

Vážení čtenáři,

je pro mě osobně krásným pocitem, že Vám mohu v počátečním období svého působení ve funkci předsedkyně České společnosti chemické popřát dobré a spokojené prožití roku 2006. Tento rok je jubilejní pro Chemické listy, které vycházejí jako stý ročník, a které jsou respektovaným tiskovým médiem ČSCH a Asociace českých chemických společností. Nadcházející rok je také prvním rokem pro Evropskou asociaci pro molekulární a chemické vědy (EuCheMS), jejímž členem je ČSCH, a která je právní nástupkyní Federace evropských chemických společností.

Využívám této možnosti k oslovení všech členek a členů ČSCH a chci je seznámit s cíli, které bych si přála, spolu se svými spolupracovníky, uskutečnit v nám určeném volebním období. Naše Společnost svými více než 2500 členy patří k odborným, profesně zaměřeným společenstvem, které jsou uznávány odbornou i laickou veřejností jak v naší zemi, tak i ve světě. Organizační strukturu ČSCH tvoří její pobočky ve významných regionálních centrech, Brně, Olomouci, Ostravě, Pardubicích, Plzni, Praze a 29 odborných skupin. Na jejich aktivitě závisí z velké části to, zda ČSCH je a bude zajímavou platformou pro odborné aktivity individuálních a kolektivních členů. Jimi je organizována většina konferencí a sjezdů. V této činnosti je úkolem sekretariátu ČSCH poskytovat organizátorům kvalitní účetní zázemí, aby nebylo nezbytně nutné využívat profesionálních agentur. Příjmy pro činnost poboček, odborných skupin, ale i sekretariátu pocházejí totiž hlavně z těchto aktivit. Chemické listy musí zůstat výkladní skříň, která podává široké odborné veřejnosti obraz o úrovni chemie v České republice. Články tohoto časopisu, byť jsou vydávány v češtině, resp. slovenštině jsou vyhledávány jak domácími, tak zahraničními čtenáři a ve světové literatuře hojně citovány. Z celkového počtu prací evidovaných RIV v oboru chemie v ČR připadá 10 % na články otištěné v tomto časopise. K tomu, aby vycházelo 12 čísel ročně, z nichž 4 jsou členská, přispívají svými členskými příspěvky individuální a významně také kolektivní členové ČSCH - vysoké školy, ústavy Akademie věd České republiky, státní instituce, placené inzeráty a oznámení obchodních a výrobních společností. Profilace některých čísel na určité obory chemie je úspěchem práce redakčního kruhu, redakční rady časopisu a rady individuálních členů. Příkladem může být i toto číslo, které vzniklo za podpory našich předních farmaceutických firem. Časopis si i nadále uchová svou otevřenost vůči rukopisům slovenských kolegů, což je vedle společně pořádaných sjezdů obou Asociací zásadní pro spolupráci mezi ČSCH a Slovenskou chemickou společností.

V tomto měsíci vychází druhé vydání „Průvodce pro členy České společnosti chemické“. Je jednou z priorit předsednictva a hlavního výboru ČSCH, aby členové Společnosti a odborná veřejnost měli možnost získávání aktuálních informací jak z této brožury, tak z měsíčně aktuali-



zovaných internetových stránek ČSCH a čtyř vydání Bulletinu Asociace českých chemických společností.

Jedním ze společensky důležitých cílů ČSCH je stálá pozitivní medializace chemie, chemického a farmaceutického průmyslu mezi laickou veřejností. ČSCH zůstane významnou platformou pro rozšiřování solidních a odborně správných informací o vlivu chemie na životní prostředí a udržitelný ekonomický rozvoj. Bude se podílet na organizaci národní chemické olympiády a podporovat vzdělávací akce jako „Jarmark fyziky, matematiky a chemie“, který se např. stal v Olomouci již tradicí. Ve snaze o zvýšení atraktivit vysokoškolského a středoškolského studia chemie se bude ČSCH opírat o své členy působící na středních a vysokých školách a ve výzkumných ústavech. Udílení prestižních a hmotných ocenění mladým chemikům a organizování konferencí se soutěžním zaměřením je dalším z účinných stimulů propagovaných ČSCH. Rozšiřování počtu cestovních stipendií ve spolupráci se zahraničními chemickými společnostmi, soukromými firmami a nadacemi bude jednou z významných spolkových aktivit. Neměli bychom zapomínat na získávání nových členů, zejména z řad studentů a mladých odborníků.

Pro ČSCH jsou důležité oboustranně prospěšné vztahy s kolektivními členy. Počet kolektivních členů chceme rozšiřovat a poskytovat jim v rámci členství profesionální služby zaměřené zejména na jejich propagaci a potřebné odborné zázemí.

Nadstandardní vztahy bude ČSCH nadále udržovat s národními chemickými společnostmi sousedícími s naší zemí. Tyto kontakty jsou zajímavé zejména pro výměnu účasti mladých chemiků na národních sjezdech a na pořádání společných odborných akcí. Již začátkem roku 2006 vyjždí do Rakouska na své „přednáškové turné“ první reprezentant mladé generace chemiků. Přímá účast na aktivitách EuCheMS se v letošním roce soustředí na 1. Evropský sjezd chemických společností v Budapešti 27.–31. 8. 2006. ČSCH bude udržovat svoji pozici v European Chemistry Thematic Network a spolupracovat s orgány, které pečují o kvalitní úroveň chemického vzdělávání, ať již školního či „celoživotního“. Přímé zapojení ČSCH do práce komisí European Chemist Registration Board a Chemistry Eurobachelor Label Committee je jak otázkou prestiže společnosti, tak nese i praktické důsledky; lze uvést například, že oficiálně registrovaných odborníků

s titulem Evropský Chemik (EurChem) je u nás na počet členů více, než v Německu či ve Francii; a dále i to, že VŠCHT Praha byla devátou evropskou vysokou školou, která požádala o akreditaci svého studijního programu a propůjčení možnosti udělovat absolventům též titul Chemistry EuroBachelor. K nově navázaným kontaktům patří také spolupráce s Českou styčnou kanceláří pro výzkum a vývoj v Bruselu (CZELO), která nabízí své služby pro zapojení českých výzkumných týmů do evropských projektů.

Hlavní domácí akcí bude 58. Sjezd Asociací v Ústí nad Labem, konaný ve dnech 4. až 8. září 2006. Naším cílem

je, aby sjezd přilákal chemickou obec a kvalitní přednášející, a to jak z akademické, výzkumné sféry, tak také z průmyslu. Věřím, že česká a slovenská chemická obec využije této příležitosti nejen k prezentaci výsledků své práce, ale i k seznámení se s opomíjenými krásami severních Čech.

Závěrem bych ráda připomněla všem členům, aby nezapomínali na možnost poděkovat formou ocenění těm, kteří vykonali pro Společnost a chemii kus poctivé práce, ať již jsou nebo nejsou členy naší Společnosti.

Jitka Ulrichová

Redakce časopisu

Chemické listy

uděluje

**CENU
Karla PREISE
za rok 2005**



**Kamilu LANGOVI, Jiřímu MOSINGEROVI
a Daně M. WAGNEROVÉ**

Ústav anorganické chemie AV ČR, Řež

za práci

Pokroky ve fotochemii singletového kyslíku

Chem. Listy 99, 211 (2005)

SRDEČNĚ BLAHOPŘEJEME

NANOMEDICÍNA – SOUČASNÝ STAV A PERSPEKTIVY: VELKÝ POTENCIÁL, NEBO JEN MÓDNÍ SLOGAN?

VLADIMÍR KRÁL^{a,b}, JAN ŠOTOLA^b, PETR NEUWIRTH^b, ZDENĚK KEJÍK^a, KAMIL ZÁRUBA^a a PAVEL MARTÁSEK^c

^a Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Zentiva, a.s. Praha, U kabelovny 130, 102 37 Praha 10, ^c 1. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Kateřinská 32, 121 08 Praha 2

Došlo 12.9.05, přijato 7.11.05.

Klíčová slova: nanotechnologie, nanomedicína, nanočástice, kvantové tečky, nanokapsle, nanoslupky, dendrimery, cílený transport léčiv, respirocyty

Obsah

1. Úvod
2. Oblasti využití nanomedicíny
3. Nedestruktivní diagnostika
 - 3.1. Využití nanočástic
 - 3.2. Využití mikročipů
4. Terapie
 - 4.1. Cílený transport léčiv
5. Nanomedicína v budoucnosti
 - 5.1. Respirocyty
 - 5.2. Mikropožirače

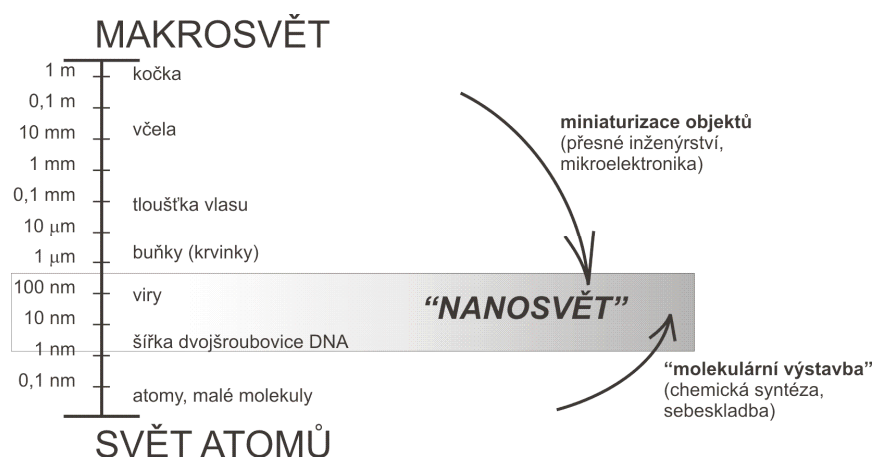
1. Úvod

Nanotechnologie otevírá možnosti pracovat na úrovni supramolekulárních systémů o velikosti od jednotek až ke 100 nm (připomeňme, že jeden nanometr je miliontina milimetru). Jejím cílem je porozumět fundamentálně novým vlastnostem vyplývajícím z rozměrů částic tohoto „nanosvěta“ (obr. 1), vytvářet technologie vedoucí k přesně navrženým nanočásticím s požadovanými vlastnostmi a nalézt technologie, jak s nimi zacházet. Díky svým rozměrům se nanočástice dostávají „blízko“ ke svým cílovým biologickým entitám.

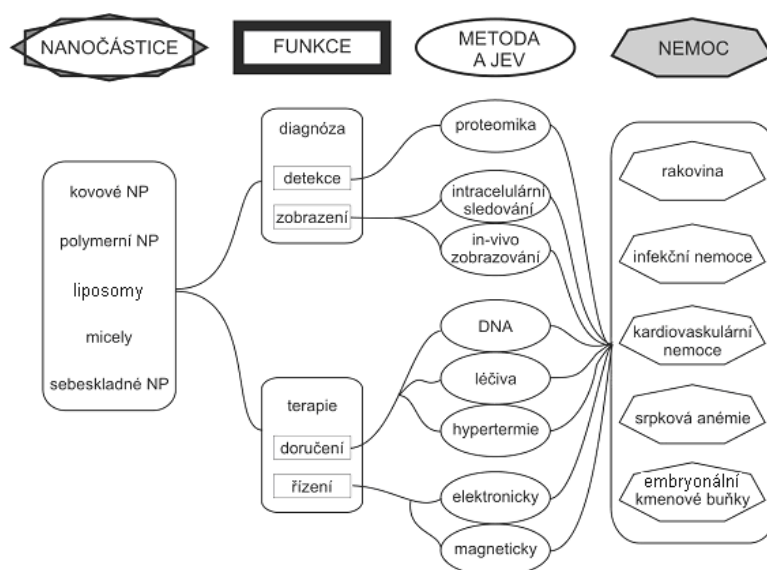
Nanotechnologie je definována jako oblast, která aplikuje principy platící na úrovni nanočástic a techniky pro porozumění vlastnostem vedoucí k novým materiálům a nástrojům. Podle definice NIH (National Institute of Health, USA) je nanomedicína definována jako aplikace nanotechnologie pro diagnózu, léčení, monitorování a kontrolu biologických systémů. Výzkum se soustřeďuje především na racionální transport diagnostických a terapeutických látek dovolující odstranit vedlejší účinky a přesně zacílit na požadované místo v organismu.

Během několika málo let došlo k prudkému rozvoji nanotechnologie na poli medicíny a farmaceutického výzkumu. Jak již bylo uvedeno, nanotechnologie se zabývá objekty velikostí jednotek až stovek nanometrů. V čem je zvláštnost této oblasti velikostí? Nanotechnologie otevřely nový pohled na porozumění vlastnostem látek. Klasicky vzdělaný chemik by ještě na konci minulého století řekl, že vlastnosti látek jsou určovány jejich chemickým složením. To jistě zůstává pravdou, ale není to přístup zcela vyčerpávající popis a charakterizaci vlastností.

Nanotechnologie otevírají nové úhly pohledu. Vlastnosti látek jsou totiž také funkcí velikosti částic, z nichž se



Obr. 1. Existence „nanosvěta“ na rozhraní makrosvěta a světa atomů a metody jeho dosažení



Obr. 2. Základní jevy a principy aplikace nanotechnologie v medicíně

skládají, protože právě velikost částic, pokud se dostaneme do oblasti nanosvětla, určuje výsledné vlastnosti. Velikost částic určuje např. bod tání a spektrální vlastnosti dané látky. Vědci z oblasti katalýzy o těchto skutečnostech vědí už několik desítek let, v poslední době se ale objevují zcela nové souvislosti. V oblasti medicíny také platí, že např. při farmakologické intervenci účinnost aktivní farmaceutické komponenty závisí na velikosti částic.

Naše znalosti příčin velké řady chorob se v posledních letech dostaly z úrovně znalostí orgánového postižení na úroveň celulární, subcelulární, organelovou a molekulární. V prudkém kontrastu k současným diagnostickým možnostem je naše neschopnost účinného terapeutického zásahu s minimem nežádoucích efektů u řady chorob, postihujících velké skupiny obyvatel. Odhalení cest, které umožní dopravit léčivo ve správný čas nejen do postiženého buněčného systému, ale které umožní individuálně reagovat vlastním sebeskladným procesem na signály vychýleného buněčného, resp. organelového metabolismu, přešlo využitím dostupných nanotechnologií z oblasti fikce do možností skutečného terapeutického zásahu (obr. 2).

2. Oblasti využití nanomedicíny

Nanomedicína je jedno z odvětví výzkumu a vývoje oboru nanotechnologií. Nanomedicínu můžeme definovat jako monitorování, reparaci (opravu) s následnou kontrolou lidských biologických systémů na buněčné úrovni užitím materiálů a struktur navržených na molekulární úrovni. Tento přehledový článek shrnuje možnosti, které nanotechnologie může přinést současné medicíně.

Nanomedicína se zabývá několika základními oblastmi:

- molekulární medicína (včasná detekce onemocnění, náhrada některých tkání a orgánů),

- regenerativní medicína biokompatibilními materiály,
- chirurgie v nanoměřítku,
- cílený transport léčiv,
- studium vlivu nanoobjektů na zdraví a životní prostředí,
- aplikace magnetických nanočástic pro diagnostiku a terapii.

Světové investice do nanotechnologií stále rostou. Americká vláda rozhodla investovat do výzkumu nanotechnologií ve fiskálním období 2005–2008 celkem 3,7 mld dolarů. Prodej v oblasti nanotechnologií prudce roste. Meziroční nárůst prodeje je v USA 37,2 %, v západní Evropě 31,5 % a v Japonsku 37,5 % (cit.¹).

3. Nedestruktivní diagnostika

V průběhu 20. století byla vyvinuta řada metod, umožňujících přesnou a rychlou analýzu velkého množství biologicky významných analytů. Jejich obecnou nevýhodou je však častá nutnost lýzy buněk². Tím dochází nejen ke zkreslení analýzy vlivem vyrovnání koncentrací bioanalytů v jednotlivých buněčných částech, ale i vlivem oxidačních a metabolických změn bioanalytů. Proto se dnes těší rostoucímu zájmu metody, které jsou založeny na nedestruktivní bázi a poskytují v reálném čase informaci o prostorové distribuci analytu v jednotlivých oddělech buněk².

Pro splnění tohoto náročného úkolu jsou obvykle využívány velmi citlivé postupy založené na fluorescenční mikroskopii. Jako fluorescenční senzory jsou do buněk dopraveny sloučeniny vykazující výrazné změny ve fluorescenčním chování v závislosti na koncentraci vybraného analytu. Tímto způsobem byla dokumentována celá řada

buněčných procesů. Možnosti metod však narážejí na cytotoxicitu většiny organických fluoroforů, specifické ovlivnění některých buněčných funkcí a na heterogenní distribuci těchto sloučenin v intracelulárním prostoru v závislosti na jejich afinitě k jednotlivým kompartmentům³.

Pro odstranění těchto vlivů a realizaci neinvazivní intracelulární analýzy je třeba senzor, který musí být nejméně stonásobně menší než buňka. Dále je nutné, aby byla senzorická molekula izolovaná od buněčného prostředí pomocí biokompatibilní matrice, která je přístupná pro analyt. Pokud splníme tyto podmínky, je možné vyrobit biokompatibilní nanosenzory, které mají v sobě zakotvené senzorické molekuly velmi rozmanitých typů (enzymy, protilátky, silně hydrofobní sloučeniny) ve spojení s vhodnými fluorofory².

3.1. Využití nanočástic

Nanočástice, používané v bioanalytických medicínských stanoveních, můžeme rozdělit do několika strukturálních typů: kvantové tečky, dendrimery, kovové a polovodičové nanočástice, magnetické nanočástice.

Kvantové tečky (z angl. quantum dots, QDs) jsou monodisperzní anorganické nanokrystalové částice z polovodičového materiálu o velikosti povrchu 2–10 nm². Na povrchu jsou proteiny nebo krátké fragmenty DNA. Částice mohou být spojeny s biomolekulou za vzniku fluorescenční sondy. Fluorescenční sonda založená na kvantových tečkách má několik výhod ve srovnání s klasickými fluorescenčními barvivými. Pásky emisního spektra sondy jsou úzké a symetrické. Dále mají sondy vynikající fotostabilitu a jejich absorpční spektra umožňují excitaci v odlišných barvách jedním zdrojem. Jejich vysoké fotostability se využívá při monitorování intracelulárních procesů. Sondy představují významný pokrok při simultánním studiu různých biologických cílů v jedné buňce. Byla prokázána jejich nulová toxicita v biologickém prostředí. Biokonjugáty kvantových teček mohou být např. použity pro hybridizaci DNA a studium bodových mutací, vedoucích k fenotypickému projevu onemocnění. Kvantové tečky byly rovněž použity pro studium mobility nádorových buněk⁴.

Další typem nanočástic jsou dendrimery, vysokomolekulární až makromolekulární struktury skládající se mnoha větví (dendronů), které jsou pravidelně umístěny kolem centrálního jádra. Syntéza dendrimerů je vedena tak, že dochází ke vzniku různých dutin (kavit) či kanálků, které umožňují interakci s řadou vybraných molekul. Strukturální dokonalost dendrimerů byla podnětem pro řadu biomedicínských aplikací – zesílení molekulárního efektu, navození vysoké lokální koncentrace léčiva, molekulární značení. V diagnostice se dendrimery používají v zobrazovacích technikách jako kontrastní látka při zobrazení měkkých tkání (např. orgány a krevní kanály)⁵.

Kovové a polovodičové nanočástice mají vynikající optické a elektrochemické vlastnosti⁶. Biologické molekuly mohou být imobilizovány na nanočástici různými technikami, které zahrnují fyzikální adsorpci, elektrostatické vazby, specifické rozpoznávání a kovalentní připojení. Tyto nanočástice jsou modifikovány různými biologický-

mi molekulami, jako jsou enzymy, protilátky, ostatní proteiny, DNA a oligonukleotidy. Je velmi dobře známo, že jak polymery, tak malé molekuly mohou ovlivňovat chování biomolekul. Takto modifikované nanočástice mají značný terapeutický efekt. Molekulární značení biomolekul různými fluorescenčními barvivými (sondami) by mohlo poskytovat informace o jejich dynamice nebo konformaci a mělo by velké využití v diagnostice. Byly např. připraveny zlaté nanočástice obsahující merkaptoundecyltrimethylamonium rozeznávající dvouvláknovou DNA. Polovodičové částice (např. CdS, CdSe, ZnS) mohou být použity jako fluorescenční značky pro imunosenzorovou analýzu DNA. Tyto částice umožňují ladit vlnovou délku emitovaného záření, mají úzké emisní pásy a až stonásobnou stabilitu oproti molekulárním fluorescenčním značkám. Nanočástice CdSe a ZnS s avidinem byly použity jako fluorescenční značky pro biotinované protilátky. Takto značené protilátky byly využity pro detekci toxinů stafylokoků a cholery.

Magnetické nanočástice jsou široce studovány a používány v různých oborech medicíny a biologie pro magnetické navádění léčiv, radiofarmak, při magnetickém rezonančním zobrazování a při čištění DNA a RNA (cit.⁷). Tyto částice obsahují magnetit (Fe₃O₄). Aby nedocházelo k adsorpci proteinů na jejich povrch, jsou pokryty polymerní vrstvou (polyethylenglykol, dextran).

3.2. Využití mikročipů

Na rozdíl od výše popsaných metod, analýza pomocí mikrodestiček vyžaduje lýzu buněk. Přesto se jedná o velmi slibné metody⁸. Nejčastější používanou metodou je analýza DNA, nebo RNA pomocí DNA čipu. Jejich funkce je založena na hybridizaci oligonukleotidových sond. DNA čipy obsahují matici, na které jsou rozprostřeny různé oligonukleotidy detegující simultánně odlišné sekvence DNA, což umožňuje provádět analýzy paralelně. Zakotvení DNA na povrch čipu může být provedeno několika způsoby: vazbou aktivovaných oligonukleotidů k čipu, jehož povrch je modifikován aminoskupinami, vazbou DNA modifikované merkaptoskupinami přímo ke zlatému povrchu, elektrochemickou polymerizací pyrrolů s navázanými oligonukleotidy, interakcí DNA se samoskladnou vrstvou pyrrolů, specifickou interakcí oligonukleotidů modifikovaných biotinem se streptavidinem imobilizovaným přímo na zlatém povrchu, nebo konečně imobilizací pomocí lipidové dvojvrstvy. Detekce je prováděna radioaktivně, fluorescenčně nebo elektrochemicky značenými probami.

Obdobně jako DNA čipy fungují i čipy proteinové. Nesou navázaný protein a sleduje se jeho interakce s analyty (proteiny, nízkomolekulárními látkami). Metoda je ve srovnání s DNA čipy komplikována denaturací proteinů při vazbě na čip a nespecifickými hydrofobními interakcemi. Pro diagnostiku mají především význam mikrodestičky s protilátkami⁹. Pro zjištění vazby analytu na protilátku se používají imunochemické metody jako ELISA, sendvičová metoda a další.

4. Terapie

V terapii se nanočástice mohou použít buď přímo jako aktivní činidla, nebo jako nosiče léků. Jejich použití pro transport léčiv má ve srovnání s klasickým způsobem řadu výhod: ochranu léčiv a dalších biologicky aktivních látek před degradací v organismu, zvýšení stability transportovaných látek a větší kontrolu distribuce látek v organismu.

Vlastnosti nanočástic nejsou závislé jen na jejich tvaru a velikosti, ale také na jejich povrchové modifikaci¹⁰. Například nanočástice s dextranovou vrstvou mohou být použity pro selektivní dopravu léčiva do specifických tkání, např. lymfatických uzlin nebo mozkového tumoru. Povrch modifikovaný dextranem navíc nanočástici chrání před fagocytosou a prodlužuje dobu pobytu nanočástice v krvi. Nyní se ukazuje, že důležité je provádět selektivní transport nejen do vybraných tkání, ale i do vybraných organel¹¹. Nanočástice mohou být použity např. jako fotosenzitizéry při fotodynamické terapii. Po absorpci světla molekula produkuje singletový kyslík, který ničí cílovou buňku¹².

Nedávné práce ukázaly, že imobilizace fotosenzitizérů na nanočásticích, např. silikagelu, vede k výraznému zlepšení terapeutických vlastností oproti volnému senzitivizéru.

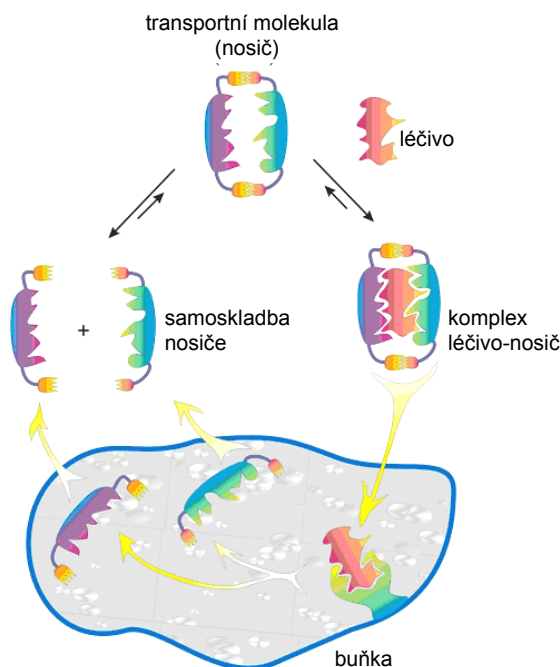
4.1. Cílený transport léčiv

Díky snížení velikosti částic a výhodnému poměru velikost částice/velikost povrchu dovoluje nanotechnologie zvýšit rozpustnost lipofilních látek za fyziologických podmínek. Tím ale využitelnost v oblasti nanosvětla nekončí.

Cílený transport léčiva do cílové tkáně je jednou z potenciálně nejzajímavějších aplikací nanotechnologie, a to především díky tomu, že řada léků působí velmi nespecificky. Podléhají obecnému distribučnímu pravidlu v organismu a díky ataku zdravých tkání, především u chemoterapií to způsobuje značné vedlejší efekty. Podobně také protizánětlivá léčiva vyžadují (např. v případě chronické artritidy) cílenou lokalizaci, aby bylo zabráněno vedlejším účinkům a naopak vyvolán žádoucí terapeutický efekt.

Cílený transport léčiv v pohledu nanomedicíny je založen na obecném postupu, kdy nanočástice v sobě inkapsuluje léčivo (obr. 3). Přitom nanočástice sama, nebo rozpoznávací elementy na jejím povrchu, umějí na základě specifických receptorů na povrchu buňky najít to pravé místo pro účinek. Vlastní realizace zahrnuje přípravu nanočástic, zachycení léčiva a připojení specifického receptoru, např. protilátky.

I když je základní myšlenkový postup pro cílený transport léčiv (TDD – Targeted Drug Delivery) jednoduchý, transportní systém musí splňovat řadu podmínek. Předně musí mít nanočástice vysokou kapacitu pro zvolené léčivo. Dále musí zůstat stabilní za fyziologických podmínek, obvykle v kardiiovaskulárním systému. Těmto požadavkům dobře vyhovují např. liposomy. Řada různých typů liposomů pro cílený transport léčiv byla již schválena regulačními autoritami. Liposomů se např. využívá k cílenému transportu tetracyklinového antineoplastika doxorubicinu. Doxorubicin je vnesen do stabilního liposomu, čímž dojde k tvorbě nanoagregátu s vysokým obsahem léčiva. Dalším důležitým faktorem je kontrolované uvolně-



Obr. 3. Příklad transportu léčiva do buňky; po samoskladbě transportní molekuly dojde k navázání léčiva a jeho dopravě do buňky, kde dojde k disociaci komplexu. Léčivo se naváže na příslušný receptor a transportní molekula vycestuje ven. Proces je řízen koncentračně

ni léčiva v cílové tkáni. To obvykle závisí na typu léčiva a způsobu inkapsulace. Cílem je kontrolované uvolňování léčiva v terapeutickém rozmezí. Uvolňování léčiva lze nastartovat např. působením intracelulárních látek, či kolapsem liposomů v důsledku snížené hodnoty pH v cílové tkáni¹³.

V současné době je kontrolovaná rychlost uvolňování léčiv centrálním bodem aplikace nanotechnologií pro chemoterapii, protože v řadě případů uvolňování účinné látky probíhá nedostatečným způsobem. Jeden z atraktivních způsobů řešení spočívá v destabilizaci liposomu indukovaného enzymem. V současné době se také používají polymerní micely, které ale mají oproti liposomům obvykle nízký enkapsulační objem pro léčivo. Další postupy využívají pH senzitivní transportní nanočástice.

Dendrimery, větvené supramolekulární, či polymerní systémy, se dají také použít jako nosiče protinádorových léčiv (obr. 4). Např. dendrimer obsahující aminové skupiny byl použit pro dopravu 5-fluorouracilu. Dendrimery lze také použít přímo v terapii. V současnosti je nejaktivnější oblastí ve výzkumu terapeutik využívajících nanočástic genová transfekce prováděná dendrimery jako neviróvými vektory¹⁴. Komerčně dostupné polyaminové a polypropylované dendrimery jsou vzhledem ke svému kladnému náboji používány za fyziologických podmínek při genové terapii. Dendrimery s aniontovými skupinami, např. sulfátovými nebo se zbytky sialové kyseliny (kyseliny *N*-acetylneuraminové), se dají použít jako antivirové prostředky¹⁵ a jsou schopny snížit počet infekčních částic v krvi. Jejich účinek spočívá v napodobování anionického buněčného povrchu. Polylysinový dendrimer se sulfátovými a naftylovými skupinami se používá jako inhibitor viru *Herpes simplex*. Obdobný dendrimer má antivirální účinky vůči HIV. Tento dendrimer působí také ve fázi replikace, neboť interferuje s HIV integrasou a reverzní transkriptasou. Na rozdíl od antivirových dendrimerů obsahují antibakteriální dendrimery kationické skupiny, jako jsou aminy a tetraalkylaminové soli. Jejich účinek je založen na lýze anionické bakteriální membrány. Tyto dendrimery působí jak na Gram-negativní, tak na Gram-pozitivní bakterie. Polylysinové dendrimery s mannosylovými skupinami mohou inhibovat adhezi *E. coli* na krevní buňky a shlukování červených krvinek. Dendrimery se dají také použít při léčbě rakoviny, a to např. jako fotosenzitizéry ve fotodyna-

mické terapii. Po absorpci světla molekula produkuje singletový kyslík, který ničí nádorovou buňku.

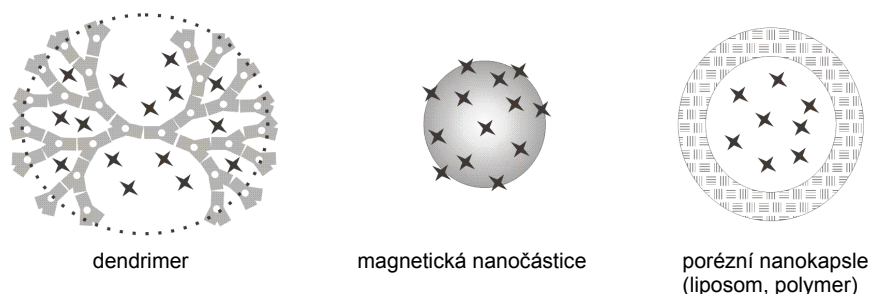
Při transportu léčiv magnetickými nanočásticemi např. do nádoru se výhodně používá magnetických vlastností těchto nanočástic¹⁶ (viz obr. 4). V místě nádoru je umístěn magnet a nanočástice s léčivem (Doxorubicin, Mitomycin C, Methotrexat, Camptothecin atd.) jsou tam dopraveny injekčně.

Dalším způsobem transportu léčiv v organismu je jejich inkapsulace. Tento proces zahrnuje použití liposomů a polymerů, které jsou použity jako nanočástice (1 až 100 nm). Kolem léčiva vznikne kapsle. Z ní je léčivo uvolněno její biodegradací v organismu. Tato metoda se zkouší pro léčbu neurologických a očních poškození. Firma Adventus Life Sciences zkouší použít doxorubicin inkapsulovaný polybutylkyanoakrylátem pro léčbu mozkových nádorů. Povrch této nanočástice obsahuje polysorbát 80, čímž dojde k záměně nanočástice za lipoproteiny, a tím je umožněn průchod přes mozkovou bariéru.

Další zajímavou a významnou skupinou nanomolekul používaných pro léčbu řady různých chorob jsou fulereny¹⁷. Rozpustné deriváty fulerenů jsou slibnými farmaceutickými činidly. Tyto deriváty mají dobrou biokompatibilitu a jejich toxicita je nízká i ve vysokých koncentracích. Fulereny jsou duté koule s průměrem 1 nm sestavené nejčastěji ze 60 uhlíkových atomů (C₆₀). Jejich konstrukce umožňuje přiřadit léčivu, které je na nich zakotveno, určitou prostorovou orientaci. Systém je vyvinutý pro spojení fulerenu s protilátkou nebo s jiným prostředkem pro navedení na cíl. Tyto systémy např. zahrnují fulereny s chemoterapeutickými léčivy, fulereny s radiofarmaky a fulerenové liposomální systémy. Fulerenové deriváty se používají jako antivirová činidla, při fotodynamické terapii, při léčbě Parkinsonovy choroby, při terapii nádorů a v dalších aplikacích. Fulerenové deriváty byly navrženy rovněž pro léčbu AIDS a rakoviny.

Nanoslupky jsou zlatem pokryté křemíkové nanočástice, které obsahují léčivo. Nanoslupky mohou absorbovat světelnou energii a přeměnit ji v teplo. Zkoumá se jejich použití jako antinádorových látek⁶.

Zeolity jsou krystalické porézní hlinotokřemičitany¹⁸. Zeolity mohou absorbovat různé malé molekuly (plyny, kapaliny s nízkou molární hmotností, jako je voda a methanol), usnadňovat iontovou výměnu a fungovat jako



Obr. 4. Nanočástice pro cílený transport léčiv (léčivo je symbolizováno hvězdičkou)

molekulární síta. Vykazují vysokou stabilitu bez ohledu na prostředí, v němž se vyskytují, a jsou prakticky netoxické. Kovové komplexy zeolitů mohou sloužit jako nosiče kyslíku, a tak napodobovat cytochrom P450. V současnosti se pracuje na novém typu kontrastních látek pro magnetickou tomografii na bázi zeolitového komplexu Ga^{3+} . Zeolity byly také použity jako protinádorové činidlo. Nanozeolitické krystaly byly také použity jako hemostatické činidlo¹⁹. Při srovnání s klasickým postupem bylo pozorováno výrazné zlepšení.

5. Nanomedicína v budoucnosti

V průběhu 15–20 let se očekává zavedení zcela nových zařízení na bázi aplikace nanotechnologií v medicíně a farmacii. Pro ilustraci tohoto přístupu uvádíme dva příklady – respirocyty a mikropožírače.

5.1. Respirocyty

Jedním z možných příkladů budoucích zařízení je umělá mechanická červená krvinka, označovaná jako respirocyt. Jako zdroj energie zařízení používá krevní glukosu, je schopno dopravit do tkání 236 krát více kyslíku na jednotku objemu než přírodní červená krvinka a poradí si s uhličitanovou kyselostí. Tento nanorobot je sestaven z 18 miliónu atomů precizně spojených chemickou vazbou do tlakové nádrže. Maximální kapacita zařízení je 3 miliardy molekul O_2 a CO_2 . Nanopočítačová řídicí jednotka může být programována pomocí akustických signálů. Respirocyty mohou být využity při transfúzi krevních náhrad, léčbě anemie (chudokrevnosti), plicních chorob, pro usnadnění kardiovaskulárních a neurovaskulárních léčebných zákroků atd.

5.2. Mikropožírače

Dalším takovým zařízením je mikropožírač. Zařízení je konstruováno pro destrukce mikrobiálních patogenů. Poté, co zařízení provede adhezi na cílový mikroorganismus, teleskopické robotické tykadlo, vysunuté ze speciálního zásobníku na povrchu zařízení, pevně uchopí mikroorganismus. Ten je následně přenesen do likvidační komory. Po mechanickém rozsekání je buňka vytlačena do oddělených trávicích komor, kde enzymy převedou buňku na aminokyseliny, cukry, nukleotidy, mastné kyseliny, glycerol. Zařízení je schopno provést více než 80 likvidačních zásahů.

Nanotechnologie již mění a v blízké budoucnosti mohou zásadním způsobem změnit diagnostiku, monitorování metabolických odchylek a následné farmakologické zásahy s výrazným důrazem na individualizaci léčby.

LITERATURA

1. Flinn T., Wei Ch.: *Nanomedicine 1*, 47 (2005).
2. Lu J. Z., Rosenzweig Z., Fresenius J.: *Anal. Chem.* 366, 569 (2000).
3. Aylott J. W.: *Analyst 128*, 309 (2003).
4. Parak W. J., Boudreau R., Gros M., Gerion D., Zanchet D., Micheel Ch. M., S. Williams Alivisatos A. P., Larabell C.: *Adv. Matter 14*, 882 (2002).
5. Stirib S. E., Frey H., Haag H.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 41, 1329 (2002).
6. Katz E., Willner I.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 43, 6042 (2004).
7. Bergemann C., Müller-Schulte D., Oster J., Brassard J., Lübbe A. S.: *J. Magn. Magn. Mater.* 194, 45 (1999).
8. Venkatasubbarao S.: *Trends Biotechnol.* 24, 630 (2004).
9. Pavlíčková P., Schneider E. M., Hug H.: *Clin. Chim. Acta 343*, 17 (2004).
10. Lemarchand C., Grefa R., Couvreur P.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 58, 327 (2004).
11. Gustavo R., Rosania: *Curr. Top. Med. Chem.* 3, 659 (2003).
12. Pushpan S. K., Venkatraman S., Anand V. G., Sankar J., Parmeswaran D., Ganesan S., Chandrashekar T. K.: *Curr. Med. Chem.* 2, 187 (2002).
13. Barenholz Y.: *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 6, 66 (2001).
14. Liu M., Frechet J. M. J.: *Pharm. Sci. Technol. Today* 6, 393 (1999).
15. Boas U., Heegaard P.: *Chem. Soc. Rev.* 33, 43 (2004).
16. Rudge S., Peterson C., Vessely C., Koda J., Stevens S. L.: *Catterall J. Control. Release* 74, 335 (2001).
17. Gordon N., Sagman U.: *Nanomedicine Taxonomy Canadian NanoBusiness Alliance 2003*, 1.
18. Tosheva L., Valtchev V. P.: *Chem. Mater.* 17, 2494 (2005).
19. Alam H. B., Burris D., DaCorta J. A.: *Military Medicine* 170, 63 (2005).
20. Robert A., Freitas J. D.: *Nanomedicine 1*, 2 (2005).

V. Král^{a,b}, J. Šotola^b, P. Neuwirth^b, Z. Kejík^a, K. Záruba^a, and P. Martásek^c (^a*Institute of Chemical Technology, Prague*, ^b*Zentiva Co., Prague*, ^c*1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague*): **Nanomedicine – Current Status and Perspectives: A Big Potential or Just a Catchword?**

In this paper the current situation in the field of nanotechnology is reviewed. Conceivable participation of nanotechnologies in an effort to solve many problems of the contemporary medicine is outlined. The potential of these new technologies in medicine and pharmacy is demonstrated on several diagnostic (intracellular analysis) and therapeutic applications (target drug delivery).

CÍLENÉ POLYMERNÍ NOSIČE LÉČIV V TERAPII NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

MARTIN HRUBÝ^{a*}, JAN KUČKA^b,
JÁN KOZEMPEL^b a ONDŘEJ LEBEDA^c

^a Ústav makromolekulární chemie, Akademie věd České republiky, Heyrovského nám. 6, 162 06 Praha 6, ^b Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Hlavova 2030, 128 43 Praha, ^c Ústav jaderné fyziky, Akademie věd České republiky, 250 68 Řež u Prahy
mhruby@centrum.cz

Došlo 15.6.05, přijato 30.7.05.

Klíčová slova: kancerostatika, polymerní nosič, nádorová tkáň, EPR efekt, cílená doprava, řízené uvolňování

Obsah

1. Úvod
2. Cílení účinku lokální aplikací
3. Cílení účinku léčiva fyzikální aktivací zvnějšku organismu
4. Cílení založené na morfoloické, případně obecně fyziologické specifitě nádorové tkáně
5. Cílení buněčně specifickým ligandem
6. Selektivní enzymatická aktivace léčiva v nádorové tkáni
7. Cílení specifickými přenašeči živin a vitamínů akumulujících se ve zvýšené míře v nádoru
8. Pretargeting
9. Závěr

1. Úvod

Nosiče léčiv jsou v současnosti stále více studovány v kontextu vývoje nových terapeutických systémů pro léčbu mnoha typů onemocnění. Tyto nosiče by měly především umožnit prodlouženou cirkulaci účinných látek v krevním řečišti, řízenou aktivaci a účinek selektivně zaměřený na cílovou tkáň, soubor buněk (např. nádor), jednotlivou buňku nebo dokonce i jen buněčné kompart-

menty. Tím lze omezit nežádoucí účinky terapie, zajistit rozpustnost ve vodě nerozpustných aktivních sloučenin, potlačit rezistenci cílové tkáně k léčivu aj. Byla vyvinuta celá řada typů nosičů, založených na rozpustných polymezech, liposomech, nanočásticích a polymerních micelách.

Největší pozornost se zaměřuje na vývoj nosičů kancerostatik a to především z důvodů vysoké společenské závažnosti nádorových onemocnění, která je dána jejich častým výskytem, dodnes mnohdy málo účinnou léčbou a s tím spojenou vysokou úmrtností. Dnes užívaná protinádorová léčiva jsou totiž nedostatečně selektivní pro nádorovou tkáň, což se projevuje výraznými nežádoucími vedlejšími účinky. Ty omezují účinnou léčbu mnoha typů nádorových onemocnění, protože dávky cytotoxického léčiva potřebné pro dosažení úplného terapeutického účinku jsou příliš vysoké. Tento referát je zaměřen na výsledky dosavadního studia použití polymerních nosičových systémů pro cílený transport a aktivaci léčiv v terapii nádorových onemocnění. Na tomto místě je třeba zdůraznit, že přes intenzivní výzkum prováděný v posledních letech a zcela jasný trend vývoje nových léčiv tímto směrem je naprostá většina těchto systémů ve stadiu laboratorních, předklinických a klinických zkoušek. Konkrétních léčiv schválených pro použití v humánní medicíně je jen několik.

2. Cílení účinku lokální aplikací

Jde o nejjednodušší způsob cílení účinku léčiva, kdy je účinná látka navázaná na polymerní nosič aplikována přímo na místo určení. Polymerní nosič zajistí setrvání léčiva na místě aplikace a jeho řízené uvolňování. Z hlediska léčby nádorových onemocnění jsou z tohoto pohledu studovány zejména gely¹ a implantáty² určené k chirurgické implantaci po vyjmutí většiny té nádorové tkáně, která je operabilní, dále pak intratumorální injekce³ a případně intraperitoneálně aplikované systémy proti nádorům diseminovaným v dutině břišní⁴.

Tento postup lze však použít jen u lokalizovaných nádorů, kde má jisté výhody, zejména určitou spolehlivost. Naopak nevýhodou je, že nelze zabránit úniku cytotoxického léčiva z nádoru do zdravé tkáně a že tento způsob mnohdy nelze užít z důvodů anatomického umístění nádoru a obecně u metastáz, kterých může být po těle mnoho. Navíc je nutná speciální, mnohdy chirurgická aplikace systému.

* Poznámka redakce: Autor článku je pracovníkem Oddělení biolékařských polymerů Ústavu makromolekulární chemie AV ČR. Vedoucím tohoto oddělení a zároveň ředitelem ústavu je prof. Ing. Karel Ulbrich, DrSc., který v letošním roce získal jednu z národních cen Česká hlava za výsledky dosažené v oboru velmi blízkém tématu tohoto příspěvku.

3. Cílení účinku léčiva fyzikální aktivací zvnějšku organismu

Aktivace účinku fyzikálním působením zvnějšku organismu je přístupem, který kombinuje parenterální aplikaci léčiva na nosiči s dodatečným vnějším fyzikálním podnětem. Tím lze užít dvojího cílení – jednak zacílit vlastní nosič, např. ligandem (viz dále), jednak lokalizovat samotné aktivující pole, čímž se selektivita násobí.

Jeden způsob je založen na uvolnění fyzikálně (hydrofóbními interakcemi) vázaného léčiva z polymerní micely⁵ ultrazvukem. Nevýhodou je to, že ultrazvuk zrychluje uvolňování léčiva z micely jen málo a že je nutné použít výkonný ultrazvukový svazek, který už sám může mechanicky poškodit okolní tkáň.

Cílení vnějším magnetickým polem představuje v současné době intenzivně studovanou problematiku⁶. Ve většině studií je do krevního oběhu aplikováno léčivo na superparamagnetické částici (např. ferrofluidu) a k místu, kam je třeba zacílit účinek, je zvnějšku přiložen silný magnet. Aplikace je limitována na nádorová onemocnění blízko povrchu těla⁷ nebo na místa, kam lze magnet přiložit. Další omezení plyne z toho, že používané materiály nejsou biodegradovatelné. Výhodou je naopak možnost vytvořit lokální hypertermii v nádoru vysokofrekvenčním vnějším magnetickým polem a tím docílit případného zvýšení účinku.

Další způsob je založen na termosenzitivním chování speciálního polymerního nosiče, aktivovaného lokálním zvýšením teploty v nádorové tkáni vnějším zahřátím. Je-li v krevním oběhu přítomen nosič léčiva, který je při teplotě lidského těla v krevní plazmě rozpustný, ale za zvýšené teploty se sráží, lze jej v takto přehřáté tkáni zkoncentrovat. Ze systémů, které jsou ve vodném prostředí rozpustné při laboratorní teplotě, ale mají dolní kritickou rozpouštěcí

teplotu (LCST), nad kterou už jsou nerozpustné (viz obr. 1), jsou studovány především „elastin-like“ peptidové systémy, polyethylenoxid-*block*-polypropylenoxid-*block*-polyethylenoxid a kopolymery *N*-isopropylakrylamidu, *N*-isopropylmethakrylamidu a *N,N*-diethylakrylamidu⁸. Termosenzitivního chování lze využít jak v případě rozpustných systémů, tak i termosenzitivních liposomů, gelů a micel. Společnou nevýhodou termosenzitivních systémů je fakt, že praktickou limitou lokální hypertermie je teplota cca 42–43 °C, což je jen o 5–6 °C více než je normální teplota lidského těla. Vzhledem k tomu, že teplota separace fází termosenzitivních polymerů je silně závislá na koncentraci a u kopolymerů navíc značně závislá na obsahu skupin s jinou polaritou, než mají majoritní monomerní jednotky odpovědné za termosenzitivní chování (separace fází je založena na hydrofóbní interakci, která nad určitou teplotou již nemůže být kompenzována solvatací polárních skupin), nelze zaručit kompletní vysrážení v cílové tkáni⁹.

Cílení neutronovým svazkem je založeno na jaderné reakci: z biologicky relativně neškodného proudu zpomalených epitermálních neutronů vzniká ve tkáni s dostatečnou koncentrací vhodného stabilního nuklidu sekundární ionizující záření, které má mnohem intenzivnější biologické účinky. Využívá se zde tedy opět duálního cílení, kde se nosič vhodného nuklidu zkoncentruje jiným mechanismem¹⁰ v nádorové tkáni; pak je pacient ozářen úzkým proudem epitermálních neutronů kolimovaným na tuto nádorovou tkáň, čímž se násobí selektivita. Nejvíce se z tohoto typu terapií prosadila borová terapie zachycovaných neutronů (boron neutron capture therapy; BNCT), využívající tvorby biologicky vysoce účinného α záření z ^{10}B epitermálními neutrony. Nevýhodou tohoto přístupu je – kvůli relativně nízkému účinnému průřezu ^{10}B vůči reakci s neutrony – především nutnost dosáhnout vysokých koncentrací ^{10}B v cílové tkáni, aby byl proces dostatečně efektivní a konkurenční reakce s uhlíkem, vodíkem a sodíkem ve tkáních byly potlačeny. Je tedy potřeba podat injekčně až desítky gramů bórem ^{10}B obohacené látky¹⁰. To klade často nesplnitelné požadavky na nosič léčiva, zejména je-li využito cílení ligandem, které je saturovatelné a závislé na koncentraci receptoru na povrchu buněk cílové tkáně. Další nevýhodou je konkurenční přeměna sodíku ^{23}Na (izotopické zastoupení nuklidu ^{23}Na v přírodním Na je 100 %) v sodných solích v krvi a tkáních na radioaktivní ^{24}Na (β^- zářič, $T_{1/2} = 14,96$ h), která způsobuje, že pacient je zatížen indukovanou radioaktivitou ještě řadu hodin po ozáření.

Fotodynamická terapie¹¹ je založena na aplikaci makrocyclů, především derivátů porfyriu a ftalocyaninu, schopných po ozáření viditelným světlem aktivovat kyslík ve tkáních na kyslík v singletovém stavu. Singletový kyslík, který je velmi reaktivní, působí cytotoxicky (poškozuje zejména DNA). Příslušná fotosenzibilizující látka, citlivá k viditelnému záření, je aplikována do krevního oběhu; po určité době, kdy dojde k jejímu uložení do nádorové tkáně, je světlovodným vláknem k nádoru přivedeno aktivující světelné záření. Vznikající singletový kyslík pak poškodí ozařovanou tkáň. Nevýhod této metody je



Obr. 1. Příklad fázové separace termosenzitivního polymeru; v obou zkumavkách je roztok poly(*N*-isopropylakrylamidu) ($0,5 \text{ mg ml}^{-1}$) ve vodném chloridu sodném ($0,15 \text{ mol l}^{-1}$), levá lázeň má teplotu místnosti ($23 \text{ }^\circ\text{C}$), pravá lázeň má teplotu lidského těla ($37 \text{ }^\circ\text{C}$)

několik. Především, což bylo nejkritičtější zejména u prvních generací fotosenzibilizátorů, se tyto látky ukládají i v kůži s poměrně dlouhým poločasem vylučování, takže pacient musel zůstat ve tmě nebo silném šeru až řadu dní, aby neriskoval popáleniny slunečním světlem. Dále je nutné zavést světlovod přímo k nádoru, což přináší podobné problémy jako lokální aplikace (viz výše). Další nevýhodou je, že nedostatečně prosvětlené okrajové části nádoru, které bývají proliferace nejaktivnější, jsou nedostatečně inhibovány a mnohdy je tam proliferace buněk hormonálním efektem dokonce stimulována. Velmi závažným omezením této metody je také to, že nádorová tkáň je velmi často hypoxická. Nedostatek volného kyslíku jako reaktantu pro vznik singletového kyslíku pak logicky způsobí nedostatečnou tvorbu singletového kyslíku.

4. Cílení založené na morfologické, případně obecně fyziologické specifitě nádorové tkáně

Nově vzniklá nádorová tkáň má řadu morfologických specifík, na kterých lze založit cílení nosičů léčiv. Především jde o mnohem větší prostupnost cévního systému nádorové tkáně pro velké molekuly (fenestrace), což spolu s nedostatečným nebo často i úplně chybějícím odtokem lymfy způsobuje hromadění velkých molekul v nádorové tkáni (tzv. „Enhanced Permeation and Retention“ (EPR) efekt¹²). Proto se makromolekuly o velké relativní molekulové hmotnosti, micely, nanočástice a liposomy hromadí v nádorové tkáni, často s více než dvacetinásobnou selektivitou oproti normální tkáni¹³. Vzhledem k charakteru interakce je toto cílení označováno jako pasivní a je hojně využíváno při návrhu struktur různých nosičových systémů pro protinádorová léčiva^{13–19}. Dostatečně velké částice lze cílit i do tkání, které mají zúžený průsvit krevních kapilár (embolizace²⁰), zejména jsou-li aplikovány do arterie vyživující příslušný orgán, jako např. částice TheraSphereTM. EPR efekt je dosti univerzální pro mnoho pevných nádorů, ale např. pro radiofarmaka s velmi krátkým poločasem rozpadu je příliš pomalý (k akumulaci dochází v řádu hodin až dnů). Navíc EPR efekt cílí do intersticiálního prostoru tkáně, nikoliv dovnitř buněk²¹. Proto je výhodné EPR efekt kombinovat s cílením ligandem, pH-řízeným uvolňováním apod.²²

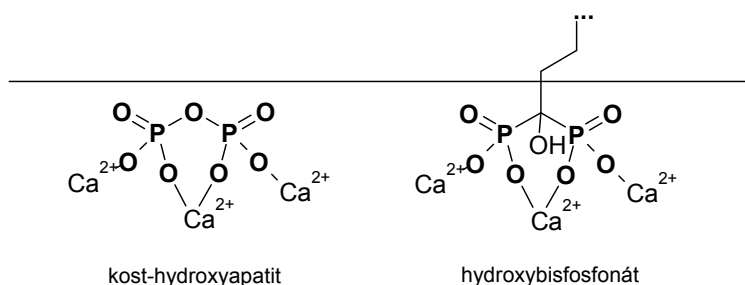
Nádorová tkáň je, díky intenzivnímu metabolismu a relativnímu nedostatku kyslíku, poměrně kyselá (pH 5–6) ve srovnání s krevní plazmou (pH 7,4) (cit.²³). Lze tedy využít systémů, které uvolní léčivo při snížení pH z neutrální do mírně kyselé oblasti. Toho lze dosáhnout např. štěpením acidolabilní hydrazonové nebo *cis*-akonitylové spojky mezi léčivem a polymerem, užitím liposomálních lékových forem, kde se liposom rozpadne v kyselém prostředí, hydrofóbní vazbou léčiva charakteru slabě hydrofóbní báze do jádra polymerní micely, případně použitím polymerní micely disociovatelné či degradovatelné v kyselém prostředí^{8,24}.

5. Cílení buněčně specifickým ligandem

Mnoho typů nádorových buněk hyperexprimuje na svém povrchu receptory pro ligandy nebo antigeny normálně přítomné v organismu v malé míře, často mnohonásobně oproti normální tkáni, nebo dokonce receptory a antigeny v normální tkáni nepřítomné. Jestliže je k nosiči léčiva připojen příslušný ligand komplementární k takovému receptoru nebo protilátka proti takovému antigenu, pak může dojít ke specifické interakci takového nosiče léčiva s nádorovými buňkami a v důsledku toho k jeho akumulaci v nádorové tkáni. Je-li navíc receptor – po vazbě ligandu – schopen endocytózy, může takový ligand zprostředkovat i endocytózu celého systému. Cílení ligandem může být velmi specifické, ligand však musí být kovalentně navázan na nosič přes spojku („spacer“), která nebrání vazbě na receptor. Receptor také musí být přítomen v kompartmentu dostupném pro nosič. Hlavní nevýhody a omezení cílení ligandem vyplývají z různých fází vývoje nádorové buňky, ve kterých buňka nemusí exprimovat příslušný receptor či antigen, a ze saturovatelnosti a pomalé obnovy dostupných receptorů a antigenů v případě vyšších dávek směřovaného léčiva. Problémem může být i snížení koncentrace receptorů pro daný ligand v cílové tkáni vlivem zpětné vazby jako reakce buňky na nadbytek tohoto ligandu („downregulation“), u nádorových onemocnění v pozdějších stádiích nádorových onemocnění i diferenciaci nádorové tkáně na imunologicky a biochemicky nehomogenní populace a následná selekce rezistentních populací vlivem cíleného léčiva. Podstatným faktorem může rovněž být fenotypová variabilita nádorových onemocnění, takže je obtížné najít ligand, který by byl alespoň částečně univerzální pro určitou skupinu nádorových onemocnění. Řada struktur, hyperexprimovaných v nádorové tkáni a užívaných ke studiu možnosti cílení (např. folátový receptor, viz dále), je v určité, byť menší míře přítomna i v jiných tkáních, které pak mohou být cytostatikem také zasaženy.

