

Farmaceutická chemie a rodinné stříbro

Výroba léčiv patří mezi ta odvětví chemie, která znamenávají kontinuální růst po celém světě, v Evropě je to přibližně o 7 % ročně. V České republice je trh ovlivňován lokálně regulačními opatřeními a po výrazném propadu v roce 2006 (finančně o 0,5 %), došlo za rok 2007 opět k jeho částečnému oživení. V souvislosti s vývojovými trendy ve farmaceutickém průmyslu se lze často setkat spíše s obsáhlou diskuzí faktorů, které tyto prognózy ovlivňují negativně. Jsou to zejména:

- vysoká úroveň regulace a byrokracie a spolu s tím spojené vyšší náklady na zavedení léčiv v Evropě obecně,
- tlaky na snižování cen léků, limitace úhrad např. formou sdružování léků do skupin,
- rostoucí globální konkurence, zejména z oblasti Asie,
- růst mzdových nákladů,
- růst nákladů spojených přísnější legislativou směřující k ochraně životního prostředí.

Kdybychom vnímali pouze tyto faktory, museli bychom propadnout pesimismu, a to nejen farmaceuti, ale vlastně všichni chemici. Svýjimkou regulace segmentu farmaceutických výrob se totiž výše zmíněné faktory týkají víceméně všech oblastí chemického průmyslu a jsou důsledkem neustále rostoucího celosvětového obchodu.

Pesimismus však není rozhodně na místě. Farmaceutická chemie patří v České republice k rodinnému stříbru a nejen proto, že je dnes zastoupena přibližně třemi stovkami větších či menších firem. Je sice pravda, že řada společností prošla v minulých letech integrací a sdružila se v nadnárodních skupinách, nicméně valnou většinu pracovníků stále tvoří Češi a nelze předpokládat ani do budoucna, že by tomu bylo jinak. Bylo by velkou chybou nezmínit současnou i potenciální vývojovou základnu v akademické sféře, reprezentovanou některými ústavy Akademie věd České republiky a samozřejmě je třeba zmínit i četné vysoké školy působící v chemii, medicíně a farmacii.

A nyní je třeba hledat ta pozitivní čísla. Farmaceutický průmysl představuje odvětví s vysokou přidanou hodnotou a plyne do něj 18 % všech investic vložených do oblasti vývoje a výzkumu. V roce 2005 zaměstnával v Evropě 615 000 převážně vysoce kvalifikovaných pracovníků z toho 103 000 v oblasti výzkumu a vývoje (Medical Tribune 2006). Společná studie Deloitte Touche Tohmatsu a Economist Intelligence Unit, vydaná pod názvem Budoucnost průmyslu zdravotní péče: strategie úspěchu v roce 2015 (The Future of the Life Sciences Industries: Strategies of Success in 2015) ukázala, že na cestě k úspěchu firmy pro příští desetiletí bylo jako nejdůležitější zdůrazněno masivní posílení výzkumu a vývoje (74 % dotázaných manažerů) a na místě třetím byla zmíněna spolupráce s talentovanými odborníky (41 %). Zdá se, že v souladu s tím je formulován např. i operační program Výzkum



a vývoj pro inovace, který je čtvrtým největším českým operačním programem: z fondů EU je pro něj vyčleněno 2,07 mld. € (cca 58,39 mld. Kč), což činí přibližně 7,76 % veškerých prostředků určených z fondů EU pro Českou republiku. Potřeba inovací ve farmaceutické výrobě pak souvisí zejména s potřebou větší specializace léků, individualizací a potřebou vývoje léčiv i mimo hlavní indikační skupiny. V neposlední řadě, pokud nebudou inovační aktivity zvýšeny, bude i nadále Evropa zaostávat za USA, Japonskem a výhledově by mohla soupeřit např. i s Čínou.

Výše uvedená čísla představují určitou výzvu či příležitost pro aktivaci českého rodinného stříbra v oblasti chemie s farmaceutickou aplikací. Na jedné straně se týkají firemní sféry a na straně druhé by však měla být podnětem k zamyšlení i ve sféře akademické. Stávající grantový systém podpory vědeckých projektů totiž zatím s pojmy aplikace a inovace příliš nepracoval a v dosavadním systému hodnocení vědeckých výsledků dominuje poněkud arteficiální hodnocení pomocí človekoimpaktfaktorů. Dvojnásobně náhled na hodnocení eventuálně téhož poznatku, jednak z hlediska aplikovatelnosti a zvýšení firemního know-how a jednak z hlediska nezbytnosti publikace tohoto poznatku s cílem dosažení co nejvyššího IF tak zatím působí zdánlivě protikladně a tento protiklad je tak určitou výzvou ke společné diskuzi s cílem dosažení lepší synergie i vzájemného respektování.

Jak ukazují prognózy vývoje evropského chemického průmyslu, určitým znepokojivým faktorem může být klesající zájem mladých lidí studovat chemii. Již v současné době se projevuje nedostatek odborníků v některých specializacích a i to, že struktura vzdělávání na vysokých školách neodpovídá nárokům kladeným na výzkumné a vývojové pracovníky firem a prakticky nepostihuje některé důležité oblasti, např. legislativní aspekty jednotlivých trhů, oblast registrace léčiv, zásady správné výrobní praxe a znalosti patentové právní. Nicméně i zde lze nalézt pozitivní trendy a je možno zmínit např. nový studijní program Syntéza a výroba léčiv na VŠCHT Praha i pozoruhodný zájem, který tento obor vyvolal. Můžeme tak doufat, že české rodinné stříbro v oblasti farmaceutické chemie zůstane zachováno a obtojí v měnicích se podmínkách celosvětového trhu.

Alexandr Jegorov
Výzkum a vývoj, IVAX Pharmaceuticals s.r.o., Teva Group

Redakce časopisu

Chemické listy

uděluje

**CENU
Karla PREISE
za rok 2007**



**Ivaně Černé^a, Petru Klusoňovi^a, Martinu Drobkovi^a,
Tomáši Cajthamlovi^b a Lukáši Bartkovi^c**

^a *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze*, ^b *Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha*,
^c *School of Chemistry, University of St Andrews, North Haugh, UK*

za práci

**Iontové kapaliny – úvahy o jejich využití v homogenní
asymetrické katalýze**

Chem. Listy 101, 994 (2007)

SRDEČNĚ BLAHOPŘEJEME

ATORVASTATIN – NEJPRODÁVANĚJŠÍ LÉK NA SVĚTĚ

MICHAELA HÁJKOVÁ^a, BOHUMIL
KRATOCHVÍL^a a STANISLAV RÁDL^b

^a Ústav chemie pevných látek, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6,
^b Zentiva, U kabelovny 130, 102 37 Praha – Dolní Měcho-
lupy

hajkovam@vscht.cz

Došlo 1.10.07, přijato 8.11.07.

Klíčová slova: atorvastatin, syntéza, statiny, cholesterol,
polymorfismus

Obsah

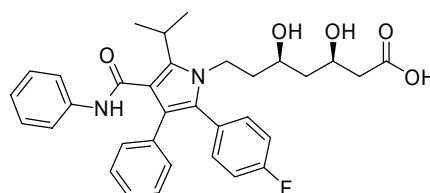
1. Úvod
2. Terapie
 - 2.1. Cholesterol
 - 2.2. Regulace hladiny cholesterolu statiny
 - 2.3. Porovnání účinnosti statinů a jejich nežádoucí účinky
3. Syntéza atorvastatinu
 - 3.1. Syntéza vedoucí na vápenatou sůl atorvastatinu
 - 3.2. Alternativní syntézy klíčových meziproduktů
4. Polymorfismus atorvastatinu
5. Lékové formy atorvastatinu
6. Závěr

1. Úvod

Většinu lidské populace, především v rozvojových zemích Afriky, Asie, Jižní a Střední Ameriky a Oceánie, trápí hlavně malárie, cholera, TBC a AIDS. U malárie se každoročně objeví neuvěřitelných 300–500 miliónů nových onemocnění a 700 tis. až 2 milióny lidí zemře¹. Přesto však největší prodeje vykazují léky na léčbu kardio-vasculárního rizika, které postihuje zejména obyvatelé vyspělých zemí všech kontinentů, jako důsledek jejich životního stylu. Již od roku 2001 kraluje v tabulkách nejprodávanějších léčiv (tab. I) hypolipidemikum atorvastatin a zdá se, že si svoji vedoucí pozici udrží i v roce 2007. Objemy jeho celosvětových prodejí přesahují od roku 2003 hranici 10 miliard USD, což nikdy nedosáhlo žádné jiné léčivo. Největším konzumentem atorvastatinu je

USA, kde se prodalo v roce 2006 přes 60 % jeho celosvětové spotřeby³.

Atorvastatin, $C_{33}H_{35}FN_2O_5$ ((3*R*,5*R*)-7-[3-fenyl-4-fenylkarbamoyl-2-(4-fluorfenyl)-5-isopropyl-pyrrol-1-yl]-3,5-dihydroxy-heptanová kyselina), obr. 1, patří do skupiny statinů. Statiny výrazně snižují hladinu cholesterolu vázaného v LDL (low density lipoprotein), zvyšují hladinu cholesterolu v HDL (high density lipoprotein) a v menší míře snižují i hladinu triacylglycerolů. Hlavní indikací statinů je hypercholesterolemie.



Obr. 1. Strukturální vzorec atorvastatinu

Atorvastatin uvedla na trh firma Warner Lambert v roce 1997. První testy na zvířatech sice přinesly velké zklamání, atorvastatin nebyl schopen konkurovat simvastatinu (Zocor, Merck), nejúspěšnějšímu statinu té doby. Teprve až fáze III klinického testování odhalila skutečný potenciál atorvastatinu i na léčbu smíšené hyperlipidemie⁴. Originál byl formulován jako trihydrát atorvastatinu vápenatého (v patentech se užívá i název trihydrát hemivápenaté soli atorvastatinu), $(C_{33}H_{34}FN_2O_5)_2Ca \cdot 3 H_2O$. Originál je v USA obchodován pod názvem Lipitor, u nás pod názvem Sortis; v řadě zemí je již dostupný jako generikum pod názvy Torvacard, Triglyx, Torvast, Totalip, Tulip, Xarator, Atorpic a Lipimar⁵. V roce 2000 firmu Warner Lambert koupila firma Pfizer, která tímto získala veškerá práva originátora k atorvastatinu. V poslední době byla uveřejněna řada patentů na další pevné formy a metody syntézy atorvastatinu a na trhu se objevilo mnoho generik.

2. Terapie

2.1. Cholesterol

Cholesterol je steroidní alkohol patřící mezi isoprenoidy. Nachází se v buněčných stěnách, krevních lipoproteinech (volný nebo ve formě esterů vyšších mastných kyselin). Jeho význam spočívá ve snižování fluidity membrán (a tím i jejich propustnosti pro malé molekuly), je významným prekurzorem syntézy vitamínu D, pohlavních hormonů a různých steroidních hormonů (např. kortisolu)⁶. Hraje také důležitou roli v imunitním systému.

Tabulka I
Pořadí léčiv podle celosvětových prodejů v roce 2006 (cit.²)

Substance (obchodní název)	Společnost	Miliardy USD	Změna (konstantní dolar) [%]	Použití
Atorvastatin (Lipitor)	Pfizer	13,6	4,2	hypolipidemikum
Esomeprazol (Nexium)	AstraZeneca	6,7	16,9	antiulcerikum
Fluticason + Salmeterol (Seretide, Advair)	GSK	6,3	10,3	antiastmatikum
Clopidogrel (Plavix)	Sanofi Aventis	5,8	-3,4	antithrombotikum
Amplodipin (Norvasc)	Pfizer	5,0	-0,5	antihypertensivum
Darbepoetin alfa (Aranesp)	Amgen Europe B.V.	5,0	35,6	antianemikum
Olanzapin (Zyprexa)	Eli Lilly	4,7	-0,4	antipsychotikum
Risperidon (Risperdal)	Janssen	4,6	12,3	antipsychotikum
Etanercept (Enbrel)	Wyeth Pharmaceuticals	4,5	18,4	antirheumatikum, antiflogistikum, antiuratum
Venlafaxine (Effexor)	Wyeth	4,0	2,7	antidepresivum

Cholesterol je v lidském těle syntetizován zejména v játrech a zároveň je přijímán v potravě. Podle hustoty se cholesterol rozděluje do 3 hlavních skupin⁷:

- VLDL (very low density lipoprotein),
- LDL (low density lipoprotein),
- HDL (high density lipoprotein).

Lipoprotein HDL odvádí cholesterol do jater, kde se rozkládá a vylučuje z těla. Naopak lipoprotein LDL přivádí cholesterol do buněk a cévních stěn, což může být příčinou kardiovaskulárního rizika. Tab. II uvádí fyziologické hodnoty krevních lipoproteinů.

Důležitá však není celková hladina cholesterolu, ale především poměr celkového cholesterolu ku HDL-cholesterolu, který by měl být nižší než 5:1 (cit.⁷).

2.2. Regulace hladiny cholesterolu statiny

Vysokou hladinou cholesterolu v krvi trpí zhruba polovina populace vyspělých zemí. Hladinu cholesterolu v krvi ovlivňuje především strava, dědičnost, tělesná hmot-

nost, fyzická aktivita, věk a pohlaví, alkohol a stres. Je-li hladina celkového cholesterolu vyšší než 6,5 mmol l⁻¹ a jsou-li současně splněny některé další rizikové faktory, je nutná terapie⁷. V sekundární prevenci, např. po infarktu myokardu, jsou statiny indikovány vždy.

V současné době se k léčbě primární a familiární hypercholesterolemie a smíšené hyperlipidemie nejvíce využívá léků ze skupiny statinů (lovastatin, simvastatin, atorvastatin, pravastatin, fluvastatin, rosuvastatin, pitavastatin). Statiny inhibují 3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzym A reduktasu (HMG-CoA). Tento enzym katalyzuje limitující krok při biosyntéze cholesterolu v lidském organismu, tj. syntézu kyseliny mevalonové, resp. mevalonátu (schéma 1). Tím se snižuje hladina celkového cholesterolu, LDL-cholesterolu, apolipoproteinu B a triglyceridů a dochází k proměnlivému vzestupu HDL-cholesterolu a apolipoproteinu A1.

Ze statinů je v současnosti nejpoužívanější atorvastatin, následovaný simvastatinem. Atorvastatin je po perorálním užití rychle absorbován, maximální plazmatické koncentrace je dosaženo po 1–2 hodinách. Absolutní biologická dostupnost je 12 % a systémově dosažitelná inhibiční aktivita HMG-CoA reduktasy je 30 %. Nízká systémová dostupnost je připisována „presystémové clearance“ na sliznici gastrointestinálního traktu a/nebo „first-pass meta-

Tabulka II
Doporučené hodnoty krevních lipidů podle European Society of Cardiology (cit.⁸)

Krevní lipoprotein	Hraniční hodnota [mmol l ⁻¹ krve]
Celkový cholesterol	5
LDL- cholesterol	3
HDL- cholesterol	1
Triglyceridy	2

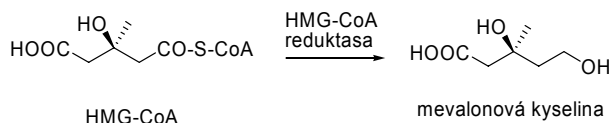


Schéma 1. Biosyntéza kyseliny mevalonové

bolismu“ v játrech⁹.

