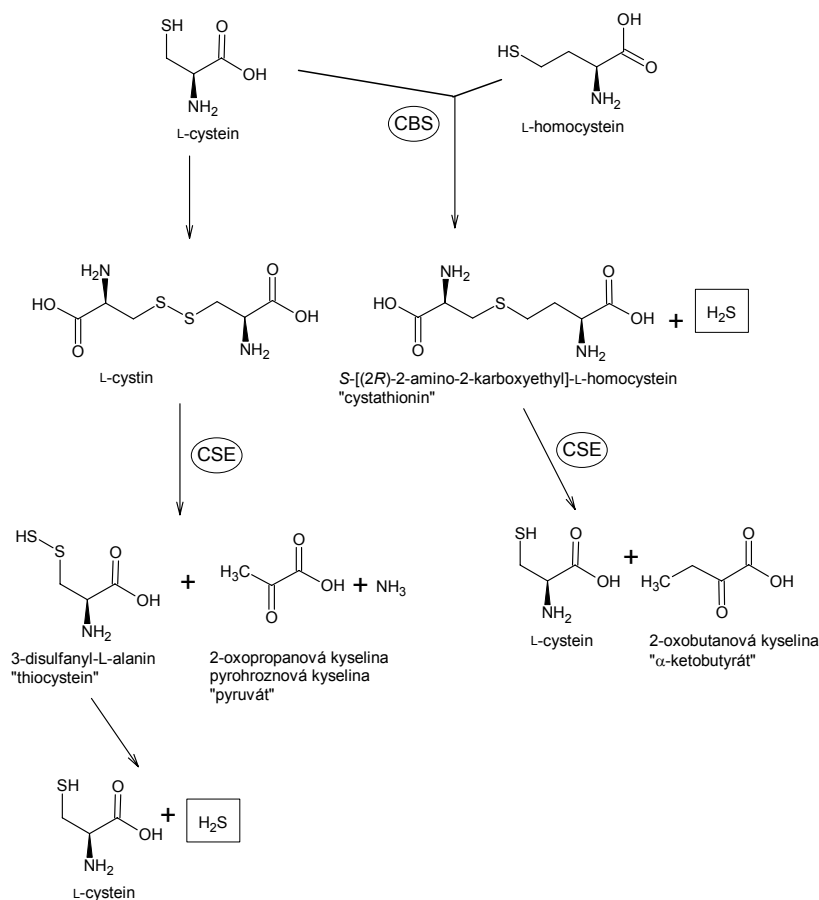
2. Biosyntéza H₂S

Sulfan je endogenně syntetizován a katabolizován enzymovými reakcemi a snad i nějakými neenzymovými reakcemi. Dva hlavní enzymy, které řídí jeho tvorbu v organismu, jsou CBS a CSE (cit.⁴). Tyto enzymy působí rozdílně a různá je i jejich tkáňová distribuce, ale u obou je substrátem pro tvorbu H₂S L-cystein, který je buď alimentárního původu nebo je syntetizován z methioninu nebo uvolňován z endogenních proteinů. Nárys obou hlavních cest biosyntézy H₂S je uveden na schématu 1.

Jinou cestou tvorby H₂S je odstranění atomu síry z cysteinu aniž by byl oxidován. Tento děj může být katalyzován působením 3-merkaptosulfotransferasy, CBS nebo CSE.

CBS i CSE jsou enzymy závislé na pyridoxal-5'-fosfátu. CSE umožňuje konverzi cystathioninu na cystein, ale katalyzuje také degradační eliminační reakce L-homoserinu, L-cystinu a L-cysteinu. CSE je bílkovina o 405 aminokyselinách a strukturně jde o tetramer tvořený dvěma homodimery. CBS obecně katalyzuje substituční reakce mezi L-serinem, L-cysteinem, thioetery cysteinu a dalšími β -substituovanými L-aminokyselinami a některými merkaptany. Lidská CBS je homotetramer sestávající z podjednotek o 63 kDa a vázající pyridoxal-5'-fosfát a hem. Každá podjednotka CBS o 551 aminokyselinách váže dva substráty – homocystein a serin.

Cesta tvorby H₂S působením CSE převažuje v kardiovaskulárním systému, CBS pak v centrálním nervovém systému⁵, tkáňově specifická je i exprese obou enzymů. Jejich aktivita je regulována zpětnou vazbou H₂S, který blokuje CBS i CSE.

Schéma 1. Schéma biosyntézy H₂S

3. Katabolismus H₂S

H₂S je většinou metabolizován na sulfát a thiosulfát oxidačním metabolismem v mitochondriích za spouštěcí účasti glutathionu. Velmi malá část H₂S je methylací v cytosolu konvertována na méně toxické látky jako je methylmerkaptan a dimethylsulfát. Tyto metabolity se vyloučí ledvinami, gastrointestinálním ústrojím a plicemi během 24 h, takže endogenně produkovaný H₂S se za fyziologických podmínek neakumuluje v organismu v míře toxického ohrožení buněk. Další cesta eliminace sulfanu je jeho vazba na hemoglobin, podobně jako je tomu u CO nebo NO. Tři hlavní cesty katabolismu sulfanu jsou uvedeny na schématu 2.

4. Účinky sulfanu v organismu

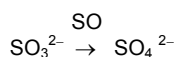
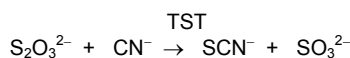
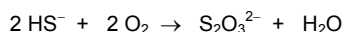
O účincích sulfanu existuje řada dokladů a významný je příspěvek čínských a japonských autorů, z jejichž pera pochází i několik výborných přehledů⁵⁻⁹ a zejména novější přehled Chenův¹⁰.

4.1. H₂S v CNS

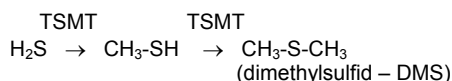
Endogenně je sulfan produkován zejména v některých částech mozku¹¹, hipokampu (obloučkovitém závitě ve spodní části mozku), mozečku a mozkovém kmenu, a to působením CBS za řídicí účasti kalciových iontů a kalmulinu¹². Endogenní sulfan má v mozku fyziologickou funkci a jak se zdá, působí přes *N*-methyl-D-aspartátové (NMDA) receptory. Jiná studie prokazuje, že sulfan může zvyšovat intracelulární kalciové ionty a indukovat kalciovou vlnu v sousedních astrocytech¹³. Může tak zprostředkovávat signál mezi neurony a glii a regulovat synaptickou aktivitu působením jak na neuron, tak na glii. Kromě funkce přenašeče signálu může sulfan plnit také neuroprotektivní úlohu a chránit neurony před oxidačním stresem. Děje se tak jednak zvyšováním koncentrace glutathionu¹⁴, jednak aktivací K⁺_{ATP} a Cl⁻ kanálů¹⁵.

Koncentrace sulfanu v CNS se mění při některých onemocněních mozku. Jeho hladina klesá o více než polovinu u Alzheimerovy nemoci při současném poklesu aktivity CBS¹⁶. Ta je snížena také při homocysteinurii, naopak proti očekávání třikrát zvýšena u Downova syndromu¹⁷.

1) mitochondriální oxidace



2) cytosolová methylace



3) vazba na hemoglobin



Schéma 2. **Katabolismus sulfanu**; TSMT = thiol-S-methyltransferasa (EC 2.1.1.9), TST = rhodanasa (thiosulfát sulfurtransferasa, EC 2.8.1.1), SO = sulfitoxidasa (EC 1.8.3.1)

4.2. H₂S a kardiovaskulární systém

Sulfan je generován také v kardiovaskulárním systému, ale na rozdíl od mozku je cestou jeho vzniku převážně působení CSE^{18,19}. Bohatá exprese CSE byla zjištěna v myokardu i v cévním systému s klesající intenzitou: artérie > aorta > mesenterické artérie. Konkurenční cesta vzniku sulfanu působením CBS v kardiovaskulárním systému hraje jen podřadnou úlohu.

První účinky sulfanu v CNS, které byly publikovány, se týkaly cévní relaxace. Další výzkum ukázal, že jde spíše o působení na hladký sval, nikoli na endotel nebo nervové zásobení cév. Další výsledky v této oblasti poukazovaly na skutečnost, že sulfan zvyšuje relaxační účinek NO. Zhao¹⁹ však potvrdil, že hlavní cílovou strukturou pro molekulární působení H₂S jsou ATP-dependentní K⁺ kanály (K⁺_{ATP}). Vasorelaxační účinek je tedy pravděpodobně umožněn otevřením K⁺_{ATP} kanálů buněk hladkého vaskulárního svalstva a následnou membránovou hyperpolarizací. Sulfan tak omezuje vstup extracelulárních kalciových iontů a relaxuje vaskulární tkáň. V mechanismu vasorelaxačního účinku sulfanu hrají také roli další endoteliální faktory, např. uvolňování oxidu dusnatého. Na rozdíl od oxidu dusnatého nebo oxidu uhelnatého vasodilatace není zprostředkována cGMP signální cestou. Ve shodě s oběma uvedenými signálními plyny NO a CO sulfan inhibuje také proliferaci a apoptózu ve vaskulárním hladkém svalstvu^{20,21} cestou aktivace mitogen-aktivované protein kinasy (MAPK, EC 2.7.11.24) a kapsy 3. H₂S nemá tedy jen vasodilatační účinky, ale působí také jako důležitý regulátor buněčného růstu a ovlivňuje tedy strukturální remodelaci cév.

Dosud byla patofyziologická úloha H₂S zjišťována v experimentu u některých kardiovaskulárních onemocnění jako je spontánní hypertenze²², hypoxií indukovaná^{22,23} nebo průtokem indukovaná^{24,25} plicní hypertenze. Exogen-

ní podání H₂S zde snižovalo krevní tlak a stimulovalo remodelaci cév za současné úpravy koncentrace sulfanu a aktivity CSE. Podání sulfanu vyvolalo také downregulaci exprese genu pro osteopontin a snížilo vaskulární kalcifikaci²⁶ a snižovalo zvýšený plicní arteriální tlak. Exogenní sulfan inhiboval také NO syntasu (EC 1.14.13.39) a stimuloval CO produkci u potkanů s vysokým krevním průtokem plicemi. Můžeme proto pohlížet na H₂S jako na důležitý regulační faktor v řízení krevního tlaku. Některé studie²⁷ upozorňují na skutečnost, že koncentrace endogenního arteriálního sulfanu je významně zvýšena při septickém nebo endotoxinovém šoku.

H₂S také aktivuje K⁺_{ATP} kanály v mitochondriích a myocytech a má mohutný kardioprotektivní účinek²⁸, který byl prokázán i na izolovaných potkaních ventrikulárních myocytech²⁹. V experimentálním modelu ischemie myokardu podání NaHS snižovalo mortalitu a zmenšovalo rozsah infarkce³⁰.

4.3. Účinky H₂S na svalstvo

Narozdíl od vasodilatačního působení, NaHS ve svalstvu vyvolává kontrakci, např. detrusoru močového měchýře potkana³¹. Další pokusy prokázaly, že sulfan stimuluje nervové receptory citlivé na kapsaicin s následným uvolněním tachykininů. Ty pak vyvolávají kontrakci detrusoru. Kromě vlivu NaHS na detrusor byla na morčeti pozorována *in vivo* bronchokonstrikce po podání tohoto sulfidu. Tento mechanismus je součástí dráždění dýchacího systému sulfanem.

4.4. Účinky H₂S na zánětlivé procesy

Poměrně dlouho bylo známo, že proliferace T-lymfocytů je inhibována sirnými termálními vodami přidanými do kultivačního média³². Pozdější studie ukázaly, že působení sulfanu na izolované lidské granulocyty indukuje apoptózu, ale nikoli nekrózu buněk. NaHS zvyšoval přežití granulocytů v kultuře za stresových podmínek v závislosti na dávce NaHS. Zatímco tento příznivý účinek se týkal granulocytů, eosinofily nebyly ovlivněny a u lymfocytů bylo přežívání zkráceno. Sulfan má také jistou roli v zánětu vyvolaném endotoxinem³³. V poslední době byla věnována pozornost hemoragickému šoku a jeho ovlivnění sulfanem³⁴, protože se zdá, že inhibitory CSE by mohly být vhodným příspěvkem k léčbě tohoto život ohrožujícího stavu.

4.5. Další účinky H₂S

Relaxační účinek sulfanu na ileum ukazuje, že tato signální molekula může být součástí řízení kontraktálních funkcí v motilitě střeva³⁵.

Endogenní produkce H₂S a exprese CSE a CBS byly prokázány v acinárních i beta-buňkách pankreatu. Obsah H₂S v pankreatu byl významně zvýšen u diabetických potkanů. V acinárních buňkách i beta-buňkách pankreatu byly po podání NaSH zjištěny zvýšené známky časných stadií apoptózy³⁶.

Prokázána byla tvorba H₂S *in vitro* v kavernózních těliscích penisu a byl proto předpokládán farmakologický proerektivní účinek sulfanu³⁷.

5. Závěr

O sulfanu (H₂S) bylo prokázáno, že je důležitou signální biologickou molekulou endogenního původu. V savčích tkáních je produkován endogenně enzymy CBS a CSE zejména z cysteinu a homocysteinu a hraje důležitou úlohu za fyziologických a patofyziologických podmínek v centrální nervové soustavě, v kardiovaskulárním systému, v hladkém svalstvu a dalších systémech.

Seznam zkratk

CBS	cystathionin- γ -synthasa (EC 2.5.1.48)
CNS	centrální nervový systém
CSE	cystathionin- β -lyasa (EC 4.4.1.8)
MAPK	mitogen-aktivované proteinkinasy (EC 2.7.11.24)
NMDA	<i>N</i> -methyl-D-aspartát
SO	sulfitoxidasa (EC 1.8.3.1)
TSMT	thiol- <i>S</i> -methyltransferasa (EC 2.1.1.9)
TST	rhodanasa (thiosulfatsulfurtransferasa, EC 2.8.1.1)

LITERATURA

- Beauchamp R. J., Bus J. S., Popp J. A., Boreiko C. J., Andjelkovich D. A.: *Crit. Rev. Toxicol.* 13, 25 (1984).
- Stárka L.: *Chem. Listy* 101, 13 (2007).
- Piterková J., Luhová L., Petřivalský M.: *Chem. Listy* 102, 410 (2008).
- Chen X., Jhee K. H., Kruger W. D.: *J. Biol. Chem.* 279, 52082 (2004).
- Wang R.: *FASEB J.* 16, 1792 (2002).
- Tang C. S., Li X. H., Du J. B.: *Curr. Vasc. Pharmacol.* 4, 17 (2006).
- Du J. B., Zhang C. Y., Yan H., Tang C. S.: *Curr. Hypertens. Rev.* 2, 123 (2006).
- O'Sullivan S. E.: *Brit. J. Pharmacol.* 143, 609 (2009).
- Brancalone V.: *Disertace*, str. 97. Università di Napoli Federico II, Napoli 2007.
- Chen C.-Q., Xin H., Zhu Y.-Z.: *Acta Pharmacol. Sin.* 28, 1709 (2007).
- Abe K., Kimura H.: *J. Neurosci.* 16, 1066 (1996).
- Eto K., Kimura H.: *J. Neurochem.* 83, 80 (2002).
- Nagai Y., Tsugane M., Oka J., Kimura H.: *FASEB J.* 18, 557 (2004).
- Kimura Y., Kimura H.: *FASEB J.* 18, 1165 (2004).
- Kimura Y., Dargusch R., Schubert D., Kimura H.: *Antioxid. Redox Signal* 8, 661 (2006).
- Eto K., Asada T., Arima K., Makifuchi T., Kimura H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 293, 148 (2002).
- Ichinohe A., Kanaumi T., Takashima S., Enokido Y., Noqai Y., Kimura H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 338, 1547 (2005).
- Hosoki R., Matsuki N., Kimura H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 237, 527 (1997).
- Zhao W., Zhang J., Lu Y., Wang R.: *EMBO J.* 20, 6008 (2001).
- Yang G., Sun X., Wang R.: *FASEB J.* 18, 1782 (2004).
- Du J. B., Yan H., Cheung Y. F., Geng B., Jiang H. F., Chen X. B.: *Heart Vessels* 19, 75 (2004).
- Yan H., Du J. B., Tang C. S.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 313, 22 (2004).
- Jin H. F., Cong B. L., Zhao B., Zhang C. Y., Liu X. M., Zhou W. J.: *Life Sci.* 78, 1299 (2006).
- Wang Y. F., Shi L., Du J. B., Tang C. S.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 345, 851 (2006).
- Li X. H., Du J. B., Bu D. F., Tang X. Y., Tang C. S.: *Acta Pharmacol. Sin.* 27, 977 (2006).
- Wu S. Y., Pan C. S., Geng B., Zhao J., Yu., Pang Y. Z., Tang C. S., Oi Y. F.: *Acta Pharmacol. Sin.* 27, 299 (2006).
- Yan H., Du J. B., Tang C. S., Geng B., Jiang H. F.: *J. Infect.* 47, 155 (2003).
- Geng B., Yang J., Qi Y., Zhao J., Pang Y., Du J., Tang C.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 313, 362 (2004).
- Pan T. T., Feng Z. N., Lee S. W., Moore P. K., Bion J. S.: *J. Mol. Cell. Cardiol.* 40, 119 (2006).
- Zhu Y. Z., Wang Z. J., Ho P., Loke Y. Y., Zhu Y. C., Huang S. H., Tan C. S., Whiteman M., Lu J., Moore P. K.: *J. Appl. Physiol.* 102, 261 (2006).
- Patacchini R., Santicoli P., Giuliani S., Maggi C. A.: *Eur. J. Pharmacol.* 509, 171 (2005).
- Valitutti S., Castellino F., Musiani P.: *Ann. Allergy* 65, 463 (1990).
- Li L., Bhatia M., Zhu Y. Z., Zhu Y. C., Ramnath R. D., Wang Z. J., Anuar F. B., Whiteman M., Salto-Tellez M., Moore P. K.: *FASEB J.* 19, 1196 (2005).
- Mok Y. Y. P., Atan M. S. B. M., Yoke Ping C. H., Zhong Jing W., Moochhala S., Moore P. K.: *Brit. J. Pharmacol.* 143, 881 (2004).
- Teague B., Asiedu S., Moore P. K.: *Brit. J. Pharmacol.* 137, 139 (2002).
- Cao Y., Adhikari S., Ang A. D., Moore P. K., Bhatia M.: *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 291, C503 (2006).
- Srilatha B., Adaikan P. G., Li L., Moore P. K.: *J. Sex. Med.* 4, 1304 (2007).

L. Stárka (*Institute of Endocrinology, Prague*): **Hydrogen Sulfide – Another Gaseous Hormone?**

Hydrogen sulfide is an important signalling biological compound of endogenous origin. It is produced in mammalian tissues by enzymes β -synthase and cystathionine γ -lyase especially from cysteine and homocysteine. H₂S plays important roles under physiological and pathophysiological conditions in the central nervous and cardiovascular systems, in smooth muscles and other organs.

SOUČASNÝ POHLED NA KOENZYM Q

HANA RAUCHOVÁ a MARTINA VOKURKOVÁ

Fyziologický ústav Akademie věd ČR, v.v.i. a Centrum výzkumu chorob srdce a cév, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4
 rauchova@biomed.cas.cz, martina@biomed.cas.cz

Došlo 5.6.08, přijato 17.7.08.

Klíčová slova: koenzym Q, mitochondrie, bioenergetika, antioxidant, prooxidant, potravinový doplněk

Obsah

1. Úvod
2. Funkce CoQ v mitochondriích
 - 2.1. Součást dýchacího řetězce
 - 2.2. Aktivátor rozpráhujícího proteinu
 - 2.3. Regulátor pórů přechodné permeability
3. Další funkce CoQ v buňce
 - 3.1. Součást redoxních řetězců v plasmatické membráně a lysosomech
 - 3.2. Regulátor fyzikálně-chemických vlastností membrán
 - 3.3. Antioxidační působení CoQ
 - 3.4. Prooxidační působení CoQ
4. Výskyt a biosyntéza CoQ
 - 4.1. Příjem CoQ běžnou dietou
 - 4.2. Vstřebávání CoQ organismem
5. Klinické využití CoQ
 - 5.1. Vývoj a syntéza nových forem přípravků CoQ
 - 5.2. Vývoj nové přípravku, MitoQ
 - 5.3. Klinické studie
 - 5.4. Toxicita a vedlejší účinky podání CoQ
 - 5.5. Možné interakce CoQ s léky
6. Závěr

1. Úvod

Spolu s nezdravým způsobem života v rozvinutých zemích světa stoupá počet vitaminových přípravků i potravinových doplňků, které jsou nám doporučovány ke konzumaci, abychom si pojistili krásu, štíhlou linii či pevné zdraví, a potravinářským a farmaceutickým firmám zajistili jejich dostatečnou produkci s náležitým finančním obratem. Jedním z takovýchto módních potravinových doplňků se stal koenzym Q (CoQ), známý též jako ubichinon (obr. 1). Jeho užívání je nabízeno jako energetický prostředek nepostradatelný pro odstranění únavy, urychlení rekonvalescence či zlepšení výkonu při fyzické zátěži. Je též

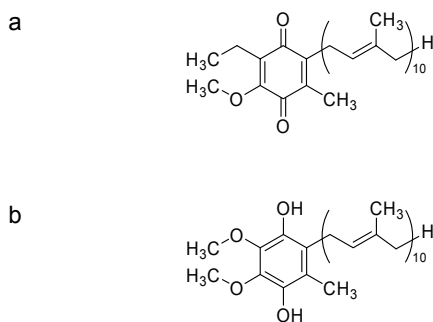
doporučován kardiakům a pacientům s vysokým krevním tlakem i jako látka, která pomáhá při léčbě paradentózy nebo může přispět k odstranění neplodnosti mužů. Další oblastí uplatnění se stala kosmetika, kde je přidáván do krémů jako osvědčený prostředek na odstranění vrásek. Následující stručný přehled je věnován převážně novým informacím, které se objevily v oblasti základního i aplikovaného výzkumu CoQ, a uvádí některé z recentních studií o jeho využití v lékařství.

CoQ, lipofilní benzochinon (u člověka a většiny savců s 10 isoprenylovými podjednotkami v postranním řetězci), je známý od konce 50. let, kdy byl izolován z mitochondrií hovězího srdce a identifikován jako součást dýchacího řetězce¹. S tím souvisí jeho nejdéle známá funkce elektronového přenašeče spojená se syntézou vysokoenergetického substrátu adenosin-5'-trifosfátu (ATP) v dýchacím řetězci². Zjistilo se však, že vnitřní mitochondriální membrána není jediným místem, kde se CoQ nachází. Byl rovněž objeven v ostatních membránách buňky (vnější mitochondriální membráně, Golgiho aparátu, mikrosomech, lysosomech, jádře, plasmatické membráně) i v buněčné cytoplasmě³. S tím je spojeno postupné odhalování jeho dalších buněčných funkcí a předpokládá se, že v blízké budoucnosti budou identifikovány i funkce nové⁴. V mitochondriích zastává CoQ následující funkce:

- je redoxním přenašečem elektronů v dýchacím řetězci²,
- tvoří nezbytný faktor pro aktivaci rozpráhujícího proteinu⁵,
- reguluje póry přechodné permeability⁶.

CoQ dále

- se účastní elektronového přenosu v extramitochondriálních redoxních řetězcích v plasmatické membráně a lysosomech^{7,8},
- reguluje fyzikálně-chemické vlastnosti buněčných membrán^{9,10},



Obr. 1. Strukturální vzorec a) oxidovaného (ubichinonu) a b) redukováného (ubichinolu) koenzymu Q₁₀

- představuje jediný lipofilní antioxidant, který si organismus umí sám syntetizovat¹¹,
- působí rovněž jako prooxidant¹².

2. Funkce CoQ v mitochondriích

2.1. Součást dýchacího řetězce

CoQ tvoří jedinou neproteinovou součást dýchacího řetězce umístěného na vnitřní mitochondriální membráně a je ve stechiometrickém nadbytku k dalším jeho komponentám¹³. Dýchací řetězec se skládá ze čtyř hlavních multiproteinových komplexů, které jsou označovány jako komplex I (NADH-CoQ reduktasa), komplex II (sukcinát-CoQ reduktasa), komplex III (CoQH₂-cytochrom *c* reduktasa) a komplex IV (cytochrom *c* oxidasa). Tyto čtyři komplexy jsou doplněny ATP syntasou (komplex V), reverzibilní protonovou pumpou, která využívá elektrochemický protonový gradient na syntézu ATP. Přesné uspořádání jednotlivých komplexů není dosud definitivně potvrzeno a o jejich fungování (model supermolekulární organizace komponent vs. model náhodné difuze) se vedou neustálé diskuze^{14,15}. Současné poznatky založené převážně na elektroforéze nativních proteinů směřují k hypotéze modelu supermolekulární organizace jednotlivých komponent dýchacího řetězce (respirasomů), protože hlavní enzymové komponenty u mitochondrií (i bakterií) tvoří agregáty, které jsou často poměrně stabilní (např. k působení ultrazvuku)¹⁶. Podobné superkomplexy byly také nalezeny u vyšších rostlin, hub a kvasinek^{17–19}. Druhý popsaný model náhodné difuze založený převážně na kinetických studiích tvrdí, že komplexy jsou náhodně distribuovány v lipidové dvojvrstvě membrány a fungují díky laterální difuzi malých redoxních molekul, CoQ a cytochromu *c* (cit.²⁰). Nelze však vyloučit, že v závislosti na fyziologických podmínkách může elektronový transport v dýchacím řetězci probíhat oběma způsoby: buď formou respirasomů nebo náhodnou difuzí²¹.

Z literatury je zřejmé, že existují velké rozdíly mezi obsahem cytochromů, CoQ a pyridinových nukleotidů v různých organismech i v různých orgánech u stejného druhu². Sledovali jsme obsah a distribuci CoQ v játrech a kosterním svalu krysy a zjistili jsme, že více než 60 % extrahovaného CoQ je v mitochondriální frakci kosterního svalu (3,67 nmol mg⁻¹ proteinu), zatímco u jater bylo v mitochondriální frakci pouze 30 % (1,70 nmol mg⁻¹ proteinu). Nález je ve shodě s relativně vysokým aerobním metabolismem kosterního svalu (a tedy vysokým počtem mitochondrií) ve srovnání s jaterní tkání²².

Vnitřní mitochondriální membrána rovněž obsahuje v menším množství některé další proteiny, např. glycerol-3-fosfát dehydrogenasu (mGPDH), cholin dehydrogenasu, elektrony přenášející flavoprotein dehydrogenasu, dihydroorotát dehydrogenasu či u rostlin a hub alternativní NADH dehydrogenasy². V našich pokusech jsme se věnovali mGPDH, flavoprotein-dependentnímu hydrofobnímu transmembránovému enzymu, který má katalytické centrum na

vnějším povrchu vnitřní mitochondriální membrány. Tento enzym tvoří sice jednu z nejjednodušších větví dýchacího řetězce, ale stále zůstává málo probádanou oblastí. Zajímavostí je, že množství tohoto enzymu se liší v různých tkáních a nejvyšší aktivity dosahuje v mitochondriích létacího svalů hmyzu a hnědé tukové tkáně novorozenců, hibernantů nebo chladově adaptovaných zvířat. Po jednorázovém i dlouhodobém podání hormonů štítné žlázy je aktivita enzymu výrazně zvýšena v játrech^{23,24}. Zjistili jsme, že mGPDH reaguje přímo s polem CoQ²⁵. Přítomnost homogenního poolu CoQ mezi mGPDH a komplexem III potvrdily sigmoidní tvary inhibičních křivek enzymu v přítomnosti inhibitorů komplexu III (antimycinu A a myxothiazolu). V dalších studiích jsme zjistili, že aktivita mGPDH je specificky zvýšena po přidání homologu s krátkým postranním řetězcem, CoQ₃ či analogu idebenonu^{25,26}. Zdá se, že tato aktivace úzce souvisí s odstraněním inhibičního vlivu volných mastných kyselin na tento enzym, což může být způsobeno obsazením CoQ-redukčního místa na mGPDH²⁷. Domníváme se, že by se mohlo jednat o regulaci mGPDH mastnými kyselinami v těsné spolupráci s CoQ.

2.2. Aktivátor rozpráhujícího proteinu

Podobné fungování (spolu s CoQ, mastnými kyselinami a nukleotidy) bylo již popsáno pro funkci rozpráhujícího proteinu v mitochondriích hnědé tukové tkáně⁵. Rozpráhující protein (UCP1), který představuje asi 10 % z proteinů vnitřní mitochondriální membrány hnědé tukové tkáně, řídí energetickou účinnost syntézy ATP, a tím i tvorbu tepla novorozenců, hibernantů a chladově adaptovaných živočichů. Echta a spol.²⁸ popsali obdobný regulační mechanismus i pro další dva rozpráhující proteiny (UCP2 a UCP3), které se nalézají v dalších tkáních a které nejsou specializovány na tvorbu tepla. Přesná fyziologická funkce těchto rozpráhujících proteinů není dosud definována, ale uvažuje se např. o regulaci metabolismu mastných kyselin, sekrece inzulinu nebo produkce volných radikálových sloučenin²⁹.

2.3. Regulátor pórů přechodné permeability

Pro energetickou produkci i metabolickou regulaci jsou esenciální mitochondriální póry přechodné permeability, což jsou multiproteinové komplexy, které ovlivňují průchodnost mitochondriální membrány. Významná je jejich úloha ve vztahu k buněčné smrti. Otevření pórů (např. po akumulaci vápníku nebo kyslíkových radikálů) umožní bobtnání mitochondrií, prasknutí vnější membrány, přerušení tvorby ATP a uvolnění cytochromu *c*. Faktory a mechanismy, které ovlivňují mitochondriální póry přechodné permeability, nejsou stále zcela jasné. Některé exogenně dodané analogy CoQ modulovaly otevření a zavření pórů³⁰. Na základě pokusů (*in vitro* i *in vivo*) s buňkami oční rohovky byla zjištěna antiapoptotická aktivita CoQ³¹.

3. Další funkce CoQ v buňce

3.1. Součást redoxních řetězců v plasmatické membráně a lysosomech

Kromě dýchacího řetězce vnitřní mitochondriální membrány tvoří CoQ součást elektronového transportního systému v buněčné plasmatické membráně⁷. Četné studie potvrdily podíl elektronového transportního systému plasmatické membrány v celé řadě životně důležitých funkcí jako je např. udržování CoQ v redukovaném stavu, kontrola buněčného růstu, diferenciacie a apoptózy^{4,32}. Gille a Nohl⁸ popsali účast CoQ v redoxním řetězci lysosomů, kde usnadňuje přenos protonů přes lysosomální membránu a zajišťuje tím nízké hodnoty pH uvnitř těchto organel pro optimální funkci hydrolytických enzymů nutných pro likvidaci nepotřebných proteinů.

3.2. Regulátor fyzikálně-chemických vlastností membrán

Předmětem diskuse stále zůstává lokalizace molekuly CoQ v biologických membránách. Fluorescenční studie ukázaly, že isoprenylový řetězec je zanořen do vnitřní hydrofobní části lipidové dvojvrstvy, zatímco chinonové jádro je ve vnitřní či vnější polárnější části membrány^{10,33}. Díky této lokalizaci může CoQ regulovat fluiditu (tekutost) a propustnost membrán⁴. Tím je zajišťováno optimální prostředí pro funkci membránově vázaných receptorů, přenašečů a enzymů. Také umístění redukováných molekul CoQ v různých typech liposomů potvrdilo změny fyzikálně-chemických vlastností membránové dvojvrstvy¹⁰. Hauss a spol.³⁴ v pokusech prováděných na neutronovém difraktometru naopak navrhli umístění struktury CoQ uprostřed (paralelně s povrchem) lipidové dvojvrstvy membrány a pohyb jeho molekuly omezili pouze na velmi malé oscilace mezi acylové řetězce membránových fosfolipidů. Mezi těmito dvěma krajními polohami můžeme najít ještě další modely s různým stupněm zanoření molekuly CoQ do lipidové dvojvrstvy³⁵.

3.3. Antioxidační působení

CoQ se může vyskytovat ve třech hlavních redoxních formách: jako plně oxidovaný (CoQ, ubichinon), částečně redukovaný (CoQH[•], semichinon) a plně redukovaný (CoQH₂, ubichinol). Existují však ještě další tři formy CoQ (CoQH⁻, CoQ²⁻, CoQ⁻), které vznikají během redukce oxidovaného CoQ³⁶. Plně redukovaný CoQ je velmi účinný antioxidant. Reprezentuje jediný lipofilní antioxidant, který si organismus sám syntetizuje a který může působit buď přímo anebo nepřímo regenerováním dalších antioxidantů: lipofilního tokoferolu (vitaminu E) i hydrofilního askorbátu (vitaminu C). CoQ udržuje v redukovaném stavu tokoferol, který ve svém redukovaném stavu představuje hlavní ochranné činidlo proti peroxidaci nenasycených mastných kyselin membránových fosfolipidů. Výrazná účinnost antioxidačního působení

CoQ je odvozena od schopnosti CoQ zasáhnout do lipo-peroxidační kaskády jak na jejím začátku, tak i během šíření procesu lipidové peroxidace³⁷. Antioxidační úloha CoQ je připisována např. zlepšená funkce poškozeného endotelu v periferní cirkulaci u pacientů s cukrovkou 2. typu³⁸.

3.4. Prooxidační působení

CoQ má však díky svým oxidoredukčním vlastnostem rovněž důležitou úlohu jako prooxidant při regulaci tvorby superoxidového anionu a H₂O₂³⁹. Plynulá tvorba těchto molekul má nezastupitelné místo v udržování normální buněčné funkce⁴⁰. Superoxidový anion a H₂O₂ vytváří systém druhého posla v regulaci buněčného metabolismu. Svým působením fyziologicky přispívají k regulaci systémů buněčné bioenergetiky, ke kontrole exprese a transkripce genů, k modulaci přeměny bílkovin, ke zprostředkování hormonální i signální odpovědi na faktory stimuluující buněčný růst. Linnane a spol.⁴¹ se domnívají, že nesprávná antioxidační léčba může být dokonce škodlivá, protože poruší křehkou rovnováhu v regulaci vnitřního prostředí. V těchto souvislostech se Linnane a spol.³⁹ snaží objasnit popisovaný vliv CoQ na různé imunitní odpovědi (např. zvýšenou aktivitu fagocytů nebo zvýšené titry protilátka)^{42,43}. Možné vysvětlení je právě ve vztahu CoQ a H₂O₂. Podle jejich představy H₂O₂ hraje roli druhého posla při růstu buněk imunitního systému jako odpověď na působení hormonů a cytokinů, které jsou odpovědné za regulaci buněčné aktivity a růstu.

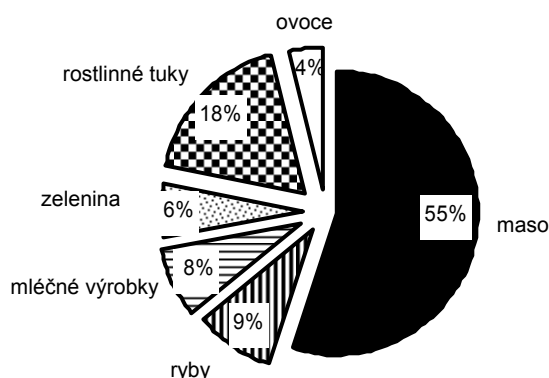
4. Výskyt a biosyntéza CoQ

Výskyt a syntéza CoQ byly postupně potvrzeny téměř ve všech rostlinných i živočišných buňkách⁴⁴. Biosyntéza CoQ *de novo* je složitý komplexní proces, který vyžaduje nejméně 10 genů⁴⁵. Mnoho cenných poznatků bylo získáno ze studií na mutantních kmenech kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*⁴. Velmi zjednodušeně lze říci, že syntéza chinonového jádra vychází z aromatických aminokyselin tyroxinu (nebo fenylalaninu) a syntéza isoprenoidního řetězce vede z acetyl-koenzymu A mevalonátovou drahou přes meziproduct farnesylpyrofosfát, který je společným prekurzorem pro CoQ, cholesterol, dolichol a isoprenylované proteiny. Konečnou část syntézy představuje kondenzace chinonového jádra a isoprenylového řetězce. V organismu je poločas rozpadu CoQ zhruba 50–125 hodin a produkty rozpadu (fosforylované deriváty s krátkým řetězcem) se vylučují močí⁴⁶.

U člověka v prvních třech dekadách života množství CoQ stoupá ve všech orgánech. Jak bylo popsáno u lidí i pokusných zvířat, hladiny CoQ se snižují s věkem⁴⁷. Hlavní formou v plasmě zdravých lidí je redukovaný CoQ⁴⁸.

4.1. Příjem CoQ běžnou dietou

Určitou část CoQ lze též získat dietou. V literatuře bylo publikováno několik studií, které se zabývaly při-

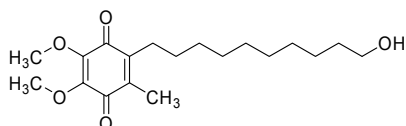


Obr. 2. Dietní příjem koenzymu Q₁₀ u finské populace (upraveno podle Mattila a Kumpulainen⁵⁰)

jmem CoQ potravou. Je evidentní, že nejvíce CoQ obsahuje maso a ryby. Určité množství bylo zjištěno i v rostlinných olejích⁴⁹. Mléčné výrobky, ovoce a zelenina mají jen malé množství CoQ. Obr. 2 ukazuje průměrný příjem derivátu CoQ₁₀ z různých druhů potravin u finské populace⁵⁰. Příjem derivátu CoQ₉ byl řádově nižší a byl převážně získán z cereálií. Studie se velmi dobře shodují ve stanovení denního příjmu CoQ, ačkoli potravinové zvyklosti se jistě mohou významně lišit v různých zemích. Dánští autoři uvádí rozmezí denního příjmu CoQ₁₀ 3–5 mg (cit.⁵¹), Finové 3,8 (ženy) až 5,4 (muži) mg (cit.⁵⁰) a japonští badatelé 4,5 mg (cit.⁵²).

4.2. Vstřebávání přijatého CoQ organismem

Potravou přijatý CoQ se do organismu dostává ze zažívacího traktu podobným způsobem jako vitamin E nebo jiné v tucích rozpustné látky⁵³. V tenkém střevě pomáhají jeho vstřebání žluč a trávicí enzymy pankreatu. Vstřebávání CoQ ze střeva je velmi malé, je odhadováno pouze na 2–4 % (cit.⁵⁴). Obdobně jako další lipofilní látky je CoQ nejdříve inkorporován do chylomikronů (velké lipoproteinové částice), které přenášejí vstřebené tuky ze střeva dále do cirkulace. V krvi je převážně navázán na lipoproteiny s nízkou hustotou nebo s velmi nízkou hustotou (částice LDL a VLDL). Po perorálním podání se zvýší hladina CoQ v krvi asi za 1–2 hodiny a maxima dosahuje za 6–8 hodin⁵⁵.



Obr. 3. Strukturální vzorec idebenonu

5. Klinické využití

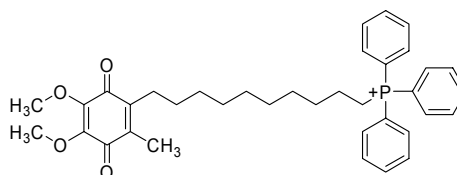
Podle klinických a experimentálních studií podávání CoQ (případně jeho syntetického derivátu idebenonu, obr. 3) vedlo v mnohých případech ke zlepšení zdravotního stavu postižených jedinců^{56,57}. Průkopníky klinických studií s CoQ se stali japonští vědci, kteří provedli své první studie již v 60. letech minulého století. Po dalším čtvrt století byl uveden mezi léčebné preparáty i syntetický derivát CoQ, idebenon, s nižší hydrofobicitou ve srovnání s přirozeným CoQ⁵⁸. Ačkoli podání CoQ či idebenonu může být prospěšné v celé řadě patologických procesů, objevila se i řada důkazů, že analogy CoQ nemohou zcela nahradit přirozený CoQ, protože se při reakcích s různými dehydrogenasami dýchacího řetězce chovají odlišně^{26,59,60}.

5.1. Vývoj a příprava nových forem přípravků CoQ

Sortiment nabízených forem přípravků CoQ se neustále rozšiřuje. Cílem je co nejvíce zvýšit jeho absorpci. Protože CoQ (mol. hmot. 863) je rozpustný v tucích, většina komerčních preparátů obsahuje lipidový přídatek. Na trhu se stále objevují nové lékové formy (např. šumivá, s prodlouženým uvolňováním, rychle rozpustná, želatinové tobolky, žvýkačky) s různým stupněm absorpce v organismu⁶¹. O další zlepšení absorpce se v současnosti pokoušejí i preparáty s biodegradovatelnými nanočásticemi (založenými na kopolymeru kyseliny mléčné), které jsou naplněné CoQ⁶². Obecně platí, že účinnost absorpce klesá s tím, jak se zvyšuje podaná dávka⁶¹. Rovněž preparáty obsahující oba isomery molekuly CoQ (*cis* a *trans*) mohou výrazně ovlivnit míru dostupnosti pro organismus, protože pouze *trans* forma je přirozená a organismem využitelná⁶³. Fermentační výroba, která zajišťuje výrobu *trans* formy, se postupně stala více rozšířená než chemická, kterou se získá směs *cis* a *trans* isomerů. Biotechnologická příprava CoQ využívá řady mikroorganismů, např. *Agrobacterium*, *Rhodobacter* a *Paracoccus* a stále se optimalizuje^{64,65}.

5.2. Vývoj nového přípravku MitoQ

V současnosti se farmaceutický průmysl intenzivně věnuje vývoji nového přípravku, MitoQ (obr. 4), což je vlastně molekula redukovaného CoQ kovalentně vázaná na lipofilní kation trifenylyfosfonan⁶⁶. Struktura MitoQ je schopná selektivně se zabudovat na matrixovou stranu vnitřní mitochondriální membrány tak, že kation trifenyly-



Obr. 4. Strukturální vzorec nově vyvíjeného preparátu MitoQ

fosfonanu zůstává na povrchu a molekula CoQ se zanořuje do membrány. Velmi rychlá akumulace do mitochondrií je řízena mitochondriálním membránovým potenciálem. Cílem terapie těmito preparáty je výrazně zvýšit fyziologickou antioxidační kapacitu u širokého spektra chorob s oxidačním stresem⁶⁷.

5.3. Klinické studie

Snížené hladiny CoQ v organismu byly zjištěny během stárnutí i při mnoha patologických stavech. Změněné hladiny CoQ byly popsány u různých kardiovaskulárních a neurodegenerativních onemocnění, u nemocných s cukrovkou či rakovinou⁶⁸.

Primární nedostatek CoQ způsobuje různé defekty v syntéze ATP a také různý stupeň oxidačního stresu, což vysvětluje velmi různorodý klinický obraz postižení⁶⁹. V některých dobře dokumentovaných případech pacientů s existujícím nedostatkem CoQ je jeho dodání jednoznačně velmi účinné^{70,71}.

Významnou část klinického použití CoQ (stovky publikovaných studií) zaujímá velké spektrum chorob srdce a cév (např. různé srdeční poruchy, infarkt myokardu, angina pectoris, stav po chirurgických zásazích na srdci a cévách, vysoký krevní tlak). Nedávno uveřejněné velké průzkumy ukázaly terapeutické možnosti podání CoQ v dané oblasti. Rosenfeldt a spol.⁷² v meta-analýze klinických testů (statistické zpracování většího počtu srovnatelných studií za účelem integrace výsledků a posouzení efektivity terapeutických zásahů) potvrdili, že užití CoQ snížilo systolický i diastolický krevní tlak. Pepe a spol.⁷³ shrnuli současný stav v oblasti kardiovaskulárních nemocí sice jako velmi nadějný, ale pro konečné potvrzení účinků upozorňují na nezbytnost dalších systematických studií.

Mezi rizikové faktory, které přispívají ke vzniku kardiovaskulárních onemocnění, je řazena také cukrovka 2. typu. Lim a spol.⁷⁴ zjistili, že hladiny CoQ v plasmě asijských pacientů byly přibližně 3× nižší než u zdravých kontrol. Zajímavé zjištění bylo, že převažoval oxidovaný CoQ, zatímco u zdravých jedinců převažuje jeho redukovaná forma. Autoři vysvětlili tyto změny jako reakci organismu na trvalý oxidační stres. Tři měsíce perorálně podávaná dávka (200 mg den⁻¹) doplnila sice chybějící CoQ, ale poměr redukovaného a oxidovaného CoQ se nezměnil. Dodání CoQ však nemělo v této studii žádný vliv na funkci buněčné vrstvy vystýlající vnitřek malých cév (endotelu).

Další velká skupina onemocnění, kde se CoQ uplatňuje jako možný terapeutický prostředek, jsou neurodegenerativní nemoci (desítky publikovaných studií). Galpern a Cudkowicz⁷⁵ shrnuli slibné výsledky s použitím CoQ na zvířecích modelech neurodegenerace (např. amyotrofické laterální skleróze, Parkinsonově či Huntingtonově nemoci).

Pozitivní účinek podání CoQ u parodontálních onemocnění se spíše najde v reklamních letáčích než v odborné literatuře. Poslední dostupné přehledné články doporučují vedle pečlivé hygieny dutiny ústní velmi obecnou antioxidační či multi-vitaminovou doplňkovou léčbu,

kde se mohou uplatnit i CoQ a vitamin E^{76,77}.

Také výzkum, který se týká rakoviny a případných léčebných účinků CoQ, není zatím dostatečný. V literatuře najdeme popsání zlepšení zdravotního stavu pacientů, ale studií je jen velmi málo, aby se mohl posoudit vliv CoQ při tomto onemocnění.

Ani bádání týkající se možných pozitivních účinků CoQ při léčbě mužské neplodnosti není zatím postačující pro potvrzení léčebného účinku, i když skupina italských odborníků se tomuto tématu věnuje již řadu let⁷⁸. Nicméně i zde jsou třeba další systematické studie, které by potvrdily pozitivní vliv podávaného CoQ⁷⁹.

Na otázku vztahu CoQ a stárnutí se zaměřili Sohal a Foster⁸⁰ v přehledném článku. Tito autoři po podání CoQ sice našli vyšší endogenní CoQ v tkáních i mitochondriích, ale nezaznamenali žádný zřetelný rozdíl v aktivitách antioxidační či prooxidační činnosti organismu ani rozdíl v délce života pokusných myší⁸¹.

Velkou oblast uplatnění pro CoQ nabízí dermatologie a kosmetika. CoQ představuje v kůži první antioxidační obranu proti stárnutí pleti vlivem slunečního záření i agresivním škodlivinám z vnějšího prostředí⁸². V přípravcích je CoQ často použitý v kombinaci s dalšími účinnými látkami (např. antioxidanty, jako jsou vitaminy A, C, E), a tím se zvyšuje ochranný účinek přípravků^{83,84}. I pro dermatologické použití se vyvíjejí nanonosiče pro CoQ⁸⁵.

5.4. Toxicita a vedlejší účinky podání CoQ

CoQ je látka tělu vlastní a přirozená, proto se většinou při jeho aplikaci nevyskytují nepříznivé vedlejší účinky ani při dlouhodobém podání. Zhipeng a spol.⁸⁶ zjistili, v tříměsíční studii, že krysy CoQ velmi dobře tolerovaly dávky až do 3000 mg kg⁻¹ den⁻¹. Studie na pacientech postižených amyotrofickou laterální sklerózou, kteří dostávali 8 měsíců 3000 mg CoQ den⁻¹, neodhalila žádné závažnější vedlejší účinky⁸⁷. Přibližně 1 % jedinců si stěžovalo (nezávisle na podané dávce) na některé z následujících problémů: nechutenství, žaludeční obtíže, pálení žáhy, zvracení, průjem, příznaky chřipky, podrážděnost, nespavost, bolest hlavy, závrať, zvýšená citlivost na světlo, kožní vyrážky či svědění⁸⁸. V současné době doporučená denní dávka dietního doplňku pro dospělého člověka se pohybuje mezi 15–100 mg den⁻¹, což představuje několiknásobně vyšší dávku, než je průměrný denní příjem potravou. Léčebné dávky jsou ovšem vyšší: 100 až 200 mg den⁻¹ u srdečních chorob, řádově vyšší u mitochondriálních poruch a nervových nemocí⁵³.

5.5. Možné interakce s léky

Pokud se týká interakce podání CoQ s jinými léky, jsou patrně tři oblasti, které zasluhují větší pozornost. První skupina zahrnuje studie pacientů s léčbou anthracykliny (adriamycin, rubidomycin), velmi účinnými cytostatiky používanými pro široké spektrum nádorů u dětí i dospělých, které způsobují nežádoucí poškození srdečního svalu. CoQ může tomuto poškození zabránit nebo ho alespoň

zmírnit, aniž by snížil chemoterapeutické vlastnosti anthracyklinů⁸⁹. Protože však ne všechny studie potvrdily zlepšení srdeční činnosti, jsou důležité další výzkumy v této oblasti⁹⁰.

Druhá je skupina pacientů s antikoagulační léčbou warfarinem (derivátem kumarinu), nejběžněji předepisovaným prostředkem k léčbě a prevenci trombózy, který tlumí krevní srážlivost tím, že působí proti vitamínu K (derivátu CoQ, menachinonu). Studie se suplementací CoQ vykázaly značně protikladné výsledky: od žádného ovlivnění, přes sníženou odpověď na warfarin, až po zvýšené riziko krvácení⁹¹. Případným komplikacím zabránil častější stanovení trombinového času, které možné poruchy ve srážlivosti krve včas odhalí.

Třetí skupina problematických interakcí zahrnuje statiny, látky snižující cholesterol, které představují jedny z nejprodávanějších léků na světě⁹². Statiny jsou inhibitory 3-hydroxy 3-metylglutaryl koenzym A (HGM-CoA) reductasy, klíčového enzymu přeměny HGM-CoA na mevalonát, společný prekurzor v syntéze cholesterolu i CoQ⁹³. Existují proto doporučení na občasné přerušování léčby statiny a dlouhodobou suplementaci CoQ⁹⁴. Některé studie totiž skutečně ukázaly sníženou hladinu CoQ v krevní plasmě po terapeutickém užívání různých typů statinů. Protože CoQ cirkuluje spolu s lipoproteiny a je tudíž závislý na jejich hladině, bylo by třeba provést standardizaci hladin CoQ na hladiny celkových lipidů a cholesterolu. Další studie by měly potvrdit či vyvrátit oprávněnost suplementace CoQ při léčbě statiny.

6. Závěr

Význam CoQ je nejlépe ilustrován vysokým počtem publikovaných studií. I přes velké množství prací v oblasti základního a aplikovaného výzkumu, zůstává hodně otázek kolem jeho působení v organismu neobjasněno. Protože je CoQ nedílnou součástí buňky a zasahuje do mnoha jejích funkcí, těžko lze definovat jeho přesný léčebný účinek. Nejčastěji se uvažuje o jeho funkci v buněčné bioenergetice a antioxidantních vlastnostech. To je dále komplikováno poměrně širokým spektrem stavů a nemocí, kde byly popsány benefiční účinky po jeho podání. Výhodou CoQ jsou však zanedbatelná toxicita a výborná snášenlivost, která dovoluje provádět další studie. Konečné potvrzení léčebných účinků a jasné vymezení aplikací však dále vyžaduje přesnější znalosti a rovněž správně vedené klinické studie.

Práce byla podpořena výzkumnými záměry AV0Z 50110509 MŠMT.

LITERATURA

- Crane F. L., Hatefi Y., Lester R. L., Widmer C.: *Biochim. Biophys. Acta* 25, 220 (1957).
- Lenaz G., Fato R., Formiggini G., Genova M. L.: *Mitochondrion* 7(Suppl 1), S8 (2007).
- Appelkvist E. L., Kalén A., Dallner G., v knize: *Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q* (Folkers K., Littarru G. P., Yamagami Y., ed.), 141–150. Elsevier Science Publishers, Amsterdam 1991.
- Turunen M., Olsson J., Dallner G.: *Biochim. Biophys. Acta* 1660, 171, 2004.
- Echtay K. S., Winkler E., Klingenberg M.: *Nature* 408, 609 (2000).
- Fontaine E., Ichas F., Bernardi P.: *J. Biol. Chem.* 273, 25734 (1998).
- Sun I. L., Sun E. E., Crane F. L., Morre D. J., Lindgren A., Low H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 11126 (1992).
- Gille L., Nohl H.: *Arch. Biochem. Biophys.* 375, 347 (2000).
- Lenaz G., Samori B., Fato R., Battino M., Parenti Castelli G.: *Biochem. Cell. Biol.* 70, 504 (1992).
- Fiorini R., Ragni L., Ambrosi S., Littarru G. P., Gratton E., Hazlett T.: *Photochem. Photobiol.* 84, 209 (2008).
- Genova M. L., Merlo Pich M., Biondi A., Bernacchia A., Falasca A., Bovina C., Formiggini G., Parenti Castelli G., Lenaz G.: *Exp. Biol. Med.* 228, 506 (2003).
- James A. M., Smith A. J., Murphy M. P.: *Arch. Biochem. Biophys.* 423, 47 (2004).
- Capaldi R. A.: *Biochim. Biophys. Acta* 694, 291 (1982).
- Lenaz G., Genova M. L.: *Am. J. Physiol.* 292, C1221 (2007).
- Genova M. L., Baracca A., Biondi A., Casalena G., Faccioli M., Falasca A. I., Formiggini G., Sgarbi G., Solaini G., Lenaz G.: *Biochim. Biophys. Acta* 1777, 740 (2008).
- Schägger H.: *Biochim. Biophys. Acta* 1555, 154 (2002).
- Eubel H., Heinemeyer J., Sunderhaus S., Braun H. P.: *Plant Physiol. Biochem.* 42, 937 (2004).
- Krause F., Scheckhuber C. Q., Werner A., Rexroth S., Reifschneider N. H., Dencher N. A., Osiewacz H. D.: *J. Biol. Chem.* 279, 26453 (2004).
- Schägger H., Pfeiffer K.: *EMBO J.* 19, 1777 (2000).
- Hackenbrock C. R., Chazotte B., Gupte S. S.: *J. Bioenerg. Biomembranes* 18, 331 (1986).
- Lenaz G.: *FEBS Lett.* 509, 151 (2001).
- Rauchová H., Tsang S. H., Lee C. P., Drahota Z.: *CoQ Res. Biol. Med.* 2, 5 (1994).
- Jolin T.: *Endocrinology* 123, 248 (1988).
- Rauchová H., Zachařová G., Soukup T.: *Horm. Metab. Res.* 36, 286 (2004).
- Rauchová H., Battino M., Fato R., Lenaz G., Drahota Z.: *J. Bioenerg. Biomembranes* 24, 235 (1992).
- Rauchová H., Drahota Z., Bergamini C., Fato R., Lenaz G.: *J. Bioenerg. Biomembranes* 40, 85 (2008).
- Rauchová H., Drahota Z., Rauch P., Fato R., Lenaz G.: *Acta Biochim. Pol.* 50, 405 (2003).
- Echtay K. S., Winkler E., Frischmuth K., Klingenberg M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 1416 (2001).
- Echtay K. S.: *Free Radical Biol. Med.* 43, 1351

- (2007).
30. Walter L., Nogueira V., Leverve X., Heitz M. P., Bernardi P., Fontaine E.: *J. Biol. Chem.* 275, 29521 (2000).
 31. Papucci L., Schiavone N., Witort E., Donnini M., Lapucci A., Tampestini A., Formigli L., Zecchi-Orlandini S., Orlandini G., Carella G., Brancato R., Capaccioli S.: *J. Biol. Chem.* 278, 28220 (2003).
 32. Gómez-Díaz G., Barosso M. P., Navas P.: *Protoplasma* 214, 19 (2000).
 33. Fato R., Bertolli E., Parenti Castelli G., Lenaz G.: *FEBS Lett.* 172, 6 (1984).
 34. Hauss T., Dante S., Haines T. H., Dencher N. A.: *Biochim. Biophys. Acta* 1710, 57 (2005).
 35. Afri M., Ehrenberg B., Talmon Y., Schmidt J., Cohen Y., Frimer A. A.: *Chem. Phys. Lipids* 131, 107 (2004).
 36. Kozlov A. V., Nohl H., Gille L.: *Bioorg. Chem.* 26, 334 (1998).
 37. Bentinger M., Brismar K., Dallner G.: *Mitochondrion* 7(Suppl 1), S41 (2007).
 38. Watts G. F., Playford D. A., Croft K. D., Ward N. C., Mori T. A., Burke V.: *Diabetologia* 45, 420 (2002).
 39. Linnane A. W., Kios M., Vitetta L.: *Mitochondrion* 7 (Suppl 1), S51 (2007).
 40. Linnane A. W., Eastwood H.: *Ann. NY Acad. Sci.* 1067, 47 (2006).
 41. Linnane A. W., Kios M., Vitetta L.: *Biogerontology* 8, 445 (2007).
 42. Bliznakov E. G., Hunt G., v knize: *The Miracle Nutrient Coenzyme Q₁₀*, 1–240. Bantam Books, Toronto 1986.
 43. Gazdík F., Piják M. R., Borová A., Gazdíková K.: *Čas. Léč. Čes.* 142, 390 (2003).
 44. Battino M., Ferri E., Villa R. F., Gorini A., Huertas J. F. R., Fiorella P. C., Genova M. L., Lenaz G., Marchetti M.: *Membr. Biochem.* 9, 179 (1991).
 45. Tran U. C., Clarke C. F.: *Mitochondrion* 7(Suppl 1), S62 (2007).
 46. Bentinger M., Dallner G., Chojnacki T., Swiezewska E.: *Free Radical Biol. Med.* 34, 563 (2003).
 47. Kalén A., Appelkvist E. L., Dallner G.: *Lipids* 24, 579 (1989).
 48. Yamamoto Y., Yamashita S.: *Mol. Aspects Med.* 18, S79 (1997).
 49. Cabrini L., Barzanti V., Cipollone M., Fiorentini D., Grossi G., Tolomelli B., Zambonin L., Landi L.: *J. Agric. Food Chem.* 49, 6026 (2001).
 50. Mattila P., Kumpulainen J.: *J. Food Compos. Anal.* 14, 409 (2001).
 51. Weber C., Bysted A., Hølmer G.: *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 67, 123 (1997).
 52. Kubo H., Fujii K., Kawabe T., Matsumoto S., Kishida H., Hosoe K.: *J. Food Compos. Anal.* 21, 199 (2008).
 53. Bhagavan H. N., Chopra R.K.: *Free Radical Res.* 40, 445 (2006).
 54. Zhang Y., Åberg F., Appelquist E. L., Dallner G., Ernster L.: *J. Nutr.* 125, 446 (1995).
 55. Miles M. V.: *Mitochondrion* 7(Suppl 1), S72 (2007).
 56. Geromel V., Darin N., Chrétien D., Bénéit P., DeLondlay P., Rötig A., Munnich A., Rustin P.: *Mol. Genet. Metab.* 77, 21 (2002).
 57. Rauchová H., Lenaz G.: *Česká Slov. Farm.* 50, 78 (2001).
 58. Zs-Nagy I.: *Arch. Gerontol. Geriatr.* 11, 177 (1990).
 59. Brière J. J., Schlemmer D., Chretien D., Rustin P.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 316, 1138 (2004).
 60. Degli Esposti M., Ngo A., Ghelli A., Benelli B., Carelli V., McLennan H., Linnane A. W.: *Arch. Biochem. Biophys.* 330, 395 (1996).
 61. Bhagavan H. N., Chopra R. K.: *Mitochondrion* 7 (Suppl 1), S78 (2007).
 62. Ankola D. D., Viswanad B., Bhardwaj V., Ramarao P., Ravi Kumar M. N. V.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 67, 361 (2007).
 63. Ikematsu H., Nakamura K., Harashima S., Fujii K., Fukutomi N.: *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 44, 212 (2006).
 64. Choi J. H., Ryu Y. W., Seo J. H.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 68, 9 (2005).
 65. Cluis C. P., Burja A. M., Martin V. J. J.: *Trends Biotechnol.* 25, 514 (2007).
 66. Murphy M. P., Smith R. A. J.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 47, 629 (2007).
 67. Tauskela J. S.: *IDrugs* 10, 399 (2007).
 68. Dhanasekaran M., Ren J.: *Curr. Neurovasc. Res.* 2, 447 (2005).
 69. Quinzii C. M., López L. C., Von-Moltke J., Naini A., Krishna S., Schuelke M., Salviati L., Navas P., DiMauro S., Hirano M.: *FASEB J.* 22, 1874 (2008).
 70. Quinzii C. M., DiMauro S., Hirano M.: *Neurochem. Res.* 32, 723 (2007).
 71. Rötig A., Mollet J., Rio M., Munnich A.: *Mitochondrion* 7(Suppl 1), S112 (2007).
 72. Rosenfeldt F. L., Haas S. J., Krum H., Hadj A., Ng K., Leong J. Y., Watts G. F.: *J. Hum. Hypertens.* 21, 297 (2007).
 73. Pepe S., Marasco S. F., Haas S. J., Sheeran F. L., Krum H., Rosenfeldt F. L.: *Mitochondrion* 7(Suppl 1), S154 (2007).
 74. Lim S. C., Lekshminarayanan R., Goh S. K., Ong Y. Y., Subramaniam T., Sum C. F.: *Atherosclerosis* 196, 966 (2008).
 75. Galpern W. R., Cudkowicz M. E.: *Mitochondrion* 7 (Suppl 1), S146 (2007).
 76. Battino M., Bullon P., Wilson M., Newsman H.: *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 10, 458 (1999).
 77. Munoz C. A., Kiger R. D., Stephens J. A., Kim J., Wilson A. C.: *Compend. Contin. Educ. Dent.* 22, 425 (2001).
 78. Balercia G., Buldreghini E., Vignini A., Tiano L., Paggi F., Amoroso S., Ricciardo-Lamonica G., Boscaro M., Lenzi A., Littarru G. P.: *Fertil. Steril.* (2008).
 79. Patel S. R., Sigman M.: *Urol. Clin. N. Am.* 35, 319 (2008).
 80. Sohal R. S., Foster M. J.: *Mitochondrion* 7 (Suppl 1),

- S103 (2007).
81. Sohal R. S., Kamzalov S., Sumien N., Ferguson M., Rebrin I., Heinrich K. R., Foster M. J.: *Free Radical Biol. Med.* 40, 480 (2006).
 82. Shapiro S. S., Saliou C.: *Nutrition* 17, 839 (2001).
 83. Fuller B., Smith D., Howerton A., Kern D.: *J. Cosmet. Dermatol.* 5, 30 (2006).
 84. Hojerová J.: *Česká Slov. Farm.* 49, 119 (2000).
 85. Teeranachaideekul V., Souto E. B., Junyaprasert V. B., Müller R. H.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 67, 141 (2007).
 86. Zhipeng W., Mingkai L., Shuyu C., Min J., Jingru M., Xue M., Yumei W., Xiaoxing L.: *J. Toxicol. Sci.* 32, 505 (2007).
 87. Ferrante K. L., Shefner J., Zhang H., Betensky R., O'Brien M., Yu H., Fantasia M., Taft J., Beal M. F., Traynor B., Newhall K., Donofrio P., Caress J., Ashburn C., Freiberg B., O'Neil C., Paladenech C., Walker T., Pestronk A., Abrams B., Florence J., Renna R., Schierbecker J., Malkus B., Cudkovicz M.: *Neurology* 65, 1834 (2005).
 88. Hathcock J. N., Shao A.: *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 45, 282 (2006).
 89. Conklin K. A.: *Integr. Cancer Ther.* 4, 110 (2005).
 90. Bryant J., Picot J., Levitt G., Sullivan I., Baxter L., Clegg A.: *Health Technol. Assess.* 11, 27 (2007).
 91. Shalansky S., Lynd L., Richardson K., Ingaszewski A., Kerr C.: *Pharmacotherapy* 27, 1237 (2007).
 92. Hájková M., Kratochvíl B., Rádl S.: *Chem. Listy* 102, 3 (2008).
 93. Langsjoen P. H., Langsjoen A. M.: *BioFactors* 18, 101 (2003).
 94. Langsjoen P. H., Langsjoen J. O., Langsjoen A. M., Lucas L. A.: *BioFactors* 25, 147 (2005).