Ke studiu cílení léčiv do jater je využívána laktosa, galaktosa nebo galaktosamin (parenchymatické jaterní buňky), resp. trinitrofenylová skupina (neparenchymatické jaterní buňky)^{25–27}. Retikuloendotelový systém (RES; játra, slezina, lymfatické uzliny, makrofágy) rovněž zachytává látky s obecně málo biokompatibilní strukturou²⁸. Toho se dá využít i pro radiodiagnostiku RES. Mohlo by jít i o užitečný nástroj pro adjuvantní chemoterapii po operativním odstranění nádorové tkáně pro potlačení tvorby metastáz přes lymfatický systém²⁹.

Tvorba protilátek představuje jednu z velmi selektivních specifických obran lidského těla proti cizorodým strukturám. Možnost použití protilátek jako cílicích skupin proti nádorovým antigenům byla studována pro liposomy (tzv. imunoliposomy³⁰), micely (tzv. imunomicely^{18,31}) a další nosičové systémy^{32,33}. Nevýhody protilátek spočívají v jejich vysoké ceně, vysoké citlivosti ke ztrátě jejich vazebné aktivity vlivem chemických modifikací a tím i obtížné reprodukovatelnosti aktivity připravených preparátů, obtížném a finančně náročném čištění od ostatních



Obr. 2. Mechanismus vazby hydroxybisfosfonátů na hydroxyapatit

bílkočin ze zdrojového biologického systému, obtížné dosažitelné neinfekčnosti zejména u preparátů vyrobených z krve, pomalé kinetice vychytávání, silných nespecifických interakcích protilátek s tkáněmi, do nichž nejsou cílené, nutnosti použít protilátku téhož živočišného druhu kvůli imunogenicitě, ale i v problémech s internalizací do buněk³⁴. Vysoká relativní molekulová hmotnost imunoglobulinů (cca 150 000) sice zvyšuje EPR efekt, ale snižuje dosažitelnou transportní kapacitu pro léčivo. Proto jsou často studovány i Fab fragmenty protilátek, které jsou odpovědné za vazebnou aktivitu protilátky a mají nižší relativní molekulovou hmotnost³⁵.

Idea cílení laktiny, tj. oligomerními rostlinnými bílkoviny schopnými selektivně vázat sacharidové struktury, je založena na odlišné glykosylaci membrán nádorových buněk a tím i vyšší afinitě mnoha laktinů k nádorové tkáni oproti normální tkáni^{36–38}. Navíc řada laktinů je sama silně cytotoxických (např. viskotoxin, ricin) inhibicí proteosyntézy. Nevýhody cílení laktiny plynou především z toho, že jde o rostlinné, tělu cizí a tudíž imunogenní bílkoviny. Podjednotky funkční oligomerní struktury jsou navíc vázány poměrně slabě nekovalentně, takže mají tendenci k reverzibilní deagregaci, nehledě na fakt, že konstanta stability vazby sacharidů na laktiny je poměrně nízká na efektivní cílení.

Proliferace tkáni je podmíněna růstovými faktory a řada nádorů hyperexprimuje receptory pro tyto faktory, což představuje další možnou strategii pro cílení nosičů léčiv^{36,39}. Nevýhodou růstových faktorů jako směřujících jednotek je, kromě poměrně malé transportní kapacity, zejména silné zpětnovazebné potlačení exprese receptoru vlivem nadbytku ligandu v cílové tkáni⁴⁰.

Nově vytvořená nádorová vaskulatura obsahuje ve zvýšené míře integriny, které specificky vážou RGD (Arg-Gly-Asp) peptid a jeho analoga, na čemž je založen design polymerních nosičů pro cílení na nádorovou vaskulaturu^{41–43}. Expresi integrinu vázajícího RGD peptid v nádorové tkáni lze dále významně zvýšit ozářením této tkáně ionizujícím zářením, což představuje možnost dalšího zlepšení selektivity cílení pomocí RGD kombinací s radioterapií^{44,45} (synergický efekt). V poslední době se pro vyhledávání potenciálních peptidických ligandů pro (nejen) nádorovou tkán ve velké míře využívá kombinatoriální přístup – metoda „phage display“⁴⁶.

Kostní tkán, ve své podstatě přírodní orientovaný kompozit s mechanickou funkcí, je v těle ojedinělá díky přítomnosti vyztužující anorganické matrice hydroxyapatitu. Tento fosfátový vápenatý minerál, díky příhodné krystalové struktuře, silně váže hydroxybisfosfonáty, které se chovají jako strukturní analoga difosfátu (viz obr. 2) normálně přítomného ve struktuře hydroxyapatitu^{47,48}. Hydroxybisfosfonáty a jejich kovové komplexy se po podání do organismu silně a velmi rychle hromadí v kostech⁴⁹ a inhibují odbourávání kostní hmoty, čehož se využívá terapeuticky pro paliaci kostních metastáz, léčbu osteoporózy a Pagetovy choroby i diagnosticky pro scintigrafii kostí, zejména pro radiodiagnostiku kostních metastáz⁴⁸. Byl proto navržen modelový nosič léčiv pro kostní cílení^{50–52}.

Biokompatibilní polysacharid hyaluronan je rovněž využíván ke konstrukci slibných nosičových systémů pro léčiva cílená do nádorové tkáně, protože má afinitu k receptoru CD 44, hyperexprimovanému v řadě nádorových tkání⁵³. Nevýhodou hyaluronanu je nutnost jeho izolace z biologického materiálu obdobně jako u protilátek.

I řada enzymů vázaných na membrány je ve zvýšené míře exprimována v nádorové tkáni, což představuje další trend cílení do nádorové tkáně pomocí inhibitorů těchto enzymů jako cílicích ligandů. Především jde o karboxypeptidasu II (cit.⁵⁴) a isoenzym *onco*-APasu (*onco*-APasa je alkalická fosfatasa hyperexprimovaná v řadě mozkových nádorů, jejímiž ligandy jsou deriváty 1,4-dihydro-naftochinon difosfátu⁵⁵).

6. Selektivní enzymatická aktivace léčiva v nádorové tkáni

Selektivní účinek léčiva vázaného na polymerní konjugát lze cílit i tím, že k uvolnění aktivní látky enzymaticky štěpitelnou spojkou dojde selektivně především v nádorové tkáni díky zvýšené aktivitě příslušného enzymu v této tkáni. S výhodou lze tento přístup kombinovat s jinými technikami cílení. Nejčastěji je studováno cílení založené na oligopeptidických spojkách štěpených nádorově specifickými metaloproteasami⁵⁶. Z enzymaticky štěpitelných spojek jsou dále studovány oligopeptidy hydrolyzovatelné endosomálními enzymy (např. sekvence Gly-Phe-Leu-Gly, cit.^{57,58}); tyto enzymy však nejsou nádorově

specifické, a proto lze tuto aktivaci použít pouze v kombinaci s jiným cílením celého systému. Selektivní metabolická aktivace je dnes intenzivně zkoumána a v řadě případů již i v praxi využívána pro nízkomolekulární léčiva („prodrug“ strategie), což přesahuje rámec tohoto referátu.

7. Cílení specifickými přenašeči živin a vitamínů ve zvýšené míře vychytávanými nádorem

Nádor je tkáň, která se rychle dělí a rychle roste, a proto spotřebovává mnoho organických i minerálních živin a vitamínů, více než nedělící se tkáň. Je tedy přirozené, že ve zvýšené míře také akumuluje tyto živiny, případně jejich přenašeče, což lze využít pro cílení nosičů léčiv.

Železo je v organismu transportováno v podobě bílkoviny transferrinu. Bylo zjištěno, že transferrin je účinným nástrojem cílení různých nosičů léčiv do nádorové tkáně⁵⁹, jeho hlavní nevýhodou však je nutnost jeho izolace z lidské plazmy.

Jedním z vitamínů je kyselina listová. Bylo zjištěno, že receptory zprostředkovávající příjem solí kyseliny listové (folátů) jsou silně hyperexprimovány v mnoha typech nádorů. Folát je proto dodnes velmi studovaným cílicím ligandem^{60,61}. Stal se i modelovou látkou řady studií na cílení obecně, např. při řešení otázky, kolik molekul folátu stačí na cílení jednoho liposomu, jak hustota cílicích skupin na povrchu liposomu ovlivní selektivitu⁶² nebo jak způsob vazby folátu na nosič (který z jeho dvou karboxylů je využit pro vazbu) ovlivní jeho cílicí schopnost⁶³. Folát se zprvu zdál ideální cílicí skupinou, stále více autorů však poukazuje na jeho malou selektivitu pro nádorovou tkáň díky tomu, že jde o přirozený vitamin⁶⁴. Antagonisté kyseliny listové (antifolika, např. methotrexát nebo modernější raltitrexát) jsou nicméně často užívanými a účinnými cancerostatiky, protože tento vitamin je nezbytný pro biosyntézu bázi nukleových kyselin a tím i pro buněčné dělení.

8. Pretargeting

Když bylo zjištěno, že rychlost vychytávání řady zejména bílkovinných ligandů, jako jsou protilátky, v nádorové tkáni je malá, začaly být vyvíjeny metody, jak odstranit tuto, zejména z hlediska imunoradioterapie, velmi podstatnou nevýhodu pomocí tzv. „pretargetingu“. „Pretargeting“ je založen na rozdělení cílení do dvou kroků. Nejprve se do cílové tkáně vnese selektivní, ale pomalu cílicí skupinou sám o sobě neškodný receptor, na který existuje cílení s podstatně rychlejší kinetikou. Po určité době nutné k akumulaci v cílové tkáni se pak podá vlastní účinné léčivo cílené ligandem vhodným pro tento sekundárně vnesený receptor. Ze studovaných přístupů jde především o ADEPT („antibody directed enzyme prodrug therapy“, cit.⁶⁵), GDEPT („gene directed enzyme prodrug therapy“, cit.⁶⁵), PTAPT („peptide transporter-associated

prodrug therapy“, cit.⁶⁵), LEAPT („lectin-directed enzyme-activated prodrug therapy“, cit.⁶⁶) a o pretargeting pomocí specifické interakce biotin-avidin nebo biotin-streptavidin²⁵. V případě GDEPT je do cílové tkáně nejprve vnesen gen pro enzym, který není obsažen v normální tkáni a který je schopen štěpit vazbu v nízkomolekulárním proléčivu („prodrug“, viz výše), neštěpitelnou jakýmkoliv jiným enzymem v organismu. Proléčivo, samo o sobě neúčinné, se tedy aktivuje pouze v cílové tkáni jako u „prodrug“ strategie. ADEPT, LEAPT a PTAPT využívají cílení ligandem (ADEPT protilátkou, LEAPT lektinem a PTAPT peptidem), kterým je do cílové tkáně vnesen enzym pro strategii „prodrug“. Pretargeting prováděný pomocí velmi rychlé a specifické interakce biotin-avidin nebo biotin-streptavidin představuje vnesení bílkoviny avidinu, resp. streptavidinu do cílové tkáně vhodným cílicím ligandem. Pak je aplikován konjugát biotinu s příslušným léčivem, který je vychytán v příslušné tkáni na avidinu, resp. streptavidinu. Nevýhodou pretargetingu je značná složitost těchto systémů, ze které plyne jejich vysoká cena, obtížná reprodukovatelnost přípravy a těžko předvídatelný, nespolehlivý účinek. Kromě toho „pretargeting“ využívá bílkoviny, což s sebou nese nevýhody uvedené u cílení protilátkami (viz výše).

9. Závěr

Tento článek je přehledem různých typů polymerních nosičů pro cílený transport a aktivaci léčiv v terapii nádorových onemocnění, jejich výhod i nevýhod. Polymerní nosiče v současnosti představují intenzivně studovaný přístup v designu protinádorových léčiv. O nadějnosti této problematiky svědčí i to, že některé pasivně cílené systémy se už dostaly do klinické praxe (např. TheraSphereTM, CaelyxTM nebo Cremophor ELTM) a řada systémů je ve fázi klinických zkoušek.

Vypracováno s finanční podporou Grantové agentury Akademie věd České republiky, grant č. B 4050408.

LITERATURA

1. Štastný M., Plocová D., Etrych T., Kovář M., Ulbrich K., Říhová B.: *J. Controlled Release* 81, 101 (2002).
2. Fung L. K., Saltzman W. M.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 26, 209 (1997).
3. Goldberg E. P., Hadba A. R., Almond B. A., Marotta J. S.: *J. Pharm. Pharmacol.* 54, 159 (2002).
4. Bredow J., Kretzschmar M., Wunderlich G., Dorr W., Pohl T., Franke W. G., Kotzerke J.: *Nuklearmedizin* 2004, 2.
5. Husseini G. A., Myrup G. D., Pitt W. G., Christensen D. A., Rapoport N. A. Y.: *J. Controlled Release* 69, 43 (2000).
6. Hafeli U. O.: *Int. J. Pharm.* 277, 19 (2004).

7. Jain K. K.: *Drug Delivery in Cancer: Technologies and Commercial Opportunities*. Decision Resources, Inc., Waltham 2000.
8. Gil E. S., Hudson S. A.: *Prog. Polym. Sci.* 29, 1173 (2004).
9. Chytrý V., Ulbrich K.: *J. Bioactiv. Compat. Polym.* 16, 427 (2001).
10. Mehta S. C., Lu D. R.: *Pharm. Res.* 13, 344 (1996).
11. Hirth A., Michelsen U., Wohrle D.: *Chem. Unserer Zeit* 33, 84 (1999).
12. Kataoka K., Harada A., Nagasaki Y.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 47, 113 (2001).
13. Nishiyama N., Okazaki S., Cabral H., Miyamoto M., Kato Y., Sugiyama Y., Nishio K., Matsumura Y., Kataoka K.: *Cancer Res.* 63, 8977 (2003).
14. Fonseca C., Simoes S., Gaspar R. E.: *J. Controlled Release* 83, 273 (2002).
15. Hoste K., De Winne K., Schacht E.: *Int. J. Pharm.* 277, 119 (2004).
16. Kopeček J., Kopečková P., Minko T., Lu Z. R., Peterson C. M.: *J. Controlled Release* 74, 147 (2001).
17. Nishiyama N., Kataoka K.: *J. Controlled Release* 74, 83 (2001).
18. Torchilin V. P.: *Cell. Mol. Life Sci.* 61, 2549 (2004).
19. Yokoyama M., Okano T., Sakurai Y., Fukushima S., Okamoto K., Kataoka K.: *J. Drug Targeting* 7, 171 (1999).
20. Kato T., Sato K., Sasaki R., Kakinuma H., Moriyama M.: *Cancer Chemother. Pharmacol.* 37, 289 (1996).
21. Kostarelos K., Emfietzoglou D., Papakostas A., Yang W. H., Ballangrud A., Sgouros G.: *Int. J. Cancer* 112, 713 (2004).
22. Park J. W., Hong K., Kirpotin D. B., Meyer O., Papahadjopoulos D., Benz C. C.: *Cancer Lett.* 118, 153 (1997).
23. Ulbrich K., Šubr V.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 56, 1023 (2004).
24. Gillies E. R., Frechet J. M. J.: *Pure Appl. Chem.* 76, 1295 (2004).
25. Chen L., Schechter B., Arnon R., Wilchek M.: *Drug Dev. Res.* 50, 258 (2000).
26. Seymour L. W., Ulbrich K., Wedge S. R., Hume I. C., Strohalm J., Duncan R.: *Br. J. Cancer* 63, 859 (1991).
27. Zern M. A., Kresina T. F.: *Hepatology* 25, 484 (1997).
28. Gaur U., Sahoo S. K., De T. K., Ghosh P. C., Maitra A., Ghosh P. K.: *Int. J. Pharm.* 202, 1 (2000).
29. Averbach A. M., Jacquet P., Sugarbaker P. H.: *GI Cancer* 1, 239 (1996).
30. Mastrobattista E., Koning G. A., Storm G.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 40, 103 (1999).
31. Torchilin V. P., Lukyanov A. N., Gao Z. G., Papahadjopoulos-Sternberg B.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 6039 (2003).
32. Říhová B.: *Drugs Future* 28, 1189 (2003).
33. Seymour L. W., Flanagan P. A., Alshamkhani A., Šubr V., Ulbrich K., Cassidy J., Duncan R.: *Sel. Cancer Ther.* 7, 59 (1991).
34. Carrion C., de Madariaga M. A., Domingo J. C.: *Life Sci.* 75, 313 (2004).
35. Říhová B., Jelínková M., Strohalm J., Šubr V., Plocová D., Hovorka O., Novák M., Plundrová D., Germano Y., Ulbrich K.: *J. Controlled Release* 64, 241 (2000).
36. Gabius S., Kayser K., Bovin N. V., Yamazaki N., Kojima S., Kaltner H., Gabius H. J.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 42, 250 (1996).
37. Minko T.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 56, 491 (2004).
38. Wroblewski S., Kopečková P., Říhová B., Kopeček J.: *Macromol. Chem. Phys.* 199, 2601 (1998).
39. Kullberg E. B., Bergstrand N., Carlsson J., Edwards K., Johnsson M., Sjöberg S., Gedda L.: *Bioconjugate Chem.* 13, 737 (2002).
40. Broxterman H. J., Lankelma J., Hoekman K.: *Drug Resist. Updat.* 6, 111 (2003).
41. Park J. H., Kwon S. G., Nam J. O., Park R. W., Chung H., Seo S. B., Kim I. S., Kwon I. C., Jeong S. Y.: *J. Controlled Release* 95, 579 (2004).
42. Zitzmann S., Ehemann V., Schwab M.: *Cancer Res.* 62, 5139 (2002).
43. Nasongkla N., Shuai X., Ai H., Weinberg B. D., Pink J., Boothman D. A., Gao J. M.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 43, 6323 (2004).
44. Hallahan D. E., Qu S. M., Geng L., Cmelak A., Chakravarthy, A., Martin W., Scarfone C., Giorgio T.: *Am. J. Clin. Oncol. Cancer Clin. Trials* 24, 473 (2001).
45. Hallahan D., Geng L., Qu S. M., Scarfone C., Giorgio T., Donnelly E., Gao X., Clanton J.: *Cancer Cell* 3, 63 (2003).
46. Shadidi M., Sioud M.: *FASEB J.* 2002, 16.
47. Fleisch H.: *Exp. Opin. Ther. Patents* 11, 1371 (2001).
48. Fleisch H.: *Breast Cancer Res.* 4, 30 (2002).
49. Shigematsu M., Shiomi S., Iwao H., Ochi H.: *Ann. Nucl. Med.* 16, 55 (2002).
50. Hirabayashi H., Takahashi T., Fujisaki J., Masunaga T., Sato S., Hiroi J., Tokunaga Y., Kimura S., Hata T.: *J. Controlled Release* 70, 183 (2001).
51. Hirabayashi H., Fujisaki J.: *Clin. Pharmacokinet.* 42, 1319 (2003).
52. Wang D., Miller S., Sima M., Kopečková P., Kopeček J.: *Bioconjugate Chem.* 14, 853 (2003).
53. Luo Y., Ziebell M. R., Prestwich G. D.: *Biomacromolecules* 1, 208 (2000).
54. Barinka C., Šácha P., Sklenář J., Man P., Bezouška K., Slusher B. S., Konvalinka J.: *Protein Sci.* 13, 1627 (2004).
55. Zalutsky M. R., Vaidyanathan G.: *Curr. Pharm. Design* 6, 1433 (2000).
56. Bae M., Cho S., Song J., Lee G. Y., Kim K., Yang J., Cho K., Kim S. Y., Byun Y.: *Drugs Exp. Clin. Res.* 29, 15 (2003).
57. Jelínková M., Strohalm J., Etrych T., Ulbrich K., Říhová B.: *Pharm. Res.* 20, 1558 (2003).
58. Kasuya Y., Lu Z. R., Kopečková P., Minko T., Tabibi S. E., Kopeček, J.: *J. Controlled Release* 74, 203 (2001).

59. Zijlstra J. M., Hoekstra O. S., Raijmakers P. G. H. M., Comans E. F. I., van der Hoeven J. J. M., Teule G. J. J., Jonkhoff A. R., von Tinteren H., Lammertsma A. A., Huijgens P. C.: *Br. J. Haematol.* 123, 454 (2003).
60. Leamon C. P., Low P. S.: *Drug Discov. Today* 6, 44 (2001).
61. Leamon C. P., Reddy J. A.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 56, 1127 (2004).
62. Saul J. M., Annapragada A., Natarajan J. V., Bellamkonda R. V.: *J. Controlled Release* 92, 49 (2003).
63. Reddy J. A., Low P. S.: *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 15, 587 (1998).
64. Gabizon A., Horowitz A. T., Goren D., Tzemach D., Shmeeda H., Zalipsky S.: *Clin. Cancer Res.* 9, 6551 (2003).
65. Han H. K., Amidon G. L.: *AAPS PharmSci* 2000, 2.
66. Robinson M. A., Charlton S. T., Garnier P., Wang X. T., Davis S. S., Perkins A. C., Frier M., Duncan R.,

Savage T. J., Wyatt D. A., Watson S. A., Davis B. G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 14527 (2004).

M. Hrubý^a, J. Kučka^b, J. Kozempel^b, and O. Lebeda^c (^a *Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*, ^b *Department of Organic and Nuclear Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*, ^c *Nuclear Physics Institute, Academy of Sciences of the Czech Republic, Řež at Prague*): **Targeted Polymeric Drug Carriers in the Therapy of Tumor Diseases**

This review deals with the scope and limitations of targeted delivery of anticancer drugs using polymeric drug delivery systems. Currently studied targeting strategies are considered.



Katedra analytické chemie PŘF
Univerzity Palackého v Olomouci
ve spolupráci
s Českou společností chemickou
a firmou Merck, s.r.o. Praha



pořádá ve dnech

30. - 31. ledna 2006

SOUTĚŽ MLADÝCH ANALYTICKÝCH CHEMIKŮ “o cenu firmy Merck”

Vážené kolegyně a kolegové,

dovolujeme si Vás pozvat na 9. ročník soutěže o nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytická chemie, která se uskuteční ve dnech **30. a 31. ledna 2006** na půdě katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

Veškeré informace o soutěži naleznete na:

<http://ach.upol.cz/soutez>

Juraj Ševčík a Jan Petr za organizační výbor

Česká společnost chemická a časopis Chemické listy děkují firmě Merck za její podporu.

ROLE PROTEINU CD36 JAKO VÝZNAMNÉHO RIZIKOVÉHO FAKTORU KARDIOVASKULÁRNÍCH ONEMOCNĚNÍ

KATEŘINA KONTROVÁ, JARMILA ZÍDKOVÁ,
PETRA PALEČKOVÁ a JIŘÍ SAJDOK

*Ústav Biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-
technologická, Technická 5, Praha 6
katerina.kontrova@vscht.cz*

Došlo 22.7.05, přijato 6.10.05.

Klíčová slova: membránový receptor, apoptóza, transport
mastných kyselin, insulinová rezistence, hypertenze, meta-
bolický syndrom

Obsah

1. Syndrom metabolické hypertenze
 - 1.1. Insulinová rezistence
 - 1.2. Esenciální hypertenze
 - 1.3. Asociace insulinové rezistence a hypertenze
2. Protein CD36
 - 2.1. Struktura
 - 2.2. Funkce a patofyziologie
 - 2.2.1. Rozpoznávání apoptických buněk
 - 2.2.2. Ateroskleróza
 - 2.2.3. Receptor pro trombospodin-1
 - 2.2.4. Transport mastných kyselin přes cytoplas-
matickou membránu
3. Závěr

1. Syndrom metabolické hypertenze

Statistické údaje Světové zdravotnické organizace řadí Českou republiku na jedno z předních míst v úmrtnosti na choroby srdce a cév, v roce 1995 byla úmrtnost mužů na čtvrtém a žen na osmém místě z 38 sledovaných zemí. Za jeden z hlavních rizikových faktorů mozkové mrtvice, infarktu myokardu a selhání ledvin je považován vysoký krevní tlak, který se tak významně podílí na zvýšené nemocnosti a úmrtnosti našeho obyvatelstva. V letech 1988 a 1992 byla v České republice uskutečněna populační vyšetření nejzávažnějších rizikových faktorů onemocnění srdce a cév a bylo zjištěno, že v průběhu těchto čtyř let se významně zvýšily průměrné hodnoty diastolického krevního tlaku¹.

Již několik let je známo, že se některá onemocnění podporující vznik závažných kardiovaskulárních chorob mohou u pacientů vyskytovat společně. Tento jev byl na-

zván jako „Syndrom metabolické hypertenze“ neboli „Syndrom X“. Jedná se o soubor poruch metabolismu sacharidů a lipidů zahrnující insulinovou rezistenci, dyslipidémii (zvýšení hladiny triglyceridů a snížení hladiny HDL cholesterolu v plazmě), esenciální hypertenzi (vysoký krevní tlak nevzniklý následkem jiné choroby), obezitu a některé další faktory, z nichž ani u jednoho není přesně známa jeho genetická podstata (Schéma 1).

1.1. Insulinová rezistence

Rezistence k insulinem stimulovanému transportu glukosy do tkání je běžný fenomén v patogenezi několika významných onemocnění zejména aterosklerózy a jejich komplikací. Insulinová rezistence je ovlivněna faktory genetickými, faktory prostředí a životním stylem každého jedince². V důsledku toho je zvýšená jak koncentrace glukosy v krvi, tak hladina insulinu (snaha o kompenzaci). Hyperinsulinémie negativně zasahuje do metabolických procesů a má zřejmě aterogenní účinky. K insulinové rezistenci přispívají rovněž nedostatek pohybu, kouření, psychický stres aj. Skutečnost, že velký počet pacientů s diabetem mellitus je rezistentní k insulinu, byla poprvé prokázána před 60 lety, kdy byli pacienti s cukrovkou rozděleni na insulin vnímavé a nevnímavé. Dnes se pro tyto dva typy diabetu používají termíny na insulinu závislý (IDDM; insulin dependent diabetes mellitus) a na insulinu nezávislý diabetes mellitus (NIDDM; non-insulin dependent diabetes mellitus). Insulinová rezistence se vyskytuje u pacientů s NIDDM, u pacientů s porušenou tolerancí ke glukóze (IGT; impaired glucose tolerance) a u přibližně 25 % neobézních jedinců s normální tolerancí ke glukóze³. Do dnešní doby bylo popsáno více než 50 mutací genu kódujícího insulinový receptor. Tyto mutace jsou velmi vzácné, dobře popsané a byly rozděleny do pěti typů podle etiologie⁴.

1.2. Esenciální hypertenze

Zvýšený krevní tlak se u lidí vyskytuje velmi často a může být způsoben mnoha poruchami. Je také příčinou celé řady vážných onemocnění jako jsou hypertrofie srdečního svalu, ateroskleróza, infarkt myokardu, trombózy mozkových cév nebo selhání ledvin⁶. V mnoha případech je u pacientů se zvýšeným krevním tlakem příčina hypertenze neznámá. Taková hypertenze se pak nazývá hypertenzí esenciální nebo primární.

Proměnlivost krevního tlaku je podmíněna řadou faktorů prostředí, demografickými faktory (ekonomickými podmínkami a celkovým způsobem života) a do značné míry i geneticky. Genetické studie ukázaly, že normální úroveň krevního tlaku je podmíněna mnoha geny malého účinku. Podobně je podmíněna i esenciální hypertenze. Relativně vzácné se u člověka vyskytují formy hypertenze podmíněné mutací jednoho genu velkého účinku, tzv. mo-

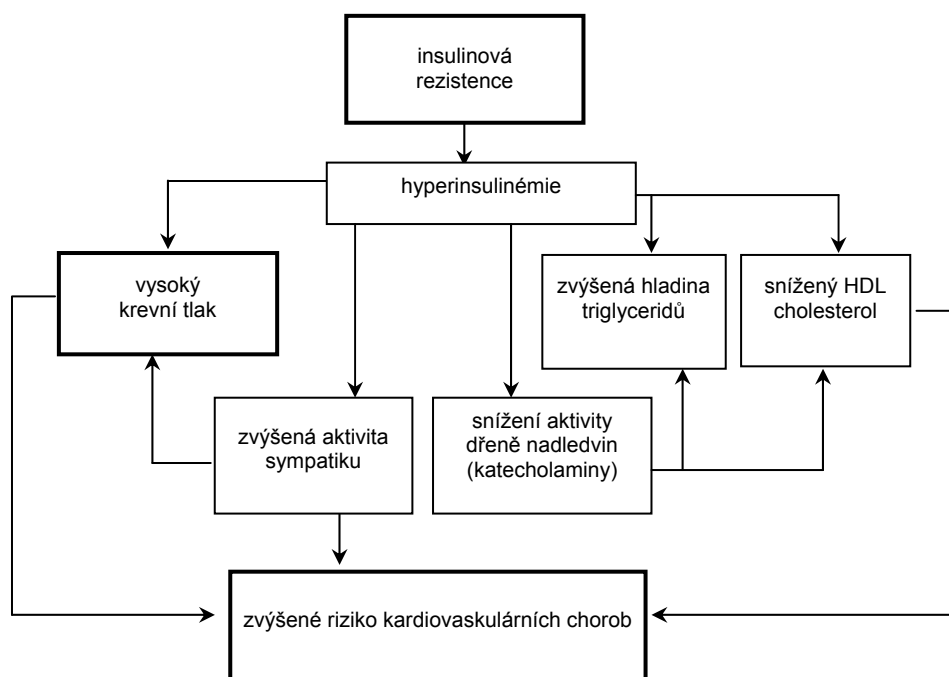


Schéma 1. Vztah mezi insulinovou rezistencí, vysokým krevním tlakem a zvýšeným rizikem kardiovaskulárních chorob⁵; sympatický nervový systém a dřeň nadledvin (adrenalin, noradrenalin) jsou pojičkem mezi hypertenzí a kardiovaskulárními chorobami

nogenně. U takovéto monogenní formy hypertenze mají všichni postižení jedinci výše zmíněnou mutaci a existuje tak dobře definovaný vztah mezi abnormálním genem a hypertenzí. Pro většinu nemocí (včetně esenciální hypertenze) však není takovýto vztah mezi genotypem a fenotypem zřejmý. Protože neexistuje přímý vztah mezi specifickými alelami a krevním tlakem, byla navržena hypotéza, že esenciální hypertenze je podmíněna spíše predisponujícími geny, které riziko vzniku hypertenze pouze zvyšují. Odhalení takových predisponujících genů je ovšem velmi obtížné. Studium zvířecích modelů pro esenciální hypertenzi prokázalo, že neveskerá variabilita v krevním tlaku populace pokusných zvířat je podmíněna společnými efekty mnoha genů malého účinku, ale že se uplatňují i efekty významnějších genů¹. To je povzbudivé, protože zřetelné fenotypové projevy genů jsou základní podmínkou pro jejich odhalení. Předpokládá se, že způsob, jakým genová výbava pokusných zvířat ovlivňuje krevní tlak, by mohl být srovnatelný i u lidí.

1.3. Asociace insulinové rezistence a hypertenze

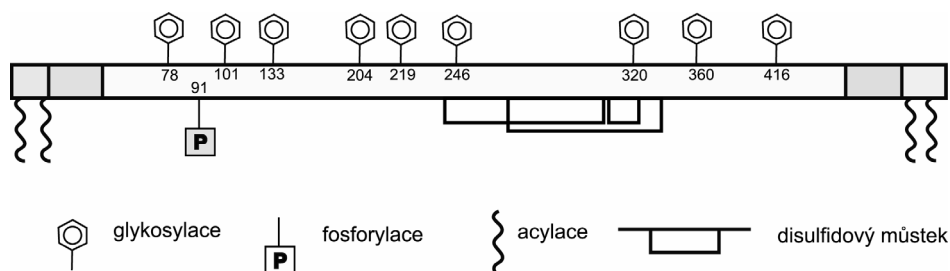
Vztah insulinu a hypertenze se začíná v epidemiologických studiích objevovat od poloviny 80. let. Asociace mezi insulinovou rezistencí a hypertenzí je jasně zřetelná u hypertenzních jedinců s obezitou, ale je prokazatelná i u jedinců neobézních. Přestože je insulin znám jako přímý vazodilatátor, byl také prokázán jeho efekt na stimulaci sympatického nervového systému. Rovněž účinek insulinu na reabsorpci sodíku v ledvinových tubulech

může přímo ovlivňovat hodnotu krevního tlaku. V současné době není přesná úloha insulinu v patogenezi hypertenze jasná a chybí definitivní důkaz objasňující působení insulinu při iniciaci či udržování esenciální hypertenze⁷. Důkazy získané z epidemiologických studií u lidí a z hybridologických analýz na pokusných zvířatech potvrzují významnou roli genetických faktorů při incidenci těchto kardiovaskulárních rizikových faktorů^{8–11}.

Společný výskyt insulinové rezistence a hypertenze u lidí i zvířecích laboratorních modelů podporuje teorii, že geny regulující funkci insulinu mohou rovněž ovlivňovat krevní tlak a naopak.

Inbrední kmen laboratorního potkana SHR (Spontaneously Hypertensive Rat) představuje výhodný model pro studium genetické determinace metabolických poruch zejména pro výskyt příznaků typických pro lidský metabolický „Syndrom X“ jako jsou poruchy účinku insulinu na metabolismus glukosy, snížená účinnost katecholaminů na lipolýzu v adipocytech, dyslipidémie a zvýšený krevní tlak.

Z vazebných analýz rekombinantních inbredních kmenů odvozených z kmene SHR a normotenzního kmene BN (Brown Norway) vyplývá, že se geny zodpovědné za zmíněné metabolické poruchy vždy nacházejí v téže oblasti 4. chromosomu. Tato hypotéza byla následně potvrzena výzkumem kongenního kmene SHR-4, který vznikl přenesením odpovídajícího úseku chromosomu 4 z kmene BN na genetické pozadí kmene SHR. Takto vzniklý kongenní kmen SHR-4 má ve srovnání s rodičovským kmenem SHR nižší krevní tlak, sníženou insulinovou rezistenci

Schéma 2. Předpokládaná struktura²¹ proteinu CD36 laboratorního potkana

a nižší hladiny sérových triglyceridů a volných mastných kyselin.

Díky tomu, že se kmeny SHR a SHR-4 liší pouze v jediném úseku 4. chromosomu, rozdíly mezi nimi poskytují důkaz pro přítomnost genu zodpovědného za poruchy metabolismu tuků a sacharidů¹².

K identifikaci předpokládaného genu na 4. chromosomu nakonec přispěly cDNA biočipy, které umožnily porovnat expresi genů v tukové tkáni obou kmenů (spontánně hypertenzního i kongenního). Pozornost vzbudil gen kódující protein CD36, který vykazoval významně snížený (o více než 90 %) hybridizační signál ve srovnání s normotenzním kmenem BN nebo kongenním kmenem SHR-4.

Z výsledků vyplývá, že gen CD36 je jedním z genů velkého účinku podmiňujících poruchy sacharidového a lipidového metabolismu. Četné studie u lidí i u zvířat naznačily, že změny v metabolismu mastných kyselin a lipidů mohou přispět k patogenezi insulinové rezistence a hypertenze^{13–15}. Další studie také prokázaly, že nenasycené mastné kyseliny mohou ovlivňovat transport glukosy, oxidaci glukosy v Krebsově cyklu a syntézu kolagenu. I když jsou mutace způsobující úplnou deficienci proteinu CD36 u lidí poměrně vzácné, je zjištěno, že poruchy v expresi proteinu CD36 bývají spojeny s diabetem mellitus II. typu, vysokým krevním tlakem a abnormalitami v příjmu mastných kyselin srdečním svalem a adipocyty¹⁶.

2. Protein CD36

2.1. Struktura

CD36 je integrální membránový glykoprotein řady savčích buněk, poprvé byl identifikován před více než čtvrt stoletím jako membránový glykoprotein krevních destiček. Kromě pojmenování CD36 se můžeme setkat s řadou dalších názvů, většinou odvozených od funkce nebo lokalizace tohoto proteinu. Na povrchu krevních destiček je protein CD36 nazýván jako glykoprotein IV nebo IIIb (gpIV/IIIb), pro protein CD36 na povrchu buněk s aktivním metabolismem dlouhořetězcových mastných kyselin (enterocyty střevní stěny, myocyty srdečního svalu, adipocyty tukové tkáně) se také používá název translokasa mastných kyselin (Fatty Acid Translocase – FAT).

CD36 patří do skupiny scavenger receptorů třídy B typu I (SR-BI) společně s lyzozomálním integrálním membránovým proteinem II (LIMP-II).

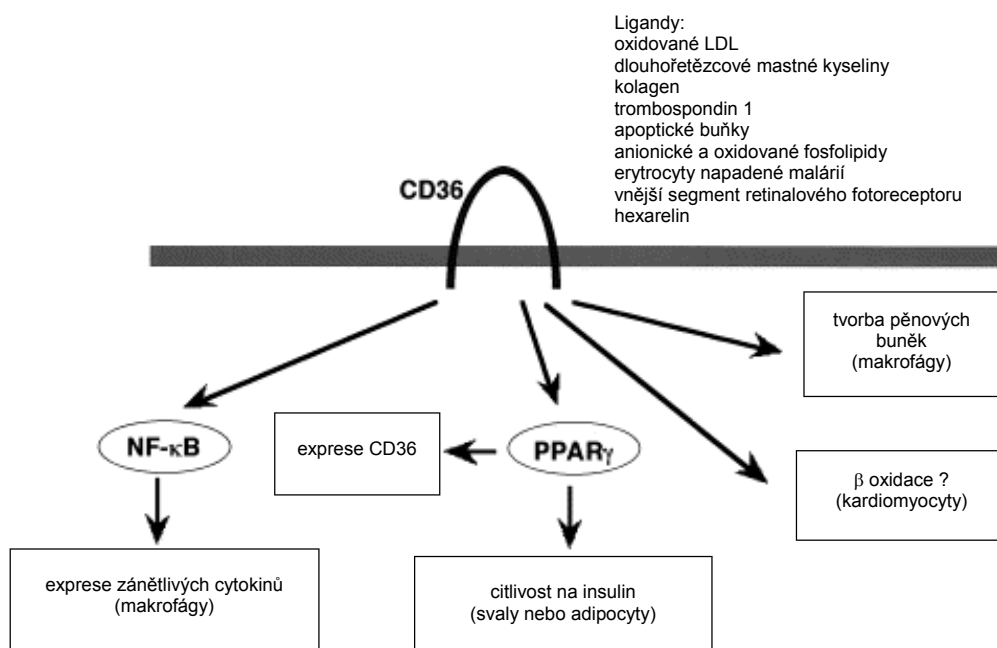
Nukleová sekvence cDNA kóduje protein o 471 aminokyselinách a molekulové hmotnosti 53 kDa (cit.¹⁷). Tento protein však prochází řadou rozličných posttranslačních modifikací v Golgiho aparátu a tak se molekulová hmotnost zralého proteinu na povrchu buněk blíží až 88 kDa. Některé posttranslační modifikace, zejména glykosylace, jsou tkáňově specifické, a proto se molekulová hmotnost glykoproteinu může pohybovat v rozmezí 78–92 kDa. Vysoká glykosylace *N*-vazbou pravděpodobně chrání proteiny této rodiny před degradací v prostředí bohatém na proteasy, jako je lysozym, okolí zánětu nebo poškozené tkáně.

Převážná část proteinu je orientována extracelulárně s výjimkou dvou krátkých cytoplasmatických úseků, které jsou pravděpodobně palmitoylovány. O *C*-terminální cytoplasmatické doméně je známo, že indukuje intracelulární signální dráhy¹⁸. Poblíž *C*-konce se nachází oblast hydrofobních aminokyselin, o které se předpokládá, že koresponduje s transmembránovou doménou. Druhá transmembránová doména je na *N*-konci a tvoří ji pravděpodobně neodštěpený signální peptid, u něhož ve zralém proteinu chybí jen iniciační methionin. Z dostupných dat a studií vyplývá, že by protein mohl mít prostorové uspořádání, v němž by vykazoval ještě další extracelulární doménu¹⁹, kde hydrofobní oblast zahrnující aminokyselinové zbytky 184–204 může přijít do kontaktu s membránou či vytvořit hydrofobní kapsu²⁰. CD36 má jedno potenciální fosforylační místo na Thr91. Fosforylační stav ovlivňuje vzájemnou vazebnou afinitu CD36 k trombospondinu-1 (TSP-1) a kolagenu²¹.

Struktura proteinu včetně posttranslačních modifikací je shrnuta ve Schématu 2.

2.2. Funkce a patofyziologie

CD36 je integrální membránový protein, který má velké množství ligandů (obr. 1). Mezi jeho ligandy řadíme dlouhořetězcové mastné kyseliny (LCFA), TSP-1, modifikované LDL (lipoproteiny o nízké hustotě), vnější segment sítnicového fotoreceptoru, erytrocyty infikované *Plasmodium falciparum* způsobujícím malárii, srpkovité erytrocyty, anionické a oxidované fosfolipidy, apoptické buňky



Obr. 1. **Struktura a úlohy CD36 na buněčné úrovni**; mezi četné ligandy patří oxidované lipoproteiny o nízké hustotě (oxLDL), dlouhořetězcové mastné kyseliny (LCFA), apoptické buňky. CD36 váže kolagen a trombospondin, zprostředkovává nitrobuněčnou signalizaci přes peroxisomální proliferaci aktivovaný receptor γ (PPAR γ) a nukleární faktor kappa B (NF- κ B) pro řízení genové exprese²³

a kolagen I a IV (cit.^{22,23}). Ve spolupráci s dalšími proteiny ovlivňuje CD36 rozličné buněčné funkce²². Vyskytuje se na povrchu různých typů buněk, především adipocytech, krevních destičkách, monocytů, makrofágů, hematopoetických buňkách, megakaryocytech, buňkách endotelu a hladké svaloviny^{22,23}.

2.2.1. Rozpoznání apoptických buněk

Expresí proteinu CD36 na povrchu buněk imunitního systému, zejména monocytů, zde slouží k rozpoznávání apoptických buněk. Apoptóza je programovaná buněčná smrt, sebezničující proces, během kterého jsou eliminovány poškozené, oslabené a stárnoucí, pro organismus již neprospěšné buňky. Účinná fagocytóza apoptických neutrofilů a monocytů je klíčový proces imunitní odpovědi na zánětlivý stav²⁴.

Molekuly schopné identifikovat apoptické buňky jsou obecně označovány jako scavenger receptory (z angl. scavenge – odklízet, zemetat). Jedná se o integrální membránové glykoproteiny, které zprostředkovávají vazbu a následnou likvidaci apoptických buněk. Existují dvě základní skupiny scavenger receptorů (SR) : SR-A a SR-B. Toto rozdělení je založeno na homologii molekulové sekvence a podobnosti struktury proteinů. Scavenger receptory vykazují širokou ligandovou specifitu. Patří mezi molekuly imunitního systému, které jsou schopné rozeznávat společné strukturální motivy na povrchu mikrobiálních a apoptických buněk.

Protein CD36 patří do skupiny scavenger receptorů třídy B typu I (SR-BI), společně s lysozomálním integrál-

ním membránovým proteinem II (LIMP-II). Z inhibičních testů pomocí monoklonálních protilátek plyne, že oblast molekuly 154–182 je přímo zapojena do rozpoznávání a následně fagocytózy apoptických buněk²⁵.

Mezi jedny z hlavních induktorů iniciace apoptózy a exprese scavenger receptorů patří oxidačně modifikované lipoproteiny o nízké hustotě (oxLDL) a estery mastných kyselin a cholesterolu.

Regulace genové exprese proteinu CD36 probíhá přes aktivaci jaderného receptoru PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ). Působí jako transkripční regulátor genů, které kódují proteiny zapojené v adipogenezi a metabolismu lipidů²⁶. PPAR γ se vyskytuje v preadipocytech, kde stimuluje diferenciaci tukové tkáně a také působí jako faktor indukující diferenciaci monocytů na makrofágy. Ligandy PPAR γ zvyšují expresi CD36. Patří mezi ně oxidované a nenasycené mastné kyseliny, přičemž s rostoucím číslem nenasycenosti roste i afinita receptoru k těmto ligandům, lipidy odvozené od oxLDL, 9- a 13-hydroxyoktadekandienové kyseliny (9-;13-HODE), prostaglandin J2 (PGJ2) a antidiabetická léčiva thiazolidinonové skupiny užívaná k léčbě diabetu II. typu²⁶. Na indukci makrofágového CD36 interleukinem-4 (IL-4) se podílí aktivace intracelulární lipoxygenasy a produkce PGJ2, jakožto ligandu PPAR γ (cit.²⁷). Snížení exprese CD36 působením TGF- β (transformujícího růstového faktoru β) je spojeno s fosforylací a inaktivací PPAR γ . Vztah mezi expresí CD36 a PPAR γ , jakož i schopnost CD36 podílet se v makrofágích na internalizaci potenciálních

lipidových ligandů pro PPAR γ , vedly ke stanovení proaterogenní dráhy v cévních stěnách. Role proteinu CD36 jako scavenger receptoru v patogenezi aterosklerózy je zatím ne zcela jasná a v mnoha ohledech i rozporuplná. V raných stádiích aterogeneze, které jsou charakteristické proliferací a nahromaděním buněk v subendoteliu, může být zvýšená indukce apoptózy prospěšná. Na druhé straně však může apoptóza buněk výrazně zhoršit projevy nemoci v pozdních fázích, kdy destabilizace fibrotrombotických plaků často vede ke vzniku trombů a infarktu myokardu.

2.2.2. Ateroskleróza

Jedná se o onemocnění tepen („kornatění“), při němž se v jejich stěnách ukládají tukové látky ve formě tzv. ateromu a druhotně vápník. Takto poškozená tepna ztrácí pružnost a dochází k jejímu postupnému zužování až uzávěru (obliteraci) s následnou ischemií příslušné části organismu. K rizikovým faktorům vzniku aterosklerózy patří zejména vysoká hladina krevních tuků (zvláště cholesterolu), hypertenze, kouření, obezita, diabetes, zvýšená hladina homocysteinu v krvi, stres a nedostatek pohybu²⁸.

Makrofágy a modifikované LDL částice mohou být zachyceny cévní stěnou následkem proaterogenního poranění²⁹. Při zánětu dochází k produkci reaktivních kyslíkových a dusíkatých metabolitů, díky nimž vznikají na LDL epitopy rozpoznávané CD36. To vede k internalizaci modifikovaných LDL, produkci intracelulárních ligandů PPAR γ , translokaci aktivního PPAR γ transkripčního aktivního komplexu do jádra a zvýšení transkripce PPAR γ cílových genů (mezi které patří i sám PPAR γ a CD36). Zvýšená exprese CD36 na buněčném povrchu podporuje další příjem modifikovaných LDL a tím možnou tvorbu pěnových buněk, které se hromadí v subendoteliálním prostoru cévních stěn. Vznikají tukové pláty, rané formy aterosklerotických plaků.

Bylo zjištěno, že v aterosklerotických lezích je lokalizováno větší množství myeloperoxidasy. Myeloperoxidasou produkované reaktivní dusíkaté látky vedou k přeměně LDL na aterogenní formu. To je spojeno s obohacením LDL o nitrotyrosin. U aterosklerotických jedinců je patrné několikanásobné zvýšení množství nitrotyrosinu v porovnání se zdravými jedinci. Proaterogenní forma LDL koresponduje s nitrací proteinů, peroxidací lipidů a změnou lipoproteinů na vysoce absorbovanou formu. Vystavení makrofágů NO₂-LDL výrazně podporuje syntézu esterů cholesterolu, intracelulární akumulaci cholesterolu a jeho esterů, spolu s tvorbou pěnových buněk. Schopnost modifikovaných forem LDL podpořit ukládání buněčných esterů cholesterolu je považována za index aterogenního potenciálu lipoproteinů³⁰.

Sporně přispívá CD36 na makrofázích k rané fázi patogeneze aterosklerózy díky endocytóze oxidovaných lipoproteinů s nízkou hustotou (oxLDL)³¹. Deficit CD36 má za následek nižší příjem oxLDL, sníženou tvorbu pěnových buněk a díky tomu méně závažné aterosklerotické léze. Thiazolidineany (účinné složky antidiabetik, které jsou ligandem PPAR γ) snižují frekvenci výskytu a závažnost aterosklerózy³². Protože zánět je ve vývoji atero-

sklerózy rozhodující, mohla by inhibice zánětu během rozvoje lezí pomoci k utlumení progresu onemocnění²⁶.

CD36 má důležitý podíl také na vzniku ischemické poruchy a vývoji srdeční hypertrofie a diabetické kardiomyopatie. V ischemickém srdci se hromadí triacylglyceroly (TAG), jelikož zásoba mastných kyselin (MK) je zvýšená a jejich oxidace snížena. Dodáním mastných kyselin s krátkými a středně dlouhými řetězci, které k transportu nepotřebují CD36, se předejde ischemickým potížím a oxidace MK může probíhat normálně. Publikovaná data poukazují na spojitost mezi porušeným příjmem MK srdeční tkání a onemocněním tohoto životně důležitého orgánu³³.

Nadbytečná zásoba TAG v srdeční svalovině koreluje s apoptózou, fibrózou a dysfunkcí kontraktibility. To naznačuje, že porušení regulace metabolismu triglyceridů může přispívat k srdečním onemocněním³³.

2.2.3. Receptor pro trombospondin-1

Trombospondin-1 (TSP-1) je trimerní glykoprotein extracelulární matrix. Účastní se buněčné odpovědi na růstové faktory, cytokiny a poranění. Reguluje buněčnou proliferaci, migraci a apoptózu během nejrůznějších fyziologických i patologických stavů, zahrnujících aktivaci a sekreci krevních destiček, hojení poraněné tkáně, zánětlivé procesy, angiogenezi, tvorbu trombů a neoplasii (metastáze nádorových buněk).

Jako receptor pro TSP-1 funguje protein CD36 na povrchu kapilárních endoteliálních buněk, krevních destiček, monocytů, leukocytů a erytroidních prekurzorů, kde je exprimován během pozdní fáze diferenciace v kostní dřeni. Důsledkem vazby TSP-1 na receptor CD36 je adheze trombocytů na monocyty a nádorové buňky, aktivace krevních destiček a také rozpoznání a fagocytóza buněk makrofágy³⁴. Interakce TSP-1 s proteinem CD36 na povrchu trombocytů má značný vliv na stabilizaci agregovaných destiček a na vzniku ireverzibilního makromolekulárního komplexu zahrnujícího protein CD36, TSP-1, fibrinogen a glykoproteiny IIb – IIIa³⁵.

Vedle TSP-1 slouží CD36 také jako receptor pro kolagen typu I a IV. Substrátová specifita proteinu CD36 pro TSP-1 nebo kolagen je řízena posttranslační fosforylací a defosforylací Thr91. Sekvence poblíž této oblasti vykazuje afinitu k protein kinase c, která tuto reakci katalyzuje. Na povrchu neaktivních krevních destiček blokuje fosforylace Thr91 vazbu na TSP-1 a umožňuje tak pouze vazbu na kolagen. Vazebná doména pro TSP-1 je spojena se silně konzervativní sekvencí vyskytující se i u jiných vazebných proteinů¹⁹.

Trombospondin-1 je přirozeně se vyskytující inhibitor angiogeneze, který zapříčiní, že endoteliální buňky neodpovídají široké paletě induktorů. Neporušená molekula TSP-1 se váže nejméně na dvanáct různých receptorů. Inhibice angiogeneze trombospondinem-1 je zprostředkována pomocí CD36. CD36 blokuje rozličné stimulační signální kaskády spouštěné různými induktory angiogeneze³⁶. Byla navržena dráha, kterou TSP-1/CD36 uplatňují antiangiogenní odpověď. Po zapojení ligandu indukuje

proangiogenní receptor proliferaci, migraci a tvorbu vlásečnic z endoteliálních buněk. Tato odpověď je inhibována v přítomnosti TSP-1, který interaguje se specifickým motivem svého receptoru. Inhibice vede k apoptóze endoteliálních buněk vlásečnic²².

TSP-1 a od něj odvozené fragmenty patří mezi potenciální endogenní inhibitory vývoje nádorových onemocnění krevních a lymfatických cév³⁷. V přítomnosti TSP-1 byla zjištěna apoptóza většího množství endoteliálních buněk na okrajích tumorů. TSP-1 svými inhibičními účinky limituje hustotu cévního systému v normálních tkáních a redukuje nádorové bujení³⁸.

Signalizace pomocí CD36 může vést k programované buněčné smrti i u dalších typů buněk. Tato zjištění by mohla vést k vývoji účinného terapeutického prostředku pro léčbu nádorů, diabetické retinopatie a dalších nemocí, jejichž součástí je angiogeneze.

2.2.4. Transport mastných kyselin přes cytoplasmatickou membránu

Ve tkáních s aktivním metabolismem, jako jsou tenké střevo, srdeční, kosterní a tuková tkáň, jsou mastné kyseliny důležitým energetickým substrátem. Mastné kyseliny v krevním oběhu a v intersticiální tekutině se vyskytují ve vazbě na albumin. Odtud jsou pak přijímány buňkami a transportovány do mitochondrií, kde následně podléhají oxidaci³⁹.

Ve vazbě a transportu mastných kyselin a ostatních lipidických látek přes cytoplasmatickou membránu se významně podílí také protein CD36, zde označovaný jako FAT (fatty acid translocase). Přestože se dříve zdálo, že přechod mastných kyselin a sterolů přes membránu probíhá procesem prosté difuze, z mnoha výzkumů vyplývá, že jde o přestup mechanismem usnadněné difuze za pomoci bílkovinných přenašečů. Významnou roli v tomto procesu zaujímá protein CD36/FAT. Tento protein funguje jako receptor pro široké rozmezí hydrofobních molekul, které se mohou i velmi lišit svou chemickou strukturou. Umožňuje reverzibilní vazbu mastných kyselin, včetně dlouhořetězcových, také volného i esterifikovaného cholesterolu a anionických fosfolipidů (fosfatidylserin, fosfatidylinositol, fosfatidylcholin). Tato vazba se liší od kovalentní palmitoylace v intracelulárních částech receptoru. CD36/FAT zprostředkovává obousměrný přechod lipidů mezi cytoplasmatickou membránou a vazebným proteinem (albuminem, apolipoproteiny a lipoproteiny s vysokou i nízkou hustotou (HDL – high density lipoprotein, LDL – low density lipoprotein)⁴⁰.

Vazebná doména se vyskytuje v extracelulárním úseku proteinu 127–279. Vysoce hydrofobní úsek α -helixu v oblasti 139–154 pravděpodobně usnadňuje přístup lipidů k vazebné doméně. Z kinetických měření je jisté, že za fyziologických koncentrací mastných kyselin je protein CD36 schopný efektivní kompetice s albuminem o jejich vazbu.

Ne zcela objasněn ovšem zůstává přesný mechanismus přenosu. Není jasné, zda mastné kyseliny po vazbě na CD36/FAT jsou dopraveny přímo k FA-acyl-CoA synteta-

se na vnitřní straně cytoplasmatické membrány nebo jsou pouze předány jiným membránovým proteinům fungujících jako přenašeče mastných kyselin⁴¹.

Selektivní příjem steroidních látek je důležitý zejména u steroidogenní tkáně, jakou jsou např. nadledvinky⁴². Protein CD36/FAT je klíčový pro metabolismus lipidů a celkovou homeostázi.