Příznivý vliv atorvastatinu na hladinu krevních lipoproteinů ověřila řada studií: CURVES¹⁰, AVERT¹¹, GREACE¹¹, CARDS¹¹, které prokázaly výrazný pokles rizika kardiovaskulárních příhod i celkové mortality.

2.3. Porovnání účinnosti statinů a jejich nežádoucí účinky

Studie zabývající se porovnáním účinnosti statinů s přepočtem na ceny příslušné měsíční dávky v USA poskytuje zajímavé výsledky i z ekonomického pohledu (tab. III). Při terapii je nutno hledat kompromis mezi cenou, velikostí dávky a mírou rizik a vedlejších účinků. Požadujeme-li např. snížení LDL-cholesterolu o 30–40 %, je optimální užívat atorvastatin, jelikož se jedná o velikost dávky, která je ohleduplná k pacientovi a zároveň se nejedná o nejnákladnější variantu. Ke stejnému výsledku dojdeme i u dalších kategorií procentuálního poklesu LDL-cholesterolu.

Bezpečností užívání atorvastatinu se zabývalo 44 studií¹³, které prokázaly, že výskyt nežádoucích účinků je nízký a jen ve výjimečných případech vedl k přerušení léčby. K hlavním nežádoucím účinkům atorvastatinu, ale i všech statinů, patří:

- záněty svalů (myositis),
- onemocnění svalů (myopatie, rabdomyolýza),
- nezánětlivé onemocnění nervů (periferní neuropatie),
- zánět slinivky břišní (pankreatitis),
- zánět jater, žloutenka (hepatopatie).

Otázka bezpečnosti celé skupiny statinů vyvstala v roce 2001 po stažení cerivastatinu (Baycol, Bayer) po dvou letech prodeje ze světových trhů, kvůli závažným vedlejším účinkům, které způsobily smrt 52 pacientů¹⁴.

Terapeuticky efektivnější než atorvastatin je rosuvastatin (viz tab. III), uvedený na trh v roce 2003 firmou Astra Zeneca pod názvem Crestor. Po aféře s Baycolem jsou však lékaři při předepisování statinů nové generace

velmi opatrní a konzervativní. Po uvedení Crestoru na trh byly hlášeny výskyty rabdomyolýzy a selhání či poškození ledvin zejména u pacientů, kteří užívali denní dávky 80 mg. FDA (Food and Drug Administration) zamítla petici na stažení Crestoru z trhu, ale nařídila změnu dávkování a další bezpečnostní opatření, která musí být uvedena v příbalové informaci¹⁵.

Rosuvastatin (jako substance se používá jeho vápenatá sůl) není metabolizován jaterním cytochromem P450 3A4 jako atorvastatin, a proto nehrozí jeho interakce s ketoconazolem, erythromycinem, itroconazolem, cyklosporinem aj.¹⁶.

3. Syntéza atorvastatinu

Atorvastatin se poprvé podařilo připravit v srpnu 1985 výzkumníkům firmy Warner Lambert. Do té doby byla „statinovou velmocí“ firma Merck (lovastatin, simvastatin). V roce 1987 podala firma Warner Lambert první patent syntézy atorvastatinu vápenatého¹⁷ a tento nový statin byl posléze formulován do pevné lékové formy a v roce 1997 uveden na trh pod názvem Lipitor⁴.

V současné době existuje několik způsobů výroby hemivápenaté soli atorvastatinu, jejich jednotlivých meziproduktů, ale i jiných solí, které se však v praxi nevyužívají.

3.1. Syntéza hemivápenaté soli atorvastatinu

Jako u ostatních syntetických statinů je i u atorvastatinu nejnáročnějším problémem tvorba bočního řetězce obsahujícího dvě chirální centra. Pro konstrukci pyrrolového skeletu se používá intermediát III, jehož syntéza je uvedena ve schématu 2 (cit.^{17–19}). Výchozí ethyl-4-methyl-3-oxopentanoát je reakcí s anilinem převeden na anilid I, který dále reaguje s benzaldehydem za vzniku dvojné vazby na sloučeninu II. Tento meziprodukt reakcí s 4-fluor-

Tabulka III

Porovnání velikostí denních dávek užívaných jeden měsíc a jejich měsíční ceny v dolarech v závislosti na cíleném snížení LDL-cholesterolu (cit.¹²)

Pokles LDL-cholesterolu	Atorvastatin	Lovastatin	Simvastatin	Pravastatin	Rosuvastatin
20–30 %		20 mg (79,10 USD)	10 mg (78,85 USD)	20 mg (92,41 USD)	
30–40 %	10 mg (71,57 USD)	40 mg (142,38 USD)	20 mg (137,56 USD)	40 mg (135,61 USD)	
40–45 %	20 mg (109,31 USD)		40 mg (137,56 USD)		5–10 mg (75,60 USD)
46–50 %	40 mg (109,31 USD)		80 mg (137,56 USD)		20 mg (75,60 USD)
50–60 %	80 mg (109,31 USD)				40 mg (75,60 USD)

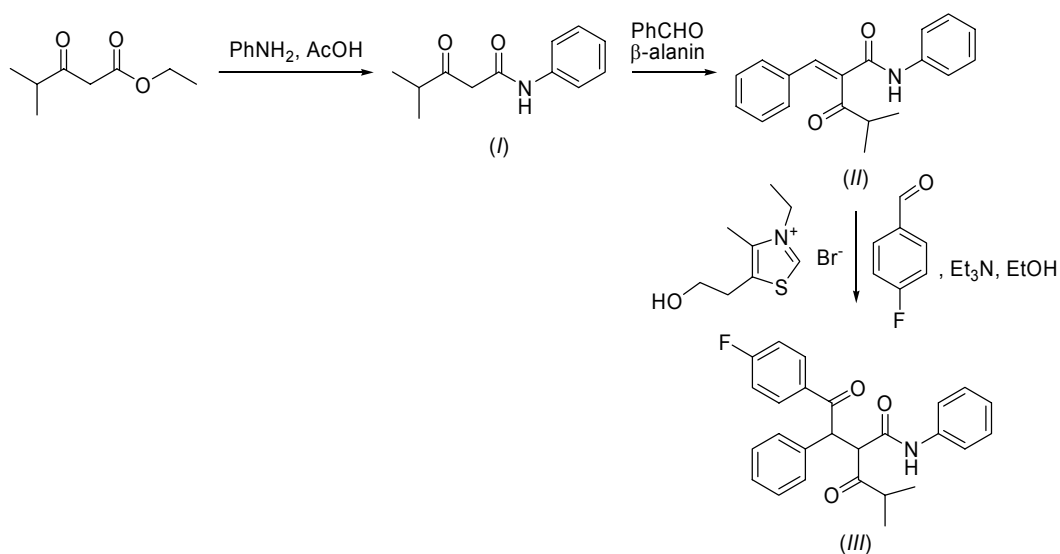


Schéma 2

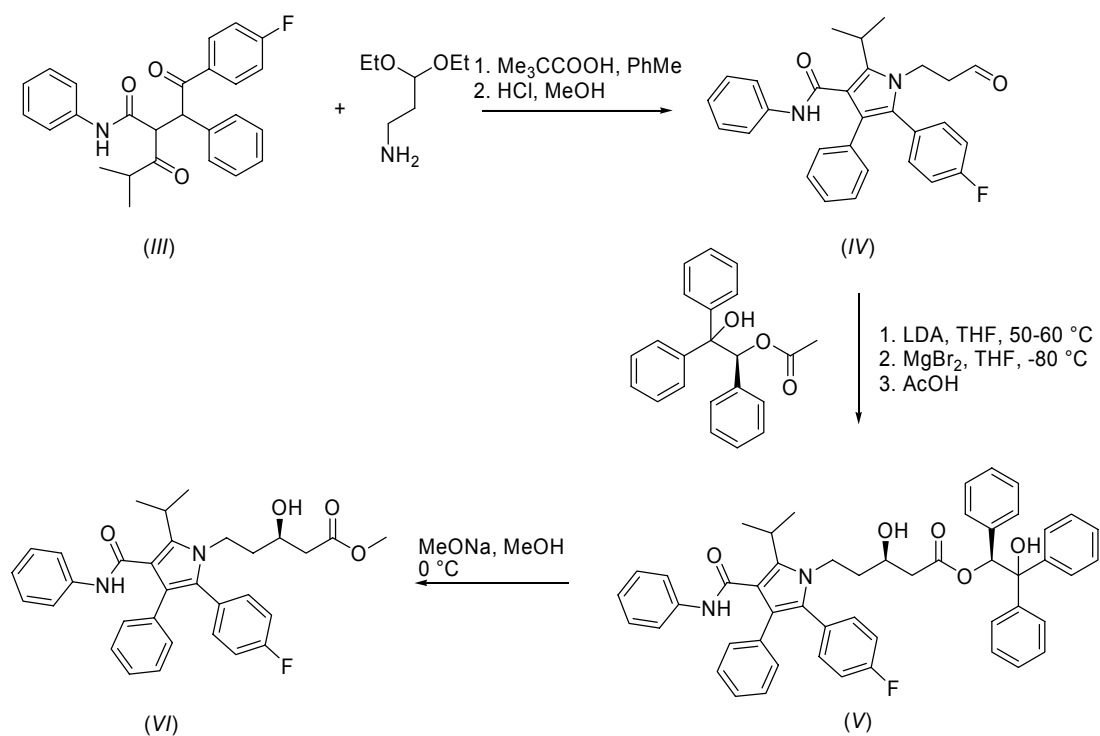


Schéma 3

benzaldehydem za přítomnosti thiazolové soli a triethylaminu v ethanolu poskytnete požadovaný diketon *III* (schéma 2).

V patentové literatuře^{17,20–22} je popsáno několik syntéz atorvastatinu založených na postupné tvorbě bočního řetězce. Jedna z nich je uvedena ve schématu 3. Meziprodukt *III* reaguje s 3,3-diethoxypropanaminem za vzniku pyrrolové-

ho kruhu a po ochránění acetalu poskytnete aldehyd *IV*. Jeho reakcí s enolátem generovaným LDA z (*S*)-(+)-2-acetoxy-1,1,2-trifenyloethanolu za přítomnosti bromidu hořečnatého v THF za nízké teploty dochází k asymetrické indukci za vzniku intermediátu *V*. Meziprodukt *V* reaguje při teplotě 0 °C v methanolu s methoxidem sodným za vzniku esteru *VI*.

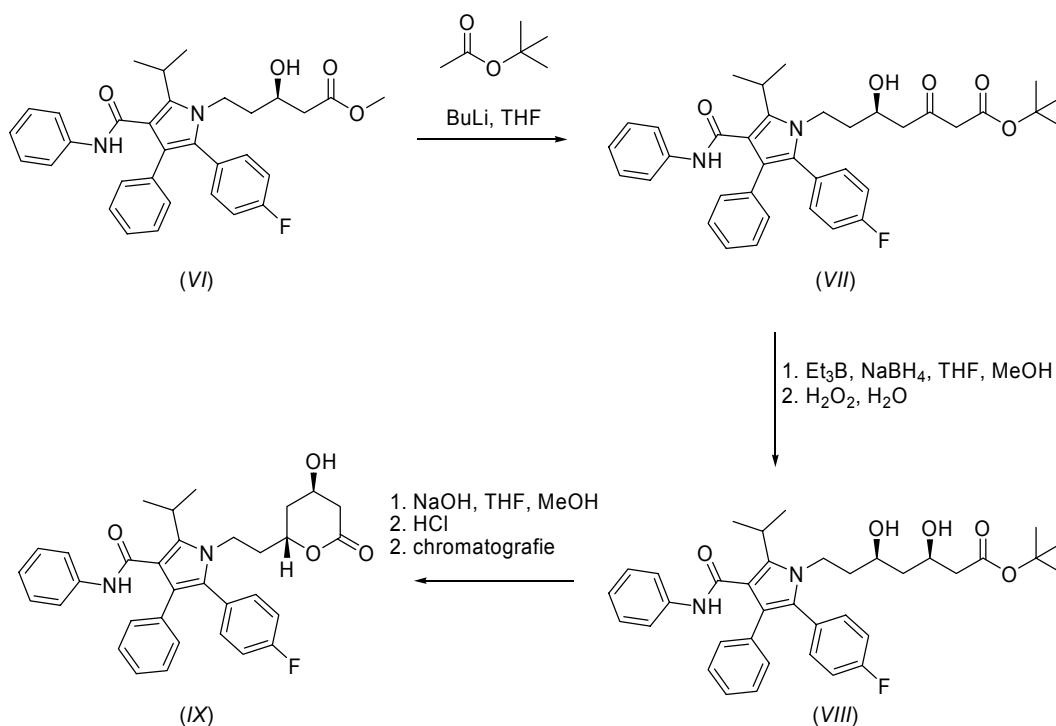


Schéma 4

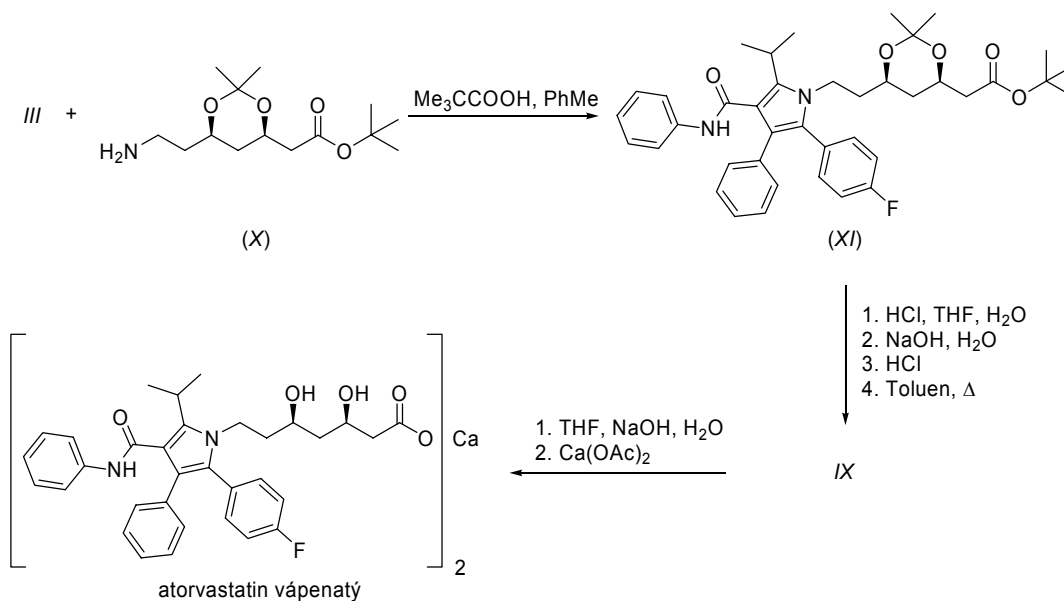


Schéma 5

Claisenovou kondenzací *VI* s *tert*-butyl-acetátem za přítomnosti butyllithia vzniká ketoester *VII*, který je v následujícím stupni redukován triethylboranem a natriumborohydridem na dihydroxyester *VIII*. Po alkalickém zmýdelnění esteru a oxyselení vzniklá kyselina spontánně

laktonizuje na lakton *IX*, který je klíčovým intermedielem k získání vápenaté soli atorvastatinu (schéma 4)¹⁷.