H. Rauchová and M. Vokurková (*Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic and Centre for Cardiovascular Research, Prague, Czech Republic*): **Recent View of Coenzyme Q**

Coenzyme Q (CoQ), a lipophilic substituted benzoquinone present in all cells. Besides its fundamental role of an electron carrier associated with energy production in the respiratory chain, CoQ has two other functions in mitochondria. It is an essential factor in activation of protein uncoupling and it controls permeability of transition pores. Moreover, it participates in extramitochondrial electron transport in plasma membranes and lysosomes, controls physicochemical properties of membranes, and is the only endogenous lipid antioxidant. Its pro-oxidant role consists in generating the major superoxide radical/H₂O₂ second-messenger system. Biosynthesis of CoQ proceeds in every cell, small amounts of CoQ can be obtained from diet. CoQ is also available as a dietary supplement. It shows minimal toxicity, excellent tolerance, and no significant side effects. Its beneficial effects are largely attributed to its essential role in cellular bioenergetics and antioxidant properties. Supplementation of CoQ can improve conditions of a wide range of pathological states. Some forms of mitochondrial CoQ deficiency respond well to its oral administration. Recent meta-analysis of tests for hypertension is also promising. This review summarizes the current knowledge of the therapeutic efficacy of CoQ in various diseases.

CHOLESTEROL – PŘÍTEL ČI NEPŘÍTEL?

HANA LUBANDA a MAREK VECKA

*Univerzita Karlova v Praze, I. lékařská fakulta, IV. interní klinika, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, U nemocnice 2, 128 00 Praha 2
hlubanda@seznam.cz*

Došlo 7.11.07, přijato 5.11.08.

Klíčová slova: cholesterol, biosyntéza a transport cholesterolu, ateroskleróza, hypercholesterolemie

Obsah

1. Úvod a biomedicínský význam
2. Historické poznámky
3. Biosyntéza cholesterolu
4. Transport cholesterolu v lidském těle
 - 4.1. Absorpce cholesterolu z potravy ve střevě
 - 4.2. Transport cholesterolu v cirkulaci
 - 4.3. Intracelulární pohyb cholesterolu
 - 4.4. Vylučování cholesterolu
5. Regulace na úrovni extracelulárního transportu cholesterolu
6. Regulace intracelulárního obsahu cholesterolu
7. Cholesterol ve zdraví a nemoci
8. Současné možnosti léčby hypercholesterolemie
 - 8.1. Dietní a režimová opatření
 - 8.2. Farmakoterapie
 - 8.3. Extrakorporální aferéza
9. Závěr

1. Úvod a biomedicínský význam

Cholesterol je nejznámější a také jeden z nejdůležitějších sterolů, podskupiny steroidů¹ obsahujících nezaměnitelnou strukturu cyklopentanofenanthrenu a hydroxylskupinu na uhlíku č. 3. Patří k základním strukturním komponentám buněčné membrány a dále představuje m.j. výchozí sloučeninu pro biosyntézu významných signálních molekul – steroidních hormonů, které řídí celou řadu procesů. Steroidní hormony regulují metabolismus minerálů a vody, glukoneogenezi, zajišťují pohlavní diferenciaci, reprodukční funkce a odpověď organismu na stresové reakce. Dále je v lidském těle cholesterol prekurzorem žlučových kyselin, které pomáhají při absorpci živin. 7-Dehydrocholesterol (7-DHC), meziprodukt biosyntézy cholesterolu, je prekurzorem cholekalciferolu (vitaminu D₃), který se uplatňuje v řízení kalcium-fosfátového metabolismu (viz obr. 1). Nedávno byla objevena důležitá úloha cholesterolu v lidské embryogenezi a byla identifikována

řada dědičných metabolických poruch biosyntézy cholesterolu².

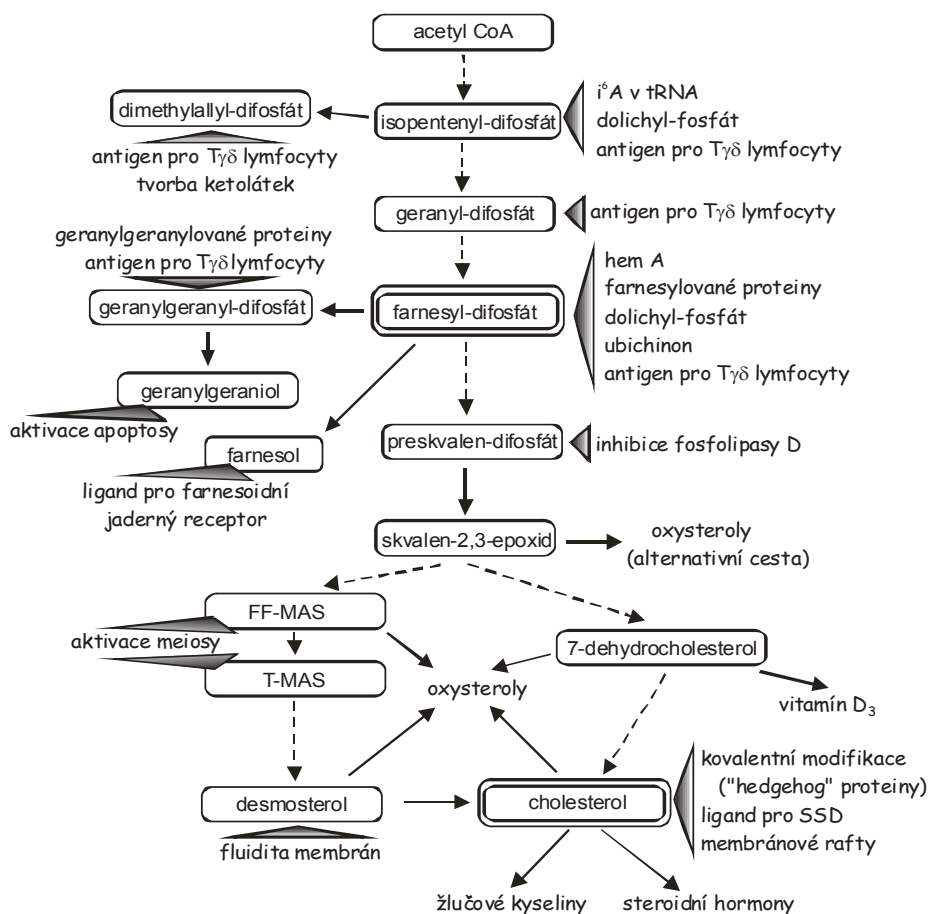
V kontrastu s výše uvedeným však stojí to, že vysoká hladina cholesterolu (hypercholesterolemie), zvláště pak nadbytek LDL frakce, je dnes považován za hlavní příčinu aterosklerózy. Ateroskleróza je onemocnění, které je v rozvinutých zemích vedoucí příčinou úmrtnosti v populaci. Tím si získal cholesterol mimořádnou pozornost nejen lékařů, ale také farmakologického a genetického výzkumu a vešel i do povědomí široké veřejnosti.

2. Historické poznámky

První izolaci látky, kterou bychom dnes nepochybně nazvali cholesterol, můžeme připisat Francouzům Poulletierovi de la Salle (1769) a A. F. de Fourcroy (1789). Oba badatelé popisovali izolovaný produkt jako krystalickou substanci ze žlučových kamenů. Chevreul navrhl pro tuto látku roku 1816 termín „cholesterine“; řecky „chole“ znamená žluč a „steres“ je pevný. Po zjištění, že cholesterolin obsahuje alkoholovou hydroxylskupinu, navrhl Berthelot (1859) změnu názvu sloučeniny na „cholesterol“³.

Cesta k našemu dnešnímu poznání významu a patofyziologické úlohy cholesterolu v lidském organismu byla dlouhá a sahá ještě hlouběji do historie. Britský chemik a filosof Boyle (vzpomeňme Boylův zákon), zjistil v roce 1665, že po jídle se krev zvířat mléčně zakalí. Až o celé století později si Henson všiml, že z této „mléčné tekutiny“ lze získat tuk (1774, cit.³). V roce 1779 Parry publikoval objev, že příčinou anginy pectoris je obstrukční koronární nemoc. Během 19. století se zájem vědců začal více obracet k ateroskleróze, jejíž etiologie a patologický význam byl nejasný. Termín „arteriosklerosa“ poprvé uvedl v roce 1904 Marchand, aby tak popsal poruchu ve struktuře cévních stěn, která začíná v její vnitřní vrstvě. Dále předpokládal, že je příčinou téměř všech obstrukcí v tepnách. V Petrohradě v roce 1908 popsal Ignatowski možnou souvislost mezi dietou bohatou na cholesterol a experimentální aterosklerózou. O dva roky později prokázal Windaus, že aterosklerotické pláty obsahují šestnásobek volného a dvacetinásobek esterifikovaného cholesterolu oproti normální arteriální stěně. Aničkov v roce 1913 vyvolal cholesterolovou dietou aterosklerózu u králíků. Navíc experimentálně prokázal, že stupeň aterosklerotického postižení byl úměrný množství cholesterolu v dietě.

Druhá polovina minulého století přinesla poznatky o metabolismu cholesterolu na molekulární úrovni. V roce 1950 Gofman a jeho kolegové identifikovali pomocí ultracentrifugace lipoproteiny o nízké hustotě (low density lipoprotein, LDL) a lipoproteiny o vysoké hustotě (high density lipoprotein, HDL). Dále popsali pozitivní korelaci mezi zvýšeným zastoupením LDL částic a infarktem myokardu u mužů a také inverzní vztah mezi HDL a rizikem



Obr. 1. Metabolický význam biosyntetické dráhy cholesterolu; FF-MAS – sterol aktivující folikulární meiosis, T-MAS – sterol aktivující testikulární meiosis, SSD – sterol sensing domain (proteinová doména citlivá na steroly), i⁶A – N⁶-isopentenyladenosin v molekule transferové RNA

koronární aterosklerózy⁴. Framinghamská studie (začala v roce 1948 a pokračuje vlastně dodnes s třetí testovanou generací) prokázala, že riziko rozvoje ischemické choroby srdeční je lineárně závislé na hladině cholesterolu v krvi. V roce 1964 obdrželi Bloch a Lynen Nobelovu cenu za medicínu za práci na poznání metabolismu cholesterolu a mastných kyselin (MK). Za soubor prací o LDL receptoru a objasnění etiopatogeneze familiární hypercholesterolemie získali Brown a Goldstein v roce 1985 další Nobelovu cenu.

3. Biosyntéza cholesterolu

Cholesterol se do organismu dostává buď zvenčí – je vstřebáván ze zažívacího traktu, nebo je syntetizován *de novo* z acetyl-CoA. Tento složitý a náročný řetězec více než 20 chemických reakcí je schopna realizovat každá buňka (s výjimkou bezjaderných erytrocytů). Syntéza cholesterolu probíhá ve všech tkáních, ale nejvíce ho vznikne

v játrech, v distální části tenkého střeva a kůži. První část biosyntézy je naznačena na obr. 2a. V posledním stupni biosyntézy cholesterolu se nejprve vytvoří ze skvalenu lanosterol a to oxygenací s následnou cyklizací. Cholesterol vzniká postupně z lanosterolu po aerobním odbourání tří methylových skupin ve formě CO₂ a postupným přesunem dvojné vazby v kruhu B steroidního skeletu. Možných metabolických drah je zde více (viz obr. 2b). Některé meziproducty biosyntézy cholesterolu (desmosterol, lathosterol, kyselina mevalonová) jsou v analytické praxi využívány pro stanovení úrovně biosyntézy cholesterolu⁵.

4. Transport cholesterolu v lidském těle

4.1. Absorpce cholesterolu z potravy ve střevě

V tucích přijímaných potravou se cholesterol vyskytuje jak ve formě volné, tak esterifikované. V trávicím traktu jsou lipidy emulgovány účinkem žlučových kyselin

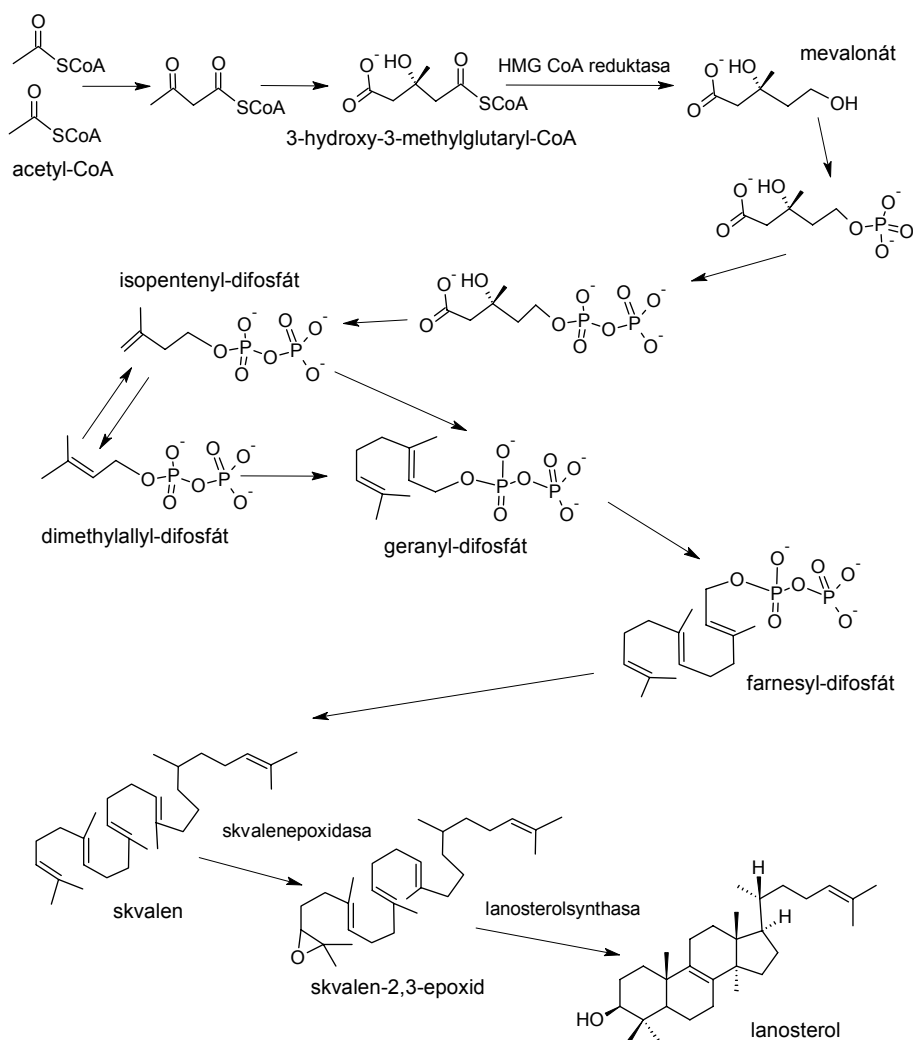
a hydrolyzovány působením lipolytických enzymů pankreatické šťávy. Natrávená směs lipidů spolu se žlučovými kyselinami vytváří ve středním úseku tenkého střeva (jejunu) směsné micely o průměru 3–10 μm . Tyto směsné micely se při styku s kartáčkovým lemem enterocytů postupně rozpadají a jejich součásti se dostávají do bezprostřední blízkosti sliznice střeva (enterocytů). Cholesterol je translokován přes membránu enterocytu receptorovým mechanismem zahrnujícím protein podobný Niemannovu-Pickovu proteinu 1 (NPC1L-1). Žlučové kyseliny jsou později absorbovány v distálnějších úsecích střeva jako součást enterohepatálního oběhu žlučových kyselin.

V enterocyty je cholesterol reesterifikován za katalýzy isoenzymem 2 acyl:cholesterol-*O*-acyltransferasy (ACAT-2), hromadí se spolu s resyntetizovanými triacylglyceroly a fosfolipidy v cisternách endoplasmatického retikula. Asociaci s molekulami bílkovin se vytvářejí

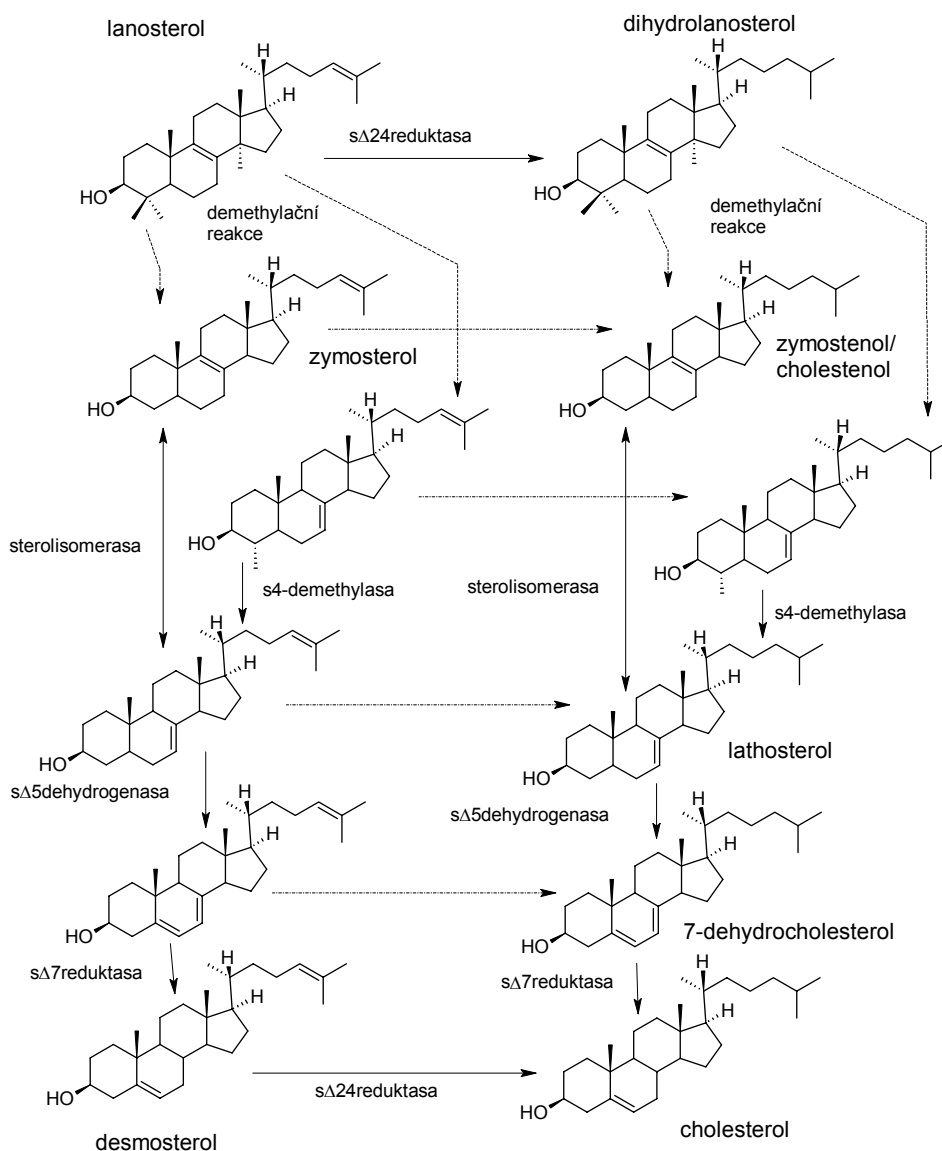
transportní lipoproteinové částice chylomikrony a v nepatrné míře lipoproteiny o velmi nízké hustotě (VLDL). Chylomikrony a VLDL jsou uvolňovány do lymfy. Existuje mnoho faktorů ovlivňujících transport cholesterolu ze střeva do krevního oběhu. Zrychlená střevní pasáž, snížená aktivita pankreatických enzymů a složky potravy, jako je vláknina, nenasycené mastné kyseliny a rostlinné steroly⁶, snižují absorbované množství cholesterolu.

4.2. Transport cholesterolu v krevním oběhu

V lidské plasmě je cholesterol transportován ve formě lipoproteinových částic. Každá lipoproteinová částice se skládá z hydrofobního lipidového jádra [triacylglyceroly (TAG) a estery cholesterolu], které je obklopeno amfifilním obalem z fosfolipidů, volného cholesterolu a apoproteinů. Lipoproteiny se obvykle rozdělují do několika tříd



Obr. 2a. Biosyntéza lanosterolu z acetyl koenzymu A; HMG – 3-hydroxy-3-methylglutaryl



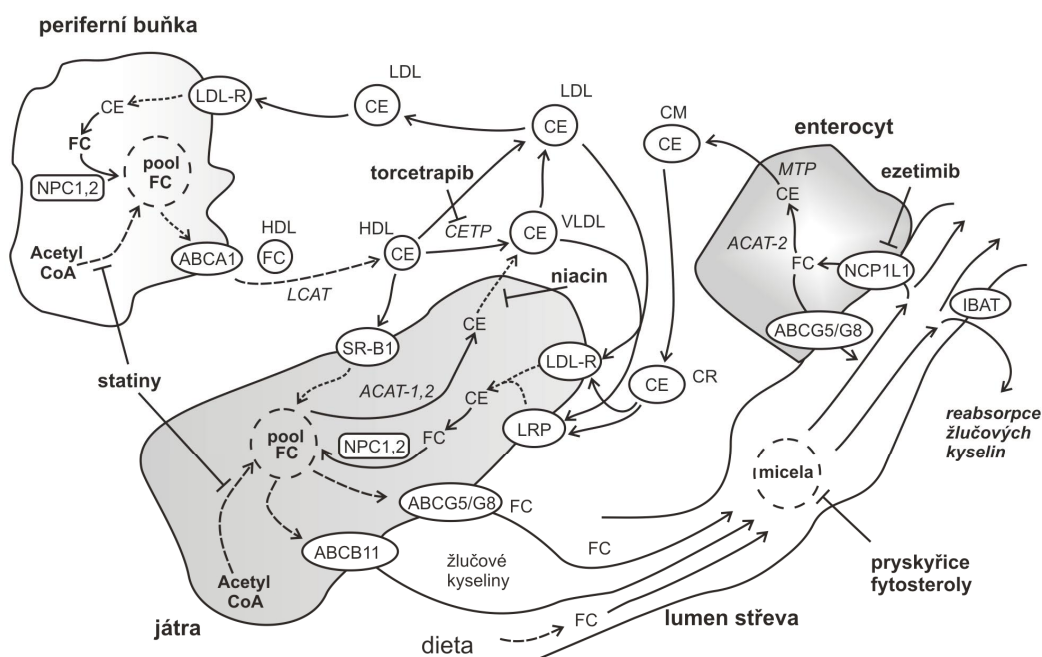
Obr. 2b. Biosyntéza cholesterolu z lanosterolu; s – steroidní, Δn poloha dvojně vazby, kde probíhá redukční reakce

podle hustoty. Čím vyšší je podíl lipidů, tím je nižší hustota částice. V krevní plazmě nalézáme následující třídy lipoproteinů:

Chylomikrony mají nejnižší hustotu a jsou syntetizovány ve střevě. Základní funkcí je transportovat TAG do tkání a cholesterol do jater. Přes *ductus thoracicus* se dostávají z lymfy do plasmy. Chylomikrony se zachycují na receptorech endotelu kapilár (hlavně ve svalech a tukových tkáních) a z fosfolipidů a TAG jsou odštěpeny mastné kyseliny pomocí lipoproteinové lipasy. Zbytky chylomikronů putují do jater.

Lipoproteiny s velmi nízkou hustotou (VLDL) jsou syntetizovány ve střevě a játrech. Resyntetizované TAG v játrech jsou inkorporovány do VLDL a jejich odbourává-

ní je analogické chylomikronům. Lipoproteiny se střední hustotou (IDL) vznikají z VLDL a jsou mezistupněm ke vzniku lipoproteinů s nízkou hustotou (LDL). Ty jsou bohaté na estery cholesterolu a zachycují se na LDL-receptorech v periferních tkáních a játrech. Tím se cholesterol dostává do periferních tkání, kde se při zvýšené dodávce ukládá do aterosklerotických plátů a LDL jsou proto nazývány aterosklerogenním „zlým“ lipoproteinem. Lipoperoxidací nenasycených mastných kyselin vznikají vysoce proaterogenní oxidované LDL (ox-LDL) s vysokou afinitou k makrofágům, které se po záchytu částic ox-LDL mění na pěnové buňky plné cholesterolu a přispívají ke vzniku nestabilního aterosklerotického plátu.



Obr. 3. **Metabolické dráhy cholesterolu u člověka;** ABC – transportér používající ATP, ACAT – acyl-CoA:cholesterol transferasa, CE – cholesteryl ester, CETP – protein přenášející estery cholesterolu, CM – chylomikron, CR – chylomikronový remnant, FC – volný cholesterol, HDL – lipoprotein o vysoké hustotě, IBAT – střevní transportní molekula pro žlučové kyseliny, LCAT – lecitin: cholesterol acyltransferasa, LDL – lipoprotein o nízké hustotě, LDLR – receptor pro částice LDL, LRP – receptor podobný LDL-R, MTP – mikrosomální transferový protein pro triacylglyceroly, NPC – Niemannův-Pickův protein, NPC1L1 – protein podobný Niemannovu-Pickovu proteinu 1, pool FC – metabolický pool volného cholesterolu, SR-B1 – receptor pro částice HDL, VLDL – lipoprotein o velmi nízké hustotě. Podle cit.⁷⁻⁹.

Lipoproteiny s vysokou hustotou (HDL) jsou jediné částice, které jsou schopné efektivně odstraňovat cholesterol ze subendoteliálních prostorů cév a jsou označovány jako antiaterogenní „hodný“ lipoprotein. Vznikají v játrech a enterocytech a interagují s lecitin: cholesterolacyltransferasou (LCAT), která tvoří estery cholesterolu. Ty jsou vyměněny za TAG, vzniká HDL₂, který se zachycuje v játrech. Přehled dějů je znázorněn na obr. 3.

4.3. Intracelulární pohyb cholesterolu

Největší podíl (60–80 %) intracelulárního cholesterolu je obsažen v plasmatické membráně, kde cholesterol tvoří až 40 % všech látek¹⁰. Další významnou část zásob cholesterolu je možné nalézt ve formě cytosolových kapek cholesterolesterů, které jsou tvořeny z volného cholesterolu účinkem isoformy 1 enzymu ACAT; zpětná hydrolyza estery je prováděna neutrálními hydrolasami cholesterolesterů. V membránách endoplasmatického retikula se nachází pod 1 % buněčného obsahu cholesterolu, což umožňuje buňce zjišťovat i malé výkyvy v absolutním množství cholesterolu, a podle toho modulovat aktivitu jak biosyntetických, tak degradačních mechanismů spojených s endoplasmatickým retikulem.

Vstup cholesterolu do buňky

Obecně jsou tyto děje nespecifické, tedy nerozlišují mezi cholesterolem a podobnými molekulami. Cholesterol z diety vstupuje do enterocytu transportním mechanismem závislým na proteinu NPC1L1 (viz kapitola 4.1.). Sterolové molekuly cirkulující v krevním oběhu jako součást lipoproteinů (viz kapitola 4.2.) jsou buňkami přijímány s účastí receptorů pro lipoproteiny, např. pro částice LDL pomocí LDL receptoru a následnou endocytózou, pro HDL pomocí zachycovacího receptoru třídy B typ 1 (SR-B1) bez endocytózy částice.

Osud cholesterolu uvnitř buňky

Nejdůležitější funkcí cholesterolu je modulace vlastností biologických membrán – nejvíce cholesterolu je po případné hydrolyze estery recyklováno zpět do plasmatické membrány, případně uskladněno jako ester. Ve steroidogenních buňkách musí cholesterol projít mitochondriální membránou s přispěním steroidogenního akutního regulačního proteinu (StAR) a periferního benzodiazepinového receptoru (PBR), aby se mohl rozštěpit postranní řetězec a následně vznikly steroidní hormony. Tvorba žlučových kyselin klasickou cestou v hepatocytu je regulována na úrovni 7 α -hydroxylace, která probíhá v endoplasmatickém

retikulu. Alternativní cesta, jež není specifická pro hepatocyt, oproti tomu začíná v mitochondriích, kde je přítomna sterol-27-hydroxylasa (cit.¹¹).

*Exkreční mechanismy na buněčné úrovni*¹²

Buňka se může zbavit přebytečného cholesterolu principiálně třemi odlišnými způsoby:

i) předáním cholesterolu do lipoproteinové kaskády (viz kapitola 4.2.). Hlavním akceptorem cholesterolu jsou částice HDL, ať už při tvorbě nascentních částic pre- β -HDL lipidací apoproteinu apoA-I fosfolipidy a cholesterolem pomocí proteinu ABCA1, při dalším zrání HDL na částice HDL₂, HDL₃ (účinkem ABCG1), nebo v průběhu přenosu volného cholesterolu do zralých HDL (působením SR-B1),

ii) exkrecí cholesterolu transportéry ABCG5/G8 do žluči nebo lumen střeva – tato cesta je používána pouze u enterocytů a hepatocytů,

iii) hydroxylací za vzniku oxysterolů, které fungují také jako signální molekuly. Přítomnost další hydroxyskupiny v molekule způsobí vyšší hydrofilnost a snazší transport. Tato možnost metabolizace cholesterolu je klíčová pro exkreci cholesterolu z mozku, kde je cholesterol konvertován na (24S)-hydroxycholesterol, který přímo prochází přes hematoencefalickou bariéru. Do této skupiny reakcí můžeme zařadit dvojnásobnou hydroxylaci fotolytického produktu 7-DHC, kterou se tvoří 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃.

4.4. Vylučování cholesterolu

Z lidského těla je cholesterol vylučován převážně žlučí jako cholesterol nebo po konverzi v játrech na žlučové kyseliny. Ve žluči jsou nejčastěji zastoupenými žlučovými kyselinami kyselina chenodeoxycholová (45 %) a kyselina cholová (31 %), tzv. primární žlučové kyseliny syntetizované játry. Uvnitř střeva jsou primární žlučové kyseliny konvertovány na sekundární žlučové kyseliny, kyselinu deoxycholovou (z kyseliny cholové) a lithocholovou (z kyseliny chenodeoxycholové). Jak primární, tak sekundární žlučové kyseliny jsou reabsorbovány ve střevě a transportovány zpět do jater. V játrech je karboxylová skupina žlučových kyselin konjugována s glycinem a taurinem před jejich sekrecí do žlučových kanálků. Tento proces sekrece žlučových kyselin z jater do žluči a dále do střeva s následnou reabsorpcí je nazýván enterohepatální cirkulace. Za jeden den je žlučí z lidského těla odstraněn přibližně 1 g cholesterolu. Žlučové kyseliny vykonávají důležité fyziologické funkce: slouží k odstraňování nadbytečného cholesterolu z lidského těla, spolu s fosfolipidy rozpouštějí cholesterol ve žluči a předcházejí srážení cholesterolu ve žlučniku, v tenkém střevě působí jako emulgátory, usnadňují tak trávení a absorpci tuků a lipofilních vitaminů ve střevě.

5. Regulace na úrovni extracelulárního transportu cholesterolu

Biosyntéza a transport cholesterolu jsou v lidském těle přísně regulovány. Velká část cholesterolu je přijímána stravou nebo syntetizována v játrech, menší část si buňky tvoří samy. Buňky se tedy spoléhají na přísun cholesterolu krevním oběhem ve formě lipoproteinových částic.

LDL receptor má za úkol poskytovat buňkám dostatek cholesterolu. Největší množství LDL receptorů najdeme v játrech, gonádách a nadledvinách.

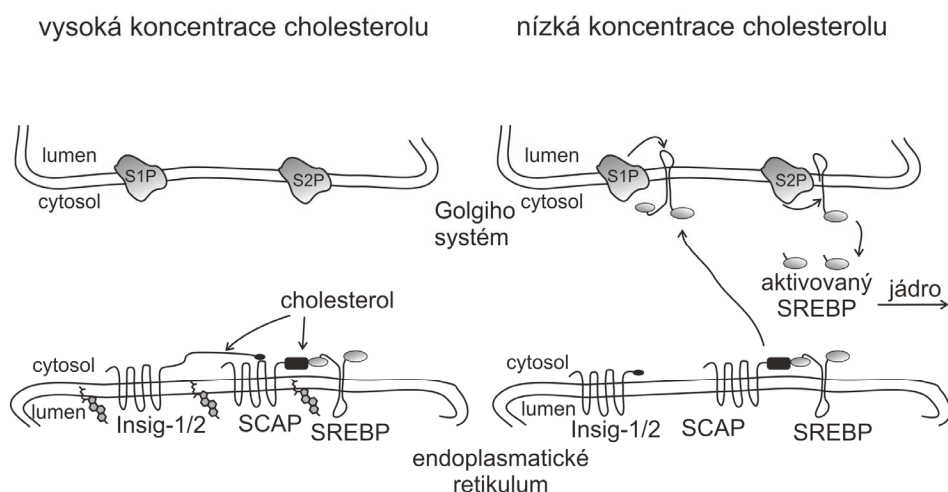
Lecitin:cholesterolacyltransferasa je enzym syntetizovaný v játrech, který se vyskytuje v plasmě v komplexech s lipoproteiny HDL. Enzymovou aktivitou LCAT (a v menší míře ACAT) vznikají prakticky všechny estery cholesterolu. LCAT je odpovědná za přenos mastné kyseliny v poloze *sn*-2 fosfatidylcholinu (lecitinu) na 3 β hydroxyskupinu cholesterolu. Zdrojem cholesterolu pro esterifikaci je volný cholesterol všech buněčných membrán a lipoproteinů (chylomikronů, VLDL, LDL a primárních, „nascentních“ HDL). Zdrojem fosfatidylcholinu jsou především primární HDL, ale i chylomikrony, VLDL a IDL. Jakmile se cholesterol v nascentních HDL esterifikuje, vznikne určitý koncentrační gradient, který přitahuje cholesterol ze tkání a ostatních lipoproteinů. HDL ztrácí hustotu a vzniká HDL₂, který dopravuje cholesterol do jater.

6. Regulace intracelulárního obsahu cholesterolu

Protože cholesterol hraje důležitou roli ve vnitřním metabolismu buňky, musí být jeho intracelulární hladina udržována na konstantní úrovni. Stabilní koncentrace intracelulárního cholesterolu jsou zajištěny několika odlišnými mechanismy.

Mikrosomální 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductasa (HMGR) je hlavní regulační enzym v biosyntéze cholesterolu. Je přítomen v endoplasmatickém retikulu všech buněk, které produkují cholesterol. Jeho nejvyšší aktivitu lze prokázat v játrech, tenkém střevě, gonádách a nadledvinách. Aktivita tohoto enzymu je regulována několika mechanismy. Krátkodobě kovalentní modifikací fosforylačně-defosforylačními reakcemi a dále zpětnovazebnou inhibicí enzymu. Z klinického hlediska zasahují do krátkodobé regulace aktivity HMGR fosforylačně-defosforylačními mechanismy např. hormony zajišťující homeostázu cukrů – glukagon a inzulin. Glukagon zvýšením cAMP inhibuje syntézu cholesterolu a inzulin vede snížením cAMP ke stimulaci syntézy cholesterolu.

Dlouhodobá regulace HMGR se děje řízením genové exprese a rychlosti degradace enzymu. Hladina cholesterolu v buňce (přesněji vzato v endoplasmatickém retikulu) reguluje transkripci genů kódujících enzymy zodpovědné



Obr. 4. **Regulace genové exprese hladinou cholesterolu v endoplasmatickém retikulu;** molekuly cholesterolu brání disociaci komplexu SCAP:SREBP z membrány endoplasmatického retikula tím, že podporují jeho kotvení proteinem INSIG. Při nízké hladině cholesterolu komplex disociuje a v Golgiho systému je protein SREBP postupně štěpen dvěma proteasami S1P a S2P. Výsledný produkt putuje do jádra, kde vazbou na příslušné sekvence podporuje transkripci. Zkratky: SCAP – protein aktivující štěpení proteinu SREBP, SREBP – protein vázající se na sterolový řídicí element řetězce DNA. Podle cit.^{13,14}

za biosyntézu cholesterolu a genů kódujících syntézu LDL receptorů (viz obr. 4).

Zpětnovazební inhibice HMGR indukovaná cholesterolem je umožněna vazbou cholesterolu k doméně reagující na steroly (sterol sensing domain) ve struktuře HMGR. Tím je inhibována aktivita enzymu, ale také stoupá rychlost jeho degradace. HMG-CoA reduktasa je po ubiquitinaci degradována v proteasomech (multiproteinové komplexy určené k odbourávání bílkovin).

7. Cholesterol ve zdraví a nemoci

Příjem cholesterolu z vnějšku je dnes značně různorodý v závislosti na dietních zvyklostech daného jedince. Během evoluce se u člověka pravděpodobně několikrát významně změnily stravovací zvyklosti a příjem cholesterolu. V současnosti je možné rozlišit dva dietní extrémy: lakto-ovo-vegetariány (bez mléka a vajec) se silně redukováným příjmem exogenního cholesterolu (až na 60 mg/den) a dietu bohatou na cholesterol u všežravců (300 až 700 mg/den). Játra a střevo jsou významnými producenty cholesterolu. Denně je v lidském těle játry syntetizováno přibližně 500 mg cholesterolu, u osob s nízkým příjmem cholesterolu potravou produkují játra až 800 mg cholesterolu.

Také buněčné potřeby jsou značně variabilní v závislosti na stadiu vývoje organismu a typu tkáně.

Vybrané patologické stavy spojené s poruchami homeostázy cholesterolu

a) Hypercholesterolemie a ateroskleróza

Pro aterosklerózu je charakteristické ukládání cho-

lesterolu z lipoproteinů do pojivových tkání arteriálních stěn. Choroby, u nichž jsou dlouhodobě zvýšené hladiny VLDL, IDL a LDL v krvi (primární dyslipidémie genetiky podmíněné či sekundární dyslipidémie – např. diabetes mellitus, lipidní nefróza, hypotyreóza), jsou často provázány předčasnou nebo velmi závažnou aterosklerózou.

Dnes doporučený cílový limit pro celkovou hladinu cholesterolu v séru $5,2 \text{ mmol l}^{-1}$ je daleko vyšší než sérové hladiny cholesterolu u volně žijících primátů ($3,25 \text{ mmol l}^{-1}$), kteří mají pravděpodobně stejné průměrné hodnoty cholesterolu jako naši předci. Přestože mnozí pacienti mají hladinu celkového cholesterolu pod dnes doporučeným limitem, rozvine se u nich ischemická choroba srdeční a následně infarkt myokardu. To pravděpodobně, mimo jiné, povede k přehodnocení a opětovnému snížení limitu cholesterolu.

b) Neurodegenerativní onemocnění a poruchy metabolismu cholesterolu Alzheimerova choroba (ACH)

Je nejznámější neurodegenerativní onemocnění mozku, při kterém se postupně rozvíjí demence. Odhaduje se, že postihuje více než 15 milionů lidí na světě. Stárnoucí mozková tkáň postupně ztrácí schopnost odstraňovat toxický beta-amyloid, který je vedlejším produktem normální neuronové aktivity.

Bylo prokázáno, že hladina cholesterolu ovlivňuje tvorbu beta-amyloidu, ačkoliv molekulární mechanismus vztahu mezi poruchou homeostázy cholesterolu a ACH zůstává nejasný. Vysoká plasmatická koncentrace cholesterolu a přítomnost apo E isoformy E4 jsou rizikovými faktory pro rozvoj ACH. Podávání statinů (viz kapitola

8.2.), jako prevence kardiovaskulárních onemocnění, může působit také preventivně na pozdně počínající Alzheimerovu chorobu, nejčastější formu tohoto onemocnění. Pravděpodobným mechanismem účinku statinů by mohla být stimulace mozkových endoteliálních buněk k tvorbě LRP1 (low-density lipoprotein receptor-related protein 1), který řídí vylučování beta-amyloidu^{15,16}.

Smithův-Lemliho-Opitzův syndrom (SLO syndrom)

Nízké hladiny cholesterolu mohou mít nepříznivé účinky na lidský organismus, protože cholesterol je nezbytný pro řadu metabolických dějů (obr. 1). Typickým příkladem nedostatku cholesterolu jsou geneticky podmíněné defekty v biosyntéze cholesterolu. Mezi nejčastější patří SLO syndrom s odhadovanou incidencí ve středoevropském prostoru okolo 1/20000 – 1/10000. Tento syndrom je autosomálně recesivně dědičné onemocnění způsobené nedostatkem 7-DHC reductasy. Je charakterizováno mentální a růstovou retardací, poruchami chování (autismus, opakované sebepoškozování, stereotypní pohyby, poruchy spánku), kraniofaciálními malformacemi, mužským pseudhermafroditismem a končetinovými anomáliemi¹⁷. V séru nacházíme těžkou hypocholesterolemii a akumulaci 7-DHC, která je patognomická pro onemocnění. Je zajímavé, že u krysu, kterým byly podávány inhibitory 7-DHC reductasy, bylo možné současným podáváním stravy bohaté na cholesterol obnovit normální fenotyp, což vedlo k návrhu, že nedostatek cholesterolu je hlavní příčinou SLO syndromu¹⁸. Přímá role 7-DHC nebo jeho oxidovaných derivátů není dodnes jasná^{19–21}. Současná taktika léčby spočívá v suplementaci cholesterolu dietou, čímž se zvyšuje plasmatická koncentrace cholesterolu²².

Huntingtonova choroba (HCH)

Huntingtonova choroba je autosomálně dominantně dědičné neurodegenerativní onemocnění, které je způsobeno zvýšeným počtem trinukleotidových sekvencí (CAG) v genu pro bílkovinu huntingtin. Nemoc se projevuje progresivní degenerací striata (součást bazálních ganglií, uložená v subkortikální části mozku). Klinické příznaky se nejčastěji manifestují okolo 30.–45. roku života; jsou to hyperkinézy, atetózy, psychické poruchy, poruchy chůze, demence. Léčba není známa. Nedávné nálezy podporují teorii, že při tomto onemocnění hraje také roli porucha biosyntézy cholesterolu. U pacientů s Huntingtonovou chorobou a na myších modelech byly prokázány významně snížené koncentrace klíčových mRNA genů pro biosyntézu cholesterolu. Dále v mozcích transgenních myší R6/2 progresivně klesají hladiny prekurzorů biosyntézy cholesterolu (lathosterol, lanosterol) a klesá aktivita HMGR již v presymptomatickém stadiu onemocnění²³.

c) Poruchy chování, sebevražedné tendence a hypocholesterolemie

Během posledních let byla publikována řada prací zabývajících se existencí vztahu mezi hypocholesterolemií a psychickými poruchami (depresivitou, násilím a sebevražedností) s protichůdnými výsledky. Nejčastěji zmiňova-

ným vysvětlením tohoto vztahu je Engelbergova hypotéza z roku 1992, podle které změny koncentrace cholesterolu v plasmě mohou ovlivňovat množství cholesterolu v plasmatických membránách, jejich viskozitu a následně serotoninergní transmisí²⁴. Nicméně publikované studie sledující metabolismus serotoninu v mozkomíšním moku nenalezly vztah mezi hladinami cholesterolu a metabolity serotoninu²⁵. Již delší dobu se spekuluje o tom, že také nedostatek vícenenasycených mastných kyselin řady n-3 a stoupající spotřeba cukrů při změně dietních zvyklostí by se mohly podílet na nárůstu depresivity a suicidalit²⁶.

8. Současné možnosti léčby hypercholesterolemie

Léta 50. a 60. minulého století byla obdobím rozsáhlé diskuse o příčinách vzniku aterosklerózy. Na jedné straně stál „klasický“ názor, že toto onemocnění je neoddelitelnou součástí stárnutí, na straně druhé stála takzvaná „lipidová hypotéza“, která postulovala hlavní roli lipidů, často zjednodušeně cholesterolu, v procesu aterosogeneze. Velké studie na základě dietních opatření i lékových intervencí postupně shromáždily důkazy pro lipidovou hypotézu, která je v hlavních rysech platná dodnes.

8.1. Dietní a režimová opatření

Mezi základními kroky v léčbě hypercholesterolemie je nezbytné na začátku zmínit dietní a režimová opatření. Přestože jejich možnosti jsou limitované, hlavní výhodou zůstává, že jde o přirozenou formu regulace hladiny cholesterolu a jiných lipidů v lidském těle. Hlavním cílem v léčbě hypercholesterolemie je nejen normalizace laboratorních parametrů, ale především snížení kardiovaskulárního rizika. Denním vyloučením 200 mg cholesterolu z diety se sníží celkový cholesterol v krvi přibližně o 0,13 mmol l⁻¹ (cit.²⁷). V průměru bývá dietními opatřeními dosaženo snížení celkového cholesterolu po 6 měsících intervence o 5,3 % (cit.²⁸). Krátkodobě lze intenzivní dietou dosáhnout maximálního poklesu celkového cholesterolu o přibližně 10–20 % a to pouze u 20–40 % zúčastněných²⁹.

Pozitivní vliv na koncentrace sérového cholesterolu mají mastné kyseliny. Je známo, že nahrazení nasycených mastných kyselin nenasycenými vede ke snížení hladin cholesterolu v séru a působí velmi prospěšně^{30–32}. Přestože alkohol obecně u pacientů s hyperlipoproteinémií není doporučován, byla v roce 1997 publikována v USA studie sledující vliv pití malého množství alkoholu (100–200 ml vína denně), která prokázala pokles celkového a LDL cholesterolu provázený vzestupem koncentrace HDL cholesterolu. Tyto změny byly dále provázeny snížením výskytu kardiovaskulární morbidit a mortality^{33,34}.

Celou řadou klinických studií byl dále prokázán pozitivní vliv pravidelné fyzické aktivity na lipidové spektrum urychlením katabolismu lipoproteinových částic a zvýšením aktivity lipoproteinové lipasy. Nejčastěji bývá zmiňován vzestup koncentrace HDL cholesterolu spojeného

s poklesem koncentrací celkového a LDL cholesterolu³⁵.

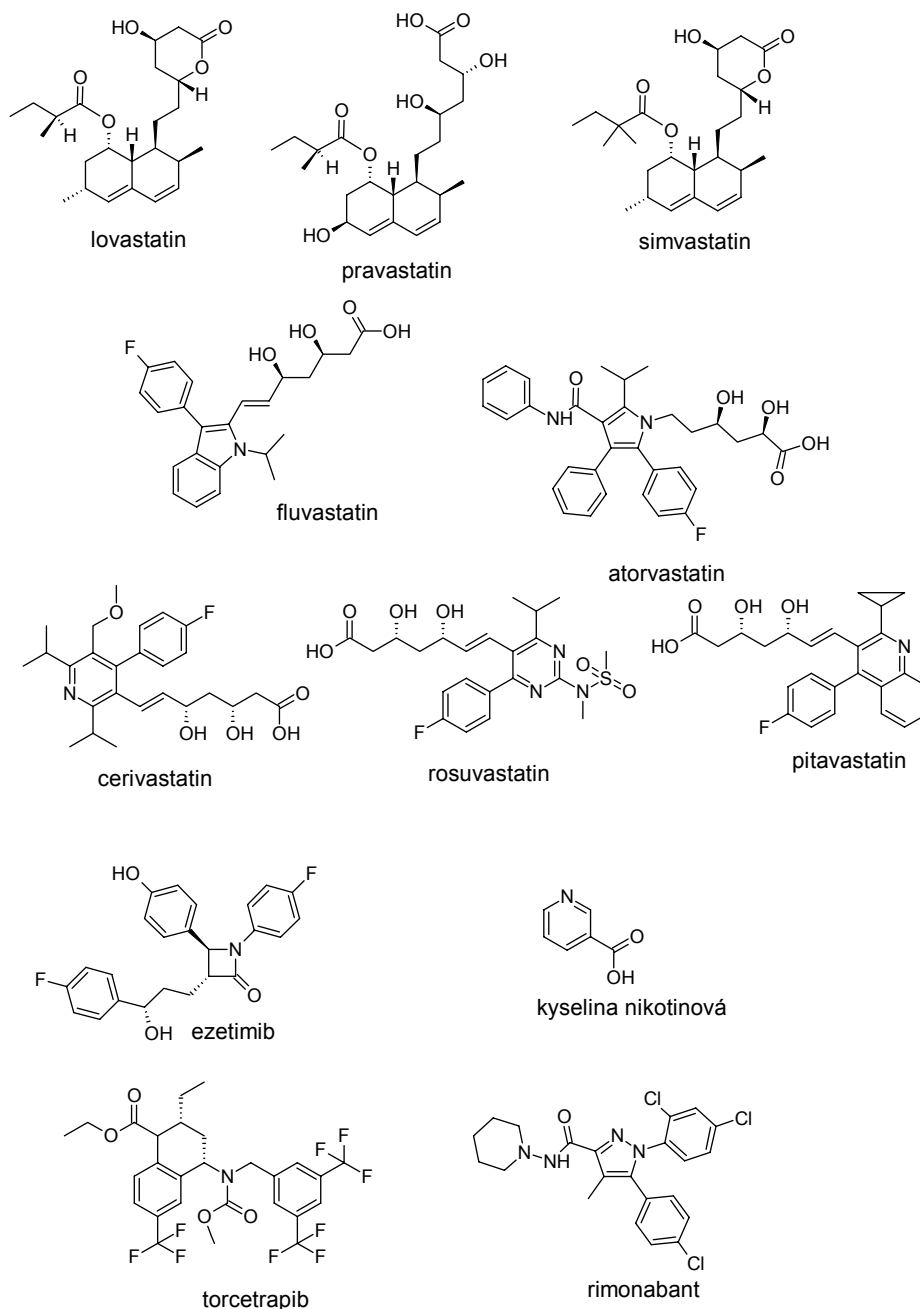
Vstřebávání cholesterolu ve střevě také snižují některé další látky, jako vláknina, rostlinné stanoly a steroly, inhibitory ACAT a dále syntetické saponiny^{6,36}.

8.2. Farmakoterapie

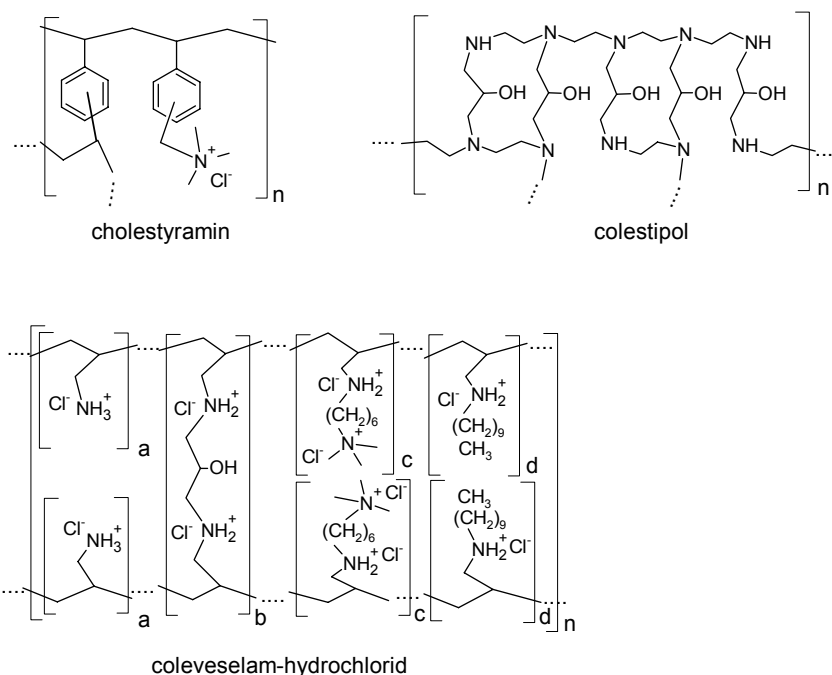
Statiny

V roce 1976 objevil Endo a spol., že plíseň *Penicillium citricum* je schopná některými svými produkty

(statiny) inhibovat biosyntézu cholesterolu kompetitivní inhibicí HMGR. Inhibice způsobuje nitrobuněčný deficit cholesterolu a důsledkem je zvýšení syntézy a aktivity LDL receptorů, které umožňují zvýšené zachycování částic LDL z plasmě. Statiny také snižují hladinu triacylglycerolů v plasmě. Tento mechanismus působení není ovšem zcela přesně objasněn. Zvažuje se snížení biosyntézy VLDL částic v játrech a jejich zvýšené vychytávání také LDL receptory. U smíšených hyperlipidemií je efekt léčby monoterapií statiny na hladinu triacylglycerolů příz-



Obr. 5a. Strukturální vzorce hypolipidemických léků I



Obr. 5b. **Strukturální vzorce hypolipidemických léků II – nosiče žlučových kyselin;** tyto účinné látky jsou vlastně složité kopolymery³⁹, většinou ve formě hydrochloridu. Cholestyramin je kopolymer styrenu sesíťovaného divinylbenzenem, na který je připojena kvartérní amoniová skupina. U colestipolu (kopolymer di- až hexa-ethylentri- až heptaaminu s epichlorhydrinem) se předpokládá, že je protonována asi jedna pětina dusíkových atomů. Colesevelam je vyráběn z polyallylaminu síťovaného epichlorhydrinem a alkylovaného 1-bromdekanem a (6-bromohexyl)trimethylammonium bromidem⁴⁰

nivý tam, kde jejich hodnota nepřekračuje 4 mmol l⁻¹. Při vyšších hodnotách již statiny v monoterapii selhávají a je třeba přistoupit ke kombinační terapii.

Statiny lze rozdělit podle původu do tří generací: 1. generace – biologické produkty plísní a semisyntetické deriváty: lovastatin, pravastatin, simvastatin; 2. generace – syntetické racemáty: fluvastatin; 3. generace – plně syntetické preparáty (enantiomery): cerivastatin, atorvastatin, rosuvastatin, pitavastatin (vzorce jsou uvedeny na obr. 5a)⁴⁴.

Statiny třetí generace mají nejkompexnější účinky na celé lipidové spektrum. Přestože léčba statiny významně zasahuje do metabolismu cholesterolu, nebyl provedenými studiemi prokázán vliv statinů na tvorbu steroidních hormonů nebo vitamínu D.

Statiny a rhabdomyolýza

Hluboko do povědomí lékařské veřejnosti vešel právě cerivastatin svým rhabdomyolytickým potenciálem (způsobujícím akutní rozpad buněk kosterního svalu). Tento preparát v kombinační léčbě s gemfibrozilem a ve vyšších dávkách i v monoterapii vedl k úmrtí na rhabdomyolýzu. Tyto vedlejší účinky vedly k jeho konečnému stažení z farmaceutického trhu.

Při sledování nežádoucích účinků a interakcí statinů s ostatními léky hraje významnou úlohu jejich jaterní biotransformace působením isoenzymů cytochromu P450. Tři hlavní isoenzymy cytochromu P450, které se účastní bio-

transformace statinů, jsou 3A4, 2C9 a 2D6. Až dvacetinásobně se může zvýšit koncentrace statinů při kompetitivním zablokování daného isoenzymu jiným lékem. Tím vysoce vzrůstá potenciální riziko rozvoje nežádoucích účinků a rhabdomyolýzy. Například u statinů (cerivastatin), které jsou převážně metabolizovány isoenzymem cytochromu P4503A4, lze kompetitivně zablokovat jejich odbourávání některými běžnými antihypertenzivy (verapamil, diltiazem, felodipin) nebo kontraceptivy s noretisteronem.

Statiny lze také z chemického hlediska rozdělit na hydrofilní a lipofilní. Z klinického hlediska existuje teoretický předpoklad, že lipofilní statiny (např. lovastatin, simvastatin, pravastatin) mohou mít vyšší mytoxické účinky díky možnému snazšímu vstupu do svalové buňky³⁷.

Ezetimib

Je nováčkem na farmaceutickém trhu při léčbě hyperlipidemií. Ezetimib (obr. 5a) je inhibitor absorpce cholesterolu (působí pravděpodobně přímou inhibicí Niemann Pick like-1 proteinu, o kterém se předpokládá, že je transportním proteinem pro cholesterol) v buňkách kartáčkového lemu střevní sliznice (viz kapitola 4.1). Ezetimib je zcela nový typ hypolipidemika, které působí blokádu vstřebávání cholesterolu enterocytem, a snižuje tak dodávku cholesterolu ze střeva do jater. To vede jednak k žádoucí regulaci LDL receptorů v játrech a ke zvýšení

vychytávání LDL částic z plasmu, ale také k nežádoucí zvýšené syntéze cholesterolu *de novo* v játrech. Předpokládané využití ezetimibu proto pravděpodobně bude spočívat především v kombinaci terapii se statiny, které zablokují biosyntézu cholesterolu v játrech. V tomto případě mluvíme o tzv. duální inhibici³⁸.