3. Závěr

Výzvou do budoucna je porozumět mechanismu, kterým jsou ovlivňovány různorodé funkce CD36 a navrhnout strategii terapie přidružených onemocnění jako aterosklerózy, diabetu, kardiomyopatie, obezity, slepoty, srpkovité anémie a malárie²².

Zdá se, že krátkořetězcové mastné kyseliny mohou být prospěšné, pokud je hyperinsulinémie a insulinová rezistence zapříčiněna poruchou příjmu mastných kyselin a mohly by též přispět k léčbě hypertrofické kardiomyopatie⁴³. Včasná diagnóza dědičné hypertrofické kardiomyopatie by umožnila dokonalejší léčbu a vedla by k lepší prognóze tohoto onemocnění. Identifikace CD36, jako inhibičního signálního receptoru pro TSP-1, by mohla vést k vývoji nových farmak inhibujících patologickou neovaskularizaci³⁷.

Díky rozvoji genetických technologií a *in vivo* studiím získáváme stále další informace o mechanismech, kterými CD36 předává buněčné signály. Věříme, že to umožní vývoj specifických léčiv s přímým dopadem na patřičnou patologickou funkci CD36 (cit.⁴⁴).

Porozumění mechanismu inhibice a snížení exprese CD36 je důležité z hlediska stanovení tohoto glykoproteinu jako potenciálního terapeutického cíle pro léčbu aterosklerózy²⁶.

Tato publikace vznikla za finanční podpory grantu GA ČR 301/03/0751 a projektu MŠMT 6046137305.

LITERATURA

1. Pravenec M.: *Vesmír* 74, 485 (1995).
2. Hajri T., Han X. X., Bonen A., Abumrad N. A.: *J. Clin. Invest.* 109, 1381 (2002).
3. Reaven G. M.: *Diabetes* 37, 1495 (1988).
4. Taylor S. I., Cama A., Accili D., Barbetti F., Quon M. J., de la Luz Sierra M., Suzuki Y., Koller E., Levy-Toledano R., Wertheimer E.: *Endocr. Rev.* 13, 566 (1992).
5. Reaven G. M., Lithell H., Landsberg L.: *N. Engl. J. Med.* 334, 374 (1996).
6. Koike G., Jacob H.J.: *Hypertension, Principles of Molecular Medicine*, str. 145. Humana Press, New Jersey 1997.
7. Landsberg L.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 208, 315 (1995).
8. Ferrari P., Weidmann P., Shaw S., Giachino D., Rei-

- sen W.: *Am. J. Med.* 91, 589 (1991).
9. Grunfeld B., Balzaret H., Romo H., Gimenez M., Gutman R.: *Hypertension* 23, 112 (1994).
 10. Facchini F., Chen Y. D., Clinkingbeard C., Jeppesen J., Reaven G. M.: *Am. J. Hypertens* 5, 694 (1992).
 11. Beatty O. L., Harper R., Sheridan B., Atkinson A. B., Bell P. M.: *Br. Med. J.* 307, 92 (1993).
 12. Ganten D.: *Hypertension* 9, (suppl 1) 1 (1987).
 13. Ferrannini E., Buzzigoli G., Bonadoda R., Giorico M. A., Oleggini M., Graziadei L., Pedrinelli R., Brandi L., Bevilacqua S.: *N. Engl. J. Med.* 317, 350 (1987).
 14. Denker P. S., Pollock V. E.: *Arch. Intern. Med.* 153, 1649 (1992).
 15. Salonen J. T., Lakka H. M., Valkonen V. P., Everson S. A., Kaplan G.: *Diabetes* 47, 270 (1998).
 16. Hwang E. H., Taki J., Yasue S., Fujimoto M., Taniguchi M., Matsunari I., Nakajima K., Shiobara S., Ikeda T., Tonami N.: *J. Nucl. Med.* 39, 1681 (1998).
 17. Oquendo P., Hundt E., Lawler J., Seed B.: *Cell* 58, 95 (1989).
 18. Malaud E., Hourton D., Giroux L. M., Ninio E., Buckland R., McGregor L. J.: *Biochem. J.* 364, 507 (2002).
 19. Tandon N. N., Lipsky R. H., Burgess W. H., Jamieson G. A.: *J. Biol. Chem.* 264, 7570 (1989).
 20. Serghides L., Smith T. G., Patel S. N., Kain K. C.: *Trends Parasitology* 19, 461 (2003).
 21. Asch A. S., Liu I., Briccetti F. M., Barnwell J. W., Kwakye-Berko F., Dokun A., Goldberger J., Pernambuco M.: *Science* 262, 1436 (1993).
 22. Febbraio M., Hajjar D. P., Silverstein R. L.: *J. Clin. Invest.* 105, 1049 (2001).
 23. Hirano K., Kuwasako T., Nakagawa-Toyama Y., Janabi M., Yamashita S., Matsuzawa Y.: *Trends Cardiovasc. Med.* 13, 136 (2003).
 24. Yanai H., Chiba H., Morimoto M.: *Am. J. Med. Genet.* 93, 299 (2000).
 25. Van Neuenhoven F. A., Verstijnen C. P. H. J., Abumrad N. A., Willemsen P. H. M., Van Eys G. J. J. M., Van Der Vusse G. J., Glatz J. F. C.: *Biochem. Biophysic. Res. Commun.* 207, 747 (1995).
 26. Nicholson A. C.: *Trends Cardiovasc. Med.* 14, 8 (2004).
 27. Huang J. T., Welch J. S., Ricote M., Binder C. J., Willson T. M., Kelly C.: *Nature* 400, 378 (1999).
 28. <http://www.maxdorf.cz/maxdorf/ls.html>, staženo 7.dubna 2004.
 29. Steinberg D.: Lewis A. Conner Memorial Lecture. *Circulation.* 95,1062 (1997).
 30. Podrez E. A., Schmitt D., Hoff H. F., Hazen S. L.: *J. Clin. Invest.* 103, 1547 (1999).
 31. Bodart V., Febbraio M., Demers A., McNicoll N., Pohanková P., Perreault A., Sejlitz T.: *Circ. Res.* 90, 844 (2002).
 32. Aitman T. J.: *Lancet* 357, 651 (2001).
 33. Lewin T. M., Coleman R. A.: *Biochim. Biophys. Acta* 1634, 63 (2003).
 34. Allesio M., De Monte L., Sciral A., Gruarin P., Tandon N. N., Sitia R.: *J. Biol. Chem.* 271, 1770 (1996).
 35. Febbraio M., Hajjar D. P., Silverstein R. L.: *J. Clin. Invest.* 108, 785 (2001).
 36. Dawson D. W., Pearce S. F., Zhong R., Silverstein R. L., Frazier W. A., Bouck N. P.: *J. Cell Biol.* 138, 707 (1997).
 37. Good D. J., Polverini P. J., Rastinejad F., LeBeau M. M., Lemons R. S., Frazier W. A., Bouck N. P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87, 6624 (1990).
 38. Jiménez B., Volpert O. V., Crawford S. E., Febbraio M., Silverstein R. L., Bouck N.: *Nat. Med.* 6, 41 (2000).
 39. Febbraio M., Abumrad N. A., Hajjar D. P., Sharma K., Cheng W., Frieda S., Pierce A., Silverstein R. L.: *J. Biol. Chem.* 274, 19055 (1992).
 40. Vallvé J.-C., Uliaque K., Girona J., Cabré A., Ribalta J., Heras M., Masana L.: *Atherosclerosis* 164, 45 (2002).
 41. Mannel D. N., Grau G. E.: *Mol. Pathol.* 50, 175 (1997).
 42. Gotoda T., Iizuka Y., Yamada N.: *Curr. Atherosclerosis Rep.* 2, 453 (2002).
 43. Hajri T., Ibrahimi A., Coburn C. T., Knapp F. F. Jr, Kurtz T., Pravenec M., Abumrad N. A.: *J. Biol. Chem.* 276, 23.661 (2001).
 44. Silverstein R. L., Febbraio M.: *Curr. Opin. Lipidol* 11, 483 (2000).

K. Kontrová, J. Zídková, P. Palečková, and J. Sajdok (*Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Role of Protein CD36 as a Significant Risk Factor of Cardiovascular Diseases**

The human essential hypertension syndrom (syndrom X) together with hyperlipidemia and insulin resistance involves a cluster of metabolic disorders whose molecular basis is largely unknown. The most widely studied animal model of hypertension is the spontaneously hypertensive rat (SHR). To identify the chromosome region contributing to this clustering of cardiovascular risk factors in the SHR, quantitative trait loci (QTL) associated with insulin resistance, glucose intolerance and dyslipidemia were searched for by using a recombinant inbred strain. SHR displays many features of human metabolic disease syndroms, thus SHR can be used as a model of mutation in CD36 and study of its protein. Protein CD36 is known as a receptor for thrombospondin-1 and collagen. It also functions as a signal transduction molecule and main glycoprotein of adipocytes and muscle cells. It binds long-chain fatty acids and functions in their membrane transport. CD36 in monocytes and macrophages serves as receptor for oxidized LDL (scavenger receptor). CD36 seems to be one of potential targets in atherosclerosis and insulin resistance treatment.

TESTOVÁNÍ STABILITY LÉČIVÝCH PŘÍPRAVKŮ

**DAVID VETCHÝ, KAROLÍNA FRÝBORTOVÁ,
MILOSLAVA RABIŠKOVÁ a ADAM HÄRING**

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

*vetchy@email.cz, k.frybortova@seznam.cz,
rabiskovam@vfu.cz, aminah@seznam.cz*

Došlo 21.6.05, přijato 23.10.05.

Klíčová slova: léčivé přípravky, stabilita, fotostabilita, stabilitní testy, stresový test, zrychlené testy, dlouhodobé testy

Obsah

1. Úvod
2. Základní postupy při zkoušení stability léčivých přípravků
 - 2.1. Organoleptické hodnocení, fyzikální a chemické zkoušky
 - 2.2. Fotostabilita
 - 2.3. Biologické a mikrobiologické zkoušky
3. Postupy řízení stabilitních studií
4. Typy stabilitních testů
 - 4.1. Stresový test
 - 4.2. Zrychlené testy
 - 4.3. Dlouhodobé testy
 - 4.4. Následné stabilitní zkoušky
 - 4.5. Změnové stabilitní zkoušky
 - 4.6. Testy po prvním otevření obalu (in-use studie)
5. Trendy v oblasti stabilitních studií
6. Závěr

1. Úvod

Stabilita léčiva a léčivého přípravku je vlastnost zachovat si ve stanovených mezích po určité době a za stanovených podmínek uchovávání určené jakostní znaky. Testuje se stabilitními studii. Je to soubor testů, které mají dokumentovat změny v kvalitě testovaného produktu působením vnějších vlivů. Jejich účelem je stanovit podmínky skladování a uchovávání, vhodný obalový materiál a dobu použitelnosti přípravku. Důvodem pro založení stabilitní studie je zavádění nového léku (s novou účinnou látkou či tzv. generikem) do výroby, změna vnitřního obalu či technologie výroby, změna specifikace nebo pravidel-

né sledování stability (tzv. následné stabilitní testy). Sledování stability je důležité k zajištění kvalitního, bezpečného a účinného přípravku po celou dobu použitelnosti. Důsledkem případné nestability léku může být: snížení obsahu léčiva, zvýšení koncentrace léčiva, změna biologické dostupnosti, ztráta mikrobiologické nezávadnosti, vznik rozkladných produktů či změna vzhledu lékové formy¹.

Článek shrnuje nejnovější postupy a doporučení týkající se vybraných kapitol z oblasti stabilitních studií podle aktuální souhrnné publikace Carstensena a Rhodese¹, doplněné pozdějšími předpisy^{5,7,11} ICH (International Conference on Harmonisation – Harmonised Tripartite Guideline, které stanovují požadavky na stabilitní studie v Evropě, USA a Japonsku) a dalšími zahraničními i domácími publikacemi.

2. Základní postupy při zkoušení stability léčivých přípravků

Pro testování stability léčivých přípravků se využívají organoleptické hodnocení, fyzikální, chemické, biologické a mikrobiologické zkoušky².

2.1. Organoleptické hodnocení, fyzikální a chemické zkoušky

K organoleptickému hodnocení při testování stability léčivých přípravků patří sledování vzhledu, zápachu, barvy, chuti nebo čirosti (u roztoků). Hodnotí se např. porovnáváním s barevnými standardy, rozpuštěním lékové formy a měřením zbarvení roztoků spektrofotometricky. Velkého významu nabývá organoleptické hodnocení u perorálních roztoků. Pro chuť se určuje druh a stupeň chuti, např. stupeň kyselosti, slanosti. Testuje se po skladování převážně za pokojové teploty ve stanovených časových intervalech^{1,3}.

K fyzikálním zkouškám využívaným ke sledování stability léčivých přípravků se u parenterálních roztoků řadí zkouška čirosti, ve které se hodnotí případná vířivá sraženina a zákal vznikající reakcí roztoku se skleněným obalem nebo uzávěrem nebo v důsledku jiných chemických změn v roztoku. U suspenzí se hodnotí rychlost sedimentace, objem sedimentu, disoluční profil léčiva a rozřepatelnost sedimentu po skladování za určených podmínek. U polotuhých suspenzních lékových forem se klade důraz na konzistenci, viskozitu a polymorfismus, u transdermálních lékových forem se především sleduje vliv skladování na uvolňování léčivé látky z přípravku. Pro stabilitu emulzních lékových forem je důležité sledování vlivu skladování na změnu velikosti částic a reologických vlastností. Výraznější změny svědčí o nestabilitě. U aerodisperzí se u fyzikálních stabilitních zkoušek hodnotí objem dávky,

Tabulka I
Mechanismy degradace některých účinných látek

Typ reakce	Léčivo
Hydrolyzá	kyselina acetylsalicylová, amoxicilin, diazepam, ergotamin
Oxidace	chlorpromazin, morfin, captopril, ergotamin
Fotodegradace	furosemid, nifedipin, promethazin, ergotamin

netěsnost obalu, vlhkost. Velice důležité je sledování změn velikosti částic, protože velikost částic úzce souvisí s biologickou dostupností. U tablet se k fyzikálním zkouškám řadí zkouška na obsah vlhkosti, zkoušky mechanické odolnosti (pevnost a oděr) a zkouška rozpadu, případně disoluce.

Pomocí chemických zkoušek se sleduje zejména vznik rozkladných produktů. Dále se stanovuje obsah účinné látky a vybraných pomocných, např. konzervačních látek. Využívá se proto především metod chromatografických (zvláště HPLC) a spektrofotometrických^{1,2,4}.

Rozkladné procesy zahrnují především oxidaci, hydrolyzu a rozklad vlivem světla, příklady jsou uvedeny v tabulce I.

2.2. Fotostabilita

Testy na fotostabilitu by měly demonstrovat, že vystavení produktu světlu nezpůsobí nepřípustné změny v jeho vlastnostech. Měly by se provést na jedné šarži ve stadiu vývoje přípravku. Označení fotostability na obalu je vytvořeno podle národních požadavků např. „uchovávat v původním obalu“.

Při testech lze použít jakýkoliv zdroj světla, který produkuje výkon totožný s emisním standardem D65/ID65, např. umělé denní světlo fluorescenční lampy kombinující viditelné a UV záření, xenonové nebo halogenové lampy. D 65 je mezinárodně schválený standard pro venkovní světlo a je definován v ISO 10977. ID65 je ekvivalent vnitřního osvětlení.

Vzorek může být též vystaven jak studenému bílému světlu, tak UV lampě. UV lampa má vyzařovat paprsky o vlnových délkách od 320 do 400 nm s maximální energií při vlnové délce mezi 350 a 370 nm.

Kontrola teploty je nutná pro minimalizování místních teplotních změn nebo je třeba provést současně také test vzorku ve tmě za stejných podmínek. Při testech by se měly použít různé doby expozice. Vzorky se ozařují přímo bez obalu (pokud to není možné, tak v inertních transparentních obalech), v primárním obalu a v obalu určeném pro distribuci. Do testovací komory by se měly vzorky umístit tak, aby byly maximálně ozářeny. Po skončení ozáření se vzorky testují na fyzikální nebo organoleptické změny a případný obsah rozkladných produktů. Testuje se vždy validovanými metodami⁵.

2.3. Biologické a mikrobiologické zkoušky

K těmto zkouškám se řadí především zkouška mikrobiologické nezávadnosti, zkouška sterility, zkouška nepřítomnosti pyrogenů, zkouška na bakteriální endotoxiny, zkouška na biologickou účinnost heparinu, neomycinu, aj.

Existují dva možné způsoby mikrobiální kontaminace farmaceutických produktů :

- Mikroorganismy jsou přítomny v přípravku již při výrobě a během doby skladování se množí, takže při testech jejich množství roste. To znamená, že přípravek, který v době výroby vyhovoval limitům na mikrobiologickou čistotu, po 6 měsících skladování dané limity překročí. K eliminaci tohoto typu kontaminace je nutno přísně dodržovat pravidla správné výrobní praxe. Dále je pak nutné věnovat pozornost kvalitě surovin, protože ty jsou často zdrojem mikroorganismů (patogenních i nepatogenních). Platí to zejména pro suroviny přírodního původu, např. lecitin.
- Druhý způsob mikrobiální kontaminace vzniká porušením integrity obalu během skladování či distribuce a následným průnikem mikroorganismů do přípravku. Tomuto problému lze zabránit výběrem vhodného obalového materiálu a správnou manipulací s produktem během distribuce¹.

Zkouška mikrobiologické nezávadnosti a zkouška sterility se provádí pomocí bakteriálních kulturací, přesný postup těchto zkoušek mají firmy uvedeny ve svých standardních operačních postupech. Zkouška mikrobiologické nezávadnosti se provádí u všech lékových forem, pokud se neprovádí test sterility¹. Zkouška sterility je předepsaná u lékových forem, u kterých je vyžadována sterilita^{2,6}.

Zkouška nepřítomnosti pyrogenů a zkouška na bakteriální endotoxiny se provádí především u parenterálních přípravků a u surovin. Nepřítomnost pyrogenních látek se sleduje na králících, kterým se po aplikaci přípravku do ušní žíly měří rektální teplota. Hodnotí se celkové zvýšení teploty u celé skupiny králíků dohromady. Přípravek je bezpyrogenní, pokud zvýšení teplot všech zvířat nepřekročí danou hodnotu². Podstatou zkoušky na bakteriální endotoxiny (tzv. test LAL) je reakce lyzátu z amebocytů kraba a roztoku zkoumaného vzorku. Lyzát po styku s endotoxiny v roztoku vzorku koaguluje a tvoří gel. Tento test má specifickou citlivost na endotoxiny gramnegativních bakterií, které představují riziko pro pacienta. Je-li test LAL negativní a zkouška na králících pozitivní, příčinou pyrogenní reakce nejsou endotoxiny².

3. Postupy řízení stabilitních studií

Nejprve je nutno vypracovat plán stabilitní studie¹, který musí definovat cíl, účel a rozsah zkoušek a podmínky zkoušení (vzorky, skladovací podmínky, dobu trvání, výběr parametrů indikujících stabilitu, jejich

limity, testovací metody, referenční materiál). Rozsah zkušebních metod vychází z fyzikálních, chemických, biologických a mikrobiologických vlastností léčiva, které popisují různé monografie či lékopisy. Pro stabilitní studie se mohou zvolit metody již popsané v mezinárodních nebo národních předpisech, ale i metody alternativní. Metody však musí být vhodné nejen pro hodnocení produktu po výrobě, ale i po změnách, které mohou nastat v jeho kvalitě v průběhu testovacích podmínek. Jen tak lze odlišit každou účinnou látku od jejích degradačních produktů a přesně stanovit její obsah. Všechny testovací analytické metody musí být validovány. V případě, že se v průběhu stabilitní studie vyvine nová analytická metoda, je třeba ji validovat a provést srovnání původní metody s novou, která původní analytickou metodu nahradí v plném rozsahu nebo event. doplní.

U zkoušeného vzorku musí být náležitě popsán způsob přípravy, čísla a velikost šarže, výrobce, obal, specifikace zkoušek, limity zkoušek, referenční materiál, podmínky skladování a popis zkušebních metod. Stabilitní studie ve stadiu vývoje přípravku se provádí na laboratorních nebo pilotních šaržích. Do registrační dokumentace se předkládá studie na 2–3 (podle charakteru přípravku) pilotních šaržích (šarže o velikosti minimálně desetiny komerční šarže, ale ne méně než 100 000 jednotek u tuhých perorálních lékových forem). Po schválení registrace je výrobce povinen založit studii z prvních tří výrobních šaržích.

Testy by měly pokrýt ty parametry, které se mohou změnit během skladování, přípustné limity by měly být odvozeny od vlastností materiálu použitého v preklinických a klinických studiích. Délka studie a podmínky skladování by měly být dostatečné, aby pokryly skladování, distribuci a běžné užití. Aplikace stejných skladovacích podmínek jako u hotového produktu při testování účinné látky usnadní porovnání výsledků. Jiné skladovací podmínky lze použít, pokud je to oprávněné. Např. termolabilní účinné látky by se měly uchovávat za alternativních skladovacích podmínek tj. snížené teploty, která se následně stane teplotou skladovací. Frekvence testů musí být dostatečná, aby byly patrné možné změny ve vlastnostech léčiva a léčivého přípravku a tyto změny byly dobře odlišitelné a zaznamenatelné během doby použitelnosti přípravku. U rozdílných typů studií se testování provádí v různých intervalech. Obecně platí, že by se testy měly provádět v 3-měsíčních intervalech během prvního roku, v 6-měsíčních intervalech během druhého roku a dále pak jedenkrát ročně. Obalový materiál při testech by měl být totožný nebo by se měl simulovat obal, který se použije u hotového produktu.

4. Typy stabilitních testů

Stabilitní testy se dělí podle podmínek zátěže na stresové testy, zrychlené testy a dlouhodobé testy.

4.1. Stresové testy

Stresové testy zahrnují zkoušky, při kterých se léčivo nebo přípravek podrobí extrémní fyzikální a chemické zátěži za účelem urychlení chemického rozkladu léčiva, případně antioxidantů nebo konzervačních látek nebo fyzikální změny produktu. Tento test se využívá také pro optimalizaci analytických metod indikujících stabilitu (metod, které jsou schopny odlišit sledované látky a jejich rozkladné metabolity a jejich obsah v produktu přesně stanovit). Provádí se před registrací jako předběžná stabilitní studie a to obvykle na jedné šarži substance nebo produktu⁷.

Cílem testu je stanovit základní vlastnosti substance nebo produktu v modelových zátěžových situacích, simulujících extrémní podmínky výroby, skladování, transportu a působení vnějších vlivů, identifikovat a charakterizovat degradační produkty a dále ověřit vhodnost metod pro analýzu rozkladných produktů⁸.

U rozkladných produktů by se měly, pokud je to možné, provést jejich detekce, identifikace, izolace, určit fyzikální a chemické vlastnosti, farmakologická aktivita, zjistit procesy izolace a čištění, vysvětlit reakční kinetiku, vytvořit specifikaci pro testování na jejich přítomnost, zjistit pravděpodobné množství jejich výskytu v přípravku a dodat reference z dostupných zdrojů o jejich možném biologickém účinku⁸.

Při stresových testech se zkoumá:

- vliv zvýšené teploty; test se provádí s léčivým přípravkem, s léčivem a jeho roztokem. Cílem je určit teplotu, při které je látka zřetelně nestabilní, maximálně se testuje při 180 °C,
- účinek světla; test se provádí s přípravkem, s léčivem a jeho roztokem. Ozařuje se definovaným způsobem, např. xenonovou lampou po dobu až 48 h,
- účinek pH; zjišťuje se vliv pH (v rozsahu od 0,1% roztoku kyseliny chlorovodíkové až po 0,01% roztoku hydroxidu sodného) na 1% roztok léčiva při 60 °C,
- vliv oxidace; zkouší se vliv 0,3% roztoku peroxidu vodíku na 1% roztok léčiva při teplotě 50 °C a možnosti oxidace produktu atmosférickým kyslíkem při teplotě 25 °C,
- kompatibilita účinné látky a obalu a účinné látky s pomocnými látkami,
- vliv vlhkosti, popřípadě další specifické zkoušky pro danou látku^{2,3}.

Doba trvání stresového testu bývá nejvýše 3 měsíce a zkouší se po týdnech až měsících uchování substance nebo produktu při např. 5 °C, 50 °C nebo 75 °C (cit.^{1,8}).

4.2. Zrychlené testy

Zrychlený test je část stabilitní studie prováděná za extrémních skladovacích podmínek za účelem urychlení chemického rozkladu nebo fyzikální změny léčiva či léčivého přípravku. Data ze zrychlených testů a testů v přechodných podmínkách (tabulka II) se mohou použít k výběru vhodné technologie, konečného složení přípravku

Tabulka II

Podmínky při provádění zrychleného testu a testu v přechodných podmínkách^{7,11}

Typ studie	Podmínky skladování	Intervaly hodnocení [měsíce]	Celková délka studie [měsíce]	Min. délka studie při podání žádosti o registraci [měsíce]
Zrychlená	40 °C, 75 % rel. vlhkosti	0, (1, 2), 3, 6	6	6
V přechodných podmínkách	30 °C, 65 % rel. vlhkosti	0, (1, 2), 3, 6, 9, 12	12	6
Zrychlená s termolabilní látkou	25 °C, 60 % rel. vlhkosti	0, (1, 2), 3, 6	6	6

Tabulka III

Podmínky dlouhodobých testů pro jednotlivá klimatická pásma^{7,11}

Klimatické pásmo	Teplota [°C]	Relativní vlhkost [%]	Intervaly analýzy [měsíce]
I. a II. – mírné a subtropické	25 30 ^a	60 65 ^a	3, 6, 9, 12, 18, 24 (36, 48, 60)
III. – horké, suché	30	35	3, 6, 9, 12, 18, 24 (36, 48, 60)
IV. – horké, vlhké	30	65	3, 6, 9, 12, 18, 24 (36, 48, 60)

^a Podmínky vhodné alternativní dlouhodobé studie

Pozn.: Minimální délka studie při podání žádosti o registraci je 6 měsíců, resp. 12 měsíců pokud se jedná se o nestálou účinnou látku nebo kritickou lékovou formu

a pro stanovení skladovacích podmínek. Lze je také použít k ověření stability při krátkodobém skladování přípravku mimo navržené podmínky (např. při přepravě)^{1,9}.

Pokud generický přípravek vyhoví jakostním požadavkům během zrychleného testu s nejméně 4 odběrovými body, je možno stanovit dobu použitelnosti na 2 roky při normálních podmínkách skladování (přičemž se ale musí respektovat doba použitelnosti originálního přípravku), to je však ještě nutno doložit dodatečnou studií za normální teploty skladování.

Délka studie a podmínky skladování by měly být dostatečné, aby pokryly skladování, distribuci a běžné užití. Provádí se na 3 šaržích (pokud jde o stabilní látku, tak na 2 šaržích), které mají vyhovující kvalitu a vyrábí se stejným postupem jako šarže výrobní.

Teplota se musí udržovat v rozmezí ± 2 °C a relativní vlhkost vzduchu v rozmezí ± 5 %. Tyto limity platí u všech stabilitních studií. Pokud se během šestiměsíčních zrychlených testů objeví výrazná změna, mělo by se provést další testování za přechodných podmínek. Za výraznou změnu se považuje 5% ztráta účinnosti oproti původním hodnotám dané šarže, jakýkoliv rozkladný produkt, který překročí svůj specifický limit, zvýšení pH produktu nad stanovenou hodnotu, nevyhovění specifikaci fyzikálních vlastností a vzhledu^{1,7,10}.

Jiné skladovací podmínky jsou povoleny, pokud je to

oprávněné. Např. termolabilní účinné látky by se měly uchovávat za alternativních podmínek tzn. snížené teploty, která se následně stane skladovací teplotou při dlouhodobé stabilitní studii. U šestiměsíčních zrychlených testů se u termolabilní látky použije teplota o 15 °C vyšší než je navrhovaná skladovací teplota (viz tabulka II, cit.^{7,11}).

4.3. Dlouhodobé testy

Dlouhodobé testy se provádějí za doporučených podmínek skladování pro určení doby použitelnosti. Přípravky se testují v originálním uzavřeném primárním obalu. Použité metody by měly zachytit předpokládané změny během skladování, které mohou ovlivnit kvalitu, bezpečnost a účinnost léčivého přípravku. Musí se validovat a indikovat stabilitu. Limity zkoušek pro hodnocení stability by měly odpovídat specifikaci pro propuštění přípravku, s doplněním specifických zkoušek a limitů zohledňující vlastnosti daného léčiva či léčivého přípravku.

Podle Světové zdravotnické organizace jsou jednotlivé země zařazeny do různých klimatických pásem podle průměrných teplot a vlhkostí vzduchu na těchto územích dosahovaných. Dlouhodobé stabilitní studie by se měly provádět podle takových podmínek, které odpovídají danému klimatickému pásmu (tabulka III).

Do I. klimatického pásma patří severní Evropa, Kana-

Tabulka IV
Podmínky dlouhodobé studie při testování termolabilní účinné látky^{7,11}

Typ skladování	Podmínky skladování [°C]	Intervaly hodnocení [měsíce]	Celková délka studie [měsíce]	Min. délka studie při podání žádosti o registraci [měsíce]
Za chladu	5 ± 3	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24	24 (až 60)	12
Za mrazu	-20 ± 5	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24	24 (až 60)	12

da a většina Ruska, do II. klimatického pásma USA, Japonsko a jižní Evropa, do III. klimatického pásma např. Irán a Sudán a do IV. klimatického pásma např. Brazílie, Ghana a Indonésie.

Při testování přípravků s termolabilní účinnou látkou se zvolí podmínky uvedené v tabulce IV.

4.4. Následné stabilitní zkoušky

Jedná se o dlouhodobé testování, které si zajišťuje výrobce léčivých přípravků průběžně u vybraných šarží celého výrobního sortimentu za účelem neustálého sledování a monitorování technologie výroby, sledování kvality surovin, obalového materiálu a jejich vlivu na kvalitu a stabilitu léčiv a léčivých přípravků. Testy provádí nejméně na jedné výrobní šarži ročně za skutečných skladovacích podmínek. Zkouší se obvykle na začátku a pak po 6, 12 a 24 měsících a následně v ročních intervalech. Poslední zkouška je většinou rok po uplynutí doby expirace daného přípravku¹.

4.5. Změnové stabilitní zkoušky

Jakákoliv technologická změna ve výrobě, složení či vnitřním obalu výrobku může mít vliv na jeho bezpečnost, účinnost a stabilitu. Mezi tyto změny patří modifikace jednoho či více kroků stejné syntézy, změny syntézy účinné látky, změny složení konečného produktu, změna jeho vnitřního obalu a změna doby jeho použitelnosti. Výrobce je povinen tuto změnu oznámit příslušným úřadům a doložit vliv této změny příslušnými stabilitními studiemi.

Rozsah stabilitních zkoušek pro změny je odvozen od typu a závažnosti provedené změny. Závisí na stabilitě účinné látky, jejich fyzikálních a chemických vlastnostech, na vlastnostech lékové formy a na dalších údajích získaných z předchozích stresových testů a dlouhodobých a zrychlených stabilitních zkoušek¹.

4.6. Testy po prvním otevření obalu (in-use studie)

Tato studie se provádí u přípravků v multidávkovém balení po prvním otevření. Často se stává, že dokud je léčivo uzavřeno v obalu, zůstává stabilní, po prvním otevření se však mohou projevit známky nestability. Ty jsou většinou způsobeny kontaktem léčivého přípravku se vzduchem, může dojít i k mikrobiální kontaminaci.

Tato stabilitní studie má prokázat stabilitu otevřeného balení a na jejím základě je určena doba použitelnosti přípravku po prvním otevření. Testy by se měly provádět minimálně u dvou šarží produktu velikostí nejméně pilotní šarže. Alespoň u jedné šarže by se mělo testování provést na konci doby použitelnosti. Test by měl maximálně simulovat praktické používání přípravku, případně se test provádí po rekonstituci (např. u suchých sirupů, prášků pro suspenzi, aj.). U sterilních produktů se provádí maximálně 28 dní. Je též třeba uvést podmínky, za kterých sterilní přípravek s protimikrobní látkou zůstane sterilní po otevření. Další oblastí stabilitního testování je např. kompatibilita přípravků s infuzními roztoky a stabilita těchto roztoků při používání v praxi¹².

5. Trendy v oblasti stabilitních studií

Během 90. let minulého století vzrostl počet nadnárodních farmaceutických výrobců, kteří vyrábějí a distribuují své produkty po celém světě. Výrobci na sebe berou plnou odpovědnost za výzkum, vývoj, testování a registraci svého produktu. Běžnou praxí se v současné době stává to, že farmaceutická společnost vyrábějící určitý produkt zadá zpracování jeho stabilitních studií jiné firmě, která se touto oblastí zabývá. Tato firma pak stabilitní studie vyhotoví.

Nadnárodní společnosti většinou vznikají sjednocením menších firem. Současným trendem je standardizovat složení, obal přípravku a laboratorní postupy v různých místech výroby. To ovšem není vždy možné, neboť např. IV. klimatická zóna vyžaduje jiné obaly než ostatní zóny atd., podobně také pomocné látky nejsou vždy přijatelné v různých oblastech. Sladění požadavků mají zajistit různé mezinárodní předpisy (mezinárodní lékopisy, doporučení WHO a ICH atd.).

Systém zkoušek je někdy kritizován za to, že plně nezohledňuje podmínky distribuce a běžného užití v různých klimatických oblastech. Z tohoto důvodu se v současnosti uvažuje o zavedení dalších nových typů testů, které by lépe simulovaly podmínky běžného užití nebo byly zaměřené na sledování stability produktu při krátkodobém vystavení jiným podmínkám než jsou podmínky skladovací (vhodné při transportu léčivých přípravků poštou, který v některých oblastech zaznamenává velký nárůst)¹.

6. Závěr

Na stabilitu léčivých přípravků se celosvětově klade stále větší důraz. Pomocí správně provedených stabilitních testů lze pacientovi zaručit kvalitní, účinný a bezpečný přípravek. Trendem je v současnosti snaha o sjednocení požadavků na registraci přípravků a upravení systému zkoušek podle klimatických pásem v souvislosti s výrobou přípravků nadnárodními společnostmi. Některé zkoušky by v budoucnu měly být pozměněny tak, aby lépe simulovaly podmínky běžného užití. Nové testy by se také měly více zaměřit na sledování stability přípravků při krátkodobém vystavení jiným podmínkám než jsou skladovací podmínky. Zájem o stabilitní studie bude i v budoucnu vzrůstat, budou se vyvíjet nové metody, postupy a technologie pro jejich zdokonalení.

LITERATURA

1. Carstensen T. J., Rhodes C. T. (ed.): *Drug stability*. Marcel Dekker Inc., New York 2000.
2. Ministerstvo zdravotnictví České republiky: *Český lékopis 2002*. Grada Publishing a.s., 2002.
3. Chalabala M. (ed.): *Technologie léků*. Galén, Praha 2001.
4. Blešová M., Žemlička M.: *Analýza léčiv. Zkoušky totožnosti*. VFU Brno, Brno, 2001.
5. ICH Steering Committee: ICH Harmonised Tripartite Guideline: Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products: In www.ich.org, 1996, staženo 30. října 2003.
6. <https://www.fda.gov/cder/ondc/presentationHas Mukhi%20Palel.pps-253k>, staženo 20. února 2004.
7. ICH Steering Committee: ICH Harmonised Tripartite Guideline: Stability Testing of New Drug Substances and Products: In www.ich.org, 1993, staženo 30. října 2003.
8. <https://www.fda.gov/cder/guidance/oldo28fn.pdf>, staženo 5. ledna 2004.
9. Savickas A., Ramanauskienė K., Savickienė N., Kazlauskas S., Masteiková R., Chalupová Z.: *Čes. slov. Farm.* 53, 35 (2004).
10. <https://dg3.eudra.org/eudralex>, staženo 5. února 2004.
11. ICH Steering Committee: ICH Harmonised Tripartite Guideline: Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A(R2): In www.ich.org, 2003, staženo 5. června 2005.
12. <https://www.sukl.cz/download/pokyny/reg46.doc>, staženo 28. února 2004.

D. Vetchý, K. Frýbortová, M. Rabišková, and A. Häring (*Institute of Drug Technology, Faculty of Pharmacy, Veterinary and Pharmaceutical University, Brno*): **Stability Testing of Medicinal Preparations**

The review covers goals, methodology, and types of stability testing and its future trends as used in international context. As the interest in stability testing is currently increasing, new methods and procedures have been developed for its optimization. With continuing globalization, many attempts at their unification have been made and international guidelines and recommendations have been reported. This overview includes current procedures and recommendations dealing with some types of stability studies.

V ČR BYL SPUŠTĚN UNIKÁTNÍ BIOTECHNOLOGICKÝ PORTÁL

Všechny informace o biotechnologiích v České republice na jednom místě – to je motto ojedinělého internetového portálu www.gate2biotech.com, který vytvořilo Jihomoravské inovační centrum (JIC) ve spolupráci s vládní agenturou CzechInvest. Portál je určen zejména pro české biotechnologické firmy, instituce, ale i zahraniční subjekty a odbornou veřejnost.

Návštěvníci na anglicky psaném portálu najdou kompletní databázi českých biotechnologických firem rozdělenou podle jejich specializací, novinky z oboru, poptávku i nabídky spolupráce či pracovních pozic v sektoru, přehled probíhajících výzkumných projektů nebo souvisejících mezinárodních konferencí, veletrhů a dalších významných oborových událostí. Firmy podnikající v oboru tak mohou jednoduchým způsobem najít například výzkumná pracoviště nebo další partnery pro vyřešení technologických problémů, se kterými se potýkají. Praktický je i poměrně bohatý slovník biotechnologické terminologie, který je přístupný zdarma, stejně jako všechny další složky webové stránky Gate2Biotech. Tato není ovšem určena výhradně odborníkům, ale i širší veřejnosti. Zájemci zde mohou najít stanoviska specialistů k obecně diskutovaným tématům, jakými jsou například geneticky upravené potraviny, možnosti využití biotechnologií v domácnostech, při likvidaci odpadů a podobně.

KVARTÉRNÍ ISOCHINOLINOVÉ ALKALOIDY SANGUINARIN A CHELERYTHRIN. ÚČINKY IN VITRO A IN VIVO

ADÉLA ZDAŘILOVÁ^a, JANA MALÍKOVÁ^b,
ZDENĚK DVOŘÁK^a, JITKA ULRICHOVÁ^a
a VILÍM ŠIMÁNEK^a

^aÚstav lékařské chemie a biochemie, ^bÚstav patologie,
Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Hněvotínská 3,
775 15 Olomouc
jitkaulrichova@seznam.cz

Došlo 18.11.05, přijato 12.12.05.

Klíčová slova: kvartérní benzo[c]fenanthridiny, biologická aktivita, interakce, DNA, bílkoviny, biotransformace, bezpečnost, nežádoucí účinky

Obsah

1. Úvod
2. Chemické vlastnosti
3. Biologická aktivita
 - 3.1. Cytotoxicita a apoptóza
 - 3.2. Interakce s DNA a genotoxicita
 - 3.3. Interakce s bílkoviny
 - 3.4. Antimikrobiální aktivita
 - 3.5. Vliv na základní fyziologické funkce
 - 3.6. Metabolické transformace
4. Nežádoucí účinky
5. Závěr

Článek je přehledem výsledků studií o účincích sanguinarinu a chelerythrinu na metabolismus buňky a živý organismus, které byly publikovány v posledních 10 letech. Je diskutován molekulární mechanismus biologické aktivity obou alkaloidů a jsou uvedeny názory na možné směry jejich budoucího výzkumu.

1. Úvod

Kvartérní benzo[c]fenanthridinové alkaloidy (KBA), sanguinarin (SA) a chelerythrin (CHE), se vyskytují v řadě druhů čeledi Fumariaceae, Papaveraceae, Ranunculaceae a Rutaceae. Hlavním zdrojem SA (13-methyl[1,3]benzodioxolo[5,6-c]-1,3-dioxolo[4,5-i]fenanthridinium chloridu) a CHE (1,2-dimethoxy-12-methyl[1,3]benzodioxolo[5,6-c]fenanthridinium chloridu) jsou *Sanguinaria*

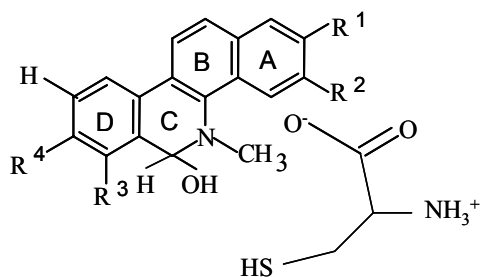
canadensis L. (krevnice kanadská), *Chelidonium majus* L. (vlaštovičník větší) a *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br., z nichž byly izolovány ve formě kvartérních solí¹. SA a CHE jsou považovány za fytoalexiny, sekundární metabolity chránící rostlinu před patogenními mikroorganismy. Výchozími aminokyselinami v biosyntéze KBA jsou tyrosin a fenylalanin, důležitými meziproducty jsou protopiny, posledním mezistupněm dihydroderiváty, které jsou oxidovány benzo[c]fenanthridinoxidásoou na kvartérní soli².

Sanguinarin a chelerythrin vykazují široké spektrum biologické aktivity, která závisí na zvoleném biologickém modelu, pH, iontové síle a oxidoredukčním statutu prostředí³. Mají protizánětlivý účinek srovnatelný s indomethacinem⁴ a výraznou antibakteriální aktivitu⁵. Směsi sanguinarinu a chelerythrinu, na trhu nabízené jako sanguiritrin (alkaloidový extrakt *M. cordata*) a sanguinaria (alkaloidový extrakt z rhizomů *S. canadensis*), jsou aktivními složkami přípravků ústní hygieny s prokázaným antiplakovým účinkem, resp. aditiva do krmiva hospodářských zvířat prodávaného v EU pod názvem SANGROVIT[®] (PHYTOBIOTICS Futterzusatzstoffe GmbH, Německo). Nicméně SA, CHE a jejich dihydroderiváty jsou považovány za toxické složky oleje semen rostlin rodu *Argemone*. Po jeho požití dochází u savců k akutnímu oxidačnímu stresu a jsou postiženy všechny životně důležité orgány. U lidí je tato otrava známa jako „epidemic dropsy syndrom“ (cit.^{6,7}). S benzo[c]akridinem, jediným v literatuře uváděným metabolitem KBA u živočichů, je spojována genotoxicita SA a CHE. Oba alkaloidy jsou pro své potenciální terapeutické, ale také jim přisuzované toxické účinky, stále atraktivními pro základní a aplikovaný výzkum v experimentální toxikologii a farmakologii. Tento článek shrnuje dosavadní poznatky o molekulárním mechanismu působení SA a CHE na buněčné modely a některé druhy savců.

2. Chemické vlastnosti

Ve vodném prostředí jsou SA a CHE v rovnováze mezi formou kvartérního kationu a formou 6-hydroxy-5,6-dihydroderivátu (tzv. pseudobáze či alkanolaminu), dále jen 6-hydroxydihydroderivátu^{8,9}. V aprotickém prostředí se tvoří bimolekulární aminoacetyly, jejichž struktura byla určena z ¹H, ¹³C NMR spekter¹⁰ a rentgenovou strukturní analýzou¹¹. Za fyziologického pH (7,2–7,4) procházejí alkaloidy buněčnou membránou ve formě 6-hydroxydihydroderivátu, který je v cytoplasmě v rovnováze s kvartérním kationem⁴. Rychlost průniku obou alkaloidů do buňky se liší v závislosti na velikosti rovnovážné konstanty tvorby 6-hydroxydihydroderivátu¹². 6-Hydroxydihydroderiváty reagují se sloučeninami substituovanými thiolovou skupinou, např. L-cysteinem, vratnou nevazebnou

interakcí (obr. 1) (cit.^{13,14}). Ve fosfátových puffech jsou oba alkaloidy omezeně rozpustné a dochází k jejich agregaci^{15,16}. Pro stanovení sanguinarinu a chelerythrinu



- 6-hydroxydihydrosanguinarin $R^1+R^2 = \text{OCH}_2\text{O}$,
 $R^3+R^4 = \text{OCH}_2\text{O}$
 6-hydroxydihydrochelerythrin $R^1+R^2 = \text{OCH}_2\text{O}$,
 $R^3 = R^4 = \text{OCH}_3$

Obr. 1. Nevazebná interakce 6-hydroxydihydrosanguinarinu a 6-hydroxydihydrochelerythrinu s cysteinem¹³

v biologickém materiálu byla v nedávné době vypracovaná validovaná HPLC/ESI-MS metoda s detekčním limitem fmol (cit.^{17,18}).

3. Biologická aktivita

3.1. Cytotoxicita a apoptóza

V tabulce I jsou uvedeny druhy buněk, na kterých byl testován toxický účinek SA a CHE (cit.^{19–31}). SA a CHE vykazovaly na všech buněčných modelech toxicitu závislou na čase a koncentraci. U řady buněk byla při toxických koncentracích alkaloidů pozorována vakuolizace. Cytotoxicita může být snížena řadou faktorů jako např. fetálním bovinním sérem v médiu, vzrůstajícím pH či přítomností exogenní potkaní S9 jaterní mikrosomální frakce¹⁹. Porovnání uváděných hodnot IC_{50} v tab. I nemá velkou vypovídající hodnotu zejména z důvodů nejednotně prováděných experimentů (různá doba inkubace buněk s testovanými látkami, použití rozdílných metod hodnocení životnosti). Z kvalitativního srovnání je však zřejmé, že CHE vykazuje nižší toxicitu než SA a není výrazný rozdíl v účinku obou alkaloidů na normální a nádorovou buňku.

Tabulka I
Cytotoxicita sanguinarinu a chelerythrinu

Typ buněk	IC_{50} [μM]	Alkaloid	Lit.
<i>Normální buňky</i>			
S-G gingivální epitelální buňky	7,6	SA	19
Gingivální buňky (PGC)	9	SA	19
HGF-1 gingivální fibroblasty	10,9	SA	19
Normální lidské fibroblasty	1,6	SA	20
HaCaT lidské keratinocyty	0,3 / 2,2	SA / CHE	21,22
Lidské epidermální keratinocyty (NHEKs)	> 10	SA	23
Lidské hepatocyty	71 / > 100	SA / CHE	24
Prasečí hepatocyty	47 / 83	SA / CHE	24
Potkaní hepatocyty	25 / 50	SA / CHE	25
<i>Nádorové buňky</i>			
Lidská promyelocytická leukemie HL-60	28 / 58	SA / CHE	26
Lidská nádorová buněčná linie HeLa	2,2 / 16,2	SA / CHE	12
Nádorové KB buňky	6,4	SA	19
Nádorové prsní adenokarcinomy (MCF7)	3,3	SA	20
Prostatické adenokarcinomy (PC3)	1,1	SA	20
Buněčná linie karcinomu tračníku (DLD-1)	1,4	SA	20
Lidská plicní nádorová buněčná linie (A 549)	1,9	SA	20
Lidské melanomy (M4Beu)	1,8	SA	20
Lidské buňky karcinomu kůže (A431)	2	SA	23
Buňky děložního čípku (HPV)	1,7	SA	27
HeLa S3	0,16/1,24 ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	SA / CHE	28
Lidská prostatická linie LNCaP	1	SA	29
Lidská prostatická linie DU145	1	SA	29
Primární lidská uveální nádorová buněčná linie (OCM-1)	2,7 / 6,7 ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	SA / CHE	30
Leukemická buněčná linie (K562)	5,5	SA	31
Leukemická buněčná linie (U937)	5	SA	31

Řada prací se zabývala studiem účinku SA a CHE na indukci apoptózy u normálních a nádorových buněčných linií^{23,29,30}. Apoptóza je nejstudovanější typ programované buněčné smrti (PCD). Jako PCD je označována buněčná smrt závislá na signálech nebo řízených aktivitách uvnitř umírající buňky. Při apoptóze ztrácí buňka nejprve asymetrii fosfolipidů v membráně, dochází ke kondenzaci chromatinu, redukci velikosti jádra, štěpení internukleosomové DNA, svraštění buňky, vydouvání membrány a rozpadu buňky na apoptotická tělíska obklopená zbytky membrány. Ty jsou v konečné fázi fagocytovány bez vzniku zánětlivé reakce. Naproti tomu při nekróze dochází k ireverzibilnímu poškození buňky a nitrobuňkový obsah se vyplavuje do okolí buněk, kde navodí zánětlivou reakci a úplný rozpad buňky. Tyto uvedené dva základní typy buněčné smrti nejsou jediné, nicméně sled morfologických a biochemických změn v procesu apoptózy a nekrózy je pro ně charakteristický a v podstatě u všech typů buněk podobný. Signální dráhy vedoucí k apoptóze je možné rozdělit na dvě skupiny: (i) vnitřní dráhu, která zprostředkovává většinu proapoptických signálů, vycházejících především z mitochondrií a je řízena vzájemným působením molekul rodiny Bcl-2 a (ii) vnější dráhu, jejíž spouštěcí mechanismus se děje aktivací receptorů na plasmatické membráně buněk. Výsledkem induktivního působení obou drah je aktivace specifických proteolytických enzymů kaspas.

Indukce apoptózy vyvolaná SA byla pozorována u buněčné linie A431 odvozené od lidského karcinomu kůže²³, lidských prsních (MCF-7) (cit.²⁰) a prostatických (PC-3, DU145, LNCaP) (cit.^{20,29}) nádorových buněčných linií, buněk melanomu (M4Beu) (cit.²⁰), děložního čípku²⁷, leukemické buněčné linie (U937) a myeloidních (ML-1a) buněk³², lidské leukemické buněčné linie (K562, JM1) (cit.^{33–35}), lidských immortalizovaných keratinocytů (HaCaT) (cit.²²) a fibroblastů²⁰. Apoptotická aktivita CHE byla pozorována v primárních kulturách potkaních neonatálních ventrikulárních myocytů³⁶, u lidských neuroblastomů (SH-SY5Y), prsní nádorové buněčné linie (MCF7) a buněčné linie karcinomu tračniku (HCT116) (cit.³⁷).

Mechanismy buněčné smrti vyvolané SA studoval na buňkách děložního čípku Ding a spol.²⁷. Účinek alkaloidu byl koncentračně závislý a indukoval buněčnou smrt. SA aplikovaný v koncentracích 2–4 μM vyvolal apoptózu doprovázenou aktivací kaspasy-3, koncentrace 8–17 μM způsobily onkózu, buněčnou smrt vyznačující se otokem, vakuolizací, zpuchřováním a zvýšenou permeabilitou cytoplasmatické membrány, při které nedochází k aktivaci kaspasy-3 (cit.²⁷). Stejně účinky měly SA a CHE na primární lidskou uveální nádorovou buněčnou linii (OCM-1) (cit.³⁰). Zatímco apoptóza byla pozorována při koncentraci SA a CHE 1,0 a 1,4 $\mu\text{g ml}^{-1}$, buněčná smrt způsobená nekrózou byla patrná u obou alkaloidů při koncentraci 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.³⁰). Studie inhibičního účinku SA na proliferaci linií melanomových (M4Beu), prsních (MCF-7) a prostatických (PC3) buněk a normálních lidských fibroblastů ukázala, že není výrazný rozdíl mezi toxicitou alkaloidu na nádorovou a zdravou buňku ($\text{IC}_{50} = 0,9\text{--}3,3 \mu\text{M}$

(cit.²⁰). Rychlá apoptotická reakce po aplikaci SA byla pravděpodobně vyvolána předčasným a kritickým vyčerpáním redukovaného glutathionu (GSH) reakcí alkaloidu s GSH a následnou aktivací kaspasy-3/7. Na základě těchto výsledků se autoři domnívají, že signální dráha zahrnující vyčerpání GSH s následnou indukcí apoptózy, by mohla být novým cílem v protinádorové terapii²⁰. Inkubace lidských immortalizovaných keratinocytů HaCaT se SA vedla k významnému poklesu antiapoptotického proteinu Bcl-2 a nárůstu proapoptotického Bax proteinu²². Bcl-2 tvoří s Bax proteinem heterodimer a tím může své proapoptotické účinky neutralizovat^{38,39}. Proteiny rodiny Bcl-2 (např. Bax, Bad, Bid) mají schopnost regulovat uvolnění cytochromu *c* z mitochondrií do cytosolu⁴⁰. Chan a spol.³⁷ označili CHE za inhibitor skupiny proteinů rodiny Bcl-2. Chelerythrin inhiboval BH3 doménu peptidové vazby Bcl-X_L-Bak ($\text{IC}_{50} = 1,5 \mu\text{M}$) a tím způsobil uvolnění cytochromu *c* nejen z intaktních, ale i z izolovaných mitochondrií³⁷. U kultivovaných neonatálních kryších srdečních myocytů indukoval CHE buněčnou smrt doprovázenou vznikem reaktivních kyslíkových radikálů (ROS) s charakteristickými znaky apoptózy, včetně buněčného svraštění, externalizace fosfatidylserinu či aktivace kaspas³⁶. Typická apoptotická smrt myocytů byla indukována v koncentračním rozmezí 6–30 μM , jež se užívá k zablokování aktivity proteinkinasy C (PKC) u srdečních myocytů. CHE vyvolal uvolnění cytochromu *c* z mitochondrií, které bylo inhibováno antioxidantem *N*-acetyl-L-cysteinem. To potvrdilo, že ROS mohou zprostředkovávat uvolnění cytochromu *c* vyvolané CHE. Chelerythrin může sloužit jako modelová látka k objasnění mechanismů signalizace včetně apoptózy³⁶.