Jak bylo zmíněno, je postup uvedený ve schématech 3 a 4 jedním z řady patentovaných postupů, které jsou často ze syntetického hlediska sice zajímavé, nejsou ale praktic-

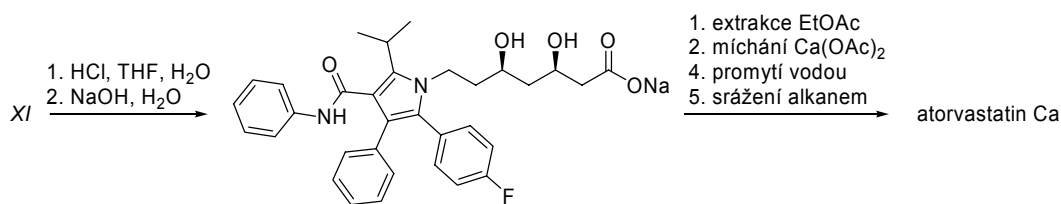


Schéma 6

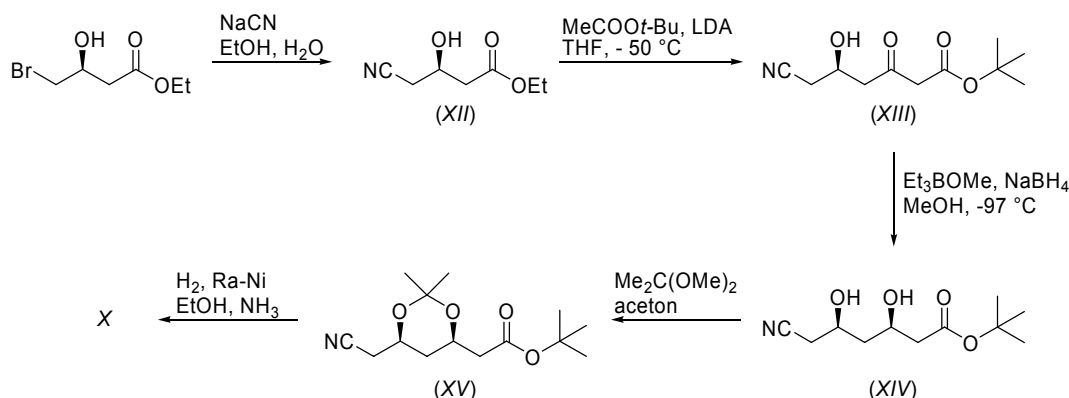


Schéma 7

ky používané. Jako mnohem výhodnější se ukázala konvergentní syntéza atorvastatinu uvedená ve schématu 5, kterou atorvastatin vyrábí jak originátor, tak zřejmě všechny generické firmy^{18,23}.

Klíčovou reakcí je kondenzace diketonu *III* s chirálním aminem *X* za přítomnosti kyseliny pivalové. Takto vzniklý pyrrolový derivát *XI* již má všechny základní znaky molekuly atorvastatinu a je v současné době komerčně dostupný od několika indických a čínských výrobců. V dalším stupni je k roztoku THF přidána chlorovodíková kyselina a po ochrácení hydroxylových skupin se do reakční směsi přidá přebytek roztoku hydroxidu sodného a mícháním za laboratorní teploty dojde ke zmydelnění esteru. Po dalším okyselení pak uvolněná kyselina částečně spontánně cyklizuje na laktón *IX*. Úplného převedení na laktón se obvykle dosahuje extrakcí a zahřátím toluenového roztoku.

V patentové literatuře je popsáno i několik modifikací převedení intermediátu *XI* na hemivápenatou sůl atorvastatinu, většina z nich ale také využívá jako intermediát laktón *IX*. Výhodnějším se ale ukázal tzv. Zentiva proces (schéma 6), založený na překvapivě dobré rozpustnosti sodné i vápenaté soli atorvastatinu v ethyl-acetátu. Při něm se primárně vzniklá sodná sůl atorvastatinu přímo z reakční směsi extrahuje ethyl-acetátem, tento roztok je pak opakovaně míchán s vodným roztokem octanu vápenatého, přičemž iontovou výměnou vzniká prakticky kvantitativně vápenatá sůl, která je po promytí a vysušení srážena vhodným rozpouštědlem na amorfní hemivápenatou sůl atorvastatinu²⁴.

Jak je zřejmé ze schématu 5, klíčovým meziproductem je amin *X*, jehož syntéza je vzhledem k vysokým požadavkům na chirální a diastereoisomerní čistotu v průmyslových měřítcích zvláště obtížná. Klasická syntéza²⁵ popsaná v původních patentech, a prakticky dosud používaná zřejmě všemi generickými výrobci, využívá jako výchozí materiál (*S*)-ethyl-4-brom-3-hydroxybutanoát, který je již hromadně vyráběnou komoditou. Jeho reakcí s NaCN vzniklý nitril *XII* je pak modifikovanou Claisenovou kondenzací s *tert*-butyl-acetátem za použití LDA převeden na *XIII*. Tato reakce se provádí při teplotě $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, což již v provozních podmínkách může být problém. Ještě větším problémem je ale následující stereoselektivní redukce borohydridem sodným za přítomnosti diethylmethoxyboranu, pro kterou je v původních patentech popisována nutnost teploty $-97\text{ }^{\circ}\text{C}$. Takto vzniklý dihydroxyderivát *XIV* je poté 2,2-diethoxypropanem převeden na sloučeninu *XV*, jejíž hydrogenací na Raneyově niklu vzniká aminoderivát *X* (schéma 7).

3.2. Alternativní syntézy klíčových meziproductů

Objevení nových alternativních cest syntézy klíčových meziproductů otvírá možnost vzniku nových patentů, z nichž by v případě výhodnosti nového postupu mohly plynout pro inovátory nemalé zisky, a proto je jim věnována velká pozornost výzkumných skupin.

Jednou ze studovaných možností bylo využití chirálního alkoholu *XVI*, který je známým intermediátem ro-

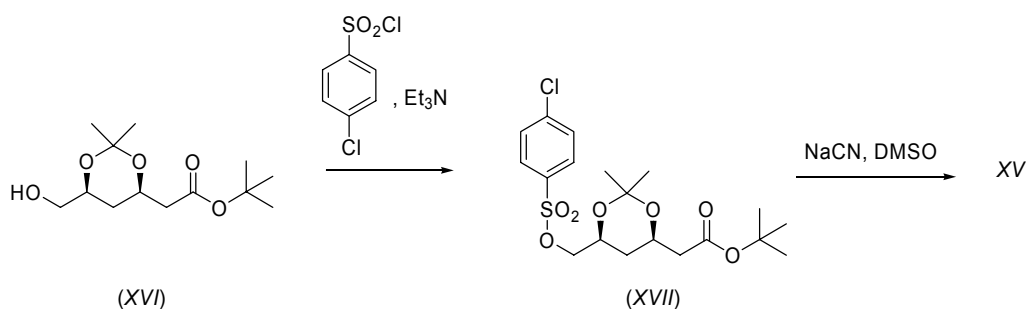


Schéma 8

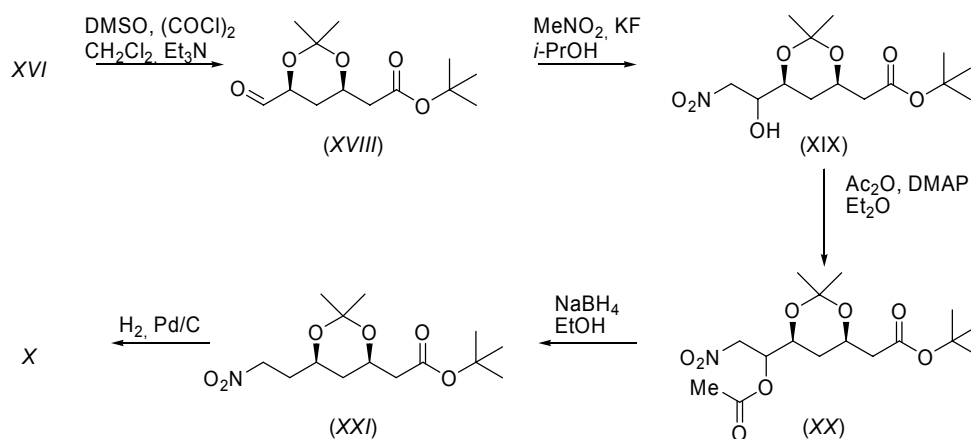


Schéma 9

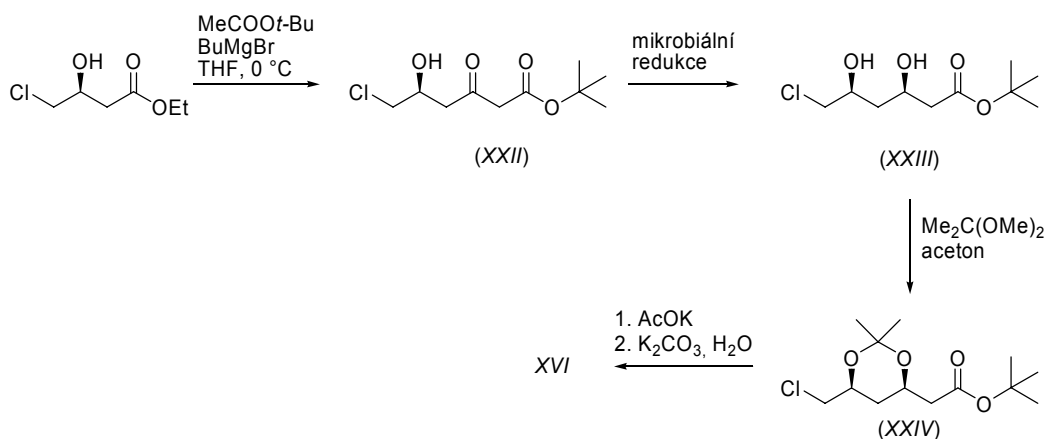


Schéma 10

suvastatinu a řady dalších statinů ve vývoji, k syntéze nitrilu *XV*. Ukázalo se, že tuto transformaci nelze provést obvyklým způsobem přes příslušný mesylát nebo tosylát, při použití reaktivnějšího 4-chlorbenzensulfonátu *XVII* (schéma 8) je třeba několikadenní zahřívání a chromatografické čištění^{26,27}.

Alternativou je využití alkoholu *XVI* k syntéze aminu

X využívající aldehyd *XVIII*, který lze z alkoholu *XVI* získat Swernovou oxidací. Henryho reakce s nitromethanem v isopropylalkoholu za katalýzy KF probíhá prakticky kvantitativně a vzniklý produkt *XIX* je snadno acetylován acetanhydridem na ester *XX*. Redukcí borohydridem sodným vzniklý nitroderivát *XXI* lze pak snadno hydrogenací převést kvantitativně na aminoderivát *X* (schéma 9)²⁸.

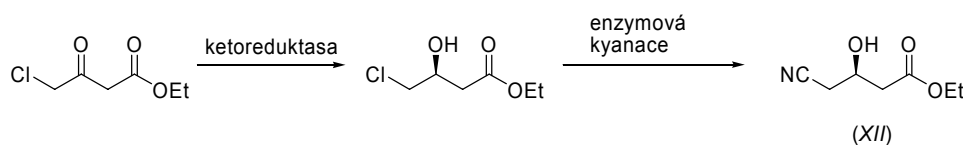


Schéma 11

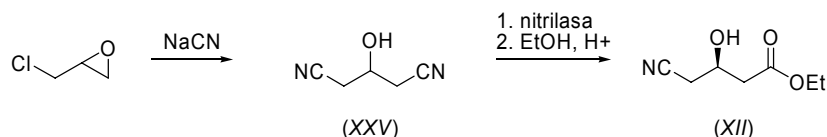


Schéma 12

V literatuře je popsáno několik způsobů výroby chirálního alkoholu *XVI*, většinou využívajících v některém stupni vysoce stereoselektivní mikrobiální redukce. Typickým příkladem je postup firmy Kaneka²⁹ uvedený ve schématu 10, nebo jeho modifikace popsaná v patentu³⁰. Výchozí (*S*)-ethyl-4-chlor-3-hydroxybutanoát je získáván buď katalytickou stereoselektivní redukcí nebo enzymaticky s použitím alkoholdehydrogenasy nebo karbonylreduktasy. Claisenovou kondenzací tato výchozí látka poskytuje ester *XXII*, který mikrobiální redukcí poskytuje dihydroxyderivát *XXIII*. Klasickým postupem je poté ochráněno dihydroxylové seskupení a chlorderivát *XXIV* je poté alkalicky hydrolyzován na alkohol *XVI*.

Problematika stereoselektivní syntézy alkoholu *XVI* a dalších prekurzorů postranních řetězců je přirozeně středem zájmu firem zabývajících se využitím enzymů nebo buněčných systémů pro průmyslové aplikace. Problematika byla nedávno populární formou zpracována v literatuře³¹.

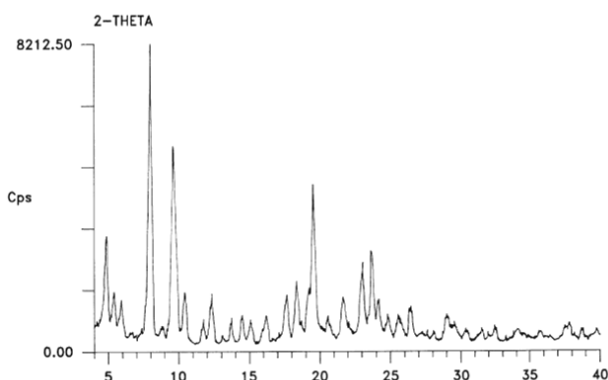
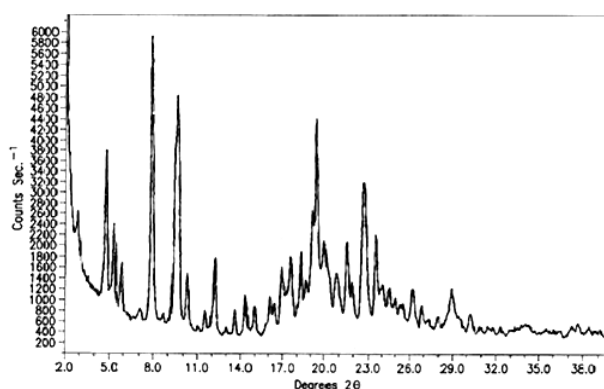
Příkladem v praxi již využívaného biokatalytického přístupu je postup firmy Codexis³² uvedený ve schématu 11, při kterém je nejprve ethyl-4-chloracetoacetát reduko-

ván ketoreduktasou na příslušný hydroxyester a následně je tento intermediát enzymově převeden halohydrin dehalogenasou v přítomnosti kyanidového iontu na nitril *XII*.

Nedávno byla popsána firmou Dowpharma další cesta vedoucí k nitrilu *XII* vycházející z levného epichlorohydrinu, který je jednoduše převeden na dinitril *XXV*. Klíčovým stupněm je pak nitrilasou katalyzovaná desymetrizace vedoucí po esterifikaci k požadovanému produktu (schéma 12)³³.