Sekvestranty žlučových kyselin

Cholestyramin a colestipol (obr. 5b) jsou v léčbě hyperlipidemií využívány již několik desítek let. Jejich základní indikací je izolovaná hypercholesterolemie. Všechny sekvestranty jsou nevstřebatelné a tím netoxické, proto je lze bezpečně podávat u dětí a těhotných. Limitujícím faktorem jsou nežádoucí účinky (především úporná zácpa), které popisuje 30–50 % pacientů. Nejmodernější pryskyřice colesevelam (obr. 5b), podávaná v USA, má méně nežádoucích účinků a lepší toleranci.

Sekvestranty žlučových kyselin přerušují enterohepatický oběh žlučových kyselin zablokováním zpětné resorpce žlučových kyselin v distální části tenkého střeva, ileu. Zde se vyměňují chloridové anionty sekvestrantu za anionty žlučových kyselin, které jsou tak vyřazeny z procesu zpětné absorpce. Významně stoupá přeměna cholesterolu na žlučové kyseliny, aby byla zachována jejich hotovost, protože je porušeno zpětné inhibiční působení žlučových kyselin na vlastní syntézu. Stoupá exprese LDL receptorů na hepatocytech, zvýšeně se zachycují LDL částice s následným snížením plasmatické koncentrace cholesterolu.

Podobného výsledku lze také dosáhnout chirurgickým vyřazením ilea.

Kyselina nikotinová (niacin) „Již přes 40 let známý a přesto stále neznámý lék“

Od 60. let minulého století je známo, že niacin inhibičně lipolýzy v tukové tkáni snižuje koncentrace volných mastných kyselin v plasmě. Za hlavní mechanismus působení niacinu na snížení cholesterolu se považuje snížení produkce VLDL v játrech a následně snížení jejich sekrece do krve. To také pravděpodobně vede ke snížení tvorby LDL, jehož prekurzorem je VLDL. Hladina LDL-cholesterolu při léčbě niacinem klesá o 20–25 %. Mechanismus významného zvýšení koncentrace HDL-cholesterolu o 20–30 % není dosud přesně znám. O přibližně 20 % klesají koncentrace apolipoproteinu B a stoupají koncentrace apo A-I. Dále niacin prakticky jako jediné hypolipidemikum snižuje koncentrace lipoproteinu(a). Je prokázáno řadou klinických studií, že niacin pozitivně působí na kardiovaskulární morbiditu a mortalitu, snižuje progresi a vyvolává regresi aterosklerózy. Limitující v léčbě jsou poměrně časté nežádoucí účinky, jako je flush, hyperurikemie a gastrointestinální obtíže.

Torcetrapib

Tato látka (obr. 5a) je inhibitor proteinu přenášejícího estery cholesterolu (CETP), který hraje významnou roli v reverzním transportu cholesterolu. Estery cholesterolu

v HDL částicích jsou transportovány působením CETP do LDL a VLDL. Inhibičně CETP torcetrapibem se významně zvyšuje koncentrace HDL cholesterolu.

Rimonabant

Rimonabant (obr. 5a) je hypolipidemikum, které působí jako blokátor endokannabinoidního systému prostřednictvím receptorů CB₁ (cit. ⁴¹). V centrálním nervovém systému způsobí snížení chuti k jídlu a v adipocytech zvýšením syntézy adiponektinu zvyšuje hladiny HDL cholesterolu, snižuje inzulínovou rezistenci a hladiny triacylglycerolů. S úspěchem je využíván u nemocných při léčbě dyslipidemií s diabetes mellitus a obezitou.

8.3. Extrakorporální aferéza

Extrakorporální aferéza je mimotělní očišťování plasmu od aterogenních LDL částic⁴². Jde o metodu technicky i ekonomicky velice náročnou, je využívána spíše omezeně a pouze ve specifických indikacích, např. u homozygotů s familiární hypercholesterolemií a při těžké hypercholesterolemii s kumulací kardiovaskulárních rizik v mladém věku. Poprvé byla provedena v roce 1967 v Paříži. Dnes se využívá k odstranění aterogenních částic nejčastěji tři metod: vysrážení LDL indukované heparinem, imunoabsorpce LDL s využitím protilátek proti apolipoproteinu B, nebo vazby LDL částic na dextran-sulfátovou celulosu. Jednorázový výkon vede k poklesu LDL cholesterolu o 50–80 %, dlouhodobě o 50–65 %. Dále snižuje velmi efektivně koncentraci lipoproteinu(a), samostatného rizikového faktoru aterosklerózy a zlepšuje reologické vlastnosti krve. Vede též k regresi podkožních xantomů a regresi aterosklerotických plátů v cévním řečišti⁴³.

9. Závěr

Metabolismus cholesterolu na molekulární úrovni dostává v poslední době jasnější obrysy. Cholesterol je vnímán nejen jako součást buněčných membrán, ale i jako látka schopná kovalentní interakce s některými proteiny a také jako ligand pro bílkovinné domény. Regulace biosyntézy a příjmu cholesterolu ve stravě probíhá složitými mechanismy zasahujícími jak extracelulární, tak vnitrobuněčné pochody. Nové poznatky o těchto pochodech dovolily účinnější boj se zvýšenou hladinou cholesterolu, kterou se snažíme snížit inhibičně jak biosyntézy, tak i absorpcí cholesterolu.

Některé otázky metabolismu cholesterolu, které mají významný klinický dopad, ale zůstávají stále nevyřešeny – např. není zcela jasná role cholesterolu v neurodegenerativních poruchách. V souvislosti s rozvojem aterosklerotického poškození se stále hovoří o metabolitech cholesterolu, ale úloha meziproductů biosyntézy cholesterolu v organismu také není uspokojivě známa. Zmíněné problémy otevírají široké pole pro další výzkum, věrme tedy, že se v blízké době podaří na některé otázky odpovědět.

Tato práce byla podpořena výzkumným záměrem MŠMT ČR číslo MSM0021620820.

LITERATURA

- Kasal A.: Chem. Listy 97, 921 (2003).
- Waterham H. R.: Clin Genet. 61, 393 (2002).
- McNamara J. R., Warnick G. R., Cooper G. R.: Clin. Chim. Acta 369, 158 (2006).
- Dock W.: Ann. Intern. Med. 49, 699 (1958).
- Žák A., Vecka M., Tvrzická E., Hrubý M., Novák F., Papežová H., Lubanda H., Veselá L., Staňková B.: Phys. Res. 54, 443 (2005).
- Modrianský M., Valentová K., Přikrylová V., Walterová D.: Chem. Listy 97, 504 (2003).
- Dietschy J. M., Turley S. D.: J. Lipid Res. 45, 1375 (2004).
- Altmann S. W., Davis H. R., Zhu L. J., Yao X., Hoos L. M., Tetzloff G., Iyer S. P., Maguire M., Golovko A., Zeng M., Wang L., Murgolo N., Graziano M. P.: Science 303, 1201 (2004).
- Redgrave T. G.: Biochem. Soc. Trans. 32, 79 (2004).
- Maxfield F. R., Wüstner D.: J. Clin. Invest. 110, 891 (2002).
- Miller W. R.: Mol. Cell Endocrinol. 265-266, 46 (2007).
- Ikonen E.: Physiol. Rev. 86, 1237 (2006).
- McPherson R., Gautier A.: Biochem Cell Biol. 82, 201 (2004).
- Espenshade P. J.: J. Cell Sci. 119, 973 (2006).
- Whitfield J.F.: Expert Opin Ther Targets. 10, 1257 (2007).
- Kuller LH.: Curr Atheroscler Rep. 9, 154 (2007).
- Tierney E., Nwokoro N. A., Porter F. D., Freund L. S., Ghuman J. K., Kelley R. I.: Am. J. Med. Genet. 98, 191 (2001).
- Gaoua W., Wolf C., Chevy F., Ilien F., Roux C.: J. Lipid Res. 41, 637 (2000).
- Gaoua W., Chevy F., Roux C., Wolf C.: J. Lipid Res. 40, 456 (1999).
- De Fabiani E., Caruso D., Cavaleri M., Galli Kienle M., Galli G.: J. Lipid Res. 37, 2280 (1996).
- Fernandez C., Martin M., Gomez-Coronado D., Lascion M. A.: J. Lipid Res. 46, 920 (2005).
- Haas D., Garbade S. F., Vohwinkel C., Muschol N., Trefz F. K., Penzien J. M., Zschocke J., Hoffmann G. F., Burgard P.: J. Inher. Metab. Dis. 30, 375 (2007).
- Valenza M., Leoni V., Tarditi A., Mariotti C., Björkhem I., Di Donato S., Cattaneo E.: Neurobiol. Dis. 28, 133 (2007).
- Engelberg H.: Lancet. 339, 727 (1992).
- Veveřa J.: Cas. Lek. Cesk. 145, 118 (2006).
- Peet M., Murphy B., Shay J., Horrobin D.: Biol. Psychiatry 43, 315 (1998).
- Carke R., Frost Ch., Collins R., Appleby P., Peto R.: BMJ 314, 112 (1997).
- Tang J. L., Armitage J. M., Lancaster T., Silagy C. A., Fowler G. H., Neil H. A.: BMJ 316, 1213 (1998).
- Denke M. A.: Arch. Intern. Med. 155, 17 (1995).
- Žák A., Tvrzická E., Zeman M., Vecka M.: Cas. Lek. Cesk. 144 Suppl 1, 6 (2005).
- Robinson J. G., Stone N. J.: Am. J. Cardiol. 98 (4A), 39i (2006).
- Schmidt E. B., Christensen J. H., Aardestrup I., Madsen T., Riahi S., Hansen V. E., Skou H. A.: Lipids 36, S65 (2001).
- Handa K., Sasaki J., Saku K., Kono S., Arakawa K.: Am. J. Cardiol. 65, 287 (1990).
- Thun M. J., Peto R., Lopez A. D., Monaco J. H., Henley S. J., Heath C. W., Doll R.: N. Engl. J. Med. 337, 1705 (1997).
- Huttunen J. K., Lansimies E., Voutilainen E., Ehnholm C., Hietanen E., Penttilä I., Siitonen O., Rauramaa R.: Circulation 60, 1220 (1979).
- Zadák Z., Hyšpler R., Tichá A., Solichová D., Bláha V., Melichar B.: Acta Med. 49, 23 (2006).
- Maron D. J., Fazio S., Linton M. F.: Circulation 101, 207 (2000).
- Bruckert E., Giral P., Tellier P.: Circulation 107, 3124 (2003).
- Zarras P., Vogl O.: Prog. Polym. Sci. 24, 485 (1999).
- Davidson M. H., Dillon M. H., Gordon B., Jones P., Samuels J., Weiss S., Isaacsohn J., Toth P., Burke S. K.: Arch. Intern. Med. 159, 1893 (1999).
- Fišar Z.: Chem. Listy 100, 314 (2006).
- Morelli F., Carlier P., Giannini G., De Luigi M. C., Dejana A. M., Ruzzenenti M. R.: Int. J. Artif. Organs 28, 1025 (2005).
- Naoumova R. P., Thompson G. R., Soutar A. K.: Curr. Opin. Lipidol. 15, 413 (2004).
- Hájková M., Kratochvíl B., Rádl S.: Chem. Listy 102, 3 (2008).

H. Lubanda and M. Vecka (*Department of Internal Medicine 4, First Faculty of Medicine, Charles University and General Teaching Hospital, Prague, Czech Republic*):
Cholesterol: A Friend or Foe?

The review describes recent findings on cholesterol biosynthesis and its fate in the human organism from the medicinal point of view. Biosynthesis of cholesterol is a complex process which also provides the organism with several indispensable compounds. Cholesterol is utilized both as such and in the form of many derivatives. Cholesterol is not only a cellular membrane component, but it also binds covalently to proteins. Cholesterol biosynthesis control and its dietary intake are performed by sophisticated mechanisms including extracellular and intracellular pathways. New findings on these processes allow a more efficient therapy of high cholesterol level in blood plasma.

VIRTUÁLNÍ SCREENING LÉČIV

VOJTĚCH SPIWOK^{a,b} a BLANKA KRÁLOVÁ^a

^a Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6, Česká republika, ^b Chemický ústav – Centrum glykomiky, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava, Slovensko
chemspiw@savba.sk

Došlo 27.3.08, přijato 17.4.08.

Klíčová slova: vývoj léčiv, protein-ligand docking, farmakofor, chemoinformatika

Obsah

1. Úvod
2. Metodologie virtuálního screeningu
3. Virtuální screening v akademické sféře
4. Nové trendy ve virtuálním screeningu
5. Závěr

1. Úvod

Otázky přesnosti a praktické využitelnosti metod počítačové chemie jsou častým námětem diskusí mezi počítačovými a čistě experimentálními chemiky. Virtuální screening je přístup, který využívá metody molekulárního modelování a slouží k zefektivnění vývoje nových ligandů, nejčastěji léčiv. Na rozdíl od některých jiných postupů a metod počítačové chemie, které i přes různá očekávání zůstávají spíše akademickou záležitostí, je virtuální screening prakticky využíván farmaceutickým průmyslem a je jedním z výrazných úspěchů této oblasti chemie. Pro virtuální screening platí, že je často důležité najít kompromis mezi přesností a rychlostí použitých metod, neboť je nutné testovat velký počet molekul. Právě vyvažování přesnosti a počítačové náročnosti je faktor, který je nutné brát v úvahu při vývoji a aplikaci metod molekulárního modelování.

Vývoj léčiv a dalších biologicky aktivních látek (např. pesticidů) je někdy charakterizován jako hledání jehly v kupce sena, kdy jehlou je sloučenina s požadovanou biologickou aktivitou a přijatelnou toxicitou a kupkou sena je veliký soubor komerčně nebo synteticky dostupných sloučenin. Pokud máme k dispozici cíl léčiva (receptor, target), je prvním krokem hledání sloučeniny s afinitou, která ještě zpravidla nestačí k lékařskému použití, ale je již dostatečná jako výchozí bod pro další

optimalizace. Tato afinita k danému cíli je obvykle v řádu $\mu\text{mol l}^{-1}$ (disociační a inhibiční konstanty jsou v článku uvedeny v jednotkách koncentrace, což sice odporuje formalismu fyzikální chemie, ale je to praktické a ve farmaceutických vědách běžné). Tradiční metodou v této fázi hledání je robotizovaný screening vazebných, inhibičních nebo biologických aktivit, neboli „vysokoprůtočný“ screening (high throughput screening, HTS). Sloučeniny, jejichž aktivita je dostatečně podepřena pomocí HTS, dále slouží jako výchozí struktury (lead structures) pro vývoj sloučenin s vlastnostmi požadovanými pro léčiva, tedy silnějších ligandů, s nižší toxicitou a lepšími farmakokinetickými parametry.

Knihovny pro HTS mohou být získány např. sbíráním sloučenin „z polic“ mnoha syntetických chemiků nebo pomocí kombinatorické chemie. Dalším častým zdrojem jsou organismy, jako např. bakterie, rostliny, mořské organismy nebo etnofarmacie. Komerčně je v současnosti dostupných více než půl milionu sloučenin¹ v množství a kvalitě vhodné pro testování biologické aktivity. Vlastní HTS může být založený na nejrůznějších detekčních mechanismech, například FRET (fluorescence resonance energy transfer) nebo radioisotopových metodách. Společnou charakteristikou metod HTS je určitý kompromis mezi cenou a rychlostí na jedné straně a přesností na druhé straně, neboť je nutné testovat rozsáhlé knihovny sloučenin. Díky tomu z HTS vychází velké množství falešně pozitivních a falešně negativních výsledků. HTS tedy v podstatě obohacuje knihovnu sloučenin tím, že vyřazuje neaktivní a zachytává aktivní sloučeniny s tím, že občas vyřadí nějakou aktivní či zachytí neaktivní.

2. Metodologie virtuálního screeningu

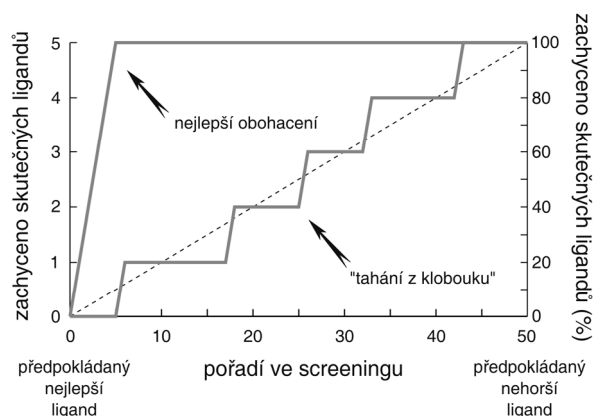
Alternativou k HTS je virtuální screening (VS), tedy obdoba HTS na počítači. Pomocí specializovaných programů je možné filtrovat sloučeniny podle předpověděné afinity k testovanému cíli, toxicity či farmakokinetické dostupnosti. VS poskytuje řadu falešně pozitivních a falešně negativních výsledků, ale v tomto směru je situace podobná jako u HTS. Mezi oběma přístupy existuje určitá rivalita, ale není pochyb o tom, že VS má významný potenciál jako metoda minimálně komplementární k HTS.

Jednou z nejčastěji používaných technik VS je tzv. „protein-ligand docking“. Posláním tohoto experimentu je předpověď, zda se testovaná sloučenina na daný protein váže, jak se váže (struktura komplexu) a jak silně se váže. Vychází se obvykle ze známé prostorové struktury receptoru a předpověděné prostorové struktury ligandu. Cílem docking experimentu zpravidla není modelovat proces vazby ligandu na protein, cílem je znát pouze výsledek. Obvyklou strategií dockingu je, že se ligand umístí do

stejného prostoru jako receptor. Následně je poloha ligandu optimalizována tak, aby bylo dosaženo minima volné energie. Kromě polohy ligandu je možné natáčet jeho vazby s volnou rotací. Celý tento proces, aby byl použitelný ve VS, musí trvat pro jeden ligand maximálně několik sekund. Volná energie je obvykle odhadována pomocí tzv. skórovací funkce (scoring function), což je empirická závislost volné energie interakce protein-ligand na konformaci jejich komplexu. Skórovací funkce byly vyvinuty na základě komplexů protein-ligand pro něž je známa jak experimentálně změřená volná energie interakce, tak i experimentálně změřená prostorová struktura komplexu.

Metodologie pro testování VS byla představena Caterinou Bissantz a spol.² Autoři testovali tři nástroje a sedm skórovacích funkcí na dvou receptorech (thymidinkinase a estrogenovém receptoru). Nejprve vytvořili knihovnu 990 sloučenin, které měly vlastnosti léčiv (drug-like). Do této databáze přidali několik známých ligandů obou receptorů. Pro každou sloučeninu v této virtuální knihovně vytvořili model prostorové struktury a poté provedli docking do daného receptoru. Výsledkem byl odhad volné energie vazby jednotlivých sloučenin na daný receptor. Sloučeniny pak bylo možné seřadit podle předpověděných volných energií.

Tento způsob hodnocení VS si můžeme ukázat na modelovém příkladu. Pokud bychom vytvořili virtuální knihovnu sloučenin tak, že bychom vzali pět skutečných ligandů a „smíchali“ je se 45 náhodně vybranými neaktivními sloučeninami, pak by v ideálním případě byly tyto skutečné ligandy seřazeny od prvního do pátého místa a byly by následovány neaktivními sloučeninami na 6.–50. místě. V nejhorším případě by bylo pět skutečných ligandů rozseto mezi dalšími 45 sloučeninami tak, jako by byly „tahány z klobouku“. Oba případy jsou ilustrovány na obr. 1.



Obr. 1. Modelový výsledek virtuálního screeningu 50 sloučenin, mezi nimiž bylo pět skutečných ligandů; v ideálním případě (nejlepší obohacení) je pět skutečných ligandů klasifikováno jako pět nejlepších ligandů. Nejhorší případ odpovídá „tahání z klobouku“ kdy nedochází k použitelnému obohacení

Caterina Bissantz a spol. např. pomocí programu Gold a jeho skórovací funkce vybrali cca 50 % skutečných ligandů thymidinkinasy mezi 5 % nejlépe skórovovaných sloučenin a všechny skutečné ligandy mezi 10 % nejlépe skórovovaných sloučenin. Obdobná situace byla i u estrogenového receptoru. Je tedy jasné, že pomocí virtuálního screeningu je možné z oné „kupky sena“ odstranit velkou část „sena“ a přitom odstranit co nejméně „jehel“.

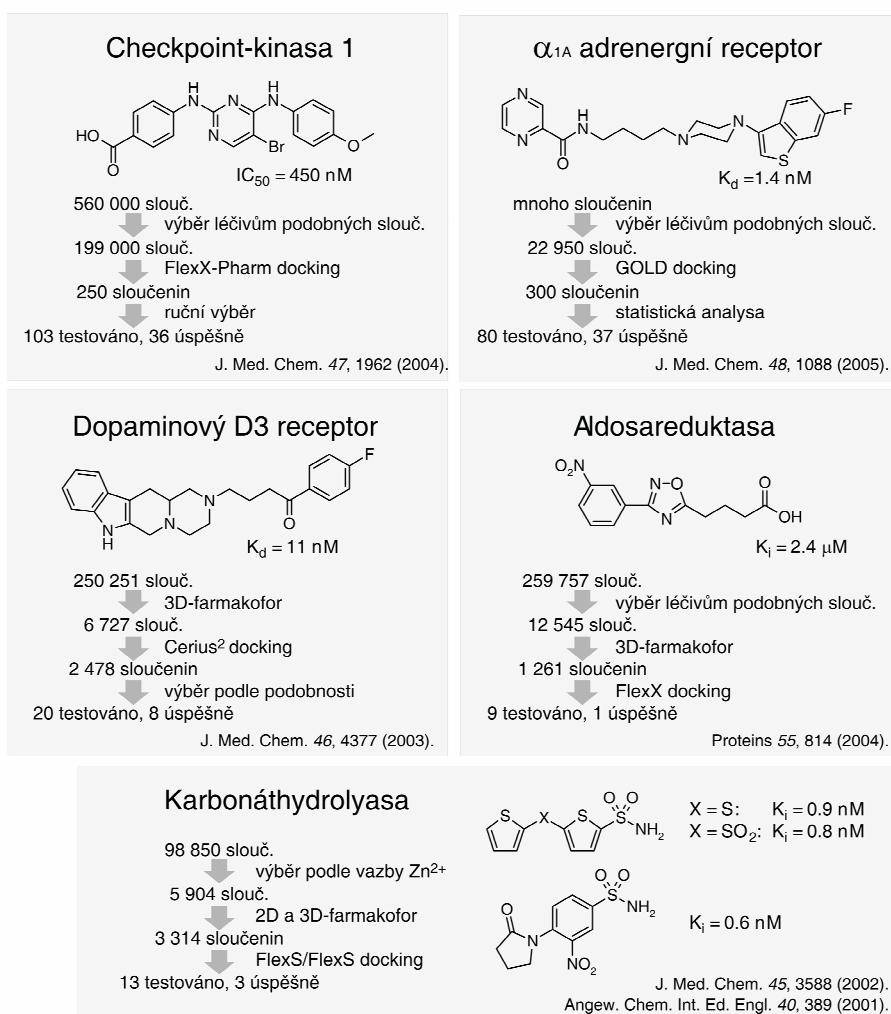
3. Virtuální screening v akademické sféře

Pro svou finanční nenáročnost se VS stal oblíbenou metodou v akademické sféře, kde většinou není možné konkurovat farmaceutickým společnostem s jejich mimořádně nákladnými technikami HTS. Několikrát byl na akademických pracovištích úspěšně aplikován postup, kdy byl proveden VS několika desítek tisíc komerčně dostupných sloučenin a obvykle několik desítek sloučenin vyhodnocených jako nejlepší bylo poté zakoupeno a experimentálně otestováno. Na obr. 2 jsou vyznačeny některé úspěchy této strategie vybrané Kubinyim⁹. Je vidět, že tato strategie vedla k vývoji nových, pro daný cíl dosud neznámých ligandů, a to pro nejrůznější cíle léčiv, zahrnující jak membránové receptory, tak enzymy. Skupina Briana Shoicheta¹⁰ vytvořila databázi komerčně dostupných sloučenin známou pod zkratkou ZINC, která je připravena přímo pro účely VS. VS následovaný testováním vybraných sloučenin představuje jednu z nejuspěšnějších strategií vývoje ligandů v akademické sféře.

4. Nové trendy ve virtuálním screeningu

VS podobně jako HTS trpí tím, že některé typy sloučenin se buď vážou na skoro všechny proteiny, nebo z těchto screeningů vycházejí jako falešně pozitivní výsledky. Příkladem falešně pozitivních nálezů HTS jsou sloučeniny, které se vážou na proteiny kovalentně nebo tvoří agregáty. V oblasti VS byly vyvinuty filtry, které mají za úkol účinně odfiltrovat tyto promiskuitní nebo falešně pozitivní sloučeniny a tím zefektivnit VS nebo HTS. Další metodou, jak odlišit selektivní ligandy od neselektivních ligandů, je paralelní screening na více receptorech (cross docking). Existují některé časté anticible léčiv (antitargets), tedy proteiny, jejichž ovlivnění léčivem vede k nežádoucím vedlejším účinkům. Mezi anticible studované pomocí VS patří hERG (human ether-à-go-go related gene) draslíkový iontový kanál. Roche a spol.¹¹ byli pomocí VS schopni odfiltrovat sloučeniny, které inhibují tento iontový kanál a tím způsobují náhlou srdeční smrt.

Obračeným postupem dosud prezentovaného VS je reversní VS. Zatímco při klasickém VS testujeme interakce mnoha sloučenin s jedním receptorem, při reversním VS testujeme schopnost jedné sloučeniny interagovat s rozsáhlou knihovnou receptorů. Studovaný ligand je pomocí docking experimentu umístěn do každého z receptorů v této knihovně. Tento postup může být např. pou-

Obr. 2. Příklady ligandů nalezených pomocí VS^{3–8} (vybrané prof. Hugem Kubinyim⁹)

žit pro hledání endo- nebo exogenních ligandů pro receptory, jejichž ligandy nejsou známy (deorphanization). Bock a Gough¹² použili sekvence 55 lidských G-protein-vázaných receptorů bez známého ligandu a vytvořili modely jejich prostorových struktur na základě experimentální struktury rhodopsinu. Takto vzniklé modely použili v docking experimentu s 34 753 léčivům podobnými sloučeninami. Tím získali 1 911 415 modelů komplexů protein-ligand. Pomocí metod strojového učení na základě porovnání se známými komplexy vybrali modely s nejpravděpodobnější interakcí. Výsledky této studie jsou v souladu s řadou experimentů, některé ale ještě čekají na experimentální ověření.

Snahy zvýšit účinnost HTS vedly k novým trendům, mezi něž patří snaha změřit v jednom screeningu co nejvíce parametrů. Tyto postupy HTS zahrnují např. fluorescenční buněčné studie, kdy je na jedné buňce možné změřit celou škálu biologicky relevantních veličin. Tento

trend se nevyhnul ani VS. Byla navržena celá řada postupů jak zefektivnit VS pomocí sofistikovaného zpracování jeho výsledků např. metodami vícerozměrné statistiky. Pomocí těchto technik zpracování dat (dolování dat, data mining) je rovněž možné integrovat výsledky VS a HTS.

Jak bylo naznačeno výše, receptor je při docking experimentu zpravidla rigidní. Je však známo, že u řady proteinů dochází ke konformačním změnám v důsledku vazby ligandu. Pokud by testovaný ligand vyžadoval jinou konformaci receptoru než je ta experimentálně změřená, pak by byl tento ligand falešně negativním výsledkem virtuálního screeningu. Zahrnutí flexibility receptoru do procesu docking experimentu je jednou z největších výzev v této oblasti. V posledních letech byly vyvinuty postupy, které zavádějí flexibilitu receptoru do již existujících programů, nebo využívají nové principy. Je nutné podotknout, že se jedná o složitý úkol, neboť ligand má sám o sobě šest stupňů volnosti (tři translační a tři rotační) a na každou vazbu

s volnou rotací připadá další stupeň volnosti. Pokud by měly být zahrnuty stupně volnosti mnoha stovek atomů receptoru, stal by se proces optimalizace neúnosně náročný. Ferrari a spol.¹³ tento problém vyřešili tak, že vzali v potaz několik předem vygenerovaných konformací receptoru. Pomocí virtuálního screeningu s použitím tohoto multikonformačního dockingu našli inhibitor aldosareduktasy s IC_{50} rovnou 8 μ M. Kromě flexibility receptoru patří mezi další výzvy dockingu další heterogenity receptoru či heterogenity ligandů, jako jsou například protonační stavy, tautomerie, konformace cyklických molekul a další.

Z předcházejících řádků může vyplynout, že protein-ligand docking je jedinou technikou virtuálního screeningu. Je však na tomto místě potřeba zmínit metody farmakoforové. Obecný význam slova farmakofor značí soubor strukturních prvků zodpovědných za účinnost léčiva. Farmakoforové metody na rozdíl od dockingu nejsou založené na struktuře receptoru, ale na strukturách známých ligandů. Kovalentní nebo trojrozměrné struktury známých ligandů (např. endogenních ligandů či dříve vyvinutých léčiv) jsou studovány s cílem najít strukturní prvky zodpovědné za jejich afinitu k receptoru. Tyto prvky jsou poté použity při filtrování velikých souborů sloučenin. Vedle farmakoforových technik musíme rovněž zmínit metody pro předpověď absorpce, distribuce, metabolismu a eliminace léčiva (ADME) a toxikologických vlastností. Klasickým se v tomto směru stala Lipinského pravidla (pravidla pěti)¹⁴, tedy že molekula vlastnosti léčiva nesmí mít více než 5 donorů a 10 akceptorů vodíkových vazeb, nesmí mít molární hmotnost vyšší než 500 $g\ mol^{-1}$ a nesmí mít $\log P$ (dekadický logaritmus rozdělovacího koeficientu v soustavě oktanol-pufir) vyšší než 5. Vzhledem k tomu, že jsou takovéto filtry velmi rychlé, je možné je použít v počátečních fázích virtuálního screeningu a tím zamezit zbytečnému testování pravděpodobně neaktivních sloučenin náročnějšími technikami v dalších fázích virtuálního screeningu.

5. Závěr

Otázkou, která je v souvislosti s VS často kladena, je, do jaké míry jsou tyto postupy aplikovány v současném průmyslovém vývoji léčiv. Tuto otázku není snadné zodpovědět hlavně díky tomu, že VS je používán komplementárně k HTS. Existují např. knihovny sloučenin, které jsou zacílené na určitou skupinu receptorů, např. G-protein vázaných receptorů, proteinkinas, enzymů a dalších skupin častých nebo do budoucna slibných cílů léčiv. Tato zacílení knihoven jsou prováděna filtrováním pomocí VS. Pro konkrétní potenciální léčivo je tedy neseadné říci, do jaké míry bylo nalezeno díky VS a do jaké díky HTS. Jak demonstroval Shoichet a spol.¹⁵ jsou tyto dvě techniky komplementární. Budoucí vývoj VS bude záviset na porozumění fyzikálním principům interakcí protein-ligand. Zároveň schopnost VS konkurovat HTS bude samozřejmě závi-

set i na vývoji nových a vylepšování stávajících postupů HTS.

Poděkování patří Dr. Jurajovi Kóňovi za pečlivé přečtení rukopisu. Autoři děkují MŠMT ČR (MSM 6046137305) za finanční podporu.

LITERATURA

1. MDL® Available Chemical Directory, <http://www.mdli.com>, staženo 6.10.2008.
2. Bissantz C., Folkers G., Rognan D.: *J. Med. Chem.* **43**, 4759 (2000).
3. Lyne P. D., Kenny P. W., Cosgrove D. A., Deng C., Zabudoff S., Wendoloski J. J., Ashwell S.: *J. Med. Chem.* **47**, 1962 (2004).
4. Evers A., Klabunde T.: *J. Med. Chem.* **48**, 1088 (2005).
5. Varady J., Wu X., Fang X., Min J., Hu Z., Levant B., Wang S.: *J. Med. Chem.* **46**, 4377 (2003).
6. Kraemer O., Hazemann I., Podjarny A. D., Klebe G.: *Proteins* **55**, 814 (2004).
7. Grüneberg S., Stubbs M. T., Klebe G.: *J. Med. Chem.* **45**, 3588 (2002).
8. Grüneberg S., Wendt B., Klebe G.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **40**, 389 (2001).
9. <http://www.kubinyi.de>, staženo 6.10.2008.
10. Irwin J. J., Shoichet B. K.: *J. Chem. Inf. Model.* **45**, 177 (2005).
11. Roche O., Trube G., Zuegge J., Pflimlin P., Alanine A., Schneider G.: *ChemBioChem.* **3**, 455 (2002).
12. Bock J. R., Gough D. A.: *J. Chem. Inf. Model.* **45**, 1402 (2005).
13. Ferrari A. M., Wei B. Q., Costantino L., Shoichet B. K.: *J. Med. Chem.* **47**, 5076 (2004).
14. Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J.: *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **46**, 3 (2001).
15. Doman T. N., McGovern S. L., Witherbee B. J., Kasten T. P., Kurumbail R., Stallings W. C., Connolly D. T., Shoichet B. K.: *J. Med. Chem.* **45**, 2213 (2002).

V. Spiwok^{a,b} and B. Králová^a (^a Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague, ^b Institute of Chemistry, Center for Glycomics, Slovak Academy of Sciences, Slovak Republic):
Virtual Screening

Virtual screening has become a successful alternative and complementary technique to experimental high-throughput screening technologies. This review summarizes major advantages of this approach. Current challenges of virtual screening, such as target flexibility, reverse screening and data mining are also presented. Examples of application of virtual screening in academic environment are given.

CHITOSAN A JEHO FARMACEUTICKÉ APLIKACE

EVA VAVŘÍKOVÁ A JARMILA VINŠOVÁ

Farmaceutická fakulta UK, Heyrovského 1203, 500 05
Hradec Králové
jarmila.vinsova@faf.cuni.cz

Došlo 11.10.07, přepracováno 3.6.08, přijato 11.9.08.

Klíčová slova: chitosan, antibakteriální aktivita, protinádorová aktivita, antioxidační aktivita

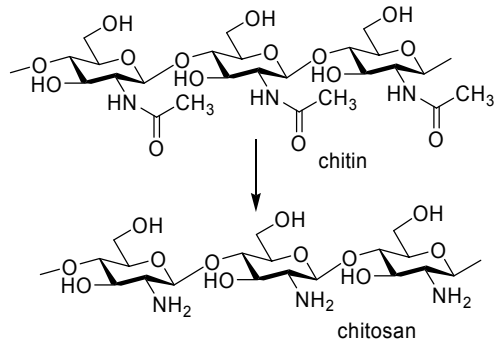
Obsah

1. Úvod
2. Charakteristika chitosanu
3. Farmaceutické aplikace chitosanu
 - 3.1. Antibakteriální aktivita
 - 3.2. Protinádorová aktivita
 - 3.3. Antioxidační aktivita
4. Závěr

1. Úvod

Polymery jsou v dnešní době stále častěji využívány jako vhodné biodegradabilní nosiče léčiv. Používají se k pomalému uvolňování účinné složky, tedy jako depotní formy, ke zvyšování rozpustnosti a lepší možnosti cíleného podání.

Mezi přírodní polymery typu polysacharidů patří chitosan (poly-D-glukosamin), odvozený od přírodního chitinu, druhého nejrozšířenějšího polysacharidu po celulóse. Získává se alkalickou deacetylací chitinu, několikahodinovým varem s 50% hydroxidem sodným nebo enzymaticky působením *N*-deacetylasy (EC 3.5.1.41)¹, (obr. 1).



Obr. 1. Deacetylace chitinu

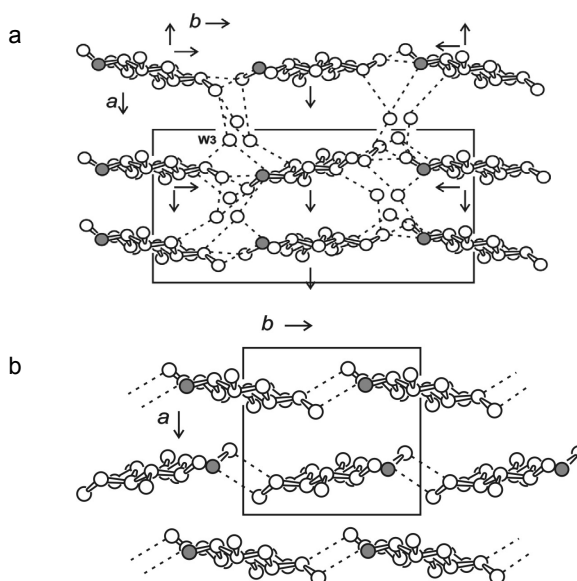
Stupeň deacetylace chitinu se udává v procentech, obvykle v rozmezí 60–100 %. Chitosan se v přírodě vyskytuje pouze v malém množství u několika typů hub rodu *Aspergillus* a *Mucor*².

Chitosan má vynikající biologické vlastnosti, je netoxický, biokompatibilní a biodegradabilní³. Pro své výjimečné vlastnosti se používá v různých oborech zahrnujících především biomedicínu, kosmetiku, agrochemii, fyzikální chemii, konzervaci potravin, čištění vody a impregnaci textilií⁴. Používá se také jako potravní doplněk pro snížení hladiny cholesterolu a redukci hmotnosti. Váže na sebe tuky a cholesterol a odvádí je ze zažívacího traktu dříve, než jsou zpracovány⁵. Jako vláknina zlepšuje činnost tlustého střeva a snižuje pocit hladu, proto se používá k hubnutí. Někdy se mu přičítá přílišný redukční účinek, který však nebyl vědecky prokázán.

2. Charakteristika chitosanu

Chitosan neboli (1→4)-2-amino-2-deoxy-β-D-glukan patří mezi méně časté kationové polymery. V porovnání s chitínem má větší chemickou a biochemickou reaktivitu.

Rentgenostrukturní analýzou^{6,7} byly objeveny 4 krystalické polymorfy chitosanu, tři hydratované (tendonová forma, forma II a L2), které snadno vytvářejí ve vodě rozpustné soli s organickými a minerálními kyselinami a jedna nehydratovaná forma, která vzniká zahříváním hydratovaného chitosanu na teplotu 200 °C (cit.³). Dehydratací se



Obr. 2. a) Hydratovaný chitosan, b) nehydratovaný chitosan

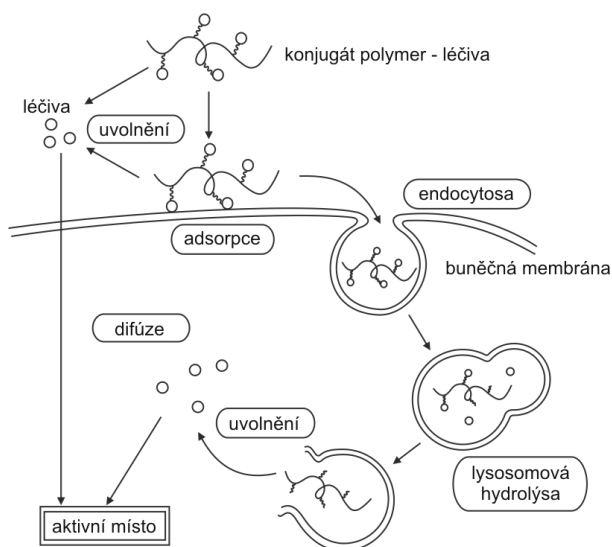
zkracují vzdálenosti vrcholů struktury „cik-cak“ a oddálení jednotlivých řetězců, (obr. 2, cit.⁸). Tato změna je ireversibilní. Nehydratované krystaly jsou nerozpustné v kyselinách, s kovovými ionty netvoří komplexy. Krystaly bezvodé formy ztrácí funkci biomateriálů a mohou být použity jako inertní pryskyřice.

Molekula chitosanu má tři reaktivní centra: primární aminoskupinu, primární a sekundární hydroxyskupinu. Aminoskupina snadno podléhá kvarternizaci, čímž lze zvýšit rozpustnost chitosanu ve vodě a tvoří komplexy s ionty kovů. Primární hydroxyskupina bývá nejčastěji substituována spojovacími články „spacery“, na které se váže aktivní složka – léčivo nebo skupina, která je zodpovědná za cílení léčiva nebo zvýšení rozpustnosti ve vodě. Sekundární hydroxyskupina je modifikována především za účelem zvýšení rozpustnosti ve vodě.

3. Farmaceutické aplikace chitosanu

Pro své výjimečné vlastnosti je chitosan velmi zajímavý materiál a bioaktivní činitel ve farmaceutických a biomedicinských odvětvích. Lze jej použít jako systém pro transport léčiv, jehož hlavním znakem je řízené uvolňování a cílení léčiva. Vyžaduje se též optimální odpověď receptoru, minimální vedlejší účinky a prodloužený efekt léčiva.

Polymer může být léčivem, pokud sám vykazuje farmakologickou aktivitu, i když jeho monomerní jednotky jsou neaktivní. Polymerní proléčivo je makromolekulární látka, která slouží nejčastěji jako nosič léčiva, sama může mít i nemusí biologickou aktivitu. Je obvykle složeno z polymerního nosiče, biodegradabilní vazby mezi nosičem a léčivem a mívá skupinu, která způsobuje cílení, např. specifický peptid pro cílovou buňku.



Obr. 3. Cesty léčivé látky k aktivnímu místu

Použití makromolekulárních proléčivových konjugátů s nízkou molekulovou hmotností je jednou z metod transportu léčiv, který je zaměřen na zlepšení pohybu látky změnou rozpustnosti a molekulární velikosti, udržení vhodných koncentrací léčiv pomalu se uvolňujících z nosičů, cílený transport léčiv do cílových buněk, podporu inkorporace léčiv do buněk endocytózou a hybridizací dvou druhů léčiv nebo léčiva s bioaktivním polymerním nosičem. Design konečné molekuly konjugátu musí být také v souladu s fyzikálními vlastnostmi konjugátu a biochemickými vlastnostmi polymerního nosiče. Polymerní nosiče (jejich velikost, elektrický náboj, hydrofilnost nebo lipofilnost a specifická transmembránová transportní schopnost) mohou změnit farmakologické a imunologické aktivity látek, které roznášejí.

Průnik makromolekulárního proléčiva do buňky může probíhat difúzí uvolněného léčiva do buňky nebo endocytózou konjugátu polymer-léčivo (obr. 3). Nejideálnější cestou pro polymery je endocytóza, kdy je celý konjugát vpraven do buňky a v lysosomech se z něho léčivo postupně uvolňuje působením lysosomových enzymů.

3.1. Antibakteriální aktivita

Samotný chitosan vykazuje antibakteriální účinnost vůči mnoha grampozitivním (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Bacillus subtilis*) i gramnegativním bakteriím (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*)⁹ a houbám při pH < 6. Přesný mechanismus antimikrobiální účinnosti sice není plně znám, ale předpokládá se, že kladně nabitě aminoskupiny glukosaminových jednotek interagují s negativně nabitými komponentami mikrobiálních buněčných membrán, tím mění propustnost a způsobují únik intracelulárního obsahu^{10,11}, což vede k rozpadu buněk^{12–14}. Další návrh mechanismu působení se týká penetrace nízkomolekulárního chitosanu do buňky, kde se váže na DNA a způsobuje částečnou inhibici RNA a proteinové syntézy¹⁵. Chitosan rovněž chelatuje s kovy potřebnými pro růst mikroorganismů¹⁶. Biologická aktivita chitosanu závisí na mnoha faktorech (molekulové hmotnosti, stupni deacetylace chitinu, derivatizaci, typu substituce, velikosti a poloze substituentů na chitosanovém skeletu, rozpustnosti, pH roztoku), které vedou k rozsáhlému studiu jeho modifikací ve snaze o přípravu vhodné aplikační formy, zlepšení účinku a cíleného působení.

Důležitým faktorem je velikost molekuly chitosanu a jeho koncentrace¹⁷. Obecně lze konstatovat, že optimální velikost aktivního chitosanu se pohybuje v rozmezí 2 až 200 kDa.

Tokura a spol.¹⁸ objevili, že chitosan s vyšší molekulovou hmotností (9300) téměř úplně inhibuje aktivitu *E. coli*, zatímco chitosan s nízkou molekulovou hmotností (2200) je inaktivní. K objasnění tohoto pozoruhodného faktu bylo použito chitosanu značeného pomocí fluorescein isothiokyanátu (FITC). Vysokomolekulární chitosan zaplní vnější stranu buněčné stěny a inhibuje pronikání živin dovnitř, zatímco chitosan s nízkou molekulovou

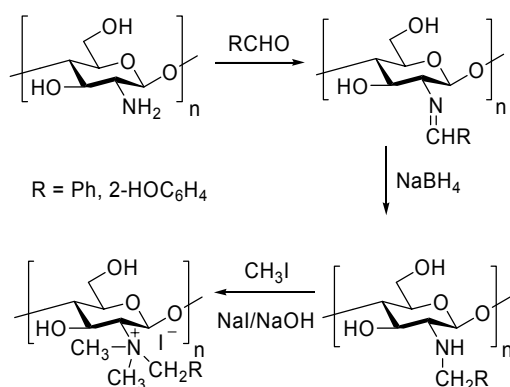
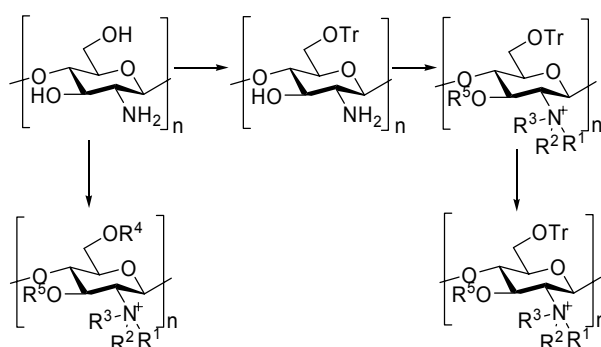


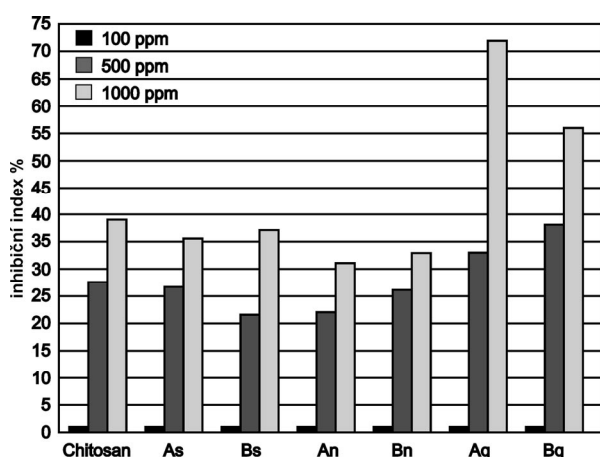
Schéma 1. Příprava Schiffových a kvarterních bází


 $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 = \text{H}, \text{CH}_3$
 $\text{Tr} = \text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$
Schéma 2. *N*-methylace oligochitosanu a chitosanu

hmotností se akumuluje uvnitř buňky, což ukazuje na to, že *E. coli* metabolizuje tento chitosan jako potravu.

Další důležitou podmínkou je pH. Antimikrobiální účinnost chitosanu vzrůstá s klesajícím pH^{19,20}. Je-li pH < 6,5, dochází k ionizaci za vzniku pozitivně nabitě části. Nemodifikovaný chitosan je při pH 7 nerozpustný a antibakteriálně neúčinný^{19,21}, proto je velká pozornost směřována na přípravu jeho rozpustných solí. Rozpustnost se zvyšuje jak kvarternizací^{9,22}, tak hydrofilní substitucí, např. u (2-hydroxypropyl)chitosanu²³, *N*-(karboxybutyl)chitosanu²⁴, (karboxymethyl)chitosanu^{25,26} a sulfatovaného chitosanu^{27,28}, která navíc zvyšuje antibakteriální vlastnosti. Pro tento efekt se také syntetizují deriváty chitosanu větvené na uhlíku C6 monomerní jednotky²⁹.

Kvarternizace dusíku aminoskupiny patří k nejčastějším modifikacím. Volná aminoskupina byla kondenzována s benzaldehydem (A) a salicylaldehydem (B) za vzniku Schiffových bází, které byly dále redukovány tetrahydridoboritanem sodným a v posledním stupni kvarternizovány



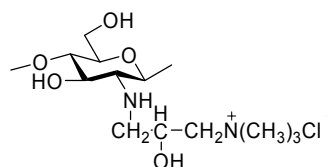
Obr. 4. Antifungální účinnost proti *Colletotrichum lagenarium*; As, Bs – Schiffovy báze; An, Bn – redukované formy; Aq, Bq – kvarterní báze

methyljodidem (schéma 1). U všech produktů byla sledována antifungální účinnost. Nejúčinnější byly právě kvarterní báze³⁰ (viz obr. 4).

Methylace chitosanu vedla k syntéze *N,N,N*-trimethylchitosanu (schéma 2). Postupně byly methylovány vedle aminoskupin také hydroxyskupiny chitosanu a jeho oligomerů a sledována jejich antibakteriální účinnost vůči *Staphylococcus aureus* při pH 5,5 a 7,2. Oligomery chitosanu se ukázaly jako neaktivní, zatímco methylované deriváty chitosanu vykazovaly jistou účinnost. Kvarternizace je potřebná pro účinnost při pH 7,2. Náboj kvarterní amoniové skupiny chitosanu umožňuje jeho rozpustnost v dolních částech gastrointestinálního traktu za neutrálních nebo alkalických podmínek³¹. Vedle *N*-methylovaných kvarterních amoniových solí byl připraven i analogický *N*-ethylderivát, který se používá jako perorální nosič³².

Kvarternizací lze zavést do chitosanu substituent s aminoskupinou, jako je např. při přípravě (2-hydroxypropyl)trimethylamoniového derivátu (obr. 5) reakcí chitosanu s glycidyltrimethylammonium-chloridem³³, který vykázal antioxidační a biocidní účinnost proti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, a *Candida albicans*.

Hydrochlorid (ethylamino)-2-(hydroxyethyl)chitosanu byl nejprve hydroxyetylován na primární hydroxyskupině a poté alkylován (2-chlorethyl)amin-hydrochloridem (schéma 3, cit.³⁴). Vznikl ve vodě lépe rozpustný, antibakteriálně účinný derivát proti *Escherichia coli*.



Obr. 5. Modifikovaný chitosan

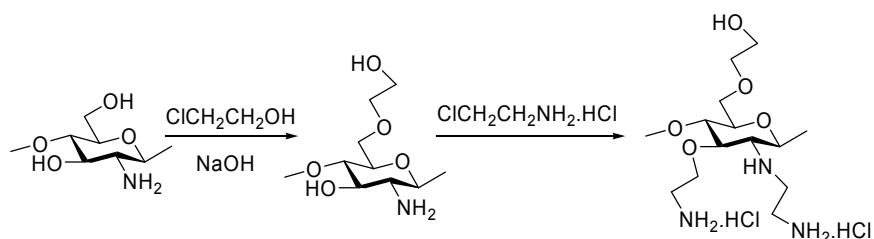


Schéma 3. Syntéza ethylamino(hydroxyethyl)chitosanu

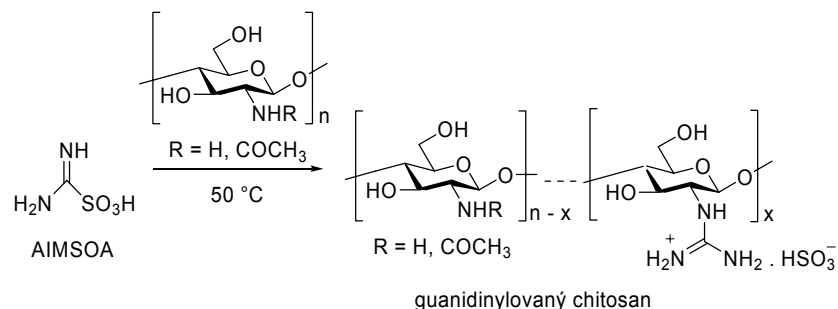


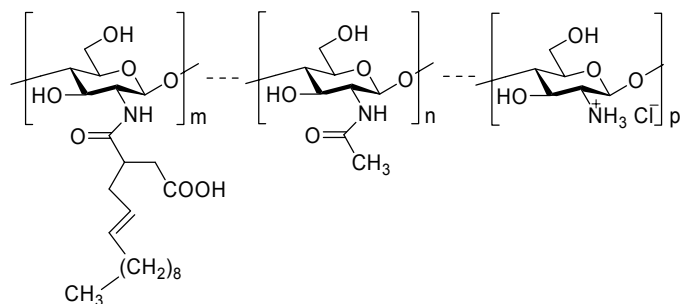
Schéma 4. Guanidinylace chitosanu

Poly(1-vinylimidazol) je znám jako ve vodě dobře rozpustný antibakteriálně účinný polymer³⁵. Byl připraven reakcí s chitosanem ve zředěné kyselině octové působením iontů ceru. Kombinace těchto sloučenin vedla k účinnosti proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím. Protonace vinylimidazolových jednotek zvyšuje rozpustnost ve vodě³⁶.

Guanidinylace chitosanu o různých molekulových hmotnostech vedla ke zvýšení počtu aminoskupin v molekule. Byla provedena aminoiminomethansulfonovou kyselinou (schéma 4). Tyto deriváty vykázaly čtyřikrát nižší hodnoty MIC než samotný chitosan. Zvýšená aktivita je způsobena vyšší hustotou pozitivního náboje guanidinových derivátů, které snadněji asociují na negativním povrchu buněk a vykazují vyšší antibakteriální účinnost proti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*³⁷.

Cílení do jaterních buněk vedlo k syntéze galaktosylovaného chitosanu s vysokou afinitou k HepG2 (buněčná linie rakovinných jaterních buněk). Po zavedení lysinového spojovacího článku na chitosan následovalo kovalentní spojení 4-*O*-β-D-galaktopyranosyl-D-glukonové kyseliny s více vaznými galaktosovými jednotkami. β-D-Galaktosové jednotky jsou významné právě pro cílenou dopravu do jaterních buněk³⁸. Tyto glykokonjugátové molekuly vykázaly aktivitu vůči *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*.

N-Alkylace chitosanu disacharidy vedla ke zvýšení antibakteriální účinnosti proti *E. coli* a *S. aureus*. Typ disacharidu spojeného s molekulou chitosanu, stupeň substituce disacharidu a pH ovlivňovalo antibakteriální účinnost. Maltosové deriváty chitosanu (stupeň deacetylce chitinu 30–40 %) vykázaly nejvyšší antibakteriální účinnost proti *S. aureus*, zatímco proti *E. coli* byly neúčinnější cello-

Obr. 6. Příprava nízkomolekulárních *N*-[2-(dodec-2-en-1-yl)succinoyl]chitosanů

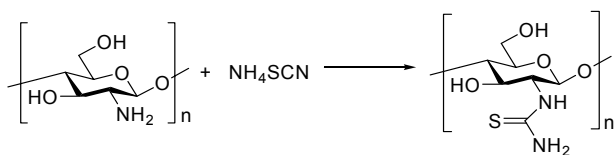


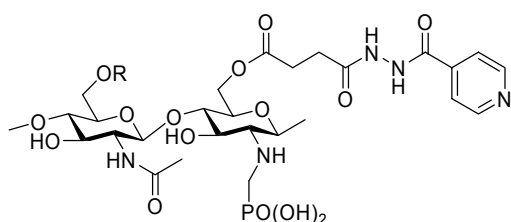
Schéma 5. Thioamočovinný derivát chitosanu

biosové deriváty (stupeň deacetylace chitinu 30–40 %). *N*-Alkylované disacharidové deriváty chitosanu vykázaly vyšší aktivitu než samotný chitosan při pH 7,0 (cit.³⁹).

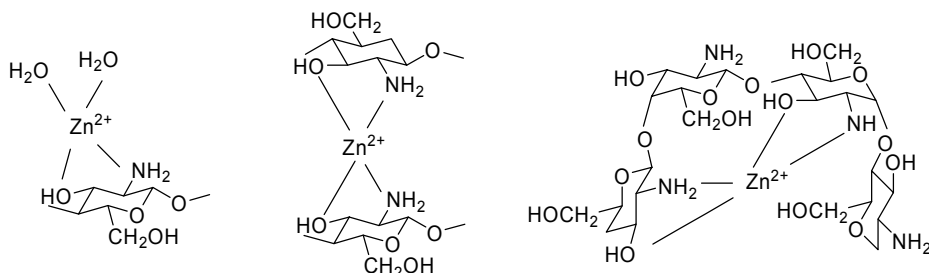
Dále byla připravena série nízkomolekulárních *N*-[2-(dodec-2-en-1-yl)sukcinoyl]chitosanů reakcí chitosanu (4,6 kDa), s 2-(dodec-2-en-1-yl)sukcinanhydridem (obr. 6). Tyto deriváty s dlouhým alifatickým řetězcem a různým stupněm *N*-substituce jsou účinné proti *Escherichia coli*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Enterobacter agglomerans*, *Bacillus subtilis*, *Candida kruisei* a *Fusarium oxysporum*⁴⁰.

Antibakteriální vlastnosti chitosanu mohou významně zvýšit stříbrné ionty, až o 98 % (cit.²⁰). Samotné stříbro a jeho ionty jsou známy svou antibakteriální účinností⁴¹. Proto byly připraveny komplexy thioamočovinného chitosanu připraveného reakcí chitosanu s thiokyanátem amonným v ethanolu (schéma 5). Je zajímavé, že se stříbrem koordinuje svými volnými elektrony síra, nikoliv dusík. Tyto komplexy vykázaly široké spektrum antimikrobiální účinnosti. Minimální inhibiční koncentrace byly 20× nižší než u samotného chitosanu, komplex měl vyšší antibakteriální než antifungální účinnost⁴².

Mnoho výzkumů se zabývá kombinací chitosanu a jiného antibakteriálního činidla. Např. konjugáty s tetra-



Obr. 7. Chitosan-isoniazid-hemisukcinát



Obr. 8. Struktury zinečnatých komplexů

cyklinem a karminomycinem si plně zachovaly antibakteriální účinnost⁴³. Tablety nebo tobolky metronidazolu se používají k léčbě *Helicobacter pylori*. Pro lepší uvolňování z žaludku byl zabudován do chitosanových tobolek⁴⁴.

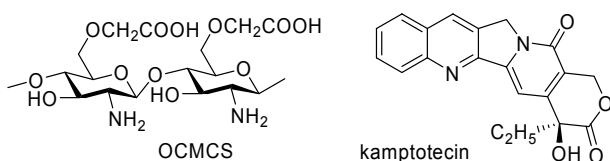
Chitosan byl použit k syntéze polymerního proléčiva isoniazidu (INH), důležitého antituberkulotika, pro prodloužení doby působení. Díky své rozpustnosti ve vodě se může podávat intravenózně. Kondenzace s INH vyžadovala dvoustupňovou syntézu. Nejprve byla provedena funkcionalizace chitosanu kyselinou fosforitou a částečná formylace volných aminoskupin. Isoniazid byl substituován sukcinanhydridem na sukcinyl isoniazid, který pak reakcí s chitosanem poskytl chitosan-isoniazid-hemisukcinát (obr. 7, cit.⁴⁵).

Monomerní alginát sodný byl pospojován chloridem vápenatým a poté pokryt chitosanem. Tento materiál se používá k léčbě ran i popálenin. Použití chitosanu při léčbě ran podporuje růst fibroblastů a působí na aktivitu makrofágů, což urychluje léčebný proces⁴⁶. Z dalších léčiv, která byla navázána na tento komplex, lze jmenovat ciprofloxacin⁴⁶, norfloxacin⁴⁷ a gatifloxacin⁴⁸.

Pokud chitosan reaguje s roztokem chloridu zinečnatého, vytváří cheláty s aminoskupinami různým způsobem (obr. 8). Tyto komplexy vykazují široké spektrum antimikrobiální účinnosti, jsou 2–8 krát účinnější než chitosan⁴⁹.