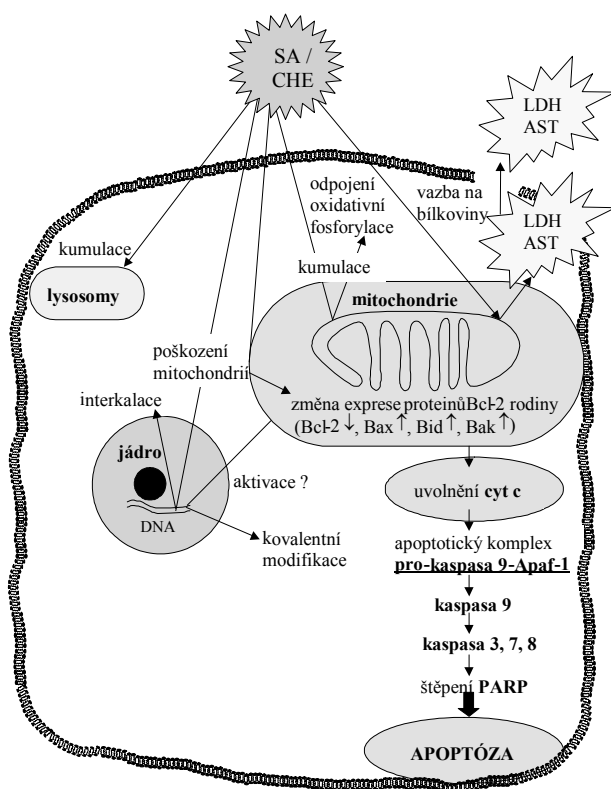
Mezi faktory ovlivňující apoptózu patří také protein NF- κB (cit.³⁵). Jedná se o jaderný transkripční faktor, který reguluje expresi cytokinů, proteinů buněčné adheze a dalších produktů genů, které se podílí na septickém šoku, ateroskleróze, zánětu, buněčné proliferaci a virové replikaci. V souvislosti s těmito poznatky byly zkoumány vztahy proteinů Bax, Bcl-2 a NF- κB uplatňující se během apoptózy indukované SA u lidských leukemických buněčných linií (K562) a (JM1) (cit.^{33–35}). Buňky K562 po aplikaci 1,5 a 12,5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ SA změnilly svou morfologii na morfologii dvou různých forem buněčné smrti. U 1,5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ SA se projevila klasická morfologie apoptózy, 12,5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ způsobilo buněčnou smrt podobnou onkóze s typickým zpuchřováním cytoplasmatické membrány (BCD). Nižší koncentrace SA indukovala apoptózu u buněk K562 zvýšením exprese Bax, aktivací kaspasy-3 a snížením proteinu NF- κB , zatímco vyšší koncentrace alkaloidu způsobila BCD snížením exprese Bax a zvýšením exprese proteinu NF- κB . Použití stejných koncentrací SA u buněk JM1 vyvolalo expresi Bcl-2 (cit.^{33–35}). Výsledky získané s buňkami K562 prokázaly, že protein Bax a aktivace kaspasy-3 působí proapoptoticky, zatímco aktivace NF- κB má opačný účinek. Nicméně mechanismus, kterým NF- κB inhiboval apoptózu, nebyl zcela vysvětlen³⁵. Chaturvedi a spol.³² studovali účinek SA a CHE na regulaci aktivace

Tabulka II

Interakce sanguinarinu a chelerythrinu se signálními molekulami zapojenými v apoptóze

Signální molekula	Účinek	Alkaloid	Lit.
Apaf-1	↑	SA	22
*Bak	↑	SA	22
*Bax	↑	SA	22, 33
*Bax/Bcl-2 (poměr)	↑	SA	22
*Bcl-2	↓	SA	22
*Bid	↑	SA	22
BH ₃ peptidová vazba (Bcl-X _L -Bak)	↓	CHE	37
Kaspasa-3	↑	SA / CHE	20, 22, 27, 36
Kaspasa-7	↑	SA	20, 22
Kaspasa-8	↑	SA	22
Kaspasa-9	↑	SA / CHE	22, 36
NF-κB	↓	SA	31, 32
TNF (IκBα, p65)	↓	SA	32

* Proteiny rodiny Bcl-2 patří mezi regulátory apoptózy. Tato rodina proteinů se skládá jak z inhibitorů, tak z promotorů programované buněčné smrti. U savců bylo identifikováno nejméně 15 členů rodiny, další byly identifikovány u virů. Mezi antiapoptotické proteiny patří Bcl-2, Bcl-X_L, Mcl-1, A1, Bcl-w, proapoptotické proteiny jsou Bax, Bak, Bcl-X_S, Bad, Bik a Bid. Bcl-2 reguluje také aktivaci kaspasových proteas, které jsou zodpovědné za konečnou efektorovou fázi apoptózy. ↑ aktivace, ↓ inhibice



Obr. 2. Působení sanguinarinu a chelerythrinu na buněčné orgány a indukci apoptózy

NF-κB u lidské myeloidní (ML-1a) a leukemické (U937) buněčné linie a u normálních lidských fibroblastů. Buňky byly vystaveny působení tumorového nekrotizujícího faktoru α (TNF-α), který aktivoval NF-κB. Účinkem SA (5 μM) byla aktivace NF-κB zcela inhibována. SA blokoval aktivaci NF-κB indukovanou nejen TNF-α, ale také interleukinem-1, forbolmyristylacetátem a kyselinou okadaovou. Aktivaci vyvolanou peroxidem vodíku a/nebo ceramidem SA neinhiboval. Jednou z možností, jak SA brání aktivaci NF-κB, by mohla být inhibice fosforylace a degradace IκBα inhibiční podjednotky NF-κB. CHE neměl na buňky ovlivněné TNF-α srovnatelný účinek³². SA blokoval vazbu aktivovaného NF-κB do promotorové oblasti DNA (cit.^{31,32}). SA a CHE překvapivě vyvolávaly v HeLa buňkách rychlou a intenzivní jadernou translokaci heterodimeru p50/p65 (aktivní forma NF-κB) (cit.⁴¹). Nicméně NF-κB nebyl i přes svou přítomnost v jádře transkripčně aktivní. Tato pozorování jsou z hlediska mechanismu účinku podobná výsledkům Duvoix a spol.³¹, ale pouze částečně shodná s výsledky Chaturvediho a spol.³². V práci⁴¹ byl pozorovaný jev vysvětlen současnou indukcí jaderné translokace glukokortikoidního receptoru působením SA a CHE. Homodimer GR/GR interaguje s p50/p65 a výsledným stavem jsou transkripčně neaktivní GR i NF-κB. V souvislosti s ovlivněním aktivace NF-κB byla zjištěna schopnost SA inhibovat Na⁺/K⁺-ATPasu^{42,43}. Bylo prokázáno, že ouabain, inhibitor Na⁺/K⁺-ATPasy, nemá žádný účinek na aktivaci faktoru NF-κB vyvolanou TNF-α. Tedy SA neinhibuje aktivaci NF-κB cestou blokáce ATPasy (cit.³²).

Výsledky těchto studií dostatečně prokázaly, že oba

alkaloidy indukují apoptotické faktory (tab. II). Úplné objasnění mechanismu jejich vlivu na apoptózu by mohlo přispět k potenciálnímu terapeutickému použití těchto látek. Účinky SA a CHE na buňku jsou schématicky znázorněny na obr. 2.

3.2. Interakce s DNA a genotoxicita

Mezi možné cíle SA a CHE v buňce patří jaderná a mitochondriální DNA. *In vitro* oba alkaloidy interkalují do DNA (souborně v cit.⁴⁴). SA a CHE patří do skupiny hydrofobních kationů, které se v průběhu aktivace membrány hromadí na vnější straně vnitřní mitochondriální membrány, kde neutralizují negativní náboj a dochází k odpojení oxidativní fosforylace. Analýza ¹H-NMR potvrdila, že SA se interkaluje do DNA izolované z telecího brzlíku⁴⁵. Termodynamická charakterizace interakce SA s DNA vyhodnocená kombinací dat z absorpčních a fluorescenčních spekter ukázala, že vazba SA s DNA je závislá na iontové síle, základním složení roztoku a sekvenci párů nukleotidů⁴⁶. Interakce SA s DNA, homo- a heteropolymery AT byla charakterizována negativní změnou entalpie a pozitivní změnou entropie, zatímco vazba s homo- a heteropolymery GC byla vyjádřena negativní změnou entropie a entalpie. Das a spol.⁴⁷ studovali interakci SA s B-, Z-, a H^L-formami DNA pomocí cirkulárního dichroismu a spektrofotometricky. Dřívější studie uvádějí, že SA ve formě kvartérního kationtu se váže na B-formu DNA interkalací, přednostně na sekvence bohaté na GC (cit.⁴⁶), zatímco 6-hydroxydihydroderivát se na DNA neváže^{48,49}. SA neinteraguje s formami Z- a H^L-DNA, ale mění je na B-formu. Studie^{47,50} potvrdily, že v molekule DNA při interakci SA s GC sekvencemi dochází ke konformačním změnám. Metodou kapilární zónové elektroforézy bylo prokázáno, že za fyziologického pH nedochází ke kovalentní vazbě SA a CHE na DNA a individuální nukleotidy. Jejich vzájemná interakce je založena na vzniku nevezbných komplexů pomocí slabé intermolekulární síly⁵¹. Kombinací spektrofluorometrické, spektrofotometrické a viskozimetrické metody byla studována interakce SA s RNA (cit.⁵²). Alkaloid se vázal na A- a protonizovanou formu RNA a jejich vzájemná interakce byla exotermickým procesem; vazba SA na protonizovanou formu byla pevnější.

Genotoxicita látky vylučuje její použití jako aktivní složky v humánních, resp. veterinárních přípravcích. U SA a CHE nebyl dosud možný genotoxický účinek věrohodně vyhodnocen. Studie *in vitro* neprokázaly genotoxicitu KBA (cit.^{53–55}), zatímco výsledky ze studií *in vivo* jsou rozporuplné^{56–60}. Genotoxicita KBA byla testována na lidských lymfocytech a lidské hepatomové linii HepG2 pomocí mikrojaderného testu v cytokineticém bloku, a to v přítomnosti a/nebo nepřítomnosti exogenní S9 frakce z potkaních jater. SA nezpůsobil indukcii aktivity jaderek ani v lidských lymfocytech, ani v buňkách HepG2 (cit.⁵⁴). SA nevykazoval genotoxicitu při použití SOS chromotestu (zkouška genotoxicity upraveným laboratorním protokolem *Escherichiae coli* PQ37) v přítomnosti a/nebo

nepřítomnosti exogenní S9 frakce z potkaních jater⁵³. Výsledky byly porovnávány s Amesovým testem, který rovněž byl negativní. Metodou „³²P-postlabeling“ byly nalezeny modifikované nukleotidy po inkubaci DNA se SA a CHE v přítomnosti mikrosomální frakce z potkaních jater indukované β-naftoflavonem⁵⁵. Tento výsledek nevyloučil, ale ani nepotvrdil genotoxicitu obou alkaloidů. U myši, kterým byl intraperitoneálně podán SA v dávce 10 mg kg⁻¹, bylo zjištěno poškození chromosomů u buněk kostní dřene⁵⁶. Intraperitoneální podání alkaloidu myším v dávkách 5,4 a 10,8 mg kg⁻¹ vedlo k poškození DNA v buňkách kostní dřene a v leukocytech⁵⁷. Topická aplikace 6 mg ml⁻¹ SA na kůži u myši způsobila poškození DNA buněk epidermu prokázané metodou „Comet assay“ (cit.⁵⁸). V pokusech prováděných na prasatech⁵⁹ a potkanech⁶⁰, kdy v krmivu byla podávána denní dávka směsi SA a CHE (6:2) 10 mg kg⁻¹ po dobu 90, resp. 109 dnů, nebylo metodou „³²P-postlabeling“ nalezeno žádné poškození jaterní DNA. Stejně výsledky byly získány u potkanů, kde byl účinek na DNA hepatocytů navíc hodnocen metodou „Comet assay“ a stanovením 8-hydroxy-2'-deoxyguanosinu jako parametru oxidačního poškození DNA. Rozdílné výsledky v experimentech *in vivo* je možné vysvětlit pouze způsobem aplikace KBA. Poškození DNA nalezené po intraperitoneálním podání KBA nelze vztáhnout na účinek alkaloidů aplikovaných externě. Při podání stejné dávky KBA *per os* jsou reálné hladiny alkaloidů ve vnitřním prostředí nesrovnatelně nižší a rozdílná je také jejich metabolisace.

3.3. Interakce s bílkovinami

Biologická aktivita KBA byla vždy spojována s jejich inhibičním účinkem na fyziologicky důležité enzymy. Mechanismem vysvětlujícím inhibici enzymů je adice nukleofilních skupin bílkoviny na iminiovou vazbu kvartérní formy SA, resp. CHE. Inhibici lze potlačit přidáním GSH, dithiothreitolu (DTT) či jiné protektivní SH-látky. V tabulce III jsou uvedeny pouze ty enzymy, pro které byla změřena buď IC₅₀ nebo hodnota K_i se SA/CHE. V dalším textu jsou zmíněny studie, u kterých byl inhibiční účinek alkaloidu prokázán pouze kvalitativně. SA a CHE inhibovaly prasečí pankreatickou a lidskou slinnou alfa-amylasu⁶¹. SA inhiboval enzymovou aktivitu kinasy, která fosforyluje specifický protein –44 kDa přítomný v mitochondriální frakci potkaního srdce⁶². Inhibiční účinky SA a CHE byly testovány také na membránových proteasách, které neobsahují skupinu SH, aminopeptidase N a dipeptidylpeptidase IV. Tyto enzymy se účastní procesu buněčné aktivace a diferenciaci^{63,64}. Modelem byly C6 potkaní nádorové buněčné linie. Za zvolených experimentálních podmínek byly alkaloidy přítomny ve formě 6-hydroxydihydroderivátů, které jsou formou tvořící nevezbné komplexy s bílkovinami¹³. SA a CHE inhibovaly aktivitu obou enzymů. Hovězí albumin při pH 7,4 snižoval jejich inhibiční účinek.

Vliv SA na svalové bílkoviny byl rovněž studován na

Tabulka III
Inhibice enzymů sanguinarinem a chelerythrinem

Enzymy	IC ₅₀ (K _i) [μM]	Alkaloid	Lit.
Acetylcholinesterasa	10,9 ^a ; 35,0 ^b ; 81 ^c ; 10 ^d ; >160 ^e / 9,4 ^b (1,5 ^a); >160 ^e	SA / CHE	65–69
Acetylcholintransferasa	0,28 ^o	SA	65
Alaninaminotransferasa	3,4 ^f / 4,0 ^f	SA / CHE	70
Aminooxidasa I, II	(600) ^g / (900) ^g	SA / CHE	71
Na ⁺ /K ⁺ -ATPasa	6,0-6,5 ^h	SA	72
Butyrylcholinesterasa	17,4 ⁱ ; 24,0 ^e / 14 ^e	SA / CH	65,73
Cytochrom P450 1A2	(2) ^{j,k}	SA	74
Dekarboxylasa L-aromatických aminokyselin	(120) ^l / 580 ^l	SA / CHE	75
Diaminooxidasa	5,0 ^e	SA	76
Elastasa	16 ^m ; 6,2 ⁿ	SA	77
Glutamátdekarboxylasa	(70) ^b	SA	78
5-Lipoxigenasa	0,4 ^p / 0,8 ^p	SA / CHE	79
12-Lipoxigenasa	13 ^r / 33 ^r	SA / CHE	79
MKP-1	10	SA	80
Monoaminooxidasa	24,5 ^s	SA	81
Myosin „light chain“ kinasa	158 ^t	SA	82
NADPH-oxidasa	8,3 ^u	SA	83
NADPH:cytochrom P450-reduktasa	21,8 ^k	SA	83
Proteinkinasa C	217 ^b ; 16 ^f / 25 ^f	SA / CHE	82,84
Ca ²⁺ -dependentní proteinkinasa	41 ^v	SA	82
Cyklická AMP-dependentní proteinkinasa	6,0 ^f	SA	82

^a *Electrophorus electricus*, ^b potkaní mozek, ^c lidský erytrocyt, ^d čistý enzym, ^e lidská plasma, ^f potkaní játra, ^g *Aspergillus niger*, ^h srdeční sval morčete, ⁱ koňské sérum, ^j lidské rekombinantní, ^k lidské jaterní mikrosomy, ^l myši fibroblasty, ^m slinivka břišní, ⁿ lidský hlen, ^o telecí mozek, ^p telecí neutrofil, ^r myši keratinocyt, ^s myši mozek, ^t ptačí předžaludek, ^u postgranulární frakce diferencovaných HL-60, ^v pšeničný klíček

třech izolovaných tkáních hlodavců – aortě, bránici a myokardu. SA uvolňoval hladké svalstvo izolované aorty potkana po kontrakci iniciované fenylefrinem (PE) (cit.⁸⁵). Účinek SA lze vysvětlit inhibicí tvorby inositol-1,4,5-trifosfátu a influxu iontů Ca²⁺. SA inhiboval kontrakci v rozmezí 0,3–10 μM. Kontrakce aorty indukovaná ionty K⁺ byla pozorována až při koncentracích SA 10–100 μM. Inhibiční účinek SA byl potlačen DTT, pravděpodobně ochranou skupin SH na klíčových molekulách regulujících svalovou kontrakci. Na rozdíl od hladkého svalu, SA pozitivně ovlivňoval kontraktilitu příčně pruhovaného svalstva bránice izolované z myši, pravděpodobně v důsledku přímého působení na Ca²⁺ kanál sarkoplasmatického retikula (SR). SA indukované uvolnění Ca²⁺ ze SR bylo blokováno působením rutheniové červeně a DTT (cit.⁸⁶). Pozitivně inotropní účinek SA byl zaznamenán na srdečním svalstvu izolovaném z potkana⁸⁷. SA indukovaná kontrakce byla potlačena preinkubací myokardu s La³⁺ nebo Ca²⁺ ionty. V kultuře kardiomyocytů SA zvyšoval influx Ca²⁺, který byl inhibován preinkubací s La³⁺ ionty. SA indukovaný influx Ca²⁺ iontů nebyl inhibován preinkubací s blokátory Ca²⁺ kanálu amiloridem, diltiazemem, nifedipinem, verapamilem, manganem a niklem. Kontraktilní účinek SA je pravděpodobně spojen s influxem Ca²⁺ iontů přes La³⁺

senzitivní iontové kanály. Intoxikace organismu SA by mohla vyvolat infarkt myokardu⁸⁷.

SA, resp. CHE byly testovány jako ligandy na několika membránových receptorech. Hodnoty jejich IC₅₀ jsou uvedeny v tabulce IV. Vazba SA na angiotensinový AT₁ receptor (K_i = 1,29 μM) (cit.⁸⁸) je možným vysvětlením, proč je v lidovém léčitelství používán k léčbě vysokého krevního tlaku extrakt z kořenů *Bocconia frutescens* L. (cit.^{89,90}). Interakce SA s tímto receptorem je však ireverzibilní a nekompetitivní⁹¹.

Biologická aktivita SA by mohla mít spojitost se signálními drahami aryluhlovodíkového receptoru (AhR) a s podrodinou CYP1A cytochromu P450. První úvaha, že účinek SA *in vivo* by mohl být ovlivněn AhR nebo CYP1A enzymy, vycházela z pozorování, že toxicita SA u myši byla výrazně snížena po premedikaci experimentálních zvířat induktorem CYP1A enzymu 3-methylcholanthrenem⁹². Podobný účinek byl popsán *in vitro* (cit.⁷⁴). Cytotoxicita SA v primárních kulturách potkaních hepatocytů a v lidské hepatomové linii HepG2 byla snížena preinkubací s induktory CYP1A, TCDD, 3-methylcholanthrenem a β-naftoflavonem⁷⁴. Po inkubaci SA s potkaními jaterními mikrosomy, které byly izolovány ze zvířat vystavených účinku CYP1A induktorů, byla zazna-

Tabulka IV

In vitro interakce sanguinarinu a chelerythrinu s receptory

Receptor	IC ₅₀ (K _i) [μM]	Alkaloid	Lit.
Angiotensin II-AT ₁	1,90 (1,29) / 9,93 (6,76)	SA / CHE	88
Angiotensin II-AT ₁	4,37 (0,14)	SA	91
Vasopresin V ₁	7	SA	98
α ₁ -Adrenoreceptor	33,6	SA	65
α ₂ - Adrenoreceptor	6,4	SA	65
Nikotinový Ach	11,8	SA	65
Muskarinový	2,4	SA	65
Serotoninový 5-HT ₂	91,7	SA	65

menána produkce reaktivních species, tvořících DNA adukty⁵⁵. Toxicita SA *in vivo/in vitro* může být modulována AhR-závislou CYP1A inducibilní expresí. Bylo popsáno, že SA aktivuje signální a metabolické dráhy závislé na receptoru AhR v lidských keratinocytech⁹³. Autoři popisují indukci AhR-závislé exprese CYP1A a dalších genů účinkem SA. Věrohodnost výsledků publikovaných v této práci byla však zpochybněna⁹⁴. Jiní autoři naopak pozorovali, že SA a CHE neovlivňují aktivitu AhR a exprese CYP1A1 genu^{95,96}. Nicméně oba alkaloidy inhibovaly katalytickou aktivitu CYP1A1 (cit.^{93,95}). V obou studiích byly použity subtoxické koncentrace alkaloidů 0,25 a 0,5 μM, resp. 0,01; 0,1; a 1 μM. Pro koncentrace nad 4 μM se již začínal projevovat inhibiční účinek SA a CHE na proteinkinasu C (PKC). Jelikož funkční PKC je nezbytná pro aktivaci AhR, byl účinek SA a CHE ve vyšších koncentracích na buněčné kultury logicky příčinou inhibice dioxin-závislé aktivity AhR (cit.⁹⁷). Účinná inhibiční koncentrace vs. vlastní cytotoxicita SA a CHE je častým předmětem sporů.

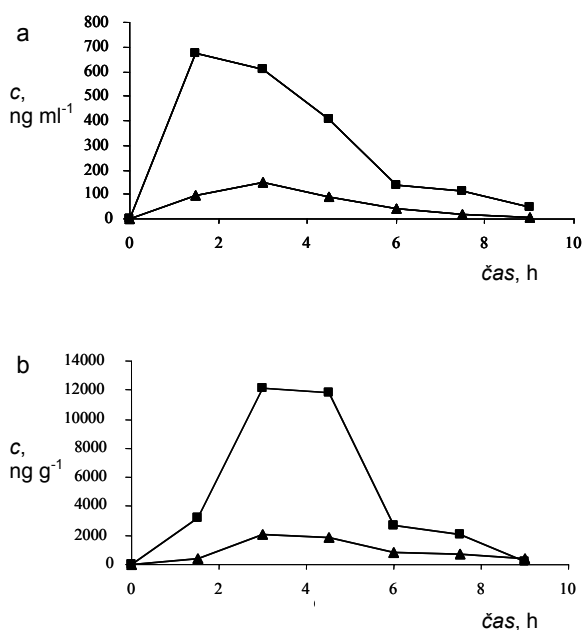
3.4. Antimikrobiální aktivita

V rostlinách mají SA a CHE funkci fytoalexinů. Spektrum jejich antimikrobiální aktivity je čini výjimečnými mezi sekundárními metabolity. Rostliny čeledi Rutaceae byly využívány v rovníkové Africe v ústní hygieně (čisticí dřívka) (cit.^{1,5,99}). Již dříve byla popsána jejich bakteriostatická a baktericidní aktivita vůči gram-pozitivním a gram-negativním bakteriím^{100–102}, plísním¹⁰³ a kvasinkám¹⁰⁴. Z nedávné doby jsou studie o jejich inhibičních účincích na několik druhů *Mycobacterium*¹⁰⁵, *Helicobacter pylori*¹⁰⁶ a *Trypanosoma brucei*¹⁰⁷.

Zajímavým zjištěním byla inhibiční aktivita dihydroSA/dihydroCHE vůči *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* a *Candida albicans*, srovnatelná s gentamicinem¹⁰⁸. Možným vysvětlením je vyšší lipofilita redukováné formy kvartérního kationu, což umožňuje jeho penetraci přes mikrobiální stěnu a následně může docházet ke zpětné konverzi dihydroderivátu na kvartérní formu. Podobně je vysvětlována větší antimikrobiální účinnost SA vs CHE ve vztahu k hodnotě rovnovážné konstanty tvorby 6-hydroxydihydroderivátů.

3.5. Vliv na základní fyziologické funkce

Široké spektrum účinků SA a CHE popisované v experimentech na buněčných modelech nemůže dát odpověď na působení těchto látek na celý organismus. Je zajímavé, že přes mnohaleté používání extraktů obsahujících KBA v alternativní medicíně a přípravcích ústní hygieny bylo publikováno pouze několik studií na zvířatech, které hodnotí vliv SA a CHE na základní fyziologické funkce. Jednotlivé studie^{59,60,92,109} se liší způsobem podání zkoušených látek. Williams a spol.⁹² testovali u myši vliv 3-methylcholanthrenu (3-MC) na poškození jater vyvolané intraperitoneálně aplikovaným SA v jednorázové dávce 10 mg kg⁻¹. Po podání SA došlo u zvířat k výraznému snížení hladiny GSH v krvi, aktivity cytochromu P450, aminopyrin-*N*-demethylasy a alaninhydroxylasy, zatímco aktivity sorbitoldehydrogenasy (SDH) a alaninaminotransferasy (ALT) se zvýšily. Intraperitoneálně podaná dávka SA (20 mg kg⁻¹) myším, premedikovaným 3-MC, nevyvolala pokles hladiny GSH a nevedla ke snížení aktivity cytochromu P450 a aminopyrin-*N*-demethylasy. 3-MC neměl ochranný účinek na alaninhydroxylasy, ale došlo ke snížení sérové SDH a ALT. Velmi problematické výsledky publikoval v roce 1992 Tandon a spol.¹⁰⁹. Po jednorázovém podání SA žaludeční sondou v dávce 10 mg kg⁻¹ potkanům a morčatům bylo sledováno jeho vylučování močí a výkaly po dobu 96 h a stanoven v trávicím traktu a různých orgánech zvířat. V moči a výkalech nebyla přítomnost alkaloidu prokázána po 72 h a jako jediný metabolit byl identifikován benzo[*c*]akridin. SA byl nalezen ve všech orgánech potkanů a morčat s výjimkou sleziny a varlat. V práci Kosiny a spol.⁵⁹ byla prasatům podávána v krmivu směs SA a CHE (6:2) v denní dávce 5 mg kg⁻¹. Po 90 dnech nebyly nalezeny žádné změny u základních parametrů klinické biochemie a prokázáno genotoxické poškození jaterní DNA. Celkový zdravotní stav experimentální skupiny byl shodný s kontrolní skupinou, morfoloické vyšetření tkání byla negativní, z celkového množství stanovených alkaloidů se 98 % vylučovalo výkaly. Ve stejném vedeném experimentu na potkanech (směs SA a CHE v denní dávce 10 mg kg⁻¹ po dobu 109 dnů) byly



Obr. 3. Metabolismus sanguinarinu v plasmě a játrech potkana po jednorázové aplikaci *per os* 10 mg kg⁻¹ (cit.¹¹¹); ▲ SA, ■ DHSA

získány obdobné výsledky⁶⁰. V hepatocytech nebyly nalezeny žádné adukty nukleotidů ani poškození jaderné a mitochondriální DNA. Výsledky obou experimentů nasvědčují tomu, že dlouhodobé podávání KBA nemá toxický účinek na organismus savců.

3.6. Metabolické transformace

Benzo[*c*]akridin se od roku 1961 v literatuře uvádí jako jediný metabolit SA u savců¹¹⁰. Tato potenciálně karcinogenní látka je považována za příčinu oxidačního stresu vyvolaného po požití oleje ze semen *A. mexicana* u lidí a hospodářských zvířat⁴³. Že se může jednat o artefakt, bylo již poukázáno⁹⁴. V nedávné době byla studována metabolická přeměna SA u potkanů^{17,111}. Zvířatům byl podán jednorázově SA sondou v dávce 10 mg kg⁻¹ a stanovena v 30 min intervalech jeho hladina v plasmě a játrech. Vedle SA byl vždy přítomen DHSA, a to ve větším množství než výchozí látka (obr. 3), v moči nebyly obě látky nalezeny. V žádném vzorku nebyla prokázána přítomnost benzo[*c*]akridinu. Psotová a spol.¹⁷ předpokládají, že tvorba DHSA je prvním krokem detoxikace SA v organismu a jeho pozdější eliminace ve formě polárních konjugátů. K redukci SA na DHSA dochází již v trávicím traktu především mikrobiálními reduktasami. Po absorpci obou alkaloidů je SA dále redukován nespecifickými cytosolickými a mikrosomálními reduktasami¹⁷. Experiment s [³H]-SA potvrdil distribuci alkaloidu do všech orgánů potkana

a rovněž, že cca 98 % orálně podávaného SA je vylučováno výkaly¹¹¹.

4. Nežádoucí účinky

Antimikrobiálních a protizánětlivých účinků SA a CHE je využíváno v přípravcích ústní hygieny. V posledních 5 letech je diskutována bezpečnost při dlouhodobém používání těchto přípravků. KBA byly označeny jako příčina vzniku prekancerózních lézí na sliznici dutiny ústní^{112–115}. Vzhledem k určité podobnosti těchto alkaloidů se známými karcinogeny – polycyklickými aromatickými uhlovodíky by se na možných nežádoucích účincích mohla podílet buď metabolická aktivace, přímá interakce nebo indukovatelnost některé z izoform cytochromu P450, nejpravděpodobněji s CYP1A1 a 1B1 (cit.⁹³). Naproti tomu existují *in vivo* studie mutagenicity, genotoxicity a onkogenetické studie, které tyto nežádoucí účinky nepotvrdily. Rovněž v dlouhodobém experimentu Munro a spol.¹¹⁶ nebyl potvrzen toxický vliv SA na sliznici praseťáku. Výsledky z *in vitro* studií a *in vivo* experimentů neprokazují ani jednoznačně nevyvrácí vztah mezi SA a vznikem leukoplakie. SA v koncentraci 100 a 300 nM inhiboval syntézu vaskulárního endoteliálního růstového faktoru a zvyšoval aktivitu peroxidasy, katalasy a superoxidodismutasy u granulocitních buněk praseťáku, což může negativně ovlivňovat jeho reprodukční schopnosti¹¹⁷.

5. Závěr

Existuje několik důvodů, proč sanguinarin a chelerythrin zůstanou i v blízké budoucnosti předmětem zájmu farmaceutických chemiků a farmakologů. Jejich farmakodynamické účinky jsou pravděpodobně komplexním účinkem všech tří forem, které jsou ve vnitřním prostředí v dynamické rovnováze (schéma 1). Prvním problémem, který musí být objasněn, je tvorba a struktura metabolitů u savců a ověření jejich biologické aktivity. Již nyní je prokázáno, že metabolická transformace SA a CHE začíná v trávicím traktu. Metabolitem SA, který se vylučuje močí, není benzo[*c*]akridin, jak je dosud v literatuře citováno. Znalost metabolických přeměn SA a CHE také přispěje k vysvětlení, co je toxickou látkou/látkami v oleji semen rostlin rodu *Argemone*. Zůstává nezodpovězeno, jakým způsobem KBA reagují s jadernou a/nebo mitochondriální DNA, a které struktury v buňce jsou pro tyto alkaloidy cílové. Odpověď na tuto otázku objasní, zda i velmi nízké koncentrace SA a CHE v organismu mohou mít toxické účinky. Kumulace alkaloidů v tkáních by byla možným vysvětlením pro experimentálně neprokázanou transformaci gingiválních fibroblastů, vedoucí k dysplazii epitelu sliznice dutiny ústní. Pro výrazné změny fluorescence KBA v závislosti na koncentraci vodíkových iontů a jejich rozdílné afinity k buněčným strukturám mohou být SA a CHE použity jako sondy v některých metodách molekuly

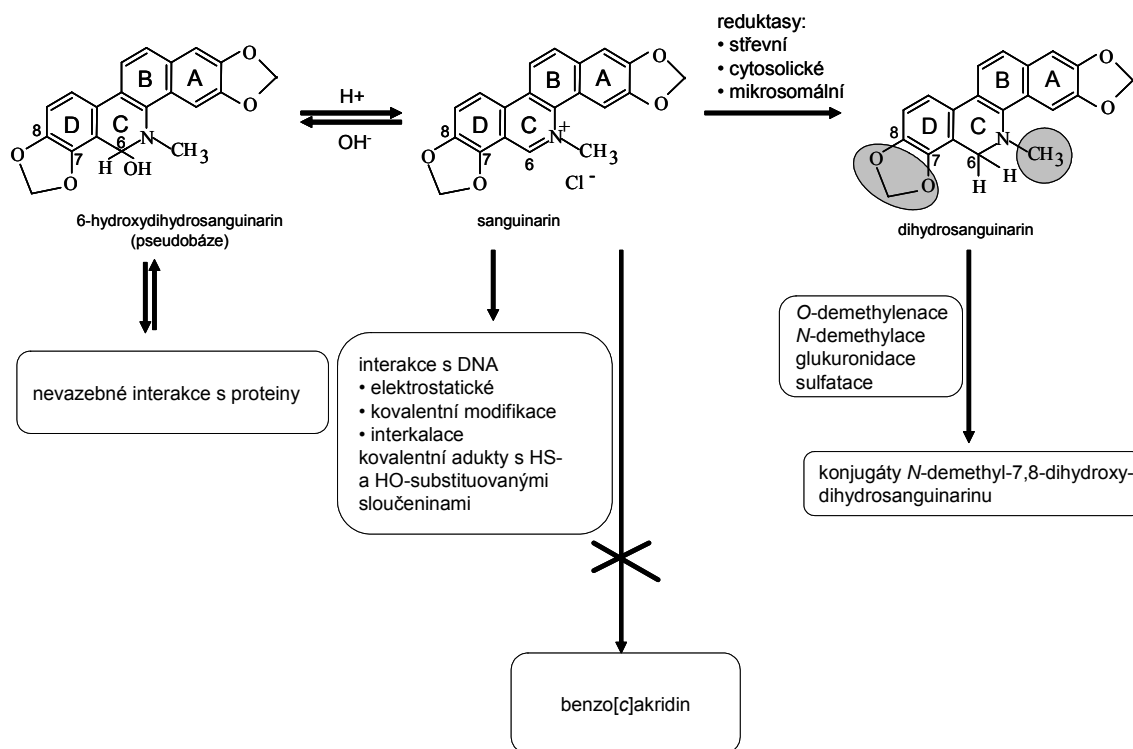


Schéma 1. **Transformace sanguinarinu u živočichů;** Rovnováha mezi sanguinarinem a jeho 6-hydroxydihydroderivátem závisí na pH a prostředí buňky. Střevní, cytosolické a mikrosomální reduktasy přeměňují sanguinarin na dihydrosanguinarin, který je transformován na polární konjugáty a vylučován močí (cit.³)

lární biologie. Oba alkaloidy jsou také, vedle jejich současného využití v kosmetických a veterinárních fytopřípravcích, stále zajímavé pro farmaceutický průmysl pro svou potenciální cytostatickou účinnost.

Tato práce vznikla za podpory MŠMT ČR (6198959216) a je věnována Jaroslavu Vičarovi k jeho životnímu jubileu.

Seznam symbolů a zkratk

AhR	aryluhlovodíkový receptor
ALT	alaninaminotransferasa
Apaf-1	faktor aktivující apoptotické proteasy 1
AST	aspartátaminotransferasa
BCD	buněčná smrt podobná onkóze s typickým zpuchřováním cytoplasmatické membrány (b lister c ell d eath)
CYP	cytochrom P450
GSH	redukováný glutathion
DTT	dithiothreitol
GR/GR	glukokortikoidní receptor – homodimer
CHE	chelythrin
IC ₅₀	koncentrace způsobující 50%-ní inhibici

IκBα	enzymu inhibiční podjednotka jaderného faktoru kappa B (NF-κB)
Kaspasa-3,7,9	specifické proteasy (cystein-dependent asp artate-specific proteases)
KBA	kvartérní benzo[c]fenanthridinové alkaloidy
LDH	laktátdehydrogenasa
MKP-1	mitogeny aktivovaná proteinkinasa-fosfataza
3-MC	3-methylcholanthren
NF-κB	jaderný faktor kappa B
PCD	programovaná buněčná smrt (p rogramme c ell d eath)
PE	fenylefrin
PKC	proteinkinasa C
p50/p65	podjednotky jaderného faktoru kappa B (NF-κB)
ROS	reaktivní kyslíkové radikály (r eactive o xygen s pecies)
SA	sanguinarin
SDH	sorbitoldehydrogenasa
TCDD	2,3,7,8-tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin
TNF-α	tumorový nekrotizující faktor

LITERATURA

1. Šimánek V., v knize: *The Alkaloids* (Brossi A., ed.), 26, str. 185. Academic Press, Orlando 1985.
2. Cline S. D., McHale R. J., Coscia C. J.: *J. Nat. Prod.* 56, 1219 (1993).
3. Ulrichová J.: *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub. (Supplement)* 149, 9 (2005).
4. Lenfeld J., Kroutil M., Maršálek E., Slavík J., Preininger V., Šimánek V.: *Planta Med.* 43, 161 (1981).
5. Vavrečková C., Ulrichová J.: *Chem. Listy* 88, 238 (1994).
6. Šimánek V., Vespalec R., Šedo A., Ulrichová J., Vičar J., v knize: *Chemical Probes in Biology* (M. P. Schneider, ed.) NATO Science Series, II. Mathematics, Physics and Chemistry 129, str. 245. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 2003.
7. Šimánek V., Zdařilová A., Ulrichová J.: *Ann. Pol. Chem. Soc.* 3, 613 (2004).
8. Dostál J., Slavík J.: *Chem. Listy* 94, 15 (2000).
9. Dostál J., Slavík J., v knize: *Studies in Natural Products Chemistry* (Atta-ur-Rahman, ed.) 27, str. 155. Elsevier, Amsterdam 2002.
10. Dostál J., Bochořáková H., Táborská E., Slavík J., Potáček M., Buděšinský M., de Hoffmann E.: *J. Nat. Prod.* 59, 599 (1996).
11. Toušek J., Dommissie R., Dostál J., Žák Z., Pieters L., Marek R.: *J. Mol. Struct.* 613, 103 (2002).
12. Slaninová I., Táborská E., Bochořáková H., Slanina J.: *Cell Biol. Toxicol.* 17, 51 (2001).
13. Barták P., Šimánek V., Vlčková M., Ulrichová J., Vespalec R.: *J. Phys. Org. Chem.* 16, 803 (2003).
14. Vespalec R., Barták P., Šimánek V., Vlčková M.: *J. Chromatogr., B.* 797, 357 (2003).
15. Vespalec R., Vlčková M., Kubáň V.: *Electrophoresis* 26, 3265 (2005).
16. Vespalec R., Vlčková M., Horáková H.: *J. Chromatogr., A.* 1051, 75 (2004).
17. Psotová J., Klejdus B., Večeřa R., Kosina P., Kubáň V., Vičar J., Šimánek V., Ulrichová J.: *J. Chromatogr., B* 830, 165 (2006).
18. Zdařilová A.: *Disertační práce*. Univerzita Palackého, Olomouc 2006.
19. Babich H., Zuckerbraun H. L., Barber I. B., Babich S. B., Borenfreund E.: *Pharmacol. Toxicol.* 78, 397 (1996).
20. Debiton E., Madelmont J. C., Legault J., Barthomeuf C.: *Cancer Chemother. Pharmacol.* 51, 74 (2003).
21. Vavrečková C., Gawlik I., Müller K.: *Planta Med.* 62, 491 (1996).
22. Adhami V. M., Aziz M. H., Mukhtar H., Ahmad N.: *Clin. Cancer Res.* 9, 3176 (2003).
23. Ahmad N., Gupta S., Husain M. M., Heiskanen K. M., Mukhtar H.: *Clin. Cancer Res.* 6, 1524 (2000).
24. Ulrichová J., Dvořák Z., Vičar J., Lata J., Smržová J., Šedo A., Šimánek V.: *Toxicol. Lett.* 125, 125 (2001).
25. Ulrichová J., Walterová D., Vavrečková C., Kamarád V., Šimánek V.: *Phytother. Res.* 10, 220 (1996).
26. Satou T., Akao N., Matsushashi R., Koike K., Fujita K., Nikaido T.: *Biol. Pharm. Bull.* 25, 1651 (2002).
27. Ding Z., Tang S. C., Weerasinghe P., Yang X., Pater A., Liepins A.: *Biochem. Pharmacol.* 63, 1415 (2002).
28. Nakanishi T., Suzuki M., Saimoto A., Kabasawa T.: *J. Nat. Prod.* 62, 864 (1999).
29. Adhami V. M., Aziz M. H., Reagan-Shaw S. R., Nihal M., Mukhtar H., Ahmad N.: *Mol. Cancer. Ther.* 8, 933 (2004).
30. Kemény-Beke A., Aradi J., Damjanovich J., Beck Z., Facskó A., Berta A., Bodnár A.: *Cancer Lett.*, v tisku.
31. Duvoix A., Delhalle S., Blasius R., Schnekenburger A., Morceau F., Fougère M., Henry E., Galteau M. M., Dicato M., Diederich M.: *Biochem. Pharmacol.* 68, 1101 (2004).
32. Chaturvedi M. M., Kumar A., Darnay B. G., Chainy G. B., Agarwal S., Agarwal B. B.: *J. Biol. Chem.* 272, 30129 (1997).
33. Weerasinghe P., Hallock S., Tang S. C., Liepins A.: *Cell Biol. Toxicol.* 17, 371 (2001).
34. Weerasinghe P., Hallock S., Tang S. C., Liepins A.: *Pathol. Res. Pract.* 197, 717 (2001).
35. Weerasinghe P., Hallock S., Liepins A.: *Exp. Mol. Pathol.* 71, 89 (2001).
36. Yamamoto S., Seta K., Morisco C., Vatner S. F., Sadoshima J.: *J. Mol. Cell Cardiol.* 33, 1829 (2001).
37. Chan S. L., Lee M. C., Tan K. O., Yang L. K., Lee A. S. Y., Flotow H., Fu N. Y., Butler M. S., Soejarto D. D., Buss A. D., Yu V. C.: *J. Biol. Chem.* 278, 20453 (2003).
38. Chinnaiyan A. M., Orth K., O'Rourke K., Duan H., Poirier G. G., Dixit V. M.: *J. Biol. Chem.* 271, 4573 (1996).
39. Srivastava M., Ahmad N., Gupta S., Mukhtar H.: *J. Biol. Chem.* 276, 15481 (2001).
40. Budihardjo I., Oliver H., Lutter M., Luo X., Wang X.: *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 15, 269 (1999).
41. Dvořák Z., Vrzal R., Maurel P., Ulrichová J.: *Chem. Biol. Interact.*, v tisku.
42. Bobis G. S.: *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 363, 203 (2001).
43. Das M., Khanna S. K.: *Crit. Rev. Toxicol.* 27, 273 (1997).
44. Faddeeva M. D., Beliaeva T. N.: *Tsitologija* 39, 181 (1997).
45. Saran A., Srivastava S., Coutinho E., Maiti M.: *Ind. J. Biochem. Biophys.* 32, 74 (1995).
46. Sen A., Ray A., Maiti M.: *Biophys. Chem.* 59, 155 (1996).
47. Das S., Kumar G. S., Maiti M.: *Biophys. Chem.* 76, 199 (1999).
48. Sen A., Maiti M.: *Biochem. Pharmacol.* 48, 2097 (1994).
49. Maiti M., Das S., Sen A., Das A., Kumar G. S., Nandi R. J.: *Biomol. Struct. Dyn.* 20, 455 (2002).
50. Maiti M.: *Ind. J. Biochem. Biophys.* 38, 20 (2001).
51. Vlčková M., Kubáň V., Vičar J., Šimánek V.: *Electrophoresis* 26, 1673 (2005).

52. Das S., Banerjee A., Sen A., Maiti M.: *Res. Com.* 79, 82 (2000).
53. Kevekordes S., Mersch-Sundermann V., Burghaus C. M., Spielberger J., Schmeiser H. H., Arlt V. M., Dunkelberg H.: *Mutat. Res.* 445, 81 (1999).
54. Kevekordes S., Spielberger J., Burghaus C. M., Birkenkamp P., Zietz B., Paufler P., Diez M., Bolten C., Dunkelberg H.: *Anticancer Res.* 21, 461 (2001).
55. Stiborová M., Šimánek V., Frei E., Hobza P., Ulrichová J.: *Chem. Biol. Interact.* 140, 231 (2002).
56. Das A., Mukherjee A., Chakrabarti J.: *Mutat. Res.* 563, 81 (2004).
57. Ansari K. M., Dhawan A., Khanna S. K., Das M.: *Food. Chem. Toxicol.* 43, 147 (2005).
58. Das M., Ansari K. M., Dhawan A., Shukla Y., Khanna S. K.: *Int. J. Cancer.* 117, 709 (2005).
59. Kosina P., Walterová D., Ulrichová J., Lichnovský V., Stiborová M., Rýdlová H., Vičar J., Krečman V., Brabec M. J., Šimánek V.: *Food Chem. Toxicol.* 42, 85 (2004).
60. Psotová J., Večeřa R., Zdařilová A., Anzebacherová E., Kosina P., Svobodová A., Hrbáč J., Jirovský D., Stiborová M., Lichnovský V., Vičar J., Šimánek V., Ulrichová J.: *Food. Chem. Toxicol.*, odesláno.
61. Zajoncová L., Kosina P., Vičar J., Ulrichová J., Peč J.: *Enzyme Inhib. Med. Chem.* 20, 261 (2005).
62. Lombardini J. B., Props C.: *Biochem. Pharmacol.* 51, 151 (1996).
63. Šedo A., Vlašicová K., Barták P., Vespalec R., Vičar J., Šimánek V., Ulrichová J.: *Phytother. Res.* 15, 1 (2001).
64. Šedo A., Malík R., Vičar J., Šimánek V., Ulrichová J.: *Physiol. Res.* 52, 367 (2003).
65. Schmeller T., Latz-Brüning B., Wink M.: *Phytochemistry* 44, 257 (1997).
66. Ulrichová J., Walterová D., Preininger V., Slavík J., Lenfeld J., Cushman M., Šimánek V.: *Planta Med.* 48, 111 (1983).
67. Kuznetsova L. P., Nikol'skaia E. B., Sochilina E. E., Faddeeva M. D.: *Tsitologiya* 43, 1046 (2001).
68. Kuznetsova L. P., Nikol'skaya E. B., Sochilina E. E., Faddeeva M. D.: *J. Evol. Biochem. Physiol.* 38, 35 (2002).
69. Ulrichová J., Kovář J., Šimánek V.: *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* 50, 978 (1985).
70. Walterová D., Ulrichová J., Preininger V., Šimánek V., Lenfeld J., Lasovský J.: *J. Med. Chem.* 24, 1100 (1981).
71. Luhová L., Frébort I., Ulrichová J., Adachi O., Šimánek V., Peč P.: *J. Enzyme Inhibition* 9, 295 (1995).
72. Seifen E., Adams R. J., Riemer R. K.: *Eur. J. Pharmacol.* 60, 373 (1979).
73. Ulrichová J., Walterová D., Preininger V., Šimánek V.: *Planta Med.* 48, 174 (1983).
74. Vrba J., Kosina P., Ulrichová J., Modrianský M.: *Toxicol. Lett.* 151, 375 (2004).
75. Dršata J., Ulrichová J., Walterová D.: *J. Enzyme Inhibition* 10, 231 (1996).
76. Vaidya A. B., Rajagopalan T. G., Kale A. G., Leuine R. J.: *J. Postgr. Med.* 26, 28 (1980).
77. Tanaka T., Matori K., Mineo S., Hirotsu M., Furuya T., Kobayashi S.: *Planta Med.* 59, 200 (1993).
78. Netopilová M., Dršata J., Ulrichová J.: *Pharmazie* 51, 589 (1996).
79. Vavrečková C., Gawlik I., Müller K.: *Planta Med.* 62, 397 (1996).
80. Vogt A., Tamewitz A., Skoko J., Sikorski R. P., Giuliano K. A., Lazo J. S.: *J. Biol. Chem.* 280, 19078 (2005).
81. Lee S. S., Kai M., Lee M. K.: *Phytother. Res.* 15, 167 (2001).
82. Wang B. H., Lu Z. X., Polya G. M.: *Planta Med.* 63, 494 (1997).
83. Vrba J., Hrbáč J., Ulrichová J., Modrianský M.: *Chem. Biol. Interact.* 147, 35 (2004).
84. Psotová J., Ducher L., Ulrichová J., Walterová D.: *Chem. Papers* 90, 613 (1996).
85. Hu C. M., Cheng H. W., Cheng Y. W., Kang J. J.: *Jpn. J. Pharmacol.* 85, 47 (2001).
86. Hu C. M., Cheng H. W., Cheng Y. W., Kang J. J.: *Br. J. Pharmacol.* 130, 299 (2000).
87. Hu C. M., Cheng Y. W., Liao J. W., Cheng H. W., Kang J. J.: *J. Biomed. Sci.* 12, 399 (2005).
88. Caballero-George C., Vanderheyden P. M. L., Apers S., Heuvel H. V., Solis P. N., Gupta M. P., Claeys M., Pieters L., Vauquelin G., Vlietinck A. J.: *Planta Med.* 68, 770 (2002).
89. Matsusaka T., Ichikawa I.: *Annu. Rev. Physiol.* 59, 395 (1997).
90. Caballero-George C., Vanderheyden P. M. L., Solis P. N., Pieters L., Shahat A. A., Gupta M. P., Vauquelin G., Vlietinck A. J.: *Phytomedicine* 8, 59 (2001).
91. Caballero-George C., Vanderheyden P. M. L., Solis P. N., Gupta M. P., Pieters L., Vauquelin G., Vlietinck A.: *Eur. J. Pharmacol.* 458, 257 (2003).
92. Williams M. K., Dalvi S., Dalvi R. R.: *Vet. Hum. Toxicol.* 42, 196 (2000).
93. Karp J. M., Rodrigo K. A., Pei P., Pavlick M. D., Andersen J. D., McTigue D. J., Fields H. W., Mallery S. R.: *Toxicol. Lett.* 158, 50–60 (2005).
94. Dvořák Z., Modrianský M., Šimánek V., Ulrichová J., Vičar J., Vrba J., Walterová D.: *Toxicol. Lett.* 158, 164 (2005).
95. Zdařilová A., Vrzal R., Rypka M., Ulrichová J., Dvořák Z.: *Food. Chem. Toxicol.* 44, 242 (2006).
96. Dvořák Z., Sovadinová I., Bláha L., Giesy J. P., Ulrichová J.: *Food. Chem. Toxicol.*, odesláno.
97. Long W. P., Pray-Grant M., Tsai J. C., Perdew G. H.: *Mol. Pharmacol.* 53, 691 (1998).
98. Granger I., Serradeil-le Gal C., Augereau J. M., Gleye J.: *Planta Med.* 58, 35 (1992).
99. Walterová D., Ulrichová J., Válka I., Vičar J., Vavrečková C., Táborská E., Harkrader R. J., Meyer D. L., Černá H., Šimánek V.: *Acta Univ. Palacký Olomouc, Fac. Med.* 139, 7 (1995).
100. Odebiyi O. O., Sofovora E. A.: *Planta Med.* 36, 204

- (1979).
101. Vichkanova A. A., Rubinchik M. A., Adgina V. V., Fedorchenko T. S.: *Farmakol. Toksikol.* 32, 325 (1969).
 102. Dzin J. L., Socransky S. S.: *Antimicrob. Agents. Chemother.* 27, 663 (1985).
 103. Hejtmánková N., Walterová D., Preininger V., Šimánek V.: *Fitoterapia* 15, 291 (1984).
 104. Vichkanova S. A., Adgina V. V.: *Microbiol. Zh.* 52, 53 (1990).
 105. Newton S. M., Lau C., Gurcha S. S., Besra G. S., Wright C. W.: *J. Ethnopharmacol.* 79, 57 (2002).
 106. Mahady G. B., Pendland S. L., Stoia A., Chadwick L. R.: *Phytother. Res.* 17, 217 (2003).
 107. Merschjohann K., Sporer F., Steverding D., Wink M.: *Planta Med.* 67, 623 (2001).
 108. Navarro V., Delgado G.: *J. Ethnopharmacol.* 66, 223 (1999).
 109. Tandon S., Das M., Khanna K.: *Drug Metab. Dispos.* 21, 194 (1993).
 110. Hakim S. A. E., Mijović V., Walker J.: *Nature* 189, 201 (1961).
 111. Večeřa R., Klejdus B., Kosina P., Orolin J., Stiborová M., Smrček S., Vičar J., Ulrichová J., Kubáň V., Anzenbacher P., Šimánek V.: *Drug. Metab. Dispos.*, odesláno.
 112. Damm D. D., Curran A., White D. K., Drummond J. F.: *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 87, 61 (1999).
 113. Eversole L. R., Eversole G. M., Kopicik J.: *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 89, 455 (2000).
 114. Anderson K. M., Stoner G. D., Fields H. W., Chacon G. E., Dohar A. L., Gregg B. R., Mallery S. R.: *Oral Oncol.* 41, 200 (2005).
 115. Hong S. J., Jeong S. S., Song K. B.: *Int. Dent. J.* 55, 128 (2005).
 116. Munro I. C., Delzell E. S., Nestmann E. R., Lynch B. S.: *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 30, 182 (1999).
 117. Bianco F., Basini G., Grasselli F.: *Reprod. Toxicol.*, v tisku.

A. Zdařilová^a, J. Malíková^b, Z. Dvořák^a, J. Ulrichová^a, and V. Šimánek^a (^a*Institute of Medicinal Chemistry and Biochemistry*, ^b*Institute of Pathology, Faculty of Medicine, Palacký University, Olomouc*): **Quaternary Isoquinoline Alkaloids Sanguinarine and Chelerythrine. *In vitro* and *in vivo* Effects**

Quaternary benzo[*c*]phenanthridine alkaloids (QBA) sanguinarine (SA) and chelerythrine (CHE) are found within the families Fumariaceae, Papaveraceae, Ranunculaceae and Rutaceae. These alkaloids originate from aromatic amino acids tyrosine and phenylalanine. Important intermediates in their biosynthesis are protopines; its last step is the oxidation of dihydro-QBA to QBA with benzo[*c*]phenanthridine oxidase. The strong antimicrobial activity of QBA suggests their function as plant defense secondary metabolites or phytoalexins. If these alkaloids are administered to living organisms such as insects, fish, and mammalian species, they can be absorbed, distributed, retained and/or metabolized as quaternary ammonium compounds, 6-hydroxy dihydro derivatives (pseudobases) and/or dihydro derivatives. In blood and organs, the equilibrium between these forms depends mainly on pH, ionic strength and oxidative capacity of the medium. Their resulting mode of action reflects the sum of reactions of all three chemical structures with cellular components. The formation of dihydro-QBA might be the first step of their detoxication in organism and their subsequent elimination. Benzo[*c*]acridine is not a metabolite of QBA in mammals. This review presents the resulting biological effects of QBA on cells and animals.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

ROZDĚLENÍ SLOUČENIN V BINÁRNÍCH SMĚSÍCH MEZI JEJICH VODNOU A PLYNNOU FÁZI

JOSEF REITMAJER^a, LADISLAV FELTL^a,
ZDENĚK ROTH^b a MILOŇ TICHÝ^b

^a Přírodovědecká fakulta UK Praha, Hlavova 8, 128 43 Praha 2, ^b Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10
mtichy@szu.cz, josef.reitmajer@seznam.cz

Došlo 30.6.04, přepracováno 7.7.05, přijato 3.8.05.

Klíčová slova: rozdělovací koeficient voda – plyn, akutní toxicita, binární směsi, koeficient distribuce, mikroextrakce na tuhé fázi, plynová chromatografie

Úvod

Každý člověk i jeho životní prostředí jsou exponováni látkám, které unikají do životního prostředí. Jejich počet se neustále zvyšuje a expozice jedné látky vlastně neexistuje. Prostředí, včetně člověka, je vystaveno více chemickým látkám najednou. Za měřítko nebezpečnosti směsí chemikálií – hazardu – se většinou považuje poměrný součet velikostí příslušného toxického účinku jednotlivých látek, nejčastěji nějakého indexu akutní toxicity. Současné působení dvou nebo více látek však může měnit toxicitu každé chemikálie kvantitativně i kvalitativně. Jsou popsány různé typy interakcí, zejména potenciace, inhibice, antagonismus nebo synergismus. Tento fakt může nezanedbatelným způsobem ovlivnit odhad rizika expozice chemikáliím¹.

Bylo prokázáno, že v různých souborech chemických látek velikost jejich toxických účinků koreluje s jejich rozdělovacím koeficientem mezi *n*-oktanol a vodu² u nejméně 80 % zkoumaných případů³ (analýza QSAR – z angl. Quantitative Structure – Activity Relationships⁴). Dnes jsou známy tisíce takových korelací, takže tento jev lze zobecnit. Pro stejný účel se jeví užitečným i rozdělovací koeficient chemikálií mezi olej a vzduch, který lze snadno stanovit přímo technikou plynové chromatografie⁵.