4. Polymorfismus

Právě proto, že atorvastatin je nejprodávánějším léčivem na světě, snaží se farmaceutické firmy nalézt a zapatentovat nové pevné formy (v rozšířeném slova smyslu polymorfy³⁴) atorvastatinu vápenatého, aby blokovaly konkurenci. První patenty Warnera a Lamberta^{35,36} zavedly označování jednotlivých forem římskými číslicemi (I, II, III a IV) a další firmy v tom převážně pokračují (s výjimkou Cíby, Ivaxu, Ranbaxy, Egisu aj.), ovšem nové patenty jsou uveřejňovány překotně, a proto dochází k překryvům,

Obr. 2. Difraktogram formy IV (Warner Lambert : US5969156) (převzato z cit.³⁵)Obr. 3. Difraktogram formy X (Teva: WO2004043918) (převzato z cit.³⁷)

Tabulka IV

Přehled polymorfů hemivápenaté soli atorvastatinu patentovaných do roku 2006

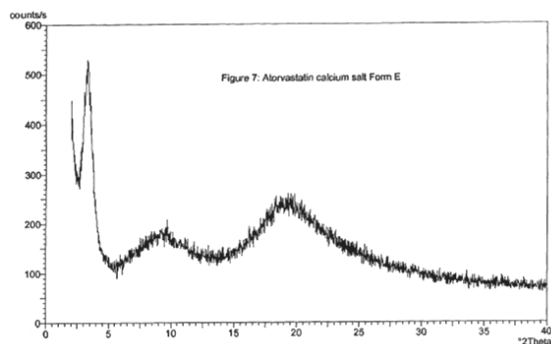
Datum (právo přednosti)	Majitel patentu	Polymorf	Literatura
17.7.1995	Warner Lambert	I, II, IV	CZ 294108 B6, CZ294695 B6, CZ294740 B6
17.7.1995	Warner Lambert	III	CZ294109 B6
17.11.1999	Teva	V	WO01/36384 A1
3.11.2000	Teva	VII	WO02/41834 A2
16.11.2000	Teva	VI, VIII, IX, IXa, X, XI, XII, XIV, XVI, XVII	WO03/070702 A1
27.12.2000	Ciba SC Holding	X, A, B1, B2, C, D, E	WO02/051804 A1
19.1.2001	Biocon India	V	WO02/057229 A1, WO02/057274 A1
29.6.2001	Warner Lambert	V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII, XVIII, XIX	WO03/004470 A1
30.7.2001	Dr. Reddy's Labs	VI, VII	WO03011826
12.12.2001	Ivax	Fa, Je	WO03/050085 A1
3.9.2002	Morepen Labs	VI	WO2004/022053 A1
28.11.2002	Teva	F	WO2004/050618 A2
17.3.2004	Ranbaxy Labs	R	WO2005090301
20.7.2004	Warner Lambert	XX, XXI, XXII, XXIII, XXIV, XXV, XXVI, XXVII, XXVIII, XXIX, XXX	WO2006/011041
22.7.2004	Teva	XVIII, XIX	
5.11.2004	Morepen Labs	M-2, M-3, M-4	WO2006/048894 A1
8.4.2005	Egis	B-52	WO2006/106372 A1

nejednoznačností a dublování.

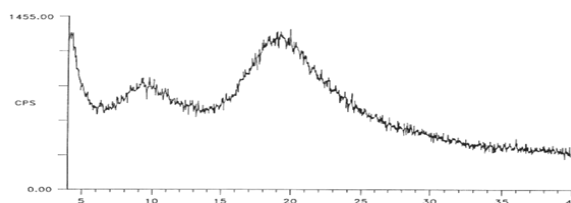
Od roku 1995 do prosince 2006 bylo přihlášeno celkem 17 patentů, které obsahují 63 dosud známých forem atorvastatinu vápenatého a jeho hydrátů (tab. IV), které jsou charakterizovány především rozdílnými RTG práškovými difraktogramy a NMR v pevné fázi. Nejvíce forem má patentovaných firma Warner Lambert, celkem 30. Vzhled difraktogramů a NMR spekter ukazuje, že kromě dobře krystalických forem je patentována i řada forem s různým stupněm semikrystalinity až k formám amorfním. Polyamorfismus (rozlišování mezi dvěma a více amorfními formami) nebyl u atorvastatinu vápenatého prokázán.

Zda se u všech publikovaných forem atorvastatinu vápenatého jedná o rozdílné polymorfy, resp. hydráty nebo solváty je sporné, protože výhradně chybí informace o jejich krystalové struktuře. Je zřejmé, že některé formy patentované různými firmami se pravděpodobně dublují, jak vyplývá z prostého porovnání jejich difraktogramů, a proto je skutečný počet dosud objevených polymorfů hemivápenaté soli atorvastatinu nejspíš nižší než počet patentovaných forem. Existují případy, kdy dva i více difraktogramů různých forem vykazují velkou podobnost, difraktogramy byly např. jen naměřeny s jiným rozsahem úhlu 2θ .

Např. difraktogram formy IV (Warner Lambert) je stejný jako difraktogram formy X (Teva) (obr. 2 a 3). Nedochozí však k dublování pouze dvou, ale i tří patentů.



Obr. 4. Difraktogram formy E (Ciba SC Holding: WO02051804) (převzato z cit.³⁹)



Obr. 5. Difraktogram amorfni formy (Warner - Lambert: WO9703960) (převzato z cit.⁴⁴)

Např. difraktogramy forem V (Teva)³⁸, D (Ciba)³⁹ a XX (Warner Lambert)⁴⁰ jsou podobné. Stejně tak jsou podezřele podobné i difraktogramy forem VIII (Teva)³⁷, A (Ciba)³⁹ a X (Warner Lambert)^{40,41}. K dublování nejspíš došlo i u forem VI (Moren Labs)⁴² a F (Teva)⁴³, které byly přihlášeny v rozmezí necelých tří měsíců. Jiný případ dublování nastal u formy E (Ciba)³⁹. RTG difrakrogram naznačuje, že se zřejmě jedná o amorfni formu (obr. 4 a 5), i když ostrá difrakce při $2\theta = 3,5^\circ$ je obtížně vysvětlitelná.

5. Lékové formy atorvastatinu

Atorvastatin vápenatý je originátorem i generickými firmami vyráběn v síle 10, 20, 40 a 80 mg aktivní substance v tabletě. Vzhledem k tomu, že statiny ve formě kyselin nejsou stálé a dochází k tvorbě rovnováhy kyselina-lakton, jsou statiny používány buď ve formě laktonů (lovastatin, simvastatin), nebo ve formě sodné (fluvastatin), nebo vápenaté soli (atorvastatin, rosuvastatin). Kriteria výběru jsou komplexní a většinou nejsou publikována. Pro formulaci atorvastatinu byla vybrána hemivápenatá sůl a při tomto výběru zřejmě hrála důležitou roli i skutečnost, že její krystalizaci se dosahuje potřebné čistoty farmaceutické substance³⁵.

Tablety jsou většinou téměř bílé, oválné, bikonvexní a potahované. Použité excipienty jsou uváděny v příbalové informaci, jejich složení se u různých firem lehce liší. Pro jádro tablety se většinou používají⁹: mikrokrystalická celulóza, monohydrát laktosy, kroskarmelosa sodná, hyprolósa, hypromelósa, polysorbát 80, oxid hořečnatý lehký, koloidní bezvodý oxid křemičitý, stearan hořečnatý, hydrolyzát kukuřičného škrobu (maydis amyllum pregelifica-

tum), povidon, krosopovidon, laurylsíran sodný, uhličitan vápenatý, polyvinylalkohol, metakrylátový kopolymér RS PO, vitamin E, stearyl-fumarát sodný; Potah: hypromelósa, hyprolósa, polysorbát, oxid titaničitý, makrogol, talek, oxid železitý žlutý, indigokarmínový hlinitý lak (indigocarmini lacca aluminica), simetikonová emulze, kandelilový vosk (Candelina cera).

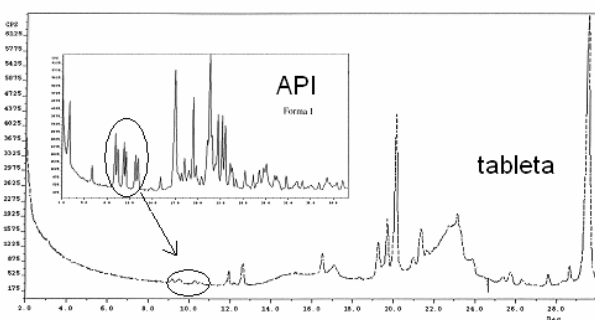
Nelehkou otázkou je, jaké formy atorvastatinu vápenatého jsou v tabletách různých firem použity. V příbalové informaci farmaceutické firmy neuvádí použitý polymorf ani zda je použita krystalická nebo amorfni fáze, ovšem uvádí, zda je přítomen anhydrát resp. hydrát. Atorvastatin vápenatý forma I je trihydrát, jak vyplývá z termogravimetrické křivky. Databáze AISLP⁹ a SUKL⁴⁵ uvádí, že na našem trhu lékové formy atorvastatinu obsahují buď atorvastatin vápenatý trihydrát, tedy velmi pravděpodobně formu I (Sortis, Caduet – kombinace atorvastatinu + amlodipinu) nebo atorvastatin vápenatý tzn. zřejmě anhydrát (Tulip, Torvacard, Atoris, Atogal, Atorvastatin PHAB, Atorvastatin-Krka). V případě anhydrátu není identifikace jednoznačná, vzhledem k možnému polymorfismu, ovšem např. firma Zentiva zveřejnila, že Torvacard obsahuje amorfni formu atorvastatinu⁴⁶. Patentů na syntézu amorfni formy atorvastatinu vápenatého bylo do konce roku 2006 uveřejněno 29.

Výhody amorfni forem jsou všeobecně známy: vyšší rychlost rozpouštění a tím rychlejší nástup účinku. To je ovšem na druhé straně vyváženo nižší fyzikální a chemickou stabilitou. Z toho by vyplývalo, že stabilní forma I musí mít v lékové formě delší expiraci než nestabilní amorfni forma, i když roli hrají i použité excipienty. To koresponduje s informacemi uvedenými v databázích a příbalových letácích: u Sortisu (forma I) je uvedena expi-

Tabulka V

Přehled léčivých přípravků registrovaných v ČR, které obsahují atorvastatin vápenatý

Obchodní název léčiva	Výrobce	Držitel rozhodnutí o registraci	Maximální plazmatická koncentrace [h]	Doba expirace [měsíc]
Sortis (originál)	Goedecke GmbH	Pfizer	1–2	36
Atorvastatin Actavis	Actavis hf.	Actavis hf.	1–2	36
Atorvastatin Phab	Lek Pharmaceuticals	Lek Pharmaceuticals	1–2	24
Atorvastatin – Krka	Krka	Krka	1–2	24
Atorvastatin – Ratiopharm	Krka	Ratiopharm	1–2	24
Tulip	Lek Pharmaceuticals	Lek Pharmaceuticals	1–2	24
Torvacard	Zentiva	Zentiva	1–2	18
Atoris	Krka	Krka	1–2	24
Triglyx	Teva Pharmaceutical Industries	Ingers Industrial Solutions	1–2	24
Bisatum	Pliva	Pliva	1–2	24
Atogal	Teva Pharmaceutical Industries	Ingers Industrial Solutions	1–2	24
Atorpharm	Actavis hf.	Medis	1–2	36



Obr. 6. RTG difraktogram čistého API (atorvastatin vápenatý, forma I) a difraktogram její lékové formy (Sortis, Pfizer). Příslušné registrační okno je znázorněno oválem. Ostatní difrakční linie API jsou v tabletě překryty difrakcemi excipientů nebo pozadím

race 36 měsíců, u Torvacardu (amorfní fáze) 18 měsíců. U ostatních generik jsou uváděny expirace mezi 24 a 36 měsíci (tab. V).

Nejdůležitější analytické techniky pro přímou identifikaci použitého polymorfu v tabletách jsou RTG prášková difrakce a NMR v pevné fázi. Obsah API v tabletě je většinou malý a tak je její analytický signál často překrytý signály excipientů. Generické firmy se ve svých formulacích o toto překrytí i záměrně snaží. Někdy je však k dispozici na difraktogramu (ve spektru) vhodné „okno“, ve kterém registrujeme signál pouze od měřené API, který je dostatečně reprezentativní a identifikačně využitelný, i když téměř splývá s pozadím (viz příklad na obr. 6).

6. Závěr

Zájem výzkumných skupin o atorvastatin neutuchá. Důkazem toho je fakt, že jsou nadále publikovány jak syntetické práce věnované alternativním syntézám atorvastatinu nebo jeho intermediátů, tak práce z ostatních oblastí farmaceutické chemie a farmacie mající přímý vztah k atorvastatinu. Například v roce 2007 byly přihlášeny další patenty na nové krystalické formy hemivápenaté soli atorvastatinu (forma T1– Teva: US2007232683, forma M-Matrix Lab.: WO2007096903). Cílem tohoto přehledu bylo podat stručný a zároveň ucelený přehled o tomto léčivu, především z hlediska syntézy a polymorfismu.

Publikovaných pevných forem atorvastatinu vápenatého je pravděpodobně více, než kolik jich je skutečně. Patentová literatura je navázána na trh se statiny a v důsledku snahy o rychlé patentování nových forem občas dochází ke zřejmému dublování. Objektivní posouzení komplikovaného polymorfního chování atorvastatinu vápenatého bude dost možná uskutečnitelné až tehdy, kdy poklesne význam tohoto trhu.

Přestože se otázka léčby samotné hypercholesterolemie nedá zjednodušit na prostý boj s vysokou hladinou

cholesterolu, jsou statiny velmi úspěšnou terapeutickou skupinou a atorvastatin je historicky komerčně nejspěšnějším léčivem. Na základě průběžných měsíčních zpráv IMS Health můžeme předpokládat, že atorvastatin vápenatý pravděpodobně zůstane světovou jedničkou prodeju farmaceutického průmyslu i pro rok 2007.

I přes některé negativní stránky, jako významný příspěvek k nárůstu zdravotních výdajů ve vyspělých státech a stále vysoký potenciál nadužívání, je atorvastatin moderním léčivem, tj. takovým, které má minimální vedlejší účinky a klinicky prokázanou účinnost.

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MŠMT ČR č. 604613730.