3.2. Protinádorová aktivita

Protinádorová účinnost chitosanu závisí na jeho molekulové hmotnosti, rozpustnosti a obsahu acetylových skupin. Vysokomolekulární chitosan je neúčinný, proto je třeba připravit chitosan o nižší molekulové hmotnosti. Ke štěpení polymerů chitosanu jsou nejčastěji používány přirozené enzymy chitosanasy a chitinasy³. Pro hydrolyzu lze využít i několika dalších levnějších hydrolytických enzymů, např. lysozymu⁵⁰, pektinasy⁵¹, hemicellulasy⁵² a papainu⁵³. Pro přípravu chitosanu rozpustného ve vodě byl použit také *Bacillus amyloliquefaciens* V656 obsahující chitinasu⁵⁴. Získané hexamery vykázaly protinádorovou aktivitu, inhibovaly růst buněk adenokarcinomu CT26 u myši a indukovaly apoptózu. Hydrolyzáty indukují charakteristickou DNA fragmentaci buněk CT26. Po částečné hydrolyze *N*-acetylovaného chitosanu celulósou⁵⁵ se změnila krystalová struktura, termostabilita a zvýšila se rozpustnost ve vodě bez změny chemické struktury. Částečně



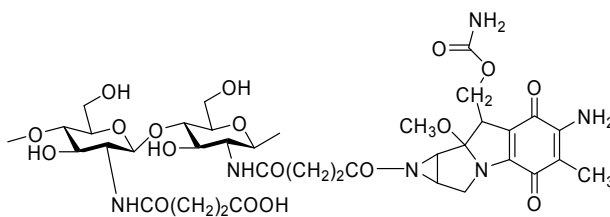
Obr. 9. Chitosan-kamptotecin

acetylovaný nízkomolekulární chitosan, hexamery a heptamery chitosanu a chito oligosacharidy vykazují protinádorovou účinnost u sarkomu 180 po intraperitoneálním a perorálním podání. Hlavním cílem výzkumu v této oblasti je objasnění vlastností nízkomolekulárních chitosanů, jejich působení na inhibici angiogeneze a indukce apoptózy u Erichova ascitického tumoru u myši. Po intraperitoneální injekci buňky tohoto nádoru ztrácejí v důsledku indukce apoptózy až 90 % kapalné fáze⁵⁶.

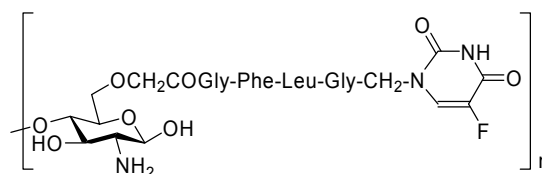
Na buněčné linii 293 a HeLa byly testovány různé poměry chitosanu a pentahydrátu síranu měďnatého (1:1.56, 1:0.8, a 1:0.4). Měďnatý komplex interaguje s DNA, což způsobí rozštěpení DNA a protinádorovou účinnost. Chelatace měďnatých iontů vede k zesílení pozitivního náboje na aminoskupině chitosanu. Komplex inhibuje rozmnožování buněk v S fázi růstového cyklu obou linií. K buňkám linie 293 byl komplex selektivnější než k buňkám HeLa; na normální plicní buněčné linii HLF nepůsobí. Nejvyšší aktivitu vykázal při poměru 1:0,4. Účinnost tedy závisí na koncentraci iontů v komplexu⁵⁷.

Chitosan se používá především jako nosič protinádorové látky na místo účinku. Kamptotecin je alkaloid a protirakovinné léčivo. Je velmi účinný při léčbě nádoru žaludku, tlustého střeva a močového měchýře, jeho nevýhodou je špatná rozpustnost a toxicita. Kamptotecinové alkaloidy blokuji topoisomerasu I, enzym důležitý pro replikaci DNA. Při inhibici topoisomerasy I je zablokováno rozpletení dvojitého vlákna DNA a řetězec DNA se rozpadá. Agregací s *O*-(karboxymethyl)chitosanem (OCMCS) byl připraven biokompatibilní a amfifilní systém pro řízené uvolňování látky v cílové tkáni, (obr. 9, cit.⁵⁸).

Dalším známým léčivem proti leukemii P388, leukemii L1210 a melanomu B16 je mitomycin C. Poškozuje DNA způsobem podobným alkylačním cytostatikům. Jako nosič byl použit *N*-sukcinylochitosan, který je netoxický při koncentraci 2 g kg⁻¹ i.p. a protinádorově neaktivní. Reakcí *N*-sukcinylochitosanu a mitomycinu C za použití vodního karbodiimidu byl připraven konjugát, který není nutné podávat i.p. (obr. 10, cit.^{59,60}).

Obr. 10. Konjugát *N*-sukcinylochitosanu a mitomycinu C

5-Fluoruracil (5FU) patří do skupiny antimetabolitů, který je používán již řadu let. Má však nepříjemné vedlejší účinky. Pro jejich snížení za zachování protinádorové aktivity byl navázán na chitosan přes hexamethylenový můstek a močoviny zbytek. Konjugát chitosan/močovina/C6/močovina/5FU a chitosan-oligosacharid/močovina/C6/močovina/5FU konjugát vykazovaly silnou inhibiční aktivitu vůči Meth-A fibrosarkomu a MH-134Y hepatomu. Ve vodě rozpustné makromolekuly se do buňky dostávají endocytózou a fagocytózou. Nádorové buňky přijímají více těchto makromolekul. V lysosomech nádorových buněk je přítomno zvýšené množství lysosomové proteasy – kathepsinu B. Bylo zjištěno, že tetrapeptidový spojovací článek Gly-Phe-Leu-Gly umožňuje specifické uvolňování léčiva v lysosomech tímto enzymem, a proto byl 5FU konjugován s částečně acetylovaným *O*-(methoxykarbonyl)chitosanem (obr. 11, cit.⁶¹).

Obr. 11. Konjugát *O*-(karboxymethyl)chitosanu a Gly-Phe-Leu-Gly-5-fluoruracilu

Doxorubicin je antracyklinové protinádorové antibiotikum s širokým spektrem protinádorové aktivity. Působí blokádu enzymu topoisomerasy II, který se podílí na změnách v prostorovém uspořádání DNA při její replikaci před dělením buňky. Při blokadě topoisomerasy II se nespojují jednotlivé části DNA a ta se rozpadá. Pro velmi silné vedlejší účinky (kardiotoxicita), nízkou stabilitu a špatnou rozpustnost ve vodě byl připraven jako několikvrstvé mikrotobolky obsahující chitosan a alginát vázané na (karboxymethyl)celulose dotované koloidními částicemi uhličitanu vápenatého⁶². Enkapsulace léčiva efektivně indukuje apoptózu HepG2 nádorových buněk.

3.3. Antioxidační aktivita

Antioxidanty jsou látky, které zpomalují nebo brání oxidaci oxidovatelných buněčných substrátů. Zachytávají radikály a ROS (reaktivní kyslíkové species) obsahující reaktivní kyslíkové atomy, zahrnující hydroxylový radikál •OH, superoxidový radikál •O₂⁻ a peroxid vodíku H₂O₂. Tyto radikály jsou velmi nestabilní a reagují rychle s jinými látkami v těle, což vede k poškození buněk a tkání. Antioxidanty působí proti tvorbě volných radikálů a ROS nebo aktivují celou řadu detoxikujících proteinů.

V posledních letech je věnována velká pozornost také antioxidační účinnosti chitosanu. Tato účinnost rovněž závisí na velikosti molekuly a stupni acetylace^{63–65}. Nízkomolekulární, částečně *N*-acetylovaný chitosan rozpustný ve vodě je možné považovat za přírodní antioxidant. I když přesný mechanismus jeho antioxidační účinnosti

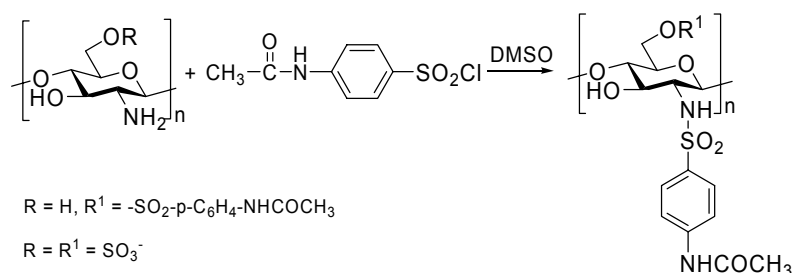


Schéma 6. Sulfatované deriváty chitosanu o molekulové hmotnosti 4000 Da a 20 000 Da

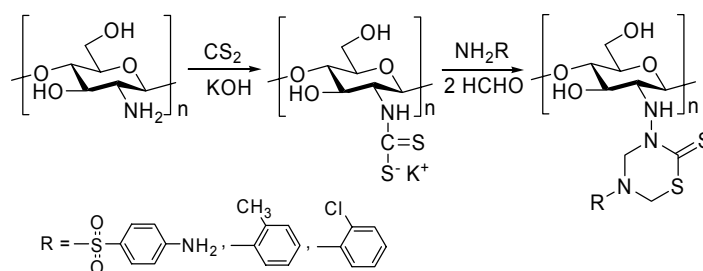


Schéma 7. Příprava 1,3,5-thiadiazin-2-thionových derivátů chitosanu

není znám, předpokládá se, že amino a hydroxyskupiny vázané na C-2, C-3 a C-6 pyranosového cyklu reagují s radikály za tvorby stabilnějších polymerních radikálů. Účinnost pravděpodobně souvisí s chelatačními vlastnostmi chitosanu, které vedou ke zpomalení oxidace lipidů⁶⁶. Chitosan inhibuje peroxidaci linolenové kyseliny, vykazuje vysokou aktivitu vůči hydroxylovým radikálům (83,7 %, cit.⁶⁷).

Xing a spol.⁶⁸ publikovali antioxidační aktivitu různých druhů sulfatovaných chitosanů při reakci s radikály. Byly připraveny sulfáty a sulfanilamidové deriváty chitosanu o různých molekulových hmotnostech (schéma 6). Výsledky ukázaly, že zavedení sulfanilamidové skupiny zvyšuje nejenom rozpustnost, ale i antioxidační aktivitu⁶⁹.

Glutathion jako známý přírodní antioxidační peptid obsahující síru inspiroval přípravu celé řady sirných obměn. Do chitosanu byly zavedeny 1,3,5-thiadiazin-2-

-thionové deriváty obsahující dva typy síry s potenciální antioxidační aktivitou⁷⁰ (schéma 7).

Eugenol (4-allyl-2-methoxy-fenol) byl zabudován do molekuly chitosanu (schéma 8), aby zvýšil jeho antioxidační účinnost svými fenolickými hydroxyskupinami. Zavedením objemného substituentu se snížila citlivost na pH a zvýšila se inhibice iniciace a propagace oxidačních řetězových reakcí⁷¹.

Částečně kvarternizované deriváty chitosanu s kyselinou gallovou vykazovaly účinnost proti superoxidům⁷². Superoxidový anion $\cdot\text{O}_2^-$ vzniká téměř ve všech buňkách a je hlavní příčinou toxicity kyslíku. V porovnání s ostatními kyslíkovými radikály má superoxidový radikál dlouhou životnost a je tedy mnohem nebezpečnější.

Stejně jako u antibakteriálně účinných derivátů chitosanu byla kvůli zvýšení antioxidační účinnosti aminoskupina chitosanu alkylována ethylem, 2-(dimethylamino)

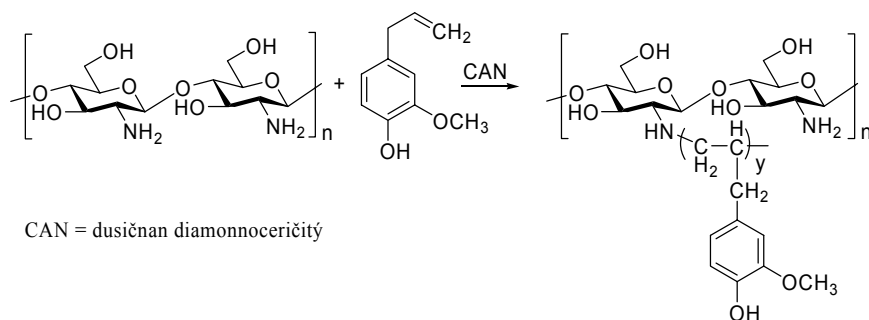
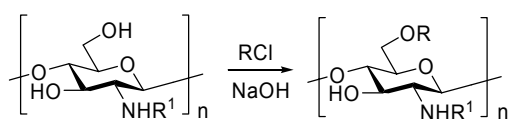


Schéma 8. Eugenolový polymer chitosanu



AEC: R = $-(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2$; R¹ = H, COCH₃
 DMAEC: R = $-(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$; R¹ = H, COCH₃
 DEAEC: R = $-(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$; R¹ = H, COCH₃

Schéma 9. Alkylace chitosanu

ethylem a 2-(diethylamino)ethylem⁷³. Antioxidační účinnost závisí na stupni deacetylace chitinu a typu substituce. Nejúčinnější lapač ROS volných radikálů se ukázal AEC90, což je 90% deacetylovaný *N*-aminoethylovaný chitosan mající nejvyšší procento volných aminoskupin (schéma 9).

5-Chlor-2-hydroxybenzaldehyd a 2-hydroxy-5-nitrobenzaldehyd byly použity pro přípravu Schiffových bází s aminoskupinami chitosanu a (karboxymethyl)chitosanu (schéma 10, cit.⁷⁴). Přestože byla do molekuly vnesena fenolická hydroxyskupina, antioxidační účinnost vůči superoxidovému a hydroxylovému radikálu se nezvýšila. Z toho vyplývá, že pro tuto účinnost je nezbytná především volná aminoskupina, i když hydroxyskupiny u předchozích derivátů působily stimulačně.

4. Závěr

Chitosan vykazuje celou řadu biologických aktivit. Podle narůstajícího počtu publikací v posledních letech lze usuzovat, že jde o velice perspektivní polykationtový polysacharid s širokým potenciálem využití v nejrůznějších aplikacích. V oblasti farmacie je jeho budoucnost především v roli biodegradabilního nosiče léčiv různých farmakologických skupin s možností jejich modifikace pro cílovou tkáň, odstranění některých nežádoucích vlastností léčiva a zvýšení biodostupnosti léčiva.

Tato práce byla podpořena projekty MSM 0021620822 a GAUK 76807/2007.

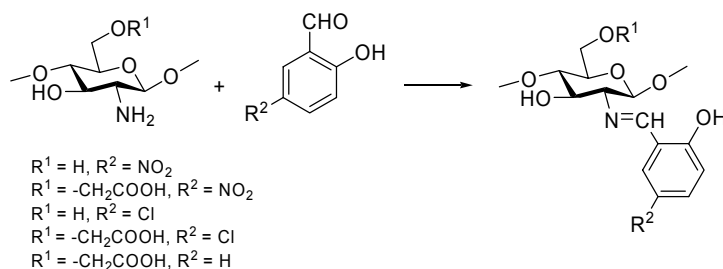


Schéma 10. Příprava Schiffových bází

LITERATURA

1. Tokuyasu K., Ohnishi-Kameyama M., Hayashi K.: *Biosci., Biotechnol., Biochem.* 60, 1598 (1996).
2. Hu K. J., Hu J. L., Ho K. P., Yeung K. W.: *Carbohydr. Polym.* 58, 45 (2004).
3. Uraganu T., Tokata S. (ed.): *Material Science of Chitin and Chitosan*. Springer, New York 2006.
4. Vinšová J., Vavříková E.: *Chem. Listy* 101, 978 (2007).
5. Koide S. S.: *Nutr. Res. (N. Y.)* 18, 1091 (1998).
6. Clark G. L., Smith A. F.: *J. Phys. Chem.* 40, 863 (1937).
7. Okuyama K., Noguchi K., Miyazawa T., Yui T., Ogawa K.: *Macromolecules* 30, 5849 (1997).
8. Yui T., Imada K., Okuyama K., Obata Y., Suzuki K., Ogawa K.: *Macromolecules* 27, 7601 (1994).
9. Chun H. K., Jang W. C., Heung J. C., Kyu S. C.: *Polym. Bull.* 38, 387 (1997).
10. Fernandez-Saizn P., Ocio M. J., Lagaron J. M.: *Biopolymers* 83, 577 (2006).
11. Tsai G. J., Su W. H.: *J. Food Prot.* 62, 239 (1999).
12. Liu H., Du Y., Wang X., Sun L.: *Int. J. Food Microbiol.* 95, 147 (2004).
13. Chen Y. L., Chou C. C.: *Food Microbiol.* 22, 29 (2005).
14. Helander I. M., Nurmiäho-Lassila E. L., Ahvenainen R., Rhoades J., Roller, S.: *Int. J. Food Microbiol.* 71, 235 (2001).
15. Zheng L. Y., Zhu J. F.: *Carbohydr. Polym.* 54, 527 (2003).
16. Jia G., Wang H. L., Wu J. C. G., Lin J. G.: *Acta Pharmacol. Sin.* 27, 932 (2004).
17. Liu N., Chen X. G., Park H. J., Liu C. G., Liu C. S., Meng X. H., Yu L. J.: *Carbohydr. Polym.* 64, 60 (2006).
18. Tokura S., Ueno K.: *Macromol. Symp.* 120, 1 (1997).
19. Yang T. C., Chou C. C., Li C. F.: *Int. J. Food Microbiol.* 97, 237 (2005).
20. No H. K., Park N. Y., Lee S. H., Meyers S. P.: *Int. J. Food Microbiol.* 74, 65 (2002).
21. Chung Y. C., Kuo C. L., Chen C. C.: *Bioresour. Technol.* 96, 1473 (2005).

22. Jia Z., Shen D., Xu W. *Carbohydr. Res.* 333, 1 (2001).
23. Xie W., Xu P., Wang W., Liu Q.: *Carbohydr. Polym.* 50, 35 (2002).
24. Muzzarelli R., Tarsi R., Filippini O., Giovanetti E., Biagini G., Varaldo P. E.: *Antimicrob. Agents Chemother.* 34, 2019 (1990).
25. Liu X. F., Guan Y. L., Yang D. Z., Li Z., Yao K. D.: *J. Appl. Polym. Sci.* 79, 1324 (2001).
26. Wang L. C., Chen X. G., Zhoní D. Y., Xu Q. C.: *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 18, 1125 (2007).
27. Jayakumar R., Nwe N., Tokura S., Tamura H.: *Int. J. Biol. Macromol.* 40, 175 (2007).
28. Huang R., Du Y., Zheng L., Liu H., Fan L.: *React. Funct. Polym.* 59, 41 (2004).
29. Kurita K., Kojima T., Nishiyama Y., Shimojoh M.: *Macromolecules* 33, 4711 (2000).
30. Guo Z., Xing R., Liu S., Zhong Z., Ji X., Wang L., Li P.: *Carbohydr. Res.* 342, 1329 (2007).
31. Runarsson O. V., Holappa J., Nevalainen T., Hjalmarsson M., Jarvinen T., Loftsson T., Einarsson J. M., Jonsdottir J., Valdimarsdottir M., Massona M.: *Eur. Polym. J.* 43, 2660 (2007).
32. Avadi M. R., Sadeghi A. M. M., Tahzibi A., Bayati Kh., Pouladzadeh M., Zohuriaan-Mehr M. J., Rafiee-Tehrani M.: *Eur. Polym. J.* 40, 1355 (2004).
33. Chi W., Qin C., Zeng L., Li W., Wang W.: *J. Appl. Polym. Sci.* 103, 3851 (2007).
34. Xie Y., Liu X., Chen Q.: *Carbohydr. Polym.* 69, 142 (2007).
35. Saravanan S., Selvan P. S., Gopal N., Gupta J. K., De B.: *Arch. Pharm.* 338, 488 (2005).
36. Caner H., Yilmaz E., Yilmaz O.: *Carbohydr. Polym.* 69, 318 (2007).
37. Hu Y., Du Y., Yang J., Kennedy J. F., Wang X., Wang L.: *Carbohydr. Polym.* 67, 66 (2007).
38. Mi F. L., Yu S. H., Peng C. K., Sung H. W., Shyu S. S., Liang H. F., Huang M. F., Wang C. C.: *Polymer* 47, 4348 (2006).
39. Yang T. C., Chou C. C., Li C. F.: *Int. J. Food Microbiol.* 97, 237 (2005).
40. Tikhonov V. E., Stepnova E. A., Babak V. G., Yamskov I. A., Palma-Guerrero J., Jansson H. B., Lopez-Llorca L. V., Salinas J., Gerasimenko D. V., Avdienko I. D., Varlamov V. P.: *Carbohydr. Polym.* 64, 66 (2006).
41. Kang H. Y., Jung M. J., Jeong Y. K.: *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 15, 521 (2000).
42. Chen S., Wu G., Zeng H.: *Carbohydr. Polym.* 60, 33 (2005).
43. Krysteva M., Todorova N. P., Maneva K., Todorov D., Dimnitrov C.: *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 14, 178 (1999).
44. Ishak R. A. H., Awad G. A. S., Mortada N. D., Nour S. A. K.: *J. Controlled Release* 119, 207 (2007).
45. Rando D. G., Brandt C. A., Ferreira E. I.: *Braz. J. Pharm. Sci.* 40, 335 (2004).
46. Ozturk E., Agalar C., Kececi K., Denkbaz E. B.: *J. Appl. Polym. Sci.* 101, 1602 (2006).
47. Denkbaz E. B., Ozturk E., Ozdemir N., Kececi K., Agalar C.: *J. Biomater. Appl.* 18, 291 (2004).
48. Zhu A., Jin W., Juan L., Yang G., Yu H., Wu H.: *Carbohydr. Polym.* 68, 693 (2007).
49. Wang X., Du Y., Liu H.: *Carbohydr. Polym.* 56, 21 (2004).
50. Varum K. M., Holme H. K., Izume M., Stokke B. T., Smidsrod X.: *Biochim. Biophys. Acta* 1291, 5 (1996).
51. Shin-ya Y., Lee M. Y., Hinode H., Kajiuchi T.: *Biochem. Eng. J.* 7, 85 (2001).
52. Qin C., Du Y., Xiao L., Li Z., Gao X.: *Int. J. Biol. Macromol.* 31, 111 (2002).
53. Pantaleone D., Yalpani M., Scollar M.: *Carbohydr. Res.* 237, 325 (1992).
54. Liang T. W., Chen Y. J., Yen Y. H., Wang S. L.: *Process Biochem.* 42, 527 (2007).
55. Qin C., Zhou B., Zeng L., Zhang Z., Liu Y., Du Y., Xiao L.: *Food Chem.* 84, 107 (2004).
56. Prashanth K. V. H., Tharanathan R. N.: *Biochim. Biophys. Acta* 1722, 22 (2005).
57. Zheng Y., Yi Y., Qi Y., Wang Y., Zhang W., Du M.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16, 4127 (2006).
58. Aiping Z., Jianhong L., Wenhui Y.: *Carbohydr. Polym.* 63, 89 (2006).
59. Song Y., Onishi H., Machida Y., Nagai T.: *J. Controlled Release* 42, 93 (1996).
60. Song Y., Onishi H., Nagai Sue T.: *Int. J. Pharm.* 98, 121 (1998).
61. Ouch T., Tada M., Ohya Y., Hasegawa K., Arai Y., Kadowaki K., Akao S., Matsumoto T., Suzuki S., Suzuki M.: *React. Funct. Polym.* 37, 235 (1998).
62. Zhao Q., Han B., Wang Z., Gao C., Peng C., Shen J.: *Nanomedicine NBM* 3, 63 (2007).
63. Kim K. W., Thomas R. L.: *Food Sci.* 101, 308 (2007).
64. Chien P. J., Sheu F., Juany W. T., Su M. S.: *Food Chem.* 102, 1192 (2007).
65. Koryagin A. S., Erofeeva E. A., Yakimovich N. O., Aleksandrova E. A., Smirnova L. A., Malkov A. V.: *Pharmacol. Toxicol.* 142, 444 (2006).
66. Peng C., Wang Y., Tang Y.: *J. Appl. Polym. Sci.* 70, 501 (1998).
67. Feng T., Du Y., Wei Y., Yao P.: *Eur. Food Res. Technol.* 225, 133 (2007).
68. Xing R. E., Yu H. H., Liu S., Zhang W. W., Zhang Q. B., Li Z. E., Li P. C.: *Bioorg. Med. Chem.* 13, 1387 (2005).
69. Zhong Z., Ji X., Xing R., Liu S., Guo Z., Chen X., Li P.: *Bioorg. Med. Chem.* 15, 3775 (2007).
70. Ji X., Zhong Z., Chen X., Xing R., Liu S., Wang L., Li P.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 4275 (2007).
71. Jung B. O., Chung S. J., Lee S. B.: *J. Appl. Polym. Sci.* 99, 3500 (2006).
72. Sun T., Xie W., Xu P.: *Carbohydr. Polym.* 58, 379 (2004).
73. Je J. Y., Kim S. K.: *Bioorg. Med. Chem.* 14, 5989 (2006).
74. Guo Z., Xing R., Liu S., Yu H., Wang P., Li C., Li P.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15, 4600 (2005).

E. Vavříková and J. Vinšová (*Department of Inorganic and Organic Chemistry, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové*): **Chitosan and Its Pharmaceutical Applications**

Chitosan is a prospective cationic polysaccharide which shows a number of functions in many fields, including biomedical, pharmaceutical, preservation, microbial

and others. In this review, we have summarized three main areas of its biomedical applications due to its antimicrobial, anticancer, and antioxidant effects. The applications are influenced by a number of factors such as its polymerization degree, the degree of chitin deacetylation and some other physicochemical properties. The biodegradable, non-toxic and non-allergenic nature of chitosan suggests its use as a carrier in drug delivery systems.

Děkan přírodovědecké fakulty UK vypisuje konkurs na přijetí do doktorského studia

v následujících oborech:

analytická chemie, anorganická chemie, biochemie, fyzikální chemie, makromolekulární chemie, modelování chemických vlastností nano- a biostruktur, organická chemie a vzdělávání v chemii.

Studium bude zahájeno 1. 10. 2009. Podmínkou přijetí je absolvování VŠ ve shodném nebo blízkém studijním oboru. Přihlášky a podrobné informace jsou na adrese: PřF UK, oddělení doktorského studia, Albertov 6, 128 43 Praha 2, tel.. 221951162, 221951163. Přihlášky se přijímají do 30. 4. 2009.

PRINCIPY UVOLŇOVÁNÍ LÉČIV Z PERORÁLNÍCH MATRICOVÝCH TABLET OBSAHUJÍCÍCH HYPROMELOSU

KATEŘINA DVOŘÁČKOVÁ

Ústav technologie léků, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1/3, 612 42 Brno
 dvorackovak@vfu.cz

Došlo 25.9.08, přijato 8.12.08.

Klíčová slova: matricové tablety, hypromelosa, řízené uvolňování, plniva, cyklodextriny, interakce, modifikátory pH

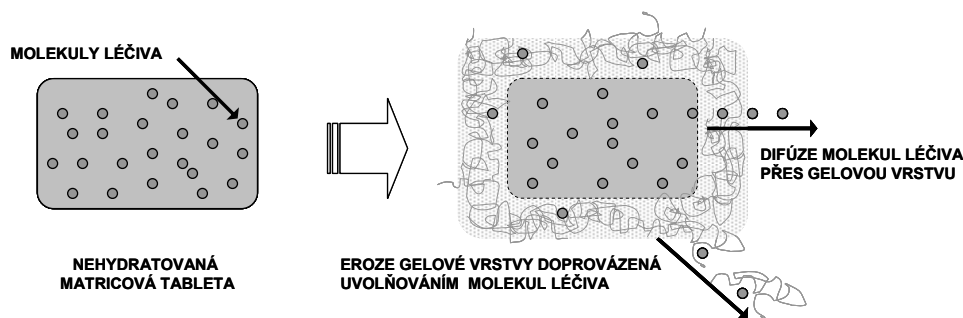
Obsah

1. Úvod
2. Ovlivnění propustnosti gelové vrstvy
3. Zvýšení rozpustnosti léčivé látky
4. Interakce složek matrice
5. Změna pH v mikroprostředí tablety
6. Závěr

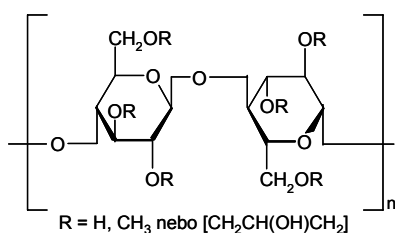
1. Úvod

Perorální tablety s řízeným uvolňováním léčiva jsou nedílnou součástí dnešní farmakoterapie. Ve srovnání s konvenčními lékovými formami mají celou řadu terapeutických a farmakokinetických výhod¹. K nejdůležitějším z nich patří optimální přívod léčivé látky do organismu požadovanou rychlostí v určeném časovém intervalu. Včleněním do vhodné lékové formy pak léčivá látka vykazuje prodloužené, zpožděné nebo pulzní uvolňování a úči-

nek. Tablety mohou být zásobníkového nebo matricového typu. U zásobníkového typu je za způsob uvolňování léčiva zodpovědný polymerní obal. Nerozpustné obaly z amonioalkylmethakrylátových polymerů nebo ethylcelulosity zajišťují prodloužené uvolňování léčiva, obaly rozpustné při hodnotě pH vyšší než 6 (např. celacefát nebo aniontové kopolymery kyseliny methakrylové s ethylakrylátem, methylakrylátem nebo methylmethakrylátem) uvolňování zpožděné, tj. absorpci léčivé látky až ve střevním traktu. Matricový typ tablety představuje nejjednodušší design lékové formy s řízeným uvolňováním. Je tvořen léčivem rovnoměrně rozptýleným v nosné pomocné látce. Ta řídí uvolňování léčiva, v některých případech s pomocí dalších aditiv, např. plniv, kluzných a antiadhezivních látek. Podle charakteru nosné pomocné látky můžeme rozlišit polymerní nerozpustné (skeletové), lipofilní, hydrofilní gelové, popř. směsné – tzv. hydrofilně-lipofilní matricové tablety². Kombinované formy mají matricové jádro a polymerní obal a na řízeném uvolňování se podílejí obě složky. Základem hydrofilních matricových systémů je hydrofilní polymer, který při styku s vodou nebo hydrofilními kapalinami bobtná a na povrchu vytváří gelovou vrstvu řídicí uvolňování léčiva z matrice³. Léčivá látka se z matrice uvolňuje na základě kombinace difuze molekul rozpuštěného léčiva gelovou vrstvou, která převažuje u snadno rozpustných látek, a eroze gelové vrstvy, která je charakterističtější pro látky těžce rozpustné až prakticky nerozpustné ve vodě (obr. 1)⁴⁻⁶. Tableta funguje jako jeden systém a její vlastnosti závisí především na vlastnostech polymerního nosiče a vlastnostech léčivé látky, které mohou být do jisté míry upraveny dalšími aditivy tak, aby splňovaly požadované farmakologické vlastnosti a stabilitu². Mezi používané hydrofilní polymery patří látky původu přírodního (např. kyselina alginová a alginany, karageny, arabská guma, pektiny, galaktomanany, ispagula, xantánová guma), polosyntetického (deriváty celulosity a chitosan) nebo syntetického (karbomery, povidon, polyvinylalkohol, poloxamery).



Obr. 1. Schematické znázornění mechanismů uvolňování léčiva z hydrofilní gelové matrice



Obr. 2. Strukturální vzorec hypromelosity

Mezi nejčastěji používané polymerní nosiče pro hydrofilní gelové matrice patří hypromelosa (hydroxypropylmethylcelulosa – HPMC)⁷. Chemicky se jedná o částečně *O*-methylovanou a *O*-hydroxypropylovanou celulosu⁸ (obr. 2). Jednotlivé typy HPMC, totiž K, E, F, se vzájemně liší poměrem výše uvedených skupin. Vliv HPMC na zpomalení uvolňování léčiv souvisí s její schopností velmi rychle vytvářet viskózní gelovou vrstvu. Typ K s obsahem 19–24 % methoxylových skupin a 7–12 % hydroxypropoxylových skupin hydratuje nejrychleji, proto se také v perorálních matricích využívá nejčastěji, zejména v kvalitě CR (controlled release) s ultrajemnými částicemi. Jednotlivé typy HPMC se vyrábějí v různých viskozitních stupních, např. 4M, 15M, 100M, lišících se viskozitou svých roztoků i rigiditou vzniklých gelových vrstev⁴. Mezi nesporné výhody HPMC patří odolnost vůči působení enzymů a stabilita v širokém rozmezí pH (3–11), zdravotní nezávadnost, nedráždivost⁹, snadná lisovatelnost¹⁰ aj. Na trhu je dostupná pod obchodními názvy Methocel[®], Metolose[®], Pharmacoat[®] (cit.⁷).

Vlastnosti gelové vrstvy matricové tablety ovlivňuje celá řada faktorů, jejichž cílenou změnou lze ovlivňovat liberaci léčiva z matricových tablet. Mezi faktory související s použitou polymerní látkou patří např. typ polymeru, jeho koncentrace, viskozitní stupeň, stupeň substituce, molekulová hmotnost, velikost částic polymeru, rychlost hydratace polymeru apod. U včleněného léčiva je důležitá jeho chemická struktura, rozpustnost, velikost částic^{11,12}, polymorfismus^{13,14} atd. Další možností je přidání farmaceutických pomocných látek – aditiv¹⁵, která ovlivňují uvolňování léčiv svými fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Mohou působit na základě své rozpustnosti (rozpustná a nerozpustná plniva), zvyšovat rozpustnost léčiva (cyklodextriny), interagovat s ostatními složkami matrice (polymery, iontoměniče, tenzidy) nebo měnit pH mikroprostředí tablety (kyselé a zásadité modifikátory pH). Vlastnosti gelové vrstvy lze dále ovlivňovat např. tvarem matrice nebo použitou lisovací silou, tj. pevností výlisků. Tato přehledová práce je zaměřena na možnosti ovlivnění disolučního profilu léčiv z HPMC matricových tablet přidáním aditiv.

2. Ovlivnění propustnosti gelové vrstvy

Jak je uvedeno výše, ke zlepšení technologických i liberačních charakteristik léků s řízeným uvolňováním mohou přispívat přidané farmaceutické pomocné látky, např. plniva¹⁶. Přidání těchto aditiv patří vedle typu a koncentrace nosného polymeru do skupiny formulačních proměnných⁶. Přidání plniva do polymerní matrice vede zpravidla k rychlejšímu uvolňování léčivých látek, v případě rozpustných plniv (např. laktosa, sacharosa) bývá účinek výraznější než u plniv nerozpustných (např. fosforečnan vápenatý)¹⁷, protože je podpořen jejich osmotickou aktivitou¹⁸. Snížením vzájemného poměru polymer/plnivo se zvyšuje propustnost gelové vrstvy řídicí uvolňování léčiva v důsledku poklesu její viskozity. Obecně platí, že vliv plniv je výraznější u málo rozpustných léčiv v porovnání s léčivy dobře rozpustnými, u kterých je zpomalení liberace vždy obtížnější.

Lze to doložit konkrétními příklady hypromelosových matric s modelovými léčivy snadno rozpustnými (promethazin) až prakticky nerozpustnými (alprazolam). U matric se snadno rozpustným antihistaminikem promethazinem vedl pokles vzájemného poměru HPMC K15M: plnivo k rychlejšímu uvolňování léčivé látky v destilované vodě. Vliv rozpustnosti použitého plniva (laktosa, fosforečnan vápenatý) se výrazně neprojevil pravděpodobně díky dobré rozpustnosti promethazinu¹⁹. Podobné výsledky byly zveřejněny také u hypromelosových matric s obsahem mírně rozpustného β -blokátoru atenololu po přidání stejných plniv. Také v tomto případě se léčivo uvolňovalo rychleji s klesajícím poměrem HMPC/plnivo v disolučním prostředí pufrů s proměnlivou hodnotou pH (1,2 a 6,8) a rozpustnost plniva výrazně disoluční profil neovlivnila²⁰. Vliv dvou rozpustných plniv, tj. makrogolu 6000 a laktosu, na disoluční profil mírně rozpustného léčiva paracetamolu u hypromelosových (HPMC K15M) matric se hodnotil v prostředí fosforečnanového pufru o pH 6,8. Vliv přidaných plniv na disoluci léčiva se výrazně neprojevil ve srovnání s matricemi obsahujícími pouze HPMC. Přidání velmi snadno rozpustného makrogolu 6000 (1 g v 1 ml) neurychlilo disoluci léčiva pravděpodobně díky tomu, že tato pomocná látka vytváří velmi viskózní roztoky a spolu s HPMC brzdí uvolňování léčiva. Velmi malý vliv laktosu na disoluční profil mírně rozpustného léčiva je ve shodě s předešlými studiemi. Při hodnocení matricových tablet stejného složení *in vivo* se však vliv plniv na rychlost absorpce léčiva i jeho dosaženou plasmatickou koncentraci prokázal. Nejrychleji se léčivá látka absorbovala z matric obsahujících makrogol 6000, pomaleji z matric obsahujících laktosu a nejpomaleji z tablet bez hydrofilních plniv. Příčinu odlišného výsledku v podmínkách *in vitro* a *in vivo* autor vysvětluje rozdílnou mechanickou zátěží na lékovou formu při disoluční zkoušce (nižší zátěž) a v gastrointestinálním traktu zvířat (psů)²¹. Vliv škrobu, laktosu a jejich kombinace na uvolňování diklofenaku sodné soli z HPMC (K15M) matric byl sledován v prostředí fosforeč-

nanového tlumivého roztoku o pH 6,8, ve kterém je diklofenak sodná sůl těžce rozpustný. Použití škrobu výrazně urychlilo uvolnění léčiva ve srovnání se vzorky stejného složení obsahujícími laktosu. Účinek se vysvětluje desintegračním působením škrobu, který způsobil okamžité vniknutí disolučního média do matrice. Desintegrace tablety byla zastavena následným rychlým bobtnáním HPMC (cit.²²).

Pomocí plniv lze úspěšně modifikovat disoluční profil prakticky nerozpustného lipofilního léčiva alprazolamu z HPMC (K4M) matric. Při zkoušce disoluce v prostředí 0,1 M HCl se léčivo uvolňovalo rychleji při použití rozpustných plniv (rychlost klesala v pořadí: dextrosa, laktosa, sacharosa), pomaleji při použití plniv nerozpustných (rychlost klesala v pořadí: bezvodý fosforečnan vápenatý, síran vápenatý dihydrát, fosforečnan vápenatý dihydrát)¹³. U dextrosy hrála pozitivní roli její vysoká osmotická aktivita⁷, nejpomalejší uvolňování při použití fosforečnanu vápenatého dihydrátu bylo pravděpodobně způsobeno větší velikostí částic, díky níž se v hydratované matici tvořil menší počet pórů.

Hydrofobní pomocné látky, jako např. stearan hořečnatý, kyselina stearová, vosky a další, omezují smáčení povrchu matrice, snižují rychlost hydratace a zpomalují uvolňování léčiv^{16,23,24}. Tyto látky plní v maticích funkci antiadheziv, kluzných látek a tavitelných pojiv u termoplastické granulace.

3. Zvýšení rozpustnosti léčivé látky

Prostup léčivé látky gelovou vrstvou určuje do značné míry její rozpustnost. Ke zvýšení rozpustnosti léčiv lze využít snadno rozpustné pomocné látky, např. cyklodextriny (CD). Jsou to cyklické oligosacharidy, které vznikají enzymatickým odbouráním škrobu. Molekula CD má schopnost uzavírat jiné molekuly (tedy i molekuly léčivých látek) uvnitř svých chirálních kavit. Pomocí nekovalentních vazeb vznikají inkluzní komplexy²⁵.

Tyto komplexy se využily u hypromelosových matric s theofylinem. Porovnávaly se maticové tablety s HPMC K15M s léčivem bez obsahu cyklodextrinů a s β -cyklodextrinem. Matrice s CD uvolňovaly léčivo rychleji: 100 % obsaženého léčiva se uvolnilo za 6 h, vzorek stejného složení bez CD uvolnil za stejný časový interval pouze 60 % modelového léčiva²⁵. Jiným příkladem je těžce rozpustné antiepileptikum karbamazepin, které se z komplexu s β -CD uvolňovalo významně rychleji z 30% hypromelosové matrice, než z matrice obsahující pouze fyzikální směs¹⁴. V jiné studii nebyl vliv cyklodextrinu na uvolňování antiflogistika ketoprofenu (prakticky nerozpustného ve vodě)⁸ z hypromelosových matric (HPMC K4M, K100M) ve srovnání s identickými vzorky obsahujícími laktosu výrazný. Důvodem mohl být vysoký, téměř 60% obsah léčiva a pouze 20% obsah β -CD.

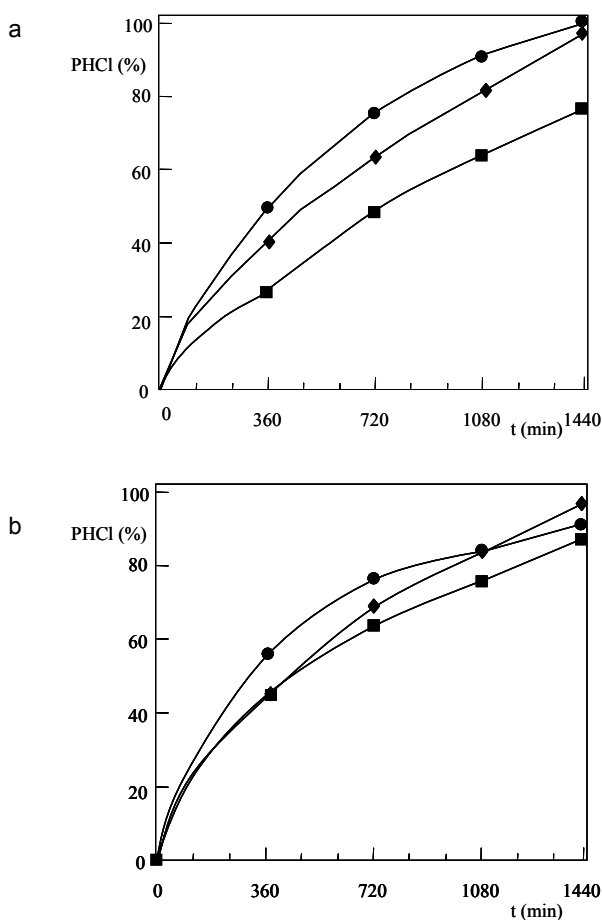
4. Interakce složek matrice

Další možností ovlivnění disolučního profilu léčiva z hypromelosových matric je jeho interakce s jinou složkou tablety. Interagovat mohou i polymerní nosiče mezi sebou. Těchto procesů se využívá u léčivých látek iontové povahy. Interaktivní produkty vznikají např. reakcí léčiv s iontovými polymery, iontoměníči nebo povrchově aktivními látkami²⁶. Změna disolučního profilu je dána zejména změnou rozpustnosti produktu a nárůstem jeho molekulové hmotnosti. Interaktivní produkt lze připravit před vlastním formováním maticových tablet nebo vzniká při technologické přípravě (vlhká granulace), případně ke vzniku dochází až při styku s hydrofilním prostředím po aplikaci lékové formy do organismu.

Většina léčivých látek má charakter slabých kyselin, slabých bází nebo jejich solí. Jejich uvolňování z perorální lékové formy v prostředí gastrointestinálního traktu s proměnlivou hodnotou pH je často nerovnoměrné. Jako příklad lze uvést propranolol-hydrochlorid, který je solí silné kyseliny a slabé báze s rozpustností výrazně závislou na pH. To vede k tomu, že se v prostředí o různém pH uvolňuje z HPMC (K100M) matric různou rychlostí (obr. 3a). Uvedený nedostatek je možné odstranit přidáním aniontového polymeru (např. kopolymeru kyseliny methakrylové a methyl-methakrylátu 1:1, tj. Eudragitu L[®], 1:2, tj. Eudragitu S[®], sodné soli karmelosy – NaCMC) do hypromelosové matrice. Po vzájemné interakci iontového léčiva a iontového polymeru se mění disoluční profil léčivé látky. Při poměru HPMC a Eudragitu L[®] 1:1 není již disoluční profil propranolol-hydrochloridu závislý na pH (obr. 3b)²⁷. U vzorků s obsahem HPMC, NaCMC a propranolol-hydrochloridu se uplatňuje pravděpodobně také vzájemná interakce mezi polymery. Kombinací neiontového polymeru (HPMC) a iontového polymeru (NaCMC) lze při optimálním poměru dosáhnout žádaného uvolňování léčivé látky kinetikou nultého řádu^{27–29}. Zpomalení disoluce léčiva se vysvětluje vznikem vodíkových vazeb mezi karboxylovými skupinami NaCMC a hydroxylovými skupinami HPMC^{30,31}, které zvyšují viskozitu gelové vrstvy tvořící se v hydrofilním prostředí na povrchu matrice.

Podobné výsledky jako u propranolol-hydrochloridu byly získány také u některých dalších hydrochloridů slabých bází, např. alprenolol-hydrochloridu³², oxprenolol-hydrochloridu³³ nebo diltiazem-hydrochloridu²⁸. U posledně jmenovaného velmi snadno rozpustného léčiva se uvolňování z matrice z kombinovaných polymerů HPMC (K15M) a NaCMC výrazně zpomalilo a probíhalo kinetikou nultého řádu (obr. 4).

Další možností je kombinace HPMC a aniontového karbomeru. Karbomery jsou aniontové polymery kyseliny akrylové zesíťované s polyalkenylethery cukrů nebo polyalkoholů³⁴, známé pod obchodním názvem Carbopol[®]. Karbomer a HPMC tvoří vodíkové vazby, podobně jako HPMC a NaCMC s následným zvýšením viskozity gelové vrstvy a zpomalením uvolňování léčiva. Zveřejněna



Obr. 3. Množství propranolol-hydrochloridu uvolněného z matricových tablet v disolučních prostředích o různém pH (■ pH 6,8; ◆ pH 1,2; ● voda): A – HPMC (25 %), B – HPMC (25 %) + Eudragit L[®] (35 %) (cit.²⁷)

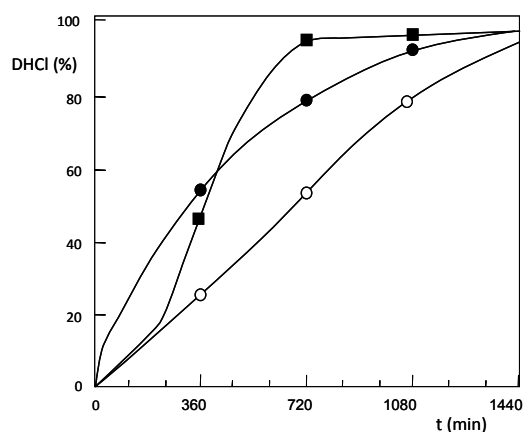
byla studie kombinace Carbopolu 940 a HPMC v matrici pro diklofenak sodnou sůl. Kombinací polymerů se dosáhlo pomalejšího uvolňování léčiva než v případě matric tvořených pouze jedním z nich³⁵.

Studiem vlivu iontoměníčů na uvolňování iontových léčiv (kationtový propranolol-hydrochlorid, aniontový diklofenak sodná sůl, neiontový guaifenesin pro porovnání výsledků) z hypromelosových matric (HPMC K15M) se zabýval Sriwongjanya a spol.³⁶ Jako iontoměníče byly použity silný katex Amberlite[®] IRP 69 (kopolymer sulfonovaného styrenu v Na cyklu a divinylbenzenu), slabý katex Amberlite[®] IRP 88 (kopolymer kyseliny methakrylové v K cyklu a divinylbenzenu) a silný anex Duolite[®] ATP 143 (cholestyramin). Výsledky potvrdily, že katex zpomaluje uvolňování pouze kationtového propranolol-hydrochloridu, anex pouze aniontového diklofenaku sodné soli a uvolňování neiontového guaifenesinu neovlivňoval žádný z nich. Zpomalená disoluce se týkala jak předem připravených komplexů léčivo-iontoměníč, tak i jejich

fyzikálních směsí. Je tedy zřejmé, že v případě fyzikální směsi se komplexy tvořily *in situ*. Výsledky byly prokazatelné ve fosforečnanovém tlumivém roztoku o pH 7,4; v destilované vodě se léčiva z matric neuvolnila pro absenci protiiontu, který by mohl nahradit kationt či aniont léčivé látky ve struktuře iontoměníče. Významným faktorem ovlivňujícím uvolňování iontových léčivých látek z komplexu s iontoměníčem je tedy iontová síla disolučního prostředí³⁷.

Vliv komplexu léčivo-tenzid na uvolňování léčivé látky z HPMC (K100M) matric potvrdil Feely a spol., který ve své práci sledoval jako modelová léčiva kationtový chlorfenamin-maleinát a aniontový salicylan sodný v hypromelosových matricích s následujícími tenzidy: natrium-*n*-oktyl-sulfátu, natrium-*n*-decyl-sulfátu, natrium-*n*-dodecyl-sulfátu, natrium-*n*-tetradecyl-sulfátu, natrium-*n*-hexadecyl-sulfátu, sodnými mýdly odvozenými od kyseliny laurové, palmitové, stearové a kaprylové a cetylpyridinium-chloridem. Z dosažených výsledků je zřejmé, že rychlost uvolňování chlorfenamin-maleinátu z matric klesala s rostoucím množstvím tenzidu v tabletě. Ionizace molekul léčiva i tenzidu se ukázala být významným faktorem. Přítomnost *n*-dodecyl-sulfátu v matrici neměla vliv na rychlost uvolňování salicylanu sodného jako představitele aniontového léčiva, zatímco cetylpyridinium-chlorid ji výrazně ovlivnil. To potvrzuje fakt, že vzájemně spolu mohou interagovat pouze opačně nabitě látky. Velká molekulová hmotnost komplexu a jeho nižší rozpustnost omezují možnost difuze gelovou vrstvou. Současně zvyšují podíl erozního procesu při uvolňování účinných látek z matricových tablet³⁸.

Záporně nabitě funkční skupiny tenzidu mohou, podobně jako je tomu u NaCMC či karbomeru, interagovat s hydroxylovými skupinami HPMC a významně zvýšit viskozitu gelové vrstvy formující se na povrchu matrice a řídicí rychlost uvolňování léčiva. Interakce byla potvrze-



Obr. 4. Množství diltiazem-hydrochloridu uvolněného z matricové tablety obsahující 36,6 % léčiva; ● HPMC, ○ HPMC:NaCMC – 1:1, ■ NaCMC v prostředí fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8 (cit.²⁸)

na např. v práci Dalyho a spol., který prokázal zpomalené uvolňování jak kationového léčiva chlorfenaminmaleinátu, tak aniontového léčiva z matric tvořených Synchrohem (nízkomolekulární modifikovaná HPMC) a natrium-dodecyl-sulfátem³⁹. Ionizace molekuly tenzidu a léčiva je i v tomto případě velmi významným faktorem.

5. Změna pH v mikroprostředí matrice

Většina léčivých látek, jak již bylo uvedeno, vykazuje rozpustnost výrazně závislou na pH. K zajištění vhodné rozpustnosti a konstantního uvolňování léčiv v jednotlivých částech GIT se mohou použít pufrovací pomocné látky – modifikátory pH. Včleněním takových látek se vytvářejí v matricové tabletě mikrooblasti s pH zajišťujícím rovnoměrnou rozpustnost léčivé látky bez ohledu na pH okolního prostředí. Optimalizují se tak podmínky pro uvolnění léčiva, jeho absorpci i biologickou dostupnost¹⁸.

Působení modifikátorů pH závisí na jejich vlastnostech, jako jsou rozpustnost, disoluce, ionizační konstanta, schopnost difuze gelovou vrstvou apod.⁴⁰ Efektivita modifikátoru se zvyšuje s jeho rostoucí silou, která je dána jeho disociační konstantou, a klesá s jeho rostoucí rozpustností v disolučním prostředí. Dobře rozpustné modifikátory účinkují spíše jako pomocné látky tvořící póry⁴¹. Najít pufrovací látku, která zajišťuje pro danou léčivou látku optimální pH po celou dobu setrvání matricové tablety v biosystému, je velmi obtížné. Pro modifikaci disolučního profilu léčiv se nízkomolekulární modifikátory mohou kombinovat s polymerními látkami s rozpustností závislou na pH. Řada modifikátorů patří mezi osmoticky aktivní látky. Při sledování vlivu rozdílné koncentrace takového modifikátoru na disoluční profil je optimální udržovat ve sledovaných vzorcích tablet konstantní iontovou sílu, např. přidávkou chloridu sodného⁴². Pouze při stejné iontové síle vzorků lze přesně sledovat vliv změny pH v matrici na uvolňování léčiva.

Slabé kyseliny a soli slabých kyselin a silných zásad jsou lépe rozpustné v alkalickém prostředí. Zásadité modifikátory pH se využívají pro dosažení jejich lepší rozpustnosti v kyselém pH, např. v oblasti žaludku (pH 1,0–3,5). Jako zásadité modifikátory se použily hydrogenfosforečnan sodný⁴², dihydrogenfosforečnan sodný⁴², uhličitan sodný^{41,43}, uhličitan vápenatý⁴⁴, citran sodný^{43,44}, hydrogenuhličitan sodný⁴¹, oxid hořečnatý⁴³ nebo hydroxid hořečnatý⁴³.

Kombinace dihydrogen- a hydrogenfosforečnanu sodného s aniontovým kopolymerem kyseliny methakrylové a ethyl-akrylátu (Eudragit L[®]) s rozpustností při pH nad 6,0 se použila k dosažení na pH nezávislého disolučního profilu antiflogistika diklofenaku sodné soli z hypromelosových matricových tablet (HPMC K100M). Léčivo i Eudragit L[®] jsou při kyselém pH nerozpustné, zatímco v neutrálním až slabě zásaditém prostředí se rozpouštějí. Přidávkou fosforečnanů se urychlilo uvolňování v kyselém prostředí žaludku, zatímco Eudragit L[®] urychlil

jeho rozpouštění při pH 6–7. Získaly se tak disoluční profily léčiva s kinetikou blízkou kinetice nultého řádu⁴².

Uhličitan sodný, vápenatý a citran sodný se použily při modifikaci uvolňování těžce rozpustného nesteroidního antiflogistika naproxenu. Nízká rozpustnost je příčinou jeho špatné biologické dostupnosti. Bez modifikátoru se uvolnilo z hypromelosové matrice (HPMC K100M) pouze 40 % léčiva za 6 hodin disoluční zkoušky v prostředí fosforečnanového pufru o pH 7,4. Po přidání uhličitanu sodného se množství uvolněného léčiva při stejných experimentálních podmínkách zvýšilo na 90 % (cit.⁴⁴). Uhličitan sodný byl ze zkoušených látek nejvhodnější, protože zvyšoval pH mikroprostředí, měl vysokou osmotickou aktivitu a vhodnou rychlost rozpouštění.

K zajištění disolučního profilu nezávislého na pH z HPMC (K4M) matric u antiepileptika natrium-valproátu se použil kationový kopolymer na bázi dimethylaminoethylmethakrylátu a neutrálních esterů kyseliny methakrylové – Eudragit E[®]. Natrium-valproát je těžce rozpustný v kyselém prostředí. Použitím Eudragitu E[®] se uvolnilo v obou disolučních prostředích (pH 1,2 a 6,8) téměř stejné množství léčiva. Mechanismus působení Eudragitu E[®] je dán rozpustností závislou na pH (rozpustný v kyselém prostředí a nerozpustný při neutrálním a alkalickém pH) a úpravou pH mikroprostředí matrice do neutrální oblasti (pK_a dimethylaminoethylové funkční skupiny Eudragitu E[®] je 8–9)⁴⁰.

Slabé zásady a soli slabých zásad a silných kyselin jsou lépe rozpustné v kyselém prostředí. Pro zvýšení jejich rozpustnosti v oblasti tenkého střeva (pH 6,8–7,4) se jako pomocné látky používají kyselé modifikátory pH, jejichž úkolem je zajistit stálé kyselé prostředí uvnitř matrice⁴⁵. Do této skupiny patří např. kyselina fumarová^{23,45,46}, citronová^{17,41,47,48}, jantarová^{23,45}, askorbová⁴⁹, adipová^{23,45}, glutarová⁵⁰, sorbová⁴⁹. Hodnotu pH mikroprostředí v matrici lze monitorovat několika způsoby, např. přidáním barevného indikátoru do matricové tablety (methylečveň)⁴⁵ nebo do disolučního média (thymolová modř, methylčveň)⁴⁶, popř. elektronovou paramagnetickou rezonancí²³.

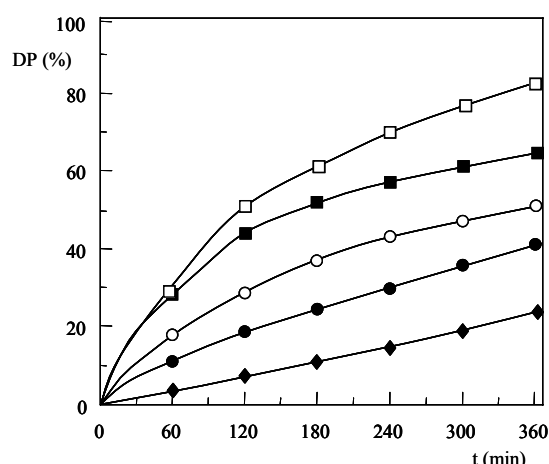
Disolučního profilu nezávislého na pH okolního prostředí se podařilo dosáhnout inkorporací kyseliny fumaro-

Tabulka I

Fyzikálně-chemické vlastnosti některých kyselin používaných k úpravě pH mikroprostředí matricových tablet⁴⁹

Kyselina	pK _{a1}	Rozpustnost ^a (pH 6,8) [mg ml ⁻¹]	Rozpustnost (0,1 M HCl) [mg ml ⁻¹]
Fumarová	3,0	10,0	4,5
Citronová	3,1	651,9	608,8
Jantarová	4,2	72,5	66,6
Askorbová	4,2	301,5	296,1

^a ve fosforečnanovém tlumivém roztoku o pH 6,8



Obr. 5. Vliv kyselin - modifikátorů pH inkorporovaných do matricových tablet (20 %) na uvolňování DP v prostředí fosforečnanového tlumivého roztoku (pH 6,8)⁴⁹; kyseliny ■ citronová, □ fumarová, ● askorbová, ○ jantarová, ◆ bez modifikátoru

vé do hypromelosové matrice (HPMC K15M) při uvolňování blokátoru kalciových kanálů verapamilhydrochloridu. Přidáním kyseliny fumarové do matricové tablety se uvolňování léčiva v prostředí o pH 6,8 zvýšilo o 35 %. Modifikátor působil po celou dobu disoluční zkoušky, jak potvrdilo konstantní červené zbarvení methylčerveně v jádře matrice. Tento výsledek koreluje s nízkou rozpustností kyseliny fumarové⁴⁵ (tab. I). Podobných výsledků se dosáhlo také u matricových tablet se spasmolytikem oxybutinin-hydrochloridem⁴⁶.

Vliv kyseliny fumarové, citronové, jantarové a askorbové na disoluční profil slabě bazické léčivé látky dipyridamolu se sledoval v disolučním prostředí o pH 6,8 (cit.⁴⁹). Rozpustnost tohoto léčiva je výrazně závislá na pH, mírně rozpustné je v kyselém prostředí, zatímco při neutrálním a zásaditém pH je prakticky nerozpustné. Vliv jednotlivých modifikátorů na disoluční profil ukazuje obr. 5. Nejúčinnější látkou byla kyselina fumarová, nejméně účinná kyselina askorbová. Výrazný vliv kyseliny fumarové na disoluční profil dipyridamolu lze přisoudit její síle a mírně až těžké rozpustnosti (tab. I), díky níž se udržuje konstantní pH po požadovaný časový interval. Důvodem menší účinnosti kyseliny citronové je její vyšší rozpustnost, která vede k rychlé difuzi léčiva i kyseliny z matrice. Podobné výsledky popsal Espinoza a spol. u antihypertenziva pelanserinu¹⁷. Kyselina jantarová a kyselina askorbová jsou nejslabšími kyselinami, rozpustnost léčiva zvyšují proto nejméně. Z těchto dvou kyselin je méně účinná kyselina askorbová pro svou větší rozpustnost a rychlejší eliminaci z tablety⁴⁹.