V reálných podmínkách a v koncentracích, které jsou pro toxické působení chemikálií zajímavé, se páry a plyny látek ve směsích často nechovají ideálně. Předpokládáme, že nacházené odchylky hodnot fyzikálně-chemických vlastností od ideálního chování plynů ve směsích mohou

simulovat změny akutní toxicity chemikálií ve směsích. Najít takovou fyzikálně-chemickou vlastnost je záměrem našich studií.

Cílem předkládaného příspěvku je porovnání velikosti akutní toxicity vodných roztoků binárních směsí s různým poměrem chemikálií a jejich rozdělení mezi jejich vodným roztokem a jeho plynou fází. Grafy závislosti rozdělovacího koeficientu na molárním zlomku směsí jsou pak porovnávány s grafy závislosti velikosti akutní toxicity na složení směsí^{6,7}. Jsou prezentovány závislosti rozdělovacího koeficientu mezi vodné roztoky a plynou fází a koeficientu distribuce na složení vodných roztoků binárních směsí průmyslově důležitých sloučenin: benzen – ethanol, benzen – anilin a benzen – nitrobenzen. Jako index akutní toxicity byla použita efektivní koncentrace pro zástavu pohybu červů *Tubifex tubifex* EC50 (cit.⁸) a její závislosti na složení směsí benzen – ethanol, benzen – anilin a benzen – nitrobenzen. Distribuce mezi vodným roztokem binární směsi a jeho plynou fází byla měřena při takto zjištěných koncentracích EC50.

Materiál a metody

Chemikálie

Byly použity benzen (Lachema a.s., p.a.), anilin (Lancaster, 99+%), ethanol (Lachema a.s., 96%) a nitrobenzen (Aldrich, 99+%). Čistota chemikálií byla kontrolována plynovou chromatografií. Pro přípravu roztoků byla použita redestilovaná voda.

Všechny koncentrace v tomto příspěvku jsou bez výjimky v jednotkách mol l⁻¹.

Plynová chromatografie

Pro stanovení obsahu chemikálií v plyné fázi nad roztokem jejich směsí byla použita plynová chromatografie ve spojení s mikroextrakcí tuhého fázi (SPME)^{9–11}.

Plynový chromatograf UNICAM PU 4600 s plamenionizačním detektorem (FID) byl opatřen kolonou SUPELCO SPB-20, 15 m × 0,25 mm s tloušťkou filmu 1 μm, jako zakotvená fáze byla použita směs: 20 % difenyl, 80 % dimethylsiloxan. Výsledky byly vyhodnocovány programem „Chromatography Station for Windows CSW v. 1.7DLL“ od firmy DATA Apex.

Teplota injektoru byla při všech analýzách 250 °C. Teplota kolony byla v rozmezí 120–160 °C podle stanoveného analytu. Teplota detektoru byla při všech analýzách 200 °C.

Pro každou sloučeninu byla sestrojena kalibrační přímka jako závislost plochy píku sloučeniny na množství sloučeniny, které bylo dávkováno na kolonu. Pro každý bod přímky byly připraveny dva roztoky čistých sloučenin v toluenu o stejné koncentraci, s každým roztokem byla

provedena tři měření. Dávkován byl manuálně 1 μl vzorku mikrostríkačkou Hamilton. Kalibrace byla pravidelně ověřována po dvou měsících. Odezva detektoru byla stabilní.

Mikroextrakce tuhou fází

Mez detekce při použití uvedené kalibrační přímky nebyla pro nízké koncentrace sloučeniny v plynné fázi nad některými vodnými roztoky směsí dostatečně vysoká. V těchto případech bylo nutné dávkovat na kolonu až 100 μl vzorku. Pro odběr vzorku z plynné fáze proto byla použita mikroextrakce na tuhou fázi (Solid Phase Micro-Extraction – SPME).

Jako nejvhodnější pro naše účely bylo vybráno na základě experimentů vlákno PDMS 100 firmy Supelco. Pět minut byla dostatečná doba pro sorpci na tomto vlákně při laboratorní teplotě. Po sorpci bylo vlákno manuálně zasunuto do injektoru plynového chromatografu a desorbováno po dobu 30 s.

Vodné roztoky v rozmezí koncentrací vyskytujících se v pokusu byly připraveny rozpuštěním čistých látek ve 100 ml redestilované vody. Tyto roztoky pak byly přelity do 300 ml lahví. Lahve byly uzavřeny pryžovou zátkou, která byla pokryta teflonovou folií a po protřepání ponechány 60 min bez míchání stát při laboratorní teplotě (25 ± 2 °C). Bylo ověřeno, že tato doba je dostatečná pro ustavení rovnovážných koncentrací analytu mezi vodnou a plynnou fází. Zároveň bylo prokázáno, že rozdíl mezi výsledky, které byly změřeny ve vzorku termostátovaném při 25 °C a výsledky vzorku bez termostátování, byl zanedbatelný. Teplota laboratoře se pohybovala okolo 25 °C. Po 60 min byly z plynné fáze vzorky odebrány dvojím způsobem: za prvé mikrostríkačkou Hamilton bylo odebráno 2–100 μl a dávkováno na kolonu, za druhé byl ze stejné lahve analyt odebrán pětiminutovou sorpcí SPME vláknem. Metodou kalibrační přímky byla stanovena jak koncentrace analytu v plynné fázi (první druh odběru), tak množství sloučeniny sorbované z této plynné fáze vláknem během 5 min (druhý způsob odběru).

Pro všechny čisté sloučeniny použité k přípravě směsí v této studii pak byla konstruována závislost množství analytu sorbovaného vláknem z plynné fáze (mol) na koncentraci analytu v plynné fázi téhož roztoku (mol l^{-1}) – kalibrační přímka SPME (cit.¹²). Byla sestrojena pětibodová kalibrační přímka SPME v rozmezí dvou řádů koncentrací sloučeniny v kapalně fázi a používána její lineární část. Pro každý bod kalibrace byly připraveny tři roztoky stejné koncentrace a z každého provedeny a analyzovány dva odběry. Omezením byla rozpustnost analytu ve vodě. Stabilita funkce vlákna byla ověřována po každých 200 analýzách na dvou bodech kalibrace a pokud byl nalezen rozdíl proti původní hodnotě, sorpční vlákno bylo vyměněno.

Postup práce

Byla stanovena koncentrace každé z obou látek A a B v binární směsi v plynné fázi nad vodným roztokem směsi chemikálií (c_{gA} , c_{gB}), která byla s vodným roztokem směsi těchto látek v rovnováze. Koncentrace látek ve vodném

roztoku směsi ($c_A + c_B$) sledovaly koncentrace naměřené jako EC50 (T.t.)⁸. Suma koncentrací tedy nebyla zcela konstantní, ale byla měněna stejným způsobem, jako při sledování závislosti EC50 (T.t.) na molárním zlomku směsi.

Příprava vzorků, odběr na analýzu a analýza je stejná jako je popsáno v kapitole „Mikroextrakce tuhou fází“. Pro každý bod byly připraveny 3 vzorky, z každého byl proveden jeden odběr. Bod byl měřen alespoň dvakrát, v rozmezí tří měsíců byla vždy opakována celá série.

Výsledky byly vynášeny jako závislost normalizovaných distribučních koeficientů ($\Sigma c'_g / \Sigma c'_l$), případně normalizovaných koncentrací v plynné fázi (c'_g), na složení roztoku vyjádřené molárním zlomkem R (R -grafy, cit.^{6,7}).

Výpočty

Molární zlomek, normalizovaný molární zlomek

Tvoří-li látky A a B binární směs, pak molární zlomek látky A, R_A , je dán rovnicí (1):

$$R_A = c_A / (c_A + c_B) \quad (1)$$

kde c_A je koncentrace látky A (mol l^{-1}) a c_B koncentrace látky B (mol l^{-1}) ve sledovaném vodném roztoku binární směsi.

Normalizovaný molární zlomek R' je dán rovnicí (2):

$$R'_A = (c_A / c_{0A}) / [(c_A / c_{0A}) + (c_B / c_{0B})] \quad (2)$$

kde c_{0A} a c_{0B} jsou koncentrace látky A nebo B v jejich roztocích o koncentraci odpovídající EC50 (T.t.).

R -graf je graf závislosti normalizovaných měřených nebo vypočtených veličin, tj. koncentrace ve fázích, koeficientu distribuce nebo EC50 (T.t.), na molárním zlomku R jedné ze složek směsi^{6,7,13}.

Koncentrace analytu v plynné (c_g , mol l^{-1}) a kapalně (c_l , mol l^{-1}) fázi v rovnováze, distribuční koeficienty, jejich normalizace^{6,7}

Koncentrace analytu v plynné fázi byla vypočtena z naměřené plochy píku na chromatogramu pomocí kalibrační přímky SPME. Koncentrace analytu ve vodné fázi po ustavení rovnováhy byla vypočítávána odečtením množství, které bylo stanoveno v plynné fázi.

Normalizace znamená vztahování naměřené koncentrace analytu A ve směsi A+B na koncentraci látky v jednosložkovém roztoku; normalizovaná koncentrace jednosložkového roztoku je vždy 1 (jedna). Označíme-li koncentraci látky A ve vodném roztoku směsi A+B v rovnováze s plynnou fází jako c_{lA} (mol l^{-1}) a její koncentraci v roztoku o koncentraci EC50 v rovnováze s plynnou fází jako c_{0lA} (mol l^{-1}), pak normalizovaná koncentrace látky A ve vodném roztoku směsi v rovnováze s plynnou fází c'_{lA} (bezrozměrná) je podle (3):

$$c'_{lA} = c_{lA} / c_{0lA} \quad (3)$$

a analogicky pro c'_{gA} , c'_{lB} a c'_{gB} , při čemž c_{0gA} nebo c_{0gB} jsou molární koncentrace látek A a B v plynné fázi

v rovnováze se svým vodným roztokem o koncentraci odpovídající EC50 (T.t.).

Suma normalizovaných koncentrací obou látek A a B ve vodné fázi je podle (4):

$$\Sigma c'_i = c'_{iA} + c'_{iB} \quad (4)$$

a analogicky pro c'_g a $\Sigma c'_g$.

Normalizovaný rozdělovací koeficient P' byl počítán pro samostatné složky směsi A a B jako (5):

$$P'_A = c'_{gA}/c'_{iA} \quad P'_B = c'_{gB}/c'_{iB} \quad (5)$$

Normalizovaný koeficient distribuce směsi K_{mix} je definován stejně jako byl definován toxický index EC50 (T.t.), kde příspěvky složek směsi od sebe nejdou rozlišit, tj. poměrem součtů normalizovaných koncentrací látek A a B v plynné a kapalně fázi, které jsou v rovnováze (6):

$$K_{\text{mix}} = \Sigma c'_g / \Sigma c'_i \quad (6)$$

Výsledky byly vynášeny jako závislost normalizovaných distribučních koeficientů ($\Sigma c'_g / \Sigma c'_i$), případně normalizovaných koncentrací v plynné fázi (c'_g), na složení roztoku vyjádřené molárním zlomkem R (R-grafy, cit.^{6,7}).

Statistické hodnocení

Přesnost a reprodukovatelnost plynově chromatografického měření je vyjádřena intervalem spolehlivosti na úrovni $\alpha = 0,05$. V grafech je vyjádřena svislou úsečkou, procházející bodem, vyjadřující průměr z 6 měření. Úsečka není zdanlivě uvedena, pokud nepřesahuje rozměr příslušné značky v grafu.

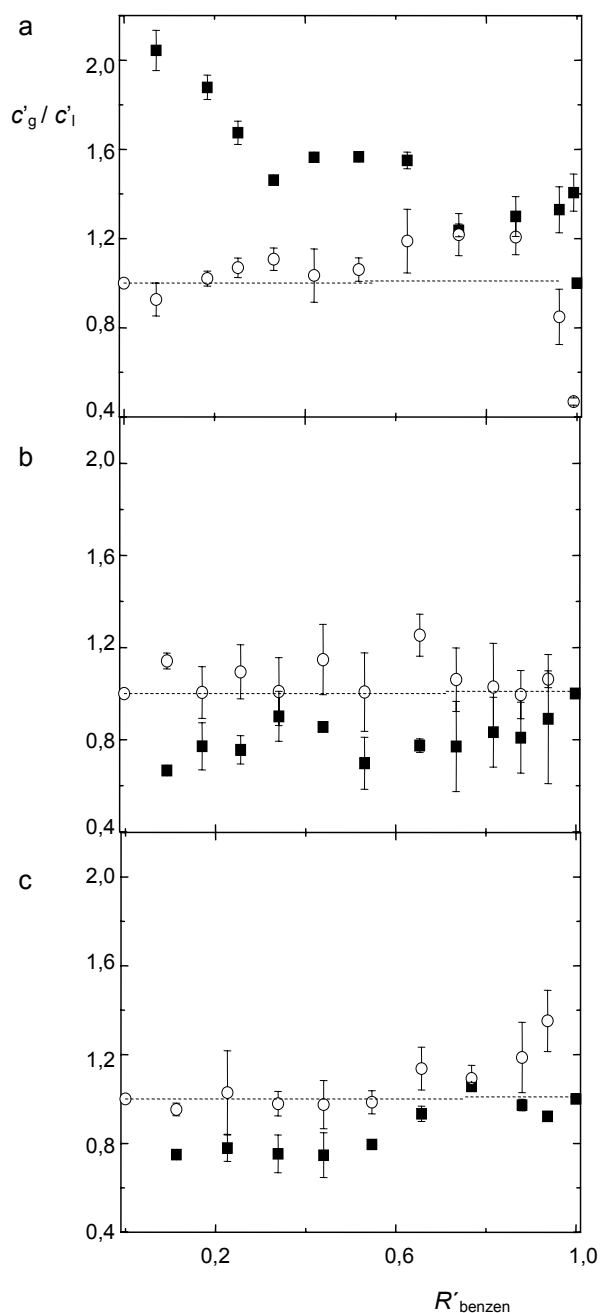
V R-grafu je aditivita vyznačena přerušovanou čarou, která je rovnoběžná s osou x a spojuje na osách y hodnoty normalizovaných veličin obou složek ($R = 0-1$) rovné jedné. Shoda normalizovaných koeficientů distribuce směsi s aditivitou distribučního pochodu mezi plynnou a kapalnou fází byla testována pro každý bod pomocí t-testu s Bonferroniho korekcí na vícenásobné výběry. Významnost odchylek je v grafu vyznačena nad průměry na hladině statistické významnosti $\alpha = 0,05$ (*).

Detailní popis matematických operací a testů shody je uveden v jiných publikovaných pracích^{6,14}.

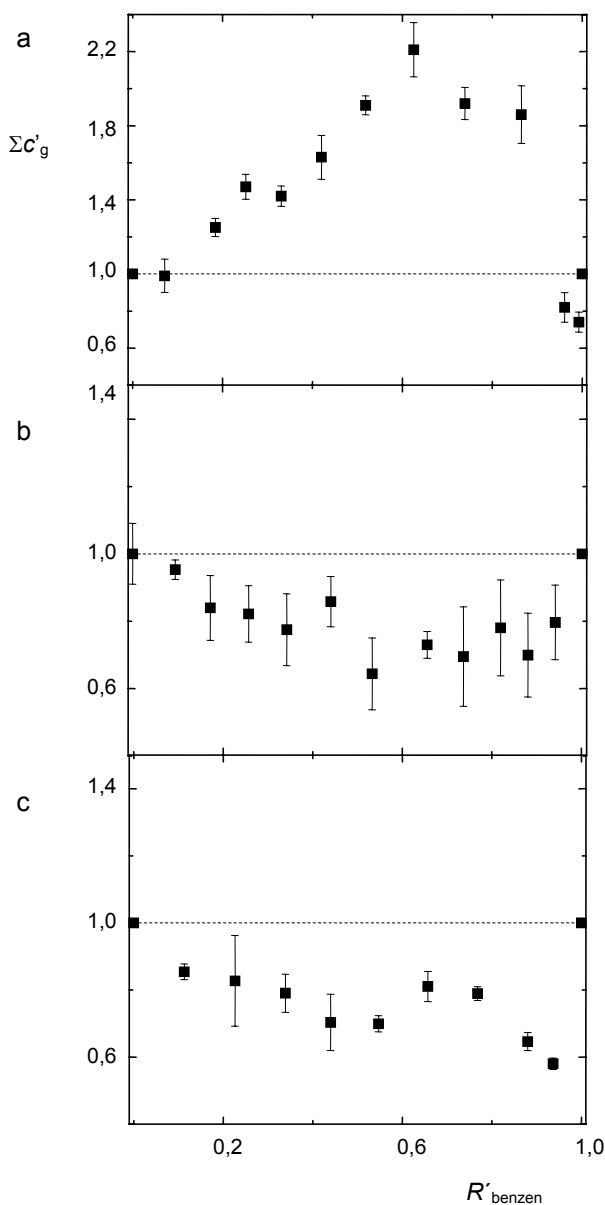
Výsledky a diskuse

Výsledky jsou uvedeny na obr. 1–3. Horizontální přerušovaná čára při hodnotě závisle proměnné (c'_g/c'_i , $\Sigma c'_g$, K_{mix} , případně EC50 (T.t.)) rovná 1,0 odpovídá na všech obrázcích aditivě. Normalizace hodnot umožňuje porovnávat veličiny v absolutní hodnotě i značně rozdílné (rozdělovací koeficienty), sčítat do jednoho čísla příspěvky obou chemikálií ve směsi a ty porovnávat při různých molárních zlomech ($\Sigma c'_g$, K_{mix}). Pokud je normalizovaná hodnota součtu příspěvků chemikálií v její hodnotě rovna 1,0, není tato veličina chemikálií ve směsi ovlivněna a její příspěvky jsou v součtu aditivní. Pokud je od hodnoty 1,0 rozdílná, znamená to odchylku od aditivity.

Stanovené rozdělovací koeficienty (poměr mezi normalizovanou koncentrací jednotlivých chemikálií v plynné



Obr. 1. Závislost normalizovaných rozdělovacích koeficientů chemikálií v binární směsi (c'_g/c'_i) na normalizovaném molárním zlomku benzenu R'_{benzen} (R-graf); a) binární směs benzenu s ethanolem ■ benzen, ○ ethanol, b) binární směs benzenu s anilinem ■ benzen, ○ anilin, c) binární směs benzenu s nitrobenzenem ■ benzen, ○ nitrobenzen. Čárkovaná vodorovná čára označuje normalizované hodnoty, pokud se chemikálie ve směsi navzájem neovlivňují (1,0). Svislá úsečka představuje interval spolehlivosti průměru na hladině $\alpha = 0,05$



Obr. 2. Závislost součtu normalizovaných koncentrací obou chemikálií v binární směsi v plynné fázi nad vodným roztokem směsi v rovnováze ($\Sigma c'_g$) na normalizovaném molárním zlomku R'_{benzen} ; a) binární směs benzenu s ethanolem, b) binární směs benzenu s anilinem, c) binární směs benzenu s nitrobenzenem. Čárkovaná vodorovná čára spojuje normalizované koncentrace (1,0), pokud se chemikálie ve směsi navzájem neovlivňují a jejich tence par jsou aditivní. Svislé úsečky představují interval spolehlivosti průměru na hladině $\alpha = 0,05$

fázi c'_g a ve vodné fázi c'_l) v závislosti na normalizovaném molárním zlomku vůči benzenu R'_{benzen} jsou uvedeny graficky na obr. 1a, b, c (a – vodný roztok benzenu s ethanolem, b – benzenu s anilinem, c – benzenu s nitrobenzenem).

Z obr. 1a je zřejmé, že rozdělovací koeficient benzenu je závislý na přítomnosti ethanolu v systému. Jeho hodnota od hodnoty při $R'_{\text{benzen}} = 1,0$ (normalizovaný rozdělovací koeficient nutně rovný 1,0) výrazně stoupá k hodnotě převyšující 2 při R'_{benzen} pod 0,1. Hodnota pro rozdělovací koeficient ethanolu se ve směsi statisticky významně liší až pro hodnoty $R'_{\text{benzen}} > 0,7$. Lze konstatovat, že v této směsi se její složky významně ovlivňují.

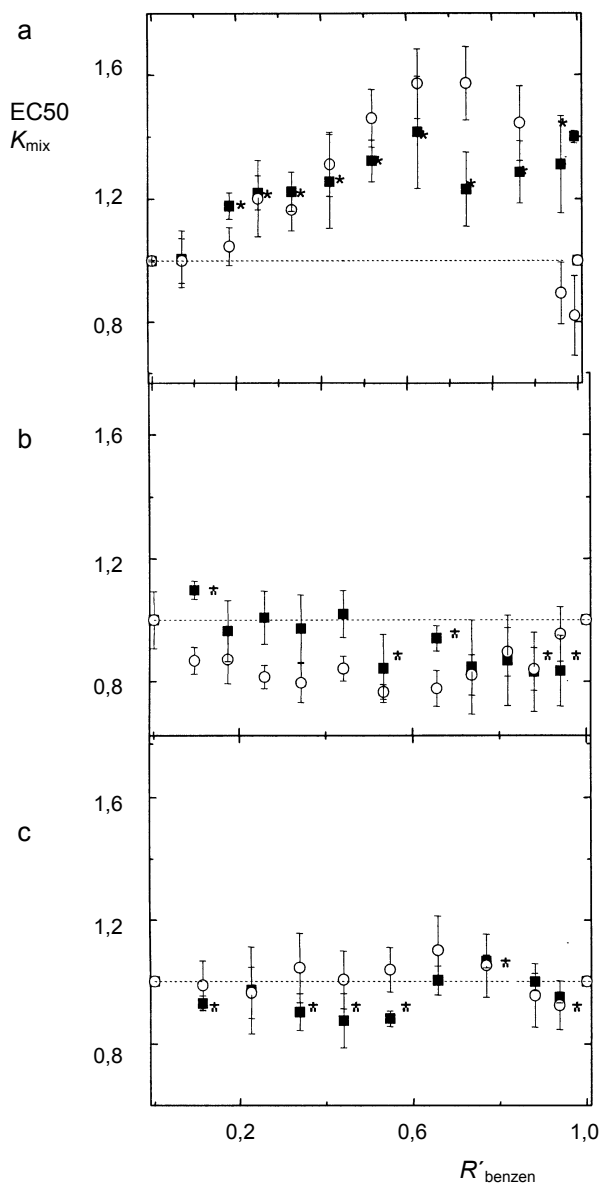
V případě binárních směsí benzenu s anilinem nebo nitrobenzenem tomu tak zdaleka není. V obou případech (obr. 1b a 1c) je hodnota rozdělovacího koeficientu benzenu poněkud snížena, s rostoucím R'_{benzen} stoupá ke své normalizované hodnotě 1,0. Zatímco rozdělovací koeficient nitrobenzenem (obr. 1c) se liší od své hodnoty v čistém stavu při $R'_{\text{benzen}} > 0,9$, rozdělovací koeficient anilinu má tendenci být vyšší, zejména v oblasti $R'_{\text{benzen}} = 0,4–0,7$.

Významné změny vykazuje suma normalizovaných koncentrací v plynné fázi nad vodným roztokem binární směsi $\Sigma c'_g$ (viz obr. 2a, b, c). V případě směsi benzenu s ethanolem (obr. 2a) je součet normalizovaných koncentrací benzenu a ethanolu v plynné fázi až dvojnásobně vyšší ($R'_{\text{benzen}} = 0,6$ až 0,8), v případě směsi benzenu s anilinem (obr. 2b) a benzenu s nitrobenzenem (obr. 2c) až o 30 % nižší.

Cílem práce bylo testovat aditivitu koncentrací složek roztoku v rozdělovacím procesu mezi dvě fáze a porovnat koeficienty distribuce chemikálií mezi jejich vodné roztoky a plynnou fázi nad nimi, K_{mix} , pro různé molární zlomky směsi a konfrontovat je se závislostmi EC50 (T.t.). To zobrazuje obr. 3a, b, c pro stejné binární směsi s benzenem (a – s ethanolem, b – s anilinem, c – s nitrobenzenem) jako na obr. 1 a 2. Odchylka od aditivity na statistické hladině významnosti $\alpha = 0,05$ je vyznačena u každé směsi hvězdičkou: U binární směsi benzenu s ethanolem R-graf pro K_{mix} téměř sleduje R-graf pro EC50 (T.t.) (obr. 3a). Lze konstatovat, že ani biologická, ani fyzikálně-chemická vlastnost sloučenin v binární směsi není pro všechny měřené poměry chemikálií ve směsi aditivní.

U směsi benzenu s anilinem nejsou příspěvky chemikálií k akutní toxicitě měřené jako EC50 (T.t.) v celém rozsahu molárních zlomků aditivní (obr. 3b), zda je tomu tak i v případě hodnoty K_{mix} , je obtížné rozhodnout. Žádnou zákonitost ve významnosti odchylek nebo shody s aditivním chováním mezi směsmi s různými poměry chemikálií ve směsi nelze vysledovat. Benzen s nitrobenzenem ve směsi se při akutní toxicitě (EC50 (T.t.)) chovají aditivně, v případě K_{mix} je to opět sporné. Důvodem jsou nejspíše nejednotné experimentální podmínky při analýze. Při rozdílech, o které patrně jde, je získání dostatečně přesných údajů zatím obtížné, v případě testování akutní toxicity téměř nemožné.

Diskutovat je nutné rovněž otázku stanovení distribuce chemikálií mezi vodným roztokem a jeho plynnou fází.



Obr. 3. Závislost normalizovaného koeficientu distribuce K_{mix} chemikálií v binární směsi na normalizovaném molárním zlomku R'_{benzen} a porovnání se stejnou závislostí indexu akutní toxicity EC50 (*Tubifex tubifex*); a) binární směs benzenu s ethanolem, b) binární směs benzenu s anilinem, c) binární směs benzenu s nitrobenzenem. Symbol ■ koeficient distribuce K_{mix} , ○ EC50 (T.t.). Čárkovaná vodorovná čára spojuje normalizované hodnoty (1,0), pokud se chemikálie ve směsi navzájem neovlivňují. Svislé úsečky představují interval spolehlivosti průměru na úrovni $\alpha = 0,05$. Významnost odchylek K_{mix} od aditivity na hladině statistické významnosti $\alpha = 0,05$ je vyznačena nad dotyčnými průměry hvězdičkou

Ta se měřila při koncentracích chemikálií ve vodných roztocích při koncentracích, které odpovídaly EC50 (T.t.). Mohlo by se tedy zdát, že K_{mix} pouze sleduje tuto koncentrační závislost. Že to není převažující faktor pro závislost K_{mix} na R'_{benzen} , prokazuje obr. 1a, kde je vidět, že závislosti rozdělovacích koeficientů benzenu a ethanolu na R' mají zcela odlišný charakter a výsledný R-graf pro K_{mix} směsi je výsledkem až jejich „součtu“. Opět zřejmě jde o vzájemné ovlivnění chemikálií ve směsi. Pro potvrzení této skutečnosti je studium závislosti koeficientu distribuce K_{mix} i jednotlivých rozdělovacích koeficientů chemikálií na celkové koncentraci chemikálií ve všech uvedených směsích náplní další práce.

Závěr

Při využití koncepce a technik analýzy QSAR se ukazuje, že vedle distribuce chemikálií mezi jejich kapalnými binárními směsmi a plynnou fází nad nimi (grafy nazvané „nůžky“) ^{14–16} i R-graf distribuce těchto chemikálií mezi jejich vodnými roztoky a plynnou fází lze využít pro simulaci změn v akutní toxicitě chemikálií, jsou-li v binární směsi. Tato situace se více blíží podmínkám testování akutní toxicity na oligochaete *Tubifex tubifex* jako EC50 (T.t.) zástavy jejich pohybu, které se provádí ve vodných roztocích. V případě binární směsi benzenu s ethanolem jsou odchylky od aditivity příspěvků chemikálií k EC50 (T.t.) srovnatelné s odchylkami v koeficientu distribuce K_{mix} a v obou případech ke vzájemnému ovlivnění opravdu dochází. V této práci šlo pouze o prezentaci naměřených údajů a porovnání s údaji o akutní toxicitě. Hledání souvislostí a zobecňování na násobné směsi by byla jen spekulace.

Seznam symbolů

c_g	koncentrace v plynné fázi v rovnováze (mol l^{-1})
c_l	koncentrace v kapalně fázi v rovnováze (mol l^{-1})
c_{lA}	koncentrace látky A v kapalně fázi v rovnováze (mol l^{-1})
c_{gB}	koncentrace látky B v plynné fázi v rovnováze (mol l^{-1})
c'	normalizovaná koncentrace (bezrozměrná)
$\Sigma c'_g$	součet normalizovaných molárních koncentrací obou chemikálií ve směsi v plynné fázi v rovnováze
$\Sigma c'_l$	součet normalizovaných molárních koncentrací obou chemikálií ve směsi v kapalně fázi v rovnováze
c_{0gA}	molární koncentrace látky A v plynné fázi v rovnováze nad vodným roztokem této látky A
c_{0lB}	molární koncentrace látky B v kapalně fázi

	(ve vodném roztoku) této látky B v rovnováze s plynnou fází
EC50 (T.t.)	efektivní koncentrace látek, která způsobí inhibici pohybu u 50% jedinců testovaného souboru (mol l^{-1}) ⁸
EC50'	normalizovaná efektivní koncentrace látek, která způsobí inhibici pohybu 50% jedinců testovaného souboru (bezrozměrné) ^{6–8}
K_{mix}	normalizovaný koeficient distribuce chemikálií v binární směsi mezi dvě nemísitelné fáze; v tomto případě mezi vodný roztok a plynnou fází (viz rov. 6)
P_A	rozdělovací koeficient látky A mezi kapalnou a plynnou fází
P'_A	normalizovaný rozdělovací koeficient látky A mezi kapalnou a plynnou fází
R_A	molární zlomek látky A v binární směsi solutů
R'_A	normalizovaný molární zlomek látky A v binární směsi solutů
R-graf	závislost závislé veličiny na molárním zlomku

Tato práce vznikla za podpory GA ČR (granty č. 305/03/1169 a 305/03/P018), IGA MZ (grant č. NJ/7435-3) a Státního zdravotního ústavu, Praha.

LITERATURA

- Tichý M., Rucki M., Bořek-Dohalský V., Feltl L., Reitmajer J.: Intern. Arch. Occup. Environ. Hlth. 75, S133 (2002).
- Hansch C., Fujita T.: J. Am. Chem. Soc. 86, 1616 (1964).
- Tichý M.: J. Intern. Quant. Chem. 16, 509 (1979).
- Tichý M. (ed.): *Quantitative Structure – Activity Relationships*. Akadémia Kiadó, Budapest, Birkhäuser Verlag, Basel 1976.
- Čabala R., Svobodová J., Feltl L., Tichý M.: Chromatographia 34, 601 (1992).
- Tichý M., Cikrt M., Roth Z., Rucki M.: SAR QSAR Environ. Res. 9, 155 (1998).
- Tichý M., Bořek-Dohalský V., Matoušová D., Rucki M., Feltl L., Roth Z.: SAR QSAR Environ. Res. 13, 261 (2002).
- Tichý M., Rucki M.: Pracov. Lék. 48, 225 (1996).
- Pawliszyn J.: *Solid Phase Microextraction: Theory and Practice*. Wiley-VCH, New York 1997.
- Pawliszyn J. (ed.): *Application of Solid Phase Microextraction*. Royal Soc. Chem., Hertfordshire 1999.
- Arthur C. L., Pratt K., Motlagh S., Pawliszyn J.: J. High. Res. Chromatogr. 15, 741 (1992).
- Eisert R., Levsen K.: J. Chromatogr., A 733, 741 (1996).
- Rault F. M. podle Moore W. J.: *Physical Chemistry*, kap. 7 a 8. Prentice Hall, Inc., 4. vydání, Englewood Cliffs 1972.
- Tichý M., Roth Z., Reitmajer J., Rucki M., Hanzlíková I., Feltl L., v knize: *QSARs for Predicting Ecological Effects* (Walker J. D., ed.), kap. 13. SETAC Press, Pensacola, v tisku.
- Tichý M., Bořek-Dohalský V., Rucki M., Feltl L., v knize: *Predictive Toxicology of Chemicals: Experiences and Impact of AI Tools* (Gini C. G., Katritzky A. R., ed.), str. 152. Am. Assoc. Artificial Intelligence Press, Menlo Park 1999.
- Tichý M., Rucki M., Bořek-Dohalský V., Feltl L. v knize: *Molecular Modeling and Prediction of Bioactivity* (Gundertofte K., Jørgensen F. S., ed.), str. 311. Kluwer/Plenum Pubs., New York 2000.

J. Reitmajer^a, L. Feltl^a, Z. Roth^b, and M. Tichý^b
^a Faculty of Natural Science, Charles University, Prague,
^b National Institute of Public Health, Prague): **Distribution of Components of Binary Mixtures between Aqueous and Gaseous Phases**

Distributions of components of benzene-ethanol, benzene-aniline and benzene-nitrobenzene mixtures between aqueous and gaseous phase were determined in dependence on the composition of the mixtures. Additivity of the distribution coefficients of the components was tested. The dependences of the distribution coefficients K on the molar ratios R of compounds in the mixtures were compared with that of the acute toxicity index EC50 (*Tubifex tubifex*). The most pronounced changes in the distribution coefficients were found for the benzene-ethanol mixture, the smallest for the benzene-nitrobenzene mixture. A deviation of K from the additive behaviour was demonstrated. Changes in total normalized concentration of components in the gaseous phase in the distribution coefficients correspond relatively well to changes in the EC50 index for the benzene-ethanol mixture. For the benzene-aniline mixture, the total normalized concentration of components in the gaseous phase was a good descriptor of the acute toxicity changes. The hypothetical possibility of using QSAR analysis for prediction of acute toxicity of binary mixtures of chemicals as a function of R and K has become more real.

NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE

ISOPROPYL VERSUS SEK-PROPYL

JAROSLAV KAHOVEC

Divize IUPAC pro chemické názvosloví a reprezentaci struktur, Ústav makromolekulární chemie AV ČR, Praha

Autoři příspěvku „Místo isopropylu *sek-propyl*?“ v posledním čísle Bulletinu Asociace českých chemických společností (cit.¹), prof. Pacák a doc. Klímová, navrhuji používat název *sek-propyl* místo isopropyl a svůj návrh patřičně zdůvodňují.

Domnívám se, že eventuální přijetí jejich návrhu není ani účelné, ani by nepřineslo žádný prospěch. Název isopropyl *nebyl* vytvořen nesprávně nebo nelogicky: isopropyl totiž vzniká rozvětvením ethylu na předposledním uhlíku methylovou skupinou, přičemž je lhostejné, že vzniklý alkyl je sekundární a nikoliv primární. Z dosavadního vývoje organického názvosloví, promítnutého do pravidel ve zmíněném Průvodci (cit.²) a z připravovaných změn v názvosloví IUPAC, je zřejmé, že předpony pro alkyly *terc-* a zvláště pak *sek-* i v českém názvosloví budou omezovány, až postupně zaniknou. Důvody tohoto vývoje jsou nejméně tři: autory zmíněná nejednoznačnost u alkylů s větším počtem uhlíků než čtyři, grafické komplikace (*sek-* a *terc-* nutno psát kurzivou a oddělené spojovníkem) a komplikace při abecedním řazení (*sek-* a *terc-* se přitom neberou v úvahu). Naproti tomu předpona *iso-*, pokud je správně použita, je jednoznačná a nečiní potíže při abecedním řazení, neboť je integrální součástí názvu.

Dalším praktickým důvodem, který mluví proti navrhované změně, je obrovská vžitost isopropylu; jsem si jist, že by se *sek-propyl* neujal. Je však třeba vzít v úvahu ještě jeden argument. Je otázkou několika nejbližších desetiletí, kdy ze systematického názvosloví podle IUPAC vymizí jak strukturální deskriptory *sek-* a *terc-*, tak předpona *iso-*.

Pro informaci čtenářů uvádím současně používané názvy pro substituent (CH₃)₂CH-:

isopropyl (název podle IUPAC)

propan-2-yl (název podle IUPAC)

1-methylethyl (název podle Chemical Abstracts, nikoliv podle IUPAC)

2-propyl (nesprávný název)

Na tomto místě je nanejvýš vhodné zdůraznit, že název „isopropanol“, který lze občas zahlédnout v technických textech, je chemické zvrstvení. Je tomu tak především proto, že neexistuje uhlovodík isopropan. Správný název pro tento alkohol je buď propan-2-ol nebo isopropylalkohol.

A na samý závěr ještě dvě poznámky. Předponu *iso-* v názvech chemických látek je nutno v odborném kontextu psát *iso* a nikoliv *izo*, jak bohužel vidáme v lékařských časopisech, ve Vesmíru, v encyklopediích a někdy i v učebnicích (širší pravopisná doporučení viz cit.³).

Předpona *neo-* je v systematickém organickém názvosloví zcela neproduktivní a mrtvá; přežívá ještě jen v neopentylu. Resuscitovat ji však zřejmě zamýšlejí některé lékařské fakulty, které vytrvale žádají na adeptech medicíny znalost například neohexanu, přestože takový název žádný chemik nepoužije.

LITERATURA

1. Pacák J., Klímová H.: Chem. Listy 99, 749 (2005).
2. Průvodce názvoslovím organických sloučenin podle IUPAC. Doporučení 1993. Academia, Praha 2000.
3. Doporučení redaktorům odborných a popularizačních časopisů přírodovědeckého zaměření, autorům vysokoškolských i středoškolských přírodovědných učebnic a tvůrcům odborných právních textů s touto tematikou; Chem. Listy 98, 947 (2004).

DISKUSE

Biofarmacie a biofarmacie

K článku L. Cvaka a M. Fuska *Moderní biotechnologie a farmaceutický průmysl* Chem. Listy 98, 1087 (2004).

Český jazyk používá mnoho slov, která jsou odvozena od řeckých či latinských základů. Tak třeba slovo *bios*, česky život, je součástí mnoha českých názvů a je jich čím dál víc. Biologie a biograf byly jedněmi z prvních. Postupně se objevila biochemie, biofyzika, biotechnologie, biopotraviny, biosyntéza, zrodila se bioklimatologie, biotransformace, dokonce biometalurgie, biomedicína, mohl bych ještě dlouho pokračovat. Objevil se také termín *biofarmacie*. Proč ne? Vždyť existuje biomedicína... Ale co to vlastně ta biofarmacie je? Vysvětlení jsou hned dvě.

Zathurecký (Zathurecký L., Chalabala M., Janků I., Modr Z.: *Biofarmácia a farmakokinetika*, Osveta, Martin 1984) definuje biofarmacii takto: „Biofarmacie je část farmacie, která se zabývá studiem faktorů, které ovlivňují biologickou dostupnost léčiv podaných v lékových formách u lidí a zvířat a použitím získaných údajů na optimalizaci farmakologického a terapeutického účinku léčivých přípravků a léků v klinické praxi.“ Termín biofarmacie uvedl do literatury v r. 1961 J. G. Wagner v článku *Biofarmaceutics; Absorption Aspects*. Jak dále Zathurecký uvádí, vznikl český termín biofarmacie nepřesným překladem Wagnerova anglického výrazu *biofarmaceutics*. Angličtina rozeznává dva termíny *pharmaceutics*, česky galenická farmacie nebo galenika, technologie léků, a *pharmacy*, farmacie. Pro uvedenou disciplínu je navrhován vhodnější termín *biogalenika*.

Podle Chalabaly (Chalabala M. a kol.: *Encyklopédia farmácie*, Osveta, Martin 1991) se termín biofarmacie používá ve většině evropských jazyků jako ekvivalent anglického *biopharmaceutics*. Tentýž autor (Chalabala M. a kol.: *Technologie léků*, Galén, Praha 1997, 2. vydání 2001) důsledně používá termín *biogalenika*.

Ta biogalenika se nějak neujala. Tak třeba v r. 1985 vznikl v Hradci Králové Ústav experimentální biofarmacie jako společné pracoviště AV ČR a a. s. Pro.Med.cs z původního biofarmaceutického oddělení Ústavu experimentální medicíny ČSAV a tento ústav existuje dodnes.

Nahlédněme do některého naučného slovníku či encyklopedie. Ve všeobecné encyklopedii Diderot z r. 1999 si přečteme, že „biofarmacie je obor farmacie studující vztahy mezi strukturou lékové formy a schopností uvolňovat léčivou látku do organismu.“

Na farmaceutické fakultě Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně se ve IV. ročníku magisterského programu přednáší studijní předmět *Lékové formy a biofarmacie*.

Nejsem pravidelným čtenářem Chemických listů a teprve nyní jsem si přečetl práci Cvaka a Fuska (Cvak L., FUSEK M.: *Moderní biotechnologie a farmaceutický prů-*

mysl, Chem. Listy 98, 1087 (2004)), kde jsem se setkal s termínem *biofarmacie*, ovšem v jiném smyslu. Zjednodušeně: podle autorů je biofarmacie částí biotechnologie, která se zabývá produkcí farmaceuticky účinných látek. Tak třeba penicilin je produktem biofarmacie. Dostal se mi do rukou syllabus předmětu *Biofarmacie*, který bude přednášen na VŠCHT v Praze. Obsah – léčiva, biomakromolekuly, biologie buňky, fermentace, monoklonální protilátky, vakcíny, náhrady proteinů a enzymů – svědčí o tom, že jde opět o biotechnologii farmaceuticky účinných látek.

Závěr – rozpačitý. Máme tedy dvě biofarmacie: jednu řekl bych klasickou, a druhou, technickou. Na farmaceutických fakultách se přednáší biofarmacie, na VŠCHT také, ale pokaždé je to o něčem jiném. Nevím, čemu dát přednost. Já jsem pro biogaleniku a biofarmacii-biotechnologii; je to pouze můj názor, nečiním si nárok být arbitrem. Budeme se asi muset smířit s tím, že obě biotechnologie budou existovat vedle sebe, budou ale o sobě vědět. A my také budeme vědět, o čem hovoříme.

Jiří Sajvera
Střední odborná škola v Praze 3

Subjektivní stanovisko k terminologii „biofarmacie“

Úvodní poznámka k terminologické glose, ke které jsem byl redakcí Chemických listů vyzván:

Jazykový purismus ve vědě je mi blízký (v intencích logiky „zdravého selského rozumu“), na druhé straně jsme však i v odborných kruzích občas poplatni zaužívaným klišé. Jako příklad uvedu obor, ke kterému se již přes padesát let hlásím: farmakologii. V obecném jazykovém pojetí „farmakologie“ = nauka o léčích. Díky staleté tradici je však termín farmakologie vyhrazen pouze pro tu část věd o léčích, která se zabývá interakcemi léčivých látek (či potenciálních léčivých látek) s biologickými systémy (na různých morfologických úrovních až v celém organismu). Farmakologie je tak pouze jednou z lékových disciplín na pomezí jednak medicíny (kde spadá do soustavy předklinických oborů) a jednak farmacie (kde je jedním z profílových předmětů vedle např. „farmakognosie“ = nauky o léčivech z přírodních zdrojů, „farmaceutické chemie“ = nauky o syntetických léčivech, „farmaceutické technologie“ v minulosti „galenické farmacie“ = nauky o lékových formách). Osobně jsem učil farmakologii 17 let na lékařských fakultách (i v zahraničí) a dalších 35 let na fakultách farmaceutických.

K „biofarmacii“:

Původní termín „biopharmaceutics“ pochází skutečně

(jak je v Chemických listech uvedeno) z amerického kontinentu (s prof. J. Wagnerem, který je považován za jednoho z biofarmaceutických iniciátorů, jsem se opakovaně setkal v 70. letech minulého století), do češtiny byl převeden jako ne zcela výstižný a odpovídající pojem „biofarmacie“. Nebyl jsem sice u zrodu tohoto překladu, v 60. letech jsme však x-krát na toto téma polemizovali se slovenským profesorem L. Zathureckým, který byl v té době členem výboru Evropské biofarmaceutické a farmakokinetické společnosti (v této funkci jsem ho vystřídal v roce 1986 a setrval jsem v ní až do roku 2000). Adekvátní vylepšený český či slovenský název jsme však pro termín „biopharmaceutics“ nenašli. Takže Ústav, který se mi podařilo v roce 1985 konstituovat jako ústav tehdejší ČSAV, nesl od počátku český název „Ústav experimentální biofarmacie“ a anglický název „Institute of Experimental Biopharmaceutics“ (pod těmito hlavičkami funguje dodnes).

Subjektivně se domnívám, že „biogalenika“ (uváděná jako alternativa v příspěvku v Chemických listech) je pro danou subdisciplínu termínem zvláště nevhodným, protože:

- i farmaceutičtí technologové od názvu „galenika“ v minulém půlstoletí upustili (galenika v původním pojetí reprezentovala především klasickou manufakturní přípravu lékových forem v lékárnách, která se v etapě tzv. lékové exploze od druhé poloviny 20. století stávala čím dál více obsolentní),
- součástí biofarmacie je sice i vliv lékové formy na biologickou dostupnost léčiva, avšak fundamentem je jednak optimalizace „bioavailability“ a farmakokinetiky (viz dále) účinné složky, která je v lékové formě obsažena, a jednak cílené ovlivňování biodistribuce této účinné složky (biodistribuce látky je spojena nikoliv pouze s lékovou formou).

K „biologické dostupnosti léčiv“:

V Chemických listech citovaný Diderot z roku 1999 je nepřesný, protože „biologická dostupnost = bioavailability“ je širším pojmem než pouhé uvolňování léčivé látky z lékové formy v místě podání do organismu. Zahrnuje navíc všechny další farmakokinetické parametry (farmakokinetika = časový průběh osudu léčiv v organismu), které se podílejí na kvantitativním obsahu léčiva v systémovém oběhu po celou dobu, po kterou setrvává léčivo v organismu (tj. transport přes biologické bariéry, biodistribuci, bioeliminaci včetně metabolismu daného xenobiotika a jeho vylučování). Nejjednodušším ukazatelem biologické dostupnosti je plocha pod křivkou (AUC), tj. graficky znázorněná (a následně i numericky vyjádřená) plocha, která je ohraničena koncentrací látky v krvi (obvykle v krevní plasmě) od zahájení jejího vstřebávání až do okamžiku jejího definitivního vymizení z krve.

K biotechnologickým systémům přípravy léčiv:

Biotechnologické výroby léčiv se jako nový směr v rámci farmaceutických věd na mezinárodní úrovni osamostatnily od osmdesátých let minulého století pod nejobvyklejším názvem „biotechnologie léčiv“ anebo jsou zahrnovány jako sub-disciplína do farmakognosie. Na toto

téma jsme na akademické půdě krátce diskutovali v době, kdy vznikl náš Ústav, s tehdejšími předsedou ČSAV akademikem J. Římanem (v jehož širokém vědeckém záběru byly i biotechnologie). Původně měl podobný názor jako je uveden v příspěvku v Chemických listech, že v biofarmacii jde o biotechnologickou výrobu léčiv. Uznal však, že dominantou pro lékové problematiky je farmacie, a že je třeba respektovat její mezinárodní nomenklaturu (včetně terminologických norem, uváděných v národních a nadnárodních lékopisech).

K poznámce o některých studijních „lékových“ směrech na VŠCHT:

O současnosti nejsem dostatečně informován, vzpomínám však, jak jsem si před cca dvaceti lety dělal legraci z pražské VŠCHT, která měla v jednom z učebních sylabů jednosemestrovou výuku „farmakologie“. Na jaké úrovni byly asi znalosti frekventantů, když ve stejném sylabu nebyla ani zmínka o nezbytných výukových předstupu pro pochopení farmakologických principů (např. o fyziologii, patologické fyziologii, pato-biochemii, molekulární biologii, mikrobiologii)?

*Prof. RNDr. Jaroslav Květina, DrSc.
Ústav experimentální biofarmacie,
společné výzkumné pracoviště AV ČR
a a. s. PRO.MED.CS.*

Poznámka k poznámce o některých studijních „lékových“ směrech na VŠCHT pana profesora Květiny

Prof. Květina sice uvádí, že není dostatečně informován o současné výuce „lékových směrů“ na VŠCHT v Praze (škoda, na našich www stránkách lze nalézt informací dostatek!), nicméně se jí snaží lehce zpochybnit a zdiskreditovat jistou reminiscenci na jednosemestrovou výuku „farmakologie“, kvůli níž si „cca před dvaceti lety dělal legraci z pražské VŠCHT“. Nepředcházely jí tehdy podle jeho názoru „nezbytné výukové předstupy...“. Chtěl bych pana profesora Květinu ubezpečit, že některé z těchto předstupu nepředcházejí výuku farmakologie ani v dnešním programu „Syntéza a výroba léčiv“. Program je orientován na výchovu odborníků, kteří na trhu práce dosti chybějí a je koncipován zcela v souladu se svým názvem. Jeho absolventi jistě nebudou farmakology, oni jimi ale v jistém horizontu po skončení studia ani být nechtějí a ani nemohou. Budou z nich technicky vzdělaní odborníci v oblasti syntézy a výroby léčiv, kterým ovšem určité informace i z poněkud vzdálenějších oblastí určitě neuškodí. Vyučující znají jejich předchozí průpravu a svoje předměty jí přizpůsobili. Tak je tomu i s farmakologií.

Moji kolegové i já známe studijní programy farmaceutických fakult docela dobře. Rozhodně jsme v nich nehledali věci pro zasmání, nejspíše bychom je ani nenašli. Snažili jsme se v nich naopak hledat inspiraci pro rozšíření

obzoru budoucích absolventů programu „Syntéza a výroba léčiv“. O tom, že se nám to po řadě diskusí s odborníky z jiných škol, ústavů AV ČR a výrobních podniků nakonec podařilo, svědčí snad nejlépe to, že tento program byl akreditován.

*Prof. Ing. Libor Červený, DrSc.,
proděkan pro vědu a výzkum FCHT
a vedoucí Ústavu organické technologie
VŠCHT Praha*

Obsazený název

Jako autory článku by nás diskuse k jeho obsahu měla těšit, ale opak je pravdou. Diskusi totiž nevyvolal hlavní předmět našeho sdělení, tj. nová léčiva makromolekulární povahy připravovaná rekombinantní technologií, která v posledních letech agresivně vstupují na trh, ale v podstatě naše neúmyslné terminologické opomenutí. Ve snaze přinést informaci o něčem novém jsme si nevšimli, že termín biofarmacie je už obsazen. Přitom o jeho obsahu alespoň něco víme – minimálně známe Ústav experimentální biofarmacie a tušíme čím se zabývá.

Ale vraťme se k našemu článku. Ona moderní léčiva, či snad léčebné postupy, lze rozdělit do dvou skupin. Ta

první jsou makromolekulární látky připravené rekombinantní technologií a používané k léčení nemocí řekněme klasickou cestou. Tato léčiva jsou běžně označována jako bioléčiva (biodrugs). Existuje o nich řada monografií, pořadají se o nich konference a termín „biodrugs“ používá i FDA a jiné autority. Tato léčiva jsou už na trhu a počet látek ve vývoji či různých fázích registrace už převyšuje počet léčiv klasických (malých organických molekul). Vzhledem k tomu, že termín bioléčiva nevyvolal žádnou reakci, věříme, že je volný a že bude i v češtině používán. Dovolujeme si jen poznamenat, že do této skupiny nepatří penicilin vyrobený fermentačně – viz poznámka Dr. Sajvery. Ten lze skutečně zařadit do klasické farmakognosie jako součást sub-disciplíny „produkty biotechnologie“, jak píše prof. Květina.

S druhou skupinou oněch diskutovaných makromolekulárních nových léčiv je to však složitější. Jedná se o různé genové a buněčné terapie a jiné. Tato oblast je dnes teprve na začátku svého vývoje a také v našem článku je pouze naznačena. Je však zřejmé, že spíše než o klasické podávání léků v ní půjde o nové léčebné postupy. A tuto oblast asi nebude možné shrnout pod název bioléčiva. Tady by se nám termín biofarmacie docela hodil. Co však s tím, když je už obsazen?!

Martin Fusek a Ladislav Cvak

APROCHEM 2006

15. konference • Chemické technologie • Látky • Materiály

Konference se bude konat již v termínu 24. – 26. dubna 2006 v Milovech hotelu Devět Skal.

Zaměření: Rozvoj chemického průmyslu, výzkumu a školství. Pokroky v technologických procesech základní organické a anorganické chemie, zpracování ropy a kvalitě paliv, petrochemii, polymerech a chemických specialitách – farmacie, biochemie, mikroelektronika, spotřební chemie. Zvyšování ochrany prostředí a bezpečnosti v chemii. Nová legislativa IPPC a REACH. Význam procesů BAT a dokumentů BREF. Dosavadní zkušenosti a dopady. Dobrovolné programy a iniciativy průmyslu. Procesy zpracování, zneškodnění a likvidace odpadů.

Kontakty: www.aprochem.cz • pche@esvts.cz • T/F: 233 336 138 • Ing. Jaromír Škarka, CSc.
Na Dračkách 13, 162 00 Praha 6 • Přípravuje PCHE PetroCHEmEng ve spolupráci s ČSPCH, ČSCHI, ČSCH, VŠCHT Praha, SChP ČR, ÚCHP AV ČR, CEMC.

CHEMICKÝ PRŮMYSL

POVINNOST ZNAČKOVÁNÍ ZNEUŽITELNÝCH ROPNÝCH A PETROCHEMICKÝCH PRODUKTŮ

MARTIN ŠILHAN

Svaz chemického průmyslu ČR, Dělnická 12, 170 04 Praha 7

martin.silhan@schp.cz

Proč požaduje státní správa povinné značkování chemikálií?

Spotřební daně jsou upraveny zákonem č.353/2003 Sb., který platí od 1.ledna 2004. Zákon je v současnosti novelizován, novela mimo jiné obsahuje úpravu o povinnosti značkování některých chemických výrobků. Tato pro chemiky důležitá úprava byla vyvolána zvyšujícím se počtem kontrolních zjištění, podle kterých se do pohonných hmot přimíchávají jiné nezdaněné výrobky (např. xyleny nebo toluen). Proto se předpokládá zavedení povinnosti značkování chemických výrobků. Principy úpravy značkování jsou shodné s barvením a značkováním, které je dnes obsahem zákona č.136/1994 Sb., ve znění pozdějších předpisů, a které bude převzato do zákona o spotřebních daních.

„Značkování“ v principu znamená přidání značkovače do značkové látky v koncentraci v jednotkách ppm. Značkovač musí být látka bezbarvá a vůči značkové látce chemicky inertní. Přítomnost značkovače bude zjištělná přenosným zařízením, tzv. „testerem“, například při běžné silniční kontrole. Při podezření na přítomnost označované látky v pohonné hmotě bude odebrán vzorek pohonné hmoty pro podrobnější laboratorní analýzu. Obal, obsahující pohonnou hmotu, bude zaplombován do doby získání výsledku analýzy.

Značkování bude povinné pro chemické výrobky vyrobené, nebo dovezené na území České republiky, a to nejpozději při vstupu na daňové území České republiky. Chemické výrobky, určené pro trhy mimo Českou republiku, budou od povinnosti značkování oprostěny. Navrhované právní řešení je v souladu s ústavním pořádkem České republiky, úprava není v rozporu s mezinárodními smlouvami, jimiž je Česká republika vázána. Uvedená opatření mají nabýt účinnosti dnem vyhlášení tak, aby značkování mohlo být prováděno od 1. ledna 2007.

Kterých skupin chemikálií se značkování bude týkat?

Návrh novely předpokládá značkování skupin petrochemických produktů uvedených v tabulce.