LITERATURA

- Breman J. G.: Am. J. Trop. Med. Hyg. 64, 1 (2001).
- http://www.imshealth.com/ims/portal/front/articleC/0,2777,6025_80528184_80528228,00.html (staženo 1.4.2007).
- http://www.imshealth.com/ims/portal/front/articleC/0,2777,6025_80408845_80411835,00.html (staženo 15.5.2007).
- <http://www.mult-sclerosis.org/news/Jan2003/Lipitorthe10BillionPill.html> (staženo 20.4.2007).
- http://en.wikipedia.org/wiki/Atorvastatin#Patent_challenge (staženo 6.6.2007).
- http://www.pdrhealth.com/drug_info/rxdrugprofiles/drugs/lip1230.shtml, (staženo 26.10.2006).
- <http://www.obezita.cz/obezita/rizikove-factory/cholesterol-a-tuk/> (staženo 27.10.2006).
- <http://www.kardio-cz.cz/index.php?&desktop=clanky&action=view&id=116> (staženo 28.1.2005).
- Databáze AISLP (Automatizovaný informační systém léčivých přípravků). RNDr. Bohuslav Škop, CSc. Praha, verze 2007.1.
- <http://www.kardio-cz.cz/index.php?&desktop=clanky&action=view&id=116> (staženo 28.1.2005).
- Češka R., Vrablík M., Vrablíková K., Kvasilová M., Procházková R., Králíková E., Herber O.: Practicus 4, 226 (2005).
- <http://www.micromedex.com/products/ptquik/samples/Rosuvastatin.htm> (staženo 10.3.2007).
- Ballantyne C. M.: Arch. Intern. Med. 163, 333 (2003).
- <http://www.rxlist.com/cgi/generic/cerivastat.htm> (staženo 1.5.2007).
- <http://www.fda.gov/cder/drug/advisory/crestor.htm> (staženo 14.5.2007).
- http://www.rxlist.com/cgi/generic/crestor_cp.htm (staženo 1.5.2007).
- Roth B. D. (Warner Lambert Co); Patentový spis US 4 681 893. Int Cl C 07 D 207/327. (21.7.1987).
- Baumann K. L., Butler D. E., Deering C. F., Mennem K. E., Millar A., Nanninga T. N., Palmer C. W., Ro-

- thm B. D.: *Tetrahedron Lett.* 33, 2283 (1992).
19. Rádl S., Stach J. v prezentaci: *5. konference VÚFB Praha: Statin hypolipidemics and our experience with their preparation, 23.–24.11.2005.*
 20. Roth B. D. (Warner Lambert Co); Patentový spis US 5 273 995. Int Cl C 07 D 405/06. (28.12.1993).
 21. Mills N., Muhammad M. A., Weiss J., Nesbitt R. U. (Warner Lambert Co); Patentový spis US 5 686 104. Int Cl A 61 K 9/16. (11.11.1997).
 22. Kleemann A., Engel J.: *Pharmaceutical Substances, Syntheses Patents Applications.* 4. vyd. Thieme, Stuttgart 2001.
 23. Butler D. E., Deering C. F., Millar A., Nanninga T. N., Roth B. D. (Warner Lambert Co); Patentový spis US 5 003 080. Int Cl C 07 D 207/34. (26.3.1991).
 24. Radl S., Stach J. (Leciva); Patentový spis US 7 208 608. Int Cl C 07 D 207/337. (16.6.2005).
 25. Butler D. E., Le Tung V., Millar A., Nanninga T. (Warner Lambert Co); Patentový spis US 5 155 251. Int Cl C 07 C 253/30. (13.10.1992).
 26. Brower P. L., Butler D. E., Deering C. F., Le T. V., Millar A., Nanninga T. N., Roth B. D.: *Tetrahedron Lett.* 33, 2279 (1992).
 27. Rádl S.: soukromé sdělení.
 28. Rádl S.: *Synth. Commun.* 33, 2275 (2003).
 29. Kizaki N., Yamada Y., Yasohara Y., Nishiyama A., Miyazaki M. (Kanegafuchi Chemical Ind.); Patentový spis EP 1 619 191. Int Cl C 07 D 319/06. (25.1.2006).
 30. Nishiyama A., Horikawa M., Yasohara Y., Ueyama N., Inoue K. (Kaneka); Patentový spis US 7 094 594. Int Cl C 12 P 41/100. (14.4.2005).
 31. Thayer A. M.: *Chem. Eng. News* 84, 26 (2006).
 32. Davis S. C., Grate J. H., Gray D. R., Gruber J. M., Huisman G. W., Ma S. K., Newman L. M. (Codexis Inc.); Patentový spis WO2004/015132. Int Cl C 12 N 9/14. (19.2.2004).
 33. Bergeron S., Chaplin D. A., Edwards J. H., Ellis B. S. W., Hill C. L., Holt-Tiffin K., Knight J. R., Mahoney T., Osborne A. P., Rucroft G.: *Org. Proc. Res. Dev.* 10, 661 (2006).
 34. Kratochvíl B., Hušák M., Jegorov A.: *Chem. Listy* 96, 330 (2002).
 35. Briggs C. A., Jennings R. A., Wade R., Harasawa K., Ichikawa S., Minohara K., Naskagawa S. (Warner Lambert Co); Patentový spis US 5 969 156. Int Cl C 07 C 207/34. (19.10.1999).
 36. McKenzie A. T. (Warner Lambert Co); Patentový spis US 6 121 461. Int Cl C 07 C 207/34. (19.9.2000).
 37. Tessler L., Aronhime J., Lifshitz-Liron R., Maidan-Hanoch D., Hasson N. (TEVA Pharma); Patentový spis WO2004043918. Int Cl C 07 D 207/34. (27.5.2004).
 38. Ayalon A., Levinger M. (TEVA Pharma); Patentový spis WO 01/36384. Int Cl C 07 D 207/335. (25.5.2001).
 39. van der Schaaf P. A., Blatter F., Szelagiewicz M., Schoening K.-U. (CIBA); Patentový spis WO20051804. Int Cl C 07 D 207/34. (4.7.2002).
 40. Krzyzaniak J. F., Laurence G. M. Jr., Park A., Quackenbush K., Reynolds M. L., Rose P. R., Woods T. A. (Warner Lambert Co); Patentový spis WO2006011041. Int Cl C 07 D 207/34. (2.2.2006).
 41. Byrn S. R., Coates D. A., Gushurst K. S., Morrison H. G. II, Park A., Vlahova P. I., Li Z. J., Krzyzaniak J. F. (Warner Lambert Co); Patentový spis WO03004470. Int Cl C 07 D 207/34. (16.1.2003).
 42. Suri S., Singh J., Grewal M. S., Raj B. (Morepen Labs); Patentový spis WO2004022053. Int Cl C 07 D 207/34. (18.3.2004).
 43. Blatter F., Szelagiewicz M., van der Schaaf P. A. (TEVA Pharma); Patentový spis WO2004050618. Int Cl C 07 D 207/34. (17.6.2004).
 44. Lin M., Schweiss D. (Warner Lambert Co); Patentový spis WO9703960. Int Cl C 07 D 207/34 (22.7.2007).
 45. Databáze léčivých přípravků SÚKL: <http://www.sukl.cz/cs02leciva/index.php#dbs> (staženo 18.9.2007).
 46. Blatter F., Szelagiewicz M., van der Schaaf P. A. (TEVA Pharma); Patentový spis WO2004050618. Int Cl C 07 D 207/00. (17.6.2004).
 47. Rádl S. v prezentaci: Vývoj generických léčiv – obecné principy a konkrétní příklady z vývoje ve firmě Zentiva. *Sborník 35. konference Syntéza a analýza léčiv, Velké Karlovice 12.–15. září 2006.*

M. Hájková^a, B. Kratochvíl^a, and S. Rádl^b (^a Department of Solid State Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague, ^bZentiva Co., Prague): **Atorvastatin – the World’s Best Selling Drug**

Atorvastatin is a member of the drug class known as statins, which are used to cure hypercholesterolemia. The statins inhibit HMG-CoA reductase, which catalyzes the rate-limiting step in hepatic cholesterol synthesis. Atorvastatin was launched by the Warner Lambert Co. under the trade name Lipitor in 1997. Since 2001, Lipitor has been the leading product in the global pharmaceutical sales reaching 13.6 billion USD in 2006. The review discusses various aspects of the drug. The main syntheses of atorvastatin, including the commercially used convergent synthesis, are shortly discussed. The review also covers polymorphism and some basic formulation data. The complex situation with the polymorphs and amorphous form is discussed in detail.

POTENCIÁLNE ONKOMARKERY PROTEOMICKÝCH, METABOLOMICKÝCH A METABOLONOMICKÝCH METÓD

PETRA KRAVČUKOVÁ^a, MÁRIA MAREKOVÁ^b
a ALEXANDER OSTRÓ^c

^a Neurobiologický ústav SAV Košice, Šoltésovej 4, 040 01 Košice, ^b Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie LF UPJŠ, Tr. SNP1, 040 01 Košice, ^c II. Gynekologicko-pôrodná klinika LF UPJŠ, Rastislavova 43, 041 90 Košice

kravcukova@saske.sk, mmarek@central.medic.upjs.sk, ostrao@lf.upjs.sk

Došlo 11.1.07, prijaté 14.6.07.

Kľúčové slová: rakovina, onkomarker, biosenzor, tenascin C, homocysteín, fluorofór

Obsah

1. Úvod
2. Tumorové markery
3. Potenciálne onkomarkery
 - 3.1. Tenascin C
 - 3.2. Polyamíny
 - 3.3. Homocysteín
 - 3.4. Nukleozidy
 - 3.5. Fluorofóry
4. Perspektívy využitia
5. Záver

1. Úvod

Rakovina je celospoločenským problémom, ktorý si ročne vyžiada až desať miliónov obetí. Aj keď sa do výskumu „liekov na rakovinu“ investujú nemalé finančné prostriedky a ich efekt sa z roka na rok zvyšuje, základným predpokladom úspešnosti liečby a prežitia chorých aj naďalej zostáva včasná detekcia a diagnostika. Najdôležitejšími diagnostickými a prognostickými indikátormi rakoviny sú morfológické a histologické charakteristiky tumoru. V rutínnej klinickej praxi sú sledované dvoma základnými postupmi, zobrazovacími metódami, tzv. zobrazovacími metódami (imaging methods), napr. počítačová tomografia (CT – Computed Tomography), jednofotónová emisná počítačová tomografia (SPECT – Single Photon Emission Computed Tomography), pozitronová emisná tomografia (PET – Positron Emission Tomography Scan), magnetická rezonancia), alebo monitorovaním jednotlivých tumorových markerov. Tieto však v mnohých prípadoch

nie sú dostatočne senzitivné, najmä pri detekcii počiatočných štádií vývoja tumoru, a obracajú tak pozornosť výskumu na identifikáciu nových, senzitivnejších a špecifickejších metód.

2. Tumorové markery

Tumorové markery (onkomarkery) sú špecifické proteíny, ktoré je možné vo vzorkách tkaniva alebo telových tekutin pacienta detekovať vo vyššej koncentrácii ako za fyziologických podmienok. FDA (Food and Drug Administration) definuje marker ako „charakteristiku, ktorú je možné cielene merať a stanoviť ako indikátor normálnych biologických procesov, patologických procesov alebo farmakologickej odpovede na terapeutický zásah“. Markery rakoviny charakterizujú molekulové zmeny u pacienta s rakovinou. Môžu byť produkované bunkami samotného tumoru alebo inými, zdravými bunkami, ako odpoveď na prítomnosť rakoviny. Môžu predstavovať molekulu DNA, modifikácie DNA, RNA, proteíny a ich modifikácie, alebo iné biologické molekuly¹.

Prvým identifikovaným tumorovým markerom bol Bence-Jonesov proteín, ktorý bol objavený v roku 1847 precipitáciou proteínu v okyslenom uvarenom moči. Bolo dokázané, že tento proteín je produkovaný plazmatickými bunkami tumoru a dodnes sa využíva na diagnostiku mnohých myelómov². V súčasnej klinickej praxi sa používajú rôznorodejšie a špecifickejšie markery, v prevažnej miere proteínového charakteru, napr. prostatický špecifický antigén (PSA – prostate specific antigen), markery rakoviny prsníka CA 15–3, či CA 125, marker rakoviny vaječníkov. Ako marker môže slúžiť aj enzýmová aktivita proteínu, napr. telomeráza, ktorej enzýmová aktivita je u väčšiny typov rakoviny regulovaná vzostupne³.

Napriek tomu, že v dnešnej klinickej praxi existuje relatívne veľa tumorových markerov so širokospektrálnym záberom (tab. I), iba málo z nich je dostatočne senzitivných a špecifických na to, aby zachytili aj včasné štádiá a aby ich prítomnosť jednoznačne vypovedala o prítomnosti, lokalizácii a klasifikačnom zaradení tumoru. Z tohto dôvodu sa jedným z hlavných cieľov mnohých onkologicky orientovaných výskumov stáva identifikácia nových markerov, ktoré by boli schopné tento problém vyriešiť a zlepšiť tak kvalitu liečby a prežívanie pacientov.

3. Potenciálne onkomarkery

Väčšina z používaných rakovinových markerov bola identifikovaná v súvislosti s objavením nových techník, napr. dodnes používaných imunometód a techník monoklonálnych a polyklonálnych protilátok. Nové metodické

Tabuľka I
Onkomarkery používané v klinickej praxi⁴

Postihnutý orgán	AFP	CEA	CA 15-3	CA 19-9	CA 125	PSA	PSAF	PSAC	PAP	hTG	hCGb	Ferr	NSE	IL-2	IL-6	B2M	A2M	Σ / marker
Pľúca		x	x	x	x						x	x	x					7
Pankreas	x	x	x		x						x							5
Obličky	x	x									x			x	x	x		6
Prsník		x	x		x										x			4
Vaječník	x		x	x	x						x				x	x		7
Kľčok maternice	x				x													2
Maternica		x		x	x						x							4
Semenník	x								x		x	x						4
Prostata						x	x	x	x							x	x	5
Pečeň		x	x	x	x						x							5
Žalúdok		x		x	x													3
Kolorektum		x		x			x				x							5
Žľčovod				x														1
Štítna žľaza										x			x					2
Wilmsov tumor										x			x					2
Močový mechúr											x							1
Mozog											x							1
Hrtan												x						1
Burkittov lymfóm												x						1
Neuroblastóm												x	x					2
Leukémia												x				x		2
Mnohopočetný myelóm														x	x	x		3
Lymfóm																x		1
Σ / marker	5	8	5	7	9	1	2	1	2	2	10	6	4	2	4	5	1	

AFP (alpha fetoprotein), CEA (carcinogenic embryonic antigen), CA 15-3 (carbohydrate antigen 15–3), CA 19-9 (carbohydrate antigen 19–9), CA 125 (carbohydrate antigen 125), PSA (free prostate specific antigen + prostate specific antigen – alpha(1)antichymotrypsin complex), PSAF (free prostate specific antigen), PSAC (prostate specific antigen – alpha(1)antichymotrypsin complex), PAP (prostatic acid phosphatase), hTG (human thyroglobulin), hCGb (human chorionic gonadotropin beta), Ferr (Ferritin), NSE (neuron specific enolase), IL-2 (interleukin 2), IL-6 (interleukin 6), A2M (alpha 2 macroglobulin), B2M (beta 2 microglobulin)

postupy analýzy a diagnostiky rakoviny využívajú poznatky bioinformatiky a nazývajú sa „ómické“ metódy. „Ómické“ metódy zahŕňajú genomiku (štúdium genómu), transkriptomiku (štúdium transkriptómu), proteomiku (štúdium proteínovej syntézy a signalizácie), ale aj sledo-

vane koncentrácie a uvoľňovania bunkových metabolitov (metabolomika) a systémovú, profilovú analýzu telových tekutín (metabolonomika)⁵. Na báze „ómických“ metód, najmä proteomiky, metabolomiky a metabolonomiky, bolo identifikovaných niekoľko typov potenciálnych tumorov

vých markerov, ktoré sa stali predmetom intenzívneho výskumu a v budúcnosti možno aj novými, senzitívnejšími a špecifickejšími onkomarkermi klinickej praxe.

3.1. Tenascín C

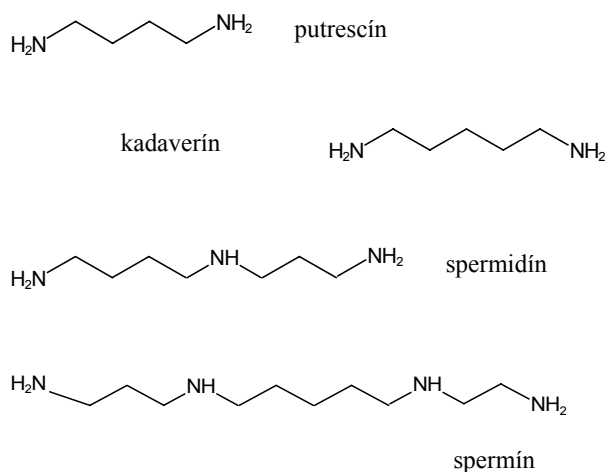
Tenascín C (TnC) je oligomérny extracelulárny matrixový proteín zložený zo 6 podjednotiek o molekulovej hmotnosti 180–250 kDa (cit.⁶). Jeho hladiny sú zvýšené vo fetálnych tkanivách, vo väčšine dospelých tkanív sú nulové, resp. silne redukované a v priebehu rôznych patologických podmienok sa jeho koncentrácia v postihnutom tkanive prudko zvyšuje⁷.