6. Závěr

Přestože jsou perorální hypromelosové gelové matrice v praxi nejvíce využívané formy s řízeným uvolňováním

léčivé látky, jejich výzkum neustává. Vědci se zabývají jak využitím nových farmaceutických pomocných látek a formulačních postupů, tak i možnostmi ovlivnění disolučních profilů léčiv z matric připravených z běžně používaných polymerů. Další přidané pomocné látky ovlivňují vlastnosti gelové vrstvy polymeru svými fyzikálně-chemickými vlastnostmi a mění disoluční profil léčiva v souladu s farmakoterapeutickými požadavky.

Seznam zkratk

CD	cyklodextriny
DHCl	diltiazem-hydrochlorid
DP	dipyridamol
GIT	gastrointestinální trakt
HPMC	hypromelosa
NaCMC	karmelosa sodná sůl
PHCl	propranolol-hydrochlorid

LITERATURA

- Chopra S., Patil G. V., Motwani S. K.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 66, 73 (2007).
- Rabišková M.: *Remedia* 2, 188 (2007).
- Huang Y.-B., Tsai Y.-H., Lee S.-H., Chang J.-S., Wu P.-Ch.: *Int. J. Pharm.* 289, 87 (2005).
- Vostalová L., Rabišková M., Medvecká G.: *Čes. Slov. Farm.* 6, 295 (2003).
- Costa P., Lobo J. M. S.: *Eur. J. Pharm. Sci.* 13, 123 (2001).
- Nellore R. V., Rekhi G. S., Hussain A. S., Tillman L. G., Augsburg L. L.: *J. Control. Release* 50, 247 (1998).
- Levina M., Gothoskar A., Rajabi-Siahboomi A. R.: *Pharm. Tech. Eur.* 2006, 20.
- Bajerová M., Gajdziok J., Dvořáčková K., Masteiková R., Kollár P.: *Čes. Slov. Farm.* 2, 63 (2008).
- Wade A., Wuller P. J.: *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. The Pharmaceutical Press, London 2003.
- Vueba M. L., Batista de Carvalho L. A. E., Veiga F., Sousa J. J., Pina M. E.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 58, 51 (2004).
- Krejčová K., Rabišková M., Vetchý D., Polášek E., Tomášek V., Prokopová A.: *Drug Dev. Ind. Pharm.* 32, 585 (2006).
- Häring A., Vetchý D., Janovská L., Krejčová K., Rabišková M.: *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 34, 289 (2008).
- Williams R. O., Reynolds T. D., Cabelka T. D., Sykora M.-A., Mahaguna V.: *Drug Dev. Ind. Pharm.* 7, 181 (2002).
- Koester L. S., Ortega G. G., Mayorga P., Bassani V. L.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 58, 177 (2004).
- Savickas A., Bernatoniene J.: *Medicina (Kaunas)* 41, 226 (2005).
- Rabišková M., Vostalová L., Medvecká G., Horáčková D.: *Čes. Slov. Farm.* 5, 211 (2003).
- Espinoza R., Hong E., Villafuerte L.: *Int. J. Pharm.*

- 201, 165 (2000).
18. Guthmann C., Lipp R., Wagner T., Kranz H.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69, 667 (2008).
 19. Ford J. L., Rubinstein M. H., McCaul F., Hogan J. E., Edgar P. J.: *Int. J. Pharm.* 40, 223 (1987).
 20. Lotfipour F., Nokhodchi A., Saeedi M., Norouzi-Sani S., Sharbafi J., Siahi-Shadbad M. R.: *Farmaco* 59, 819 (2004).
 21. Sako K., Sawada T., Nakashima H., Yokohama S., Sonobe T.: *J. Control. Release* 81, 165 (2002).
 22. Bravo S. A., Lamas M. C., Salomón C. J.: *J. Pharm. Sci.* 5, 213 (2002).
 23. Siepe S., Herrmann W., Borchert H.-H., Lueckel B., Kramer A., Ries A., Gurny R.: *J. Control. Release* 112, 72 (2006).
 24. Lee B.-J., Ryu S.-G., Cui J.-H.: *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25, 493 (1999).
 25. Pina M. E., Veiga F.: *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26, 1125 (2000).
 26. Bhise K. S., Dhupal R. S., Chauhan B., Paradkar A., Kadam S. S.: *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 8 (2007), <http://www.aapspharmstech.org>, staženo 15. 5. 2008.
 27. Takka S., Rajbhanrari S., Sakr A.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 52, 75 (2001).
 28. Conti S., Maggi L., Segale L., Machiste E. O., Conte U., Grenier P., Vergnault G.: *Int. J. Pharm.* 333, 136 (2007).
 29. Conti S., Maggi L., Segale L., Machiste E. O., Conte U., Grenier P., Vergnault G.: *Int. J. Pharm.* 333, 143 (2007).
 30. Vitková M., Selčanová J., Lehotský M., Vladovičová B.: *Farm. Obzor* 8, 213 (2007) abstrakt.
 31. Rabišková M., Häring A., Minczingerová K., Havlásek M., Musilová P.: *Chem. Listy* 101, 70 (2007).
 32. Baveja S. K., Ranga Rao K. V., Padmalatha Devi K.: *Int. J. Pharm.* 39, 39 (1987).
 33. Devi K. P., Ranga Rao K. V., Baveja S., Fathi M., Roth M.: *Pharm. Res.* 6, 313 (1989).
 34. Rabišková M., Sedláková M., Vitková M., Kuna M.: *Čes. Slov. Farm.* 53, 300 (2004).
 35. Samani S. M., Montaseri H., Kazemi A.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 55, 351 (2003).
 36. Sriwongjanya M., Bodmeier R.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 46, 321 (1998).
 37. Feely L. C., Davis S. S.: *Int. J. Pharm.* 44, 131 (1988).
 38. Feely L. C., Davis S. S.: *Int. J. Pharm.* 41, 83 (1988).
 39. Daly P. B., Davis S. S., Kennerley J. W.: *Int. J. Pharm.* 18, 201 (1984).
 40. Rao V. M., Engh K., Qui Y.: *Int. J. Pharm.* 252, 81 (2003).
 41. Solinís M. A., de la Cruz Y, Hernández R. M., Gascón A. R., Calvo B., Pedraz J. L.: *Int. J. Pharm.* 239, 61 (2002).
 42. Al-Taani B. M., Tashtoush B. M.: *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 4, 1 (2003), <http://www.aapspharmstech.org>, staženo 8. 5. 2008.
 43. Riis T., Bauer-Brandl A., Wagner T., Kranz H.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 65, 78 (2007).
 44. Amaral M. H., Lobo J. M. S., Ferreira D. C.: *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 2 (2001), <http://www.aapspharmstech.org>, staženo 10. 5. 2008.
 45. Streubel A., Siepmann J., Dashevsky R., Bodmeier R.: *J. Control. Release* 67, 101 (2000).
 46. Varma M. V. S., Kaushal A. M., Garg S.: *J. Control. Release* 103, 499 (2005).
 47. Kohri N., Yatabe H., Iseki K., Miyazaki K.: *Int. J. Pharm.* 68, 255 (1991).
 48. Nie S., Pan W., Li X., Wu X.: *Drug Dev. Ind. Pharm.* 30, 627 (2004).
 49. Siepe S., Lueckel B., Kramer A., Ries A., Gurny R.: *Int. J. Pharm.* 316, 14 (2006).
 50. Kranz H., Wagner T.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 62, 70 (2005).

K. Dvořáčková (*Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno*): **Drug Release from Oral Matrix Tablets Containing Hypromellose**

Swellable-matrix tablets based on hydrophilic polymers are simple dosage forms with controlled release, which are currently used in pharmacotherapy of many diseases. The most commonly used polymer is (hydroxypropyl)methylcellulose (hypromellose). The drug release from these systems through a gel layer can be modified using additives changing the drug dissolution profile. These excipients can be divided into several groups such as indifferent fillers (soluble or insoluble), substances increasing drug solubility (β -cyclodextrins), excipients forming interactive products (polymers, ion-exchange resins, surfactants) and substances influencing pH in matrix microenvironment (acid and basic modifiers).

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

STANOVENÍ KONCENTRACE *N,N'*-DIACETYLSPERMINU V MOČI NOVOU METODOU ELISA

DAVID STEJSKAL^a, VIERA HUMENANSKÁ^c,
RADOVAN VRTAL^d, PAVLÍNA SOLICHOVÁ^a,
MICHAL KARPÍŠEK^b, MARTIN PETZEL^e
a MAREK ŠVESTÁK^a

^a Oddělení laboratorní medicíny Nemocnice Šternberk o.z.,
Středomoravská nemocniční a.s. Jívavská 20, 785 16
Šternberk, ČR ^b Veterinární a farmaceutická fakulta Brno,
ČR, ^c Gnosis s.r.o., Slovensko, ^d Urologická klinika FN LF
UP Olomouc, ČR, ^e Gynekologicko porodnická klinika FN
Ostrava Poruba, ČR
david.stejskal@nemstbk.cz, michal.karpisek@email.cz,
humenanska@biovendor.cz, radovan.vrtal@yahoo.com,
m.petzal@seznam.cz

Došlo 17.12.07, přijato 10.4.08.

Klíčová slova: ELISA, *N,N'*-diacetylspermin, karcinom
močového měchýře

Úvod

Buněčný růst závisí na dostatečné dodávce polyaminů, která ovlivňuje jejich biosyntézu, katabolismus i výdej; tento proces je zpětně kontrolován obsahem polyaminů v buňkách. Biosyntézu a transport polyaminů kontrolují především enzymy ornithindekarboxylasa (EC 4.1.1.19) a *S*-adenosylmethionindekarboxylasa (EC 4.1.1.507); jejich katabolismus a export z buněk je naopak kontrolován spermidin/spermin *N*¹-acetyltransferasou. Zvýšenou biosyntetickou aktivitu polyaminů lze nalézt typicky u neoplastického buněčného růstu^{1–4}. *N,N'*-diacetylspermin (DAC; acetamid, *N,N'*-[butan-1,4-diylbis(iminopropan-3,1-diyl)]diacetamid) je obsažen v polyaminech lidské moči. Exkrece tohoto diacetylpolyaminu bývá zvýšena u osob s řadou maligních nádorů (prostata, prs, tlusté střevo, atp.). Remise maligního onemocnění je přítom typická poklesem močového diacetylpolyaminu na normální hodnoty. Zdá se, že DAC je víc senzitivní než běžně používané onkomarkery, např. karcioembryonální antigen (CEA), sacharidové antigeny (Ca 19-9, Ca 15-3), především pro detekci karcinomu tlustého střeva a prsu^{5,6}. Je možné, že DAC účinně deteguje maligní choroby v časných stádiích, kdy jiná vyšetření selhávají, a může sloužit jako prognostický marker i ukazatel recidivy řady

tumorů (prostata, urogenitální trakt, játra, žaludku, střevo, atp.)^{1–6}.

Jelikož nebyly zatím publikovány informace o významu stanovení DAC v moči jako ukazatele přítomnosti karcinomu močového měchýře, stalo se cílem naší práce navržení, sestavení a validování testu ELISA pro rychlé stanovení DAC a ověření efektivitu tohoto testu u pacientů s karcinomem močového měchýře.

Experimentální část

Vývoj metody ELISA pro stanovení
N,N'-diacetylsperminu v lidské moči

Byla vytvořena kompetitivní imunoanalytická metoda na kvantitativní stanovení lidského *N,N'*-diacetylsperminu v moči s využitím antigenu značeného enzymem.

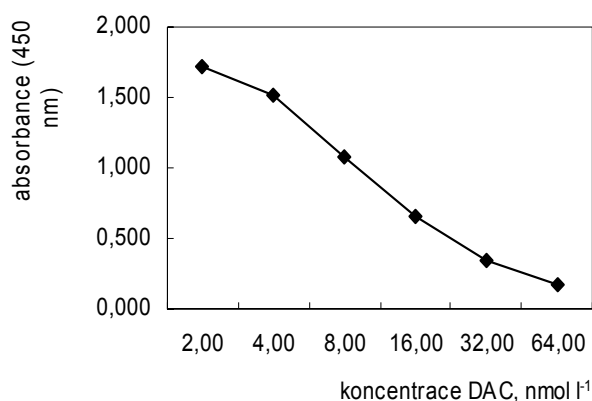
V mikrotitrační desce (Corning Costar, High Binding, katalogové číslo 52-00-02) bylo navázáno 0,5 µg protilátky anti-diacetylspermin (Yamasa corporation, Diagnostics department) na 1 jamku v 0,1 M hydrogenuhličitanovém pufru o pH 8,5 (následovala inkubace 12 h při 4 °C) a po odsátí roztoku byla deska zablokována roztokem TBS (Tris Buffered Saline, pH 7,2), 4 % sacharosa (dávkováno 0,2 ml/jamku, inkubace 30 min při 25 °C). Po odsátí blokovacího roztoku bylo na desku dávkováno 0,1 ml příslušného standardu nebo 20× ředěného močového vzorku (všechna měření byla prováděna 2×) a následně bylo do všech jamek desky dávkováno 0,1 ml antigenu *N*-acetylsperminu (Yamasa corporation, Diagnostics department), který byl značen křenovou peroxidasou (HRP) a deska byla inkubována 2 h na třepače pro mikrotitrační desky (TECAN Columbus plus, 300 rpm) při teplotě 25 °C. Po 3-násobném promytí desky promývacím roztokem (TBS; 0,05 % Tween 20, pH 7,2) bylo do všech jamek desky dávkováno 0,1 ml substrátu TMB (1,2 mM tetramethylbenzidin s obsahem 3 mM peroxidu vodíku, KPL, katalogové číslo 52-00-01) a reakční směs inkubována 20 min při teplotě 25 °C. Reakce byla zastavena přidávkem 0,1 M roztoku kyseliny sírové a vzniklé žluté zbarvení (produkt) byl změřen fotometricky při vlnové délce 450 nm, přičemž intenzita žlutého zbarvení byla nepřímo úměrná obsahu analytu ve vzorku. Hodnoty DAC v neznámých vzorcích byly stanoveny z kalibrační křivky, která byla získána vnesením absorbancí standardů oproti jejich známé koncentraci (obr. 1).

Ředícím roztokem pro standardy, vzorky a antigen značený křenovou peroxidasou byl roztok TBS (Tris Buffered Saline, pH 7,2), 0,01 % Thimerosal. V testu byla použita sada standardů o koncentracích 64, 32, 16, 8, 4 a 2 nmol l⁻¹, připravená naředěním chemicky syntetizovaného lidského *N,N'*-diacetylsperminu (Yamasa corporation,

Tabulka I
Koncentrace diacetylsperminu v moči u testovaných osob

Ukazatel	Aritmetický průměr	Medián	Směrodatná odchylka	Rozložení dat	RR	n
DAC-A	303,1	171,5	391,8	abnormální	A-B; $P = 0,5$; $Z = 0,64$	36
DAC-B	353,3	143,8	743,3	abnormální		30

DAC-A – hodnoty diacetylsperminu u osob s karcinomem močového měchýře, DAC-B – hodnoty diacetylsperminu v moči u osob s benigním urologickým onemocněním, RR – významnost rozdílu mezi skupinou A a B, (hodnoceno pomocí Mannova-Whitneyova testu)



Obr. 1. Standardní kalibrační křivka pro stanovení diacetylsperminu v moči metodou ELISA

on, Diagnostics department). Močové vzorky byly ředěny 1:19 ředicím roztokem (Biovendor dilution buffer).

Klinické testování metody ELISA

Byly vyšetřeny dvě skupiny jedinců, pacientů urologické kliniky FN Olomouc. Do první skupiny bylo zařazeno 36 pacientů Urologické kliniky FN Olomouc s diagnózou karcinomu močového měchýře (endoskopická a následně histologická verifikace). Do druhé skupiny bylo

zařazeno 30 osob s benigním urologickým onemocněním a negativní anamnézou tumoru. U všech byla vyšetřena hladina DAC v moči.

Výsledky

Analytická charakteristika metody ELISA

Nebyla zjištěna reaktivita s rekombinantním N¹,N⁸-diacetylspermidinem (ELISA, BioVendor-Laboratorní medicína a.s.). Pro ověření funkčnosti testu byla verifikována správnost a přesnost metody. Správnost metody byla ověřena metodou standardního přidavku a byla zjišťována výtěžnost, vyjádřená jako poměr získané/očekávané hodnoty koncentrace DAC. Vzorky moče od 2 pacientů byly obohaceny o +16, +8 a +2 nmol l⁻¹ DAC. Průměrná hodnota výtěžnosti byla 105 %. V testu linearity byly testovány dva vzorky moče, které byly sériově ředěny ředicím roztokem, který obsahoval TBS a 0,01 % Thimerosal (viz výše) 10×, 20×, 40× a 80×, přičemž průměrná hodnota výtěžku byla 104 %.

Přesnost metody byla testována jako reprodukovatelnost výsledků u 2 vzorků moče a vyjádřena jako variační koeficient v sérii (n = 8) i mezi sériemi měření (n = 6). Hodnota variačního koeficientu (CV) byla ve všech případech < 6 %.

Mez stanovitelnosti metody, představující nejnižší stanovitelnou koncentraci DAC, činila 0,23 nmol l⁻¹ (tato

Tabulka II

Pacienti rozdělení podle přítomnosti karcinomu a podle hodnot diacetylsperminu v moči (Skupiny: 1 = < 80, 2 = 80–210, 3 = 210–340, 4 = > 40 nmol l⁻¹)

	< 80 (1)	80–210 (2)	210–340 (3)	>340 (4)	Celkem (%)
Karcinom ano	8	12	6	10	36 (54,5 %)
Karcinom ne	7	12	3	8	30 (45,5 %)
Celkem (%)	15 (22,7 %)	24 (36,4 %)	9 (13,6 %)	18 (27,3 %)	66 (100 %)

$$\chi^2 = 0,13; P = 0,71$$

hodnota je vyjádřením koncentrace DAC, odpovídající absorbcí vypočítané podle vzorce: průměrná absorbance slepého vzorku ($n = 8$) + $3 \times$ směrodatná odchylka průměru slepého vzorku).

Klinické testování výsledků DAC získaných stanovením ELISA

Hodnoty DAC v moči u pacientů s karcinomem močového měchýře se významně nelišily od hodnot DAC u jedinců s benigním urologickým onemocněním (mediány 171,5 vs. 143,8; $P = 0,64$) a efektivita testu pro klinické účely nebyla dostatečná (plocha pod operační křivkou ROC $< 0,7$) (tab. I, tab. II).

Závěr

Závěrem lze konstatovat, že byla navržena, sestavena, validována a zavedena do klinické praxe nová metoda ELISA, sloužící ke klinickému testování pro stanovení DAC v moči. Současně je však nutno říci, že nebyly potvrzeny hypotézy o možném rutinním diagnostickém využití DAC v moči v diagnostice pacientů s karcinomem močového měchýře.

LITERATURA

1. Enjoi M., Nakamuta M., Arimura E.: *Int. J. Biol. Markers* 19, 322 (2004).
2. Sugimoto M., Hiramatsu K., Kamei S.: *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 121, 317 (2007).
3. Kubota S., Yamasaki Z., Yoshimoto M.: *Cancer N.* 56, 1640 (1985).
4. Kee K., Vujcic S., Merali S.: *J. Biol. Chem.* 279, 27050 (2004).
5. Du Z., Hou S.: *J. Urol.* 170, 2000 (2004).
6. Kawakita M., Hiramatsu K.: *J. Biochem.* 139, 315 (2004).

D. Stejskal^a, V. Humenanská^c, R. Vrtal^d, P. Solichová^a, and M. Karpíšek^b, M. Petzel^e, and M. Švesták^a
 (^a Department of Laboratory Medicine, Hospital, Šternberk, ^b Veterinary Faculty, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic, ^c Gnosis Ltd., Slovakia, ^d Department of Urology, Faculty Hospital, Olomouc, Czech Republic, ^e Faculty Hospital, Ostrava-Poruba, Czech Republic): **ELISA analysis of *N,N*-diacetylspermine in Urine**

A new ELISA method of analysis of *N,N*-diacetylspermine in urine and a test for urinary bladder cancer were developed and validated. However, the compound does not seem to be a useful marker for urinary bladder cancer.

ZNAČENÍ MONOKLONÁLNÍ PROTILÁTKY ANTI-CD20 RADIOISOTOPY YTTRIA A LUTECIA

FRANTIŠEK BUDSKÝ, VLASTIMIL MILER
a ZDENĚK MÁLEK

Ústav jaderného výzkumu Řež, a.s., 250 68 Husinec - Řež,
č. p. 130
mlr@ujv.cz

Došlo 20.7.06, přepracováno 13.11.07, přijato 30.11.07.

Klíčová slova: monoklonální protilátka Anti-CD20, radioisotop ^{90}Y , radioisotop ^{177}Lu , diethylentriaminpentaoctová kyselina, radioterapie, jaderný reaktor LVR-15

Úvod

První zprávu o značení protilátek radioisotopy podal v roce 1957 Pressman¹. Ke značení byly nejprve užívány radioisotopy jodu^{2,3} a aplikace souvisely především s rychlým rozvojem metod radioimunoanalýzy. Většina metod značení radiojodem je založená na principu elektrofilní adice nebo substituce na aromatickém kruhu. Tyto reakce sice probíhají snadno a s vysokým výtěžkem, ale jod tvoří ze všech halogenů nejslabší vazbu k aromatickému uhlíku (energie vazby pouze 250 kJ mol^{-1}). Pro aplikace *in vitro* je vazba jod–aromatický uhlík dostatečně pevná, ale při aplikaci *in vivo* dochází snadno k disociaci této vazby a tedy k rychlé deiodaci značeného imunoglobulinu.

Proto byly vyvinuty metody konjugace protilátek bifunkčními chelatačními činidly a konjugovanou protilátkou pak lze značit radioisotopem kovového charakteru^{4–6}. Bifunkční chelatační činidla totiž mají dvě funkční skupiny. Jedna, velmi reaktivní skupina, slouží k vytvoření vazby s protilátkou: konjugace protilátky. Druhá skupina, která se neúčastní konjugace, pak vytváří chelátovou vazbu s radioisotopem: značení konjugované protilátky. V současné době nabývají velkého významu cheláty radioisotopů trojvazných kovů zejména lanthanidů s konjugovanými protilátkami, protože je lze použít na cílenou terapii nádorových onemocnění. K lanthanidům totiž patří celá řada radioisotopů s fyzikálními vlastnostmi vhodnými pro terapii nádorových onemocnění. Konjugovaná protilátka označená vybraným radioisotopem s vysokou specifickou radioaktivitou pak může sloužit jako terapeutický radiofarmaceutický preparát, který je cíleně transportován do určité nádorové tkáně. Protilátka (mono- i polyklonální) má požadovanou specifitu k určitým antigenům nádorových buněk a korpuskulární záření přítomného radioisotopu pak má schopnost zabíjet nádorové buňky lineárním přenosem energie (LET – linear energy transfer).

Monoklonální protilátku Anti-CD20 značenou radioisotopem ^{90}Y resp. ^{177}Lu se specifickou radioaktivitou minimálně $600 \text{ MBq } ^{90}\text{Y mg}^{-1}$ resp. $400 \text{ MBq } ^{177}\text{Lu mg}^{-1}$ lze použít na léčbu ne Hodgkinského lymfomu (NHL)⁷.

Experimentální část

Chemikálie a zařízení

Katex AG 50W – X8, kyselina dusičná p.a., tetrahydrát citrátu lithného p.a., monohydrát citronové kyseliny p.a., hydroxid lithný p.a., chlorovodíková kyselina p.a., oxid yttritý p.a., chlorid lutecitý p.a., dimethylsulfoxid, dihydrogenfosforečnan sodný p.a., hydrogenfosforečnan disodný p.a., hydrogenuhličitan sodný p.a., uhličitán sodný p.a., diethylentriaminpentaoctová kyselina p.a. (vše od Sigmaly-Aldrich ČR).

Filtry mikrosep 10k (Pall, USA).

Chlorid lutecitý obohacený isotopem ^{176}Lu ze 64,3% (Isoflex, USA).

Radioisotopový generátor $^{90}\text{Sr} - ^{90}\text{Y}$, jaderný reaktor LVR-15 (ÚJV, Řež, a.s.).

Roztok protilátky CD20 v 0,1 M fosfátovém pufru (pH 7,3) (Exbio, Praha ČR).

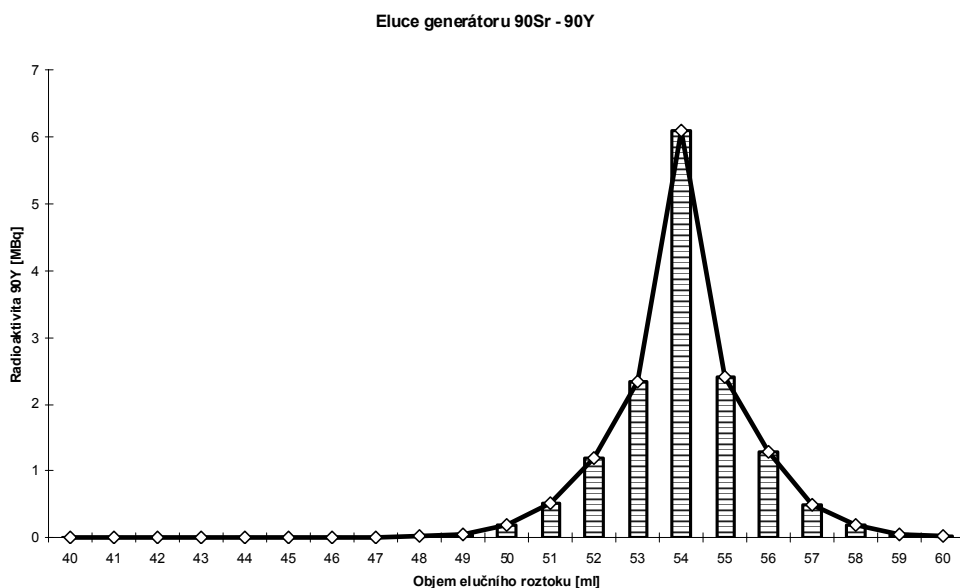
Příprava radioisotopu ^{90}Y

Radioisotop ^{90}Y podléhá přeměně β^- s poločasem $t_{1/2} = 64,1 \text{ h}$ za vzniku stabilního isotopu ^{90}Zr a lze ho připravit reakcí $^{89}\text{Y} (n, \gamma) ^{90}\text{Y}$, která má aktivační účinný průřez $\sigma = 1,3 \cdot 10^{-24} \text{ cm}^2$.

Nejvhodnější terčovou sloučeninou je oxid yttritý. Specifická radioaktivita, kterou lze dosáhnout ozařováním v reaktoru LVR-15, je však příliš nízká pro použití v radioterapii^{8,9}.

Pro přípravu ^{90}Y s vysokou specifickou radioaktivitou byl proto používán generátor na principu ionexové chromatografie na katexu AG 50W – X8. Na katex byl sorbován roztok radioisotopu ^{90}Sr (v rovnováze s ^{90}Y) v 0,5 M roztoku kyseliny dusičné, radioaktivita ^{90}Sr byla 15 MBq . Po sorpci byla kolona promyta vodou do neutrální reakce eluátu. Potom byla kolona promyta 0,1 M roztokem hydroxidu lithného do silně alkalické reakce a znovu vodou do neutrální reakce eluátu. Z takto připraveného generátoru bylo eluováno ^{90}Y po dobu 3 let v intervalu až $1 \times$ týdně. K eluci ^{90}Y byl používán roztok citrátu lithného o koncentraci $0,026 \text{ mol l}^{-1}$ (pH 5,50) připravený rozpuštěním 5,90 g tetrahydrátu citrátu lithného a 1,07 g monohydrátu citronové kyseliny v 1000 ml vody, pH bylo upraveno roztokem 0,1 M hydroxidu lithného resp. 0,1 M kyseliny chlorovodíkové, protože přesné udržení hodnoty pH ovlivňuje v podstatné míře kvalitu eluátu a životnost generátoru¹⁰.

Průběh eluce generátoru $^{90}\text{Sr} - ^{90}\text{Y}$ je znázorněn na obr. 1. Více než 99 % radioaktivity ^{90}Y bylo eluováno do frakce 46–55 ml a v této frakci tak byla objemová radioaktivita ^{90}Y $1,5 \text{ MBq ml}^{-1}$.

Obr. 1. Průběh eluce generátoru $^{90}\text{Sr} - ^{90}\text{Y}$, který je v provozu ÚJV ŘežPříprava radioisotopu ^{177}Lu

Radioisotop ^{177}Lu podléhá přeměně β^- s poločasem $t_{1/2} = 6,73$ d za vzniku stabilního isotopu ^{177}Hf a lze ho připravit reakcí¹¹:

Produkční reakce: $^{176}\text{Lu} (n, \gamma) ^{177}\text{Lu}$, $\sigma = 1,77 \cdot 10^{-21} \text{ cm}^2$,

$t_{1/2} = 6,73$ d

Vedlejší reakce: $^{176}\text{Lu} (n, \gamma) ^{177m}\text{Lu}$, $\sigma = 3,17 \cdot 10^{-22} \text{ cm}^2$,

$t_{1/2} = 160,4$ d

$^{175}\text{Lu} (n, \gamma) ^{176m}\text{Lu}$, $\sigma = 1,6 \cdot 10^{-23} \text{ cm}^2$,

$t_{1/2} = 3,66$ h

Nejvhodnější terčovou sloučeninou je chlorid lutecitý s přírodním složením isotopů nebo obohacený isotopem ^{176}Lu . Jako terče byly použity:

– Terč A: chlorid lutecitý se složením terčových isotopů 35,7 % ^{175}Lu a 64,3 % ^{176}Lu .

– Terč B: chlorid lutecitý s přírodním složením isotopů tj. 97,4 % ^{175}Lu a 2,6 % ^{176}Lu .

Aktivace byla prováděna v křemenné ampuli o průměru 4 mm, tloušťce stěny 0,5 mm a výšce 60 mm. Jako vnější ozařovací schránka sloužila běžná úzká hliníková schránka užívaná pro zakládání do ozařovacího kanálu reaktoru LVR-15 o průměru 25 mm, tloušťce 1 mm a výšce 105 mm. Roztok ^{177}Lu byl připravován tak, že ozařené ampuli byla odříznuta horní část se zátvalem a ampule byla vypláchnuta po částech 1–2 ml 0,026 M roztoku citrátu lithného, pH 5,5 (cit.¹²).

V reaktoru LVR-15 byly aktivovány celkem čtyři terče, jak je uvedeno v tabulce I.

Tabulka I

Přehled vzorků ^{177}Lu připravených aktivací v reaktoru LVR-15 v ozařovacím kanále H5 v poloze 2

Číslo vzorku	Terč	Navážka	Doba ozařování	Celková dávka	Radioaktivita ^{177}Lu
		[mg]	[h]	tepelných neutronů [cm^{-2}]	[MBq]
1	A	0,01	24	$7,6 \cdot 10^{18}$	170
2	B	2	24	$7,6 \cdot 10^{18}$	1050
3	B	2	24	$7,6 \cdot 10^{18}$	1150
4	A	0,01	12	$3,8 \cdot 10^{18}$	70

Pozn.: terč A: chlorid lutecitý se složením terčových isotopů 35,7 % ^{175}Lu a 64,3 % ^{176}Lu ; terč B: chlorid lutecitý s přírodním složením isotopů tj. 97,4% ^{175}Lu a 2,6 % ^{176}Lu

Konjugace protilátky Anti-CD20

Ke konjugaci imunoglobulinů bylo navrženo a použito velké množství bifunkčních chelatačních činidel. Pro snadnou přístupnost a jednoduché provedení byla v ÚJV Řež zavedena metoda konjugace s dianhydridem diethylentriaminpentaoctové kyseliny (dále cDTPAA). Tento dianhydrid lze snadno připravit působením přebytku acetanhydridu v bezvodém prostředí za přítomnosti pyridinu na diethylentriaminpentaoctovou kyselinu (DTPA) při zvýšené teplotě¹³.

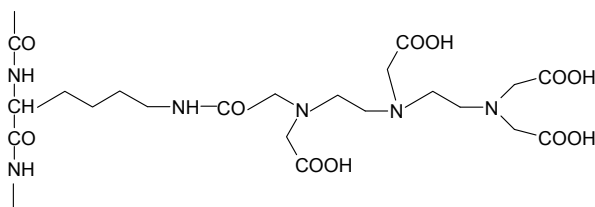
Konjugační reakce byly provedeny s nadbytkem cDTPAA ve vodném prostředí, přičemž jedna anhydridová skupina zreaguje s imunoglobulinem a druhá zhydrolyzuje zpět na karboxylové skupiny. Vazba chelatačního činidla k imunoglobulinu je zprostředkována volnou aminoskupinou bazických aminokyselin vázaných v peptidovém řetězci imunoglobulinu tj. zejména lysinem, případně hydroxylysinem nebo argininem. Chelatační činidlo je k peptidovému řetězci konjugováno amidovou vazbou, jak je uvedeno na příkladě lysinu na obr. 2.

Vyloučit nelze ani vazbu s volnou aminoskupinou koncové aminokyseliny popř. vazbu s volnou reaktivní skupinou SH imunoglobulinu. Zvláště vazba s volnou aminoskupinou koncové aminokyseliny by mohla vážně narušit imunoreaktivitu, neboť tyto volné aminoskupiny jsou právě ve variabilní oblasti protilátky. Mohou též vzniknout dimery, neboť cDTPAA obsahuje dvě reaktivní anhydridové skupiny.

Konjugační reakce byly prováděny nejprve v prostředí 0,1 mol l⁻¹ fosfátového pufru (pH 7,3) a později v 0,1 mol l⁻¹ karbonátovém pufru (pH 8,5), neboť při zvýšení pH reakční směsi se zvyšuje i výtěžek konjugace. Reakce probíhaly s velkým přebytkem cDTPAA rozpuštěného v dimethylsulfoxidu (DMSO). Objem roztoku cDTPAA v DMSO přitom musí být maximálně 5 % objemu roztoku imunoglobulinu v příslušném pufru, protože vyšší přítomnost DMSO v reakční směsi by mohla poškodit imunoglobulin.

Konjugační reakce probíhaly za běžné laboratorní teploty po dobu 30 min za občasného promíchání reakční směsi. Při konjugační reakci se současně hydrolyzuje většina cDTPAA na DTPA resp. na její disodnou sůl DTPA-Na₂, která je ve vodném prostředí rozpustná.

Po konjugaci byla vysokomolekulární složka (tj. konjugovaný a nekonjugovaný imunoglobulin) oddělena



Obr. 2. Peptid konjugovaný s DTPA prostřednictvím 6-aminoskupiny lysinu

od nízkomolekulární složky (tj. roztok DTPANa₂ vzniklý konjugační reakcí) ultrafiltrací membránami MicroSep. Reakční směs byla nastříknuta na filtr MicroSep 10k a odstředěna. Vysokomolekulární složka, tj. konjugát protilátky Anti-CD20 s DTPA (DTPA_Anti-CD20), zůstal na filtru a roztok 0,1 mol l⁻¹ karbonátového pufru protekl filtrem. DTPA_Anti-CD20 byla z filtru vymyta roztokem 0,1 mol l⁻¹ fosfátového pufru. K vymytí bylo nutné použít co nejméně roztoku pufru, aby se příliš nezředila konjugovaná látka a bylo možné v tomto roztoku provést značení bez dalších úprav.

Příklad provedení konjugace

Roztok A: protilátka Anti-CD20 o koncentraci 1,6·10⁻⁵ mol l⁻¹ rozpuštěná v 0,1 mol l⁻¹ karbonátovém pufru (pH 8,5).

Roztok B: dianhydrid diethylentriaminpentaoctové kyseliny rozpuštěný v dimethylsulfoxidu o koncentraci 1,28·10⁻³ mol l⁻¹.

Ke 2 ml roztoku A bylo přidáno 0,1 ml roztoku B a směs byla za občasného promíchání ponechána reagovat po dobu 30 min. Po zreagování byla reakční směs podrobena ultrafiltraci a vysokomolekulární složka byla vymyta 2 ml 0,1 mol l⁻¹ fosfátového pufru. Koncentrace konjugované protilátky byla 1,6·10⁻⁵ mol l⁻¹, protože ultrafiltrace a rozpuštění proběhly kvantitativně.

Značení konjugované protilátky Anti-CD20

Značení konjugované protilátky CD20 bylo prováděno přidávkem roztoku příslušného radioisotopu k roztoku konjugovaného imunoglobulinu a to bezprostředně po separaci ultrafiltrací. Roztok radioisotopu musí mít pH > 5, protože při nižším pH by se poškodil imunoglobulin. Při tomto pH by se však roztoky radioisotopů hydrolyzovaly za tvorby radiokoloidů a tak bylo nutné pracovat s roztoky radioisotopů v přebytku slabého chelátotvorného činidla. Komplex musí být dostatečně pevný, aby se nehydrolyzoval a zároveň dostatečně slabý, aby byl radioisotop uvolněn pro vazbu s DTPA konjugovanou na protilátce Anti-CD20.

Ke značení byly použity radioisotopy ⁹⁰Y a ¹⁷⁷Lu rozpuštěné v 0,026 mol l⁻¹ citrátu lithném (pH 5,5). Konjugovaná Anti-CD20 označená radioisotopem byla opět z reakční směsi oddělena ultrafiltrací a vymyta 1 ml 0,1 mol l⁻¹ fosfátového pufru.

Příklad značení konjugátu radioisotopem ⁹⁰Y

Roztok C: 1,6·10⁻⁵ mol l⁻¹ protilátka Anti-CD20 konjugovaná s DTPA v 0,1 mol l⁻¹ fosfátovém pufru (pH 7,3).

Roztok D: eluát z generátoru ⁹⁰Sr – ⁹⁰Y o objemové radioaktivitě 1,5 MBq ⁹⁰Y ml⁻¹.

Roztok E: 3·10⁻³ mol l⁻¹ YCl₃ v 0,026 mol l⁻¹ citrátu lithném (pH 5,5).

K 1 ml roztoku D bylo přidáno 0,01 ml roztoku E a 0,1 ml roztoku C. Reakční směs byla za občasného promíchání ponechána reagovat 30 min, prodloužení doby

Tabulka II
Značení konjugované protilátky Anti-CD20 radioisotopem ^{90}Y

Koncentrace Y^{3+} [mol l^{-1}]	Koncentrace DTPA_Anti-CD20 [mol l^{-1}]	Výtěžek značení [%]	Radioaktivita [MBq]	Stupeň konjugace
$2,76 \cdot 10^{-5}$	$8,50 \cdot 10^{-6}$	84,9	1,27	2,81
$3,89 \cdot 10^{-5}$	$8,58 \cdot 10^{-6}$	68,1	1,02	3,12
$5,02 \cdot 10^{-5}$	$8,67 \cdot 10^{-6}$	52,2	0,71	2,95
			Průměr	$2,96 \pm 0,13$

Tabulka III
Značení konjugované protilátky Anti-CD 20 radioisotopem ^{177}Lu

Koncentrace Lu^{3+} [mol l^{-1}]	Koncentrace CD20-DTPA [mol l^{-1}]	Výtěžek značení [%]	Radioaktivita [MBq]	Stupeň konjugace
$2,76 \cdot 10^{-5}$	$8,50 \cdot 10^{-6}$	83,1	0,997	2,71
$3,89 \cdot 10^{-5}$	$8,58 \cdot 10^{-6}$	66,9	0,803	3,02
$5,02 \cdot 10^{-5}$	$8,67 \cdot 10^{-6}$	50,2	0,602	2,90
			Průměr	$2,88 \pm 0,14$

reakce nemá na výtěžek žádný vliv. Značená protilátka byla z reakční směsi oddělena ultrafiltrací a vymyta 1 ml 0,1 mol l^{-1} fosfátového pufru.

Výsledky a diskuse

Výtěžek značení byl vyhodnocen s použitím ultrafiltrace tak, že po označení byla stanovena radioaktivita nízkomolekulárního a vysokomolekulárního podílu.

Je-li A_v – radioaktivita vysokomolekulárního podílu, A_n – radioaktivita nízkomolekulárního podílu, V_y – výtěžek značení, pak $V_y(\%) = 100A_v / (A_v + A_n)$.

Stupeň konjugace tj. množství DTPA v molech na 1 mol protilátky Anti-CD20 byl stanoven metodou isotopového zředování tak, že ke značené látce byl přidáván nosič radioisotopu a následně byl stanoven pokles výtěžku značení. Aby výtěžek značení klesl, musí být koncentrace nosiče větší než koncentrace DTPA vázané na Anti-CD20. Tuto metodu lze použít, protože konstanty stability trojvazných kovů a DTPA jsou v rozmezí pK 22–28.

Je-li C_r – molární koncentrace radioisotopu, C_k – molární koncentrace konjugované CD20, S_k – stupeň konjugace tj. počet molů skupin DTPA vázaných na 1 mol imunoglobulinu, pak $S_k = V_y \cdot C_r / C_k$.

Dosažené hodnoty stupně konjugace a výtěžků značení radioisotopy ^{90}Y a ^{177}Lu jsou uvedeny v tabulkách II a III.

Závěr

Ověřené postupy konjugace a značení protilátky Anti-CD20 radioisotopy ^{90}Y a ^{177}Lu bude možné použít pro technologický vývoj vedoucí ke konstrukci soupravy radiofarmaka určeného k cílené radioterapii nehodkinského lymfomu.

LITERATURA

1. Pressman D.: Ann N. Y. Acad. Sci. 69, 644 (1957).
2. McFarlane A. S.: Nature 182, 53 (1958).
3. Hunter W. M., Greenwood F. C.: Nature (London) 194, 495 (1962).
4. Goodwin D. A. Q., Meares C. F., Diamanti C. I.: Nucl. Med. 14, 365 (1975).
5. Hnatowich D. J., Childs R. L., Lanteigne D., Najafi A.: J. Immunol. Methods 65, 147 (1983).
6. Budský F., Prokop J., Hradil M.: Jaderná Energie 35, 142 (1988).
7. Postema E. J., Oyen W. J. G., Boerman O. C., Corstens F. H. M.: J. Nucl. Med. 44, 853 (2003).
8. Budský F., Málek Z., Kysela J.: Výzkumná zpráva ÚJV Řež č. 11774, 2002.
9. Manual for Reactor Produced Radioisotopes, IAEA-TECDOC-1340, str. 244. IAEA, Vienna 2003.
10. Miler V., Budský F., Málek Z.: Výzkumná zpráva ÚJV Řež č. 11939, 2003.
11. Manual for Reactor Produced Radioisotopes, IAEA-

- TECDOC-1340, str. 121. IAEA, Vienna 2003.
12. Kysela J., Málek Z., Budský F., Miler V.: *Výzkumná zpráva ÚJV Řež č. 12275*, 2005.
13. Budský F., Prokop J., Raban P., Šeblová J.: PV 4329/88/1988, AO 272584.
14. Málek Z., Miler V., Budský F., Reková M., Kronrád L.: *Výzkumná zpráva ÚJV Řež č. 12240*, 2005.

F. Budský, V. Miler, and Z. Málek (*Nuclear Research Institute, Řež*): **The Labelling of Monoclonal Antibody Anti-CD20 with Yttrium and Lutetium Radionuclides**

This contribution presents a method of conjugation of monoclonal antibody CD20 with diethylenetriaminepentaacetic anhydride, the preparation of yttrium-90 and lutetium-177 radionuclides and the preparation of complexes of the antibody with the radionuclides. The complexes show high specific activities.





METPOPULI

NÁRODNÍ PROGRAM VÝZKUMU II
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY





NÁZEV PROJEKTU

Výzkum nových, moderních nástrojů a metod popularizace výsledků vědy, výzkumu a vývoje na vysokých školách v České republice ve spolupráci s vědeckou společností a způsoby jejich uplatňování v praxi

CÍLE PROJEKTU

- ↳ zhodnocení stávající situace v oblasti popularizace výsledků vědy, výzkumu a vývoje
- ↳ nalezení nových, moderních nástrojů popularizace výsledků vědy, výzkumu a vývoje, uplatnitelných v České republice

PŘÍJEMCI

Univerzita Palackého v Olomouci (www.upol.cz)
- Projektový servis UP (www.psup.cz)
Česká společnost chemická (www.csch.cz)

DOBA ŘEŠENÍ

31. 3. 2008 - 31. 12. 2009

ZAMĚŘENÍ PROJEKTU

- ↳ analýza stávající situace v oblasti popularizace výsledků vědy výzkumu a vývoje na vysokých školách a vědecko - výzkumných institucí v České republice a ve vybraných státech EU (Velká Británie, Německo, Itálie, Francie, Belgie, Rakousko, Španělsko)
- ↳ komparace výsledků
- ↳ vytvoření metodiky popularizace výsledků vědy, výzkumu a vývoje na vysokých školách a vědecko - výzkumných institucích v České republice

Metody popularizace výsledků vědy, výzkumu a vývoje budou rozděleny do oblastí:

- 1) ZDRAVÍ
- 2) PŘÍRODNÍ VĚDY
- 3) SPOLEČENSKÉ VĚDY
- 4) NOVÉ TECHNOLOGIE A MATERIÁLY

Výstupy projektu budou zveřejněny na webových stránkách projektu www.metpopuli.cz

KONTAKT

Projektový servis UP | Šlechtitelů 27 | 783 71 Olomouc
tel.: 585 631 421 | fax: 585 631 401 | mobil: 774 401 559
e-mail: info@metpopuli.cz
www.metpopuli.cz

POLYMEROVÉ MIKROČÁSTICE PRO PERORÁLNÍ PŘÍVOD DIKLOFENAKU

KATEŘINA KREJČOVÁ, EVA GRYZOVÁ
a MILOSLAVA RABIŠKOVÁ

Ústav technologie léků, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1/3, 612 42 Brno

rabiskovam@vfu.cz

Došlo 17.4.08, přijato 6.11.08.

Klíčová slova: mikročástice, diklofenak sodná sůl, Eudragit® RS 100, odpařování rozpouštědla z emulze

Úvod

Výzkum mikro- a nanočásticových léčiv se těší stále rostoucímu zájmu univerzitních i průmyslových pracovišť pro jejich unikátní vlastnosti spojené se sníženým výskytem nežádoucích účinků a umožňující nové léčebné postupy. Mikročásticové léčivé formy mají již několik svých zástupců v praktické farmakoterapii, nanočásticová léčiva na své použití v humánní medicíně teprve čekají. K mikročásticovým léčivým přípravkům, tj. k přípravkům s velikostí od 1 µm do 1 mm, patří liposomy a mikročástice (homogenní matricové mikrosféry i mikrotobolky s odlišeným jádrem a stěnou). Zatímco se mikročástice ve funkci léčivých přípravků používají především k parenterální aplikaci v cytostatických indikacích, např. s tryptorelinem (Decapeptyl Depot®) nebo s leuprorelinem (Enantone Depot®, Lupron Depot®), liposomy našly širší využití^{1,2}, kromě nosičů cytostatik (daunorubicin – DaunoXome® nebo doxorubicin – Doxil®) se uplatnily v léčivých přípravcích pro terapii invazivních plísňových infekcí (amfotericin B – AmBisome®) nebo syndromu dechové nedostatečnosti narozených dětí (Alveofact®) i jako očkovací látka proti hepatitidě A (Epaxal-Berna®).

Počátek vzniku mikročástic se datuje do 30. let minulého století, kdy Bungenberg de Jong a spol. zveřejnili práce věnované enkapsulaci látek koacerváty. Farmaceutické využití mikročástic přichází o 30 let později³, např. maskování nepříjemné chuti nebo zápachu léčivých látek, přeměna kapalných léčiv na pevné látky, ochrana citlivých látek před vzdušným kyslíkem, vlhkostí nebo světlem, oddělení inkompatibilních látek, bezpečné zacházení s toxickými materiály, zlepšení sypkosti prášků, usnadnění dispergování látek nerozpustných ve vodě a výroba přípravků s řízeným uvolňováním nebo doručením léčiva.

Mikročástice se vyrábějí četnými, často poměrně slo-

žitými technologickými postupy. Ty vedou k produkci částic nejrůznější struktury, složení a fyzikálně-chemických vlastností. Volba vhodné výrobní metody se odvíjí především od základních vlastností polymerního nosiče a od rozpustnosti účinné látky⁴. Znáмым a často používaným postupem vedoucím ke vzniku mikročástic je odpaření rozpouštědla z připravené jednoduché emulze. Ačkoli je tato metoda koncepčně poměrně nenáročná, vlastnosti výsledného produktu lze ovlivnit celou řadou proměnných⁵, např. rychlostí a délkou homogenizace emulze, zvoleným poměrem léčivá látka : polymer, poměrem vnitřní a vnější fáze emulze, koncentrací rozpuštěných složek (tj. léčivé látky a polymeru) ve vnitřní fázi, typem zvoleného rozpouštědla, viskozitou obou fází, typem a koncentrací emulgátoru, teplotou a designem použitého homogenizačního zařízení⁶. Protože neexistují univerzální pomocné látky ani univerzální metodika přípravy mikročástic, které by bylo možné uplatnit při enkapsulaci každého materiálu, je třeba vždy pro vybranou léčivou látku, složení i metodu přípravy vhodně zvolit a optimalizovat vzhledem k požadovaným vlastnostem léčivého produktu⁷.

Mikročástice lze využít k prodlouženému uvolňování léčiv po perorálním podání zejména tehdy, má-li léčivá látka dráždivé účinky na sliznici gastrointestinálního traktu (GIT). Mezi takové látky patří i diklofenak sodná sůl (DS), který je účinným nesteroidním antiflogistikem, analgetikem a antipyretikem s poměrně krátkým biologickým poločasem (1,2–1,8 h, cit.^{8,9}). Léčivo je tedy nezbytné podávat opakovaně, zpravidla 3× denně. Při dlouhodobém podávání konvenčních lékových forem vykazuje DS tendenci k hromadění v organismu a je příčinou někdy i velmi vážných nežádoucích účinků postihujících gastrointestinální, kardiovaskulární a centrální nervový systém. Uzavření léčivé látky do polymerních matricových mikročástic představuje jedno z možných řešení výše zmíněných komplikací.

Eudragit® RS je nerozpustný amonioalkylmethakrylátový kopolymer, který lze použít pro formulaci částicové lékové formy zabezpečující prodloužené uvolňování léčivé látky. Protože jde o kationtový polymer, může navíc *in vivo* reagovat se záporně nabitým mucinem¹⁰ nacházejícím se na povrchu intestinální sliznice a tím dále prodlužovat působení léčiva v požadované oblasti GIT. Zveřejněné publikace^{11,12} popisují také jeho možné přímé působení na střevní sliznici (otevírání těsných kanálků) a tak pozitivní roli při absorpci a biologické dostupnosti léčivých látek z GIT.

Cílem této experimentální práce bylo v rámci preformulačních studií navrhnout a optimalizovat způsob přípravy polyakrylátových (Eudragit® RS 100) mikročástic obsahujících diklofenak sodnou sůl metodou odpařování rozpouštědla z nevodné emulze. Sledoval se vliv vybraných procesních a formulačních proměnných na kvalitu produktu (velikost, tvar, obsah enkapsulované látky) a zkuškou disoluce se hodnotila schopnost vzorků mikročástic modifikovat rychlost uvolňování vybrané léčivé látky.

Experimentální část

Materiál

Modelovou léčivou látkou určenou k enkapsulaci byl diklofenak sodná sůl (Amoli Organics, Indie), polymerem prodlužujícím uvolňování léčiva byl Eudragit[®] RS 100 PO (Röhm GmbH & Co. KG, Darmstadt, Německo). Pro přípravu mikročastic se dále použil methanol (Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, ČR), lehký tekutý parafin (VWR International Ltd., Velká Británie), sorbitan-monooleát (Span[®] 80) charakterizovaný hodnotou HLR 4,3 (Sigma-Aldrich Chemie GmbH., Německo) a petrolether (Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, ČR). Pro disoluční studie se použily pufrs obsahem dodekahydrátu hydrogenfosforečnanu sodného (Merck KGaA, Darmstadt, Německo), monohydrátu kyseliny citronové (Merck KGaA, Darmstadt, Německo) v čištěné vodě. Všechny suroviny odpovídaly lékopisné kvalitě¹³.

Příprava mikročastic

Matricové mikročastice se připravily odpařováním rozpouštědla z jednoduché nevodné emulze. Vnitřní fázi tvořil roztok 100–200 mg Eudragitu[®] RS 100 (ERS) ve 2 ml methanolu, do kterého se postupně vmíchalo 100 mg DS. Roztok se na vodní lázni zahřál na 40 °C. Vnitřní fáze se po kapkách přidávala do 20 ml vnější fáze připravené rozpuštěním 1–5 % Spanu[®] 80 v tekutém parafinu při stejné teplotě 40 °C (příp. 50 °C). Emulze se míchala po dobu 10 min v homogenizátoru Ultra Turrax T25 Basic (IKA – Werke GmbH. & Co. KG, Německo) s nástavcem o průměru 8 mm (typ S25N-8G). Otáčky se měnily podle zvoleného schématu (tab. I) v rozmezí 13 500–20 500 ot min⁻¹. Po odpaření vnitřního rozpouštědla se mikročastice izolovaly filtrací a na filtru se opakovaně promyly petroletherem. Poté se sušily při laboratorní teplotě po dobu alespoň 24 h.

Tabulka I
Proměnné veličiny procesu

Vzorek	Otáčky [ot min ⁻¹]	Čas [min]	Poměr [ERS:DS]	Teplota [°C]	Span [®] 80 [hm. %]
MP1PS	13500	10	2:1	40	1,0
MP2PS	19000	10	2:1	40	1,0
MP3PS	20500	10	2:1	40	1,0
MP4PS	20500	10	1:1	40	1,0
MP5PS	20500	10	3:2	40	1,0
MP6PS	20500	10	2:1	50	1,0
MP7PS	20500	10	2:1	40	2,5
MP8PS	20500	10	2:1	40	5,0

Stanovení obsahu DS v mikročasticích a enkapsulační účinnosti (EE)

Přesně navážené množství mikročastic (asi 5 mg) se ve 100 ml odměrné baňce doplnilo methanolem po rysku. Po 24 hodinách se změřila absorbance vzorku při vlnové délce 282 nm (Lambda 25, Perkin Elmer Instruments, USA) a obsah DS se stanovil s použitím odpovídající kalibrační křivky. Přítomnost Eudragitu[®] RS 100 PO neovlivnila vlastní absorbanci obsažené léčivé látky. Stanovení se u každé šarže mikročastic opakovalo třikrát. Na základě získaných hodnot se stanovila také enkapsulační účinnost podle vztahu (1),

$$EE = \frac{c_s}{c_t} \times 100 \quad [\%] \quad (1)$$

kde c_s představuje skutečný obsah DS v mikročasticích a c_t odpovídá teoretickému obsahu DS.

Stanovení velikosti mikročastic

Velikost a distribuce velikosti připravených mikročastic se hodnotily optickým mikroskopem (LN 25, Lambda Praha, ČR) propojeným přes CCD kameru (Alphaphot, Nikon, Japonsko) s počítačem. Snímky se hodnotily s využitím softwaru pro obrazovou analýzu Ia32 (Leco Corporation, USA). Proměřilo se vždy 200 částic; průměr částic d se vyjádřil jako aritmetický průměr \pm směrodatná odchylka, distribuci velikosti částic charakterizují hodnoty d_{10} , d_{50} a d_{90} vyjadřující hraniční mez [μm], do které svou velikostí spadá 10, 50, resp. 90 % proměřených částic. Na jejich podkladě se stanovila výpočtem šířka distribuce Y :

$$Y = \frac{d_{90} - d_{10}}{d_{50}} \quad (2)$$

Stanovení hustoty a viskozity vnitřní fáze emulze

Připravily se kapalně vzorky označené jako ERS1DS, ERS1,5DS a ERS2DS obsahující 2,0 g DS a 2,0–4,0 g polymeru rozpuštěné ve 40,0 ml methanolu. U vzorků zahřátých na vodní lázni na 40 °C se pyknometrickou metodou stanovila hustota. Viskozita kapalin se měřila skleněným viskozimetrem Ubbelohde (průměr kapiláry 1,13 ± 0,01 mm). Hodnota dynamické viskozity η (mPa s) se vypočítala podle vztahu uvedeného v ČL 2005 (cit.¹³).

$$\eta_n = \frac{\rho_n t_n}{\rho_0 t_0} \cdot \eta_0 = K_0 \rho_n t_n \quad (3)$$

kde η_n , ρ_n a t_n značí viskozitu, hustotu a dobu průtoku neznámé kapaliny, η_0 viskozitu vody při 20 °C, ρ_0 její hustotu a t_0 dobu průtoku. Konstanta K_0 měla pro daný viskozimetr hodnotu 0,0998.

Skenovací elektronová mikroskopie

Vzorky mikročásteček se upevnily oboustranně lepící páskou na hliníkové válečky o průměru asi 10 mm a potáhly se vrstvou zlata v naprašovací zařízení Polaron SC-500 Sputter Coater (VG Microtech, Sussex, Velká Británie). Vzhled a vlastnosti povrchu vzorků mikročásteček se hodnotily skenovacím elektronovým mikroskopem Hitachi S-4300 (Hitachi Scientific Instruments, Japonsko) operujícím při urychlovacím napětí 5,0 kV.

Disoluční studie

Rychlost uvolňování DS ze vzorků mikročásteček se stanovila košíčkovou metodou (zařízení Sotax AT 7 Smart, Sotax, Švýcarsko) při 100 ot min⁻¹, v 500,0 ml McIlvaineova pufru o pH 6,8 a teplotě 37,0 ± 0,5 °C. Navážka mikročásteček se volila tak, aby bylo dosaženo vždy stejné koncentrace léčivé látky (25 mg l⁻¹). Množství uvolněné látky se stanovilo spektrofotometricky při vlnové délce 276 nm. Kinetika uvolňování se porovnávala s vybranými kinetickými modely:

Higuchiho model

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot \sqrt{t} \quad (4)$$

Weibullova funkce

$$\ln \left[\ln \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right) \right] = \beta \cdot \ln t - \beta \cdot \ln \tau \quad (5)$$

Korsmeyer-Peppasova rovnice

$$\ln \left(\frac{M_t}{M_\infty} \right) = n \cdot \ln t + \ln k \quad (6)$$

kde k je konstanta uvolňování, poměr M_t ku M_∞ představuje kumulativní množství léčivé látky (%) uvolněné v čase

t , resp. v nekonečném čase, n je konstanta charakterizující mechanismus uvolňování léčivé látky ze systému a τ je čas, ve kterém se právě uvolní 63,2 % původního množství léčivé látky¹⁴.

Statistické zpracování

Statistické výpočty se provedly v programu MS Excel. Statistická významnost vlivu vybraných procesních nebo formulačních proměnných na velikost připravených mikročásteček se hodnotila provedením Studentova t-testu.

Výsledky a diskuse

Cílem experimentální práce byla příprava matricových mikročásteček s prodlouženým uvolňováním diklofenaku sodné soli. Vzhledem k tomu, že tyto mikroformy mají sloužit pro perorální lékovou formu, bylo zapotřebí definovat jejich požadované vlastnosti, tj. (1) pravidelný kulový tvar s hladkým, celistvým povrchem, (2) průměr menší než 100 μ m (alespoň u 90 % produktu), (3) úzká distribuce velikosti částic, (4) vysoký obsah enkapsulovaného DS a (5) schopnost účinně zpomalovat uvolňování DS v podmínkách *in vitro*.

Primárním požadavkem zajišťujícím vznik kvalitních mikročásteček pravidelného kulového tvaru a hladkého povrchu byla příprava stabilní emulze polymerního roztoku v médiu. Volba rozpouštědla vnitřní fáze emulze představovala jeden z klíčových faktorů. Vhodné rozpouštědlo mělo splňovat několik důležitých podmínek, např. dobrou rozpouštěcí účinnost pro enkapsulovanou látku i nosný polymer a současně omezenou mísitelnost s vnější fází emulze. Z uvedených důvodů se jako vnitřní rozpouštědlo zvolil methanol. Jeho výhodou byla také poměrně nízká teplota varu, jež se pohybuje mezi 64–65 °C (cit.¹³).