Svaz chemického průmyslu České republiky (SCHP ČR) požaduje udělení výjimky z povinnosti značkování u následujících skupin látek: laboratorní a čisté látky, látky

Kód dle celního sazebníku	Název	Kód dle celního sazebníku	Název
2902 20 10	benzen	2902 42 00	<i>m</i> -xylen
		2902 43 00	<i>p</i> -xylen
2902 30 00	toluen	2902 44 00	směsi xylenů
2902 60 00	ethylbenzen	2905 11 00	methanol
2902 41 00	<i>o</i> -xylen	3814 00 90	složená organická rozpouštědla

pro farmaceutické a potravinářské použití, vybrané suroviny pro výrobu nátěrových hmot, vybrané suroviny pro výrobu chemických specialit a vybrané petrochemické produkty.

Předpokládaný finanční dopad značkování

Dopady na zavedení značkování některých dalších minerálních olejů a chemických výrobků zatím nelze odhadnout. Ze státního rozpočtu budou hrazeny náklady na vybavení kontrolních orgánů tzv. testery.

SCHP ČR upozorňuje orgány státní správy na skutečnost, že značkování chemických produktů není metoda běžně užívaná ve světě, ani v zemích Evropské unie. SCHP ČR dále důrazně upozorňuje, že povinnost značkování představuje další břemeno pro chemické podniky v České republice, které dopadne převážně na malé a střední podniky, což je dnes nejvíce ohrožená skupina podniků v české chemii. Jedním z důvodů ztížení podnikání bude finanční a administrativní náročnost vedení dvojí evidence látek. Druhým pak fakt, že v řadě případů jsou suroviny odebírány od zahraničních producentů, u kterých se očekává menší ochota přistoupení ke značkování jejich produkce, určené pro Českou republiku.

Na koho se obrátit se žádostí o výjimku ze značkování?

Novelu zákona připravilo Generální ředitelství cel ČR. Vlastní seznam chemických produktů, podléhajících povinnosti značkování, seznam výjimek a technické provedení značkování bude však předmětem navazující vyhlášky. Vyhláška bude v gesci Ministerstva průmyslu a obchodu České republiky (MPO), odboru kapalných paliv. Obsahové připomínky pro chemické produkty (např. seznam požadovaných výjimek) bude zajišťovat odbor lehkého průmyslu MPO, SCHP ČR je rovněž připraven spolupracovat na problematice značkování. Připomínky k problematice barvení a značkování některých minerálních olejů zajišťuje odbor kapalných paliv MPO, popřípadě Česká asociace petrolejářského průmyslu a obchodu.

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 2006–2007 do následujících oborů doktorských studijních programů uskutečňovaných na fakultách VŠCHT Praha:

Fakulta chemické technologie

Studijní program: Chemie

Studijní obory: Anorganická chemie
Organická chemie
Makromolekulární chemie

Studijní program: Chemie a chemické technologie

Studijní obory: Anorganická technologie
Organická technologie

Studijní program: Chemie a technologie materiálů

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

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: Mikrobiologie

Studijní obor: Mikrobiologie

Studijní program: Biochemie a biotechnologie

Studijní obor: Biotechnologie

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: Chemické a procesní inženýrství

Studijní obor: Chemické inženýrství
Technická kybernetika
Řízení a ekonomika podniku

Studijní program: Aplikovaná matematika

Studijní obor: Aplikovaná matematika

Všechny doktorské studijní programy jsou uskutečňovány formou prezenční nebo kombinací prezenční a distanční formy. Standardní doba studia v DSP v prezenční formě je tři roky a student může studovat v této formě studia nejdéle čtyři roky. 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 2006** na děkanáty příslušných fakult, Technická 5, 166 28 Praha 6.

Asociace českých chemických společností
a Asociácia slovenských chemických
a farmaceutických spoločností
ve spolupráci se spoločnosťami

Spolek pro chemickou a hutní výrobu a.s.

a

Univerzitou J. E. Purkyně v Ústí nad Labem
pořádají

58. Sjezd chemických společností

4.–8. září 2006, Ústí nad Labem



Odborný program proběhne v následujících sekcích:

1. Analytická a fyzikální chemie
2. Anorganická a materiálová chemie
3. Organická a farmaceutická chemie
4. Petrochemie a polymery
5. Výuka, informatika a historie chemie
6. Chemie životního prostředí
7. Chemie potravin a biotechnologie
8. Průmyslová chemie – CHEMPROGRESS

Temíny:

Přihlášení příspěvků (vč. krátkého abstraktu)	18.2.2006
Oznámení o přijetí	13.3.2006
Druhý oběžník na webu	18.3.2006
Registrace za standardní poplatek	30.4.2006
Zaslání abstraktu pro sborník	15.5.2006

Sjezd se koná v Ústí nad Labem, významném středisku českého chemického průmyslu v roce, kdy Spolek pro chemickou a hutní výrobu, a.s., oslaví 150. výročí svého založení. Koná se také v roce, kdy časopis České společnosti chemické, „Chemické listy“, vydají svůj řádný stý ročník. A v neposlední řadě je konání sjezdu v Ústí n. L. i reflexí toho, že na Univerzitě Jana Evangelisty Purkyně byla nově zřízena Přírodovědecká fakulta, teprve druhá v Čechách, a byla tak posílena i pozice chemických oborů v regionu.

Kontakt pro zaregistrované účastníky: info@orgit.cz

Adresa pro písemný styk: Česká společnost chemická,
Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1

Další informace na adrese: <http://www.sci.ujep.cz/sjezd>

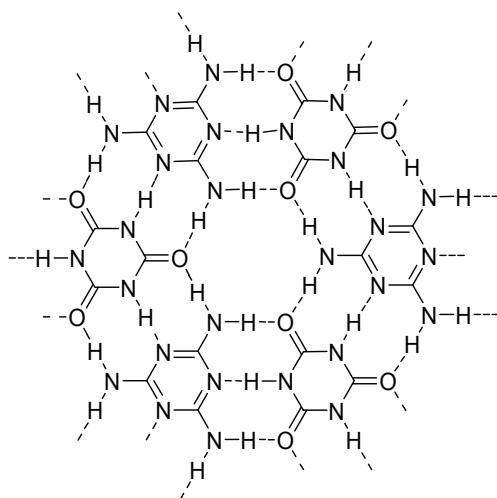


BULLETIN

ASOCIACE ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

Ročník 37

Číslo 1



Ústřední komise
ÚKCHO
chemické olympiády

Český komitét
ČKCH
pro chemii



ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÉHO INŽENÝRSTVÍ
CZECH SOCIETY OF CHEMICAL ENGINEERING



Obsah Chemické listy 2005, číslo 11 a 12

ČÍSLO 11/2005

ÚVODNÍK	771
REFERÁTY	
Biosyntéza, sekrece a degradace insulinu	772
L. Žáková a J. Jiráček	
Biochemické a toxikologické aspekty etiologie balkánské endemické nefropatie	782
M. Stiborová, J. Patočka, E. Frei a H. H. Schmeiser	
Súčasný stav a perspektivy využitia rýchlej plynovej chromatografie v kombinácii s hmotnostnou spektrometriou	789
M. Kirchner a E. Matisová	
Přírodní barevné látky	802
J. Čopíková, M. Uher, O. Lapčík, J. Moravcová a P. Drašar	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Stanovení kyseliny adipové v průběhu její polykondenzace s 1,4-diaminobutanem	817
Z. Hroch a I. Prokopová	
Využití infračervené spektroskopie při sledování kvality kakaového prášku	821
A. Trilčová, J. Čopíková, M. A. Coimbra, A. S. Barros, H. Křístková, L. Egert a A. Synytsya	
NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE	825
LIBLICE 2005	827

ČÍSLO 12/2005

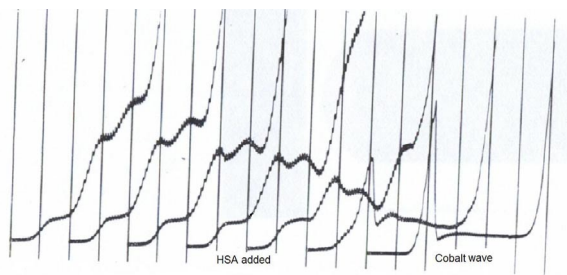
ÚVODNÍK	882
REFERÁTY	
Proteomický průvodce	883
J. Chmelík	
Proteomika v postgenomové době	886
H. Kovářová	
Proteomika jako komplexní přístup ke studiu fyziologických regulací u bakterií	890
J. Weiser, M. Holub, Š. Nezbedová a S. Bezoušková	
Proteolytické enzymy: význam pro proteomiku	896
T. Štosová, J. Havliš, R. Lenobel a M. Šebela	
Integrovaná řešení pro proteomické pracovní postupy – Sigma-Aldrich	906
K. Herick	
Mikrofluidika: Nový způsob úpravy a vnášení vzorků pro hmotnostní spektrometrii	915
J. Grym a F. Foret	
Metodické přístupy současné fosfoproteomové analýzy	922
P. Halada	
Ionizace laserem za přítomnosti matrice za atmosférického tlaku (AP-MALDI) – nový směr v analýze peptidů a proteinů	930
M. Godula	
Lineární iontová past a její aplikace v proteomické analýze	937
P. Verner	
Iontová cyklotronová rezonance s Fourierovou transformací (FT-ICR MS) a její využití jako nejflexibilnější hmotnostně spektrometrické metody v proteomice	943
M. Boháč, A. Ingendoh, J. Fuchser a M. Witt	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Systém pracující na principu dvojrozměrné kapalinové chromatografie proteinů jako alternativa k dvojrozměrné gelové elektroforéze	952
H. Skalníková, H. Kovářová, J. Moos, V. Filová a P. Halada	
Proteomika v molekulární toxikologii: Identifikace potenciálních časných proteinových biomarkerů hepatokarcinogenity u kryš	957
K. Fella, M. Glückmann, V. Krufft, P.-J. Kramer a M. Kröger	
Charakterizace proteomu bakteriofága 812	962
Z. Zdráhal, L. Eyer, H. Konečná a J. Preisler	
Proteomická identifikace glutenových bílkovin	967
J. Šalplachta, G. Allmaier a J. Chmelík	
LIBLICE 2005 – dodatky	972

OD BRDIČKOVY POLAROGRAFICKÉ FILTRÁTOVÉ REAKCE K ALFA-1 KYSELÉMU GLYKOPROTEINU (OROSOMUKOIDU)

VÍTĚZ KALOUS

Malostranské nám. 10, 118 00 Praha 1

Když RNDr. Rudolf Brdička, tehdy mladý docent na Ústavu fyzikální chemie, Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy, vedeném jeho ředitelem prof. Jaroslavem Heyrovským, zkoumal v 30. letech polarografické chování solí kobaltu, pozoroval po přidání krevního séra do studovaného roztoku neočekávaný efekt. Ostré vysoké maximum na začátku vlny kobaltu bylo potlačeno a na limitním proudu kobaltu se objevila dvojná (obr. 1). Brdičkovým úmyslem nebylo tehdy zkoumat chování krevních bílkovin, ale využít jejich vlastností jako povrchově aktivních látek k potlačení proudového maxima. V pracovní atmosféře, vytvořené prof. J. Heyrovským, se pracovní kolektiv zaměřil na nově objevené, a Brdička začal zkoumat jev, který byl později znám jako Brdičkova katalytická vlna bílkovin¹. Označení katalytická znamenalo, že nešlo o redukční vlnu bílkoviny, ale o katalyzované vylučování vodíku na rtuťové kapkové elektrodě některou částí molekuly bílkoviny. Byl to Brdička, který zjistil, že vodík se vylučuje ze sulfhydrylové skupiny, která přísluší cysteinu nebo redukovanému cystinu. Vedle základního výzkumu se Brdička začal věnovat aplikaci v lékařské praxi. Dostalo se mu totiž příležitosti pracovat v laboratořích Radiologického ústavu nemocnice v Praze na Bulovce (nyní Onkologického ústavu). Na toto renomované pracoviště se Brdička dostal po zavření českých vysokých škol v roce 1939. Výzkum ukázal, že když působíme na normální a rakovinné sérum zředěným louhem, mají polarografické dvojná bílkovin rozdílnou výšku. U sér normálních byly výšky vln vyšší než u sér patologických. Tento postup je znám



Obr. 1. Brdičkovy polarografické vlny po přidávání roztoku serumalbuminu do Brdičkovy soule (amoniakální pufr, který obsahuje ionty dvojmocného kobaltu). Nejvyšší vlna, s vysokým ostrým maximem, přísluší redukci samotných iontů kobaltu. S přidáváním roztoku serumalbuminu se postupně zvyšuje katalytická dvojná bílkoviny

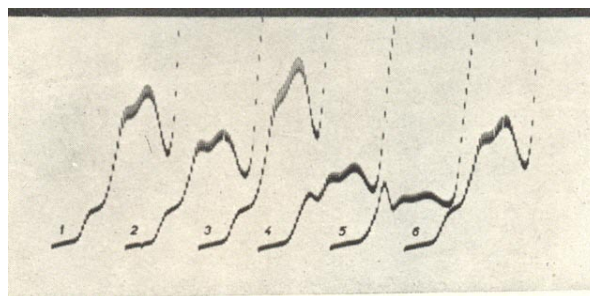
jako Brdičkův polarografický denaturační test. Tento postup byl později úspěšně použit Homolkou² při zkoumání jednotlivých elektroforetických frakcí při metodě kombinující polarografii s elektroforézou na papíře.

Ve snaze zvýšit citlivost vyšetřování sér navrhl Brdička nový postup označený jako Brdičkova polarografická filtrátová reakce (BPFR)^{2–5}. Na této reakci se podílel Mayer⁷ v laboratoři Waldschmidta-Leitze na pražské německé technice, když připravil sulfosalicylové filtráty pro polarografické vyšetření. Po řadě pokusů dospěl Brdička k následujícímu postupu vyšetření: K séru byl přidán zředěný hydroxid draselný, po 45 min pak 20% kyselina sulfosalicylová. Vznikla bílá sraženina, která obsahovala serumalbumin a většinu globulinů. Po filtraci byl filtrát přidán do amoniakálního roztoku obsahujícího ionty trojmocného kobaltu. Zatímco séra normální poskytovala nízké vlny, pak séra osob trpících maligním onemocněním dávala vlny zřetelně vyšší (obr. 2).

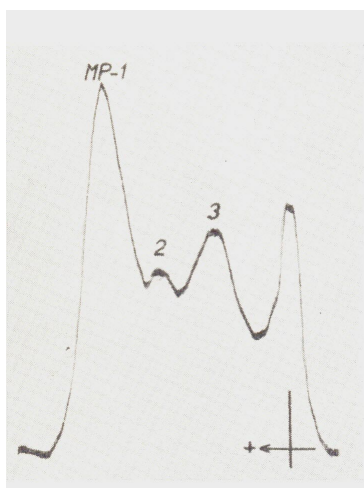
Vzhledem k popularitě polarografie v době po 2. světové válce byla Brdičkova reakce testována nejen u nás, ale i v zahraničí včetně USA. Přes Brdičkovo varování se všichni snažili vyzkoušet novou diagnostickou metodu z hlediska včasného zjištění maligního bujení. Po počátečním optimismu se, podobně jako v řadě jiných metod, ukázalo, že zvýšení polarografické vlny poskytovaly nejen malignity, ale i séra osob trpících chorobami zánětlivého typu, jako je např. zánět plic, artritida, infarkt myokardu, a řada dalších onemocnění. Ukázalo se, že větší význam než jednorázové vyšetření má pro pacienta opakované testování jeho stavu. Tak se dá zjistit úspěšnost operace nebo aplikace cytostatik.

K tomu, aby byla Brdičkova reakce vylepšena z hlediska diagnostiky maligního procesu, byla navržena řada modifikací³. Žádná však nepřinesla žádaný výsledek.

Jistě perspektivnější byl výzkum zaměřený na povahu látek působících Brdičkovu reakci. Původní názor Brdičkův, že jde o níže molekulární štěpné produkty bílkovin typu albumos, byl založen na znalostech o proteinech v 30. letech minulého století. Experimentální studie látek v sulfosalicylových filtrátech provedl ve 40. letech Mayer⁷.



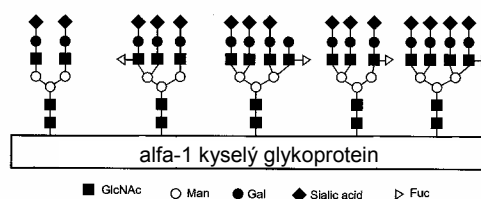
Obr. 2. Lékařská aplikace Brdičkovy filtrátové reakce u řady patologických sér. Obrázek ukazuje různě vysoké dvojná sulfosalicylových filtrátů připravených ze sér osob s následujícími diagnózami: (1) Status febrilis, (2) Tumor hepatis, (3) Ca. ventriculi susp., (4) zdravý jedinec – referentní výška vlny, (5) Cirrhosis hepatis, (6) Arteriosclerosis



Obr. 3. Fotometricky vyhodnocené dělení bílkovin ze sulfosalicylového filtrátu provedené na papíře v acetátovém pufru. Jde o látky odpovědné za Brdičkovu reakci. V největší míře je zastoupen mukoprotein MP-1 (v čisté formě nazvaný alfa-1 kyselý glykoprotein nebo orosomukoid). Obrázek je z diplomové práce J. Pavlů, pracovníka ze skupiny V.K.

Ten ukázal, že jde o látky bílkovinné povahy obsahující cukernou složku. Nezávisle na něm zkoumali látky ve filtrátech za války američtí pracovníci. Vycházeli z polarografické práce Winzlera a Burka⁸, kteří studovali experimentální nádory u zvířat. Izolovanou látku považovali zprvu za proteosou. V další práci Winzler a spol.⁹ popsali látky podle tehdejší nomenklatury jako mukoproteiny, které se při klasické Tiseliově elektroforéze podle svých pohyblivostí dělily na tři složky, pojmenované MP-1, MP-2 a MP-3 (Mehl a spol.¹⁰). U nás se tímto problémem zabýval Kalous¹¹, který elektroforetickou analýzou určil isoelektrické body pI všech tří složek na hodnoty: hlavní složky MP-1 pI 2,5, MP-2 pI 3,9 a minoritní MP-3 na pI 4,3 (obr. 3). Všechny složky se ukázaly být polarograficky aktivní a tedy zodpovědné za Brdičkovu filtrátovou reakci.

Nalézt složku MP-1 v nativním séru se podařilo Mehlovi a spol.¹² při elektroforéze v acetátovém pufru při pH 4,5. Tuto složku, která na rozdíl od albuminu a globulinů putovala anodicky, označil jako M-1. Obsah této velmi kyselé složky byl relativně velmi malý, protože M-1 představovala v normálních sérech pouze 1 % krevních bílkovin. Výrazně vyšší obsah M-1 byl zjištěn v sérech pacientů trpících nádorovým onemocněním. Když bylo známo elektroforetické chování složky M-1, bylo možno přikročit k její izolaci z nativního séra. To se podařilo Weimerovi, Mehlovi a Winzlerovi¹³ v Kalifornii, když v séru zvyšovali koncentraci síranu amonného. Tento postup, známý jako vysolování bílkovin, ukázal, že mukoprotein MP-1 je nerozpustnější bílkovinou krevního séra. K jeho vysrážení bylo třeba přidat tuhý síran amonný až do úplného nasycení roztoku. Výtěžky izolace byly nízké, kolem 100 mg z filtrátu připraveného z 1 litru krevního séra nebo plasmy. Byl zde však další zdroj pro izolaci MP-1, a to frakce VI,



Obr. 4. Schématické znázornění struktury orosomukoidu. Na jednoduchém lineárním peptidickém řetězci jsou na pěti místech vázány složité polysacharidy

kteří vznikala při frakcionaci krevní plasmy tzv. Cohnovou alkoholovou metodou. Tato metoda sloužila za války pro izolaci serumalbuminu pro účely válečné chirurgie. Složka MP-1 byla ve své izolované formě nazvána alfa-1 kyselý glykoprotein, zkratka AGP nebo AAG (alfa-1 acid glycoprotein). Toto pojmenování je dáno klasifikací krevních proteinů podle elektroforetické pohyblivosti při běžně užívaném pH 8,6 (alfa-1 globuliny) a skutečností, že AGP obsahuje řadu glycidů. O izolaci z frakce VI se zasloužil Schmid¹⁴, který pak v poválečných letech spolu s řadou spolupracovníků provedl analýzu jak aminokyselinové, tak cukerné části AGP. Z evropských pracovišť je třeba jmenovat německou skupinu vedenou Schultzem¹⁵. Pro AGP se v pozdějších letech rozšířil název orosomukoid (ORS). U nás použili pro izolaci AGP chromatografickou metodu izolace na modifikovaných celulosách Kalous a Poncová¹⁶, a to na rozdíl od jiných prací přímo z celého séra bez jeho předchozí frakcionace. Vlastnosti tohoto proteinu shrnul v poslední době Fournier a spol.¹⁷

Pokud jde o složku MP-2, vyplynulo z prací Kalouse a Pavlíčka¹⁸, že jde o krevní haptoglobin, částečně rozpustný v sulfosalicylové kyselině. Složka MP-3, představující méně než 5 %, je podle svého plochého maxima směsí méně významných složek.

Zabýváme se nyní vlastnostmi AGP jako hlavní složkou filtrátů^{14,19}. V molekule AGP jsou přítomny D-manoza, D-laktosa, L-fukosa, N-acetylglukosamin, N-laktosamin a sialová kyselina (N-acetylneuraminová kyselina). Uvedené sacharidy představují 43 hm.% AGP. Monosacharidy jsou vzájemně vázány do pěti různých oligosacharidů, které jsou navázány v pěti místech na peptidický řetězec (obr. 4). Každý z těchto oligosacharidů (glykanů) má společné jádro (core), představované třemi manosami a dvěma N-acetylglukosaminy. Na dvě manosy jsou pak navázány různé počty trisacharidů, z nichž každý je tvořen glukosaminem, galaktosou a sialovou kyselinou, jako koncovou molekulou. Navázané řetězce jsou v literatuře uváděny jako antény. V molekule AGP jsou přítomny oligosacharidy di-, tri- a tetraantennního typu (obr. 4).

Podrobnější studium AGP ukázalo, že existují molekuly AGP o různé anténnosti v různých vazebných místech peptidického řetězce. AGP je tedy mikroheterogenní z hlediska sacharidových složek. Jestliže pracujeme

s komerčním AGP, izolovaným ze směsného séra, musíme počítat s tím, že obsahuje molekuly sice blízkého, ne však totožného složení. Podle Fourniera a spol.¹⁷ existuje 12 základních molekul AGP s různou anténní strukturou glykanových řetězců (Smith a spol.²⁰).

Hlavní zásluhu¹⁹ na poznání struktury cukerné části AGP mají moderní metody hmotnostní spektrometrie. Mezi ně patří metoda MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation), která umožňuje studovat velké netěkavé molekuly biopolymerů včetně glykoproteinů a polysacharidů o hmotnostech desítek i více kilodaltonů. Ke studiu struktury AGP přispěla také NMR spektroskopie, která umožňuje studovat v těžké vodě protony acetylů *N*-acetylneuraminové kyseliny a *N*-acetylglukosaminu. Také metody spektroskopické, zvláště čtvrtá derivace absorpčního spektra AGP v ultrafialové oblasti, přinesly nové poznatky o tyrosinu a fenylalaninu. Mnoho poznatků také přinesly metody chromatografické. Přes nemalé úsilí se nepodařilo najít významný vztah mezi strukturálně charakteristickou formou AGP a klinickým stavem pacienta.

V klinické laboratoři bývá Brdičkova reakce nahrazena automatizovaným nefelometrickým stanovením AGP, ke kterému je přístupováno jako k jedinému proteinu akutní fáze. Pokud jde o posouzení mikroheterogenity AGP, byla vypracována metoda CAIE (Cross Affino Immuno Electrophoresis), popsána u nás Kalousem¹⁹.

Po útlumu aplikace Brdičkovy reakce v klinické chemii dochází k její renesanci v obecné biochemii. Děje se tak použitím moderních elektroanalytických metod. Perspektivní se jeví použití těchto metod ke studiu cukerné části molekuly alfa-1 kyselého glykoproteinu.

Závěrem je možno konstatovat, že alfa 1-kyselý glykoprotein (orosomukoid), k jehož objevu přispěla podstatným způsobem Brdičkova reakce, je velmi zajímavým krevním proteinem, jehož uplatnění v klinické praxi na sebe dává teprve čekat. Již dnes jeho výzkum rozšiřuje naše znalosti o glykoproteinech obecně a AGP slouží jako testovací protein nových metod pro studium sacharidové části glykoproteinů. Přestože moderní fyzikálně-chemické metody umožňují pozorovat jemnosti ve složení orosomukoidu v patologických sérech z hlediska struktury sacharidové složky, přesto neposkytují přes svou nákladnost výrazně více informací než Brdičkova reakce. Jejímu širšímu rozšíření v klinických laboratořích brání relativní pracnost daná nutností srážení hlavních bílkovin sulfosalicylovou kyselinou, následovaná filtrací. I vlastní polarografická analýza je obtížněji automatizovatelná než spektroskopické metody užívané v analyzátoch. Perspektivní se jeví studium orosomukoidu jako imunosupresoru spolu se studiem rodiny proteinů zvaných lipocaliny, do které byl tento protein v posledních letech zařazen.

Článek je věnován jako vzpomínka na akademika Rudolfa Brdičku při příležitosti 70-ti letého výročí jeho objevu polarografické reakce bílkovin.

LITERATURA

1. Brdička R.: Collect. Czech Chem. Commun. 5, 112, 148, 238 (1933).
2. Homolka J., v knize: *Polarografie bílkovin a její klinické využití*. Stát. zdrav. naklad., Praha 1964; *Polarography of Proteins, Analytical Principles and Applications in Biological and Clinical Chemistry*, str. 436, v *Methods of Biochemical Analysis*, Vol. 19 (Glick D., ed.). J. Wiley, New York 1971.
3. Brdička R., Březina M., Kalous V.: Talanta 12, 1149 (1965).
4. Březina M., Zuman P.: *Polarography in Medicine, Biochemistry and Pharmacy*. Interscience, New York 1958. *Polarografie v lékařství, biochemii a farmacii*. Zdrav. naklad., Praha 1952.
5. Brdička R.: Klin. Wochenschr. 18, 305 (1939).
6. Fořt M., Brdička R., Ott K., Voříšková M.: Čas. Lék. Česk. 82, 432 (1943).
7. Mayer K.: Z. Physiol. Chem. 275, 134 (1942).
8. Winzler R. J., Burg G.: Cancer Res. 3, 134 (1942).
9. Winzler R. J., Devor A. W., Mehl J. W., Smyth I. M.: J. Clin. Chem. 27, 609 (1947).
10. Mehl J. W., Humprey J., Winzler R. J.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 72, 106 (1949).
11. Kalous V.: Collect. Czech. Chem. Commun. 21, 1227 (1956).
12. Mehl J. W., Golden F., Winzler R. J.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 72, 110 (1949).
13. Weimer H. E., Mehl J. W., Winzler R. J.: J. Biol. Chim. 185, 561 (1950).
14. Schmid K.: *Human Plasma α_1 -acid Glycoprotein*. Alan L. Liss, New York 1989.
15. Schulze H. E., Heremans J. F.: *Molecular Biology of Human Plasma Proteins*. Elsevier, Amsterdam 1966.
16. Kalous V., Poncová M.: Collect. Czech. Chem. Commun. 30, 737 (1965).
17. Furnier T., Medjoubi N. N., Porquet D.: Biochim. Biophys. Acta, 1482 157 (2000).
18. Kalous V., Pavlíček Z.: Arch. Biophys. 106, 489 (1964).
19. Kalous V.: Chem. Listy 94, 1087 (2000).
20. Smith K. D., Elliott M. A., Elliott H. G.: J. Chromatogr., B 661, 7 (1994).

CHEMIKÁLIE ZNAČENÉ STABILNÍMI ISOTOPY DODÁVANÉ FIRMOU ISOTEC

JIRÍ NOHEJL

Sigma-Aldrich s.r.o.

Americká firma ISOTEC, která se stala součástí korporace Sigma-Aldrich před několika lety, je jedním z nejvýznamnějších výrobců a dodavatelů isotopicky značených sloučenin na světě. Byla založena před více než dvaceti lety v Miamisburgu (Ohio) a s postupem času se na základě přání zákazníků rozšiřoval její sortiment tak, že v současnosti činí přes 3000 produktů, které jsou rozděleny do několika hlavních skupin podle oblastí možných aplikací. Nabídka je zaměřena hlavně na spotřební materiál v rychle se rozvíjejících oblastech výzkumu struktury látek, studie metabolismu a výživy, ale i oblast zemědělství. V neposlední řadě jsou produkty určeny pro nukleární magnetickou rezonanci (NMR) a pro techniky MRI a MR tedy pro „Magnetic Resonance Imaging“ a „Magnetic Resonance Spectroscopy“. Tyto unikátní techniky, umožňují zviditelnit metabolické změny na molekulární úrovni, probíhající v lidských tkáních, např. v mozku a plicích. Poskytne – za pomoci isotopů ^{17}O a hyperpolarizovaného ^3H a ^{129}Xe – spektra s vyšším rozlišením a citlivostí než jiné přírodní sloučeniny. Potenciál této metody spočívá např. v možnosti včasné diagnostiky neurologických, psychiatrických a respiračních poruch. Stále zřetelnější je i využití těchto technik, a tím také značených produktů v oblasti výzkumu biomolekul a v oborech „Life Science“ vůbec.

Mimo běžnou katalogovou nabídku produktů je firma schopna také vyrobit i poměrně složité molekuly, které budou isotopicky značeny přesně podle zákaznických požadavků. Důležitou částí výroby je také zakázková peptidová syntéza vycházející z isotopicky značených aminokyselin. Vysokou kvalitu produktů zaručují dva faktory. Jsou to kvalifikovaný výzkumně-vývojový tým vedený specialisty, kteří jsou odborníky každý ve své oblasti, a také moderní vybavení a výrobní kapacity závodu. K dispozici jsou mimo jiné např. kryogenické destilační kolony pro separaci isotopů ^{13}C a ^{18}O a nebo zařízení pro termální difuzi, sloužící k separaci a obohacování isotopů vzácných plynů a přípravě ^{17}O . Tyto plyny a jejich směsi mají velmi široké použití. Isotopy vzácných plynů se používají např. při studiu fyziky nízkých teplot, hyperpolarizaci, značení a radiometrickém datování, výrobě laserů, gyroskopů, v hmotové spektrometrii či jako prekurzory radioisotopů. Isotopy kyslíku se používají především při oxidaci jako reaktanty pro přípravu dalších isotopů; isotopy dusíku

a uhlíku se užívají pro studium metabolismu rostlin, pro syntézu dalších značených látek, v laserech a při technice PET (Positron Emission Tomography – skenovací technika, která při použití malých množství značených látek dokáže zviditelnit anatomii mozku a některé jeho funkce).

Mezi další speciální vybavení patří i zařízení na velkoobjemovou výrobu značených produktů izolací z řas, které rostou na mediích obsahující isotopicky značené živiny. Především se jedná o výrobu značených aminokyselin, ať už s plnou substitucí uhlíku, dusíku a vodíku isotopy ^{13}C , ^{15}N , D a nebo kombinace těchto substitucí. Tato výroba dodává jednak izolované, isotopicky značené aminokyseliny a nebo je možno připravit směsi aminokyselin. Vedle toho jsou vyráběny také isotopicky značené cukry či mastné kyseliny.

Unikátním zařízením, které používá firma Isotec, je přístroj na výrobu isotopicky obohacených živin pro růst buněk a izolaci značených biomolekul. Díky tomuto zařízení je firma Isotec schopna nabídnout širokou škálu produktů, jako jsou minimální růstová media, komplexní růstová media, produkty pro bezbuněčné biologické systémy, α -keto kyseliny, chráněné aminokyseliny, pufrý a další reagentie, které mají široké použití v genomickém a proteomickém výzkumu.

Firma Isotec je první firmou na světě, která splnila přísné předpisy a podmínky US FDA pro výrobu isotopicky značených diagnostických substancí pro použití v dechových testech. Jedná se o několik preparátů jako např. „Urea- ^{13}C , UBT grade“ určený pro diagnostiku infekcí *Helicobacter pylori* a „Octanoic acid- ^{13}C , OBT grade“ používaný pro diagnostiku zažívání. Zkratky UBT a OBT v názvech těchto preparátů jsou odvozeny od „urea breath test“ (dechová zkouška pomocí močoviny) a „octanoic breath test“ (dechová zkouška pomocí kyseliny oktanové). Tato diagnostická technika spočívá v podání substrátu *per os*, který obsahuje na význačných metabolických centrech molekuly značený uhlík ^{13}C . Tento substrát se metabolicky přeměňuje na $^{13}\text{CO}_2$, který je vydechován a detegován IČ nebo hmotnostní spektrometrií. Poměr CO_2 v pacientově dechu před a po aplikaci substrátu pak pomáhá v diagnóze zažívacího traktu.

Tento stručný výčet některých produktů a technik z nabídky firmy Isotec naznačuje, proč tato firma zaujímá vedoucí místo v oblasti výrobce a dodavatele značených látek. Samozřejmostí se pak už jeví skutečnost práce v podmínkách SVP a splňující ISO normy.

Na stránkách www.sigma-aldrich.com/isotec najdete kompletní sortiment firmy včetně velkého množství doplňujících informací, jako jsou technické informace o produktech a jejich aplikacích, bezpečnostní listy, certifikáty analýz a informace o nových produktech.

Ze života společnosti

Dvanáctý nositel Ceny Alfreda Badera za organickou chemii, rok 2005

Dvanáctým nositelem Ceny Alfreda Badera za organickou chemii pro české chemiky do 35 let se stal Ing. Radek Cibulka PhD. (32 let) z Ústavu organické chemie Vysoké školy chemicko-technologické v Praze. Předložil soubor prací s názvem „Syntéza a využití *N*-donorových ligandů a jejich komplexů s ionty přechodných kovů“. Slavnostní předání Ceny se tradičně uskutečnilo na 40. konferenci „Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii – Liblice 2005“ konané v Nymburce a zde, jak se již stalo tradicí, nový laureát přednesl plenární přednášku na téma oceněného souboru prací. (Hodnotící komise: prof. P. Drašar (tajemník), prof. D. Dvořák, prof. A. Klásek, doc. M. Kotora, prof. V. Macháček, prof. M. Potáček, prof. O. Paleta (předseda), prof. V. Šimánek, Dr. I. Starý, prof. T. Trnka, prof. K. Waissner, Dr. J. Závada).

Nositel Ceny se narodil v Sokolově v roce 1973, kde absolvoval gymnázium (1991). Diplom inženýra chemie získal po studiích na VŠCHT v Praze a obhájením diplomové práce na Ústavu organické chemie (1996). Na VŠCHT pokračoval v interním doktorském studiu (vedoucí prof. F. Liška), které bylo školitelsky externě rozšířeno o Fyzikální ústav J. Heyrovského AV ČR. V r. 1999 obhájil doktorskou dizertační práci a nastoupil na Ústavu organické chemie VŠCHT jako odborný pracovník. Zde je zaměstnán doposud jako odborný asistent. V r. 2003 absolvoval roční stáž na Univerzitě v Regensburgu. Je řešitelem a spoluřešitelem řady grantových projektů. Zabývá se studiem nanoagregátů, přípravou amfifilních derivátů flavinů a jejich testováním z hlediska katalýzy redoxních reakcí, přípravou a studiem vlastností hydrolytických katalyzátorů a dále přípravou a testováním nových ligandů pro transport iontů přes kapalnou membránu. Nový laureát získal již několik odborných ocenění – Cenu České společnosti chemické za diplomovou práci (1996), Cenu Unipetrolu za nejlepší dizertační práci na VŠCHT v Praze (2002) a Cenu firmy Sigma-Aldrich za přednášku na Konferenci mladých chemiků a biochemiků (2004).

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

Dosavadní nositelé Ceny Alfreda Badera: 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 Církva 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.

Oldřich Paleta

Přihlášky do soutěže o Cenu Alfreda Badera za organickou chemii a Cenu Alfreda Badera za bioorganickou a bioanorganickou chemii v r. 2006

Ceny jsou dotovány částkou 3300 USD

V roce 2006 bude Česká společnost chemická udělovat opět dvě Ceny Alfreda Badera. „Starší“ Cena je za *organickou chemii*, „mladší“ Cena je od r. 2002 udělována za *bioorganickou a bioanorganickou chemii*. Nemusí být pochyb o tom, že oblasti působnosti obou Cen se dosti překrývají. Markantním důkazem překryvu Cen může být skutečnost z minulých ročníků soutěže, že 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 2006“ byla stanovena na 15. 6. 2006, uzávěrka přihlášek do konkurzu o „Cenu za bioorganickou a bioanorganickou chemii v roce 2006“ byla stanovena na 31. 3. 2006 (případně datum poštovního razítka). Podmínky 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 uzávěrky 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 strukturní analýzy) a výpočetní chemie. Uchazeči o Cenu se zpravidla přihlašují sami na sekretariátu České společnosti chemické, 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.

Hlavní částí přihlášky jsou separáty publikovaných prací a k nim zpracovaný autorův komentář k dosaženým výsledkům v rozsahu 3–6 běžných strojopisných stran; k tomu se připojí kopie informační stránky z Web-of-Science o každé jednotlivé původní práci (zde je m.j. uveden počet citací práce v literatuře). Přiložený životopis by měl zachytit odborný vývoj, např. téma diplomové a doktorské (kandidátské dizertace) se jménem školitele, získaná

ocenění, stáže a jejich tematické zaměření, získané granty apod. Rada publikací vzniká týmovou činností a z toho důvodu je potřeba uvést, jak se uchazeč na publikaci a jejím zveřejnění podílel (např. šlo o diplomovou práci, zadané téma doktorské práce, řešení grantu získaného uchazečem, samostatně řešenou část projektu, vlastní projekt, vedení diplomanta nebo doktoranda apod.; uchazeč do publikace přispěl určitou částí, zpracoval celou publikaci, byl korespondujícím autorem 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. Hodnotící komise posuzuje soubory prací nezávisle na doporučeních školitelů, vedoucích apod., takže přihláška je plně platná a plnohodnotná i bez těchto doporučení.

Autorům nejlepších souborů původních prací, kteří nebyli v předchozích letech oceněni a získali *privilegium zjednodušené přihlášky* (do věku 35 let), postačí poslat doplněk k předchozí přihlášce, případně materiály aktualizovat dle svého uvážení.

Oldřich Paleta, předseda komise

Cena Viléma Baura Ing. Ivanovi Sedlákovi

Na základě stanov ČSCH byla dne 16. listopadu 2005 předána Cena Viléma Baura Ing. Ivanovi Sedlákovi, dlouholetému učiteli na Masarykově střední škole chemické (dříve Střední průmyslové škole chemické) v Křemencově ulici v Praze 1.



foto: archiv MSSCH Praha

Inženýr Ivan Sedlák působí od roku 1967 na chemické průmyslovce jako učitel odborných chemických předmětů. Je autorem a spoluautorem několika učebnic chemické techniky a chemické technologie. Aktivně se podílel na zavedení výuky chemické techniky na střední škole, podílel se i na tvorbě koncepce a osnov oboru Aplikovaná chemie.

Svým takřka celoživotním pedagogickým působením pozitivně ovlivnil velkou řadu absolventů. Po celou dobu své činnosti se snažil předávat studentům své znalosti a dovednosti. Takřka proslulou se stala jeho věta popisující hmotnostní bilanci systému, jejíž znění znají bez rozdílu všichni absolventi školy. Jeho způsob výuky je zaměřen převážně logickým směrem, se zdůrazněním obecného řešení dané problematiky. Za klíčové považuje pochopení problematiky s návazností na obecně platné přírodní zákony. Tento náročný přístup výuky pomáhá vytvářet v nastupující generaci mladých chemiků to nejdůležitější, tj. chemické myšlení. Kromě teoretických znalostí ovládá perfektně i techniku práce v chemické laboratoři a u studentů dbá na její správné použití. Jeho výklad o modelovém hydrodynamickém okruhu, polo-provozní odparce či rektifikační koloně je přímo virtuózní. Svě nehynoucí nadšení a životní elán předává svým studentům, pro které se v mnoha případech stal vzorem.

Udělení ceny Viléma Baura Ing. Ivanovi Sedlákovi je krásným oceněním jeho dlouholeté práce se začínajícími chemiky, kterým dokázal vštípit lásku k chemii a nadšení pro tento obor. Cena byla předána v rámci Studentské odborné konference žáků Masarykovy střední školy chemické pořádané na Ústavu makromolekulární chemie AV ČR. Ohlas z řad žáků a učitelů školy ještě více podtrhl slavnostní okamžik a jednoznačně dokazuje, že všichni přítomní s tímto oceněním plně souhlasí a podporují jej. I přes svou náročnost a důslednost je Ing. Ivan Sedlák řazen mezi oblíbené učitele školy.

Na závěr nezbyvá než popřát Ing. Ivanovi Sedlákovi mnoho tvůrčího elánu do dalších let a spoustu nadaných studentů, se kterými by mohl pracovat a předávat jim svůj entuziasmus a nadšení pro chemii.

Jiří Zajíček

Jaroslav Janák

český chemik, uznávaný u nás i v zahraničí, věrný své tvůrčí vědecké i pedagogické činnosti ve svém oboru plynové chromatografie.

Vybuodoval od roku 1956 Laboratoř pro analýzu plynů ČSAV, která se vyvinula v dnešní Ústav analytické chemie Akademie věd České republiky v Brně. V novodobé historii Vysokého učení technického v Brně se v letech 1990 až 1992 zasloužil o obnovení Fakulty chemické. O vynikajících lidských i vědeckých kvalitách Jaroslava Janáka bylo napsáno v blahopřejném článku k jeho osmdesátinám (viz Chem. Listy 98, 226 (2004)). Za jeho vysoké vědecké ideály byl v roce 2004 poctěn medailí LEADING INTELLECTUALS OF THE WORLD Amerického biografického ústavu Spojených států amerických. Na slavnostním shromáždění 23. listopadu 2005 za přítomnosti místopředsedy Akademie věd České republiky profesora Drahoše se uskutečnilo předání čestné medaile Akademie věd České republiky DE SCIENTIA ET HUMANITATE OPTIME MERITIS prof. Ing. Jaroslavu Janákovi, DrSc., Dr.h.c. Teď času dost na oslavy, tož nejsrdečnější přání, pravou radost, štěstí, zdraví.

Adolf G. Pokorný

Evropský koutek

European Federation for Construction Chemicals (EFCC) now on the internet

EFCC goes online

The European Federation for Construction Chemicals – founded in July 2005 – has now its own website: www.efcc.be. Here you can find full information on structures and activities of this international organization.

The German association Deutsche Bauchemie e.V. with its website www.deutsche-bauchemie.de was very helpful in the development of EFCC's online pages.

For both associations the emphasis is on user guidance with a limited number of menu items and concise texts.

www.efcc.be comprises:

“Association” – briefly introduces the association, describes aims and structures;

“Members” – lists EFCC members coming from industry as well as national and European associations with links to their internet addresses;

“Subjects” – the most important section with focal issues for construction chemicals in Europe - from concrete technology to health & environment;

“Publications” – lists EFCC information brochures, including a download function for most documents;

“Press” – lists the latest EFCC press releases with a download function;

“Events” – lists dates as well as announcements of and reports on events, such as the first major information event on 7 December 2005 in Brussels.

There are, of course, the usual menu items "Contact" and "Links" as well as a search function to assist users.

Odborná setkání

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

36. výroční zasedání DAC EuCheMS proběhlo 26. června 2006 ve Stockholmu v návaznosti na konferenci HPLC 2005 (29th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques). Zúčastnili se ho zástupci 18 evropských chemických společností z 15 evropských zemí. Na programu byly otázky související s činností DAC v souvislosti s proběhlou restrukturalizací Federace Evropských Chemických Společností (FECS) na EuCheMS, příprava analytické sekce na EuCheMS kongresu v Budapešti v roce 2006, příprava konference EUROANALYSIS XIV, která proběhne 9.–14. září 2007 v belgických Antverpách a příprava řady dalších odborných setkání probíhajících pod záštitou DAC EuCheMS, zejména konference ICAS-2006 (International Congress on Analytical Sciences) v roce 2006 v Moskvě. Diskutována byla i spolupráce DAC s dalšími divizemi EuCheMS a bylo rozhodnuto, že konference EUROANALYSIS XV v roce 2009 se bude konat v rakouském Innsbrucku. K nejdůležitějším bodům programu opět patřil 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. V této oblasti zřejmě stojí poměrně ná-

ročné úkoly i před českou analytickou chemií.

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 034(2005) (Reprezentace české analytické chemie ve Federaci evropských chemických společností) a jednak laskavou podporou firem Merck s.r.o. Praha, Eco-Trend Plus 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*

Jak chemici poznávají Poznaň

Od 18. do 22. září 2005 se v polském městě Poznaň uskutečnil XLVIII. Sjezd polských chemických společností PTChem i SITPChem, na kterém se každoročně objevují i studenti českých vysokých škol, kteří se dostanou do programu spolupráce Sekce mladých chemiků při České společnosti chemické a Sekce mladých Polské společnosti chemické. Letošních pět statečných úspěšně zastupovalo Mendelovu zemědělskou a lesnickou Univerzitu v Brně,



Masarykovu Univerzitu v Brně a Univerzitu Palackého v Olomouci. K nim se potom přidali další kolegové jak z České republiky, tak ze Slovenska a vytvořili skupinu, která se pak rozhodně neztratila v obrovské přesile polských chemiků.

Vlastní konferenci začal prof. T. Maliński excelentní plenární přednáškou „Chemical Nanosensors in Nanomedicine“, kde dokázal, že miniaturizace ovládá dnešní vědu a zároveň ukázal, jak zdravé je pít červené víno (v průměrném množství). Neméně zajímavou plenární přednášku představil i prof. W. J. Stec „Where Chemistry Meets Life Science“, kde naznačil, jak důležité je všimnout si fosforylace a ukázal, že právě to je místo, kde se setkávají vědy medicínské a biologické s fyzikou a chemií. Další program se pak rozdělil do jednotlivých sekcí, kde až na výjimky vládl polský jazyk, což bylo jediné malé mínus této konference.

Přesto všechny prezentované přednášky i postery vždy vzbudily patřičný ohlas a všichni si domů odvezli kromě mnoha nových informací i kontakty a nabídky pro další spolupráci. Na závěr nezbyvá nic jiného než poděkovat České společnosti chemické za umožnění účasti na této konferenci a možnosti poznat Poznaň.

Jan Petr, Václav Ranc (UP Olomouc)

Z činnosti skupiny pro chromatografii a elektroforézu České společnosti chemické: 11. mezinárodní sympozium o separačních vědách v roce 2005 v Pardubicích

Ve dnech 12.–14. září 2005 se v Aule Arnošta z Pardubic Univerzity Pardubice konalo poprvé v České republice významné mezinárodní setkání odborníků z oblasti analytických separací látek. 11th International Symposium on Separation Sciences, ISSS 2005, bylo pořádáno v rámci série ISSS sympozií, která se konají každý rok v některé účastnické zemi CEGSS – Central-European Group for Separation Sciences (Středoevropské skupiny pro separační vědy). Předsedou sympozia ISSS 2005 byl

národní zástupce České republiky v CEGSS prof. Pavel Jandera z Katedry analytické chemie Univerzity Pardubice. Sympozium ISSS 2005 bylo spojeno s tradičním národním setkáním „Konference o pokrocích v teorii, instrumentaci a aplikacích chromatografických, elektromigračních a příbuzných separačních metod“, organizovaným Skupinou pro chromatografii a elektroforézu České společnosti chemické.

Vedle CEGSS a Skupiny pro chromatografii a elektroforézu České společnosti chemické se na pořádání sympozia podílela Katedra analytické chemie Univerzity Pardubice, na jejíž pracovnících a doktorandech skupiny analytických separací ležela hlavní tíha praktických organizačních záležitostí. Sympozium poskytla záštitu Evropská skupina pro separační vědy (EuSSS).

Sympozium bylo zaměřeno na aktuální novinky ve vývoji metodik, instrumentace a aplikací ve všech oblastech moderních separačních analytických technik, s důrazem na perspektivní, nejrychleji se rozvíjející oblasti – vývoj nových separačních médií, především nové stacionární fáze, monolitické kolony a čipy, dvourozměrné, miniaturizované a ultra-rychlé separační techniky, separační techniky spojené s hmotnostní spektrometrií a nukleární magnetickou rezonancí, úpravy a obohacování vzorků před analýzou, farmaceutické, klinické a průmyslové aplikace, pokroky v analýze životního prostředí, biopolymerů a bakterií. Přední světoví odborníci přednesli 76 přednášek ve třech plenárních a v 10 paralelních sekcích, 200 plakátových sdělení bylo prezentováno ve dvou sekcích. V rámci konference se konaly dva „workshopy“ o elektroforetických separacích na čipech a vícerozměrné kapalinové chromatografii ve spojení s hmotnostní spektrometrií. 15 českých a zahraničních společností vystavovalo nejnovější přístroje, separační kolony a spotřební materiál pro chromatografii a elektroforézu. Uspořádání sympozia významně sponzorsky podpořila Fakulta chemicko-technologická Univerzity Pardubice, a firmy Agilent-HPST Praha, Bia Separations Lublaň, Bio-Rad, IVAX Opava, Merck, RADANAL Pardubice, Shimadzu, SIB Brno, Waters, Zentiva Praha.

Na sympozium ISSS 2005 přijelo 340 účastníků z 25 zemí, z toho přibližně polovina domácích a polovina zahraničních, z většiny evropských zemí, ale i z Egypta a Iránu a ze zámorí – USA, Kanady, Japonska, Taiwanu a z Austrálie. Úvodní plenární přednášku přednesl prof. Georges Guiochon z University of Tennessee, Knoxville, USA. Zúčastnili se i zakladatelé československé chromatografie, prof. Jaroslav Janák, první ředitel Ústavu analytické chemie ČSAV v Brně, Prof. Eva Smolková-Keulemansová a doc. Karel Macek z Prahy. V průběhu slavnostního zahájení převzal prof. Boguslaw Buszewski pamětní medaili Univerzity Pardubice.

Potěšitelné je, že sympozia se zúčastnilo 111 studentů doktorských programů v oblasti chemie a farmacie, především z České republiky, Slovenska a Polska, ale i z Německa, Nizozemí, Švédska, Norska, Itálie, Slovinska a Chorvatska, kteří prezentovali většinu plakátových sdělení, 16 přednášek ve dvou zvláštních sekcích mladých věd-

čů a nejlepší z nich přednášeli i v paralelních sekcích. Soutěž o nejlepší plakátové sdělení byla sponzorovaná hodnotnými cenami, zahrnujícími účast na příštích sympoziích z oblasti analytických separací, věnovanými EuSSS, FChT Univerzity Pardubice, firmou Agilent Technologies a Slovinskou chromatografickou společností spolu s Rakouskou společností pro analytickou chemii. Knižní ceny pro úspěšné soutěžící poskytlo nakladatelství Wiley. Vybrané příspěvky budou publikovány na jaře 2006 ve zvláštním čísle mezinárodního časopisu *Journal of Separation Science*, věnovaném pardubickému sympoziu. Během sympozia se konaly i schůze mezinárodního výboru Středoevropské skupiny pro separační vědy (CEGSS) a výboru Evropské společnosti pro separační vědy (EuSSS).

Účastníci sympozia kladně hodnotili odbornou úroveň sympozia. Líbil se jim i společenský program – uvítací večírek v prostorách auly Univerzity Pardubice v neděli večer, recepce s rautem na pardubickém zámku v úterý a kongresová exkurze do Kutné Hory ve středu odpoledne po ukončení odborného programu.

Ve spojení se sympoziem ISSS 2005 byl uspořádán i výroční workshop a schůze koordinátorů projektu Více-rozměrná kapalinová chromatografie, „COM-CHROM“ 5. rámcového programu Evropské komise a v rámci středoevropského projektu programu univerzitního vzdělávání „CEEPUS II“ i čtrnáctidenní letní škola – vzdělávací kurz „Development and Optimisation of Separation Methods“, které se vedle studentů (doktorandů) Katedry analytické chemie Univerzity Pardubice zúčastnilo i 18 studentů doktorského programu z ČR, Slovenska, Polska a Chorvatska.

Pavel Jandera

Účast týmu České republiky na 37. Mezinárodní chemické olympiádě



O prázdninách v době od 16. do 24. 7. 2005 se v tchajwanském hlavním městě Taipei konala v pořadí již 37. Mezinárodní chemická olympiáda. Soutěže se zúčastnilo 225 studentů z 59 zemí. Soutěžící za Českou republiku byli tradičně vybráni na základě výsledků v Ústředním kole a ve dvou odborných soustředěních. Obě soustředění proběhla na jaře v Praze, teoretické na VŠCHT Praha, praktické na PĚF UK. Do českého reprezentačního týmu byli vybráni:

Pluhařová Eva, gymnázium Ostrov n. Ohří,
Petra Měnová, gymnázium Kolín,
Stanislav Vosolobě, gymnázium Jablonec nad Nisou,
Jiří Jenčík, gymnázium Ostrov n. Ohří.

Spolu se soutěžícími se olympiády zúčastnili mentoři RNDr. Eva Mrázková z PĚF UK, a Mgr. Petr Holzhauser z VŠCHT Praha, místopředseda Ústřední komise Chemické olympiády.

Slavnostní zahájení 37. MChO proběhlo na Akademii

Sinica. Mentoři následně přeložili teoretické a praktické úlohy a zkontrolovali vybavení laboratoře. Samotná soutěž pak probíhala na National Taiwan Normal University, pro ilustraci uvádíme zadání jedné z osmi teoretických úloh. Úlohy opravují mentoři spolu s autory a následně schválí konečné počty bodů. Závěrečná ceremonie se slavnostním vyhlášením výsledků a předáváním medailí proběhla v Grand Hotelu Taipei. Naši studenti a studentky dopadli v konkurenci více než dvou set soutěžících velice dobře:

Eva Pluhařová, pořadí 6, zlatá medaile,
 Petra Měnová, pořadí 39, stříbrná medaile,
 Stanislav Vosolobě, pořadí 72, stříbrná medaile,
 Jiří Jenčík, pořadí 111, bronzová medaile.

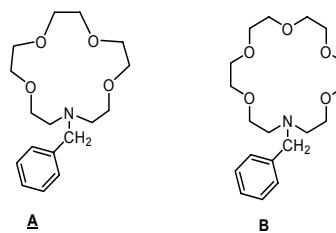
Absolutním vítězem se stal Alexej Zeifman z Ruska. Úplné bodové výsledky a kompletní zadání a řešení soutěžních úloh je možné získat na adrese <http://icho.chem.ntnu.edu.tw/>, kde jsou dostupné i další údaje o průběhu olympiády.

Pořádání příštího ročníku MChO se ujala Univerzita Yeungnam v jihokorejském Gyeongsanu. Podrobnosti o organizaci 38. ročníku je možné nalézt na stránkách <http://icho2006.kcsnet.or.kr/>.

Petr Holzhauser
 místopředseda ÚK ChO

Úloha 3: Organická fotochemie a fotofyzika

Schopnost crownetherů vázat ionty alkalických kovů je závislá na velikosti jejich molekuly. V důsledku toho jsou konstanty stability azacrownetherů **A** a **B** s ionty Na⁺, K⁺ a Cs⁺ rozdílné.