Malígny stav mnohých typov tumorov, vrátane rakoviny čreva, prsníka, pľúc, fibrosarkómov, močového mechúra, pankreasu, úzko koreluje s jeho zvýšenými hladinami^{8,9}. Zosilnená expresia génov kódujúcich TnC, ale aj akumulácia vysokého množstva samotného proteínu, bola pozorovaná aj u pacientov trpiacich jednou z najagresívnejších foriem rakoviny mozgu postihujúcu nezrelé anaplastické bunky neuroglie, multiformný glioblastóm (GBM – glioblastoma multiforme). V tomto prípade koncentrácia TnC navyše úzko korelovala aj so stupňom rozšírenia a angiogenézy tumorov¹⁰. Zvýšené hladiny TnC odrážajúce vývojové štádium rakoviny, boli pozorované aj u pacientov s karcinómom kolorekta a nemalobunkovým karcinómom pľúc, čo iba potvrdzuje význam tenascínu C ako potenciálneho prognostického markera¹¹. Na úrovni transkriptómu boli u pacientov trpiacich rakovinou namerané až osemnásobne vyššie hladiny mRNA kódujúcej TnC, v porovnaní so vzorkami zdravého tkaniva. Vo vzorkách pacientov s rekurentnou formou ochorenia, bola hladina mRNA pre TnC zvýšená až osemnásťkrát v porovnaní s nerekurentným typom, z čoho vyplýva, že zvýšená expresia génov pre tenascín C by mohla predstavovať aj vhodný marker rekurencie ochorenia¹².

3.2. Polyamíny

Výsledky mnohých prác poukazujú na to, že klinicky významné by mohlo byť aj stanovenie niektorých vybraných polyamínov. Polyamíny spermin a spermidín, ako aj diamíny putrescín a kadaverín (obr. 1) sú zložkami prokaryotických aj eukaryotických buniek s rôznymi funkciami a spolu s ich metabolitmi sú zapojené do procesov bunkového delenia a jeho regulácie¹³. Môžu mať funkcie rastových faktorov, antioxidantov, stabilizátorov DNA, RNA a membrán, metabolických regulátorov, živín a sekundárnych poslov¹⁴. Rýchlo rastúce tkanivá zvyčajne obsahujú vyššie koncentrácie polyamínov a stimulujú syntézu DNA, RNA a proteínov, a naopak, výrazné zníženie ich obsahu rast cicavčích buniek spomaľuje¹⁵.

Rýchly rast tumorov sa vyznačuje zmenou v biosyntéze polyamínov a ich akumuláciou v postihnutom tkanive. U pacientov s rakovinou sa v biologických tekutinách a nádorových tkanivách, koncentrácia alifatických amínov (spermin, spermidín, putrescín a kadaverín) vrátane acetylových konjugátov signifikantne zvyšuje, pričom

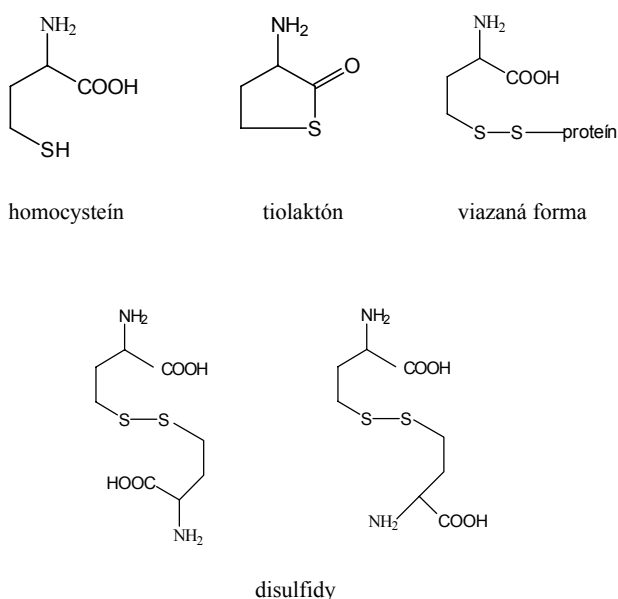


Obr. 1. Polyamíny putrescín, kadaverín, spermidín a spermin

pri liečbe so zlepšením stavu pacienta ich koncentrácia klesá. Zvýšenie ich koncentrácie je považované za dôsledok vzrastajúcej sekrécie samotných proliferujúcich buniek alebo bunkovej smrti pri aktívnej obnove tkaniva¹⁶. V rakovinových tkanivách bola pozorovaná aj zvýšená aktivita enzýmov ornitín dekarboxylázy (ODC) (enzým zúčastňujúci sa biosyntézy polyamínov) a *S*-adenozylmetionín dekarboxylázy (enzým katalyzujúci vznik sperminu a spermidínu z putrescínu)¹⁷. Výsledky stanovenia a porovnania koncentrácie 11 polyamínov vo vzorkách moču pacientok s benígnym a malígnym ochorením krčka maternice a zdravých žien naznačujú, že hladiny polyamínov vo vzorkách pacientov s benígnym ochorením sa od kontrolných hodnôt markantne neodlišovali, zatiaľ čo polyamíny vo vzorkách skupiny žien s rakovinou boli výrazne zvýšené, najmä v hodnotách putrescínu, sperminu a spermidínu¹⁸. Vzájomná súvislosť medzi spektrom urínárnych polyamínov a stupňom malignity bola potvrdená na príkladoch rôznych typov ľudských rakovín, napr. na príklade pokročilého štádia rakoviny žalúdka, ovariálneho karcinómu, akútnej myelocytovej leukémie a nonhodkinovského lymfómu¹⁹. Významné zvýšenie hladiny celkových polyamínov, najmä však kadaverínu a spermidínu, bolo namerané aj u pacientov s malígnym ascitom v porovnaní s hladinami polyamínov nameranými u pacientov trpiacich cirhózou a tuberkulózou. Výsledky týchto prác potvrdzujú, že zvýšené hladiny niektorých polyamínov u pacientov s malígnym ochorením môžu byť použité ako jeden z tumorových markerov²⁰.

3.3. Homocysteín

Ďalším potenciálnym markerom monitoringu pacientov trpiacich rakovinou počas liečby je zvýšená koncentrácia



Obr. 2. Rôzne formy homocysteínu v krvnej plazme

cia homocysteínu v krvi. Homocysteín je derivovaný najmä z intracelulárneho metionínu a jeho koncentrácia v plazme a moči odráža rovnováhu medzi vnútrobunkovou produkciou homocysteínu a jeho utilizáciou. V krvnej cirkulácii existuje viacero foriem homocysteínu, voľný homocysteín a jeho derivát tiolaktón (~1 %), disulfid (~20 %), ale aj vo väzbe s proteínom (obr. 2).

Doterajšie pozorovania a merania poukazujú na to, že koncentrácia celkového homocysteínu v plazme, okrem toho, že predstavuje rizikový faktor srdcovo-cievnych ochorení, je aj rizikovým faktorom rakoviny. Pred začiatkom liečby pacientov s rakovinou boli zaznamenané zvýšené koncentrácie celkového sérového homocysteínu. Sériu meraní koncentrácie homocysteínu v priebehu liečby ukázali zmenu, ktorá sa zhodovala s koncentraciami tumorových markerov, resp. koncentrácia tumorových markerov a homocysteínu sa počas rastu nádorových buniek paralelne zvyšovala²¹.

3.4. Nukleozidy

Vo vzorkách moči zdravých a rakovinou trpiacich pacientov bolo doposiaľ identifikovaných viac ako 50 rozličných nukleozidov. Urinárne nukleozidy predstavujú degradačný produkt ribonukleových kyselín, prevažne tRNA, a vykazujú viaceré modifikácie. Nukleozidy prekursorovej tRNA (pre-tRNA) sú po transkripcii modifikované tRNA metyltransferázami alebo -syntetázami. Ich funkcia a typ modifikácie (metylácia, deaminácia, konverzia uridínu na pseudouridín ap.) závisí na ich lokalizácii v reťazci tRNA. Po rozklade tRNA molekuly sú nemoifikované nukleozidy opäť použité a modifikované nukleozidy

dy močom vylúčené z tela²².

Modifikované nukleozidy predstavujú v súčasnosti potenciálne markery rozličných typov nádorových ochorení²³. Zistilo sa, že niektoré z nich (napr. pseudouridín, dihydrouridín, 1-metylinozín, N²-metylguanozín, 1-metylguanozín) sa v moči pacientov s rakovinou nachádzajú v porovnateľne vyššej koncentrácii ako u zdravých jedincov. Modifikované nukleozidy preto môžu predstavovať potenciálny diagnostický marker, ale aj marker monitoringu priebehu choroby či odpovede na liečbu mnohých typov nádorov. Môžu byť markerom celotelového pohybu a kolobehu tRNA ako aj indikátorom zmeny metabolizmu RNA zdravých a rakovinou postihnutých pacientov²⁴.

3.5. Fluorofóry

Veľmi významné postavenie v oblasti diagnostiky metabolických a kancerogénnych procesov majú v súčasnej dobe techniky autofluorescenčnej spektroskopie²⁵. V porovnaní s inými, sú výhodné najmä pre ich rýchlosť, bezpečnosť, vysokú senzitivitu a neinvazívny charakter. Využívajú charakteristickú vlastnosť tumorového tkaniva, ktoré v porovnaní so zdravým tkanivom vo väčšej miere akumuluje určité chemické látky s charakterom fluorofórov, ako napr. deriváty porfyrínov. Fotodetekcia rakovinových tkanív nie je novinkou. Už v roku 1924 Policard popísal fluorescenciu tumorového tkaniva po ožiarení UV svetlom. Hoci bolo publikovaných veľa prác o autofluorescencii, iba niekoľko z nich bolo venovaných využitiu tejto techniky na diagnostiku rakoviny zo vzoriek séra a plazmy²⁶, teda zo vzoriek, ktorých odber je pre pacienta najmenej traumatizujúci a invazívny. Porovnanie autofluorescencie proteínového extraktu krvných elementov skupiny zdravých ľudí a pacientov trpiacich rôznymi typmi rakoviny ukázalo výrazný rozdiel nie len medzi chorými a zdravými, ale aj v rámci samotnej skupiny rakovinou postihnutých pacientov. Intenzita fluorescencie, a to najmä vo fluorescenčnej emisnej oblasti porfyrínových fluorofórov (excitačná vlnová dĺžka okolo 630 nm), sa u jednotlivých typov rakoviny markantne nelíšila, ale odlišná bola u toho istého typu rakoviny v rôznych štádiách jej vývoja²⁷. Fluorofóry teda predstavujú jeden z potenciálnych markerov, ktorý by mohol slúžiť rýchlu a nenáročnú detekciu a screening karcinómov, ale aj na špecifickejšie určenie typu a štádia ochorenia bez potreby odberu nádorového tkaniva.

4. Perspektívy využitia

Vývoj nových metód vhodných na profiláciu tumorov a identifikáciu špecifických a vysoko senzitívnych rakovinových molekulových znakov (onkomarkerov) poskytuje perspektívy na vytvorenie technicky vyspelých, presných a rýchlych diagnostických postupov uplatniteľných aj v klinickej praxi.

Novou diagnostickou stratégiou by mohli byť tzv. biosenzory, teda zariadenia kombinujúce biochemické

rozpoznávacie/viažuce elementy (ligandy) s jednotkou prevádzajúcou signál, transduktérom. Už v dnešnej dobe sú niektoré z nich úspešne používané v klinickej praxi, napríklad biosenzor na elektrochemické meranie koncentrácie glukózy v krvi. Biosenzory využívajúce imunoafinitnú reakciu boli experimentálne použité na detekciu infekčných vírusov a baktérií ako napr. *Salmonella* (cit.²⁸) a vírus hepatitídy B (cit.²⁹). Na príklade CA 19–9, jedného z najdôležitejších tumorových markerov gastrointestinálnych malignancií, bola demonštrovaná možnosť použitia biosenzorov na pomocnú analýzu detekcie nádorových markerov³⁰. Hoci doposiaľ nebolo vyvinutých veľa biosenzorov na klinické testovanie rakoviny (čo sa pripisuje práve komplexnosti ochorenia a doposiaľ nízkemu počtu špecifických rakovinových markerov), ich aplikácia v klinickom testovaní rakoviny by mala, v porovnaní s inými klinickými metódami, niekoľko výhod, napr. rýchlosť a flexibilitu, možnosť sledovať viaceré cieľov naraz, úplnú automatizáciu, nízke náklady na analýzu a v neposlednom rade aj minimalizáciu traumy pacienta³¹.

5. Záver

Základným predpokladom vyliečenia tak zákeřného a komplexného ochorenia, akým je rakovina, na ktorú zomiera ročne viac ako desať miliónov pacientov, je predovšetkým jej skorá diagnostika a detekcia tumoru. Hoci v klinickej praxi existuje veľa onkomarkerov, iba niekoľko z nich je dostatočne senzitivných a špecifických na to, aby dokázali zachytiť rakovinu v jej včasnom štádiu vývoja, kedy je najlepšie prístupná liečbe. V súvislosti s technickým pokrokom a rozvojom tzv. „ómických“ metód, boli identifikované nové potenciálne onkomarkery, ktoré by spĺňali požiadavky senzitivity a špecificity. Na báze proteomiky, metabolomiky a metabolonomiky bolo identifikovaných niekoľko perspektívnych markerov, z ktorých veľký potenciál má napr. tenascin C, vybrané polyamíny a nukleozidy, homocysteín ako aj niektoré fluorofoéry. Vývoj nových senzitivných a špecifických markerov, spolu s technickým rozvojom, by mohli pomôcť pri vývoji biosenzorov vhodných na klinické testovanie rakoviny a celú diagnostiku tak zautomatizovať, zefektívniť, ale predovšetkým zrýchliť.