Homogenizace

Rychlost otáček rotorového-statorového homogenizátoru a její dopad na kvalitu vznikajícího produktu je pravděpodobně jedním z nejčastěji studovaných parametrů procesu. Pro sérii pokusů označených MP1PS až MP3PS se na homogenizačním zařízení Ultra-Turrax nastavily otáčky při homogenizaci na 13 500, 19 000 a 20 500 otáček za minutu (tab. I).

Z hodnot středních průměrů mikročásteček uvedených v tab. II je patrné, že zvýšení otáček vedlo ke statisticky významnému poklesu velikosti částic z 64,44 μ m (při 13 500 ot min⁻¹) na 45,01 μ m (při 20 500 ot min⁻¹). To je v souladu s obecným pravidlem, že průměrná velikost mikročásteček se zmenšuje se zvyšující se intenzitou míchání. Účinnější homogenizace totiž vede nejen k rozptýlení vnitřní fáze na jemnější kapky, ale zároveň působí jako prevence zabráňující spojování „nezralých“ mikročásteček⁸. Porovnáním šířky distribuce velikosti částic (Y) vzorků MP1PS – MP3PS nebylo možné najít jednoznačný trend. Nejširší distribuce velikosti mikročásteček byla podle očeká-

vání pozorována u vzorku MP1PS ($Y = 1,67$), vzorku homogenizovaném při nejnižších otáčkách. Naopak nejužší rozpětí velikostí vykazoval vzorek MP2PS ($Y = 1,02$) homogenizovaný při $19\,000\text{ ot min}^{-1}$, jež byly vyhodnoceny jako optimální.

Poměr polymer – léčivá látka

Makroskopicky lze připravené mikročástice popsat jako jemný, bílý, volně tekoucí prášek. Pod optickým mikroskopem se jeví jako individuální transparentní kulové částice nebo menší hroznovité shluky. Snímky z elektronového mikroskopu vzorků MP3PS a MP4PS (obr. 1a,b) ukázaly, že vzhled připravených mikročástic, jejich pórovitost a struktura povrchu byly nejvýrazněji ovlivněny použitým poměrem polymer : léčivá látka.

Nedostatečné množství polymeru ve vnitřní fázi vedlo k produkci nepravidelných částic s nerovným povrchem, velkými póry a příležitostnými krystaly odloučeného DS (vzorek MP4PS). Zvýšení poměru polymer : léčivo na

hodnotu 2:1 pozitivně ovlivnilo morfologické vlastnosti mikročástic (vzorek MP3PS). Vznikly hladké kulové částice bez zjevných povrchových nerovností nebo pórů. Na lomu mikročástic (obr. 1c) je patrné, že DS byl rovnoměrně rozptýlen v polymerní matrici. Vnitřní struktura mikročástic je kompaktní s občasnými vzduchovými dutinami vznikajícími v důsledku rychlého zpevnění povrchu kapek vnitřní fáze emulze a uzavření par vnitřního rozpouštědla uvnitř matrice.

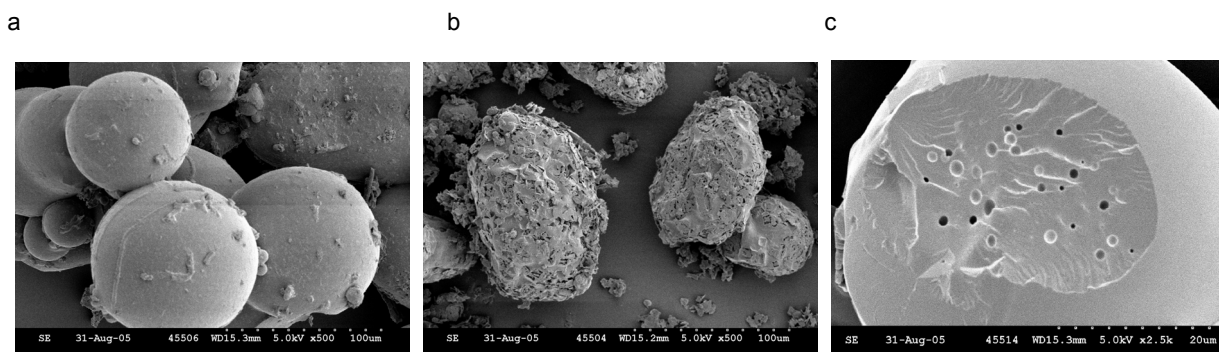
Viskozita vnitřní fáze emulze

Snížení koncentrace polymeru u vzorků MP3PS–MP5PS mělo za následek zmenšení středního průměru mikročástic z $45,01$ na $33,98\ \mu\text{m}$ (tab. II). Předpokládalo se, že v důsledku rozpuštění většího množství Eudragitu® RS 100 ve fixním objemu rozpouštědla vznikl viskóznější roztok, jehož dispergování do vnější parafinové fáze bylo za daných homogenizačních podmínek obtížnější. Proto se připravila sada kapalných vzorků označených jako

Tabulka II
Vlastnosti připravených mikročástic

Vzorek	Střední průměr ^a [μm]	Distribuce velikosti částic [μm]			Šířka distribuce	Obsah DS ^e [g g^{-1}]	EE ^e [%]
		d_{10} ^b	d_{50} ^c	d_{90} ^d			
MP1PS	$64,44 \pm 39,13$	21,75	58,30	119,00	1,67	$0,296 \pm 0,022$	$89,77 \pm 2,74$
MP2PS	$52,28 \pm 19,70$	29,57	48,36	78,96	1,02	$0,284 \pm 0,002$	$85,92 \pm 0,34$
MP3PS	$45,01 \pm 31,47$	23,42	40,32	85,02	1,53	$0,258 \pm 0,010$	$78,17 \pm 2,95$
MP4PS	$33,98 \pm 23,79$	14,13	25,17	64,73	2,01	$0,357 \pm 0,008$	$71,40 \pm 1,68$
MP5PS	$38,51 \pm 22,36$	19,13	33,00	71,31	1,58	$0,311 \pm 0,059$	$77,81 \pm 1,91$
MP6PS	$76,83 \pm 34,92$	35,21	72,79	110,89	1,04	$0,310 \pm 0,049$	$93,21 \pm 4,96$
MP7PS	$44,26 \pm 26,55$	17,95	35,71	70,47	1,47	$0,171 \pm 0,036$	$61,76 \pm 2,90$
MP8PS	$40,96 \pm 18,15$	20,38	37,97	61,07	1,07	$0,140 \pm 0,002$	$42,05 \pm 0,73$

^a $n = 200$, ^b d_{10} = dolní decil, ^c d_{50} = medián, ^d d_{90} = horní decil, ^e $n = 3$



Obr. 1. Polymerové mikročástice vzorku (a) MP3PS, (b) MP4PS, (c) MP3PS - detail

Tabulka III

Hustota a viskozita vnitřní fáze emulze při 40 °C

Vzorek	Poměr ERS:DS	Koncentrace polymeru [hm. %]	Hustota ^a [g cm ⁻³]	Viskozita ^b [mPa s]
ERS1DS	1 : 1	5,68	0,823 ± 0,002	0,849 ± 0,017
ERS1,5DS	3 : 2	8,29	0,828 ± 0,001	1,020 ± 0,015
ERS2DS	2 : 1	10,75	0,841 ± 0,002	1,721 ± 0,007

^a $n = 3$, ^b $n = 6$

ERS1DS, ERS1,5DS a ERS2DS, které svým složením odpovídaly složení vnitřní fáze emulze použité pro přípravu mikročástic vzorků MP5PS, MP4PS a MP3PS. U těchto vzorků se změnila viskozita při teplotě 40 °C. Z hodnot viskozity uvedených v tab. III je patrné, že viskozita těchto roztoků vzrůstala se vzrůstajícím množstvím rozpuštěného polymeru.

Viskozita roztoku je přímou měrou viskoelastických sil působících v dispergované fázi při jejím toku. Aby začal viskóznější roztok téci a vnitřní fáze se mohla rozdělit na drobnější kapky, je třeba dodat vyšší energii. Není-li možné přísun energie zvýšit (tj. podmínky homogenizace jsou konstantní), homogenizace je méně účinná a výsledné mikročástice mají větší rozměr¹⁵. Emulgování velmi viskózních polymerních roztoků je značně obtížné a nevede vždy k uspokojivým výsledkům. Kapky polymerní fáze si nejsou schopny za těchto podmínek udržet svůj kulový tvar a působením hydrodynamických sil se deformují a po ztuhnutí vytvářejí protáhlé oválné až tyčkovité útvary¹⁶.

Koncentrace emulgátoru

Velikost vznikajících mikročástic je závislá především na velikosti kapek vnitřní fáze. Vznik jemnější emulze lze docílit nejen intenzivnější homogenizací, ale i zvýšením koncentrace emulgátoru. Ten svou specifickou adsorpcí na rozhraní obou nemísitelných fází účinně snižuje mezifázové napětí a umožňuje vznik drobnějších kapek vnitřní fáze. Nicméně porovnáním odpovídajících hodnot středního průměru mikročástic vzorků MP3PS, MP7PS a MP8PS připravených odpařením rozpouštědla z emulzního systému stabilizovaného 1, 2,5, resp. 5 % Spanu® 80 se prokázalo, že vliv koncentrace emulgátoru na velikost výsledných částic je statisticky nevýznamný. Quintanar-Guerrero a spol.¹⁷ tento jev vysvětlují tím, že při vyšší koncentraci je jen určitá část emulgátoru adsorbována na fázovém rozhraní, zbytek zůstává ve vnější fázi a již nehraje žádnou úlohu jak při emulgování, tak při stabilizaci kapek. Další zvyšování koncentrace emulgátoru se zdá být neefektivní. Nelze však opomenout skutečnost, že zvýšením koncentrace emulgátoru se zúžilo rozpětí velikostí připravených mikročástic, jak je patrné z poklesu hodnot šířky distribuce Y z 1,53 u vzorku MP3PS na 1,07 u vzorku MP8PS.

Enkapsulační účinnost

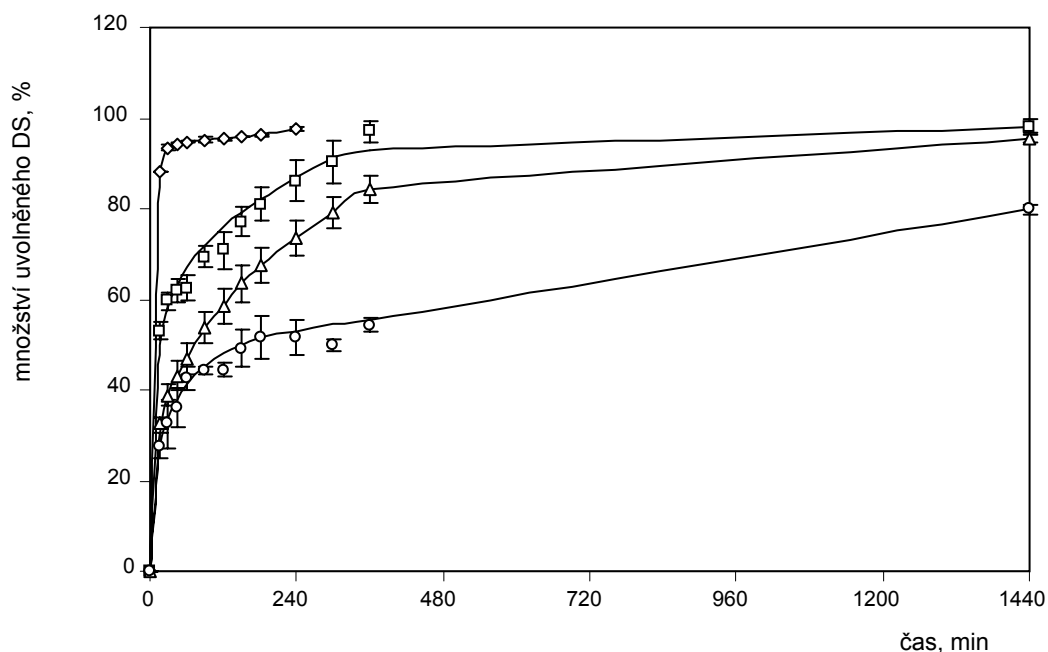
Enkapsulační účinnost procesu závisí především na intenzitě difuze léčivé látky z vnitřní do vnější fáze, která probíhá při emulgování a homogenizaci. Vzniká-li jemnější disperze, např. jako důsledek zvýšené koncentrace emulgátoru, zvýšené homogenizační rychlosti nebo snížené viskozity vnitřní fáze, snižuje se koncentrace léčivé látky v kápkách vnitřní fáze a tedy i ve vznikajících mikročásticích (tab. II). Jelikož drobnější kapky mají větší celkový povrch, difuze DS je v tomto případě masivnější a rychlejší, což vede k větším ztrátám léčivé látky z kapek vnitřní fáze a vzniku mikročástic s nižším obsahem⁸.

Zvýšení otáček homogenizátoru z 13 500 na 20 500 ot min⁻¹ (vzorky MP1PS–MP3PS) mělo nepříznivý vliv na obsah DS v mikročásticích. Ten poklesl z 0,296 na 0,258 mg mg⁻¹ mikročástic za současného poklesu EE z 89,77 na 78,17 %. Podobně také zvýšení koncentrace emulgátoru z 1 na 2,5 a 5 % (vzorky MP3PS, MP7PS a MP8PS) vedlo k výraznému snížení obsahu DS v mikročásticích a poklesu enkapsulační účinnosti procesu ze 78,17 % na pouhých 42,05 %. Vysoká viskozita vnitřní fáze omezuje migraci léčivé látky do fáze vnější, a proto zvýšení koncentrace nosného polymeru mělo za následek zvýšení enkapsulační účinnosti procesu ze 71,4 (vzorek MP4PS) na 78,2 % (vzorek MP3PS).

Nejvyšší enkapsulační účinnosti (93,2 %) se dosáhlo u vzorku MP6PS. V tomto případě se totiž na rozdíl od ostatních pokusů předehřála parafinová fáze na teplotu 50 °C. Vyšší teplota vnější fáze pravděpodobně způsobila předčasné odpaření methanolu. Následkem toho vzrostla náhle viskozita vnitřní fáze, kterou bylo obtížnější rozptýlit na drobné kapky. Menší povrch kapek vnitřní fáze a rychlé formování pevné polymerní bariéry na jejich povrchu bránilo difuzi léčiva do vnější fáze. Vznikly tak částice s největším středním průměrem (76,8 μm) a obsahem léčivé látky přibližně 31 %.

Disoluční studie

DS je látka mírně rozpustná ve vodě¹³. Z fyzikální směsi s polymerem připravené prostým smícháním obou složek se DS uvolnil téměř úplně již během prvních 30 min disoluční zkoušky (obr. 2). Uzavřením DS do mik-



Obr. 2. Disoluční profily léčivé látky ze směsi DS s polymerem a ze vzorků mikročastic v pufru o pH 6,8; \diamond směs, \square poměr 1 : 1, Δ poměr 2 : 3, \circ poměr 2 : 1

Tabulka IV

Hodnocení disolučních profilů vybraných vzorků mikročastic

Vzorek	Poměr ERS:DS	Korsmeyer-Peppasova rovnice		Weibullova funkce		Higuchiho model
		R	n	R	τ [h]	R
MP4PS	1 : 1	0,9825	0,1862	0,9521	0,75	0,9961
MP5PS	3 : 2	0,9986	0,3047	0,9927	2,22	0,9988
MP3PS	2 : 1	0,9705	0,2088	0,9745	7,50	0,9314

ročastic se zpomalila rychlost jeho uvolňování, míra zpomalení závisela především na poměru polymeru a léčivé látky.

Všechny disoluční křivky vykazovaly výraznou počáteční fázi uvolňování, jež se snižovala se vzrůstajícím obsahem polymeru (pokles z 53,1 na 27,71 %). Nejvýraznějšího snížení rychlosti uvolňování DS se dosáhlo u vzorku MP3PS, z něhož se po 24 h uvolnilo přibližně 80 % obsažené léčivé látky.

Uvolňování diklofenaku sodné soli z mikročastic ve všech případech nejlépe popisoval model Korsmeyera-Peppase ($R \sim 0,971-0,999$). Hodnoty koeficientu n získaného výpočtem (tab. IV) byly menší než 0,5 a naznačovaly, že rychlost uvolňování léčivé látky se řídí mechanismem prosté difuze. Nižší, nicméně stále velmi významnou

míru korelace vykazovala experimentální data po dosažení do Weibullovy funkce ($R \sim 0,952-0,993$) a Higuchiho modelu ($R \sim 0,931-0,999$). Srovnáním hodnot τ je jasně patrný vliv vzrůstajícího poměru polymer – léčivá látka. Čas τ potřebný pro uvolnění 63,2 % enkapsulované látky se prodloužil z 0,75 h u vzorku MP4PS až na 7,5 h u vzorku MP3PS.

Mikročástice připravené optimalizovaným procesem (vzorky MP2PS a MP3PS) dosahovaly poměrně vysoké enkapsulační účinnosti ($\sim 80\%$) a středního průměru přibližně 50 μm . Uzavřenou látku (DS) uvolňovaly po dobu 24 h a bylo by možné je použít jako základ násobné lékové formy vhodné pro perorální přívod vybrané modelové léčivé látky.

Použité zkratky

ČL	Český lékopis
DS	diklofenak sodná sůl
EE	enkapsulační účinnost
ERS	Eudragit® RS 100
GIT	gastrointestinální trakt

LITERATURA

- Rabišková M.: *Praktické lékárenství I*, 29 (2005).
- Žabka M., Müller R. H., Hildebrand G. E., v knize: *Moderní lékové formy ve farmaceutické technologii*. SAP, Bratislava 2001.
- Swarbrick J., Boylan J. C., v knize: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Marcel Dekker Inc., New York 2002.
- Mathiowitz E., v knize: *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. J. Wiley & Sons, New York 1999.
- Satturawar P. M., Mandaogade P. M., Dorle A. K.: *J. Microencapsulation* 19, 407 (2002).
- Samani S. M., Montaseri H., Kazemi A.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 55, 351 (2003).
- Billa N., Yuen K. H., Khader M. A. A., Omar A.: *Int. J. Pharm.* 201, 109 (2000).
- Mateovic T., Kriznar B., Bogataj M., Mrhar A.: *J. Microencapsulation* 19, 29 (2002).
- Sipos P., Csóka I., Srčič S., Pintye-Hódi K., Erős I.: *Drug Dev. Res.* 64, 41 (2005).
- Lamprecht A., Koenig P., Ubrich N.: *Nanotechnology* 17, 3673 (2006).
- Thanou M., Verhoef J. C., Junginger H. E.: *Pharm. Res.* 18, 1638 (2001).
- Thanou M., Henderson S., Kydonieus A., Elson C.: *J. Controlled Release* 117, 171 (2007).
- Kolektiv autorů: *Český lékopis 2005*. Elektronická verze. Grada Publishing, a.s., Praha 2005.
- Tang Y., Gan K.: *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24, 549 (1998).
- Maa Y. F., Hsu C.: *J. Controlled Release* 38, 219 (1996).
- Viswanathan N. B., Thomas P. A., Pandit J. K., Kulkarni M. G., Mashelkar R. A.: *J. Controlled Release* 58, 9 (1999).
- Quintanar-Guerrero D., Fessi H., Alléman E., Doelker E.: *Int. J. Pharm.* 143, 133 (1996).

K. Krejčová, E. Gryczová, and M. Rabišková
(Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno): Polymeric Microparticles for Oral Administration of Diclofenac Sodium

Microparticles are an intensively studied field of pharmaceutical technology. Reduced side effects and new drug delivery methods are some of the advantages they offer. The aim of this study was to develop and optimize the preparation of Eudragit® RS 100 microparticles containing diclofenac sodium. The emulsification – solvent evaporation method is one of the most common and widely used microencapsulation techniques. The influence of few selected processes and formulation variables on the microparticle characteristics was investigated for the emulsion of methanol in liquid paraffin. The following conditions were selected: polymer-to-drug ratio 2:1, emulsification with 1% Span® 80 at 19000 rpm and 40 °C. The dissolution of the drug from microparticles was controlled by diffusion.

VÝUKA CHEMIE

Univerzita Karlova v Praze získala visačku kvality právo udělovat titul Chemistry Eurobachelor®

V dubnu tohoto roku se Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze zařadila do rostoucí rodiny předních evropských vysokých škol, která mají svým absolventům bakalářského studia v chemických oborech právo udělovat jako „visačku kvality“ titul Chemistry Eurobachelor® (viz http://www.cpe.fr/ectn-assoc/eurobachelor/srvc/cel_LabelsAwarded.htm).

Tento titul bude udělován absolventům bakalářského studijního programu **Chemie** v následujících oborech:

- Chemie
 - Chemie životního prostředí
 - Chemie se zaměřením na vzdělávání jednooborová
- Dále tento titul získají i absolventi bakalářského studijního programu **Klinická a toxikologická analýza**.

Tento titul bude udělován studentům, kteří zahájí studium mezi zářím 2007 a zářím 2011. Poté bude nutno akreditaci obnovit, aby byla zajištěna kontrola kvality výukového procesu a její kompatibility s evropskými standardy.

Univerzita Karlova v Praze se tak zařadila mezi více než 40 evropských vysokých škol s chemickými studijními programy, které mají právo udělovat svým absolventům bakalářského studia tento titul. Jde o logický požadavek vyplývající z Boloňského porcesu, který požaduje zavádění čitelných, srozumitelných, srovnatelných a kompatibilních titulů. Projekt Eurobakalář chemie byl vyvinut v rámci celoevropského projektu „Tuning Educational Structures in Europe“, zaměřeného na sladování výuky na evropských vysokých školách, ve spolupráci s ECTN (European Chemistry Thematic Network) jako otevřený a flexibilní model. Mohou o něj žádat všechny vysoké školy zabývající se výukou chemie. Jeho cílem je rozšířená uznatelnost absolventských titulů těch vysokých škol, kte-

ré jsou ochotné podílet se na tvorbě společného Evropského prostoru vysokého školství. A mezi tyto školy Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy bezesporu patří. Dokazuje to její mimořádná aktivita např. v rámci výměnných programů Erasmus, široká mezinárodní spolupráce ve vědecko-výzkumné práci i její kladné hodnocení skupinou nezávislých odborníků, která ji v nedávné anketě v Hospodářských novinách zařadila mezi nejkvalitnější chemicky zaměřené vysoké školy v České republice.

Požadavky potřebné k získání práva udělovat titul Chemistry Eurobachelor® (viz http://www.cpe.fr/ectn-assoc/eurobachelor/cel/3_ceb01_Introduction.htm) byly definovány ECTN v součinnosti s projektem Tuning a byly schváleny generálním shromážděním EuCheMS (European Association for Chemical and Molecular Science) v roce 2003. ECTN rovněž zajišťuje prostřednictvím svého „Label Committee“ příslušný akreditační proces umožňující získat právo na udělování tohoto titulu. Získání tohoto titulu bezesporu usnadní život absolventům bakalářského studie chemie v evropském chemickém prostoru. Bude jim usnadněn přístup ke studiu magisterských chemických programů v rámci celé Evropské unie, evropští zaměstnavatelé je budou akceptovat jako osoby se srovnatelným chemickým vzděláním v rámci Evropské unie. Získání práva udělovat tento titul je bezesporu velkým úspěchem obětavého kolektivu pracovníků, kteří se na přípravě této náročné akreditace podíleli a kterým patří autorův vřelý dík za jejich obětavou a namáhavou práci. Doufáme, že tato skutečnost se pozitivně odrazí i v rostoucím počtu studentů, kteří se rozhodnout studovat chemii na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy, která se jim bude snažit vytvořit co nejlepší podmínky jak pro studium bakalářské, tak i pro studium magisterské a později doktorské, která na bakalářské studium na naší škole těsně navazují.

Jiří Barek



Chemistry Eurobachelor

Charles University in Prague

has been awarded the **EUROBACHELOR®** Label
for its degree of

Bachelor in Chemistry

This award is valid for five academic years.

Graduates who commence their degree programme between September 2007 and September 2011 are entitled (subject to the conditions listed in the attached letter) to receive documentation approved by the University and by the European Chemistry Thematic Network Association showing that their degree carries this label.

Done at Perugia, 19.4.2008

Antonio Lagana
President, ECTNA

Done at Madrid, 21.4.2008

Raffaella Pagani
Chairman, Label Committee

Certificate Number EB0801

Issued by ECTNA
April 24th 2008

Rektor Vysoké školy chemicko-technologické v Praze vyhlašuje, ve smyslu § 49 odst. 5 a § 98 odst. 1c) Zákona 111/1998 Sb., přijímací řízení pro akademický rok 2009/2010 do následujících oborů doktorských studijních programů uskutečňovaných na fakultách VŠCHT Praha (<http://www.vscht.cz>):

Fakulta chemické technologie

Studijní program: Chemie
Studijní obory: Anorganická chemie
Organická chemie
Makromolekulární chemie

Studijní program: Chemie a technologie materiálů
Studijní obor: Technologie makromolekulárních látek
Metalurgie
Chemie a technologie anorganických materiálů
Materiálové inženýrství

Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obory: Anorganická technologie
Organická technologie

Fakulta technologie ochrany prostředí

Studijní program: Chemie a technologie ochrany životního prostředí
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí

Studijní program: Chemie a technologie paliv a prostředí
Studijní obor: Energetika v chemicko-technologických procesech
Chemické a energetické zpracování paliv

Fakulta potravinářské a biochemické technologie

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Organická chemie
Biochemie

Studijní program: Biochemie a biotechnologie
Studijní obor: Biotechnologie

Studijní program: Mikrobiologie
Studijní obor: Mikrobiologie

Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Chemie a analýza potravin
Technologie potravin

Fakulta chemicko-inženýrská

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Analytická chemie
Fyzikální chemie

Studijní program: Aplikovaná matematika
Studijní obor: Aplikovaná matematika (studium 3 roky)

Studijní program: Chemické a procesní inženýrství
Studijní obor: Chemické inženýrství
Technická kybernetika
Řízení a ekonomika podniku (studium 3 roky)

Všechny doktorské studijní programy jsou uskutečňovány formou prezenční nebo kombinací prezenční a distanční formy. Standardní doba studia v DSP v prezenční formě je u vyznačených oborů tři roky u ostatních oborů student může studovat v této formě studia nejdéle čtyři roky s podporou stipendia po celou dobu studia.

Žádosti na předepsaném formuláři doložené životopisem, doklady o dosaženém vzdělání a dosavadní praxi, soupisem publikovaných prací a ostatních výsledků odborné činnosti, podávejte nejpozději do **31. března 2009** na děkanáty příslušných fakult, Technická 5, 166 28 Praha 6.

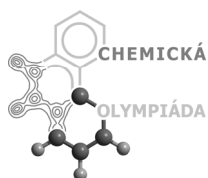
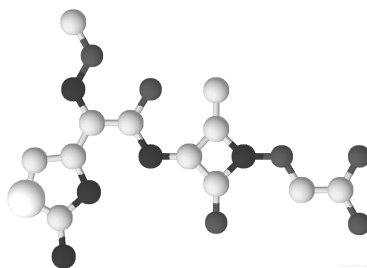


BULLETIN

ASOCIACE ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

Ročník 40

Číslo 1



Český komitét
ČKCH
pro chemii

ČSCHI

ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÉHO INŽENÝRSTVÍ
CZECH SOCIETY OF CHEMICAL ENGINEERING



Obsah Chemické listy 2008, číslo 11 a 12

ČÍSLO 11/2008

ÚVODNÍK	955
ZAHRADA	
Současné trendy hmotnostní spektrometrie	957
V. Vidová, K. Lemr a V. Havlíček	
Metagenom – bohatý zdroj nových biomolekul	960
P. Kotrba, O. Uhlík, K. Ječná, M. Macková a T. Macek	
REFERÁTY	
Možnosti využití hmotnostní spektrometrie při analýze ropných vzorků	969
J. Chudoba a G. Šebor	
Principy a využití kometové analýzy při detekci poškození DNA	977
M. Dvořák a M. Matejovičová	
Současný stav a perspektivy využití rostlinných olejů	984
J. Šmidrkal, V. Filip, Z. Bělohav, P. Zámotný a V. Höning	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Studium syntézy 3'-deoxy-3'-[¹⁸F]fluorthymidinu – perspektivního radiofarmaka pro pozitronovou emisní tomografii	992
L. Procházka, M. Kropáček, M. Mirzajevová, J. Zimová, M. Försterová, H. Švecová a F. Melichar	
Automatizované stanovení protilátek proti cyklickému citrulinovému peptidu na analyzátoru AxSYM	997
R. Pikner, D. Suchý, J. Zítková, H. Brabcová, M. Beranová a S. Kormunda	
Přestup polycyklických aromatických uhlovodíků z půdy do vybraných rostlin	1003
R. Vácha, J. Čechmánková, M. Havelková a V. Horváthová	
BECARIO	
Luminiscence v běžném životě i v laboratoři	1012
J. Krist, F. Géla, F. Fronček a M. Kubala	
Chemická luminiscence luminolu a jeho syntéza ze snadno dostupných chemikálií	1017
D. Šimsa a J. Skopal	
LIBLICE 2008	1021

ČÍSLO 12/2008

ÚVODNÍK	1088
ZAHRADA	
Rozenova reakce. Mechanismus oxidace organických molekul kyselinou fluornou	1089
M. Srnec, M. Ončák a R. Zahradník	
REFERÁTY	
Chemisorpce oxidu uhelnatého na povrchu palladia	1092
I. Dudková a B. Dvořák	
Aplikácia nukleárnej magnetickej rezonancie pri štúdiu pôdnej organickej hmoty	1100
G. Barančíková	
CHEMICKÝ PRŮMYSL	
Dicyklopentadien a chemické produkty na jeho bázi	1107
J. Krupka, K. Štěpánek a T. Herink	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Dekontaminace podzemní vody obsahující terc-butyl methyl ether a aromatické uhlovodíky fotolýzou peroxidu vodíku	1115
S. Šabata, R. Lehnert, J. Karban, J. Hetflejš a G. Kuncová	
Analýza mikroorganismů metodou kapilární elektroforézy	1121
O. Ryparová, J. Petr, M. Kowalska, J. Znaleziiona, R. Knob, V. Maier, I. Frébort a J. Ševčík	
Strukturální chemie borových klastřů v Řeži u Prahy. Dokončený příběh jedné reakce	1127
D. Hnyk a J. Holub	
Frakcionace přírodních organických látek a hliníku při optimalizaci úpravy vody destabilizací a agregací nečistot	1131
H. Tomášková, L. Pivokonská a M. Pivokonský	
Stanovení těkavých látek v travních a kukuřič- ných silážích mikroextrakcí na pevné fázi a plynovou chromatografií s hmotnostně- spektrometrickou detekcí	1138
Š. Chmelová, J. Tříška, K. Růžičková a P. Kalač	
Vývoj metody izolace karotenoidních barviv z kvasinek rodu <i>Rhodotorula</i>	1145
T. Krulíková, P. Patáková a M. Lukčo	
RECENZE	1150
POLYSACHARIDY 2008 - DODATKY	1153

JAK JE TO S PŘÍSTUPNOSTÍ ELEKTRONICKÝCH VERZÍ ČLÁNKŮ Z VĚDECKÝCH ČASOPISŮ ?

JAROSLAV ŠILHÁNEK a LUDMILA ZETKOVÁ

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
Jaroslav.Silhanek@vscht.cz

Klíčová slova: odborné publikace, elektronická verze, přístup

Úvod

Stoleté výročí Chemical Abstracts připomínané v minulém roce, bylo příležitostí sumarizovat současné možnosti práce s tímto nezastupitelným nástrojem jakékoliv seriózní práce v chemických disciplínách¹. Jeho elektronické verze představují nepochybně mimořádně silný nástroj, který je dnes asi naprostou většinou chemiků přijímán velice kladně, ne-li přímo s nadšením. To je ale jen část cesty k odborným a vědeckým informacím. Prostřednictvím CA a dalšíchází jako je Beilstein nebo Gmelin, Web of Science a řady dalších, získáme většinou téměř vyčerpávající shrnutí odkazů k dané problematice, ale jen jako bibliografický odkaz se stručnou anotací, což je v podstatě „adresa“ odkazující na plný text dokumentu, tedy na celou informaci. Touto „adresou“ byl donedávna příslušný regál v knihovně, dnes už si ale většina chemiků uvědomuje, že ten „regál“ je virtuální a kde vlastně je, už není tak zajímavé, protože stačí na adresu kliknout a plný text se objeví na obrazovce počítače, u kterého sedí. Toto je sice vymoženost poměrně nová, protože bylo třeba vyřešit celou řadu problémů jako např. formáty dokumentů a dosáhnout odpovídající rychlosti, kapacity a spolehlivosti síťových technologií, ale velice rychle se rozšířila a stává se dnes už všeobecně očekávaným standardem.

Máme-li v ruce citaci požadované práce, hledáme dnes plný text většinou na webových stránkách knihoven nebo přímo na serverech vydavatelů. Ale stejně tak je možný, a i důležitější, přístup k plným textům přímo z bibliografickýchází nebo ze seznamu citací v otevřených plných textech, pokud jsou tam uvedené linky aktivní. Běžně se ale setkáváme se situací, že v jednom případě se nám plný text bez problémů otevře, zatímco v jiném nikoliv nebo je na nás požadováno heslo, případně jiná autorizace přístupu. Proč tomu tak je, zůstává často i pro zkušenějšího uživatele záhadou. Následující stať se pokusí vnést alespoň částečně světlo do dosti složitých vztahů různých licenčních nebo konsorciálních smluv a dnešní formy „předplatného“ elektronických časopisů.

Jaké časové pokrytí vědeckých časopisů lze očekávat v digitalizované podobě ?

Odpověď na tuto otázku je v zásadě jednoduchá. V současné době už je digitalizován prakticky celý rozsah významnějších vědeckých časopisů, a tedy i chemických, a to od prvních svazků včetně počátků v 19. století, až do současnosti². Pro přibližnou, ale v zásadě reálnou představu je užitečné si uvědomit následující skutečnosti.

Přechod na důslednou manipulaci s digitální podobou vědeckých článků od zaslání „rukopisů“ přes recenzní řízení až po vyjítí článku, se začal prosazovat asi v polovině devadesátých let. Období do konce století je možné označit za experimentální a v jistém smyslu i marketingové, kdy už vydavatelé měli materiál článků v digitální podobě a po dosažení určité standardizace mohli nabízet tuto formu nejdříve jako alternativní a postupně jako hlavní. Spolu s koncepcí tzv. konsorcií (viz dále) tak začali nabízet elektronické verze přibližně od roku 1995.

Velkou roli v rozšíření popularity elektronických verzí sehrály a stále ještě hrají tzv. konsorcia, vznikající ovšem jen v neziskovém sektoru. Princip je velmi jednoduchý; jednotlivé univerzity sloučí předplatné svých individuálních titulů a získají tak přístup k elektronickým verzím nejenom svých titulů, ale i k těm, které předplácí jiná univerzita. Výsledek pak je, že každý člen konsorcia získá přístup k časopisům předplácených všemi členy konsorcia dohromady, což může být i několik set titulů. Dalším krokem ze strany vydavatelů jsou pak nabídky na konsorciální přístup k celým kolekcím časopisů bez ohledu na individuální předplatné. Celkem spolehlivě je dodržována zásada, že pokud daná univerzita byla členem konsorcia, které kolektivně v daném období mělo přístup k určitému počtu titulů, je tento přístup zachován i pokud se v dalším období podmínky pro přístup změnily. To je nepochybně výhodné, nicméně realita je pak taková, že málokdo ví, co bylo a co nebylo přístupné v daném období pro koho a proč.

Veškerá starší produkce vědeckých časopisů, tj. období přibližně před rokem 1995, musela být do elektronické podoby převedena v pravém slova smyslu, typicky tedy naskenována. Zatímco ještě kolem r. 2000 se tato možnost zdála být velmi vzdálená, v současnosti je tento úkol prakticky hotov. Výsledek je typicky nabízen pod označením *Archives* nebo *Backfiles* jako soubory oborově příbuzných titulů, někdy v menších *packages*, jindy i v souborech několika set časopisů v rozsazích od prvních svazků až po (nejčastěji) rok 1995. Přístup je možné hradit jako roční předplatné, ale častěji lze zakoupit takové soubory jako jednorázovou investici do trvalého vlastnictví. Tyto soubory jsou pak buď uloženy na serveru vydavatele nebo je možné je získat ve fyzické podobě a uložit na vlastní výpočetní techniku. VŠCHT Praha postupně nakupovala tyto *Archives* nebo *Backfiles* systematicky od r. 2001 a zatím

investovala do dnes prakticky úplného pokrytí oboru částku blížící se 10 miliónům korun. Shrneme-li odpověď na otázku v názvu této kapitoly, pak je možné sice přibližně, ale celkem velmi spolehlivě znázornit celou situaci následujícím schématem:

Období před r. 1995, soubory *Archives* nebo *Backfiles*, prakticky výhradně ve formátu pdf, nutno zakoupit licence

Období po r. 1995 do současnosti, konsorciální přístup v různém rozsahu, formát pdf nebo HTML

Pro doplnění dodejme, že pokud je starší dokument v pdf formátu, vydavatelé se snaží doplnit ve formátu HTML alespoň citace, čímž je umožněno otevírat relevantní články přímo z odkazovaných citací. Tento proces bude pochopitelně ještě nějakou dobu trvat.

Jak přístup k plným textům funguje ?

Má-li se nám na obrazovce otevřít plný text článku, musíme najít buď aktivní odkaz na webových stránkách knihoven případně v seznamu citací jiného otevřeného článku nebo musí existovat v bibliografické bázi aktivní odkaz, často tlačítko, k odeslání požadavku na přístup k plnému textu. Kliknutím se odesílá požadavek na otevření v podobě tzv. „metadat“, což je v podstatě vhodně formátovaná a komprimovaná citace daného odkazu, jejíž detaily nemusí běžného uživatele zajímat. Tato data jsou univerzálně odesílána na distribuční server, který na základě těchto metadat, resp. jejich části, přeposle požadavek na adresu/server konkrétního vydavatele.

Časté je využití služby *CrossRef*, což je nevýdělečné sdružení vydavatelů založené za účelem efektivního propojování citací v elektronických dokumentech s citovanými plnými texty. Propojení je realizováno prostřednictvím tzv. DOI, neboli *Digital Object Identifier*, sestávajícího z jednoznačné identifikace vydavatele jako člena tohoto sdružení a identifikace vlastního dokumentu. Citace je nejdříve přesměrována na server vydavatele a nalezení žádaného článku je pak v jeho režii. Kromě systému *CrossRef*, existuje i několik dalších serverů/služeb, které mají stejný účel. Všichni uživatelé SciFinderu se setkávají se službou *ChemPort*, která zřetelně demonstruje existenci mezikroku mezi odkazem a plným textem. Je možné si všimnout, že tato webová stránka má i různé alternativy, které oprávněný administrátor programu SciFinder na jednotlivých institucích může v poměrně širokých mezích individuálně nastavit. Jiný softwarový nástroj pro přesměrovávání požadavků na přístup k plným textům je program SFX firmy ExLibris, která je producentem knihovnického programu Aleph používaného na řadě českých i světových univerzit, nebo systémy Serial Solution nebo LinkSolver aj. Jedná se ovšem o komerční produkty mající poměrně vysoké licenční poplatky.

Jakmile požadavek na přístup k plnému textu dorazí na server vydavatele a případně až na hledanou citaci,

musí dojít k zásadnímu kroku, a to k ověření oprávnění pro otevření plného textu, neboli řešení finanční úhrady za přístup. Jen pokud se jedná o časopis vydávaný v režimu *Open Access*³ nebo jinak volně přístupná čísla, tento krok odpadá. Ve všech ostatních situacích je dokument jako plný text otevřen jen v případě, že daná instituce má oprávnění k přístupu, např. titul předplácí nebo je předplatné součástí nějakého konsorciálního ujednání. Pokud tomu tak není, zbývá přímá úhrada, např. kartou nebo fakturou apod. Nejdůležitější je pochopitelně předplatné, buď individuální, ale typicky institucionální.

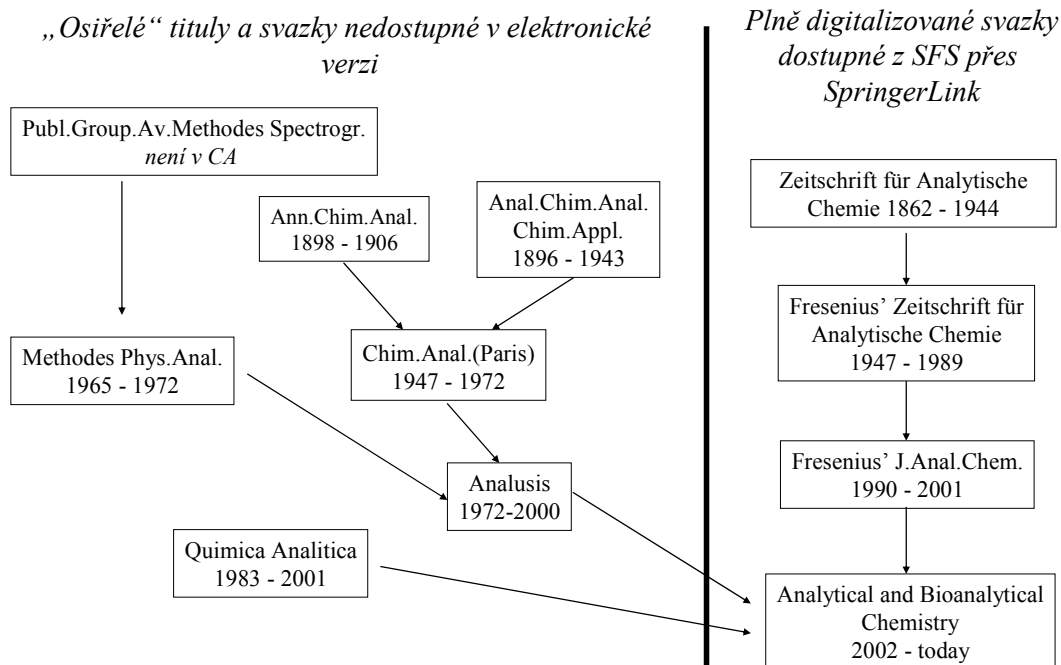
Ověření, zda daná instituce nebo i jednotlivec, má daný titul předplacen a má tudíž právo na přístup, je v současné době prakticky výhradně realizováno prostřednictvím IP adresy počítače, ze kterého je požadavek odeslán. Jakmile je požadavek doručen na server vydavatele je jeho zdrojová IP adresa porovnána se seznamem IP adres oprávněných k přístupu na požadovaný titul. Typicky se jedná o část nebo i celý rozsah veřejných IP adres používaných institucemi, které si jej předplatily. V případě, že zdrojová IP adresa patří do některého z rozsahů, pro které je zdroj předplacen, dojde k otevření plného textu dokumentu. Připomeňme, že zdrojová IP adresa je součástí každého odeslaného požadavku na Internetu (tak jako má dopis odesílatele a adresáta, mají IP pakety zdrojovou a cílovou IP adresu), takže i v případě, že z počítače v síti své domovské organizace vyhledáme požadovaný článek nebo odkaz na webových stránkách jiné instituce, můžeme získat přístup k plnému textu, protože konečný požadavek na zobrazení je odeslán z našeho počítače a tudíž s jeho IP adresou bez ohledu na to, kde byl výchozí bod k požadavku. Platí tedy důležitá zásada, že k plným textům se dostaneme jen z počítačů v síti instituce, která předplácí daný titul nebo má k němu přístup na základě konsorciálního přístupu. Jsou možné i jiné formy ověření autorizace přístupu, např. kombinací uživatelského jména a hesla, jsou ale méně praktické, protože vydavatelé mají s jejich vydáváním a správou větší režii, navíc jsou lehce zneužitelné, a proto nepříliš často používané pro větší organizace. Mají ale zásadní výhodu, kterou je možnost přistupovat k plným textům z kteréhokoliv počítače, nikoliv jen z toho, který je právě připojen do sítě domovské organizace, případně je do ní připojen VPN spojením. Spojit obě výhody pro větší organizace i vydavatele se snaží autentizační nástroje, které předávají informace o uživateli požadujícím přístup na server vydavatele k ověření na server domovské organizace, ať již byl požadavek odeslán odkudkoliv. Nejvýznamnější je asi systém Shibollet. Je to ovšem dvoustranná záležitost. Vydavatelé musí na tuto formu přistoupit a upravit své aplikace. Organizace musí rovněž vhodně upravit své vnitřní databáze s uživatelskými účty, což je často spojeno s nemalými náklady a náročnými organizačními změnami. V současnosti je většina velkých vydavatelů již připravena poskytovat přístup i pomocí systému Shibollet nebo takový projekt připravuje. Na straně univerzit je připravenost mnohem menší a často ani v rámci instituce není plošná. S poměrně velkou pravděpodobností k tomu ale dříve či později dojde.

Finanční stránka přístupu

To je pochopitelně nakonec ten nejdůležitější faktor. Pomineme-li dvě již zmíněné možnosti *Open Access* režimu³ nebo přímou platbu za každý dokument, zůstává stále nejběžnější klasická forma ročního předplatného. Ta ovšem dnes postupně dostává jinou náplň. Zmíněný konsorciální přístup byl dále liberalizován, např. umožněním výměny duplicitních titulů za chybějící při zachování celkové finanční úrovně a konečně nahrazen určitou formou „vstupního poplatku do klubu“, ať již požadavkem na předplatné alespoň jednoho časopisu nebo licenčním poplatkem odvozeným zpravidla od velikosti instituce, bez ohledu na skutečně předplácené tituly. To pochopitelně uvolňuje vazbu mezi předplatným konkrétních časopisů a skutečným přístupem, protože instituce má ve skutečnosti přístup k mnohem většímu souboru, než který skutečně předplácí. Tato politika není ani tak vstřícnost vůči předplatitelům, ale spíše logické využití mobility dokumentů a navazujících důsledků.

Elektronická forma článků umožňuje velmi snadno získat vypovídající statistiky o skutečném využití každého časopisu, tj. počty otevřených, stažených nebo vytištěných článků za časové období a tudíž možnost zjistit, kolik stojí jeden článek. Možnost odvíjet finanční úhradu na základě skutečně otevřených nebo stažených článků je na štěstí nepřijatelná pro vydavatele, kteří se obávají syndromu

psychologické zábrany otevírat dokumenty s vědomím, že za každý článek se platí. Výsledkem by byly jednak nižší příjmy na jejich straně, ale i menší využívání vědeckých informací. Řešení, které je právě v současné době nabízeno a zdá se, že bude asi rychle všeobecně akceptováno, spočívá v nabídce přístupu ke všem časopisům daného vydavatelství za roční licenční poplatek, který se odvíjí od velikosti univerzity charakterizované počtem studentů a zaměstnanců (standardní FTE, neboli *full time equivalent*) a od minulé úrovně předplatného (nebo dalších korekčních faktorů, někdy s případným navýšením pokud se úroveň využívání značně liší od dosavadní výše předplatného). Jinak řečeno, každá instituce bude mít přístup k celému souboru periodik daného vydavatele, přičemž skutečné využívání by mělo přibližně odpovídat objemu vědecké aktivity té které instituce a tudíž i ceně, za kterou bude přístup umožněn. Na tento princip již přistoupili největší vydavatelé v přírodních oborech jako je nakladatelství Elsevier, Wiley-Interscience, Springer a Taylor&Francis vedle Americké chemické společnosti a Anglické královské společnosti (Royal Society of Chemistry) Výsledkem je tedy téměř ideální stav, kdy vedle bibliografických bází dat pokrývajících celý obor budeme mít bezprostřední navazující připojení na plné texty ve velké většině případů. V případě vydavatelů chemických a přírodovědeckých časopisů se takový stav dá očekávat od počátku roku 2009.



Obr. 1.

Co dál, resp. vady na kráse

Výše uvedený scénář není tedy vize budoucnosti, ale realita, alespoň v případě velkých vydavatelů. Ti dnes díky rozsáhlým vzájemným akvizicím vydávají velkou většinu vědeckých časopisů, i když význam menších, nejčastěji vědeckých společností národních nebo oborových je mimo vší pochybnost stále velký. Malí vydavatelé nemohou investovat nutné prostředky do modernizace vydavatelského procesu a je pro ně také obtížnější realizovat plnou digitalizaci od prvních svazků. Velcí vydavatelé zde vidí příležitost k dalšímu rozšíření své působnosti a nabízejí zařazení titulů menších vydavatelů do svých souborů s různou mírou zachování nezávislosti původního vydavatele, což nepochybně může přispět k většímu využívání a zvýšení prestiže daného titulu. Typickou ilustrací je známý slovenský časopis *Chemické zvesti*, který je dnes dostupný v rámci projektu SpringerLink⁴ vedle ostatních periodik tohoto vydavatelství, ovšem jen v omezeném souboru ročníků. V každém případě bude ale záležet na individuálním titulu; časopis mající jednoznačně národní charakter, i když s mezinárodním dopadem, je v jiné situaci než mezinárodně uznávaný časopis širšího nebo i užšího oboru.

Asi významnějším problémem je dobře známá situace, kdy řada renomovaných periodik má za sebou dlouhou historii zahrnující nejenom změny názvů, ale i spojování titulů a změny vydavatelů, které skončily v náručí některého z velkých vydavatelů a není v současné době jasné, do jaké míry a hlavně kdo se postará o zpřístupnění předchozích verzí a sloučených titulů. Je nutné si uvědomit, že i když především budou hrát roli náklady, existují nezanedbatelné právní problémy s copyrightem a někdy možná i s existencí originálů. Jako ilustraci uvádíme situaci v případě známého analytického časopisu s familiárním názvem „Fresenius“ (viz obr. 1).

Tento časopis byl kmenovým titulem nakladatelství Springer, a proto je dnes kompletně digitalizován a v této formě přístupný od r. 1862, i když orientace na stránkách systému SpringerLink není vždy triviální a propojení s programem SciFinder není zatím dovedeno ani do starších svazků od r. 1907, kdy už existují odkazy v CA. A otevřenou otázkou zůstává, kdo se postará o digitalizaci a zpřístupnění oněch „osiřelých“, tedy ukončených či sloučených titulů formálně skončivších v dnes digitalizovaném časopisu.

Samostatným problémem zůstává způsob citování starších časopisů, které nikdy nebylo příliš důsledné ani v CA. Tak např. výše uvedený časopis „Fresenius“ je v CA pod celkem 4 různými zkratkami nebo plnými názvy, přičemž změna názvu a odpovídající zkratky *Z. Anal.Chem.* na *Fresenius' Z. Anal.Chem.* byla v CA plně zaregistrována až po téměř deseti letech existence. Zkratka *Publ.Group.Av.Methodes Spectrogr.* ve výše uvedeném schématu má v CA celkem 16 variant. Tento fakt je nepochybně jedním z aspektů, proč existující elektronické verze i u důležitých časopisů nejsou v SFS zatím propojeny přímým linkem, spolehlivě propojit různé varianty názvů určitě představuje netriviální problém.

Bude přístup k elektronickým verzím trvalý ?

Přes nepochybný pokrok a téměř neskutečnou snadnost přístupu k vědeckým článkům každého dříve či později napadne, co se stane s elektronickým materiálem, nebude-li mít instituce finance na další licenční poplatky nebo vydavatel vyhlásí úpadek. Tato otázka má pochopitelně i svou ryze technickou stránku trvanlivosti záznamů na paměťových médiích, která se dá ale celkem jednoduše obejít vytvořením libovolného počtu kopií a jejich systematickou kontrolou. Aspekt přístupových práv je v současné době řešen v zásadě smluvní formou, kdy licenční ujednání obsahují zpravidla klausuli o trvalosti přístupu (nejčastěji termínem *perpetual*) jak k zakoupeným archivům, tak i k průběžně předpláceným titulům. Pokud je materiál uchovávan na serverech producentů, bývá požadován udržovací poplatek, v případě ukončení licenčních smluv je garantována možnost převodu do fyzického vlastnictví na vhodném paměťovém médiu. Budiž řečeno, že zatím tyto záruky nebyly v praxi ověřeny.

Přístup k elektronickým verzím je řešen jednak na úrovni centrálních, např. státních knihoven⁵, jednak se otevírá i prostor pro komerční aktivity, kdy soukromý subjekt uzavře smlouvy jak s vydavateli, tak i s institucemi a za úhradu garantuje trvalý přístup k jednou zakoupeným dokumentům⁶. Pokud bude vědecká instituce aktivní, bude pro svou činnost potřebovat přístup k informacím s příslušnými náklady. Pokud činnost ukončí, ukončí i licenční přístup a celý materiál bude předán a snad i převeden na jiný subjekt. Uvědomme si také, jaká situace už řadu let existuje v případě sekundárních zdrojů typu *Chemical Abstracts*, *Beilstein*, *Gmelin* a dalších. Protože se jedná o neustále doplňované zdroje, v případě ukončení licenčního přístupu nezůstává instituci žádný materiál.

LITERATURA

1. Šilhánek J.: *Chem. Listy* 101, 595 (2007).
2. Termín „současnost“ je v elektronické verzi ještě „současnější“ protože jsou zpřístupňovány články ještě před vyjitím v tištěných sešitech poté, co byly přijaty k otištění. Jsou označovány zkratkou *ASAP* = *As soon as publishable*.
3. Pro všeobecné informace kolem režimu *Open Access* je možné odkázat např. na: http://en.wikipedia.org/wiki/Open_access, staženo 22.9.08.
4. <http://www.springerlink.com/content/?k=Chemical+Papers>, staženo 22.9.08.
5. Koninklijke Bibliotheek, Den Haag, Holandsko; <http://www.kb.nl/dnp/e-depot/e-depot-en.html>, staženo 22.9.08.
6. Portico, New York, USA; <http://www.portico.org/about/>, staženo 22.9.08.

J. Šilhánek and L. Zetková (*Institute of Chemical Technology, Prague*): **Present Situation in Accessibility of Electronic Versions of Scientific Papers**

The scientific community has wide and efficient options to access electronic versions of scientific papers on Internet, starting from citations or from bibliographic or other scientific databases. What is not always clear is the fact that sometimes a particular article opens but some-

times not. In majority of cases the key problem is the IP address of the computer from which the user is asking for access. The IP address of institution, which is an inseparable part of the request, is compared with a list of IP addresses of subscribing institutions. The paper opens only in the case of agreement. This review summarizes the overall situation in availability of the electronic versions and some standing problems of further extension of access.

 <p>Slovenská chemická spoločnosť Radlinského 9 812 37 Bratislava</p> <hr/> <p>www.schems.sk schs@chtf.stuba.sk</p>	<h1>61. ZJAZD CHEMIKOV</h1>  <p>7. – 11. september 2009</p> <hr/> <p>Vysoké Tatry Tatranské Matliare</p>
---	--

Ze života chemických společností

Ostravská univerzita v Ostravě udělila čestný doktorát prof. Ing. Kamilu Wichterlovi, DrSc.

Na slavnostním zasedání Vědecké rady Ostravské univerzity v Ostravě dne 26. listopadu 2008 byl udělen čestný titul *doctor honoris causa* významné osobnosti v oblasti chemických věd profesorovi Ing. Kamilu Wichterlovi, DrSc.

Profesor Kamil Wichterle se narodil 11. října 1941 ve Zlíně a bylo by jistě neúplné, kdybychom opomenuli zmínit, že je synem slavného českého chemika prof. Otta Wichterleho. V tomto případě „jablko opravdu nepadlo daleko od stromu“ a chemie, která učarovala otci, se stala celoživotní láskou i pro syna Kamila. Ke svému studiu si zvolil Vysokou školu chemicko-technologického inženýrství v Praze, kde v roce 1963 promoval. Kandidátskou práci v oboru teorie chemické techniky obhájil v roce 1968 v ČSAV na nynějším Ústavu chemických procesů AV ČR v Praze, kde dále působil jako vědecký pracovník. V roce 1994 byl jmenován docentem chemického inženýrství na VŠCHT Praha, v roce 1997 pak na téže pracovišti profesorem. V roce 1997 získal titul DrSc. na Strojní fakultě ČVUT v Praze.

Těžištěm výzkumné činnosti profesora Wichterleho se staly vícefázové disperze, chování newtonských kapalin, viscozních látek včetně tekutých kovů. V této problematice publikoval své stěžejní vědecké práce a dosáhl v ní světového ohlasu. Je autorem či spoluautorem více než čtyř set publikačních výstupů – z toho je 25 patentů či autorských osvědčení a bezmála stovku pak představují články v mezinárodních periodikách. Jako expert byl profesor Wichterle pozván na pobyty do Spojených států amerických a do Velké Británie.

Své bohaté praktické zkušenosti z výzkumného života profesor Wichterle předával a předává studentům. Dříve to bylo na VŠCHT resp. ČVUT Praha, od roku 1993 pak především na VŠB-TU Ostrava, kde působí v čele katedry chemie na Fakultě metalurgie a materiálového inženýrství. Pod jeho vedením bylo vytvořeno bezmála 50 diplomových prací, jejichž témata se přednostně zaměřují na řešení problémů chemického průmyslu. Odráží se v tom dlouholetá spolupráce pana profesora s chemickými firmami jako je BorsodChem – MCHZ v Ostravě nebo DEZA ve Valašském Meziříčí.

Profesor Wichterle má těsné vztahy s katedrou chemie Přírodovědecké fakulty Ostravské univerzity v Ostravě. Podporuje vzájemnou mobilitu a spolupráci mezi Ostravskou univerzitou a Vysokou školou báňskou – TU Ostrava jak studentů, tak i pedagogických pracovníků. Každoročně participuje na organizaci krajských a celostátních

soutěží Chemické olympiády a na soustředěních mladých chemiků. Jeho přednášky a vystoupení pro „budoucí chemiky“ se vždy vyznačují mimořádně názornou, přitažlivou, ale i zábavnou formou – tedy přesně takovým způsobem, který v mladých lidech dokáže vzbudit opravdový zájem a přitáhnout je k chemickým vědám.

Dlouholeté zkušenosti profesora Wichterleho jsou (mimo jiné) záručeny v rámci jeho členství ve vědeckých radách řady vysokých škol a jsme potěšeni, že v letech 2001–2003 byl profesor Wichterle členem Vědecké rady Ostravské univerzity v Ostravě a od roku 2003 je členem Vědecké rady Přírodovědecké fakulty OU.

Prof. Ing. Kamil Wichterle, DrSc. je výjimečně tvůrčí, čínorodý člověk, který se nedokáže jinak, než úplně ponořit do problému. Je přátelské a vstřícné povahy a velmi rád zdůrazňuje, že onu vstřícnost si pan profesor plně zachovává i jako člen pracovní skupiny pro chemické obory Akreditační komise MŠMT ČR, kdy svým názorem, radou a doporučeními přispívá k podpoře rozvoje studijních oborů v oblasti chemie. Jsme přesvědčeni, že čestný doktorát je zaslouženým oceněním profesora Ing. Kamila Wichterleho, DrSc. jako nesmírně tvůrčí, pedagogicky zdatné a lidsky ryzi osobnosti.

*Dana Kričfaluši
děkanka Přírodovědecké fakulty
Ostravská univerzita v Ostravě*

*Boleslav Taraba
ostravská pobočka ČSCH (předseda)*

O nositeli Ceny Alfreda Badera za organickou chemii v roce 2008

Patnáctý ročník Ceny Alfreda Badera za organickou chemii pro české chemiky do 35 let přinesl úspěch Doc. Ing. Aleši Růžičkovi PhD. (34 let) z Katedry anorganické chemie na Univerzitě v Pardubicích. Předložil soubor prací o syntézách a vlastnostech organocínicitých sloučenin zahrnující 40 původních sdělení v impaktovaných časopisech. Slavnostní předání Ceny* se tradičně uskutečnilo na 43. konferenci „Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii – Liblice 2008“ konané v Nymburku a zde, opět tradičně, nový laureát přednesl plenární přednášku na téma oceněného souboru prací s názvem „C,Y-Chelátované sloučeniny cínu“.

Nový nositel Ceny se narodil v Kutné Hoře v roce 1974. Vysokoškolské studium absolvoval na Katedře anorganické chemie VŠCHT v Pardubicích, kde získal diplom inženýra chemie v r. 1997 a na stejném pracovišti v r. 2001 obhájil doktorskou dizertační práci pod vedením prof.