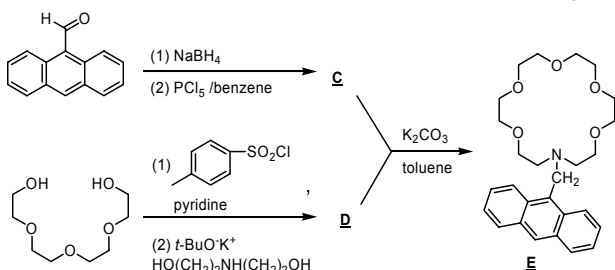
Metal ion	Radius (pm)	Binding constant (log ₁₀ K)	
		Compound A	Compound B
Na ⁺	98	2.49	3.57
K ⁺	133	1.83	5.00
Cs ⁺	165	1.37	3.39

Překlad: Binding konstant = konstanta stability
 Metal ion = iont kovu
 Radius (pm) = poloměr (pm)
 Compound = látka

Anthracen vykazuje silnou fluorescenci s vlnovou délkou

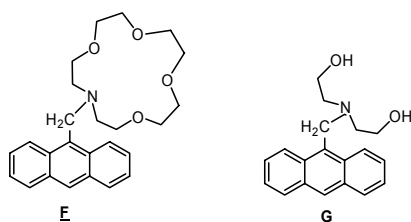
emitovaného světla 325 nm. Spojením komplexační selektivity azacrownetherů pro různé ionty alkalických kovů a vysoce fluorescentního anthracenu byl získán fluorescentní senzor **E** citlivý na ionty kovů.

3-1 Nakreslete strukturální vzorce látek **C** a **D** z následujícího



schématu:

Za účelem srovnávací studie byly připraveny také anthracenové deriváty **F** a **G** uvedené níže. Všechny látky, **E**, **F** a **G** jsou prakticky nefluorescentní v neutrálním prostředí. Důvodem vymizení fluorescence je fotoindukovaný přenos elektronu (photoinduced electron transfer, PET) způsobený interakcí volného elektronového páru na dusíku s excitovaným stavem



anthracenu.

3-2 Která látka bude vykazovat silnou fluorescenci po přidání vodného roztoku HCl? Vyberte z následujících možností:

- (a) žádná z nich (b) pouze látky **E** a **F**
(c) pouze látka **G** (d) všechny

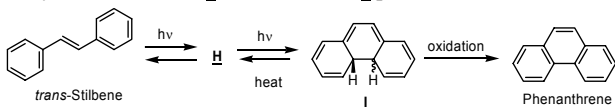
3-3 Přidáme-li do zředěných roztoků (10^{-5} M) látek **E**, **F**, a **G** v methanolu jeden ekvivalent octanu draselného, která z látek bude vykazovat nejsilnější fluorescenci? Vyberte z následujících možností:

- (a) **E** (b) **F** (c) **G**

3-4 Přidáme-li do zředěného roztoku **F** 1 ekvivalent octanu alkalického kovu, který octan způsobí nejsilnější fluorescenci? Vyberte z následujících možností:

- (a) octan sodný (b) octan draselný
(c) octan cesný (d) na přidání octanu nezáleží

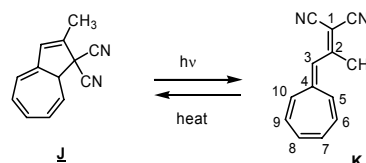
Trans-stilben se po ozáření ultrafialovým světlem přeměňuje na meziprodukt **H**, který podléhá fotocyklizaci za vzniku dihydrofenanthrenu **I**. Další oxidací **I** pak vzniká fenanthren.



3-5 Nakreslete strukturální vzorec látky **H**.

3-6 Napište, zda jsou vodíky vyznačené v molekule **I** v uspořádání *cis* nebo *trans*.

Derivát dihydroazulenu **J** vykazuje zajímavé fotochromické chování. Po ozáření podléhá bezbarvý dihydroazulen **J** fotoindukovanému přesmyku na odpovídající vinylheptafulven **K**. Termicky se vinylheptafulven přeměňuje zpět na dihydroazulen.



3-7 Která z látek vykazuje absorpci při větší vlnové délce? Vyberte z následujících možností:

- (a) **J** (b) **K**

3-8 Látka **K** poskytuje reakci s jedním ekvivalentem $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ stabilní aromatickou sůl. Která poloha v molekule látky **K** bude protonována přednostně? Vyberte z následujících možností:

- (a) C-2 (b) C-3 (c) C-4 (d) C-5

40. Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii „Liblice 2005“

Ve dnech 18.–20. listopadu 2005 se v Nymburce konala konference s výše uvedeným názvem, organizovaná odbornou skupinou organické, bioorganické a farmaceutické chemie. Konference měla již tradičně široký záběr přesahující rozsah vymezený jejím názvem. Její součástí bylo předání Ceny Alfreda Badera za organickou chemii



Předání Baderovy ceny za organickou chemii Dr. Radkovi Cibulkovi



Předání Baderovy ceny za bioorganickou chemii Dr. Zbyňku Prokopovi

a Ceny Alfreda Badera za bioorganickou chemii, spojených s plenárními přednáškami obou laureátů. Konference se zúčastnilo rekordních 120 účastníků s významným zastoupením studentů postgraduálního a magisterského studia. V rámci konference bylo předneseno 7 plenárních přednášek (včetně přednášek laureátů obou Baderových cen) a 31 krátkých sdělení. Na posterové sekci bylo pre-



Předání ceny za nejlepší poster Mgr. Michalu Valáškově

zentováno 65 posterů. Účastníci konference mladší 35 let měli možnost zúčastnit se soutěže o Cenu Otakara Červinky za nejlepší krátké sdělení a soutěže o nejlepší poster. Konference proběhla jako obvykle v přátelském ovzduší a poskytla více než dostatek prostoru pro odborné diskuse.

*Jaroslav Kvíčala
předseda organizačního výboru konference*

Chemik na cestách

Stručný výtah z mých zážitků z účasti na MChO na Taiwanu

Mezinárodní chemická olympiáda se za 37 let od prvního zakládajícího ročníku konaného v Československu stala prestižní událostí, jejíž organizování je velkou ctí pro pořadatelský stát. Letos se úkolu zhostila Čínská republika na ostrově Taiwan, jenž byl v minulosti nazýván také „Ilha Formosa“ (Krásný ostrov), jak jej kdysi pojmenovali portugalské mořeplavci. Na Taiwan přijelo 225 soutěžících vyslaných 59 státy světa. Reprezentací naší republiky byli dle výsledků celostátní olympiády a výběrových soustředění dále pověřeni Eva Pluhařová (již počtvrté na MChO), Petra Ménová a Jiří Jenčík. Jako mentoři nás doprovázeli Eva Mrázková a Petr Holzhauser.

Pojištění, očkování a opatření vízy jsme 13. července ve 12:30 odstartovali do Londýna a odtud po půlnoci na Hongkong. Již po dvou hodinách letu začalo díky časovému posunu svítat. Za zcela jasného počasí jsme pomalu pluli nad nekonečnými neobydlenými roviny severního Ruska, pod námi lesy a nespoutané meandrující řeky. Poté najednou Ural, pásmo hnědých bezlesých kopců podobných Krkonošim, Asie a opět rovina – močály, rašelinisté a snad i z vesmíru patrná pravidelná síť světých průseků se zařízeními k těžbě ropy. Následuje Altaj (zataženo a turbulence), šedobílé pouště severní Číny s vysycha-

jícími jezery a roklí řeky Huang-He a poté již čínská vysočina se špičatými zelenými pahorky protkaná divokými řekami. Po deseti hodinách letu konečně Hongkong – město mrakodrapů na břehu mořské zátoky, kolem příkré hory porostlé pralesem a rychlý tropický západ slunce již okolo šesté hodiny. Už za hluboké noci jsme konečně přistáli na Taiwanu.

Přechod z klimatizovaných prostor letiště do tropického podnebí byl pro nás vskutku šokem. Ačkoli je noc, neklesá zde teplota pod 25 °C, ve dne dosahuje 35 °C, vlhkost stoprocentní, vzduch prosycen těžkou vůní „hničícího ovoce“ a ve městě navíc zahuštěn exhaláty. První dva dny jsme se aklimatizovali v taipeiském Grand Hotelu postaveném ve stylu obří pagody na návrší nad městem, odkud se nám ráno naskytl krásný pohled na třímilionovou Taipei ležící v 10 kilometrů široké kotlině na soutoku tří řek, obehnané ze všech stran horami porostlými bujnými pralesy. Městu zalitému ranním smogem vévodil největší mrakodrap světa, přes 500 metrů vysoký Taipei 101, připomínající tvarem kmen palmy, jenž zcela zastiňuje ostatní mrakodrapy a výškové budovy.

Po snídani jsme se vydali na „expedici“ do pralesa. Taipei jsme přešli metrem (velmi moderní a asi nejčistší na světě) a poté pokračovali autobusem roklí divoké řeky Hsintien, sevřené horami šplhajícími až do výše 3000 stop. Horská pásma, zde počínající, se táhnou k jihu podél celé-

ho východního pobřeží ostrova a pokrývají více než dvě třetiny jeho plochy. Jen při západním pobřeží leží 50 km široký pás nížin, kde je soustředěno veškeré osídlení čítající 25 mil. obyvatel. Svahy hor jsou porostlé bujnými fikovníky a stromovými kapradinami s hojností epifytických lián a sleziníků, v podrostu pralesa kvetou voděnky a begonie důvěrně známé z našich květináčů. Obrovští motýli, pestří pavouci velikosti dlaně a monotónně synchronizovaný hukot cikád, to je neopomenutelný hmyzí svět pralesa.

Večer jsme navštívili noční tržiště, kde se odehrává po setmění skutečný život města: ulice zaplněné tisícovkami lidí, stovky obchodů a stánků, neony a nepopsatelná vůně z mnoha pouličních grilů, kde může člověk ochutnat od smažených nudlí a žlutků až po hady, chobotnice a jiné potvory...

Druhý den jsme se přestěhovali na koleje pořádjící univerzity a rozloučili se s našimi mentory, kteří se pustili do překládání soutěžních úloh. Nás se jako průvodce ujal student taipejské univerzity a hned odpoledne nám ukázal Čangkaiškův pamětní areál, jemuž vévodí 40 metrů vysoká zářivě bílá pyramida zastřešená modrou glazovanou střechou v tradičním čínském stylu, skrývající obrovskou bronzovou sochu Čangkaiška, zakladatele taiwanského státu, hledícího s úsměvem Budhy klenutou branou vstříc zapadajícímu slunci...

Další den byla soutěž zahájena oficiálně projevy nespočtu významných osobností a představením všech národů a ve 14 hodin, přesně jak bylo předpovězeno, začal řídit první letošní taiwanský tajfun. Začal mrholením, které brzy přešlo v bouři trvající bez ustání celou noc a den. Z okna pokoje jsme pozorovali řeku, která se během pár hodin díky vydatným srážkám změnila na „veletok“, který zaplnil kalnou vodou celé několik set metrů široké kamenité koryto, běžně využitě sotva z desetiny. Silný víchř zatím rozdíral listy banánovníků a trhal větve stromů...

Potom přišel první den „D“, praktická laboratorní úloha. Syntetizovali jsme aminokyselinu fenylalanin, produkt štěpili na D a L stereoisomery a nakonec určovali vzájemnými reakcemi neznámé vzorky běžných látek (Na_2CO_3 , HCl, NaOH...). Úlohy nebyly příliš náročné, hlavní bylo zachovat chladnou hlavu a dobře hospodařit s časem (což se mi pochopitelně ne zcela podařilo).

Odpoledne jsme navštívili Lungshanský chrám z roku 1760, který slouží buddhistickému a zároveň taoistickému náboženství a je stále plný věřících, modlitebních melodií a vůně vonných tyčinek. Je jednou z mála taipejských staveb starších padesáti let. Většinu městské zástavby tvoří nepřilíživě vzhledné, ovšem vždy klimatizované, panelové domy natěsnané v ulicích. V přízemí mívají převážně textilní obchody, jejichž přední trakty končí průchozím podloubím a zboží „přetéká“ až na chodník. Kontrastem k běžné zástavbě jsou supermoderní administrativní a obchodní mrakodrapy ze skla a kovu. Historické jádro nenalezneme, jen pravoúhlu sítí širokých, minimálně čtyřproudých silnic přeplněných skútry. Více historie jsme si užili další den v Taiwanském národním muzeu, kde je soustředěna spousta památek staré Číny zachráněných před Kul-

turní revolucí.

Večer jsem si uvědomil, že další odklad již půl roku odkládané přípravy na teoretický test olympiády není možný, neboť přichází druhý den „D“, řešení teoretických úloh. Večer jsem se tedy ujistil, co všechno z chemie neumím, a šel s klidem spát. Ráno pro nás bylo připraveno osm zajímavých úloh – o kinetice ozónu, získávání zlata, krasových jevech, denaturaci bílkovin atd. Po zkušenosti z praktické úlohy jsem se snažil využít pět hodin na řešení co nejlépe a díky chybné interpretaci časových údajů hodlal s prací skončit již o hodinu dříve (zbývající čas jsem potom strávil nečinným přemítáním nad zadáním).

Další dva dny strávili naši mentoři opravou soutěžních úloh a diskusí s porotou ve snaze získat pro nás co nejvíce bodů. Náš program byl odpočinkový (zábavní park, muzeum...).

Soutěž zakončilo slavnostní vyhlášení výsledků, pro naši republiku historicky jedněch z nejlepších. Jirka získal bronz (111. místo), já stříbro za 72. a Petra za 39. místo a Eva vybojovala zlato za vynikající 6. místo (Anton Repko ze Slovenska byl dokonce čtvrtý, vítězem byl Rus).

Většina zpátečního letu probíhala v noci, až za Uralem začalo svítání, které díky časovému posunu trvalo několik hodin. Z nebe zalitého sluneční září se nakonec naše letadlo sneslo skrz nízkou oblačnost na pošmourné ranní Amsterodamské letiště. Kolem poledne jsme absolvovali poslední let nad Evropou pokrytou bílou duchnou stratovité oblačností.

Jak vidno, cesta byla bohatým zdrojem zkušeností a nezapomenutelných zážitků. Kdo by rád absolvoval něco podobného, má nyní jedinečnou šanci – MChO 2006 bude v Jižní Koreji...

Stanislav Vosolsobě

Zkušenosti ze stáže ve výzkumném centru farmaceutické společnosti

Letos v listopadu jsem absolvoval jednoměsíční stáž ve výzkumném centru farmaceutické společnosti Sanofi Aventis v Paříži – Alfortville ve Francii. Stáž byla umožněna na základě ocenění získaného v soutěži Prix de Pharmacie 2004, organizované Velvyslanectvím Francouzské republiky v ČR a firmou Aventis. Ve výzkumném centru zaměřeném na hodnocení bezpečnosti léčiv jsem měl možnost pracovat v týmu dr. Erika Boitiera, vedoucího toxikogenomické laboratoře na oddělení buněčné a molekulární toxikologie. V úvodu stáže jsem se teoreticky seznámil s metodou „Affymetrix DNA chip technology“, která je vhodná pro analýzu profilu genové exprese např. v buněčných liniích, primárních buněčných kulturách nebo tkáních zvířat po aplikaci testované látky. Principem metody je izolace celkové RNA z biologického materiálu, reverzní přepis molekul RNA na dvojvláknové komplexované DNA a následná syntéza biotinylovaných komplexovaných RNA. Směs biotinem značených RNA se pak aplikuje na DNA čip obsahující až 10 000 genů a po hybri-

dizaci, promytí a označení biotinylových zbytků fluorescenčním barvivem lze pomocí speciálního skeneru detekovat přítomnost specifických mRNA. Absolvování stáže mi umožnilo zapojit se prakticky do projektu, při jehož řešení jsem si osvojil moderní techniky, jako např. izolace celkové RNA z buněčných kultur pomocí kolon RNeasy (Qiagen), enzymové odstranění genomové DNA ze vzorku RNA pomocí kitu RNase-free DNase set (Qiagen), spektrofotometrické stanovení koncentrace a čistoty RNA, kontrola integrity RNA elektroforézou v agarosovém gelu, reverzní transkripce RNA pomocí soupravy High capacity cDNA archive kit (Applied Biosystems) a kvantitativní real time PCR metodou TaqMan (Applied Biosystems) s relativní kvantifikací genové ex-

prese komparativní metodou. Během stáže mi byly společností Sanofi Aventis vytvořeny vynikající pracovní podmínky a získané znalosti molekulárně biologických metod budu moci využít při své další práci na Ústavu lékařské chemie a biochemie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Ve svém volném čase, kterého ovšem nebylo mnoho, jsem měl navíc příležitost seznámit se s krásou Paříže, bohužel v té době zkoušenou pouličními nepokoji. Závěrem bych chtěl poděkovat společnosti Sanofi Aventis a Francouzskému velvyslanectví za to, že touto cestou podporují mladé vědecké pracovníky v ČR.

J. Vrba, LF UP Olomouc

Bulletin představuje

Společnost Degussa si zvolila ACD/LogD Suite jako nástroj (Q)SAR pro registraci chemikálií podle metodiky REACH

U Services Environment, Safety Health Chemicals Safety Management Department společnosti Degussa AG, Hanau, SRN, si zvolili programový balík ACD/LogD Suite jako nástroj, který použijí při agendě (Q)SAR k vyhodnocení vztahů mezi strukturou a aktivitou chemikálií používaných na evropském trhu tak, aby se ve shodě s metodikou REACH zlepšila ochrana prostředí a získala lepší informace o vlastnostech chemikálií a potenciálního rizika jejich použití pro lidské zdraví a životní prostředí. Předpokládá se, že dojde k přehodnocení až 30 tisíc existujících chemikálií, se kterými je v Evropě obchodováno.

Použití metodiky (Q)SAR je v rámci legislativy EU zatím nepříliš časté. V rámci metodik REACH lze očekávat mnohem častější využití nástrojů jako je ACD/LogD Suite pro značný přínos v efektivitě vynaloženého času a prostředků. Společnost Degussa tak získá paletu nástrojů pro hodnocení vztahů mezi strukturou a účinností svých látek, mezi jiným logD (jako hodnotu hydrofobnosti závislou na pH), pK_a a logP. Sama hodnota $\log P_{ow}$ jako měřítko hydrofobnosti hraje podstatnou úlohu v predikci partičních vlastností látek mezi složky životního prostředí (voda, půda, sediment) a hodnocení jejich tendence hromadit se v živých organismech (bioakumulace).

Dr. Wilfred Mayr, vedoucí oddělení toxikologie společnosti Degussa AG, k tomu uvedl: „Předpověď závislosti hydrofobicity na pH je zvláště důležitá v případech, kdy

hodnoty $\log P_{ow}$ pro disociovatelné látky byly experimentálně zjištěny při hodnotách pH, které nejsou relevantní pro životní prostředí. V těchto případech je program logD nedocenitelným nástrojem, neboť umožňuje výpočet $\log P_{ow}$ pro kompletní disociační rozsah dané látky. To dovoluje i použití $\log P_{ow}$ při relevantním pH a další modelování chování látek v daném prostředí tak, aby odhad rizika jejich použití (risk assessment) byl optimální, bez drahé investice do časově náročných experimentů, které by zjistily příslušné hodnoty $\log P_{ow}$ za daných pH. Hodnoty pK_a na straně druhé jsou též důležitým determinanem predikce toxikokinetického chování látky, jímž může být např. absorpce v gastrointestinálním traktu.“

Dr. Antony Williams, Vice President a Chief Science Officer společnosti ACD/Labs, k tomu dodává: „ACD/Labs dodávají fyzikálně-chemické predikční software chemickým a farmaceutickým firmám již přes 10 let. Ve stálém srovnávání nejrůznějších metod zjišťování fyzikálně-chemických vlastností je obvykle volen software ACD/Labs, neb vytvořil pro řadu společností cosi, co nazýváme standard. Pokud Degussa používá ACD/PhysChem software, získává tím výhodu predikce s nejvyšší přesností, která je dnes na trhu k dispozici. Rádi se budeme podílet na podpoře snah společnosti Degussa splnit požadavky metodik REACH.“

Detaily o programu EC REACH s použitím (Q)SAR v příbuzných metodikách mohou být nalezeny mj. na European Chemicals Bureau Web site, <http://ecb.jrc.it/>. Více pak na URL Reach <http://europa.eu.int/comm/environment/chemicals/reach.htm>.

pad

Výuka chemie

STŘEDNÍ PRŮMYSLOVÁ ŠKOLA CHEMICKÁ V BRNĚ

HANA KOZÁČKOVÁ

*Střední průmyslová škola chemická Brno, Vranovská 65,
614 00 Brno
kozackova@spschbr.cz*

Střední průmyslová škola chemická (obr. 1) vznikla 1. září 1951 pod názvem Vyšší průmyslová škola chemická. V průběhu trvání byl její název změněn na Průmyslovou školu chemickou a v 60. letech na Střední průmyslovou školu chemickou (SPŠCH). Od počátku své samostatné existence sídlí v budově na Vranovské 65 v Brně Husovicích, nejprve v nájmu husovického gymnázia, později základní školy. Od roku 1977, po zrušení základní školy, se Střední průmyslová škola chemická stala správcem budovy, kterou sdílela společně nejprve se Střední pedagogickou školou a od roku 1987 se Státní jazykovou školou. V roce 1998 SPŠCH získala do péče celou budovu a s tím i veškeré starosti. Avšak pro školu, která získala v roce 1991 statut a právní subjektivitu, nastala nová éra v dobudování a rekonstrukci výukového zázemí pro zlepšení podmínek vzdělávacího procesu a možnost studia většího počtu zájemců o chemii.

Budova stará téměř 70 let si vyžádala řadu úprav a rekonstrukcí. Za plného provozu proběhly generální opravy elektroinstalace, zařízení zdravotnické techniky, byla provedena výměna oken, zhotovena nová fasáda a vybudována moderní plynová kotelná. V posledním období se prováděla izolace budovy, proběhla oprava tělocvičny a střechy celého objektu, byly rekonstruovány chemické laboratoře (obr. 2) a vybudována nová laboratoř biologie a mikrobiologie, analytické chemie, výpočetní techniky a chemické techniky.

Vstup do budovy školy je pro studenty i ostatní zaměstnance zajištěn přes bezpečnostní čipový systém. Většina učeben a stejně tak i jídelna byla vybavena novým moderním nábytkem.

Ve snaze zajistit co nejlepší podmínky pro studium i využití volného času studentů plánuje vedení školy provést přestavbu dvorního traktu, kde bude přistavěna tělocvična s posilovnou včetně samostatného sociálního zařízení.

SPŠCH Brno byla v době svého vzniku zaměřena na přípravu středně-technických pracovníků pro chemický průmysl. V současné době studenti získávají teoretické i praktické znalosti i v dalších studijních oborech. Studium směřuje k rozvoji schopností samostatného uvažování, tvůrčí práce i ke schopnosti obhájit své přístupy v odborné diskusi. Studenti jsou tak připravováni jak pro zastávání funkce kvalitních odborníků, tak i pro další rozvoj své

odbornosti při studiu na vysokých školách. A tam dnes převážná část absolventů školy odchází.

Tradičním a po dlouhou dobu jediným na škole byl studijní obor Chemická technologie, který se specializoval na anorganickou a organickou technologii a technologii chemických zařízení. Koncem 60. let byl obor Chemická technologie rozčleněn na několik větví. Na škole se začal vyučovat obor kontrolně-analytický a obor provozně-technologický. V polovině 80. let, v souladu se zájmem veřejnosti a požadavky praxe, vznikl samostatný obor Analytická chemie. V následujících letech vedle původních oborů byla na škole zavedena další, chemickým oborům blízká, studia. Analytická chemie se však jako jediná od zavedení v 80. letech vedle jiných vznikajících a zanikajících oborů vyučuje na škole dosud (v rámci oboru Aplikovaná chemie).

Obor Aplikovaná chemie – Analytická chemie

Analytická chemie je jedním ze základních chemických oborů. Jejím úkolem je zkoumání vlastností látek a chemických dějů s cílem využít je v kvalitativní a kvantitativní analýze chemických individuí i jejich směsí. Je nedílnou součástí výzkumu a vývoje, nepostradatelná pro většinu oblastí lidské činnosti.

Absolventi tohoto zaměření splňují požadavky kladené na analytické chemiky v průmyslové, zemědělské a zdravotnické praxi i základním a aplikovaném výzkumu. Jsou schopni samostatně řešit analytické problémy i tvůrčím způsobem aplikovat analytické postupy. Dokáží rovněž komunikovat na mezioborové úrovni a zapojit se tak do řešení komplexnějších mezioborových problémů. V praxi mohou najít uplatnění v chemických laboratořích ve všech oblastech státního či podnikatelského sektoru celé řady průmyslových a zemědělských podniků, ve výzkumných ústavech, na vysoce specializovaných pracoviš-



Obr. 1. Budova Střední průmyslové školy chemické v Brně

tích, při výrobě a hodnocení kosmetických a farmaceutických výrobků.

Škola se proto snaží studenty seznámit s teoretickými i praktickými znalostmi v různých oborech, založených na solidních základech chemie, matematiky, fyziky, biologie. V rámci volitelných předmětů si studenti mohou ještě prohloubit své dovednosti ve zvoleném směru. Studium poskytuje teoretický základ v anorganické, organické, analytické, fyzikální chemii a biochemii. Teoretické poznatky jsou propojovány s praktickými dovednostmi v rámci řešení úkolů v laboratorních cvičeních. Škola má k dispozici 9 laboratoří sloužících k výuce anorganické, organické a analytické chemie, chemické techniky, biologie a mikrobiologie.

Vybavení laboratoří je dle možností doplňováno tak, aby se studenti učili pracovat na moderních přístrojích, které jsou běžné v odborné praxi. Studenti pracují s reálnými vzorky podle platných norem. K vyhodnocení využívají výpočetní techniku. K přístrojovému vybavení laboratoře instrumentální analytické chemie patří mimo jiné plynový chromatograf, atomový absorpční spektrometr, spektrofotometr VIS a UV, refraktometr, polarimetr a pH-metr. K navažování vzorků používají studenti digitální váhy, k titracím používají automatické byrety. Student je dobře vybaven pro odchod do praxe i pro další studium.

Další studijní obory

Pro školní rok 2006–2007 otvírá škola tyto další studijní obory:

- Aplikovaná chemie – Farmaceutické substance. Profilovým předmětem pro tuto specializaci je chemická technologie zaměřena na farmaceutické výroby a zařízení.
- Analýza potravin. Nejdůležitějšími předměty pro tuto specializaci jsou analytická chemie, biologie a mikrobiologie.
- Přírodovědné lyceum. Nejde bezprostředně o obor



Obr. 2. Chemická laboratoř Střední průmyslové školy chemické v Brně

s chemickou orientací, ale o přírodovědně zaměřené studium určené k přípravě studentů pro studium na vysokých školách přírodovědného směru. Obsahem výuky jsou všeobecné vzdělávací předměty v rozsahu obdobném jako na gymnáziích.

Ve všech studijních oborech je v učebním plánu výrazně zastoupena výpočetní technika. Rovněž se povinně vyučují dva cizí jazyky – anglický a německý. Jejich týdenní hodinová dotace zaručuje požadované znalosti pro státní maturitní zkoušku. Dle zájmu studentů lze zajistit i výuku jazyka ruského nebo francouzského.

Jazyková výuka probíhá v pěti odborných učebnách, které jsou vybaveny televizorem, videem, magnetofonem, dataprojektorem a meotarem. Výuka jazyků navazuje na znalosti (i neznalosti) ze základní školy a respektuje tak jazykovou pokročilost každého studenta.

Výuka výpočetní techniky, informatiky a dalších odborných předmětů

Ve školním roce 2003/2004 došlo k výraznému posílení vybavení školy výpočetní technikou. Byla zřízena nová učebna vybavená 16 novými počítači, byly zakoupeny další počítače na úrovni PENTIUM IV. Na chodbách školy je umístěno 27 počítačů se stálým připojením na internet a 2 počítače s připojenými laserovými tiskárnami. Tyto počítače jsou pro studenty volně přístupné. Celkem jsou pro výuku využívány 2 učebny s 34 počítači propojených v síti. Pro zlepšení práce na internetu byla v červnu 2004 zvýšena konektivita na 1 Mb za sekundu. Pro připojení na internet jsou využívány proxy server (OS Linux), vlastní LAN je typu Klient – Server (Server-OS Windows 2000 Server, klienti – Windows XP, Windows 98, Windows 95). Informace o škole lze získat na webových stránkách www.spschbr.cz. Pro lepší informovanost rodičů je prostřednictvím internetu zpřístupněn informační systém o prospěchu žáků. Pro vnitřní komunikaci se využívá interní informační systém.

Výuka fyziky a elektrotechnických předmětů probíhá v laboratoři, která je vybavena analogovými i digitálními měřicími přístroji, osciloskopy a dalšími pomůckami. K podpoře výuky v předmětech elektrotechnika, automatizace a fyzika slouží počítačový systém ISES, umožňující měření fyzikálních analogových veličin pomocí osobního počítače vybaveného analogově-digitálním převodníkem a výstupem naměřených veličin na tiskárnu.

Aktivity školy ve volném čase

Škola pečlivě zajišťuje budoucí profesní specializaci. Život školy probíhá i mimo třídu a učitelskou katedru. Vedle hodin povinné tělesné výchovy mají studenti v oblíbené sportovní hry, v jejichž rámci se připravují školní družstva na reprezentaci školy v nejrůznějších sportovních soutěžích (odbižená, malá kopaná, florbal, kopaná). Největších úspěchů dosahují studenti školy ve florbalu, malé kopané a volejbalu. V rámci mimoškolní aktivity organizuje škola lyžařské zájezdy pro začátečníky i pokročilé, cykloturistické výlety, vodácké kurzy a sportovní poznávací pobyty u moře.

Pro kvalitní využívání volného času studentů bylo na škole zřízeno středisko informací, které zahrnuje odbornou knihovnu, knihovnu beletrie a studovnu. Obě knihovny disponují více než 8 000 publikacemi. Knižní fond obou knihoven je průběžně doplňován novými publikacemi. V knihovnách jsou umístěny dva počítače napojené na síť, které lze v případě potřeby operativně využít.

Kulturní život školy je bohatý. Oblíbené jsou zejména literární exkurze do Prahy a Kralic nad Oslavou, návštěvy výstav, divadelních a filmových představení. O celkovém dění na škole informují školní noviny s názvem „Chemický občasník“, jejichž přispěvateli jsou nejen pracovníci školy, ale i sami studenti.

Na posílení výuky cizích jazyků škola pořádá každoročně výměnné a poznávací stáže. Oblíbeným doplňkem výuky jsou každoroční jedno i vícedenní výjezdy studentů do zahraničí – Rakouska, Německa, Anglie.

Škola patří mezi organizátory Chemické olympiády různých kategorií. Za celou dobu existence soutěže měla škola mnoho vítězů v městských, oblastních i celostátních kolech. Mezi největší úspěchy posledních let patří účast studentů v mezinárodní soutěži Grand Prix Chimique, která se koná vždy jednou za dva roky v některém evropském městě.

Středoškolská odborná činnost a AMAVET

Další významnou aktivitou školy je organizace Středoškolské odborné činnosti. Již několik let se studenti úspěšně zúčastňují také Soutěže vědeckých a technických projektů středoškolské mládeže – AMAVET.

Středoškolská odborná činnost (SOČ) je dobrovolná zájmová činnost, kterou žáci uskutečňují na své škole, na odborných pracovištích vysokých škol, výzkumných ústavech, laboratořích nebo individuálně. Výsledkem SOČ je vypracovaná odborná zpráva nebo učební pomůcka s dokumentací, která se předkládá k odbornému posouzení a následně je obhajována před odbornou porotou.

Na škole má SOČ dlouholetou tradici. Naši studenti nejen že každým rokem úspěšně obhajují své práce nejen ve školním kole, ale velmi dobře se umísťují i v kole městském, krajském a celostátním, případně mezinárodním.

V loňském školním roce proběhl na škole již 27. ročník SOČ. Obhajob se zúčastnilo 22 studentů, kteří obhajovali 3 práce v oboru Zemědělství a potravinářství, 5 prací v oboru Chemie, 1 práci v oboru Biologie a 2 práce v oboru Ochrana životního prostředí. Osm prací bylo navrženo k postupu do městského kola, ze kterého postoupilo 5 prací do kola krajského. V krajském kole obsadili studenti první a druhé místo v oboru Chemie a druhé místo v oboru Biologie. V celostátním kole SOČ reprezentovaly studentky Marta Nováčková a Petra Pikulová v oboru Chemie a umístily se na pátém místě.

Regionálního kola desátého ročníku vědeckotechnických projektů EXPO SCIENCE AMAVET se účastnilo 60 studentů z celé Moravy (celkem 33 projektů). Tři studenti školy (Jan Březina, Jan Partyka a Petra Videňská) obhajovali dva projekty v oboru Chemie a Ochrana životního prostředí. Studenti Březina a Partyka reprezentovali

školu s prací Optimalizace metody stanovení cínu v potravinách v národním finále v Praze.

O škole, studentech a učitelích

Atmosféra na škole je velmi kultivovaná. Škola doposud neřešila problémy s užíváním drog nebo šikanou. Individuálně přistupuje ke studentům se specifickými vzdělávacími potřebami – dyslektici, dysgrafici, dyskalkulici na škole bez problémů maturují.

V roce 2002 byla navázána spolupráce se stuttgartskou školou Institut Dr. Flad. Jde o prestižní školu s padesátiletou tradicí, která připravuje techniky a laboranty pro chemický a farmaceutický průmysl a životní prostředí. Žáci obou škol se pravidelně navštěvují a společně spolupracují v chemických laboratořích při analýzách vod, přípravě farmaceutických přípravků apod.

SPŠCH Brno spolupracuje také se Střední průmyslovou školou chemickou v Novákách na Slovensku. Rovněž je zapojena do pilotního projektu s názvem ECTS „Certification of Online – and Being – Present – Training in First and Further Education of Chemistry Worker“ v rámci projektu Leonardo da Vinci.

Střední průmyslová škola chemická Brno se významně zapsala do historie i současnosti nejen ve městě Brně a okolí, ale i v nadregionální působnosti Jihomoravského kraje. Během svého působení tato škola vychovala mnoho odborníků, z nichž celá řada zastávala nebo zastává významné funkce např. ve strategických podnicích chemického i nechemického charakteru, v podnikatelské, správní a školské oblasti. Skutečnost, že škola je dobře zapsaná v podvědomí veřejnosti, že má výborné výsledky ve výchově a vzdělávání svých studentů, je důsledkem mnohaleté systematické práce pedagogického sboru.

CHEMICKO-FARMACEUTICKÁ VÝROBA NA STŘEDNÍ ŠKOLE V PRAZE

JIŘÍ SAJVERA

*Střední odborná škola Praha 3, U Vinohradského hřbitova 3, 130 00 Praha 3
jisaj@tiscali.cz*

Nedaleko stanice metra A Želivského se nalézá jedna z pražských středních škol. Má jednoduchý a prostý název: Střední odborná škola Praha 3, U Vinohradského hřbitova 3. Je to skromná škola, je ale trochu zvláštní a dá se říci unikátní. Poskytuje střední odborné vzdělání zakončené maturitou v oborech Strojní a elektrotechnická zařízení a Chemicko-farmaceutická výroba. Unikátní proto, že je jedinou školou v republice, na které se tyto obory učí. Zřizovatelem školy je město Praha.

Nás bude zajímat obor Chemicko-farmaceutická výroba. Pod pojmem farmaceutická výroba se rozumí výroba léčiv, která probíhá ve farmaceutických závodech. Léčiva podle Zákona o léčivech jsou léčivé látky a léčivé přípravky

ky. Ve farmaceutickém průmyslu se vyrábějí léčivé látky, tzv. aktivní farmaceutické ingredience (API) i léčivé přípravky, přičemž API se vyrábějí metodami převážně chemickými, případně biotechnologickými. Proto ta chemie v názvu oboru. Je to ovšem chemie speciální, většinou malotonážní, jak se někdy říká. Léčivé přípravky se vyrábějí technologiemi farmaceutickými. Obor chemicko-farmaceutická výroba má své přesně vymezené místo vedle tradičních průmyslových oborů chemických.

Obor chemicko-farmaceutická výroba je zaměřen na průmyslovou výrobu léčiv. Byl koncipován v 90. letech minulého století na požadavek a v úzké spolupráci s tehdejší a. s. Léčiva. Pedagogické dokumenty byly schváleny v únoru 1994 s platností od 1. 9. 1994. Původní název Farmaceutická výroba bylo nutno na žádost Českého statistického úřadu změnit a byl mu přidělen kód; „narodil se“ studijní obor 28 – 41 – M/008 chemicko-farmaceutická výroba.

První studenti nového oboru zasedli do školních lavic 1. září 1994. A 1. září 2005 zasedli do školních lavic studenti už po dvanácté. Jak je vidět, obor spolehlivě obstál v konkurenci mezi středními školami a prokázal oprávněnost své existence.

Nahlédněme teď podrobněji do studijního plánu. Základní odborné předměty jsou chemie, farmakologie a technologie. Začneme chemií.

Předmět	Počet týdenních vyuč. hodin				celkem
	1.	2.	3.	4.	
Chemie	5	4			9
Chemie fyzikální			2		2
Biochemie			2		2
Chemie analytická				2	2
Chemie léčiv				2	2
Praktická cvičení	2	2			4
Laboratorní cvičení	3	2	2	2	9

Chemie je poměrně dost a učí se ve všech ročnících. V prvních dvou ročnících získají studenti potřebné znalosti a dokonalý přehled o chemii obecné, anorganické a organické; učivo je vhodně provázané s tematikou praktických cvičení. Ve 3. ročníku se setkají s biochemií a fyzikální chemií. Biochemie navazuje na obecně přírodovědné obory a doplňuje a rozšiřuje učivo farmakologie. Fyzikální chemie je cíleně zaměřena na pochopení principů chemické a farmaceutické technologie a analytické chemie, zejména instrumentální. V analytické chemii ve 4. ročníku se probírají základní metody kvalitativní i kvantitativní analýzy se zřetelem na český lékopis. Vyučovací předmět chemie léčiv, zařazený také do 4. ročníku, je jakousi syntézou poznatků získaných během studia nejen v chemii, ale i v technologii a farmakologii. Teoretická výuka je vhodně doplněna praktickými a laboratorními cvičeními.

Budeme pokračovat farmakologií a příbuznými předměty.

Předmět	Počet týdenních vyuč. hodin				celkem
	v ročníku				
	1.	2.	3.	4.	
Farmakologie		2	2	2	6
Biologie	2				2
Somatologie	2				2
Mikrobiologie, epidemiologie, hygiena			1		1
Farmaceutická botanika			2		2
Farmakognózie				2	2

Farmakologie začíná ve 2. ročníku obecnou farmakologií. Studenti se v devíti tematických celcích seznámí s obsahem pojmu farmakologie, názvoslovím léčiv, podáváním a účinkem léčiv, poznají osudy léčiva v organismu a problematiku vývoje nových léčiv. Farmakologie speciální je zařazena do dalších dvou ročníků. Ve 3. ročníku se probírá farmakologie orgánová, ve 4. ročníku farmakologie léčiv. Pro pochopení a získání komplexního pohledu na farmakologii jsou nezbytné znalosti získané v biologii, somatologii a mikrobiologii. Navazujícími předměty jsou farmaceutická botanika a farmakognózie jako nauka o léčivech přírodního původu.

Třetí profilující předmět je technologie.

Předmět	Počet týdenních vyuč. hodin				celkem
	v ročníku				
	1.	2.	3.	4.	
Technologie	2	2	2	2	8
Chemická technika		2			
Správná výrobní praxe				1	1

Začíná obecnými pojmy v 1. ročníku, kde studenti získají základní informace o technologii farmaceutických výrob, o zákonu o léčivech, dovědí se, co je lékopis, poznají, co znamená sterilizace a jak se připravuje voda pro farmaceutické účely. Ve 2. ročníku se dovědí něco o prostředcích zdravotnické techniky. Třetí ročník je věnován biotechnologiím a výrobě antibiotik, výrobě imunologických přípravků a produktů z lidské krve. Náplní 4. ročníku je vlastní farmaceutická technologie, tj. výroba lékových forem. S technologií úzce souvisí předmět chemická technika, jehož cílem je pochopit podstatu jednotlivých operací ve farmaceutickém i chemickém průmyslu. Ve 4. ročníku se objeví předmět s podivným názvem správná výrobní praxe. Jde o souhrn mezinárodně platných pravidel, jejichž dodržování je zárukou kvality vyrobených léčiv. Moderní farmaceutický průmysl se bez znalosti těchto pravidel a jejich dodržování neobejde. Tento předmět – pokud je nám známo – se na žádné střední škole neučí.

Zbývají poslední tři odborné předměty, o nichž jsme dosud nehovořili.

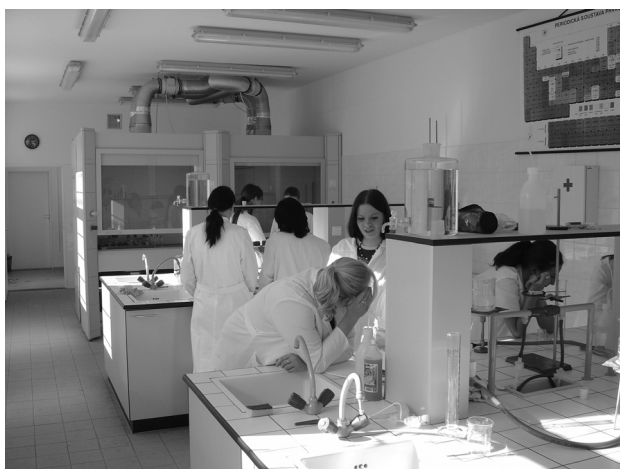
Předmět	Počet týdenních vyuč. hodin				celkem
	v ročníku				
	1.	2.	3.	4.	
Ekonomika		2	2	2	6
Práce s počítačem			2	2	4
Latinský jazyk	2				

Ekonomika je zařazena do 2., 3. a 4. ročníku. Probírájí se základní ekonomické pojmy, zásady obchodní korespondence a účetnictví, základní ekonomické zákony a právní formy podnikání. Naučit studenty pracovat s počítačem je cílem předmětu stejného jména. Protože se tradičně ve farmacii užívá latina, je do 1. ročníku zařazen předmět Latinský jazyk.

Škola je moderně a dostatečně vybavena. Má celkem 39 učeben, z toho dvě videoučebny, tři učebny pro práci s počítači, dvě jazykové a dvě multimediální učebny, dvě tělocvičny, knihovnu a studovnu. Škola má též vlastní kuchyni a jídelnu s kantýnou a v areálu školy je pěkně vybudované školní hřiště.

Obor chemicko-farmaceutická výroba má k dispozici laboratoř pro instrumentální analýzu v hlavní budově a chemické laboratoře ve zvláštním objektu.

Když se v 90. letech minulého století rodil obor chemicko-farmaceutická výroba, počítali jsme stejně jako průmyslové podniky se soustavnou praxí, dokonce do posledního ročníku byla zařazena praxe na cílovém pracovišti. Důsledné zavedení zásad správné výrobní praxe znamenalo konec těmto představám, střídání velkého počtu osob na jednotlivých pracovištích je nepřijatelné. Náhradním řešením jsou videoklipy, které se nám podařilo získat zejména v a. s. Zentiva.



Pohled do laboratoře

Ve snaze vyplnit alespoň zčásti tuto mezeru v letošním školním roce navazujeme spolupráci s Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze.

Podíváme se ještě stručně na profil absolventa. Spolehlivě zná jeden cizí jazyk, má všeobecný kulturní a společenský rozhled, zná základní pojmy a zákony přírodních věd a matematiky, dovede se správně rozhodovat v běžném životě i v odborné praxi, je schopen problémy objasňovat a pracovat samostatně i v týmu.

Má dostatečné vědomosti z chemie jako celku, z biologie a somatologie a z farmaceutických odborných předmětů a zná základní technologické operace i laboratorní práce a je schopen aplikovat tyto vědomosti a dovednosti při řízení chemicko-farmaceutických výroby, umí se orientovat v lékopise, má elementární znalosti z toxikologie, mikrobiologie a hygieny a farmakognózie, je schopen aplikovat své vědomosti a dovednosti při řízení výroby.

Absolvent zná zásady správné výrobní praxe, umí číst lékařské předpisy a rozumí recepturním zkratkám, má přehled o léčivých rostlinách a jejich použití, je schopen vést dokumentaci a vyhodnocovat výsledky zkoušek a pracovních postupů.

Absolvent je v dostatečné míře seznámen s hospodářským právem, ekonomickou legislativou a právními formami podnikání, má základní znalosti o marketingu a managementu oboru, zná základy obchodní korespondence a účetnictví, je seznámen s technikou zdravotního pojištění a s psychologií a etikou zdravotnictví.

Absolventi se uplatní ve středních technicko-hospodářských funkcích, v průmyslu i v menších soukromých provozovnách při výrobě a výzkumu lékových forem, kosmetických výrobků a v dalších oblastech, zaměřených na farmaceutickou, chemickou a biochemickou výrobu. Vzhledem k širokému záběru mohou pracovat v provozech i v laboratořích a zvládnou práci administrativní a ekonomickou. Maturita v tomto oboru je dobrým základem pro studium na vysokých školách.

Školu opouští každým rokem několik desítek absolventů oboru chemicko-farmaceutická výroba s maturitním vysvědčením v kapse. Řada odchází na vysoké školy, na VŠCHT, přírodovědeckou či některou farmaceutickou fakultu Univerzity Karlovy i na některé vysoké školy mimopražské. Někteří maturanti nacházejí zaměstnání ve farmaceutickém průmyslu – mnozí dokonce dnes pracují ve vysokých funkcích např. v a.s. Zentiva či Spofa – jiní v různých distribučních podnicích, na vysokých školách a v laboratořích, např. ve Státním ústavu pro kontrolu léčiv či ve Státním zdravotnickém ústavu.

Nakonec několik slov o aktivitách naší Střední odborné školy. Škola se účastnila v minulosti mezinárodní akce Sokrates a získala Evropskou cenu kvality – E-Quality 2004 projektu Comenius. Ve škole je věnována značná pozornost environmentální výchově a vzdělávání. Studenti se zúčastnili řady exkurzí, výstav a prací v ekologické farmě Toulcův dvůr. Škola se zapojila také do projektu JPD3 „Vytváření a hodnocení programů pro vzdělávání a výchovu k udržitelnému rozvoji v základních a středních školách hlavního města Prahy“.

POMÁHÁ PŘIPRAVOVANÁ MATURITA VÝUCE CHEMIE NA STŘEDNÍ ŠKOLE?

PETR SUCHOMEL

Patrně nejvýznamnějším dokumentem ovlivňujícím výuku chemie na střední škole je změna pojetí maturitní zkoušky realizované prvně od školního roku 2007/2008. S novou formou zkoušky je spojená definice obsahu výuky chemie na střední škole – má formu katalogu specifikujícího, co všechno by výuka chemie měla pojímat a do jaké hloubky by žáci měli požadovaná témata zvládnout. Podle záměru tvůrců nové maturity by výsledky zkoušky mohly (nejen v chemii) sloužit i vysokým školám v přijímacím řízení (různou formou – od zohlednění coby informace o žákově úrovni v chemii až po náhradu písemné přijímací zkoušky). Může katalog tyto role (alespoň v chemii) plnit?

Pro výuku chemie na gymnáziu katalog vyjmenovává 205 témat (rozdělených do pěti tématických okruhů), kterým by se učitel měl během výuky chemie věnovat. Za předpokladu dvou vyučovacích hodin chemie týdně po tři a půl školního roku o 36 vyučovacích týdnech to představuje 252 hodin středoškolské výuky. Po odečtení 10 % věnovaných např. praktickým činnostem žáků (laboratorní práce) nebo ověřování vědomostí žáků (zkoušení) zbývá zhruba 220 vyučovacích hodin a tedy jen o něco málo víc než jedna vyučovací hodina na jedno téma zmíněné v katalogu. Mezi tématy jsou přitom zahrnuty například (co odrážka, to téma!):

- vymezit podmínky vzniku chemické vazby a obsah pojmů délka vazby, vazebná (disociační) energie, násobnost (vazba sigma a pi), polarita chemické vazby (nepolární, polárně kovalentní, iontová vazba), kovová vazba, slabé vazebné interakce (vodíkové vazby a jejich vliv na fyzikální a chemické vlastnosti látek, van der Waalovy síly),
- vymezit pojem orbital, hodnoty a význam hlavního, vedlejšího, magnetického a spinového magnetického kvantového čísla, znázornit orbitály a elektrony pomocí symbolů a rámečkových diagramů,
- objasnit strukturu organických sloučenin, odvodit vaznost atomu uhlíku a popsat typy vazeb v organických sloučeninách, vysvětlit vliv charakteru vazeb na vlastnosti látek.

Jen stěží nelze pochybovat o tom, že je možné kterékoliv z těchto témat odučit za dobu připadající na jedno téma způsobem, který by umožnil, aby si žáci téma osvoji-

li na úrovni požadované katalogem (např.: „žák s porozuměním dovede vysvětlit chemický jev nebo děj pomocí známých chemických zákonů a teorií a pomocí indukce, dedukce a dalších myšlenkových operací odvozovat z výchozích údajů a podmínek závěry“). Je spíše pravděpodobné, že ani nejlepší žáci si z výuky neodnesou víc než jen velmi zběžný přehled o tom, co téma zahrnuje, ovšem bez možnosti proniknout do hloubky tématu a pochopit základní principy.

Příčina uvedeného rozporu je po přečtení katalogu jasná – katalog obsahuje celou řadu témat, jejichž zařazení do středoškolské výuky chemie je přinejmenším diskutabilní. Mezi tématy lze najít například:

- popsat a vysvětlit průběh reakcí, např. benzendiazonium-chloridu s fenolem v bazickém prostředí a s anilinem v kyselém prostředí,
- popsat různé typy reakcí organokovových sloučenin alkalických kovů a hořčíku, např. s aldehydy a ketony,
- popsat ATP, jeho syntézu a význam v biochemických procesech, charakterizovat proteosyntézu a odbourávání bílkovin, fotosyntézu, glykolýzu, beta-oxidaci, Krebsův cyklus.

Výuka rámovaná takto předimenzovanými a mnohdy nadhodnoceně naplněnými osnovami nutně vede k povrchnosti, faktografičnosti, redukci komplexních činností apod., navíc nutí učitele do frontálního výkladu. Ve výsledku se významně podílí na utváření negativního postoje žáků k chemii jako takové, spíše zmenšuje jejich šance porozumět komplexní podstatě přírodovědné stránky světa, který je obklopuje a snižuje jejich zájem o studium chemie i souvisejících přírodních věd. Domnívám se proto, že současná podoba katalogů výuce chemie škodí, protože ji orientuje zcela opačným směrem (k povrchním znalostem), než je žádoucí (porozumění podstatě). Navíc žáky od dalšího studia chemie spíše odrazuje, a tím jde svým způsobem proti zájmům vysokých škol chemického zaměření.

K nápravě současného stavu je třeba redukovat tématický obsah katalogů, zaměřit výuku na základní principy chemických jevů a dějů a více v ní uplatňovat moderní didaktické postupy. Jen tak lze podnítit zájem většího okruhu přemýšlivých a nadaných žáků a vytvořit u nich dostatečné základy pro úspěšné studium chemie na vysoké škole a pozdější samostatnou tvůrčí a výzkumnou práci.

LITERATURA

1. viz <http://www.cermat.cz>
2. katalogy cílových požadavků viz <http://www.cermat.cz/katalogy/>

Aprílový klub

Težký život floorbalistů

Táborské listy v sobotu 12/11 2005 přinesly podnětnou zprávu o dietě hráčů, kteří nemajíce povolen doping

používají m.j. magnesium nebo hořčík proti křečím. Musejí mít věru dobré zuby, pokud si chtějí chroupnout jednoho nebo druhého.

zdb

Členská oznámení a služby

Docenti jmenovaní od 1. 6. do 27. 10. 2005

- Doc. Ing. Mihnea Gheorghiu, CSc.
pro obor technologie makromolekulárních látek, UTB
Zlín/DGK Brno
- Doc. Ing. Josef Hájíček, CSc.
pro obor organická chemie, UK Praha/Zentiva a.s.
- Doc. RNDr. Jiří Hudeček, CSc.
pro obor biochemie, UK Praha
- Doc. RNDr. René Kalous, Ph.D.
pro obor fyzikální chemie, VŠCHT Praha
- Doc. RNDr. Pavel Kopel, Ph.D.
pro obor anorganická chemie, UP Olomouc
- Doc. Mgr. Petr Kubáň, Ph.D.
pro obor analytická chemie, UP Olomouc/MZLU Brno
- Doc. RNDr. Hana Kulveitová, Ph.D.
pro obor chemická metalurgie, VŠB-TU Ostrava
- Doc. Ing. Anežka Lengálová, Ph.D.
pro obor technologie makromolekulárních látek, UTB Zlín
- Doc. RNDr. Jiří Ludvík, CSc.
pro obor fyzikální chemie, VŠCHT Praha/AV ČR
- Doc. Mgr. Martin Modrianský, Ph.D.
pro obor lékařská chemie a biochemie, UP Olomouc
- Doc. Ing. Marek Růžička, CSc.
pro obor chemické inženýrství, VŠCHT Praha/AV ČR
- Doc. RNDr. Kristian Šafarčík, Ph.D.
pro obor klinická biochemie, UK Praha/FNSP Ostrava

Profesoři jmenovaní s účinností od 1. 11. 2005

- Prof. RNDr. Jiří Barek, CSc.
pro obor analytická chemie, na návrh Vědecké rady Uni-
verzity Karlovy v Praze
- Prof. RNDr. Ignác Capek, DrSc.
pro obor technologie makromolekulárních látek, na návrh
Vědecké rady Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně
- Prof. Ing. Jiří Čejka, DrSc.
pro obor anorganická technologie, na návrh Vědecké rady
Vysoké školy chemicko-technologické v Praze
- Prof. RNDr. Agáta Fargašová, DrSc.
pro obor ekologie, na návrh Vědecké rady Univerzity Pa-
lackého v Olomouci
- Prof. RNDr. Hana Kovářů, DrSc.
pro obor lékařská chemie a biochemie, na návrh Vědecké
rady Univerzity Karlovy v Praze
- Prof. Ing. Vladimír Křen, DrSc.
pro obor lékařská chemie a biochemie, na návrh Vědecké
rady Univerzity Palackého v Olomouci
- Prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.
pro obor agrochemie a výživa rostlin, na návrh Vědecké
rady Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně
- Prof. Ing. Jitka Moravcová, CSc.
pro obor organická chemie, na návrh Vědecké rady Uni-
verzity Palackého v Olomouci
- Prof. RNDr. Vojtěch Novotný, CSc.
pro obor ekologie, na návrh Vědecké rady Jihočeské uni-
verzity v Českých Budějovicích
- Prof. Ing. Petr Pipek, CSc.
pro obor technologie potravin, na návrh Vědecké rady
Vysoké školy chemicko-technologické v Praze
- Prof. Ing. Hana Šantrůčková, CSc.
pro obor ekologie, na návrh Vědecké rady Jihočeské uni-
verzity v Českých Budějovicích
- Prof. Ing. Jan Šmidrkal, CSc.
pro obor technologie potravin, na návrh Vědecké rady
Vysoké školy chemicko-technologické v Praze
- Prof. RNDr. Jiří Wilhelm, Ph.D.
pro obor lékařská chemie a biochemie, na návrh Vědecké
rady Univerzity Karlovy v Praze

Střípky a klípky o světových chemících

Arthur Rose Weir 1906–1961

Rubriky osobných správ vo vedeckých časopisoch sa zvyčajne plnia článkami o význačných osobnostiach, ktoré sa môžu pochváliť vynikajúcimi vedeckými a akademickými dráhami. Azda bude možné urobiť výnimku z tohto pravidla a dať priestor spomienke na jedného pedagóga stredoškolského, ktorý bol takmer tretinu svojho života spojený s československým školstvom.