LITERATÚRA

- Dong C. K., Masutomi K., Hahn W. C.: *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 54, 85 (2005).
- Abeloff M. D., Armitage J. O., Lichter A. S., Kastan M. B., McKenna W. G.: *Clinical Oncology*. Elsevier, 3. vydanie, Philadelphia 2004.
- Blackburn E. H.: *FEBS Lett.* 579, 859 (2005).
- <http://www.spndloveresearch.org/>: stiahnuté 30.08.2006
- Kušnir J., Dubayová K., Lešková L., Lajtár M.: *Anal. Lett.* 38, 1559 (2005).
- Gulcher J. R., Nies D. E., Alexakos M. J., Ravikant N. A., Sturgill M. E., Marton L. S.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 88, 9438 (1991).
- Chiquet-Ehrismann R., Chiquet M.: *J. Pathol.* 200, 488 (2003).
- Chiquet-Ehrismann R., Matsuoka Y., Hofer U., Spring J., Bernasconi C., Chiquet M.: *Cell Regul.* 2, 927 (1991).
- Kaarteenaho-Wiik R., Tani T., Sormunen R., Soini Y., Virtanen I., Paakko P.: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 154, 511 (1996).
- Jallo G. I., Friedlander D. R., Kelly P. J., Wisoff J. H., Grumet M., Zagzag D.: *Neurosurgery* 41, 1052 (1997).
- Sis B., Sagol O., Kupelioglu A., Sokmen S., Terzi C., Fuzun M., Ozer E., Bishop P.: *Pathol. Res. Pract.* 200, 379 (2004).
- Parekh K., Ramachandran S., Cooper J., Bigner D., Patterson A., Mohanakumar T.: *Lung Cancer* 47, 17 (2005).
- Pegg A. E.: *Biochem. J.* 234, 249 (1986).
- Wallace H. M., Fraser A., Hughes A.: *Biochem. J.* 376, 1 (2005).
- Seiler S. N.: *Prog. Drug Res.* 37, 107 (1991).
- Khuhawar M. Y., Qureshi G. A.: *J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.* 764, 385 (2001).
- Heby O., Person L.: *Trends Biochem. Sci.* 15, 153 (1990).
- Lee S. H., Yang Y. J., Kim K. M., Chung B. C.: *Cancer Lett.* 201, 121 (2003).
- Suh W., Lee S. H., Chung B. C., Park J.: *J. Chromatogr., B* 688, 179 (1997).
- Peng A., Shao S., Zhang X., Zhang G.: *Hunan Yike Daxue Xuebao* 22, 59 (1997).
- Wu L. L., Wu J. T.: *Clin. Chim. Acta.* 322, 21 (2002).
- Schram K. H.: *Mass Spectrom. Rev.* 17, 131 (1998).
- Seidel A., Brunner S., Seidel P., Fritz G. L., Herbarth O.: *Br. J. Cancer* 94, 1726 (2006).
- Leibich H. M., Lehmann R., Xu G., Wahl H. G., Häring H. U.: *J. Chromatogr.* 745, 189 (2000).
- Dubayová K., Kušnir J., Podracká L.: *J. Biochem. Biophys. Methods* 55, 111 (2003).
- Madhuri S., Vengadesan N., Aruna P., Koteeswaran D., Venkatesan P., Ganesan S.: *Photochem. Photobiol.* 78, 197 (2003).
- Masilamani V., Al-Zhrani K., Al-Salhi M., Al-Diab A., Al-Ageily M.: *J. Luminiscent.* 109, 143 (2004).
- Panthirana S. T., Barbaree J., Chin B. A., Hartell M. G., Neely W. C., Vodyanoy V.: *Biosens. Bioelectron.* 15, 135 (2000).
- Chung J. W., Kim S. D., Bernhardt R., Pyun J. C.: *Sens. Actuators, B* 111–112, 463 (2005).
- Chung J. W., Bernhardt R., Pyun J. C.: *Sens. Actuators, B*, v tlači (2006).
- Rasooly A., Jacobson J.: *Biosens. Bioelectron.* 21, 1851 (2006).

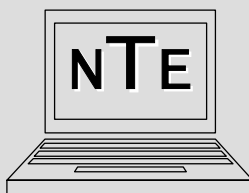
P. Kravčuková^a, M. Mareková^b, and A. Ostró^c
(^a Institute of Neurobiology, Slovak Academy of Sciences, Košice, ^{b,c} Faculty of Medicine, P.J. Šafárik University, Košice): Potential Oncomarkers by Proteomic, Metabolomic and Metabolonomic Methods

Early detection and diagnosis of a tumor is most important for successful treatment of cancer patients. Many cancer markers are used in clinical testing, but most of them are not equally specific and sensitive in the detection

of early stages of the disease. In recent years, with the development of “omic” methods, new cancer cell characteristics were found, which can be used as new, more specific and sensitive oncomarkers. Some of the most perspective markers, discovered mainly by proteomic, metabolomic and metabolonomic methods, are tenascin C, homocysteine, some nucleosides and fluorophores. The markers could be helpful in construction of biosensors for more rapid, effective and cheaper testing.

Nové trendy v elektronice

program celoživotního vzdělávání VŠCHT Praha



Nové materiály a technologie v elektronice a navazujících oborech (přenos a zpracování informací, automatizace, obnovitelné zdroje energie, senzory pro detekci škodlivých látek v životním prostředí aj.)

Zpracování odpadů z elektrozařízení a jejich materiálové využití

Kurz je určen zájemcům z oblasti výroby a vývoje nových materiálů a technologií pro aplikace v elektronice a informatice, z oblasti zpracování elektroodpadu a středoškolské učitele chemie, fyziky a elektrotechniky.

Rozsah 40 hodin (5 výukových dní), cena kurzu 6.500,- Kč.

Další informace: Prof. Jindřich Leitner, Ústav inženýrství pevných látek, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, tel. 220 445 156, e-mail: Jindrich.Leitner@vscht.cz

TERMORESPONZIVNÍ POLYMERY – OD LABORATORNÍ KURIÓZITY K PERSPEKTIVNÍM MATERIÁLŮM PRO LÉKAŘSKÉ APLIKACE

MARTIN HRUBÝ^a, JAN KUČKA^{b,c}, HANA MACKOVÁ^a, ONDŘEJ LEBEDA^c a KAREL ULBRICH^a

^a Ústav makromolekulární chemie, v. v. i., Akademie věd České republiky, Heyrovského nám. 2, 162 06 Praha 6,

^b Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 2030, 128 43 Praha, ^c Ústav jaderné fyziky, v. v. i., Akademie věd České republiky, 250 68 Řež u Prahy
mhruby@centrum.cz

Došlo 27.9.07, přijato 5.11.07.

Klíčová slova: termoresponzivní polymer, lékařské aplikace

Obsah

1. Úvod
2. Studované termoresponzivní polymery
3. Faktory ovlivňující fázovou separaci ve vodném prostředí
4. Bioerodabilní a biodegradovatelné systémy
5. Použití termoresponzivních polymerů v medicíně
 - 5.1. Rozpustné, micelární a liposomální systémy pro biomedicínální aplikace
 - 5.2. Nerozpustné systémy pro biomedicínální aplikace
6. Závěr

1. Úvod

V poslední době bylo mnoho pozornosti věnováno vývoji tzv. „chytrých“ nebo „inteligentních“ materiálů („smart materials“), tj. materiálů, které jsou schopny vratně reagovat na změnu určité vlastnosti vnějšího prostředí, jako je teplota, světlo, magnetické pole apod.^{1,2} Tento přehledný článek se zaměřuje na polymery schopné vratně reagovat na změny teploty, a to zejména na polymery vykazující ve vodných roztocích dolní kritickou rozpouštěcí teplotu (LCST – „lower critical solubility temperature“), tedy polymery, které jsou rozpustné ve vodném prostředí za nízké teploty, ale při jejím zvýšení nad LCST dojde u nich vlivem desolvatace řetězce k hydrofobizaci makromolekul, ke kolapsu klubka a fázové separaci, která se makroskopicky projevuje jako zákal. Narozdíl od principiálně obdobné tepelné denaturace bílkovin však jde o děj vratný, při ochlazení dojde k opětovnému rozpouštění, při-

čemž velikost hystereze závisí na konkrétním systému³. Řada termoresponzivních polymerů s LCST blízkou teplotě lidského těla (37 °C) má velký potenciál možných aplikací zejména v biomedicínských oborech^{2,4}. Důležitým faktorem je zde i to, že LCST lze pro daný systém nastavit dle požadované aplikace (viz dále).

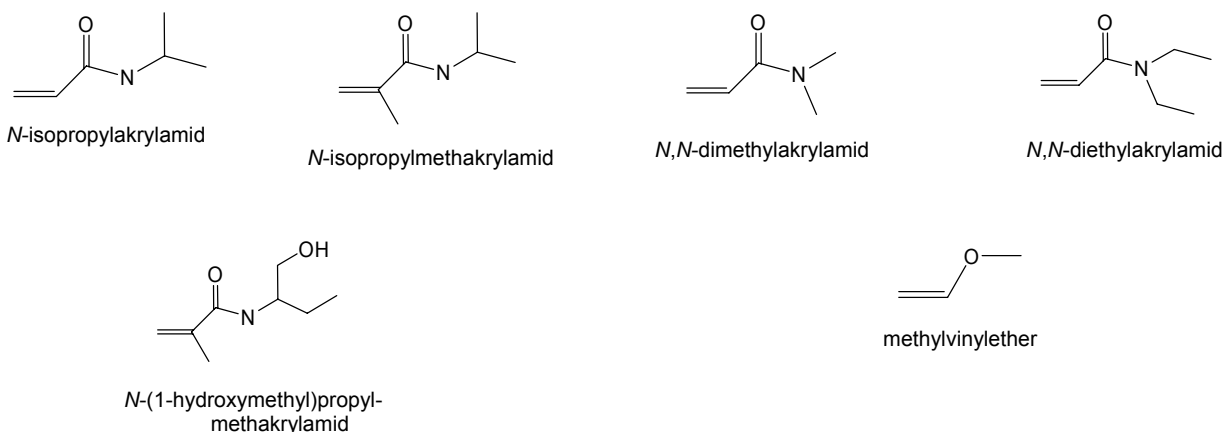
2. Studované termoresponzivní polymery

Termoresponzivní chování a existence LCST jsou dány kompeticí hydrofobních interakcí nepolárních skupin v molekule polymeru se solvatací polárních skupin a tvorbou vodíkových vazeb mezi polymerem a vodou. Energetický zisk daný hydrofobními interakcemi, které jsou hnačím motorem fázové separace, protože vedou k intra- a intermolekulární agregaci, má totiž jinou tepelnou závislost než energetický zisk daný solvatační energií a tvorbou vodíkových vazeb, které vedou k molekulárnímu rozpouštění polymeru. Existuje tedy teplota, nad kterou už solvatace nedokáže kompenzovat hydrofobní interakce⁵. Při překročení této teploty dojde k přechodu „coil to globule“, k desolvataci řetězců a následně ke zmenšení hydrodynamického poloměru polymerního klubka a k fázové separaci^{1,6,7}. Zde je třeba podotknout, že teplota fázové separace („cloud point temperature“, CPT, tj. teplota zákalu), která je obvykle při studiu teplotních závislostí sledována, je obecně vyšší nebo rovna LCST, protože LCST odpovídá minimu na křivce závislosti CPT na koncentraci polymeru v roztoku (obr. 1)^{8,9}.

Termoresponzivně se tedy chovají polymery, které mají částečně hydrofilní a částečně hydrofobní charakter.



Obr. 1. Závislost teploty fázové separace na koncentraci polymeru v roztoku; CPT – teplota fázové separace; LCST – dolní kritická rozpouštěcí teplota; w – hmotnostní zlomek polymeru v roztoku



Obr. 2. Struktury vybraných monomerů, jejichž homo- a kopolymery jsou termoresponzivní

Nejstudovanější jsou především homopolymery a kopolymery *N*-isopropylakrylamidu¹⁰, *N*-isopropylmethakrylamidu^{3,9,10}, *N,N*-dimethylakrylamidu¹⁰, *N,N*-diethylakrylamidu⁷, 2-karboxy-*N*-isopropylakrylamidu¹¹, *N*-(1-hydroxymethyl)propylmethakrylamidu¹², *O*-acyl-*N*-(2-hydroxypropyl)methakrylamidu¹³, *N*-akryloyl-*N*-alkylpiperazinů¹⁴, *N*-vinylisobutylamidu¹⁵ a *N*-vinylkaprolaktamu¹, dále „elastin-like“ polypentapeptidové sekvence [(Val-Pro-Gly-X-Gly)_n, kde X je volitelná aminokyselina, kterou ale nesmí být prolin]^{8,16}, poly(vinylmethylether)¹⁷, methylovaná celulóza a její deriváty¹⁸, polyorganofosfazenů^{5,19} a další. Struktury vybraných monomerů, jejichž homo- a kopolymery jsou termoresponzivní jsou na obr. 2.

Zvláštní skupinu polymerních termoresponzivních systémů tvoří blokové amfifilní kopolymery, u nichž ani jeden z bloků není sám o sobě termoresponzivní. Jde zejména o polyethylenoxid-*block*-polypropylenoxid-*block*-polyethylenoxid (Pluronic[®], Poloxamer[®])²⁰, polyethylenoxid-*block*-polylaktid²¹ a polyethylenoxid-*block*-polykaprolakton²². Tyto blokové kopolymery v koncentrovanějších vodných roztocích (typicky > 10 %) po zvýšení teploty přecházejí z viskózního roztoku na pevný gel, což je dáno tepelně závislým přechodem z koloidního roztoku izolovaných micel na fyzikální síť.

Byly studovány i polymerní gely, které se zvýšením teploty naopak zkapalňují, a mají tedy „opačné“ termoresponzivní chování. Jde především o polymerní gely, u nichž jsou převažujícími intermolekulárními síťujícími vazbami vodíkové vazby a hydrofobní interakce nehrájí podstatnější roli; tedy polysacharidové gely (např. agar, karagenan²³), některé proteinové gely jako želatina^{23,24} apod. Rozvolnění vodíkových vazeb po zvýšení teploty je i podstatou rozpadu dvoušroubovice DNA na jednořetězovou DNA, využívané např. při amplifikaci DNA polymerázovou řetězovou reakcí (PCR, cit.²⁵).

3. Strukturní a enviromentální faktory ovlivňující fázovou separaci ve vodném prostředí

Teplotu, při které dochází k fázové separaci, lze cíleně měnit v širokém rozmezí na základě znalosti podstaty tohoto fenoménu. Jak bylo řečeno výše, podstatou jevu je kompetice hydrofobních interakcí, které vedou k fázové separaci (vysrážení) polymeru z roztoku, a hydrofilních interakcí, které umožňují rozpuštění polymeru ve vodě. Posílením hydrofobních interakcí (např. zakopolymerováním hydrofobnějšího komonomeru) se tedy dá CPT posunout směrem dolů a naopak hydrofilizace řetězce (např. zakopolymerováním hydrofilnějšího komonomeru) posouvá CPT směrem nahoru²⁶. Složením kopolymeru lze proto v určitém rozmezí nastavit CPT na předem zvolenou hodnotu. Při přílišné hydrofobizaci se kopolymer stane nerozpuštěným a při přílišné hydrofilizaci mizí termoresponzivní chování²⁶. V mnoha případech je CPT lineární funkcí molárního obsahu hydrofilnější, resp. hydrofobnější komonomerní jednotky v termoresponzivním kopolymeru^{1,26}. Pokud je hydrofilita, resp. hydrofobita použitého komonomeru závislá na pH díky přítomnosti ionizovatelných skupin, pak lze výhodně kombinovat termoresponzivní chování s chováním závislým na pH. Kupříkladu kopolymery obsahující komonomerní jednotky s karboxylovou skupinou (jako je kyselina akrylová, kyselina methakrylová nebo *N*-methakryloyl L-valin) mají vyšší CPT v alkalickém prostředí^{27,28}, kde je karboxylová skupina ionizována, a tudíž polárnější než v kyselém prostředí²⁹. Navíc se v alkalickém prostředí projevuje též fenomén elektrostatické repulze mezi řetězci, který tuto závislost CPT na pH prostředí dále prohlubuje²⁷. Na analogickém principu jsou založeny systémy citlivé kromě na teplotu i na redoxpotenciál prostředí, např. kopolymery obsahující ferrocenovou skupinu, která je nenabitá v redukčním prostředí (ferrocen,

Fe²⁺) a nabitá a tudíž polárnější v oxidačním prostředí (ferricinium, Fe³⁺)³⁰.

Významnou roli hraje efekt sterický; polymery připravené z monomerů, které jsou konstituční isomery, mají totiž obecně velmi rozdílné CPT. Efekt sterického uspořádání je natolik významný, že u chirálních monomerů, kde je asymetrický uhlík v postranním řetězci, dokonce hraje významnou roli skutečnost, zda je použit čistý jeden enantiomer nebo racemát¹².