*) Hodnotící komise: Prof. P. Drašar (tajemník), Prof. D. Dvořák, Doc. J. Hlaváč, Prof. A. Klásek, Prof. M. Kotora, Prof. V. Macháček, Prof. M. Potáček, Prof. O. Paleta (předseda), Dr. I. Starý, Prof. T. Trnka, Prof. K. Waissler, Dr. J. Závada.

J. Holečka. Po získání vědecké hodnosti byl zaměstnán ve vědeckém centru Univerzity Pardubice a Akademie věd ČR (1999–2004), pak přešel zpět na Univerzitu Pardubice, kde se habilitoval v r. 2006. Zabývá se chemií organocínicích sloučenin a jejich biologickou aktivitou. Absolvoval delší stáž na University of Sussex a řadu krátkodobých pobytů na univerzitách Evropy. Je řešitelem a spoluřešitelem řady grantových projektů. Dosažené vědecké výsledky byly dosud publikovány v 60 původních sděleních v recenzovaných odborných časopisech. Nový nositel Ceny získal ocenění již dříve, a to 1. cenu Spektroskopické společnosti a ocenění publikace od Journal of Mass Spectrometry.

Srdečně blahopřejeme k získání prestižní Ceny Alfreda Badera a přejeme hodně dalších odborných úspěchů.

Dosavadní nositelé Ceny Alfreda Badera 1: 1) RNDr. Ivo Starý CSc. (1994), Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha. 2) RNDr. Martin Smrčina CSc. (1995), Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha. 3) Dr. Ing. Vladimír Havlíček (1996), Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha. 4) Ing. Pavel Lhoták CSc. (1997) Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha. 5) Ing. Michal Hoskovec CSc. (1998), Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha. 6) Ing. Michal Hocek CSc. (1999), Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha. 7) Ing. Vladimír Círka PhD. (2000), Ústav chemických procesů AV ČR, Praha. 8) Doc. RNDr. Milan Pour PhD. (2001), Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové. 9) Mgr. Štěpán Vyskočil PhD. (2002), Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha. 10) Mgr. Tomáš Kraus PhD. (2003), Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha. 11) Ing. Dana Hocková CSc. (2004), Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha. 12) Ing. Radek Cibulka PhD. (2005), Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha. 13) Doc. RNDr. Petr Štěpnička PhD. (2006), Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha. 14) Doc. Ing. Jiří Hanusek PhD. (2007), Katedra organické chemie, Univerzita Pardubice.

Oldřich Paleta

Přihlášky do soutěží o Ceny Alfreda Badera v roce 2009

V roce 2009 bude Česká společnost chemická tradičně pořádat soutěže o dvě prestižní Ceny Alfreda Badera. „Starší“ Cena je za organickou chemii, „mladší“ Cena je od r. 2002 udělována za bioorganickou a bioorganickou chemii. Je vcelku přirozené, že se oblasti působnosti obou Cen dosti překrývají. Markantním důkazem překryvu může být skutečnost z minulých ročníků soutěže, kdy soubor prací, který neuspěl v jedné soutěži, byl přihlášen do soutěže o druhou Cenu – a zde uspěl. Nadále však platí omezení, že je možno získat jen jednu z Cen Alfreda Badera pro české chemiky, přitom obě Ceny jsou rovnocenné.

Uzávěrka přihlášek do konkurzu o „Cenu za organickou chemii v roce 2009“ byla stanovena na 15. červen 2009 (případně jde o datum poštovního razítka). Podmín-

ky a náležitosti přihlášky zůstávají v podstatě stejné jako v minulých letech: Cena se uděluje za práce v oblasti organické chemie uchazečům české státní příslušnosti, kteří nepřekročí věk 35 let v den uzavěrky přihlášek a nemají hlavní pracovní poměr v zahraničí (postdoktorská stáž se za takový pracovní poměr nepovažuje). Soubory přihlášených prací mohou rovněž zahrnovat studie mechanismů. Na druhé straně do působnosti Ceny nepřísluší práce z analytické oblasti (včetně strukturální analýzy) a výpočetní chemie. Uchazeči o Cenu se zpravidla přihlašují sami na sekretariátu České společnosti chemické (Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1), návrh však mohou podat také kolegové, instituce a rovněž vědecké rady a senáty. *Cena je udělována nejlepšímu souboru prací bez ohledu na to, kolikrát se autor o ni ucházel. Od r. 2005 je Cena dotována částkou 3300 USD.* Tato úprava odpovídá původní dotaci a týká se obou Cen.

Uzávěrka přihlášek do konkurzu o „Cenu za bioorganickou a bioorganickou chemii v roce 2008“ byla stanovena na 31. březen 2009. Přihlášky musejí obsahovat stejné náležitosti jako přihlášky do konkurzu o Cenu za organickou chemii.

K přihlášce je potřeba zaslat následující materiály: 1) Hlavní částí přihlášky jsou *separáty* publikovaných prací přihlášených do soutěže a 2) k nim zpracovaný *souhrn vlastních výsledků* s příslušným komentářem v rozsahu do 8 běžných strojopisných stran. Souhrn obsahuje vhodná schémata a struktury ilustrující výsledky uchazeče, dále jsou v souhrnu uvedeny citace jen na vlastní práce, které jsou předmětem soutěže. 3) V *seznamu publikací* se hvězdičkou označí autor, který práci podal do redakce a vyřizoval komunikaci s redakcí. Řada publikací vzniká týmovou činností a z toho důvodu je potřeba v seznamu publikací uvést, jak se uchazeč na publikaci a jejím zveřejnění podílel (např. šlo (zčásti) o výsledky diplomové práce, výsledky doktorské práce, (zčásti) řešení grantu získaného uchazečem, samostatně řešenou část projektu, vlastní projekt, výsledky diplomanda nebo doktoranda – které uchazeč skolil apod.). Nedoporučuje se hodnotit svůj podíl procentuálně, protože kupř. novou myšlenku a zkušenosti jiné osoby, které úspěšnou práci umožnily, lze těžko procentuálně srovnávat s provedením práce. 4) Příložený *životopis* by měl zachytit odborný vývoj, např. téma diplomové a doktorské (kandidátské dizertace) se jménem školitele, pracovní zařazení, získaná ocenění, stáže a jejich tematické zaměření, získané granty apod. Hodnotící komise posuzuje soubory prací nezávisle na doporučeních školitelů, vedoucích apod., takže přihláška je plně platná a plnohodnotná i bez těchto doporučení.

Na závěr zdůraznění – **uzávěrka do soutěže o Cenu Alfreda Badera za bioorganickou a bioorganickou chemii je již 31. března 2009 a do soutěže za organickou chemii je 15. června 2009**, což může být v obou případech datum poštovního razítka na zápisce s přihláškou.

Oldřich Paleta, předseda
Komise pro Cenu Alfreda Badera I

Tomáš Trnka,
předseda Komise pro Cenu Alfreda Badera 2

Evropský koutek

Competence – Contacts – Cooperation 2nd Summit of Presidents of Central Europe Chemical Societies

The Presidents of Chemical Societies of Austria, Czech Republic, Germany, Hungary, Poland, Slovakia, and Slovenia have met at the Art Centre of Palacky University Olomouc, for the second time on August 31st – September 1st, 2008 under the auspices of the Mayor of City of Olomouc. The meeting has linked to the 1st Summit held three years ago and has aimed at the Chemical Societies activities evaluation of the interval between both summits and the further expansion of the mutual cooperation within Central Europe territory.

After extensive discussion, the Presidents agreed on the fact, that Chemical Societies are the place of get-togetherness of Science, Education, Industry and Governmental bodies which should lead though Cooperation to Renovation. Special focus has been paid to student community. Common for all Societies is the support of student's exchange, lectures given by renowned experts for younger chemists, bilateral cooperation, science popularization, multi-national student community, membership in international organizations (EuCheMS, ECTN, IUPAC), organizing of meetings, conferences, publication activities, etc.

Another important aspect stressed the fact that the results of activities in science, R&D and education might be fructified through the close cooperation with industry. The excellent example has been presented by Mr. Klaus. R. Bischoff, President PLS/Performance&Life Science Chemicals, Merck KGaA, Germany, who showed their collaboration with universities world-wide as the very efficient win-win situation. The company also sponsored the meeting.

National chemical journals were still found the fundamental tool of the informative flow within Societies and for the external public. Two basic questions were discussed. The first it is the language and the second are necessary financial resources to run them. Regarding language, there is the general acceptance to have the journal in the national language of the respective country run by the national chemical society. The financial resources for journal edition seem to be crucial today and namely in future, which would require both more involvement of sponsorships and E-versions adoption as well.

The meeting also discussed the role of national Chemical societies in the European quality labels (Eurobachelor, Euromaster, and EurChem). All three came into being as the consequence of the general knowledge level disintegration with aim to keep and standardize the education level and the further professional development. The role of national societies should be enhanced in the future.

Discussion also touched the popularization of chemistry and its image. Two recent projects: MedVěd and MET-POPULI were presented. The substantial part of this project is the way of communication with the public and media. Year 2011 is to be The International Year of Chemistry, which major tasks in our countries would be: a) Intervention of Government/State in Primary/Secondary Education, b) popularization of Chemistry, c) Training of School Teachers and, d) National and International Chemistry Olympiad.

Františka Pavlíková

Professor Luis Oro becomes EuCheMS President

Professor Luis Oro, Past President of the Real Sociedad Española de Química (Spanish Royal Society of Chemistry), becomes EuCheMS President



Professor Luis Oro has made an important contribution to the renaissance of chemistry, not only in Spain, through his outstanding scientific contributions, but also in different positions by his selfless devotion to championing and encouragement of chemistry at European level. He has been Vice-President of the European Science Foundation, a member of the European Science and Technology

Assembly, the CREST EU Committee and the OECD Science Policy Committee.

He is the Immediate Past President of the Spanish Royal Society of Chemistry, having served as President during the period 2000 – 2005.

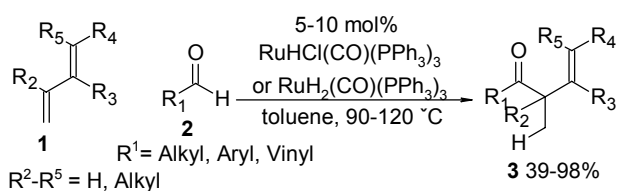
Luis Oro is Professor of Inorganic Chemistry in Zaragoza and Director of the Instituto Universitario de Catálisis Homogénea (IUCH). His main research interests are in coordination and organometallic chemistry of platinum group metals where he has co-authored well over 500 scientific papers on synthesis, reaction mechanisms, homogeneous catalysis. Further information is available at <http://sorores.unizar.es/personales/LAO/oro.html>.

*Secretariat
Ms Evelyn McEwan
Royal Society of Chemistry
Burlington House
Piccadilly, London W1J 0BA
e-mail: mcewane@rsc.org*

Anglické okénko, horké novinky z chemie

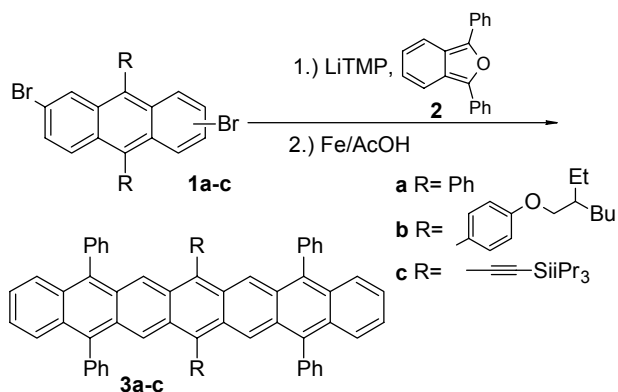
β,γ -Unsaturated Ketones by Ruthenium-Catalyzed Hydroacylation

Generally applicable approaches to isomerization-sensitive β,γ -unsaturated ketones are rare or limited in scope. The Ryu and Krische research teams reported now independently of each other a simple solution to this problem [J. Am. Chem. Soc. 130, 14094, 14120 (2008)]. The reaction of 1,3-Dienes **1** with aldehydes **2**, which can be generated also *in situ* in the reaction system, affords a broad range of β,γ -unsaturated ketones **3** with $\text{RuHCl}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3$ or $\text{RuH}_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3$ as the catalysts under mild conditions in mostly very good yields.



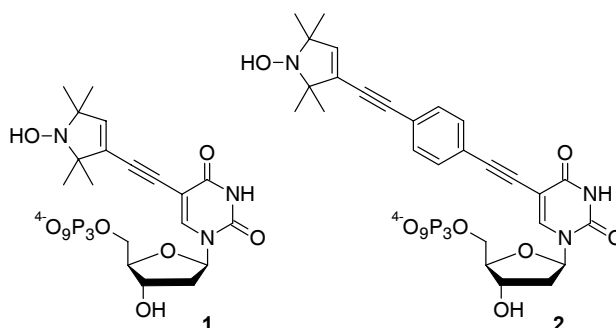
Record Stability of Linear Acenes

Linear acenes are interesting with respect to their electronic structure and their potential applicability as organic electronic materials. However, their strongly increasing thermal and photochemical instability with growing number of fused rings are limiting their use. Moreover, a triplet biradical ground state was predicted for heptacene and higher homologs. Wudl et al. succeeded recently to synthesize substituted heptacenes **3** by a double Diels-Alder reaction of dibromoanthracenes **1** with diphenylisobenzofuran **2** [Angew. Chem. Int. Ed. 120, 8380 (2008)]. Derivative **3c** was even characterized by X-ray crystallography and proved to be a stable singlet under the exclusion of air.



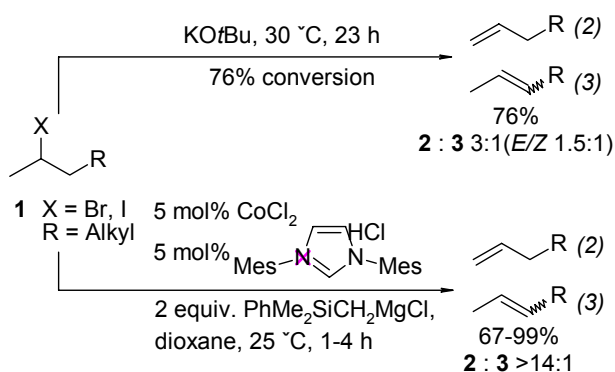
Enzymatic Synthesis of Spin-Labeled DNA

Nitroxyls are important probes for the determination of structure and dynamics of biomacromolecules, since the desired information can be generated without disturbing interferences by ESR spectroscopy. The introduction of spin labels into intact DNA was so far extremely difficult. Marx and coworkers reported now the defined multiple incorporation of non-natural nucleobases **1** and **2**, which were easily synthesized by Sonogashira coupling, with the help of DNA polymerases [Angew. Chem. Int. Ed. 120, 6782 (2008)]. This technique allowed the introduction of up to eleven nitroxyl units into DNA strands.



Textbook Reactions β -Elimination and Markovnikov Addition Better Controlled

β -Elimination as typical textbook reaction seems to have been investigated in every detail. In reality, however, the attainable regioselectivity of base-mediated elimination **2:3** is often moderate and synthetically not useful. Oshima developed a methodology, which is based on the cobalt-catalyzed elimination of alkyl halogenides (**1**) with the help of silylated Grignard reagents [J. Am. Chem. Soc. 130, 11276 (2008)]. The reaction provides the kinetically



controlled products **2** with excellent regioselectivity. It proceeds, however, via the free radical-induced formation of organocobalt intermediates and subsequent β -hydride elimination. Gaspar and Carreira found that the reverse reaction – the Markovnikov addition of HCl to olefins can

be accelerated also considerably by cobalt catalysis and radical intermediates [Angew. Chem. Int. Ed. 120, 5758 (2008)]. Transition metal-catalyzed radical processes offer thus distinct advantages over the classical polar processes.

Ulrich Jahn

Odborná setkání

18. Mezinárodní kongres chemického a procesního inženýrství CHISA 2008

Ve dnech 24. až 28. srpna 2008 se v Praze konal již *18th International Congress of Chemical and Proces Engineering CHISA 2008*. Kongres je bezesporu jednou z nejvýznamnějších akcí v oboru ve světovém měřítku a má dlouholetou tradici: jeho první ročník se konal v Brně v roce 1962, dva následující v letech 1965 a 1969 v Mariánských Lázních a od roku 1972 se kongres koná vždy v Praze, nejprve ve tříletém, později ve dvouletém intervalu. Je zajímavé, že v době, kdy většina významných vědeckých konferencí stále mění místo svého konání a snaží se tak uplatnit i „turistický“ aspekt, zájem o kongresy CHISA, pořádané již přes 35 let na stejném místě, rozhodně neklesá. Kromě tradice, dobře strukturovaného programu a kvalitní organizace je zde bezesporu významná „přidaná hodnota“ pražského *genia loci*.

Akronym CHISA je zkratkou českého názvu chemické inženýrství, strojírenství a automatizace. Národní konference se pod touto hlavičkou konají pravidelně v mezidobí mezi kongresy. Jen pro doplnění – první národní konference CHISA proběhla v roce 1956, tedy před více než půl stoletím. Kongresy CHISA organizuje Česká společnost chemického inženýrství v úzké spolupráci s Ústavem chemických procesů AV ČR a s podporou Inženýrské akademie ČR a VŠCHT Praha a pravidelně se ho účastní zhruba tisícovka vědců z celého světa. Na letošním kongresu byli zastoupeni vědci z 67 zemí pěti kontinentů.

Slavnostní zahájení kongresu se konalo ve Dvořákové síni Rudolfiny za účasti představitelů Evropské federace chemického inženýrství (EFCE), Amerického institutu chemických inženýrů (AIChE), Kanadské společnosti chemických inženýrů a řady dalších významných domácích i zahraničních hostů. Zúčastněné pozdravili prof. Jiří Drahoš jako prezident EFCE, prof. Vlastimil Růžička, náměstek MŠMT ČR, dr. Dale Keairns, prezident AIChE a prof. Petr Zuna, prezident IA ČR. Z rukou předsedy České společnosti chemického inženýrství prof. Jiřího Drahoše převzali čestná členství ve společnosti prof. Alvin Nienow z Velké Británie a prof. Jaroslav Skřivánek z ČR. Součástí společenského programu kongresu byl i tradiční koncert ve Smetanově síni, tentokrát s vynikající Komorní filharmonií Pardubice pod vedením Leoše Svárovského. Do posledního místa zaplněná Smetanova síň nadšeně aplaudovala skladbám J. V. Stamice, W. A. Mozarta a L. van Beethovena.

Odborná část programu probíhala na stavební fakultě ČVUT v jedenácti paralelních sekcích (podrobnosti na www.chisa.cz/2008): během čtyř dnů odezněly čtyři kongresové plenární přednášky – dvě z oblasti základního a dvě z průmyslového výzkumu – a 48 zvaných přehledných přednášek. Účastníci kongresu dále prezentovali přes 1500 standardních příspěvků ve formě přednášek i vývěsek. Za zmínku určitě stojí všechny kongresové plenární přednášky: klíčovou roli katalyzátorů při konverzi ropy na široké spektrum produktů skvěle shrnul ve svém příspěvku s názvem *Catalysts – critical components in technologies for the production of transportation fuels and chemicals* prof. Alexis T. Bell (Univ. California, Berkeley, USA). Dr. Joel Bertrand (CNRS, Univ. Toulouse, FR) v přednášce *Chemical engineering for aeronautics and space industries* přesvědčivě dokumentoval významnou roli chemického inženýrství v leteckém průmyslu. Velký ohlas měly i obě průmyslově zaměřené přednášky reprezentantů významných nadnárodních firem, dr. Gábora Kenesseyho (MOL Group Refining, HU) s názvem *Profit-driven optimisation in the oil industry: how to turn hydrocarbon molecules into financial benefits*, a dr. Jiřího Langa (DuPont CZ) na téma *Environmental sustainability – opportunity for industrial growth*.

V rámci kongresu proběhla rovněž celá řada specializovaných sympozií věnovaných např. průmyslovým aplikacím mikrotechnologií, otázkám inženýrství životního prostředí, elektrochemickému inženýrství, problémům bezpečnosti v chemickém průmyslu nebo specifickým rysům inženýrského vzdělávání. Kongres se samozřejmě věnoval i tradičním chemicko-inženýrským tématům, jako jsou reakční inženýrství, katalýza nebo separační procesy. Tradičně významnou součástí kongresu byla 11. mezinárodní konference PRES 2008, akcentující problematiku integrace, modelování a optimalizace procesů pro úsporu energií a snížení znečištění životního prostředí. Z odborného programu kongresu byla zřejmá snaha chemického a procesního inženýrství zahrnout do návrhu procesů všechny klíčové aspekty: vysoce účinné, bezpečné a životní prostředí nepoškozující technologie; produkty šité na míru a umožňující efektivní využití vstupních surovin; minimální rozměry aparátů s maximálním stupněm intenzifikace výroby a recyklace použitých materiálů; využití víceúčelových aparátů při výrazném snížení jejich finanční náročnosti. Kongres také jednoznačně ukázal, že právě chemické a procesní inženýrství je hlavní hybnou silou pro udržitelný rozvoj chemického průmyslu a pro

celou řadu inovací nezbytných k řešení potřeb společnosti v nejrůznějších oblastech, jako jsou např. energetika, nové materiály, ochrana životního prostředí, kvalita života apod.

Odborný program kongresu doprovázely prezentace českých i zahraničních komerčních firem. V rámci kongresu proběhla též zasedání vrcholových orgánů Evropské federace chemického inženýrství a jejich pracovních skupin.

Poděkování za finanční podporu kongresu patří firmám DEZA, Unipetrol, Lovochemie, Čepro, Synpo, Česká rafinérská, Pražská plynárenská, BorsodChem MCHZ, Hexion, CS Cabot a Zentiva.

Jiří Drahoš
předseda kongresu CHISA 2008
předseda ČSCH

39. Zasedání Divize analytické chemie Evropské asociace pro chemické a molekulární vědy (Division of Analytical Chemistry of the European Association for Chemical and Molecular Science)

39. výroční zasedání DAC EuCheMS proběhlo 16. září 2008 v Torinu v návaznosti na 2nd EuCheMS Chemistry Congress, který se konal ve dnech 16. až 20. září 2008 rovněž v Torinu, a který patří mezi největší evropské chemické konference. Autor tohoto článku přednesl na této konferenci jako jeden z mála českých účastníků ústní referát na téma „*Non-Traditional Electrodes for Voltammetric Monitoring of Water Pollutants*“. Zasedání DAC se zúčastnili zástupci 13 evropských chemických společností z 12 evropských zemí. Byly na něm projednány otázky související s činností DAC, příprava analytické sekce na 3. Evropském chemickém kongresu v Norimberku (29. srpna až 20. září 2010) a na 4. Evropském chemickém kongresu v Praze (26. až 30. srpna 2012), jehož pořádáním byla pověřena Česká společnost chemická, příprava konference EUROANALYSIS XV, která proběhne 6. až 10. září 2009 v Innsbrucku a EUROANALYSIS XVI, která se bude konat v roce 2011 v Bělehradě. Byl diskutován další rozvoj „Eurocurricula“ analytické chemie a jeho koordinace s projekty Evropské unie TUNING a ECTN zaměřenými na sladování bakalářských a nyní i magisterských a doktorských studijních programů v oblasti chemie. Zde stojí za zmínku, že právo udělovat prestižní titul CHEMISTRY EUROBACHELOR a CHEMISTRY EUROMASTER získala Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze.

Účast zástupce České společnosti chemické na práci DAC FECS byla umožněna jednak grantem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v rámci projektu INGO LA 273 (2008) (Reprezentace české analytické chemie v Evropské asociaci pro chemické a molekulární vědy) a jednak laskavou podporou firem Merck s.r.o. Praha a ChromSpec, Praha. Je milou povinností autora poděkovat výše uvedeným firmám za jejich pochopení a podporu aktivit České společnosti chemické a odborné

skupiny analytické chemie. Všechny materiály související s činností DAC EuChEMS jsou k dispozici na níže uvedené adrese.

Jiří Barek, zástupce České společnosti chemické v DAC
EuCheMS
Katedra analytické chemie PŘF UK
Albertov 2030, 128 43 Praha 2
tel: 221 951 224
E-mail: Barek@natur.cuni.cz

Nové metody propagace přírodních věd mezi mládeží aneb Věda je zábava

Ve dnech 6.–7. listopadu se v Olomouci odehrál pod patronací přírodovědecké a pedagogické fakulty Univerzity Palackého již třetí ročník konference s mezinárodní účastí pod názvem „Nové metody propagace přírodních věd mezi mládeží“ a podtitulem „Věda je zábava“. V nádherných prostorách Arcidiecézního muzea téměř 70 aktivních účastníků konference prezentovalo své příspěvky, a to jak verbálně, tak i formou posterů, diskuzí nebo dokonce dramatických vystoupení. Konferenci již tradičně zahajovali nejvyšší hodnostáři obou garantujících fakult – za pedagogickou paní děkanka prof. Libuše Ludíková a za přírodovědeckou fakultu účastníky přivítal pan proděkan pro vědu a výzkum prof. Tomáš Opatrný.

Ústředním tématem konference byl, jak již název napovídá, problém, jak učinit vědu, která je zábavná pro nás – odborníky, zábavnou i pro mladé studenty – (zatím) laiky. Vzhledem k blížícímu se závěru projektu MŠMT „STM-Morava“ šlo také o zúčtování a vyhodnocení jeho dílčích podprojektů, které se všechny podílely soutěžní formou na rozvoji a zlepšení vztahu studentů základních a středních škol k přírodním vědám. Díky účastníkům, kteří zavítali do Olomouce z jiných měst a univerzit, bylo také možné srovnání, sebereflexe a případná sebekritika, neboť jak se ukázalo, popularizaci přírodních věd i inovaci jejich výuky se na vysoké úrovni věnují pedagogové a vědci i v Ostravě, Hradci Králové nebo Bratislavě.



Během dvou nabitých dnů konference bylo možné si vyslechnout v češtině, slovenštině i angličtině řadu příspěvků z oblasti popularizace nejen chemie, ale i matematiky, fyziky, biologie, geografie, prostě všech oborů, soustředěných pod ochranným náručím matičky přírodních věd. K těmto aktivitám samozřejmě patří i problém zjišťování jejich dopadů na mládež, takže velkou pozornost účastníků konference vyvolaly příspěvky věnované výsledkům sociologického průzkumu, zabývajícího se popularitou fyziky, chemie, matematiky mezi žáky středních škol v Olomouckém kraji. Potěšujícím zjištěním jistě bylo to, že zájem mládeže o přírodní vědy a zejména o chemii zaznamenal, snad i díky aktivitám pedagogů a vědců z přírodovědecké a pedagogické fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, sice mírný, ale postřehnutelný vzestup. V rámci konferenčního jednání byly představeny jak nové soutěže (např. Středoevropská matematická olympiáda, Labyrint fyziky, chemie a matematiky nebo Přírodovědný klokan), tak i novinky v realizaci těch ověřených a již dlouhodobě existujících aktivit jako je Fyzikální olympiáda. Nechyběly ani prezentace nových metod a postupů, jak nejen zvyšovat kvalitu, ale i atraktivitu výuky přírodovědných předmětů. Zde účastníky konference zaujal např. projekt spolupráce středních škol se subjekty lokální komunity nebo z matematického soudku možnosti inovace výuky na středních školách „oblíbeného“ tématu řešení

kvadratických rovnic. Věhlas konference přilákal do Olomouce i významné osobnosti z historie přírodních věd – svou odbornou i lidsky zajímavou disputaci účastníkům předvedli dva velikáni – prof. Dmitrij Ivanovič Mendělejev a objevitel dynamitu Alfred Nobel (postavy dokonale zahráli kolegové z Ostravské univerzity). Inu i ve vážných chvílích není třeba ztrácet humor a nadhled. Kromě rozsáhlého vědeckého programu byla pro účastníky konference připravena i zajímavá prohlídka prostor arcidiecézního muzea a společenský večer doplněný o bowlingové klání.

Organizátoři konference tak mohou konstatovat, že se již potřetí podařilo přilákat do Olomouce řadu lidí nejen zapálených pro přírodní vědy, ale i schopných svůj zápal předávat mladé generaci tak, aby se podařilo zastavit celosvětově neblahou tendenci poklesu zájmu mladé generace o náročné, ale krásné studium přírodních věd. Konferenční fórum tak, doufejme, přispělo nejen k výměně nápadů, jak rozvíjet tyto činnosti, ale přineslo jeho účastníkům i potřebnou energii pro pokračování ve své těžké práci díky setkání se stejně nadšenými propagátory a pedagogy. A budeme si přát, aby i příští ročník této konference přispěl minimálně stejnou měrou k podpoře a rozvoji nejen popularizačních aktivit v oblasti přírodních věd.

Další informace najdete na <http://sif.upol.cz>, resp. na <http://souteze.upol.cz>.

Libor Kvítek, Magdalena Megová

Aprílový klub

Ve zvláštním vydání Sandry (ZV 4/2008) jsem objevila elegantní chemšmejd. Perníkové srdce pro naše nejmilejší: 200 g řepkového sirupu, 140 g třtinového cukru, 40 g másla, 450 g pšeničné mouky, 1 lžička natronu (hydroxid sodný), ½ lžičky skořice, ½ lžičky kakaa, ½ lžičky soli 2 špetky drceného hřebíčku, 2 bílky, 2 lžíce mléka ... Přeji louhovou dobrou chuť!!!

Zdena Řeháková

Vyhláška 399/2008 Sb. přináší v sazebníku náhrad analýz také položku „Cukr polarizací“ za 133 Kč. Budiž tedy cukr pěkně polarizován.

pad

Výuka chemie

Letní škola pro začínající vysokoškolské učitele chemie na Maltě

European Chemistry Thematic Network (ECTN) uspořádala s podporou finančních prostředků Evropské unie ve dnech 12.6.–16.6.2007 Letní školu pro začínající vysokoškolské učitele chemie na Maltě v přímořském letovisku Sliema. Jednalo se o druhý ročník, pilotní kurs proběhl před dvěma roky na tomtéž místě. Pětidenního kursu se zúčastnilo třicet mladých pedagogů z dvanácti zemí Evropské unie. Účastníci byli vybíráni na základě přihlášky obsahující životopis a esej na téma „Moje dosažité zkušenosti s výukou chemie na vysoké škole“. Další

podmínkou bylo maximálně tříleté pedagogické působení na vysoké škole v libovolném chemickém oboru. Viktoriánské prostředí sliemského hotelu Victoria tak přivítalo úplné začátečníky i zkušenější pedagogy z klasických univerzit, vyšších chemických škol zaměřených na dálkovou výuku a praktičtější výuku bakalářů i vysokých škol technického zaměření. Vedoucím kursu byl Dr. Paul Yates z Keele University ve Velké Británii. Snad proto se sjelo nejvíce účastníků z této země – celkem osm. Ze zakládajících států EU bylo dále zastoupeno Španělsko (3 účastníci), Irsko (2), Portugalsko, Francie, Nizozemí a Rakousko (1). Státy bývalého komunistického bloku reprezentovali 3 Bulhaři, 5 Poláků, 1 Litevec a 4 účastníci z naší republi-

ky – své zástupce nominovala Univerzita Karlova v Praze a Vysoké učení technické v Brně. Taktéž mezi deseti vyučujícími měli Britové převahu. Svoje zkušenosti ale předávali i vyučující z Finska, Řecka, Belgie, Nizozemí a Polska.

Program kursu byl denně rozčleněn do čtyř dvouhodinových bloků. Pozornost v nich byla věnována nejprve zcela obecným tématům, jako je pedagogika a psychologie. Dále byla zahrnuta témata, se kterými se setká každý vysokoškolský pedagog, např. hodnocení studentů, praktická výuka chemie v laboratořích a příprava na ni či supervize. Delší čas byl věnován presentačním schopnostem; toto téma bylo zakončeno vlastním pětiminutovým vystoupením na téma „Můj problém se studenty“ a připomínkováno ostatními frekventanty kursu. S velkým ohlasem se setkala specializovaná témata, která prokázala velké rozdíly v přístupu k výuce v zemích bývalého komunistického bloku a zbytku EU. Jednalo se např. o problematiku hodnocení pedagogické činnosti vyučujících (portfolia), skupinovou práci studentů či získávání pedagogické kvalifikace vysokoškolských učitelů. Další tři témata, e-learning, „blended“ learning a handikapování studenti, odhalila i zásadní rozdíly mezi školami téže země. Škoda jen, že se organizátorům nepodařilo sehnat zástupce všech států Ev-

ropské unie, mínusem byla určitě nepřítomnost Německa, Itálie a skandinávských zemí.

O zajímavosti celého kursu svědčí fakt, že vášnivé diskuse probíhaly i ve volných večerech v příjemném prostředí hospůdek na pobřežní promenádě či při ranní rozplavbě ve Středozemním moři. Zájemci o maltskou kulturu a historii měli navíc v rámci jednoho volného odpoledne možnost navštívit hlavní město Valettu či druhý maltský ostrov Gozo s pozůstatky keltských chrámů Ggantija starých 4000 let. Celý kurs byl zakončen slavnostní večeří v restauraci Barracuda s krásným výhledem na sliemský záliv. Lze jen doufat, že do svých domovů se účastníci vrátili obohaceni o plno nových dojmů, navázaná přátelství a pedagogické ideje, které se budou snažit realizovat na svých mateřských školách. Zájemcům o bližší informace o proběhlém kursu či účast v dalších ročnících Letní školy doporučuji navštívit webové stránky ECTN <http://www.keele.ac.uk/depts/aa/sdt/naucts2/index.html>.

*Karolina Pecková
Univerzita Karlova v Praze
Fakulta přírodovědecká, Katedra analytické chemie
Albertov 6, 128 043 Praha 2*

Akce v ČR a v zahraničí

rubriku kompiluje Lukáš Drašar, drasarl@centrum.cz

Rubrika nabyla takového rozsahu, že ji není možno publikovat v klasické tištěné podobě. Je k dispozici na webu na URL <http://www.konference.wz.cz/> a <http://www.csch.cz/akce9909.htm>. Pokud má některý čtenář

potíže s vyhledáváním na webu, může se o pomoc obrátit na sekretariát ČSCH. Tato rubrika nabyla již tak významného rozsahu, že ji po dohodě přebírají i některé zahraniční chemické společnosti.

Noví členové ČSCH

Blahut Jan, studující gymnázium J. Š. Baara Domažlice
Buchlovič Marian, Mgr., studující PŘF MU Brno
Burdová Anna, studující Máchovo gymnázium Strakonice
Fatka David, studující gymnázium Opatov
Franta Tomáš, studující gymnázium Voděradská Praha
Houdek Jakub, studující SPŠCH Pardubice
Hurný David, studující SPŠCH akademika Heyrovského a gymnázium Ostrava
Chytilová Eliška, studující VŠCHT Praha
Jurok Radek, Mgr., studující VŠCHT Praha
Kloda Matouš, studující gymnázium Jana Keplera Praha
Kopecký Kamil, Mgr., FaF UK Hradec Králové
Korytnáková Romana, Mgr., Teva Pharmaceuticals Opava
Kovaříček Petr, studující VŠCHT Praha
Krömer Matouš, studující gymnázium Josefa Kainara Hlučín
Kundrát Vojtěch, studující SPŠCH a gymnázium akademika Heyrovského Ostrava
Lanč Marek, studující gymnázium Telč

Matoušová Eliška, Mgr., studující FaF UK Hradec Králové
Ménová Petra, studující VŠCHT Praha
Mestek Oto, doc. Ing., CSc., VŠCHT Praha
Nebel Roman, studující SPŠCH a gymnázium akademika Heyrovského Ostrava
Novák František, studující gymnázium České Budějovice
Novák Vít, studující VŠCHT Praha
Nováková Veronika, Mgr., studující FaF UK Hradec Králové
Pálková Romana, studující VŠCHT Praha
Panov Illia, Mgr., studující Univerzitu Pardubice
Pavelka Martin, studující gymnázium Rožnov pod Radhoštěm
Petrliková Eva, Mgr., studující FaF UK Hradec Králové
Polášek Petr, Ing., studující VŠCHT Praha
Procházka Jaroslav, Ing., Fakultní Thomayerova nemocnice Praha
Raus Vladimír, Mgr., studující PŘF MU Brno
Řehová Lucie, Bc., studující VŠCHT Praha
Sedláček Jakub, studující gymnázium Václava Hlavatého

Louny
 Seidler Arnošt, Bc., studující VŠCHT Praha
 Sosvorová Lucie, PharmDr., studující VŠCHT Praha
 Šmídková Markéta, Bc., studující VŠCHT Praha
 Talacko Pavel, studující PřF UK Praha
 Tichotová Lucie, Mgr., studující FaF UK Hradec Králové

Tomčáková Kateřina, studující VŠCHT Praha
 Vaničková Lucie, Ing., studující ÚOCHB AV ČR Praha
 Vaštyl Michal, studující SPŠ Karviná
 Vrána Jiří, studující gymnázium Rumburk
 Zezula Josef, Ing., Ph.D., Zentiva a.s. Praha

Chemik na cestách

Zážitky ze 40. Mezinárodní chemické olympiády

Postup na Mezinárodní chemickou olympiádu je snad pro každého olympionika potěšující událostí a zároveň velkou příležitostí poměřit si vlastní znalosti v tomto oboru s mnoha dalšími vrstevníky ze zahraničí. A právě možnost reprezentovat naši zemi v jedné z nejprestižnějších chemických soutěží pro středoškolačky byla dána v létě 2008 nám čtyřem: Danielu Hollasovi, Petru Motlochovi, Petru Stadlbauerovi a mně.

40. kolo Mezinárodní chemické olympiády se konalo v majestátné maďarské metropoli, kam jsme v doprovodu pana docenta Pavla Coufala z Přírodovědecké fakulty UK přijeli vlakem v sobotu 12. července 2008 večer. Pan doktor Cígler, náš hlavní mentor, přiletěl až z daleké Kalifornie, kde v současné době působí (Scripps Research Institute). Hned po příjezdu jsme se seznámili s naší průvodkyní Flórou, nasedli do připravených taxíků a jeli na Margitszeged neboli ostrov svaté Markéty, kde proběhla prezenze. Z nábřeží ostrova jsme obdivovali nejen rozlehlý Dunaj, ale i mnoho monumentálních památek na protějším břehu řeky. Odtud jsme se přemístili do městečka Gödöllő, které leží zhruba 30 km severovýchodně od Budapešti a kde jsme byli po celou dobu konání olympiády na koleji ubytováni.

V dalších dvou dnech po příjezdu následovala prohlídka památek v Budapešti, slavnostní zahájení soutěže a poučení o bezpečnosti práce, které nám organizátoři zpestřili přednáškou na téma výbušniny, doplněnou příslušnými demonstračními pokusy.

V pondělí se konala exkurze k Balatonu, která zahrnovala návštěvu starobylé vesnice Tihany včetně prohlídky krásného kostela, jenž se tyčí na skalnatém výběžku pobřeží největšího maďarského jezera. Dále jsme se přesunuli do lázeňského městečka Balatonfüred ležícího několik kilometrů severovýchodně od Tihany. Tam jsme mohli ochutnat minerální vodu z léčivého pramene a posléze jsme povečeřeli v typické maďarské restauraci.

Soutěž se tradičně skládala z části praktické a teoretické a my jsme v úterý hned dopoledne začali tou první zmíněnou. Každý z 256 soutěžících se snažil podat nejlepší výkon, kterého byl v dané situaci schopen. Probíhalo to takovým způsobem, že brzy ráno po snídani jsme byli dopraveni na Univerzitu Loránda Eötvöse. Dostali jsme tři praktické úlohy. Prvním úkolem bylo připravit pentaacetát

glukózy. Ve druhé úloze jsme zase měli stanovit stechiometrii srážecí reakce mezi hexakyanozelzatanovými a zinečnatými ionty a ve třetí, posledním případě bylo potřeba identifikovat 8 roztoků neznámých anorganických látek. Zde byly k dispozici jen zkumavky, kapátka a univerzální indikátorové papírky. Všichni jsme měli co dělat a při řešení úloh jsme se pěkně zapotili.

Ve středu jsme se odreagovali při týmových hrách a interaktivní kostýmové hře přímo v Gödöllő.

Čtvrtek začal podobně jako úterý, tedy soutěžně. Čekala nás sada teoretických úloh, které svým obsahem pokrývaly takřka všechny hlavní oblasti chemie. Úloha z anorganické chemie měla podobu hádanky a cílem bylo určit sloučeniny, jejichž vzájemné reakce nebo charakteristické vlastnosti byly uvedeny v zadání. Tato úloha se mi líbila snad nejvíce. Jako nejnáročnější bych, podle svého názoru, označil úlohu zabývající se organickou syntézou léčiva Vinpocetinu. Organická chemie se dále objevila ještě v jednom úkolu, kde jsme měli doplnit jednotlivé meziproducty sekvence reakcí vedoucí od naftalenu k naftalenu. V této úloze lze spatřovat jakousi paralelu k aromatickým sloučeninám a jejich reakcím, které jsme probírali v rámci teoretického přípravného soustředění na jaře 2008. Ošizená nebyla ani fyzikální a analytická chemie. Při řešení dalších úkolů jsme dostali příležitost ověřit si znalosti z chemických rovnováh v roztocích, chemické kinetiky a termodynamiky.



Reprezentační tým ČR na 40. IChO v Budapešti (zleva): Petr Cígler, Alan Liška, Daniel Hollas, Petr Stadlbauer, Flora Peřovská, Petr Motloch, Pavel Coufal

Večer téhož dne jsme se kochali krásou centra Budapešti pohledem z velkého parníku, na němž jsme se setkali s našimi mentory a popovídali si s nimi o zážitcích z úloh.

V pátek nás čekala druhá, rozsáhlejší poznávací exkurze. Tentokrát jsme se podívali do oblasti ležící severně od Budapešti. První zastávkou byl známý Visegrád, kde jsme zhlédli představení laděné v duchu středověkých rytířských cvičení. Po obědě v tamější královské restauraci jsme se odebrali do autobusu, který nás vezl nádhernou hornatou a lesnatou krajinou opět na jih. Další zastávkou byl skanzen v Szentendre, městečku přímo hraničícím s územím Budapešti. V areálu skanzenu, který je poměrně rozlehlý, jsme sledovali taneční představení a po jeho skončení bylo na několika místech možno vyzkoušet si manuální zručnost při zdobení perníků, pletení košíků, zhotovování kožených přívěšků a jiných činnostech.

V sobotu jsme vyrazili z Gödöllő pro změnu směrem severovýchodním. Jeli jsme nejprve přes nížinu Pusztu až k městu Eger. Zde jsme odbočili na sever a cesta pokračovala přes tamější vinařskou oblast do vesnice Szilvásvárad, která se nachází už v hornatém terénu Bukových vrchů. Odtud jsme se svezli vláčkem po úzkorozchodné trati údolím Szalajka.

V neděli se na akademické půdě univerzity konalo vyhlášení výsledků soutěže. S napětím jsme sledovali po-

stupně odkrývané pořadí účastníků podle dosažených bodů, přičemž se začalo od čtvrtého místa. Zde je na místě uvést, že naše reprezentace získala jednu stříbrnou, dvě bronzové medaile a jeden diplom za úspěšné řešení. Lze tedy konstatovat, že rok 2008 byl po stránce výsledků chemické olympiády na mezinárodní úrovni úspěšný.

Olympiáda byla v každém případě výborně zorganizovaná. Bohatý program byl vlastně stejnou odměnou pro nás všechny, kteří jsme se probojovali až do mezinárodní soutěže. Navíc jsme dostali příležitost použít svou jazykovou výbavu „v terénu“. Osobně jsem si však nejlépe popovídal česky se Slováky a německy s Němci, Rakušany a zejména s jejich průvodkyní Eszter. Nicméně angličtina zase přišla vhod při rozhovorech s Islandčany, kteří na koleji bydleli vedle nás, a s našimi dalšími kolegy z různých koutů světa.

Mezinárodní kolo chemické olympiády se mi vrylo do paměti jako nezapomenutelný zážitek i proto, že všude okolo nás vládla příjemná prázdninová atmosféra, která vyvažovala určitou přirozenou míru napětí, jenž je se soutěžením spojeno. Na závěr bych chtěl poděkovat všem, kteří se o tak skvělý průběh jubilejního 40. kola zasloužili.

*Alan Liška
za naši reprezentaci*

Střípky a klípky o světových chemících

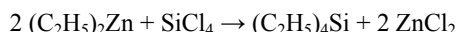
Charles Friedel a James Mason Crafts

Dvojici Friedel-Crafts si většinou vybavíme jako autory syntézy alkyl- a acylderivátů aromatické řady.

Charles Friedel^{1–4} se narodil 12. 3. 1832 ve Strassburgu v rodině bankéře. Syn absolvoval protestantské gymnázium a na místní univerzitě začal studovat přírodní vědy. Účastnil se i přednášek L. Pasteura, ale po roce studia opustil a pokusil se o obchodní dráhu. Tam však neuspěl, a proto se vrátil ke studiu, tentokrát na pařížské Sorbonně. V Paříži u svého dědečka Duvernoye si velmi oblíbil mineralogii. Po absolutoriu Sorbonny se stal konzervátorem mineralogických sbírek na Ecole des Mines. Při tom spolupracoval s profesorem Adolphem Wurtzem na Ecole de Médecine a pro svou zručnost se stal jeho oblíbencem. Wurtz přicházel v 10 hodin do laboratoře a hned se ptal: „Ou est ce bon Friedel?“ Roku 1876 Friedel převzal profesuru mineralogie na Sorbonně a roku 1884 profesuru organické chemie po Wurtzovi. Ještě ve Wurtzově laboratoři se Friedel poznal s Craftsem.

James Mason Crafts⁵ se narodil 8. 3. 1839 v Bostonu. Otec, Royal Altemont Crafts byl textilním továrníkem. Syn, od mládí experimentoval v domácí laboratoři; studoval na Harvardově univerzitě v Cambridgi (Massachusetts) a později v německém Freibergu na tamní Bergakademie mineralogii a hornictví. Pak se přesunul na univerzitu

v Heidelbergu k profesoru Robertu Wilhelmu Bunsenovi. Spolu našli v minerálních vodách z lázni Nauheim pomocí spektrální analýzy cesium. V období 1861–1865 pracoval Crafts v pařížské Wurtzově laboratoři s Friedelem na syntéze některých derivátů křemíku, na tetraethylsilanu



Po návratu do USA působil Crafts jako důlní inspektor v západních regionech a také v Mexiku. Roku 1868 se stal prvním profesorem chemie na Cornellově univerzitě v Ithace (New York). Ale tamní tuhé zimy nespěšily jeho zdraví, a proto přešel na Massachusetts Institute of Technology v Bostonu. Později ze zdravotních důvodů rezignoval a odcestoval do Paříže k Friedelovi.

Roku 1877 popsali Friedel s Craftsem novou syntézu alkyl- a acylbenzenů z benzenu a alkylhalogenidů resp. acylchloridů nebo anhydridů v přítomnosti bezvodého chloridu hlinitého. Podařilo se jim připravit i hexamethylbenzen. Už za dva roky profesor Adolf von Baeyer naznačil velké možnosti této nové syntézy⁶ a skutečně mnoho autorů na práce Friedela a Craftse navázalo. S aromatickými uhlovodíky reagují i některé alkeny, často za katalýzy jinými činidly než původním AlCl_3 . Dnes se ve světě v milionech tun ročně vyrábějí z benzenu ethylbenzen a isopropylbenzen – pomocí ethylenu resp. propylenu.

Crafts spolupracoval s Friedelem až do roku 1891

a publikovali kolem 70 prací. Francouzská akademie věd Craftsovi věnovala roku 1880 Jeckerovu cenu 2000 franků a dokonce roku 1885 byl poctěn Řádem rytíře čestné legie. Po návratu do USA pracoval jako profesor organické chemie na MIT v Bostonu, kde se soustředil na termochemická studia. Byl zvolen i rektorem, ale roku 1900 rezignoval a věnoval se jen práci v laboratoři. Výsledky svých experimentálních prací profesor Crafts publikoval většinou ve francouzských časopisech.

Crafts se oženil roku 1868 se slečnou Clémence Haggerty z New Yorku a měli spolu čtyři dcery. Manželka zemřela roku 1912, Crafts od roku 1911 trpěl neuritidou a zemřel 20.6.1917 na letním sídle v Ridgefieldu (Connecticut). Dcera Elizabeth poslala o jeho smrti zprávu do Paříže. Francouzská chemická společnost jmenovala Craftse čestným členem. Profesor Crafts za války poukázal 10 000 franků na fond Charlese Friedela pro rodiny francouzských chemiků – oběti války⁷. Crafts je charakterizován jako „a gentleman of the highest culture“, vyhledávaný a oblíbený spolupracovníky. V laboratoři byl velmi zručný, sám si zkonstruoval i některé přístroje.

Vraťme se k Friedelovi: mimo jiné jako první provedl a publikoval redukci acetonu na isopropylalkohol (1862). Později uskutečnil jeho dehydrataci na propen a z toho několika dalšími reakcemi první syntézu glycerolu (1872 s R. Silvou). Pokračoval i ve studiích o derivátech křemíku, např. s A. Ladenburgem připravil hexaethylidisilan

$(C_2H_5)_3Si-Si(C_2H_5)_3$. Friedel byl i velmi úspěšný v mineralogii. Popsal šesterečný ZnS a pojmenoval ho na počest svého učitele wurtzit. Počet Friedelových mineralogických publikací dosáhl stovky¹. Od roku 1889 byl profesor Friedel předsedou komise k reformě chemického názvosloví a roku 1892 předsedal ženevskému kongresu o nomenklatuře organických sloučenin.

Friedel se oženil roku 1856 s Emilií Koechlinovou, s níž měl syna a čtyři dcery. Po smrti manželky (1871) si vzal Luise Combesovou. Z tohoto manželství se narodil syn. Friedel zemřel 20. 4. 1899 v Montabaunu (severně od Toulouse) u své dcery, paní Boisové.

Miloslav Ferles a Eva Mašková

LITERATURA

1. Hanriot M.: Bull. Soc. Chim. Fr. (3), 23, 1 (1900).
2. Ladenburg A.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 32, 3721 (1899).
3. Béhal A.: Bull. Soc. Chim. Fr. (4), 51, 1493 (1932).
4. Willemart A.: Bull. Soc. Chim. Fr. 1949, 559.
5. Gross C. R.: Biogr. Mem. Nat. Acad. Sci. 9, 159 (1920).
6. Gräbe C.: *Geschichte der Organischen Chemie*, str. 352. Verlag Julius Springer, Berlin 1920.
7. Boulé A.: L'actualité chim. 1979, 44.

Zprávy

Open Days 2008 v Ústí nad Labem

Dne 29. 9. 2008 se ve Vzdělávacím středisku ústeckého Výzkumného ústavu anorganické chemie, a.s. (dále jen VÚAnCh) uskutečnil Workshop *Konkurenceschopnost chemického průmyslu v Ústeckém kraji*. Tento seminář je součástí tzv. *Open Days 2008*. Sešli se na něm představitelé mnoha institucí a firem v regionu, kteří mají co do činění s chemií v jakékoli formě. V Ústeckém kraji již proběhlo několik dalších akcí, např. dubnové setkání aktérů chemického průmyslu, červnový workshop Logistika chemického průmyslu ve Střední Evropě apod. Cílem těchto setkání je vytvořit diskusní fórum zástupců veřejné správy, chemického průmyslu, škol a výzkumných ústavů na regionální, národní a evropské úrovni.

Workshop se tentokrát uskutečnil na půdě VÚAnCh, člena skupiny Unipetrol. Hlavním průvodcem bohatým programem byl generální ředitel ústavu Ing. Milan Petrák. Zastoupení zde měla některá ministerstva České republiky (MŽP, MPO), Svaz chemického průmyslu ČR, a mnoho chemických podniků regionu. Ústecké školy zastupovaly Univerzita J. E. Purkyně a místní střední průmyslová škola s chemickým zaměřením. Za veřejnou správu byli přítomni např. náměstek hejtmana Ústeckého kraje Petr Fiala,

poslanci Evropského parlamentu Miroslav Ouzký a Jaroslav Kohlíček, vedoucí odboru REACH na DG Enterprise and Industry Evropské komise Otto Linher a zástupkyně Ústeckého kraje v Bruselu Markéta Pokorná. V průběhu celodenního semináře zaznělo mnoho témat závažných pro budoucnost chemického průmyslu nejen v našem regionu, ale také v celé ČR. Program byl rozdělen do 3 bloků: Současné překážky a výzvy pro konkurenceschopnost chemických podniků na území Ústeckého kraje, Jak se zapojit a využít členství v EU, Aktivní účast chemických podniků na mezinárodních projektech. V jejich průběhu se hovořilo o postavení České republiky a zejména Ústeckého regionu, jako kolébky chemického průmyslu v Evropě, o aktivitách Ústeckého kraje v síti Evropských chemických regionů (ECRN), o možnosti společných projektů s cílem čerpat nejrůznější dotace a podpory z fondů EU na posílení konkurenceschopnosti našich chemických podniků. Prvním počinem v této oblasti je společný projekt ChemLog (Logistika chemického průmyslu ve Střední Evropě), jehož prezentaci byla věnována podstatná část 3. bloku. V souvislosti s tím zazněly i důležité informace o 7. Rámcovém programu EU pro výzkum a vývoj. Účastníci byli seznámeni s výzvami pro rok 2009 pro téma Energie a s podpůrným systémem pro přípravu případných

projektů. Pozornost byla věnována též přípravě dvoudenní vrcholné konference chemického průmyslu, která se uskuteční ve dnech 16.–17. dubna 2009 v Ústí nad Labem, v rámci českého předsednictví Evropské unie. Pořadatelé této akce budou Ústecký kraj a ECRN ve spolupráci s Evropskou komisí. Partneři konference budou např. Svaz chemického průmyslu ČR, CEFIC, EEB a další regionální subjekty. Mezi účastníky konference budou špičkoví odborníci, ministři průmyslu, hospodářství či životního prostředí jednotlivých členských zemí Evropské unie a zástupci „regionální chemie“.

Součástí programu Workshopu byla i exkurze do starých zrekonstruovaných prostor VÚAnCh se zajímavým výkladem o historii ústavu, který všem zájemcům poskytla Mgr. Vaštová.

Více informací pro zájemce lze nalézt na stránce: http://www.kr-ustecky.cz/vismo/dokumenty2.asp?id_org=450018&id=1643239&p1=84858.

Z. Kolská (KCH PrF UJEP Ústí nad Labem)
M. Pokorná (zástupkyně Ústeckého kraje v Bruselu)

Konference „Jaderná energie: kdy se stane obnovitelným zdrojem?“

Stojí za zmínku, že i chemici se stali součástí diskusního pohledu na budoucnost jaderné energetiky, když na konferenci „Jaderná energie: kdy se stane obnovitelným zdrojem?“ (pořádanou JMM consulting dne 12. listopadu 2008 v Malostranském paláci) měli dvě úvodní přednášky, vedle V. Dlouhého „Postavení jaderné energetiky v ČR – potřeby a možnosti“ a S. Gordoliera (Francie) „Risks and benefits of nuclear energy – sustainability perspective“ to byli R. Zahradník „Zdroje energie a jejich obnovitelnost – pohled fyzikálního chemika“ a J. Šesták „Energetická budoucnost – znalost procesů a jejich efektivita, racionální rozvoj a energetické zásoby“. Do odpolední diskuse také přispěli známé osobnosti jako B. Moldán, D. Drábová, V. Hanuš nebo F. Janouch.

Jaroslav Šesták



Pavel Švarc v čele evropského chemického průmyslu

Tisková zpráva ze dne 8.10. 2008

Dne 4. 10. 2008 se uskutečnila v Aténách valná hromada Cefic (Cefic = Evropská rada pro chemický průmysl, nejvýznamnější instituce evropské chemie a chemického průmyslu. Řádným členem Cefic je i Svaz chemického průmyslu ČR.

Na této valné hromadě došlo k významné události pro SCHP ČR i pro celou Českou republiku, do představenstva Cefic byl zvolen prezident SCHP ČR Ing. Pavel Švarc, CSc. A nejen to, Pavel Švarc byl zvolen i do vrcholového orgánu Cefic, Výkonného výboru představenstva Cefic,

kteří tvoří 12 nejvýznamnějších reprezentantů evropského chemického průmyslu. K volbě zástupce české chemie došlo v předvečer českého předsednictví EU.

Ladislav Novák

50. výročí Nobelovy ceny za polarografii

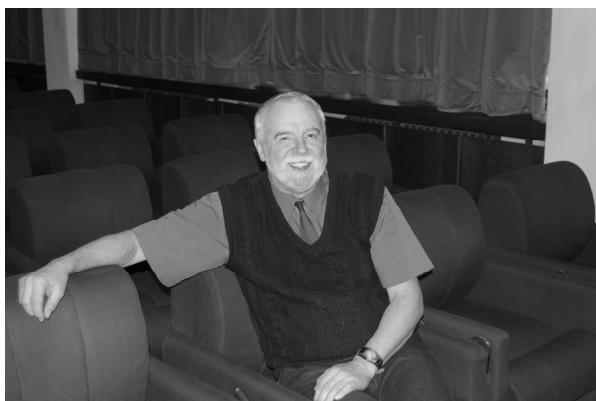
V tomto roce si česká chemická veřejnost připomene 50. výročí udělení Nobelovy ceny za polarografii, kterou převzal profesor Jaroslav Heyrovský z rukou švédského krále Gustava Adolfa VI. ve Stockholmu dne 10. prosince 1959. Šlo o akt, kterým byla po zásluze oceněna mimořádná tvůrčí činnost profesora Heyrovského v této oblasti, o akt, který si jistě zaslouží připomenutí i v dnešní době. Mimořádná role profesora Heyrovského jakožto zakladatele světoznámé pražské elektroanalytické školy, která dodnes v řadě oblastí dosahuje světových parametrů, byla již mnohokrát popsána a diskutována, mj. i na stránkách tohoto časopisu. České společenost chemická, časopisy Collection of Czechoslovak Chemical Communications a Chemické listy, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, kde profesor Heyrovský vyvinul polarografickou metodu, a Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, který založil a řídil a který se na dlouhá léta pod jeho vedením stal centrem polarografického bádání, pochopitelně neopouštějí toto významné výročí bez povšimnutí.

Odborná skupina analytické chemie České společnosti chemické ve spolupráci s výše zmíněnými institucemi připravuje – po konzultacích a souhlasných stanoviscích předních světových odborníků v oblasti elektroanalytické chemie – na prosinec 2009 mezinárodní konferenci „Modern Electroanalytical Methods 2009“, která proběhne pod záštitou děkana Přírodovědecké fakulty Univerzity

Tabulka I

Přehled dosavadních Heyrovského přednášek

1999	Zuman P.	Role of Mercury Electrodes in Contemporary Analytical Chemistry
2000	Paleček E.	Elektrochemie nukleových kyselin
2001	Kalvoda R.	Polarografie a moderní elektroanalytická chemie
2002	Berg H.	Some Contributions to Polarography from Jena
2003	Štulík K.	Několik snítek z košatého stromu polarografie
2004	Vetterl V.	Adsorpce nukleových kyselin na povrchy elektrod
2005	Pospíšil L.	Polarografie a elektrodová dvojvrstva
2006	Fojta M.	Uplatnění rtuťových elektrod v současném výzkumu biopolymerů
2007	Dračka O.	Komplementarita v polarografii, chronopotenciometrii a voltametrii



Obr. 1. Prof. Ing. Karel Vytřas, DrSc., laureát Heyrovského přednášky 2008

Karlovy v Praze a ředitele Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR. Ve znamení tohoto výročí proběhne i již tradiční XXIX. mezinárodní odborný seminář Modern Electrochemical Methods v květnu 2009 v Jetřichovicích. Časopis Collection of Czechoslovak Chemical Communications chystá k této příležitosti zvláštní číslo věnované moderním elektroanalytickým metodám, pozadu v tomto směru nezůstane ani Chemické listy, v jejichž prosincovém čísle by se měla objevit řada článků připomínající toto významné výročí.