Arthur Rose Weir sa narodil 12. februára 1906 v anglickom Painswicku (grófstvo Gloucestershire). Jeho otec, Richard Rose Weir, bol bývalý lekár v britskej koloniálnej armáde v Indii. Arthur trpel ako dieťa chronickou astmou a inými pľúcnymi chorobami, čo mu znemožňovalo riadnu dochádzku do škôl a tak základné vzdelanie nadobudol prevažne doma čítaním kníh, ktorými ho zásobovali rodičia. Strednú školu ukončil na Hailey School v primorskom meste Bournemouth r. 1924. R. 1926 sa zapísal na londýnskej King's College ako poslucháč „special chemistry and physics“. Tam uplatnil v praxi svoje chemické schopnosti, keď pripravil farbu, ktorou študenti King's College recesisticky pomaľovali budovu konkurenčnej Imperial College. A. Weir získal titul Bachelor of Science r. 1929 a Master of Science r. 1931 na katedre fyzikálnej chémie, ktorú vtedy viedol prof. A. J. Allmand.

Bolo to v čase vrcholiacej hospodárskej krízy a Weir mal ťažkosti pri hľadaní vhodného zamestnania. Napokon sa rozhodol ísť učiť do zahraničia. Mal na výber Chile alebo Československo. Vybral si druhú možnosť a prišiel do Prahy, kde sa stal profesorom na vtedajšom anglickom gymnáziu. Možno v snahe prispôsobiť sa stredo európskym zvyklostiam v školstve rozhodol sa získať doktorát prírodných vied. Na letný semester r. 1932 sa zapísal na Prírodovedeckú fakultu Univerzity Karlovej. O šírke jeho záujmov svedčí zoznam zapísaných prednášok: okrem fyzikálnej chémie u prof. J. Heyrovského ako hlavného predmetu to boli napr. vulkanizmus (prof. Kettner) a paleontológia (prof. Perner). Dizertačnú prácu predložil v angličtine (Investigation on the System $PbCl_2$ -KCl- H_2O) a po vykonaní rigorózných skúšok bol promován 30. júna 1933. Weirova dizertácia sa opierala o výsledky prác, ktoré vykonal ešte na King's College. Nie je jasné, prečo k publikácii prišlo až r. 1936. Článok v Collection je označený ako šiesta zo série prác z katedry prof. Allmanda z rokov 1926–1936, kde sa popisujú anomálne hodnoty niektorých fyzikálno-chemických vlastností v uvedenom systéme. V tom istom roku uverejnil Weir ešte dva články v Collection s podobnou tematikou. Posledná publikácia spadá do rozsiahlej série prác Heyrovského školy o kvapkovej elektróde.

O vzťahu k prof. Heyrovskému svedčí skutočnosť, že ho A. Weir pozval na svadbu. Manželstvo uzavrel r. 1934 s Jaroslavou Michálkovou, neterou pražského primátora

Dr. K. Baxu. Weir mal nepochybne úmysel už z rodinných dôvodov natrvalo sa usadiť v Prahe, ale tento zámer padol za obeť Mníchovu. Weirovci sa sťahovali do Anglicka a tam sa po krátkom čase začala druhá kapitola jeho spojenia s čs. školstvom.

Na jeseň r. 1940 naša zahraničná vláda založila školu pre deti emigrantov z Československa a pre deti, ktoré sa dostali do Británie krátko pred vojnou v rámci rozličných charitatívnych akcií. Bolo medzi nimi aj veľa detí zo známych kindertransportov, ktoré organizoval Nicholas Winton. Krátka história školy je sama o sebe zaujímavá a s odstupom času by si zaslúžila, aby sa s ňou oboznámila naša verejnosť. Na tomto mieste môžeme len stručne uviesť, že to bola internátna škola pridrižavajúca sa približne osnov predvojnového reálneho gymnázia, väčšinou s českými profesormi. Riaditeľom bol RNDr. J. Havlíček, ktorý prišiel tak ako viacerí profesori z našej vojenskej jednotky (keď sa nedávno dožil 100 rokov, dostal od ministerky Buzkovej rezortné vyznamenanie). A. Weir prišiel do školy v júni r. 1941, keď škola bola blízko mesta Whitchurch južne od Liverpoolu. Okrem pedagogických povinností mal v pracovnej náplni aj reprezentáciu školy pred britskou verejnosťou. To malo veľký význam najmä v počiatočnom období, keď väčšina členov zboru ešte neovládala dostatočne angličtinu, nepoznala anglické realie a ťažko sa orientovala v prostredí odľahlého anglického vidieka. Weirove vyučovacie povinnosti nekončili chémiou. Učil rysovanie, istý čas fyziku a bol schopný suplovať vďaka širokým encyklopedickým vedomostiam všetky predmety, pre ktoré nebol v často sa meniacom zbere práve vhodný vyučujúci. Toto suplovanie bolo na úrovni našich predvojnových gymnázií, t.j. vysokej. Aj keď sa nie vždy celkom presne držal osnov, dokázal žiakov zaujať a jeho hodiny boli zážitkom, čo môžem ako bývalý žiak potvrdiť. V lete r. 1943 sa škola presťahovala do južného Walesu do kúpeľného mestečka s jazykolomným názvom Llanwrtyd Wells. Prof. Weir tam našiel akúsi nepoužívanú drevenú bídu a v nej zriadil skromné chemické laboratórium, kde žiakom predvádzal jednoduché pokusy. Všetko vyučoval česky aj anglicky a tak sme mali možnosť osvojiť si terminológiu v oboch jazykoch. Jeho záujmy boli, ako som už spomenul, široké. Hral na flautu, dobre strieľal zo vzduchovky, mal silný ďalekohľad a budieval žiakov, aby s ním pozorovali hviezdy, keď sa náhodou v tom daždivom kraji ukázala jasná obloha. Bývalí žiaci, ktorí sa už 20 rokov periodicky stretávajú v Llanwrtyd Wells pod heslom „najmenšie mesto v Británii, najväčšie v našich srdciach“, majú na pána profesora Weira najkrajšie spomienky.

Po vojne sa Weir vrátil do Prahy, ale nie na miesto stredoškolského profesora. Učil angličtinu pracovníkov zahraničného obchodu a v nejakých večerných kurzoch. Po zmene politického systému sa na jeseň r. 1948 definitívne vrátil do Anglicka. V tom čase preložil do angličtiny knihu prof. O. Tomička Chemické indikátory, ktorá vyšla

r. 1950 pod názvom Chemical Indicators v nakl. Butterworths v Londýne. Začal učiť chémiu a fyziku (to, čo sa v anglickom školstve označuje ako science) na dievčenskej škole v dedinke Westonbirt v Gloucestershire. Túto školu si vybral z praktického dôvodu, lebo ako otec troch dospievajúcich dcér mal úľavu pri platení školských poplatkov. Fádny život v obci, ktorú jedna z dcér označuje ako dokonalý zapadákov, si spetroval cestami do najväčšieho bližšieho mesta Bristolu a tam v antikvariátoch vyhľadával science-fiction. Už za vojny sme vedeli, že k jeho obľúbeným autorom patrí H. G. Wells. Stal sa agilným členom klubu čitateľov sci-fi British Science Fiction Association a v rokoch 1958–1960 prispieval početnými článkami a recenziami do klubového časopisu. Po jeho smrti začal klub udeľovať zaslúžilým členom putovný strieborný pohár Doc Weir Award.

Arthur R. Weir zomrel v pomerne mladom veku 4. marca 1961, keď v posledných rokoch života ho často sužovali rozličné pľúcne choroby. Okrem syna, ktorý sa narodil pred vojnou v ČSR, mal tri dcéry. Najstaršej, pani Milade Haighovej, ďakujem za cenné informácie, ktoré mi pomohli pri písaní tejto spomienky.

Ján Čaplovič

Jaký byl profesor Jaroslav Heyrovský z pohledu jeho asistenta

20. prosince 2005 uplynulo 105 let od narození Jaroslava Heyrovského, profesora Karlovy univerzity, akademika, laureáta Nobelovy ceny za chemii. Možná, že zvláště pro mladší pracovníky by bylo zajímavé připomenout si tohoto vynikajícího vědce a člověka z poněkud jiného pohledu, než jak tomu bylo doposud.

O prof. Heyrovském jsem se poprvé dočetl jako totálně nasazený gymnaziální student v předposledním roce 2. světové války, a to v knížce prof. Oldřicha Tomíčka *Potenciometrické titrace*. Shodou náhody jsem prof. J. Heyrovského poprvé spatřil už jako student Přírodovědecké fakulty u zkoušky z analytické chemie právě v pracovně prof. Tomíčka. Ozvalo se zaklepání a do místnosti vešel muž štíhlý, spíše menší postavy, s brýlemi, ostře řezaných rysů, jiskrných očí, stáří kolem 50 let. Že jde o někoho významného, vyplynulo z chování prof. Tomíčka, který vyskočil a uctivě odváděl návštěvu do vedlejší místnosti. Osobně jsem se s prof. Heyrovským setkal o dva roky později r. 1948, a to při nástupu jako doktorand Ústavu fyzikální chemie Karlovy univerzity. Byl to pro studenta významný rituál, když tehdejší doc. Rudolf Brdička, náš přednášející fyzikální chemie, mne osobně představil prof. Heyrovskému. Než jsme začali pracovat na dizertační práci, přirozeně v ničem jiném než v polarografii, museli jsme projít polarografickým praktikem. Protože jsem se na Ústavu osvědčil jako vedoucí praktika z fyzikální chemie pro farmaceuty, začal jsem pracovat v polarografickém praktikumu nejprve jako demonstrátor

a později jako vedoucí jeho praktické části. Prof. Heyrovský přednášel tichým hlasem, naprosto plynule, soustředěn na téma. Protože každá úloha se dala rozvinout do praktické aplikace, vždy na ni upozornil. Jako vedoucí dizertační práce zadal téma, v mém případě polarografické stanovení a studium chování vanadu v aplikaci na jeho stanovení v ocelích. Každý den dopoledne procházel laboratoře a prohlížel, co je nového. Byli jsme pod tlakem, který nás nutil pilně pracovat a něco nového objevit. Prof. Heyrovský nežadával konkrétní postupy, jeho rady byly spíše rámcové. Nestydím se přiznat, že se nám někdy třásla kolena, když přes bifokální brýličky prohlížel naše fotograficky registrované křivky. Později zaváděné pérové zapisovače neměl zpočátku ve velké oblibě. Byl rád, když „nehmotný“ paprsek, odražený od zrcátka galvanometru, „kreslí“ na štěrbině kazety s fotografickým papírem polarografickou křivku. Protože po válce byl nedostatek projekčních žárovek, muselo se s nimi šetřit. Proto bylo možno při zbytečném svícení slyšet od šetrného prof. Heyrovského: „Za koho to svítíte?“ V ústavu se nesmělo kouřit (jedinou výjimkou byl dlouholetý spolupracovník doc. Brdička, pozdější profesor a akademik). Přesto jeden silný kuřák podlehl své vášni a zapálil si, když tu prof. Heyrovský vešel neočekávaně do laboratoře. Pachatel bleskurychle dusil cigaretu v pracovním plášti, ne však úplně dokonale, takže ta začala v kapse doutnat. J. Heyrovský zavěšit kouř a už spařit jeho původ v doutnajícím plášti. Potutelně se usmál a vychutnával rozpaky neukázněného kuřáka, který rudý v obličejí utekl na chodbu. Našla by se jistě řada jiných příkladů humoru J. Heyrovského, který byl suchý tzv. anglický. Patří sem např. jeho výrok při výletu celého ústavu do okolí Prahy. Hrál proti sobě mužstva Fyzikální chemie (Brdičkovci) proti mužstvu nedávno založeného Polarografického ústavu ČSAV. Prof. Heyrovský, za mlada aktivní fotbalista, nastoupil za polarografisty v brance. Při jednom útoku „vystřelil“ kolega Vladimír Kačena ohleduplně míč a brankář J. Heyrovský jej minul. Tuto událost komentoval slovy pronesenými koutkem úst: „Až budete u rigorosa, tak vám tuto branku připomenou“. Lišácky úsměv na rtech měl J. Heyrovský při rozdávání otisků odborných článků, které mu autoři zasílali z celého světa. Často totiž byly články napsány v neobvyklém jazyce. Jinak znalost odborné angličtiny, němčiny, francouzštiny a ruštiny se samozřejmě předpokládala. Tak jsem dostal za úkol připravit na příští seminář krátký referát o práci v portugalštině. Šlo o polarografické stanovení stop těžkých kovů v portském víně. Se slovníkem v ruce jsem úkol při trochu píle úspěšně zvládl a nebyl jsem jazykem zaskočen. Byl jsem pochválen už proto, že se jednalo o tekutinu, která mu byla blízká, totiž víno. Měl rád kvalitní víno červené, podávané při recepcích na řadě kongresů a zasedání. Vždy byl ale velmi střídmý až asketický. Pivo a alkohol alespoň na veřejnosti nikdy nepil. Na dobrém jídle si pochutnával s viditelnou rozkoší. V této souvislosti si vzpomínám, jak uvedl: „Při vstupu do vinárny se podívejte, jak vypadá tamější kuchař. Je-li tlustý, tam se posaďte. Ten vaří především pro sebe a co zbude, dá hostům a to je vynikající“. Pokud jde o oblečení, byl

J. Heyrovský vždy pečlivě oblečen v saku a s kravatou. Když přicházel nebo odcházel do ústavu, nesl v ruce malý kufřík. Byly v něm otisky vědeckých prací (tzv. separáty) a láhev mléka. Bylo to na doporučení lékaře, podle kterého sloužilo mléko jako prostředek proti otravě rtuťí, se kterou pracoval prakticky celý život. Měl rád přírodu a v ní zvířata. Když podepsal vysvědčení, vyšli jsme do zahrady sídla Polarografického ústavu, který sousedil s Petřínem, a už se objevily veverky, pro které měl J. Heyrovský připraveny oříšky. Automobil nevlastnil, ani nemusel, protože jej měl se šoférem jako akademik k dispozici. Pro mne se tato skutečnost projevila při mé svatbě, kdy jsem od něj dostal jako svatební dar k dispozici šesttrojku spolu s řidičem Pepíkem Müllerem. Jedno doporučení dávané polo žertem, polo vážně, jsem nespínil, a to, že vědec se má ženit až v pětatřiceti letech. Bylo mi tehdy dvacet devět.

Ke svým spolupracovníkům, ke kterým počítal i studenty, byl J. Heyrovský přátelský, ale při tom velmi náročný. Kdo chtěl dělat vědu, musel se jí věnovat stoprocentně, bez ohledu na čas a pohodlí. Výsledky bylo třeba sepsat do formy publikace a odeslat do odborného časopisu. Váhání a další doplňování komentoval slovy: „Co se vleče, to uteče“. Malý objev uvítal slovy: „To je hrozinka, to se můžete jít projít“.

Své žáky prosazoval na významná místa jak v akademii, tak ve školství. V mém případě mne doporučil na místo vedoucího nově založené fyzikálně-chemické katedry do Bratislavy. Kdybychom byli dostali byt v Bratislavě, tak jsem tuto vzpomínku psal pravděpodobně ve slovenštině. Svým vlivem nám studentům umožnil finanční příspěvky z Literárního fondu např. pro Polarografický kongres v Cambridgi. Také na slavnostní večeři Chemické společnosti v hotelu Paříž, kde se sešla smetánka českých chemiků, nám mladým zajistil několik míst. Ve vědeckých domácích kruzích měl mnoho známých, ale od většiny si udržoval určitý odstup. Jediný, s kým si tykal, byl jeho žák a dlouholetý spolupracovník prof. R. Brdička. Pro mladé zahraniční návštěvníky si našel vždy čas, protože v nich viděl perspektivní špičáře polarografie.

Když dostal prof. J. Heyrovský Nobelovu cenu, byla to velká sláva. Uspořádal večeři pro širší okruh spolupracovníků s manželkami. Mně se dostalo té cti, že při obvyklé návštěvě na Malé Straně, jsem s posvátnou úctou mohl přímo v ruce „potězkat“ Nobelovu medaili.

Pátrám ve své paměti, zda se J. Heyrovský za mé přítomnosti někdy rozčílil a někoho vyplínil. Všichni v jeho okolí plnili jeho přání s takovým respektem, že k tomu nezavdávali příčinu. V případě prohřešku došlo nanejvýš k ironické poznámce a hříšník si dal příště pozor. Za příklad by mohla sloužit moje nešikovnost, když mi J. Heyrovský předal k vyvolání svůj film s oscilopolaro-

grafickými křivkami a já po vyndání vyvolaného filmu tank upustil na kamennou podlahu. Komentoval to slovy: „Tak mladý a už ani tank neudrží“. Náprava se musela stát koupí nového tanku z mého kapesného. S rozčileným J. Heyrovským jsem se setkal jen jednou. Stal jsem se r. 1962 zástupcem docenta a vedoucím Mezinárodního polarografického praktika INTERPOLARO. Jako obvykle jsem do Polarografického ústavu ČSAV na Malé Straně donesl desky s referáty a vysvědčeními k oznámkování a podpisu, načež jsem oznámil, že budu mít vlastní přednášku a povedu INTERPOLARO. Budu tedy tak zaneprázdněn, že nemohu sedět na Návodech k Praktiku a vykonávat v něm služby asistenta. Prof. Heyrovský povstal, zbledl a prohlásil mne vzrušeným hlasem zrádce jeho milované polarografie. Nedlouho potom, když jsem k němu přišel konzultovat program INTERPOLARO, který byl čtrnáctidenní a probíhal v němčině a ve kterém měl úvodní přednášku jako jeho ředitel, už byl jako milius a uznal, že jsem vyrostl z chlapeckých střívků.

Jak jsem si J. Heyrovského vážil, tak paní Marii Heyrovskou, která pracovala u něj jako sekretářka, jsem měl takřka v lásce. Ona to byla, která vytvářela bezpečný přístav pro manželovo zaujetí pro vědeckou práci. Její oddanost rozvíjení polarografie se promítla do každoročního sestavování seznamu polarografických prací, který vycházel v časopise Collection of Czechoslovak Chemical Communications. Jak jsem vypožaroval při předkládání výsledků z praktika, že ne vždy měl J. Heyrovský „růžovou“ náladu, a jak to bývá ve všech rodinách, nebyly názory obou manželů např. na formulace v nevědecké korespondenci úplně shodné. Skromné vystupování paní Marie skrývalo rozhodnost a bylo-li to třeba i neústupnost. Bez paní Marie by prof. Heyrovský nebyl postavou, která převyšovala všechny ostatní.

Prof. Heyrovský byl tmelem, který vytvářel tým úzce specializovaných pracovníků, jak od nás, tak z celého světa. Po jeho smrti ještě několik let přetrvával samostatný Polarografický ústav ČSAV, aby byl později sloučen s Ústavem fyzikální chemie ČSAV na Ústav fyzikální chemie a elektrochemie J. Heyrovského. Polarografie zůstala významným výzkumným směrem, ale došlo k útlumu nejen u nás, ale i v zahraničí. Nebyla zde osobnost, která by byla výrazně inspirovala její další rozvoj. Naštěstí došlo vedle pražského pracoviště ke vzniku několika mimopražských center, která jsou zárukou renezanace zájmu o polarografii. Tento zájem se projevuje používáním moderních elektrochemických metod odvozených od polarografie. Je naděje, že jiskřičky v popelu budou rozfoukány a vzplane nová slavná éra polarografie, tak jak by si to byl prof. J. Heyrovský jistě přál.

Vítěz Kalous

Noví členové ČSCH

Andronova Angelina, studující PřF UK Praha
 Brabec Viktor, Prof. RNDr. DrSc., Biofyzikální ústav
 AV ČR Brno
 Čerňanská Božena, RNDr., gymnázium Nad Štolou Praha
 Genčurová Václava, Ing., Výzkumný ústav pro chov skotu
 Víkřovice
 Hamlíš Dalibor, Ing., Veselí nad Moravou
 Havlíš Jan, Mgr. Ph.D., ÚJV Řež
 Havlová Václava, RNDr., ÚJV Řež
 Hušková Petra, studující VŠCHT Praha
 Holecová Miroslava, Ing., PřF UP Olomouc
 Jágr Michal, RNDr., Státní zdravotní ústav Praha
 Jalový Vlastimil, studující VŠCHT Praha

Kaleta Jiří, Bc., studující Masarykova univerzita Brno
 Novotný Jakub, Mgr., studující FaF UK Hradec Králové
 Novotný Tomáš, studující VŠCHT Praha
 Parkan Kamil, Ing., VŠCHT Praha
 Relich Stanislav, Mgr., VŠCHT Praha
 Smrček Jakub, studující PřF UK Praha
 Šigut Kryštof, studující VŠCHT Praha
 Vejsada Jan, Mgr. Ph.D., ÚJV Řež
 Veselý Martin, studující VŠCHT Praha
 Vojtěchová Hana, Ing., ÚJV Řež
 Zbořil Radek, RNDr. Ph.D., PřF UP Olomouc
 Zelenka Karel, studující PřF UK Praha
 Žemlová Tereza, studující VŠCHT Praha

Osobní zprávy

Mladý osmdesátník prof. RNDr. PhMr. Robert Kalvoda, DrSc.

Jsou vědní obory, které nestárnou a nepodléhají módním výstřelkům, ale tiše a nenápadně se rozvíjejí ku prospěchu vědy i celé společnosti. A jsou lidé, bez nichž by to nebylo možné, lidé, kteří bez ohledu na módní výstřelky, zůstávají věrní svému zaměření, kterému propadli celou svou duší. Mezi ně bezesporu patří prof. RNDr. PhMr. Robert Kalvoda, DrSc., který se 28. 3. 2006 zařadí mezi osmdesátníky. Není cílem tohoto článku připomínat jeho odborné zásluhy v oblasti elektroanalytické chemie ani jeho obdivuhodné lidské kvality, které byly výstižně shrnuty v článku k jeho sedmdesátinám (Chem. Listy 90, 196 (1996)). Spíše bych chtěl složit hold jeho životnímu elánu, neustálé úspěšné snaze o sledování nejmodernějších trendů v jeho oblíbené disciplíně i celkové radosti ze života. Tu mu nezkalil ani tiskařský šotek, který ho v čísle 10/2005 našeho časopisu připravil o bezesporu zaslouženou vědeckou hodnost DrSc. Doufám, že nám to odpustí se stejnou velkorysostí, s jakou nám kdysi odpouštěl všechny odborné (a nejen ty) prohřešky při naší začínající práci v oblasti elektroanalytické chemie. Já osobně mu nikdy nepřestanu být vděčný za to, že mě seznámil s kouzlem elektroanalytické chemie a s půvaby jeho milovaného dítky (adsorpční rozpouštěcí voltametrie), které se dodnes zdárně rozvíjí v početné řadě laboratoří po celém světě. Takže přeji za sebe i za mnoho spolupracovníků, žáků a obdivovatelů: Mnoho zdraví, spokojenosti a radosti z práce i ze života.

Jiří Barek

K 70. narozeninám prof. RNDr. Karla Waissera, DrSc.

Když jsem prof. Waissera (tehdy vlastně ještě „pouhého“ doktora) před 31 lety poznal, byl bych se každému, kdo by mi tvrdil, že jednou na něj budu psát chvaloreč do Chemických listů, z plna hrdla vysmál. Jako student 1. ročníku Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové jsem neměl ani moc času si všimnout toho, co mě právě netrápilo, a učitele, který mě neměl na semináře ani na praktika, jsem si příliš nevšiml. Věděl jsem, že tam nějaký takový člověk působí, věděl jsem, jak vypadá, ale protože tehdy nebyl mezi zkoušejícími, ani jsem se o něj příliš nezajímal.

Teprve později, když se „organika“ stala aktuálnější, jsme ho s kolegy zaznamenali. Přednášel kapitoly z obecné organické chemie, fyzikální metody (především spektrální) a občas zabrousil do přírodních látek. Žasli jsme, když jsme jej na přednášce poprvé uviděli. Tam se nenápadný, zamýšlený, poněkud rozčuchaný vědec změnil v nadšeného učitele, živě gestikulujícího při předvádění valenčních a deformačních vibrací. Velmi brzy založil na fakultě Kroužek přátel organické chemie, organizoval exkurze a objížděl chemické závody v celé republice. Tyto exkurze se brzy staly mezi studenty z nejrůznějších důvodů pojmem. Svým specifickým smyslem pro humor (byl vášnivým obdivovatelem pražských dvojic Suchý-Šlitr a Vodňanský-Skoumal) si velmi brzy získal studenty, ale především, získal je pro organickou chemii. Za jeho působení na fakultě (35 let) vychoval řadu vynikajících pracovníků – ať už těch, kteří nyní působí v oblasti farmacie, či se zabývají organickou chemií. Mnoho z nich získalo také významné společenské postavení. Je velmi zábavné dívat se na fotografie dokumentující kulturní činnost zmíněného Kroužku, na které budoucí prezident Lékařnické komory tancuje ve skupině 6 studentů představující jeden z atomů

benzenového jádra podléhajícího právě deformační vibraci. Ano, to byl doktor Waisser sedmdesátých let, a takový je, našťastí, i prof. Waisser současný.

Sice stále zahloubaný, ale také stále veselý a laskavý člověk, do kterého by stěží kdo řekl, že je člověkem těžce životem zkoušeným. Možná právě proto, že jej život často stavěl před nesnadná rozhodování, je také rozvázný, ale na druhé straně člověkem, který umí zaujmout stanovisko a trvat na něm.

Prof. Waisser je člověkem s obrovským duševním potenciálem. Jeho seznam publikací v SCI obsahoval v době, kdy píšu tuto zdravotnici, 94 záznamů, ale vím (a je mi to pravidelně hlášeno) že řada dalších je již v redakcích různých časopisů. Publikace v tzv. neimpaktovaných časopisech lze již těžko spočítat, ale rozhodně zde „stovku“ přesáhl.

Neustále se aktivně účastní výuky – na katedře prakticky sám zabezpečuje výuku organické chemie v programu Zdravotnická bioanalytika. Od přednášení, přes praktická cvičení a semináře až po zkoušení. Nedávno si postěžoval, že ho jeden chemický časopis urazil, když jej nazval „důchodcem“. Jeho mladická reakce by autora těch slov jistě přesvědčila, že do lenošky a papučí prof. Waissera ještě nelze odložit.

A byl by to neskonale hřích. Jeho zkušenosti především v oblasti hledání nových antituberkuloticky účinných struktur jsou těžko nahraditelné. Doposud si o této problematice zachovává přehled, který mu mohou závidět mnozí, mnohem mladší kolegové.

Co říci závěrem? Přejeme prof. Waisserovi do dalších let mnoho zdraví a pohody. Přejeme mu šikovné a pracovitě diplomanty, chytré doktorandy a klidné prostředí k práci. Přesto, že výuka pro něj znamenala vždy hodně, určitě se těší, že se tohoto břemene zbaví a bude se moci věnovat pouze svému bádání.

Karle, mnoho šťastných myšlenek a ještě více zdraví, dobré nálady a spokojenosti!

Alexandr Hrabálek

Osmdesátiny prof. Ing. Jiřího Zajíce, DrSc.

Životní jubilea jsou příležitostí, kdy si můžeme jednak připomenout životní kariéru jubilanta a jednak si zavzpomínat na to pěkné, co jsme s jubilantem během našeho života zažili. V těchto dnech se přiblížila příležitost poblahopřát k osmdesátým narozeninám prof. Ing. Jiřímu Zajíci, DrSc., dlouholetému pracovníkovi bývalé Katedry technologie mléka a tuků (dnes Ústavu technologie mléka a tuků), Fakulty potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT Praha. Měl jsem možnost s prof. Zajícem spolupracovat déle jak třicet let. Je pochopitelné, že během tohoto dlouhého období jsme spolu prožili nejen radost z naší vědecké práce, ale i mnohé zážitky při řízení fakulty i příjemné chvíle společenského charakteru.

Mohl bych tedy začít své laudatio často velmi obvyklým sloganem, „nechce se ani věřit“, že 23. března oslaví prof. Zajíc svoje osmdesáté narozeniny. Nehodlám tak

začít, i když v našem případě by to bylo celkem výstižné. Naopak chce se věřit a věřit se musí, neboť křestní list se obvykle nemýlí. To však na dané skutečnosti nic nemění, neboť jak jsem byl i já mnohdy utěšován, každá životní etapa má na sobě něco pěkného. Jde jen o to, včas to pěkné rozpoznat a náležitě vychutnávat. Osobně si myslím, že Jiří to umí a to samo o sobě svědčí o jeho lidských rozměrech.

Pochází z Vysočiny, kde se 23. 3. 1926 narodil v Horní Cerkvi v okrese Pelhřimov. Jeho gymnasijské studium bylo válkou přerušeno. V době tohoto přerušení se stačil vyučit truhlářem. Po válce dokončil středoškolská studia a nastoupil na VŠCHT kterou v roce 1951 dokončil. Poté po krátkou dobu pracoval v Pražských mlékárnách a ve Výzkumném ústavu tukového průmyslu. Rok po založení tehdejší Fakulty potravinářského průmyslu VŠCHT přešel na Katedru technologie mléka a tuků nejprve jako asistent a odborný asistent. Kandidátskou dizertační práci na téma „Některé příčiny ztrát glycerinu při rafinaci“ obhájil v roce 1961. Docentem byl jmenován na základě úspěšné obhajoby habilitační práce „Studium moderních a výhledových metod odkyselování olejů“ v roce 1964. Doktorskou dizertační práci „Hydrogenace rostlinných olejů a mastných kyselin“ obhájil v roce 1981 a téhož roku byl jmenován i profesorem a vedoucím Katedry technologie mléka a tuků. V letech 1973–85 byl proděkanem pro vědu a výzkum. V roce 1991 odchází do důchodu. To však pro něho neznamena ukončení aktivní činnosti. Během celé doby působení na fakultě měl prof. Zajíc intenzivní styky s tukovým průmyslem. Po ukončení činnosti na fakultě pokračuje ve spolupráci s průmyslem jmenovitě s Unilever ČR PTZ-Nelahozeves.

Za dobu svého pedagogického působení na fakultě vychoval celou řadu absolventů, kteří se velmi dobře uplatnili v tukovém průmyslu a příbuzných odvětvích. Na katedře úspěšně zaváděl moderní koncepci inženýrské výuky, a to jak modernizací příslušných přednášek, tak i praktických laboratorních cvičení. Se svými spolupracovníky připravil kolem deseti učebních textů. Měl přátelský vztah nejen k svým spolupracovníkům, ale i studentům. Velkou pozornost věnoval mladým pracovníkům katedry, které úspěšně uváděl do kontaktů s průmyslem nejen doma, ale i v zahraničí.

Ve vědecké práci soustředil svoji pozornost na aktuální problémy tukového průmyslu, jmenovitě na otázky související s hydrogenací tuků, na syntézy a vlastnosti mastných kyselin se sacharosou a na problematiku využití polymerních látek v oblasti stabilizace parfémů. Je autorem a spoluautorem více jak 100 původních prací, přes 30 autorských osvědčení, několika patentů v zahraničí a více jak 140 referátů přednesených na domácích i zahraničních akcích. V rámci Odborné skupiny pro tuky, detergenty a kosmetickou chemii a Odborné skupiny pro potravinářskou a agrikulturní chemii České společnosti chemické byl a stále ještě je organizátorem a aktivním účastníkem řady konferencí a seminářů, a to nejen v odborné části, ale uplatňoval se a doposud se uplatňuje i jako výborný společník.

Ptám se, osmdesátiny – je to hodně nebo málo? Odpovídám, jak pro koho. Znáám i mladé staříky, právě tak jako starší mladíky. Prof. Zajíc zcela jednoznačně patří k té druhé skupině. Je obdivuhodné s jakou vitalitou oslaveneček překonává i nástrahy přibývajících let. Do dalších let mu přejí především pevné zdraví, stále tu optimistickou náladu, další úspěchy ve spolupráci s průmyslem, osobní spokojenost a k tomu také trochu toho lidského štěstíčka.

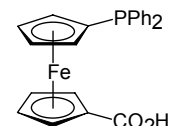
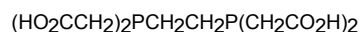
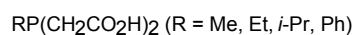
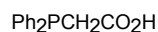
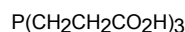
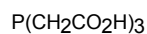
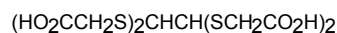
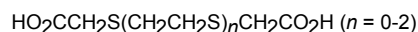
Jiří Davídek,
předseda Odborné skupiny pro potravinářskou
a agrikulturní chemii, ČSCh

Prof. RNDr. Jaroslav Podlaha, CSc., oslaví své sedmdesátiny

Přestože čas měří všem stejně, je jen těžko uvěřit, že výrazná a vitální osobnost české chemie, Jaroslav Podlaha, emeritní profesor Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, oslaví zanedlouho sedmdesáté narozeniny.

Prof. RNDr. Jaroslav Podlaha, CSc. se narodil 15. března 1936 v Jihlavě. V roce 1959 absolvoval v oboru anorganická chemie Matematicko-fyzikální fakultu Univerzity Karlovy, kde v následujících letech pokračoval ve studiu jako vědecký aspirant (později již na nově ustavené katedře anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy). V dubnu 1963 mu byla udělena hodnost CSc. V období let 1962–1970 byl profesor Podlaha zaměstnán jako odborný asistent na katedře anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy. Normalizační dění v letech následujících, které postihlo mnoho akademických pracovníků, si vybralo i v jeho případě krutou daň. Byl sice jen „odklizen“ na katedru organické chemie téže instituce (jako technický asistent), ale bylo mu zakázáno jakkoli pedagogicky působit, cestovat (a to i do tehdy spřátelených zemí včetně bývalého SSSR) a zásadně omezeno právo publikovat výsledky své badatelské práce. Až změny nastalé po listopadu 1989 přinesly profesorovi Podlahovi plnou, byť opožděnou rehabilitaci. Záhy mu byl umožněn návrat na původní pracoviště, na katedru anorganické chemie. V roce 1990 byl jmenován docentem a o dva roky později profesorem pro obor anorganická chemie. Přestože v roce 1999 ukončil své působení na fakultě odchodem do penze, kontakt se svou *alma mater* neztratil naráz; v několika následujících letech se podílel na práci komisí pro doktorská i habilitační řízení. V roce 2000 byl jmenován emeritním profesorem Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy.

V počátcích své vědecké práce se profesor Podlaha věnoval fosforitanovým komplexům přechodných kovů. Odtud jej badatelský zájem zavedl ke studiu vlastností komplexonů a později k přípravě a studiu koordinačního chování jejich sírných a fosforových analog (příklady sloučenin studovaných pod jeho vedením jsou uvedeny v následujícím schématu).



Léta strávená mezi organickými chemiky navíc rezultovala v četnou spolupráci při získávání a především v následné interpretaci rentgenostrukturních dat organických molekul a později i samouspořádaných krystalických materiálů. Profesor Podlaha publikoval přes 125 původních prací v odborných časopisech. Četné další příspěvky, které jasně vznikly s jeho vůdčí účastí, jeho jméno nést nesměly.

Mimořádné (přestože omezené) bylo i pedagogické působení profesora Podlahy. Byl školitelem celé řady diplomantů i doktorandů (v určitém období samozřejmě neoficiálním, nýbrž utajeně výkonným). Díky svým pracovním zkušenostem příliš neuznával formální hranice mezi chemickými obory a tak přispíval k prosazování nových technik a oborů (příklady jsou organická rentgenostrukturní analýza a organoprková chemie). Účastníci jeho přednášek většinou vzpomínají na lektorský um, díky jemuž s porozuměním vždy uváděl téma v celé šíři a přitom současně zdůrazňoval důležité aspekty a souvislosti. Jeho rozsáhlé znalosti a obecný přehled jej přirozeně učinily vyhledávaným arbitrem při řešení všemožných badatelských potíží na jeho mateřské katedře.

Odchod z fakulty do azylu na Rokycansku rozhodně neznamenal útlum v životě profesora Podlahy. Stále se zajímá o rozvoj svého oboru. Zůstává mu však přitom čas věnovat se dříve poněkud opomíjeným aktivitám, především hudbě, mykologii (většinou aplikované), sportu apod. Přejí profesorovi Podlahovi jménem svým i jménem jeho četných bývalých spolupracovníků pevné zdraví, duševní svěžest a radostnou pohodu.

Petr Štěpnička

Osmdesátka profesora Petra Zumana

Přes dvacet let jsme my, mladší, znali profesora Petra Zumana jen jako klasiku, legendu, pojem z literatury, tedy něco jako nadpřirozenou bytost. O to víc jsme rádi, že posledních 15 let můžeme vidět, že to je bytost vpravdě přirozená a lidská a že můžeme slyšet jeho hlas zvučnější než basketbalová rozhodcovská píšťalka pravidelně i v našem – vlastně i jeho – Heyrovského ústavu. (O jeho hlasu kolují mnohé historky, já sám jsem jednou zažil, že pořadatel dal Petrovi mikrofon – jako každému přednášejícímu – a pak během přednášky se zajímal o to, zda nelze funkci zvukové aparatury nařídít „do záporných hodnot“, tedy aby mikrofon místo zesilování zvuku jeho hlas tlumil).

Svoji vědeckou dráhu začal v roce 1948 na Karlově univerzitě jako asistent profesorů Heyrovského a Brdičky. Od roku 1950 do roku 1966 pracoval v nově vzniklém Polarografickém ústavu a vedl skupinu Organické polarografie. Přitom externě přednášel na Karlově univerzitě a v Pardubicích. V roce 1966 odjel na stáž do Birminghamu a pak od r. 1970 přijal nabídku profesora Lou Meitese a přesídlil do Potsdamu, malého univerzitního městečka na severu státu New York blízko hranic s Kanadou, aby tam trvale působil na Clarksonově univerzitě dodnes. Jakožto přímý žák profesora Heyrovského je jedním ze zakladatelů organické elektrochemie u nás i ve světě. O tom svědčí nejen 415 publikací (zatím), ale i 13 knih a zejména dvě neskutečně obsáhlá kompendia elektrochemických vlastností organických (6 dílů) a anorganických (8 dílů) látek. Je těžké vyjmenovat všechny jeho další vědecké aktivity (redaktorské, editorské, pedagogické) a jeho ocenění. Nicméně i když už devět let je v penzi (se statutem Distinguished Emeritus Research Professor), stále na univerzitě vede studenty (v současnosti má dva doktorandy a dva diplomanty), přednáší a spolupracuje s dalšími elektrochemiky ve světě. Vážíme si toho, že se do našeho ústavu minimálně dvakrát ročně na několik týdnů vrací a že s ním můžeme spolupracovat v rámci česko-amerických grantů.

Kromě jeho neuvěřitelné pracovitosti a vnitřní ukázněnosti je pro něho typická láska ke sportu, k divadlu a k hudbě. Sportu si v USA užije dost, na dobrou hudbu se také dostane, ale kdykoli přijede do Prahy, hned první den prostuduje brožurku s kulturním přehledem a prakticky na každý večer si zajistí nějaké divadlo, protože, jak říká, nejvíc mu chybí mluvené kultivované slovo. Právě ty velké odborné zkušenosti, životní moudrost opřená o duchovní hodnoty a sportovní – „Ymkařský“ duch z něj dělají dobrého rádce, kolegu i kamaráda.

V letošním roce byl za svůj celoživotní přínos české chemii (který však ještě zdaleka není u konce) Českou chemickou společností oceněn čestným členstvím. Srdečně gratulujeme a do dalších let přejeme ještě hodně transoceanických přeletů, hodně divadelních a hudebních zážitků, hodně odpoledních debat u čaje s přáteli a kolegy a hlavně hodně příjemných chvil v rodinném kruhu.

Jiří Ludvík a přátelé z ÚFCH JH

Jubileum Dr. Ing. Jana Trojánka, DrSc.

Čas neúprosně ukrájí každému z toho, co mu bylo dáno do vínku od jeho narození. Krásné jubileum oslaví v březnu dlouholetý člen České společnosti chemické Jan Trojánka (1926). Rodák z Březnice, který maturoval v roce 1945 v Příbrami, vystudoval Vysokou školu technologicko-chemického inženýrství, Praha, specializaci organická technologie v roce 1949. V následujících třech letech absolvoval vědeckou výchovu a v roce 1952 obhájil titul Dr. technických věd. Po čtyřletém působení jako odborný asistent profesora Lukeše na katedře organické chemie své *alma mater* odešel pracovat jako vedoucí vědecký pracovník do Výzkumného ústavu přírodních léčiv, který se později stal sou-

částí Výzkumného ústavu pro farmacii a biochemii v Praze. Roční studijní pobyt v USA na Univerzitě v Pittsburghu, Ústavu farmakognosie vedeném profesorem N. R. Farnsworthem v roce 1964, kam byl později pozván jako „visiting“ profesor (1969–1970), znamenal nejen pro jubilanta kontakt se špičkovým vědeckým pracovištěm v oblasti výzkumu léčivých rostlin, ale i vedl k řadě originálních výsledků, které se staly součástí učebnic o chemii a biologické aktivitě alkaloidů, sekundárních metabolitů obsahujících ve své molekule dusík. Úspěšná obhajoba doktorátu chemických věd na Československé akademii věd v roce 1984 na téma „Alkaloidy rodu *Vinca*“ byla uznáním práce Jana Trojánka. Do důchodu odešel v roce 1992, v době, kdy VÚFB postupně ztrácel své postavení ve výzkumu farmakologicky zajímavých látek a profesně se věnoval své dlouholeté zálibě v oddělení historie chemie v Národním muzeu v Praze. Poprvé jsem se osobně setkal s Dr. Trojánkem během své aspirantury na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy na začátku sedmdesátých let a na Ústavu lékařské chemie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Jeho přednášky na konferencích organické chemie v Liblicích byly spolu s diskusními vystoupeními Otakara Červinky, Vlastimila Herouta a dalších, vynikající školou pro tříbení nových myšlenek v době, kdy možnost pracovat na zahraničních pracovištích byla prakticky nulová. Jan Trojánka byl mým oponentem u téměř všech disertačních prací, které jsem v průběhu let obhajoval. Později jsem jej žádal, aby se ujal role oponenta těch mých doktorandů, jejichž disertace byly z výzkumu struktur a biologické aktivity alkaloidů. Naše spolupráce prakticky pokračuje až do dnešních dnů. Dr. Trojánka vždy byl náročný v upozorňování na chyby v experimentální práci a hodnocení výsledků, ale také lidsky vnímavý, ochotný poradit či pomoci z nepřeberné database svých poznatků a zkušeností. Byl činným členem České společnosti chemické, do které vstoupil již jako student v roce 1948. Po několika volebních obdobích pracoval ve výboru pražské pobočky, později jako předseda odborné skupiny historie chemie a dalších. Jeho práce byla oceněna jak nejvyšším vědeckým vyznamenáním ČSCH Hanušovou medailí, tak udělením čestného členství. Slovenští kolegové rovněž ocenili jeho příspěvek k výzkumu alkaloidů a to jak medailí Slovenské chemické společnosti a medailemi Farmaceutické fakulty Univerzity Komenského v Bratislavě.

Každý z nás si přeje, aby po jeho snažení zůstala určitá stopa. Janu Trojánkovi se to povedlo jak v oboru, ve kterém pracoval, zejména v strukturální charakterizaci indolových alkaloidů, v syntéze morfinanových, isochinolinových a ergotových alkaloidů, ale také v chemii steroidů a kvartérních amoniových solí a zásad. Stejně jako ve vědě zanechal jubilant i trvalou stopu v myslí řady dnes významných českých vědců z oboru přírodních látek. Z mnohých bych chtěl připomenout alespoň profesora Václava Suchého. Pro mne je vždy radostí se s jubilantem alespoň jednou do roka sejít při sklence dobrého vína, popovídat si, ale i trochu zavzpomínat na léta, kdy nám oběma bylo o mnoho let méně a ukončit přáním, aby společně strávené chvíle měly ještě řadu pokračování.

Vilím Šimánek

I já si dovoluji připojit své vzpomínky na jubilanta **Dr. Ing. Jana Trojánka, DrSc.** K nám, o něco mladším, kteří jsme k němu vzhlíželi, se vždy choval kamarádsky a vstřícně. Zajímal se o naše výsledky, polemizoval s námi, radil, ale i vtipkoval. Jeho zaujetí nás inspirovalo. Také jsem měla tu čest, že mi dělal oponenta kandidátské

práce. Jeho několik stran poznámek s nadpisem Milá paní Woodwardová mám dosud schované. Setkávali jsme se dále i na konferencích a vždy jsme měli co říci. Pane Jane Trojánku, přeji Vám mnoho dalších let ve zdraví a spokojenosti jménem brněnských alkaloidářů.

Eva Táborská

Výročí a jubilea

Jubilanti ve 2. čtvrtletí 2006

85 let

Ing. Jaroslav Tesař, (7.5.), Praha

80 let

Ing. Milan Zaoral, DrSc., (5.5.), ÚOCHB AV ČR Praha
Ing. Lubomír Lochman, DrSc., (22.5.), ÚMCH AV ČR Praha

Doc. Ing. Jiří Hodek, CSc., (25.5.), VŠCHT Praha

Ing. Ivo Hlaváček, CSc., (5.6.), Západočeské Pivovary Plzeň

Prof. RNDr. Lubor Jenšovský, CSc., (15.6.), PřF UK Praha

Ing. Antonín Kašpar, (21.6.), ÚKZUS Brno

Ing. Josef Kavina, (21.6.), Potravinářský obchod Brno

75 let

Ing. Josef Barvíř, (13.4.), SIJPPP Praha

Doc. Ing. Vratislav Rábl, CSc., (2.5.), VŠCHT Praha

RNDr. Miloš Havránek, CSc., (12.5.), Izotopová laboratoř AV ČR Praha

Ing. Miloslav Srb, (24.5.), SVÚOM Praha

70 let

Prof. Ing. Ivo Ingr, DrSc., (19.2.), Mendelova zemědělská a lesnická univerzita Brno

Prof. Ing. Josef P. Novák, CSc. (7.3.), VŠCHT Praha

Doc. Ing. Zdeněk Trojan, CSc., (1.5.), Magistrát Hlavního města Prahy

Doc. Ing. Ladislav Forman, CSc., (21.5.), VŠCHT Praha

Ing. Milan Beneš, CSc., (19.6.), ÚMCH AV ČR Praha

Ing. Bohumil Masař, CSc., (20.6.), ÚMCH AV ČR Praha

Prof. Ing. Josef Tichý, DrSc., (25.6.), Univerzita Pardubice

65 let

Ing. Pavel Sedláček, CSc., (5.4.), OÚ ref. životního prostředí Tábor

Mgr. Karel Pecháček, (8.4.), Gymnázium Prachatic

RNDr. Ladislav Kohout, DrSc., (22.4.), ÚOCHB AV ČR Praha

Prof. Ing. Ondřej Wein, DrSc., (26.4.), ÚCHP AV ČR Praha

Ing. Ivan Koruna, CSc., (17.5.), ASLAB VÚ vodohospo-

dářský TGM Praha

Prof. Ing. Karel Volka, CSc., (28.6.), VŠCHT Praha

60 let

Ing. Jan Tůma, CSc., (10.4.), Praha

Prof. Ing. Jan Velíšek, DrSc., (11.4.), VŠCHT Praha

Mgr. Jitka Applová, (20.4.), SPŠCH Teplice

Doc. Ing. Pavel Chuchvalec, CSc., (2.5.), VŠCHT Praha

Ing. Pavel Průcha, (4.5.), Západočeské pivovary Plzeň

Ing. Marie Holasová, (10.5.), VÚPP Praha

Doc. RNDr. Robert Ponec, DrSc., (12.5.), ÚCHP AV ČR Praha

Ing. Jana Chuchvalcová, (16.5.), Krajská hygienická stanice Praha

Ing. Miroslav Beneš, (19.5.), Plzeň

Doc. Ing. Jiří Karhan, CSc., (21.5.), ČNB Praha

Doc. RNDr. Jaroslav Vičar, CSc., (24.5.), Lékařská fakulta Univerzita Palackého Olomouc

Doc. Ing. Zdeněk Palatý, CSc., (26.5.), Univerzita Pardubice

RNDr. Pavel Kaláb, (26.5.), Zdravotní ústav se sídlem v Brně

Prof. RNDr. Jiří Vohlídal, CSc., (1.6.), PřF Univerzita Karlova Praha

Ing. Petr Vaňura, CSc., (1.6.), VŠCHT Praha

Ing. Petr Janák, CSc., (3.6.), VÚ zušlechťovací Dvůr Králové nad Labem

Doc. RNDr. Jan Staněk, CSc., (13.6.), VŠCHT Praha

RNDr. Zdeněk Točík, CSc., (22.6.), ÚOCHB AV ČR Praha

Blahopřejeme

Zemřelí členové Společnosti

Dr. Ing. Emilie Kamišová, v důchodu, Jindřichův Hradec, dříve Spolchemie Ústí nad Labem, zemřela 14.8.2005 ve věku nedožitých 86 let.

Dr. Ing. Dobroslav Šnobl, v důchodu, Jindřichův Hradec, dříve VÚOS Pardubice, zemřel 26.10.2005 ve věku nedožitých 83 let.

Čest jejich památce



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 EC,
- 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.

The **Institute of Organic Chemistry and Biochemistry**, Academy of Sciences of the Czech Republic, Flemingovo n. 2, 166 10 Prague 6, Czech Republic, is conducting a search for new positions for:

Research Team Leaders
Junior Research Team Leaders

in the fields of:

Medicinal Chemistry
Biochemistry & Molecular Biology
Organic Chemistry
Natural Product Chemistry
Computational Chemistry

Successful applicants for the Research Team Leader position are expected to have several years of postdoctoral experience and/or currently lead their own research team, publish in major international journals in their respective scientific fields, and be able to document proven ability to raise research funding.

Junior Research Team Leaders are expected to have completed highly successful postdoctoral training that resulted in a significant publication record.

The successful applicants for the Research Team Leaders will be offered 5-year positions with a possibility of renewal. The Junior Research Team Leaders will be offered 3-year appointments with a possibility of prolongation to 5 years. All positions will offer competitive salary, and start-up packages involving laboratory space and budget for investment, consumables, and personnel.

The applicants are encouraged to submit application files no later than on

March 15, 2006

to the Director of the IOCB, preferably via an e-mail addressed to director@uochb.cas.cz.

An application file should contain the following items:

(1) A short Curriculum Vitae, (2) A list of publications for the last 10 years, (3) A list of 3-5 key publications reflecting the profile of applicant's own research (not necessary when applying for the position of a Junior Research Team Leader), (4) A short research proposal (2-3 pages) indicating the applicant's plans for the next 3 years, (5) The names of three distinguished scientists who would be willing to write letters of reference for the applicants.

The Director, in cooperation with the Selection Committee (convened under the auspices of the International Advisory Board of the Institute), will inform the applicants about the results of the competition in late spring 2006. Short-listed candidates will be asked to present a lecture at the Institute on their latest research achievements. The contracts for successful applicants will commence in January 2007 or later, based on the results of negotiations with the Director.

OBSAH

ÚVODNÍK	1
REFERÁTY	
Nanomedicína – současný stav a perspektivy: velký potenciál, nebo jen módní slogan?	4
V. Král, J. Šotola, P. Neuwirth, Z. Kejík, K. Záruba a P. Martásek	
Cílené polymerní nosiče léčiv v terapii nádorových onemocnění	10
M. Hrubý, J. Kučka, J. Kozempel a O. Lebeda	
Role proteinu CD36 jako významného rizikového faktoru kardiovaskulárních onemocnění	17
K. Kontrová, J. Zídková, P. Palečková a J. Sajdok	
Testování stability léčivých přípravků	24
D. Vetchý, K. Frýbortová, M. Rabišková a A. Häring	
Kvartérní isochinolinové alkaloidy sanguinarin a chelerythrin. Účinky <i>in vitro</i> a <i>in vivo</i>	30
A. Zdařilová, J. Malíková, Z. Dvořák, J. Ulrichová a V. Šimánek	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Rozdělení sloučenin v binárních směsích mezi jejich vodnou plynnou fází	42
J. Reitmajer, L. Feltl, Z. Roth a M. Tichý	
NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE	48
DISKUSE	49
CHEMICKÝ PRŮMYSL	52

CONTENTS

EDITORIAL	1
REVIEW ARTICLES	
Nanomedicine – Current Status and Perspectives: A Big Potential or Just a Catchword?	4
V. Král, J. Šotola, P. Neuwirth, Z. Kejík, K. Záruba, and P. Martásek	
Targeted Polymeric Drug Carriers in the Therapy of Tumor Diseases	10
M. Hrubý, J. Kučka, J. Kozempel, and O. Lebeda	
Role of Protein CD36 as a Significant Risk Factor of Cardiovascular Diseases	17
K. Kontrová, J. Zídková, P. Palečková, and J. Sajdok	
Stability Testing of Medicinal Preparations	24
D. Vetchý, K. Frýbortová, M. Rabišková, and A. Häring	
Quaternary Isoquinoline Alkaloids Sanguinarine and Chelerythrine. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> Effects	30
A. Zdařilová, J. Malíková, Z. Dvořák, J. Ulrichová, and V. Šimánek	
LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
Distribution of Components of Binary Mixtures between Aqueous and Gaseous Phases	42
J. Reitmajer, L. Feltl, Z. Roth, and M. Tichý	
NOMENCLATURE AND TERMINOLOGY	48
DISCUSSION	49
CHEMICAL INDUSTRY	52

BULLETIN ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

Od Brdičkovy polarografické filtrátové reakce k alfa-1 kyselému glykoproteinu (orosomukoidu)	57
Chemikálie značené stabilními isotopy dodávané firmou ISOTEC	60
Ze života chemických společností	61
Evropský koutek	63
Odborná setkání	63
Chemik na cestách	67
Bulletin představuje	69
Výuka chemie	70
Aprílový klub	75
Členská oznámení a služby	76
Střípky a klípky o světových chemících	77
Noví členové ČSCH	80
Osobní zprávy	80
Výročí a jubilea	84

BULLETIN OF THE CZECH CHEMICAL SOCIETIES

From the Brdička polarographic filtrate reaction to α -1 acid glycoprotein (orosomucoïd)	57
Chemicals labelled with stable isotopes supplied by ISOTEC	60
From the Chemical Societies	61
European Column	63
Meetings and Conferences	63
Chemist on a Business Trip	67
Bulletin Presents	69
Education in Chemistry	70
Club of Jokes	75
Member Services and Announcements	76
Biographical Sketches of World Chemists	77
New Members	80
Personal News	80
Anniversaries and Jubilees	84

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 100 (2006), čís./no. 1 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 130, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 116 • 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 v Praze, 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 • REDAKTORI/ 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 REDAKTORI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), V. Větvicka (USA), L. Opletal (Hradec Králové) • 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. Růžicka, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ 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 PŘEDPLATNĚM, 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, simanek@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://chemicke-listy.vscht.cz> • TISK: Česká Tiskárny, s.r.o., Ráby 14, 533 52 Staré Hradiště; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2004 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 147 Kč, roční plné předplatné 2006 (12 čísel) 1512 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 756 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 80 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 60 EUR (doručování via SCHS), 225 EUR (individuální doručování) • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2006 (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 • Dáno do tisku 6.1.2006.