A abychom nemluvili jen o budoucnosti, je dobře připomenout, že tento řetěz akcí již započal jubilejní 10. Heyrovského přednáškou na Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i. dne 4. prosince 2008. Touto přednáškou, organizovanou odbornou skupinou analytické chemie České společnosti chemické ve spolupráci s Ústavem fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i., si naše elektroanalytická komunita každoročně v době adventní připomíná nejen výročí udělení Nobelovy ceny za polarografii, ale i výročí narození profesora Jaroslava Heyrovského dne 20. prosince 1890. Že se jedná o skutečně prestižní přednášku dokumentuje přehled dosavadních laureátů v tabulce I, který je skutečně reprezentativním seznamem našich i zahraničních špičkových odborníků v této oblasti. V roce 2008 byl právem předněst tuto významnou přednášku poctěn prof. Ing. Karel Vytřas, DrSc., vedoucí katedry analytické chemie Fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice za svůj nesporný přínos k vývoji a využití uhlíkových pastových elektrod, které svojí použitelností v oblasti anodických oxidací významně rozšiřují možnosti elektroanalytických metod (viz obr. 1). Jeho kvality demonstruje mimo jiné téměř 300 vědeckých publikací, 25 monografií či kapitol do monografií, více než 1000 odkazů a Hirschův index 23. Je faktickým zakladatelem moderní pardubické elektroanalytické školy, která právě v oblasti uhlíkových pastových elektrod patří mezi světovou špičku, což potvrdila i jeho kvalitní a zajímavá přednáška.

Využíváme této příležitosti, abychom ještě jednou

jménem všech účastníků poděkovali profesoru Vytřasovi za jeho zajímavou přednášku a popřáli mu do dalších let mnoho úspěchů, zdraví a dalších tvůrčích nápadů.

A všem příznivcům elektroanalytické chemie přeje me, aby v roce 50. výročí udělení Nobelovy ceny za polarografii svou prací a svými výsledky potvrdili význam tohoto oboru, v němž mají tu čest navazovat na průkopnickou práci profesora Heyrovského.

Tomáš Navrátil a Jiří Barek

Udělení Čestného členství Ing. Jaroslavu Šilhánkovi, CSc.

Dne 19. prosince 2008 na VŠCHT Praha, u příležitosti přednášky prof. Dr. René Deplanqua, ředitele Fachinformationszentrum Chemie Berlin, GmbH, vyznamenala předsedkyně ČSCH prof. Jitka Ulrichová Ing. Jaroslava Šilhánka, CSc. Čestným členstvím. Toto ocenění obdržel Ing. Šilhánek za svoji dlouholetou činnost ve volených orgánech Společnosti, mimořádné úsilí o zpřístupnění chemických informací odborné veřejnosti a celoživotní zásluhy o rozvoj chemické informatiky v České republice. Kromě toho byla vyzdvížena i odborná pomoc Ing. Šilhánka při vydávání internetové verze Chemických listů a zejména jeho důležité intervence u vydavatelů Chemical Abstracts, Web of Science atd.

Jaroslav Šilhánek se narodil v r. 1937 a po maturitě na Gymnáziu v Plzni vystudoval Vysokou školu chemicko-technologickou v Praze, kde po jednorozční stáži na Moskevské universitě zůstal jako asistent a odborný asistent. Vědeckou kandidaturu obhájil v r. 1967 a na Katedře organické technologie se zabýval chemií organických sloučenin síry ve skupině orientované na chemii pesticidů. Zájem o aplikaci výpočetních technologií a pověření výukou Chemické literatury a později Chemické informatiky jej vedl ke spolupráci se Skupinou strojových rešerší Ústřední informační služby chemie, realizaci prvního vzdáleného



přístupu k bázím dat Chemical Abstracts na VŠCHT Praha už v 80. letech minulého století a tyto zkušenosti pak mohl plně rozvinout po otevření možností plné integrace do evropských informačních sítí a nástupu Internetu. Logicky pak nastoupila první instalace báze dat CrossFire Beilstein na VŠCHT Praha, jako na jedné z prvních vysokých škol v Evropě, následovaná vytvořením konsorcia dalších chemických fakult a pracovišť, dnes vůbec nejdéle fungující velkoplošné báze dat v České republice. Vývoj pokračoval obdobným zpřístupněním bází dat Chemical Abstracts, nejdříve ve verzi CD-ROM a dnes už téměř 10 let programem SciFinder Scholar opět jako konsorcium téměř všech chemických pracovišť v České republice podporované projektem MŠMT. Na tuto páteř chemických informací pak navázala organizace obdobných konsorcií zpřístupňující všechny tituly Americké chemické společnosti a Royal Society of Chemistry, přirozeně propojená s výše uvedenými klíčovými bázemi dat. Orientace na plně digitální formy chemických informací se ukázala být velmi správná, protože dnes má Česká republika a její chemické fakul-

ty jeden z nejlepších, ne-li vůbec nejlepší a nejrozsáhlejší přístup k informacím svého oboru.

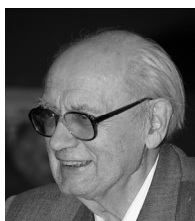
Jaroslav Šilhánek je autorem více než 50 publikací z oblasti chemie i chemické informatiky, autorem nebo spoluautorem několika skript a příruček a autorem monografie Chemická informatika. Je členem České společnosti chemické více než 40 let a posledních 15 let předsedou Odborné skupiny pro chemickou literaturu a informace.

Po přednášce výše zmíněného prof. Deplanqua bylo oznámeno, že Chemisches Zentralblatt budou, jako členská služba, k dispozici členům ČSCH. Zpřístupnění digitalizované verze Chemisches Zentralblatt dnem 19. prosince je jen završením vývoje budování systému zpřístupnění téměř celého spektra chemických zdrojů maximálně efektivním způsobem. A to především zásluhou Ing. Šilhánka.

Srdečně blahopřejeme !

Jan Tříška, Pavel Zachař,
Pavel Drašar a Bohumil Kratochvíl

Osobní zprávy



**Prof. RNDr. Lumír Sommer,
DrSc. osmdesátníkem**

Jubilant, přední světový odborník v oblasti molekulové a atomové spektroskopie a organických činidel, profesor analytické chemie na PŘF MU (emeritní) a FCH VUT v Brně, se narodil 19.1.1929 v Opavě. Po absolvování reálného gymnázia v Ostravě studoval chemii a fyziku, později odbornou chemii (specializace analytická chemie) v letech 1948–1952 na PŘF MU v Brně, kde po absolutoriu působil nejprve jako odborný asistent (1952–1958), posléze jako docent (1958–1964), profesor (1964–1995) a emeritní profesor (od r. 2000). Od roku 1995 působí jako profesor na Chemické fakultě VUT Brno. Hodnost kandidáta chemických věd (CSc.) získal v roce 1956 a hodnost doktora chemických věd (DrSc.) v r. 1964 (obě na VŠCHT Praha). Profesor Sommer byl také v letech 1962–1965 a 1989–1991 děkanem PŘF MU a v letech 1989–1994 vykonával funkci vedoucího, dnes již neexistující, Katedry analytické chemie. Profesor Sommer se věnuje od roku 1952 intenzivní pedagogické práci ve všech oborech výuky (základní, speciální i postgraduální) a vychoval mnoho studentů dosahujících vynikajících výsledků doma i v zahraničí. V současné výuce dbá neustále na modernizaci a aktualizaci výuky analytické chemie, přičemž neustále sleduje literaturu v dané oblasti. Profesor Sommer je členem komise pro obhajoby dizertačních prací v analytické chemii na MU v Brně a UP v Olomouci a členem celostátní česko-slovenské komise pro obhajoby doktorských disertačních prací (DSc.) v analytické chemii. Je také členem Rady

pro postgraduální studium analytické chemie na MU v Brně, na VŠCHT Praha a na UP v Olomouci. V letech 1990–1997 a 1999–2000 byl členem pracovní skupiny chemie Akreditační komise vlády ČR.

Jeho odborné zaměření pokrývá širokou oblast anorganické analytické chemie, zejména optické analytické metody (molekulová spektrofotometrie ve VIS a UV oblasti, AAS a AES). Jako žák a pokračovatel brněnské školy studia koordinačních sloučenin reprezentované jmény prof. Josefa Václava Dubského a prof. Arnošta Okáče se stal zakladatelem směru spektrofotometrického studia interakcí iontů kovů s analyticky významnými organickými činidly v roztocích. Významným úspěchem byl výzkum azosloučenin (např. PAR, PANS, aj.), které se svými spolupracovníky syntetizoval mezi prvními ve světě a poté zkoumal jejich reakce s prakticky veškerými ionty kovů nacházející se v periodické tabulce. Dále se ve svých vědeckých pracích zaměřoval také na studium komplexotvorných rovnováh, teorii analytických reakcí v roztocích, na analytickou chemii technicky významných vzácných prvků, stopovou prvkovou analýzu a analytickou chemii životního prostředí. Je autorem a spoluautorem více než 250 vědeckých prací (poslední dvě vyšly letos na jaře), 4 monografií (mimo jiné *Analytical Absorption Spectrophotometry in the Visible and Ultraviolet*, Elsevier Science, Amsterdam 1989) a 14 učebních textů. Jeho publikační činnost stále nachází odezvu u mezinárodní vědecké veřejnosti v podobě desítek citací ročně (Web of Science uvádí přes 500 nezávislých citací od r. 1973 a h-index 17). Na pozvání zahraničních pracovišť absolvoval řadu přednáškových pobytů na evropských univerzitách i jinde v zahraničí (Kanada, USA, Indie, Japonsko).

V letech 1969/1970 působil jako hostující profesor na Dalhousie University v Kanadě. V letech 1969–1974 a 1977–1989 pracoval v komisi pro analytickou chemii (VI) Mezinárodní unie pro čistou a aplikovanou chemii (IUPAC) a byl také členem redakční rady mezinárodního časopisu pro analytickou chemii TALANTA v letech 1988 až 1998. Profesor Sommer je dlouholetým členem České společnosti spektroskopické a České společnosti chemické, přičemž v r. 1998 byl oceněn Hanušovou medailí za zásluhy o chemii. Jeho vědecká činnost byla oceněna v minulosti i v současné době řadou uznání, např. Zlatá medaile Masarykovy univerzity v Brně v r. 2001 a 2004, Zlatá pamětní medaile VUT, aj. V roce 1997 byla jeho vědecká a pedagogická činnost oceněna zařazením do několika edicí „Marquis' Who is who in the world“ nebo „Man of the Year“ 1997/1998, 2000, 2001, 2002 a 2003 vyhlášený International Biographical Centre. V roce 2002 mu byla udělena Cena města Brna za vědu.

Milý Lumíre, při příležitosti Tvého významného životního jubilea jménem všech Tvých spolupracovníků a kolegů Ti přejeme mnoho zdraví a úspěchů v osobním a profesionálním životě.

Viktor Kanický, Přemysl Lubal

Profesor Sommer očima svých bývalých studentů

Na katedru analytické chemie jsem nastoupil jako mladší pomocná vědecká síla v třetím ročníku, v roce 1962, za tehdy velkolepých 120 Kč měsíčně. To už byl v přípravě můj následně dlouholetý kolega, Jožka Havel. Primárním úkolem „pomědů“ byly demonstrace na přednáškách z analytické chemie. Zatímco demonstrace profesoru Okáčovi byly sice náročné, ale nicméně předvídatelné, s Lumírovou extenzivní invencí jsme mívali dost problémy. Zajistit, aby byl fenolftalein dostatečně fialový nebo naopak síran barnatý dostatečně bílý občas vyžadovalo použití dost rafinovaných triků. Naše upřímné snažení často oceňoval výrokem, „nevím jak to má vypadat, ale takhle určitě ne“ vedlo k zajímavým duelům před bavícími se posluchači.

Jakkoli dnes vzpomínáme významné výročí prof. Lumíra Sommera, nemohu začít jinak, než připomenutím osobností, které mu předcházely, a to předválečného prof. Dubského a následně prof. Okáče. Tyto osobnosti vytvořily skvělou tradici a neopakovatelnou tvůrčí atmosféru, která každého, kdo na katedře byl jen chvíli pracoval, musela uchvátit. Na katedře vládl vlídný, leč nesmlouvavý duch prof. Okáče. Za všechno bych zmínil ohromný důraz, který byl kladen na výuku a neubráním se rozpakům, když vidím dnešní realitu.

Na jedné straně jsme tedy měli skvělou tradici a na druhé mladíka, který se dravě prosazoval a zakládá tradice nové. To bylo fascinující. Být docentem v necelých třiceti letech bylo tehdy unikum. Však také Lumír dával práci všechno. Jestli jsme se my plížili domů „už o desíti“, Lumír tam byl ještě dlouho po nás a s obtížemi pak doslova doháněl poslední tramvaj, ráno už tam byl před námi. Na-

vzdory všem předpisům a omezením jsme už jako studenti měli klíče nejenom od katedry, ale i od fakulty. Na katedře se nejenom pracovalo, žilo, slavilo, ale často i spalo. Někdy pod spektrografem Q24, což Lumír veden obavami o vzácnou techniku těžce nesl, někdy v posluchárně na stole. Lumírovu bdělému oku totiž nic neuniklo. Měl všechno pod kontrolou a nejlépe i pod zámkem.

Jako respektovaný mladý vědec začal často dostávat přednášková pozvání, nejdříve do „socialistických zemí“ a posléze i tzv. „ven“. Ani si nevzpomínám, kdy to bylo poprvé, ale bylo to pro nás fascinující. Už za prof. Okáče byl na katedře, na tehdejší poměry, čilý mezinárodní ruch a Lumír to přivedl k dokonalosti. Byli jsme na to patřičně hrdí a všichni nám to záviděli. Jak „starý pán“, jak jsme s úctou prof. Okáče nazývali, tak Lumír prokazovali dostatek velkorysosti a neváhali využívat svých kontaktů k odbornému růstu svých kolegů.

Tyto úspěchy měly také určité negativní důsledky, spočívající v požadavku na Lumírovu politickou angažovanost. To ale nemělo moc dlouhého trvání a mám dojem, že to skončilo brzy potom, co žádal vykazování publikací u stranických funkcionářů, což v době „společenské angažovanosti a uličních výborů“ nebylo dvakrát populární. Po osmašedesátém mu závist, a to převážně těch, kterým dříve pomohl, přinesla vyloučení a zásadní problémy. A přitom politika a funkce Lumíra bytostně nezajímaly.

Dalším „rušivým“ zásahem do jeho bádání byla volba děkanem, v té době snad historicky nejmladším. Zatímco my jsme byli patřičně hrdí na to, že máme na katedře děkana, on měl s „úřadováním“ neustálé problémy. S tím, že občas zapomněl jít na děkanát, vykonávat související akademické závazky, nebo na to nebyl patřičně ustrojen, je spojena řada humorných historek.

Na druhé straně „blízkost ke zdrojům“ umožnily získávat pro katedru slušné přístrojové vybavení, jakkoliv byla tehdy používána instrumentace z dnešního pohledu jak cenově, tak technologicky úsměvná. Přes masivní nástup instrumentální analytické chemie byl tehdy třeba takový pH-metr Radiometer nebo spektrofotometer Unicam naproste unikum. Neustále inovované měřicí a vyhodnocovací metody dávaly nová a přesnější data a další a další publikace. A to jsme byli teprve v předvečer začínající počítačové revoluce, která speciálně v tomto oboru, otevřela zcela nové obzory.

Zmíněný smysl pro inovace, nebo jak se dnes s oblibou říká „drajv“, se projevoval i v Lumírově zálibě v reorganizacích. S takřka železnou pravidelností se v tříměsíčním rytmu na katedře něco dělo. Náš uživatelský přístup někdy moc nadšený nebyl, ale jeho důraz a vehemence posunuly řadu věcí dopředu. Vyžadoval, aby všechno fungovalo tak, jak má a to často naráželo na tuhý odpor patřičně „exekutivy“, ať už to byla fakultní administrativa, údržbářské dílny, nás nevyjímaje. To, že jeho žádanky v dobré víře doplněné červenou poznámkou „spěchá“ nebo „velmispěchá“ se záhadně ocitaly až na konci pořadníku, ho vždycky rozesmutnělo.

Samostatnou kapitolou byla jeho životospráva. Na obědy z časových důvodů nikdy nechodil, vždycky jen tak

něco zhltl a zcela systematicky si ničil zdraví. Nicméně si nevzpomínám, že by byl někdy nemocen, nebo lépe řečeno, že by na katedře chyběl z důvodu nemoci. A přesto, nebo možná právě proto, dnes slavíme jeho osmdesátiny.

V mých vzpomínkách je nepochybně velká dávka sentimentu, ale především úcta k velkým osobnostem, vděk za to, že jsem mohl „být u toho“ a prožít na katedře nezapomenutelné roky. Jsem hrdý na to, že na mé Alma Mater a katedře takové osobnosti jako Lumír Sommer byly a přál bych si, aby tomu tak bylo i v současnosti a budoucnosti.

Ivan Novotný

Životní jubileum prof. Čurdy

Dne 8. 3. 2009 se dožívá osmdesát let prof. Ing. Dušan Čurda, CSc., významný představitel nejen české a československé potravinářské chemie a technologie.

Prof. Čurda absolvoval Vysokou školu zemědělskou v Brně, jeho celoživotní profesní kariéra je však svázána s Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze a její Fakultou potravinářské a biochemické technologie, na které působil od roku 1955 jako aspirant a asistent profesora Kyzlinka, a to nejprve na katedře kvasné technologie a konzervárenství později na katedře konzervace potravin a technologie masa. V roce 1967 se habilitoval, rok nato byl jmenován docentem a v roce 1990 profesorem pro obor Konzervace potravin. V letech 1989–1994 vedl Ústav konzervace potravin a technologie masa.

Pedagogická a vědecká činnost prof. Čurdy je spjata především s problematikou balení potravin, i když se aktivně věnoval i dalším oblastem, zejména zpracování ovoce a zeleniny. Hlavní přínos prof. Čurdy lze jednoznačně spatřovat v tom, že už na počátku 50. let minulého století spolu s prof. Kyzlinkem jako první v tehdejší Československu a jedni z prvních v Evropě pochopili důležitost obalové techniky v potravinářství a prosadili výuku tohoto tématu na vysokoškolské úrovni (v tuzemsku po dobu následujících zhruba čtyř desetiletí jako jediní). Prof. Čurda jako první přednášející předmětu Balení potravin a tvůrce jeho koncepce využil již tehdy originální, dodnes nepřekonaný systém formulovaný posléze v knize Balení potravin, která vyšla v několika vydáních. Byl autorem několika dalších skript, jeho kurzy na VŠCHT absolvovalo celkem přes tisíc studentů, vedl asi 100 diplomových a doktorandských prací.

Vědecká činnost prof. Čurdy byla zaměřena nejen na studium různých aspektů ochranné funkce obalů, asi nejznámější jsou jeho práce týkající se vlivu obalu na oxido-redukční změny potravin, podmínek koroze kovových obalů potravin, vliv obalu na průběh tepelných procesů atd., ale i hodnocení vlivu obalové techniky na životní prostředí, ekonomiku balení apod. Ve spolupráci s prof. Slavičkem již v prvé polovině šedesátých let využíval počítačových aplikací pro modelování chemických změn probíhajících v balených potravinách. Je autorem více než stovky vědeckých publikací v zahraničních i tuzemských časopisech.

Prof. Čurda byl během své aktivní kariéry i schopný organizátor. Spolupodílel se na vytvoření Výzkumného ústavu balení potravin v Praze, pozdějšího Institutu pro manipulaci, dopravu a skladování (IMADOS), s kterými úzce spolupracoval. Organizoval postgraduální kurzy pro pracovníky potravinářského průmyslu, účastnil se prací hodnotitelských komisí obalových a potravinářských veletrhů, soutěže Obal roku atd.

Profesoru Čurdovi k jeho osmdesátinám, kterých se dožívá v obdivuhodné svěžesti, co nejsrdečněji blahopřeju. Přejeme mu vše nejlepší do dalších let, ať si i nadále zachová svůj typický humorný nadhled.

Jaroslav Dobiáš, Michal Voldřich

Pavel Drašar je šedesátníkem



od dvanácti hodin a deseti minut Štědrého dne roku 2008. Tento, zřejmě mediálně nejznámější, funkcionář České společnosti chemické a současný prezident Asociace českých chemických společností je vzděláním i profesí organický chemik. Vystudoval na Karlově univerzitě, kde se pod vedením prof. Pacáka zabýval chemií cukrů. Po univerzitě následoval Ústav organické chemie a biochemie AV ČR a posléze Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. V roce 2004 byl jmenován jak profesorem organické chemie, tak mu byl udělen i velký doktorát z téhož oboru. Odborně se prof. Drašar profiluje především jako organický syntetik. Kromě toho je v komunitě českých chemiků znám jako organizátor mnoha konferencí, namátkou jmenuji tradiční organické „Liblice“ (od roku 2001 Nymburk).

Nechci však pouze přepočítávat tituly a medaile, které prof. Drašar během své dosavadní kariéry získal. Mimochodem, jeho nevyřčeným životním krédem je „... zatímco jiní medaile dostávají, já je vymýšlím.“ Během svého funkcionárení v České společnosti chemické se, především jeho zásluhou, počet spolkových medailí a ocenění zvýšil ze 2 na 15.

V tomto článku chci Pavla zmínit především jako svého přítele a spolupracovníka, člověka, na kterého je spolehnouti, velmi zdatného organizátora a vyhlášeného gurmána a someliéra.

I když jsme se potkávali již za studií na Přírodovědecké fakultě Karlovy univerzity, naše spolupráce se datuje až rokem 1996. Tehdy jsme se dohodli, že spojíme Bulletin české společnosti chemické s Chemickými listy pod jednu hlavičku. Pamatuji se, jak si mě Pavel tenkrát měřil s levým okem charakteristicky přimhouřeným, pohledem psychologa-amatéra. Od té doby uplynula řádka let a snad se dílo daří, ale to ať posoudí jiní.

Pavle, přeji Ti nejenom za sebe, ale za celý redakční kruh Chemických listů, ať se Ti daří i po šedesátce. Mimochodem musíme tam všichni!

Bohumil Kratochvíl

Ale je pravda, že ve společnosti tak příjemné manželky, jakou si dokázal opatřit Pavel, je překonání šedesátky jistě jednodušší. Její pečlivé opatrování a oprašování jistě přispívá k Pavlově stále dobré náladě, vysoké pracovní výkonnosti i k jeho neustálému zájmu o dobré jídlo a pití, a to ve všech zeměpisných šířkách i délkách. Takže Pavle, přejeme Ti „hlavně to zdravíčko“ a ať spolu vypijeme ještě hodně „žlutých“ a absolvujeme hodně zajímavých a příjemných sjezdů, konferencí, oslav a dalších akcí zkrášeňných Tvoji přítomností.

Jiří Barek

Rozsah zájmů oslavence je však ještě mnohem širší, bez nadsázky je nejen Falstafem, ale i polyhistorem se širokým spektrem znalostí. Často se vyskytuje v místech, kde zní jazz, kde se hraje avantgardní divadlo nebo se vystavují obrazy a jiné výtvarné umění.

Pavel Rauch.

Pavel Drašar se jak známo intenzivně zabývá přírodními látkami, zkoumá je, izoluje a některé z nich, ač neizolované, neváhá nechat působit na svůj organismus. O jejich blahodárný účinek se pak neváhá štědře (častěji bohužel jen slovně) podělit se svými kolegy. Zpravidla z těchto diskuzí odcházím s pocitem velkého hladu či žízně ... Pavel je ale i jedním z mála lidí, které bychom i v současné době mohli nazvat renesančními. Spojují se v něm zájmy odborné, pedagogické, kulinářské, umělecké a cestovatelské, což spolu s organizačním talentem a jeho hmotností přispívá k tomu, že je osobou váženou. Takže Pavle, chtěl bych Ti popřát do dalších let pevné zdraví, odborné úspěchy a ať nadále spolukormidluješ bárku ČSCH bouřlivými vodami tržní ekonomiky s takovým úspěchem jako doposud.

Pavel Chuchvalec

Výročí a jubilea

Jubilanti ve 2. čtvrtletí 2009

85 let

Ing. Jindřich Zahálka, (5.4.), ÚVVR Praha
Prof. RNDr. Ing. PhMr. Zdeněk Bardoděj, CSc., (20.5.), 3. LF UK Praha
Prof. Ing. Jaroslav Janák, DrSc., (27.5.), ÚIACH AV ČR Brno

Ing. Vladimír Pokorný, (7.6.), VÚMCH Brno

80 let

Ing. Radko Komers, CSc., (11.4.), ÚCHP AV ČR Praha
Ing. Jarmila Blatná, CSc., (4.5.), Hoffmann-La Roche Praha
Ing. Radomil Adámek, CSc., (9.5.), Synthesia Pardubice
Ing. Slavoj Justa, (7.6.), Praha
Doc. RNDr. Libuše Kišová, CSc., (29.6.), PŘF MU Brno

75 let

Ing. Miloš Tichý, DrSc., (2.4.), ÚOCHB AV ČR Praha
Ing. Jindra Čapková, (20.5.), VŠCHT Praha
RNDr. Jarmila Prášilová, CSc., (24.5.), FJFI ČVUT Praha
Prof. Ing. Jan Káš, DrSc., (26.5.), VŠCHT Praha
RNDr. Alexander Kasal, DrSc., (4.6.), ÚOCHB AV ČR Praha
Doc. RNDr. František Kašpárek, CSc., (10.6.), PŘF UP Olomouc
Ing. Zdeněk Urner, (10.6.), VŠCHT Praha
Ing. František Barkman, (15.6.), Spolana Neratovice

70 let

Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc., (24.4.), Univerzita obrany Hradec Králové
Doc. RNDr. Čestmír Koňák, DrSc., (30.4.), ÚMCH AV

ČR Praha

Prof. RNDr. Jan Schraml, DrSc., (13.5.), ÚCHP AV ČR Praha

Ing. Igor Janovský, (3.6.), Národní technické muzeum Praha

Prof. RNDr. Pavol Hrdlovič, DrSc., (28.6.), SAV Bratislava, Slovensko

65 let

Prof. Ing. Pavel Jandera, DrSc., (1.4.), Univerzita Pardubice

Ing. Helena Skřítková, (13.4.), OHS Zlín

Ing. Karel Michal Celba, CSc., (16.4.), Praha

Ing. Lubor Mojdl, (23.4.), Ostrava

Ing. Miloslav Odstrčil, CSc., (4.5.), Královopolská strojírna Brno

RNDr. Eva Juláková, CSc., (4.6.), Grantová agentura ČR Praha

Ing. Karel Kratzer, CSc., (11.6.), SZÚ Praha

Prof. RNDr. Pavel Beneš, CSc., (13.6.), PedF UK Praha

60 let

Ing. Petr Teplý, CSc., (9.4.), Synthesia a.s. Pardubice

Prof. RNDr. Bohumil Kratochvíl, DSc., (16.4.), VŠCHT Praha

Ing. Ladislav Cvak, Ph.D., (3.5.), IVAX Pharmaceuticals Opava

RNDr. Zdeněk Svatoš, (28.5.), Česká společnost pro jakost Praha

RNDr. Vladimír Velebný, CSc., (10.6.), CPN Dolní Dobrouč

Ing. Petr Holý, CSc., (21.6.), ÚOCHB AV ČR Praha

Blahopřejeme

APROCHEM 2009

18. Chemicko-technologická konference

Chemické technologie • Ropa • Petrochemie • Polymery

Rozvoj průmyslu • Výzkum • Školství • Prostředí • Bezpečnost • Legislativa

20. – 22. duben 2009 • Milovy – Sněžné na Moravě • Hotel Devět Skal

ODPADOVÉ FÓRUM 2009

4. Symposium • Výsledky výzkumu a vývoje pro odpadové hospodářství

Předcházení vzniku odpadů • Systémové otázky • Nebezpečné odpady • Stavební a inertní odpady

Biodegradabilní odpady • Sanace zátěží • Materiálové využití • Energetické využití

22. – 24. duben 2009 • Milovy – Sněžné na Moravě • Hotel Devět Skal

Doprovodná technická výstavka • Firemní prezentace a loga

Nabízíme uvedení firemních informací nebo logo v tištěných materiálech a na CD ROM

Přihlášky příspěvků do 15. 1. 2009, výjimečně do 31. 1. 2009. Plná znění elektronicky do 15. 3. 2009.

2. cirkulář s Odborným programem a Přihláškou účasti na web i tiskem během února. Přihlášky účasti budeme prosit nejpozději do 31. 3. 2009.

Připravuje PCHE s ČSPCH, ČSCHI, ČSCH, VŠCHT Praha, SCHP ČR, ÚCHP AV ČR a s redakcí časopisu Odpadové fórum Českého ekologického manažerského centra - CEMC.

Zveme Vás k účasti a těšíme se na setkání v Milovech, hotelu Devět Skal.

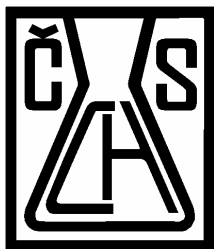
Kontakty a informace:

PCHE - PetroCHemEng, Ing. Jaromír Škarka, CSc., Na Dračkách 13, 162 00 Praha 6
Tel/Fax: 220 518 698, M: 607 671 866

pche@csvts.cz • www.aprochem.cz • www.odpadoveforum.cz • symposium@cemc.cz

CEMC - České ekologické manažerské centrum, redakce časopisu Odpadové fórum
Ing. Ondřej Procházka, CSc., Jevanská 12, 100 31 Praha 10, Tel: 274 784 448, 723 950 237,

Fax: 274 775 869



Česká společnost chemická
 Sekretariát a redakce Chemických listů
 Novotného lávka 5
 116 68 Praha 1
 tel./fax: 222 220 184, redakce tel. 222 221 778
 e-mail: chem.spol@csvts.cz
<http://www.csch.cz>

Proč se stát členem České společnosti chemické

Zapojení v České společnosti chemické, členu Asociace českých chemických společností, přináší individuálním chemikům kromě vlastního členství v největší a nejstarší profesní organizaci chemiků:

- celosvětově uznávanou příslušnost k jedné z nejstarších profesních organizací v chemii na světě,
- možnost zapojení se do práce a komunikace v jedné z místních či odborných poboček ČSCH,
- kontakty, informace, služby, možnosti, uplatnění...
- podstatné slevy u vložného na sjezdech a konferencích, jejichž oficiálním pořadatelem je ČSCH,
- možnost dostávat 4× ročně zdarma tzv. „bulletinové číslo“ Chemických listů,
- možnost objednání předplatného Chemických listů s významnými slevami,
- možnost objednání „osobního balíku předplatného“ Chemických listů a časopisů konsorcia EUChemSoc,
- členské informace o nových knihách, produktech a službách i o připravovaných odborných akcích na celém světě, informace o dění v evropských chemických strukturách
- možnost zažádání o evropskou nostrifikaci chemického vzdělání a odborné praxe spojenou s udělením titulu Eurchem, platného v celé EU,
- přístup ke službám a slevám poskytovaným členskými organizacemi EuCheMS pro členy národních organizací,
- možnost přidruženého členství v IUPAC,
- možnost získání a doporučení členské přihlášky do významných zahraničních chemických společností (RSC, ACS, GDCh, GÖCh, SFC aj.),
- možnost získání příležitostných slev obchodních firem spolupracujících s ČSCH,
- možnost uplatnit informace z vlastní pracovní činnosti (výsledky, novinky, inzerce, tisková oznámení aj.),
- možnost zveřejnění vlastního oznámení v rubrice Bulletinu Chemických listů „Práci hledají“,
- vedle individuálního členství je možné kolektivní členství firem,
- a řadu dalších služeb.

Jak se stát členem ČSCH

Členská přihláška je k dispozici na internetových stránkách ČSCH nebo na sekretariátu ČSCH. Členství je přístupné pro všechny zájemce o chemii a přijetí nového člena doporučí dva členové ČSCH (doporučení je možné nahradit odborných životopisem), členství nabývá platnosti po schválení hlavním výborem ČSCH.

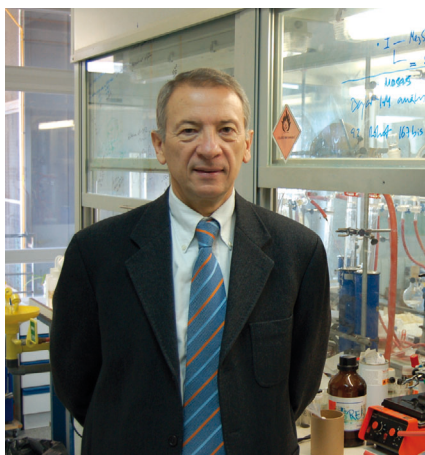
Výši členských příspěvků a možné slevy schvaluje na návrh předsednictva hlavní výbor ČSCH.

Creating a European identity among chemical societies

Europe is growing together, but the European research landscape is changing, with growing socio-economic challenges and the impact of globalisation on science and technology requiring policy responses. In this context, the European Association for Chemical and Molecular Sciences (EuCheMS), was initiated in 2005 and legally established in March 2006. EuCheMS has made significant progress under the leadership of the Presidents Gábor Náray-Szabó and Giovanni Natile. The organisation currently includes 50 member societies, which in total represent some 150 000 individual chemists in academia, industry and government in over 35 countries across Europe.

As incoming president I should like to continue the efforts to create a European identity among the chemical societies, to increase the visibility of chemistry at the European level, and very specially to act as political voice towards European and international organisations. Within the enlarged EU it is very important that EuCheMS provides a point for discussion in order to influence EU government and politicians on the development of the European Research Area and the key role of chemistry as a central science. Chemistry has the tools and concepts to help answer some of the frontier questions arising in other disciplines. In other words, chemistry is the science of creativity, making enabling goals that most other sciences cannot hope to attain.

The EuCheMS Chemistry Congresses held in Budapest (2006) and Torino (2008), the future Nuremberg Congress in 2010 and the numerous European scientific meetings, sponsored events and initiatives carried out by EuCheMS Divisions and Working Parties are important catalysts for promoting European chemistry, and these deserve all our support.



EuCheMS President Luis A. Oro.

Moreover, EuCheMS should continue to promote educational, professional and ethical matters, including the designation European Chemist (EurChem) and attracting chemists in the early stages of their careers through the very successful European Young Chemists Network. We must be able to attract the most talented young people to the important chemistry research problems, such as energy and environmental issues.

I am sure that the initial Federation of European Chemical Societies (FECS), founded in 1970 and now redefined as EuCheMS, has a rich past and a challenging and important future.

Luis A. Oro
EuCheMS President
oro@unizar.es

Promoting EuCheMS in Brussels

EuCheMS has appointed the company IFOK as its EU Policy Consultant, to further extend the established reputation of EuCheMS in Brussels. The arrangement will strengthen the ability of EuCheMS to provide decision makers and opinion formers with independent advice based on the best available scientific knowledge.

Annabel Holroyd at IFOK's Brussels office will be in charge of the day-to-day operation to achieve EuCheMS objectives. She will have support from other members of the extensive IFOK team in support of our objective to promote EuCheMS as a source of expertise and consensus on key European issues affecting chemical and molecular sciences. She will work with experts from EuCheMS Divisions and member societies to develop high quality position papers that will enable EuCheMS to operate in proactive and reactive modes, conveying chemical sciences issues in a timely manner.

Sustainable energy, water and food are current themes that will be further developed. EuCheMS member societies will continue to benefit from receiving regular and timely briefings on emerging legislation, regulation and initiatives that may impact on the chemical sciences, together with news updates on key issues. With experience of undertaking projects for a number of science bodies, for example the European Chemistry Thematic Network, Annabel Holroyd and the IFOK team will build on their expertise in working with the chemistry community. The EuCheMS Finance and Strategy Committee manages this important activity on behalf of EuCheMS.

Evelyn McEwan, mcewane@rsc.org



*Annabel Holroyd
from IFOK's
Brussels office.*



Martyn Poliakoff gave EuCheMS Lecture

Martyn Poliakoff gave the EuCheMS Lecture on "Multi-phase catalysis: Maximizing the opportunities for supercritical fluids in green chemistry" to an enthusiastic audience during the Opening Session at the EuCheMS Congress in Torino. Martyn Poliakoff is Professor of Chemistry at the University of Nottingham and Honorary Professor at Moscow State University. Current research interests involve supercritical fluids, with particular emphasis on green chemistry; he is also Chair of the Editorial Board of the journal *Green Chemistry*.

The Lecture honours outstanding achievements by European chemists, with the aim of enhancing the image of European chemistry and promoting scientific cooperation in Europe. Giovanni Natile, EuCheMS President, presented Martyn Poliakoff with a Swarovski owl and a certificate. *eme*

Allan Jensen received Award for Service

Allan Astrup Jensen from Danish Chemical Society received the EuCheMS Award for Service in recognition of his significant contribution to European cooperation in chemistry and the environment. Giovanni Natile, EuCheMS President, presented the medal and certificate to Allan Jensen on 20 September 2008 at the end of the EuCheMS Chemistry Congress in Torino where he served as convener of the greenhouse gases symposium.

The Award recognises the vital role played by Allan Jensen in developing EuCheMS activities in chemistry and the environment for over 25 years. Under the auspices of the EuCheMS Division of Chemistry and the Environment, Allan Jensen stimulated initiatives through member societies in over 30 countries in Europe and fostered contacts with the European Commission and other agencies on chemistry and the environment issues, including sustainable chemistry. As Division Chairman, he was instrumental in encouraging cooperation on environmental issues with other international organisations such as the International Union of Pure and Applied Chemistry and the International Standards Organisation. *eme*

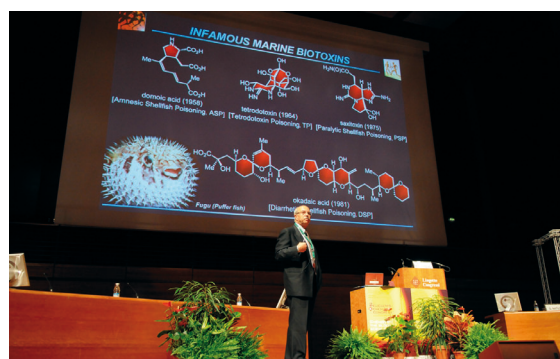
Chemistry as global science: the 2nd EuCheMS Congress

The 2nd EuCheMS Chemistry Congress, under the heading "Chemistry, the global science", has confirmed the credibility of EuCheMS and the importance and relevance of this biennial meeting as a forum for chemists. The aim of the EuCheMS Chemistry Congresses, "made in Europe for the world", is to promote chemistry and molecular sciences at the cutting edge, to foster collaboration among scientists in research, industry and education, and to enhance the public image of chemistry.

In the amazing building of the first Fiat factory, conceived by its founder, Giovanni Agnelli, and renovated by Renzo Piano, this Congress gathered over 2000 participants coming not only from the 35 European countries represented in EuCheMS, but also from Africa, America, and Asia. It was particularly gratifying to witness the large number of younger participants who, as stressed by Martyn Poliakoff, recipient of the EuCheMS lectureship award 2008, represent the real force of European chemistry that will play a decisive role in mastering the emerging challenges. The intense mix of over 1300 posters, 40 exhibitor booths, and the many coffee points (Italian coffee!), Internet spots, and cosy corners for discussions provided many opportunities to exchange ideas and foster collaborations.

The scientific programme, coordinated by Nobel Laureate Hartmut Michel (Max Planck Institute of Biophysics, Frankfurt) and Igor Tkatchenko (University of Burgundy) and involving a panel of conveners, featured seven plenary and 14 keynote lectures. The selected 18 symposia were grouped in six topics, organised in such a way that participants found interest in several symposia. Overall, there were more than 300 oral presentations on five very busy days.

The local Organising Committee, masterly run by Lorenza Operti, also provided a wide social programme including several receptions, a cheese and wine party during a dedicated two-hour poster session, a con-



Opening Session: Kyriacos C. Nicolaou talked about „Molecules that changed the world“.



K. Berry Sharpless (left) and Peter Agre gave Plenary Lectures in Torino.

cert, and a gala dinner held at the historical venue of the Military Academy in the heart of Torino.

At the closing ceremony, EuCheMS President Giovanni Natile expressed the view that the continuing growth of EuCheMS as a global partner for chemistry in Europe and worldwide, is well on the way. Thus the message delivered in 2006 with the 1st EuCheMS Chemistry Congress in Budapest and fully confirmed in Torino on the occasion of the 2nd EuCheMS Chemistry Congress, will continue to be enhanced with the 3rd EuCheMS Congress to be held in Nuremberg, Germany, 29 August to 2 September 2010.

Igor Tkatchenko
Lorenza Operti
Giovanni Natile

Sustainable chemistry

“Chemical sciences are key to predicting the effect of climate change on global, national and regional water availability and quality, so as to inform adaptation and infrastructure planning”, said Richard Allan, speaking on behalf of EuCheMS to the GLOBE EU group of Members of the European Parliament (MEP).

Hosted by its President, Anders Wijkman MEP, the meeting at the European Parliament on 10 September heard from Peter Gammeltoft, Directorate General Environment, who illustrated climate change issues underpinning the Commission’s thinking in the implementation phase of the Water Framework Directive and preparation for a White Paper on adaptation to climate change.

Richard Allan, Chief Scientist at Scottish Water, presented the EuCheMS report “Sustainable chemistry: the role of the chemical sciences” which lists eight challenges for the chemical sciences. Developing advanced water treatment technologies, widening



Photo: Siemens

the adoption of the principles green chemistry and designing chemicals that are highly effective, reusable and recyclable are some of the key areas addressed in the report.

Partnerships with industry will be essential in helping EU government bodies to find solutions. David Russell from Dow presented a Dow Europe project for reusing waste water. Luis A. Oro, EuCheMS President Elect, and Evelyn McEwan, EuCheMS General Secretary, also attended the meeting.

Evelyn McEwan

www.euchems.org/News/index

New WP on Physical Chemistry

Physical chemistry is clearly among the core areas of chemistry and should have its platform on European level. Together with colleagues and supported by the Executive Committee, Michael Dröscher has taken on the task to start a Working Party (WP) which represents all fields of physical chemistry and is aimed at eventually growing into a Division. Colleagues across Europe have agreed to contribute to the WP. One theme of the new WP could be the discussion of roadmaps for research to voice the ideas of physical chemistry for research funding on European level. Other topics are education, research cooperation, and conferences. Thus a physical chemistry session on the EuCheMS Congress 2010 in Nuremberg is planned. Another aim is to strengthen interaction between science and industry. For further information please contact Michael Dröscher.

michael.droescher@evonik.com

Revitalized WP on Conservation of the Cultural Heritage

Many chemists are employed at cultural institutions, such as museums, or at institutions teaching in conservation. In recent years numerous papers regarding chemical techniques on cultural heritage have been published. Modern spectroscopic methods have proven to be successful in conservation science, for example in identification of artists’ pigments. The increasing focus on chemistry and cultural heritage gives chemists the opportunity of obtaining funds from new sources and getting involved in international projects, such as EPISCON (European Ph.D. in Science for Conservation). Due to this increasing interest, EuCheMS has decided to revitalize the Working Party on Conservation of the Cultural Heritage. It will act as a forum providing networks, meetings and conferences. Interested chemists should contact their respective chemical society.

Kim Simonsen, kps@kons.dk

Excellent young chemists

The European Young Chemist Award 2008 was presented in Torino during the 2nd EuCheMS Congress. The award was fully funded by the Italian Chemical Society (SCI) and was aimed to show the excellent research being carried out by young scientists. It was chaired by Bruno Pignataro (SCI), and co-chaired by Csaba Janáky, Cristina Todasca, Emma Dunphy, Jens Breffke, and Juan Luis Delgado as delegates of the European Young Chemists Network. About 90 applications were received by scientists from 30 different countries. About half of the applications were evaluated at a top level by the Symposia Chairs of the Torino Congress or by recognized scientific experts, and 15 finalists were selected. The finalists each delivered a talk during the competition session in Torino in front of a jury comprising Dave Garner (RSC), Angela Agostiano (SCI), Christian Remenyi (GDCh), which selected the following winners:

- Gold medal (1800 Euro): Fabio Arnesano for work entitled “Copper-triggered aggregation of Ubiquitin”.
- Silver medal ex-equo (800 Euro each): Leonard J. Prins (“Catalyst discovery using dynamic chemistry”) and Ali Tavassoli (“Inhibition of HIV budding by a genetically selected cyclic peptide”).
- Gold medal at PhD level (800 Euro): Guillermo Minguez Espallargas (“Porous material behaviour in a non-porous material: Gas uptake of small molecules involving multiple structural changes”).
- Silver medal at PhD level ex-equo (600 Euro each): Gustavo Fernández (“Self-organisation of electroactive materials”) and Viktoria H. Gessner (“Alpha-lithiated methylamines as powerful building blocks”).

Bruno Pignataro, bruno.pignataro@unipa.it



Guillermo Minguez Espallargas received the Gold medal at PhD level.

JCF Spring meeting with EYCN conference 2009

A conference for young scientists will be organised by the German Jungchemikerforum (JCF) and the European Young Chemists Network (EYCN) from 11 to 14 March 2009 in Essen, Germany. Opportunities will be available for oral and poster presentations. The best presentations will be awarded by the scientific committee. The programme will feature plenary lectures by Nobel Laureate Robert Huber (Max Planck Institute of Biochemistry, Martinsried), Alfred Oberholz (Evonik Industries, Essen), and Mario Thevis (Institute for Preventive Doping Research, Köln).

The JCF programme will be expanded by the integrated EYCN satellite event, which will deal with the interface between science and further required skills, for example, for research management. Jens-Uwe Meyer, trainer and book author will explain how to develop patents out of ideas. Travel grants are available for participants from outside Germany.

Igor Schapiro, igor.schapiro@uni-due.de

Csaba Janáky, janakycsaba@yahoo.com

www.jcf-fruehjahrssymposium.de

Swiss foundation promotes sciences in society

The Swiss Chemical Society (SCS) recently created the SCS Foundation, to promote chemistry and sciences in society. At the beginning, the foundation will focus on the young and on teaching in schools. As in some other industrialized countries, science has become increasingly unpopular in Switzerland and struggles against the image of being hard to understand. While institutional reforms in the secondary school system are under way, SCS sees the need of additional measures, e. g. prizes for innovative teaching methods.

The SCS foundation was created in August 2008. A high level board could be assembled, with Richard Ernst, Nobel laureate 1991, Georg Fráter, SCS President, Jacques Weber, former Rector of the University of Geneva, Rudolf Wehrli, former President of the Swiss Society of Chemical Industries, and Jürg Witmer, Chairman of Clariant and Givaudan.

Lukas Weber, weber@scg.ch

Events

15 – 18 March 2009, Heidelberg, Germany

Frontiers in Medicinal Chemistry, Joint German-Swiss Meeting on Medicinal Chemistry

www.gdch.de/vas/tagungen/tg/5339.htm

13 – 15 May 2009, Prague, Czech Republic

6th Chemical Reactions in Food

www.carolina.cz/crfvi

14 – 17 June 2009, Stockholm, Sweden

12th International Conference on Chemistry and the Environment

www.chemsoc.se/sidor/KK/icce2009.htm

5 – 8 July 2009, Copenhagen, Denmark

EuroFoodChem XV, www.eurofoodchemxv.life.ku.dk

2 – 7 August, Glasgow, UK

IUPAC Congress: Chemistry solutions,

www.iupac2009.org

1 – 4 September 2009, Villa Monasterio, Como, Italy

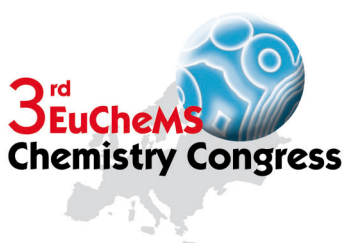
Italic 5 – Science & Technology of Biomasses: Advances and challenges from forest and agricultural biomasses to high added value products, processes and materials.

3 – 5 September 2009, Frankfurt am Main, Germany

3rd European Conference on Chemistry in Life Sciences, www.gdch.de/3eccisc

6 – 10 September 2009, Innsbruck, Austria

EuroAnalysis 2009, www.euroanalysis2009.at



Belousov-Zhabotinski and the Chemistry Congress 2010

An artist's impression of a Belousov-Zhabotinski-reaction pattern was chosen as the central graphical element to visualize the motto of the 3rd EuCheMS Chemistry Congress in Nuremberg 2010: "Chemistry—the creative force". According to the GDCh congress team, the logo will hopefully soon become a sight to behold and a powerful tool to attract the attention of chemists Europe- and worldwide alike. After having fixed topics and proposals for symposi-

a conveners for Nuremberg with the EuCheMS executive committee in Torino, chairmen Francois Diederich and Andreas Hirsch take action in finalizing a team of opinion leaders working on the scientific content.

Gerhard Karger, g.karger@gdch.de
www.euchems-congress2010.org

IUPAC Congress 2009

Hosted by the RSC, the IUPAC Congress 2009 from 2 to 7 August in Glasgow will highlight the importance of innovation in chemistry with a programme of over 50 symposia across seven themes. The five-day event will include a poster session and scientific exhibition plus satellite events to enhance networking. Discounted registration rates for members of EuCheMS member societies will be available next year.

Dave Garner, www.iupac2009.org

EuCheMS Newsletter

Newsletter coordinator: Karin Schmitz

Please send all correspondence and manuscripts to k.schmitz@gdch.de

Editors: Wolfram Koch (responsible), Uta Neubauer, Frankfurt am Main

Advisory board: Reto Battaglia (Switzerland), Claudine Buess Herman (Belgium), Pavel Drasar (Czech Republic), Roger Fenwick (UK), Philippe Garrigues (France), Wolfram Koch (Germany), Minos Leontidis (Cyprus), Evelyn McEwan (EuCheMS Secretariat) and Giovanni Natile (Italy).

Layout: Jürgen Bugler, Frankfurt am Main

Production: *Nachrichten aus der Chemie*

Publisher: Gesellschaft Deutscher

Chemiker on behalf of EuCheMS
Postfach 900440, D-60444 Frankfurt am Main
euchems@gdch.de

EuCheMS General Secretary:

Evelyn McEwan, c/o RSC, Burlington House, Piccadilly, London W1J 0BA, UK
secretariat@euchems.org
www.euchems.org

EuCheMS is registered as "Association internationale sans but lucratif" (AISBL, international non-profit association)

AISBL-Registered office: Avenue E. Van Nieuwenhuysse 4, B-1160 Brussels

OBSAH

ÚVODNÍK	1
ZAHRADA	
Polymerní terapeutika u nás a ve světě	3
M. Pechar a K. Ulbrich	
Role analytické chemie v současné vědě a praxi	11
K. Štulík	
REFERÁTY	
Kráska a rozmanitost struktur přírodních antibiotik	15
F. Hampl, J. Moravcová, J. Čopíková, L. Opletal, O. Lapčík a P. Drašar	
Sulfan – další plynný hormon ?	28
L. Stárka	
Současný pohled na koenzym Q	32
H. Rauchová a M. Vokurková	
Cholesterol – přítel či nepřítel?	40
H. Lubanda a M. Vecka	
Virtuální screening léčiv	52
V. Spiwok a B. Králová	
Chitosan a jeho farmaceutické aplikace	56
E. Vavříková a J. Vinšová	
Principy uvolňování léčiv z perorálních matricových tablet obsahujících hypromelosu	66
K. Dvořáčková	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Stanovení koncentrace <i>N,N'</i>-diacetylsperminu v moči novou metodou ELISA	73
D. Stejskal, V. Humenanská, R. Vrtal, P. Solichová, M. Karpíšek, M. Petzel a M. Švesták	
Značení monoklonální protilátky Anti-CD20 radioisotopy yttria a lutecia	76
F. Budský, V. Miler a Z. Málek	
Polymerové mikročástice pro perorální přívod diklofenaku	81
K. Krejčová, E. Gryczová a M. Rabišková	
VÝUKA CHEMIE	88

CONTENTS

EDITORIAL	1
GARDEN	
Polymer Therapeutics	3
M. Pechar and K. Ulbrich	
The Role of Analytical Chemistry in Contemporary Science and Practice	11
K. Štulík	
REVIEW ARTICLES	
Beauty and Diversity of Natural Antibiotics	15
F. Hampl, J. Moravcová, J. Čopíková, L. Opletal, O. Lapčík, and P. Drašar	
Hydrogen Sulfide – Another Gaseous Hormone?	28
L. Stárka	
Recent View of Coenzyme Q	32
H. Rauchová and M. Vokurková	
Cholesterol: A Friend or Foe?	40
H. Lubanda and M. Vecka	
Virtual Screening	52
V. Spiwok and B. Králová	
Chitosan and Its Pharmaceutical Applications	56
E. Vavříková and J. Vinšová	
Drug Release from Oral Matrix Tablets Containing Hypromelose	66
K. Dvořáčková	
LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
ELISA analysis of <i>N,N'</i>-diacetylspermine in Urine	73
D. Stejskal, V. Humenanská, R. Vrtal, P. Solichová, M. Karpíšek, M. Petzel, and M. Švesták	
The Labelling of Monoclonal Antibody Anti-CD20 with Yttrium and Lutetium Radionuclides	76
F. Budský, V. Miler, and Z. Málek	
Polymeric Microparticles for Oral Administration of Diclofenac Sodium	81
K. Krejčová, E. Gryczová, and M. Rabišková	
EDUCATION IN CHEMISTRY	88

BULLETIN ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

BULLETIN OF THE CZECH CHEMICAL SOCIETIES

**Jak je to s přístupností elektronických verzí
článků z vědeckých časopisů** 93
J. Šilhánek a L. Zetková

**Present Situation in Accessibility of Electronic
Versions of Scientific Papers** 93
J. Šilhánek a L. Zetková

Ze života chemických společností 98
Evropský koutek 100
Anglické okénko, horké novinky z chemie 101
Odborná setkání 102
Aprílový klub 104
Výuka chemie 104
Akce v ČR a v zahraničí 105
Noví členové ČSCH 105
Chemik na cestách 106
Střípky a klípky o světových chemících 107
Zprávy 108
Osobní zprávy 111
Výročí a jubilea 114

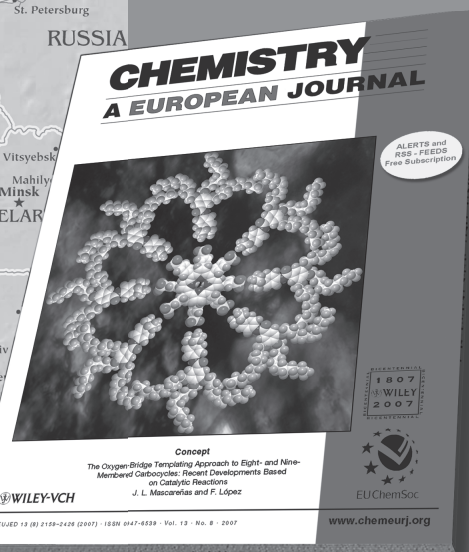
From the Chemical Societies 98
European Column 100
English Column, Hot News from Chemistry 101
Meetings and Conferences 102
Club of Jokes 104
Education in Chemistry 104
Meetings Calendar 105
New Members 105
Chemist on a Business Trip 106
Biographical Sketches of World Chemists 107
News 108
Personal News 111
Anniversaries and Jubilees 114

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 103 (2009), čís./no. 1 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 133, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 119 •
ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT Praha, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUcí REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTOŘI/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámstný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), V. Větvička (USA), L. Opletal (Hradec Králové), P. Tarkowski (Olomouc), Z. Kolská (Ústí nad Labem) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžička, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZAŠILÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, fax +420 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel/fax +420 222 220 184, e-mail: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: České Tiskárny, s.r.o., Generála Svobody 335, 533 51 Pardubice - Rosice nad Labem; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2009 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 170 Kč, roční plně předplatné 2009 (12 čísel) 1730 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 865 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 92 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 70 EUR (doručování via SCHS), 258 EUR (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2008 (12 issues) 225 EUR • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete v čísle 1/2002 a na internetu, zkratky časopisů v čísle 10/97 na str. 911 • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Molekulární námět na obálce: D. Hnyk • Dáno do tisku 22.12.2008.



EU ChemSoc

Editorial Union
of Chemical
Societies



2008, Volume 14

ISSN: 0947-6539 print
1521-3765 online

Made in Europe for the World

Chemistry - A European Journal has established itself as a truly international journal with top quality contributions. It is the international forum for the publication of outstanding Full Papers and Concept Articles from all areas of chemistry and related fields.

★ Most downloaded articles in 2006:

Organocatalysis Mediated (Thio)urea Derivatives
S. J. Connon (Chem. Eur. J. 2006, 12, 5418)

Easily Prepared Air- and Moisture-Stable Pd-NHC (NHC=N-Heterocyclic Carbene) Complexes: A Reliable, User-Friendly, Highly Active Palladium Precatalyst for the Suzuki-Miyaura Reaction
C. J. O'Brien, E. Assen, B. Kantchev, C. Valente, N. Hadei, G. A. Chass, A. Lough, A. C. Hopkinson, M. G. Organ (Chem. Eur. J. 2006, 12, 4743)

Rapid Room-Temperature Buchwald-Hartwig and Suzuki-Miyaura Couplings of Heteroaromatic Compounds Employing Low Catalyst Loadings
O. Navarro, N. Marion, J. Mei, S. P. Nolan (Chem. Eur. J. 2006, 12, 5142)

Ligand-Template Directed Assembly: An Efficient Approach for the Supramolecular Encapsulation of Transition-Metal Catalysts
A. W. Kleij, Joost N. H. Reek (Chem. Eur. J. 2006, 12, 4218)

Self-Supported Chiral Catalysts for Heterogeneous Enantioselective Reactions
K. Ding, Z. Wang, X. Wang, Y. Liang (Chem. Eur. J. 2006, 12, 5188)

Increased
Impact Factor
(2006): 5.330

For further information
and to subscribe
please send an E-mail to:

cs-journals@wiley.com
(North and South America)

service@wiley-vch.de
(Germany/Austria/Switzerland)

cs-journals@wiley.co.uk
(all other regions)



WILEY-VCH

WILEY
InterScience®
DISCOVER SOMETHING GREAT

Subscribe now: www.chemeurj.org

Where Chemistry Meets Life Science

14 national
chemical
societies of
EUChemSoc



are co-owners of
ChemBioChem



Austria



Belgium



Czech Republic



France



Germany



Greece



Hungary



Italy



Netherlands



Poland



Portugal



Spain



Sweden

Subscribe now!

For further information
and to subscribe please
send an E-mail to:

cs-journals@wiley.com
(North and South America)

service@wiley-vch.de
(Germany/Austria/Switzerland)

cs-journals@wiley.co.uk
(all other areas)

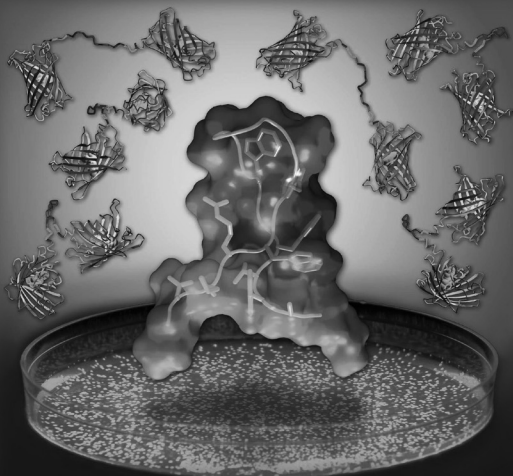
CBCHPX 8 (8) 833 - 960 (2007) - ISSN 1439-4227

D55712

A EUROPEAN JOURNAL

CHEM BIOCHEM

OF CHEMICAL BIOLOGY



**ISI Impact
Factor (2006):
4.100**



EUChemSoc



Minireview: Molecular Mechanisms of *agr* Quorum Sensing
in Virulent *Staphylococci*

Highlight: Light-Stimulated Patterning of Cells
Plus Original Contributions

Chemistry & Life Sciences

WILEY-VCH

an attractive mixture of:

- Short communications
- Full papers
- Reviews & Minireviews
- Highlights & Concepts
- News & Comments
- Book and Multimedia
Reviews

Chairmen of the Editorial Board:

Alan R. Fersht (UK)

Jean-Marie Lehn (France)

Editor:

Peter Göllitz

Managing Editor:

Lisa Abel

New in 2007: 18 issues per year



Visit **ChemBioChem** online
www.chembiochem.org

WILEY
InterScience[®]
DISCOVER SOMETHING GREAT

WILEY-VCH