Pokud je stejná hydrofobní nebo hydrofilní skupina zavedena na konec řetězce, je efekt na CPT podstatně vyšší, než když je uprostřed řetězce³¹, což je dáno pravděpodobně rovněž sterickými příčinami. Pokud je hydrofilní nebo hydrofobní komonomer dostatečně rozměrný, může převážit amfifilní charakter takového systému o struktuře podobné roubovanému polymeru nad zprůměrováním hydrofobicity celého řetězce a dojde ke vzniku micel, podobně jako je tomu u blokových a roubovaných kopolymerů^{26,32}.

U termoresponzivních blokových kopolymerů typu polyethylenoxid-*block*-polypropylenoxid-*block*-polyethylenoxid lze CPT nastavit na podobném principu poměrem délek hydrofilních a hydrofobních bloků¹.

Efekt molekulové hmotnosti polymeru na CPT je patrný pouze u oligomerů, u výšmolekulárních struktur už CPT na molekulové hmotnosti prakticky nezávisí^{8,9}. Zde je potřeba říci, že oblast teploty fázové separace může být u statistických kopolymerů výrazně rozšířena („rozostřena“) při nízkých molekulových hmotnostech oproti analogickým homopolymerům, protože ze statistických důvodů je chemická heterogenita mezi molekulami v obsahu hydrofobnějšího, respektive hydrofilnějšího komonomeru vyšší u kopolymerů s nízkou molekulovou hmotností⁹.

Dalšími faktory, které ovlivňují CPT, jsou koncentrace polymeru a obsah solí^{15,33} nebo organických rozpouštědel^{34,35} v prostředí. Závislost CPT na koncentraci polymeru byla již zmíněna výše (obr. 1). Koncentrační efekt je samozřejmě relevantní jen u rozpustných systémů, u zesítěných gelů a povrchů jsou molekuly fixovány ve svých pozicích. Přítomnost solí v prostředí má výrazný vysolovací efekt^{15,33} v důsledku snížení aktivity vody a tím potlačení interakcí mezi vodou a polymerem (solí způsobují snížení LCST). Organická rozpouštědla, která jsou v čistém stavu rozpouštědly termoresponzivních polymerů a jsou mísitelná s vodou (methanol, dimethylsulfoxid apod.), mají zajímavý efekt^{26,34}, silně totiž snižují CPT. Polymer je tedy v určitém koncentračním rozmezí poměrů voda (rozpouštědlo polymeru) – organické rozpouštědlo (rovněž v čistém stavu rozpouštědlo polymeru) nerozpustný, jde vlastně o analogii vysolování, mající za příčinu snížení aktivity vody v prostředí, čímž klesá solvatace řetězce, přičemž hydrofobní interakce zůstávají vysoké. Pokud dále zvyšujeme obsah organického rozpouštědla, stane se po překročení určité koncentrace polymer opět rozpustným, ale již se nechová jako termoresponzivní a díky potlačení hydrofobních interakcí jde o klasický roztok polymeru v organickém rozpouštědle²⁶.

4. Bioerodabilní a biodegradovatelné systémy

Polymerní systémy, které jsou do organismu aplikovány jako nosiče biologicky aktivních molekul, by měly být z organismu odstranitelné, nebo v něm metabolizovatelné. V zásadě existují tři způsoby, jak odstranit fázově separovaný polymer z organismu: použít polymer, který je degradovatelný v hlavním řetězci na nízkomolekulární fragmenty, polymer, který obsahuje hydrolyticky labilně vázané hydrofobní skupiny, které jsou odštěpitelné za podmínek *in vivo*, anebo polymer, který má výraznou koncentrační závislost CPT s dostatečně rychlou kinetikou rozpouštění.

Termoresponzivní polymery, které se hydrolyzují na nízkomolekulární látky, jsou v podstatě dvojího typu: polymerní fosfazeny^{19,36} (spontánně se hydrolyzují na kyselinu fosforečnou, amoniak a alkohol) a „elastin-like“ polypeptidy¹⁶, které jsou proteasami enzymaticky degradovatelné na aminokyseliny, podobně jako přirozené bílkoviny.

Kontrolovaného rozpuštění polymerů s nedegradovatelným základním řetězcem (zejména polymerů akrylového a methakrylového typu) lze docílit pomocí řízené hydrofilizace. Jak už bylo řečeno, zvýšení hydrofobicity snižuje CPT a naopak vzrůst hydrofility polymeru ji zvyšuje. Zavedeme-li tedy do řetězce hydrolyticky labilní monomerní jednotku, u které se hydrolyzou výrazně zvýší hydrofilita (např. odštěpením hydrofobní struktury pomocí hydrolyzy hydrazonové nebo esterové vazby), pak hydrolyza může způsobit zvýšení CPT nad teplotu v příslušném místě a tím následně rozpuštění polymeru^{26,37}. Rozpustný polymer pak může být v závislosti na molekulové hmotnosti vyloučen močí nebo žlučí.

Jiným způsobem, jakým může být fázově separovaný polymer řízeně rozpuštěn, je využití rovnováhy mezi rozpuštěným polymerem a polymerem fázově separovaným. Vždy totiž existuje určitá frakce polymeru, která po fázové separaci zůstane v roztoku, a ta je v rovnováze se separovanou frakcí, takže pokud je polymer průběžně odstraňován z rozpuštěné fáze např. ledvinami nebo játry (do žluči), nakonec dojde i k úplnému rozpuštění separované fáze. Ustavení rovnováhy může mít velmi různou kinetiku v závislosti na chemické struktuře a i molekulové hmotnosti polymeru, od velmi pomalé (např. akrylamidy, fosfazeny) až po rychlou, v řádu desítek hodin (např. Pluronic[®])^{20,38}.

5. Použití termoresponzivních polymerů v medicíně

Použití termoresponzivních polymerů v medicíně lze v zásadě rozdělit na dva typy aplikací podle charakteru použitého materiálu: aplikace založené na použití polymeru nebo supramolekulárního systému, při nichž je systém za laboratorní teploty kapalný a při určité teplotě dojde k fázové separaci polymeru, a aplikace, při nichž je systém nerozpustný i za nízké teploty a využívá se změny v botnání a hydrofobitě vzniklé překročením kritické teploty.

5.1. Rozpustné, micelární a liposomální systémy pro biomedicínální aplikace

Rozpustné polymerní termoresponzivní systémy lze v medicíně použít několika způsoby. Prvním způsobem může být vytvoření injikovatelného depa^{20,38}, tj. roztok polymeru s léčivem je injikován do příslušného místa v organismu, kde dojde k fázové separaci a vyloučení pevného polymeru. Takto vzniklé depa pak slouží k postupnému řízenému uvolňování léčiva vázaného v pevné fázi fyzikální nebo chemickou vazbou. Tento způsob aplikace je výhodný zejména tam, kde je žádoucí lokální a nikoliv systémový efekt, a je proto používán zejména pro aplikaci kancerostatik^{20,38} a radionuklidů (brachyterapie)^{26,39}. Principiálně obdobné je využití termoresponzivních polymerů jako injikovatelné matrice pro růst buněk ve tkáňovém inženýrství (náhrada tkání)⁴⁰. Termoresponzivní polymer použitý pro tento typ aplikace nesmí mít lokálně dráždivý efekt a musí být z místa postupně odstranitelný (viz výše).

Nejstudovanější oblastí možného využití termoresponzivních polymerů v medicíně je cílení hypertermií^{4,9,41,42}. I zde jsou aplikace směřovány především do oblasti protinádorové terapie. Metoda je založena na lokálním zvýšení teploty tkání v místě požadovaného efektu a využívá buď skutečnosti, že v nádorové tkáni je často díky vyšší metabolické aktivitě teplota zvýšena, nebo je lokálního zvýšení teploty v cílové tkáni dosaženo vnějším ohřevem. Po injekční aplikaci roztoku léčiva vázaného na termoresponzivním nosiči dojde v cílové tkáni k preferenčnímu ukládání polymeru díky fázové separaci a vysrážení původně rozpustného termoresponzivního polymeru, nebo tvorbě micel a nanočástic. V případě liposomů dojde ke zvýšení permeability liposomální membrány a zvýšení úniku léčiva z liposomu v přehřáté tkáni (termoresponzivní liposomy, viz dále). Zde je třeba podotknout, že cílení hypertermií má i své nevýhody, jako je nezanedbatelná závislost teploty fázové separace na koncentraci u většiny studovaných polymerů, a dále nemožnost vyhřát cílovou tkáň na více než cca 42–43 °C kdy dochází k termodestrukci okolní zdravé tkáně. Problémy přináší i skutečnost, že zejména statistické kopolymery jsou molekulárně heterogenní, takže různé frakce molekul mají různou teplotu fázové separace⁹ a teplotní rozmezí, ve kterém dojde k vyloučení veškerého polymeru, je velmi široké.

Ze systémů se zvýšeným ukládáním fázovou separací v přehřátém místě jde především o rozpustné polymery, zejména poly(*N*-isopropylakrylamid) a poly(*N*-isopropylmethakrylamid), které obsahují zakopolymerované léčivo (např. doxorubicin) vázané na nosič řízeně degradovatelnou chemickou vazbou. Pokud je odštěpované léčivo hydrofobní, lze takto i zajistit řízené rozpouštění polymeru jako důsledek řízeného odštěpování léčiva v cílové tkáni (zvýšením CPT při degradaci)⁹.

Významný nosičový systém představují i termoresponzivní polymerní micely, které mohou být v zásadě dvojího druhu – s termoresponzivním jádrem a hydrofil-

ním obalem a s hydrofobním jádrem a termoresponzivním obalem.

Diblokové kopolymery s jedním blokem vodorozpustným a druhým termoresponzivním tvoří pod CPT molekulární roztok a nad CPT micely s jádrem tvořeným termoresponzivním polymerem a obalem tvořeným hydrofilním polymerem^{43,44}. Jednodušší je příprava nanočástic podobné struktury vznikajících zahřátím termoresponzivního polymeru v přítomnosti surfaktantu ve vodném roztoku⁴⁵. Micely i surfaktanty stabilizované nanočástice mají z termodynamických důvodů velmi úzkou distribuci velikostí, což je velkou výhodou pro jejich použití zejména v protinádorové terapii. Hlavním důvodem použití micel v protinádorové terapii¹³ je totiž jejich silný EPR („Enhanced Permeation and Retention“) efekt, jehož působením dochází k pasivnímu hromadění makromolekul a supramolekulárních struktur, jako jsou micely, v nádorové tkáni⁴⁶. Efekt je způsoben zvýšenou propustností nově vytvořených cév v nádoru pro makromolekuly oproti normální tkáni a nedostatečným nebo zcela chybějícím odtokem lymfy z nádoru. Blokovaný kopolymer s kovalentně vázaným léčivem, aplikovaný jako molekulární roztok, se při zvýšení teploty na fyziologickou hodnotu (37 °C) stává amfifilním a uspořádá se do vysokomolekulární micelární struktury. Vhodnou volbou struktury termoresponzivního bloku (kombinace struktury polymeru a léčiva) lze dosáhnout řízeného rozpadu micel v průběhu např. hydrolytický řízeného uvolňování hydrofobního léčiva z nosiče v důsledku zvýšení CPT hydrofobního polymerního bloku nad teplotu lidského těla. Takový polymer se stane opět zcela rozpustným a může být eliminován z organismu glomerulární filtrací¹³. Nevýhodou, kromě obecných nevýhod micelárních systémů spojených hlavně s existencí rovnovážné koncentrace unimeru (polymerní řetězec nezačleněný do micel) v roztoku micel, je určitá technická komplikace při aplikaci.

Micely s hydrofobním jádrem a termoresponzivním obalem jsou typem systémů, ve kterých jsou pod CPT v roztoku přítomny micely, které mají jádro tvořené hydrofobním blokem a obal termoresponzivním blokem, který se pod CPT chová jako hydrofilní polymer^{43,47}. Při překročení CPT dojde k vysrážení polymeru z roztoku jako u rozpustných termoresponzivních nosičů⁴⁸. Tento typ nosičů je navržen k podobnému účelu jako rozpustné termoresponzivní polymery, tj. k cílení do přehřáté tkáně, ovšem s tím, že do micely lze navíc hydrofobní léčivo vázat i čistě fyzikálně hydrofobními interakcemi do jádra, což u rozpustného nosiče není možné⁴⁷.

Rada studií se zabývá termoresponzivními liposomy, které rovněž umožňují cílení lokální hypertermií^{10,49,50}. Liposomy jsou kulovité nanočástice tvořené dvouvrstevnou lipofilní membránou obklopující dutinu vyplněnou vodným roztokem, kterou membrána zcela odděluje od vnějšího prostředí. Membrány termoresponzivních liposomů při překročení CPT kolabují, membrána se stává propustnou a nebo se dokonce liposom rozpadá a léčivo, původně v dutině obsažené, se uvolní. Termoresponzivitě liposomů lze zajistit dvojím způsobem – buď na membrá-

nu připojit či do vnitřního prostoru liposomu umístit termoresponzivní polymer^{10,51}, např. akrylamidového typu, čímž při překročení CPT dojde k hydrofobizaci tohoto polymeru a následnému narušení struktury liposomu⁵², anebo namíchat při přípravě membrány liposomu takovou směs fosfolipidů, že při překročení teploty fázového přechodu (T_m) dojde ke skokové změně fluidity membrány⁴⁹. Při vyšší teplotě je pak kapalnější membrána výrazně propustnější pro léčivo. Zejména tento druhý typ termoresponzivních liposomů lze výhodně kombinovat s pokrytím liposomu biokompatibilním polyethylenoxidem⁴⁹, což výrazně zvyšuje poločas cirkulace takových liposomů v krevním řečišti díky potlačení nežádoucích interakcí s retikuloendotelovým systémem.

Jako zvláštní kapitolu termoresponzivních systémů je možné uvést termoresponzivní magnetické nano- a mikročástice (obsahující ferity)^{53,54}, u nichž lze jednak za účelem řízené akumulace kombinovat efekt hypertermie s cílením magnetickým polem, a jednak použít dodatečně vysokofrekvenční magnetické pole k dalšímu zvýšení teploty v cílové tkáni⁵⁵, ve které jsou ferity nakumulovány (termodestrukce cílové tkáně). Tyto nanočástice lze rovněž výhodně využít i pro zobrazování tkání *in vivo* jadernou magnetickou rezonancí („magnetic resonance imaging“, MRI)⁵³.

5.2. Nerozpustné systémy pro biomedicínální aplikace

Termoresponzivní polymery nacházejí uplatnění i v aplikacích, kde není ani potřebné ani žádoucí, aby byl polymer v některém kroku rozpustný, a využívá se toho, že při zvýšení teploty nad CPT dojde ke skokové hydrofobizaci polymerních řetězců a v případě hydrogelů k výraznému snížení stupně nabotnutí⁵⁶.

Nejstudovanější z tohoto typu možných aplikací jsou termoresponzivní hydrogely^{56–60}. Hydrogely, tedy polymerní sítě s vysokým obsahem vody, lze použít např. jako depo léčiva s uvolňováním řízeným teplotou⁶¹. Jako základní polymer je obvykle volen některý z výše uvedených termoresponzivních polymerů. Spojky mezi řetězci mohou být zavedeny pomocí di- či vícefunkčního síťovačla, jako je methylenbis(akrylamid)⁶², nebo to mohou být hydrofobní zapleteniny dostatečně velkých hydrofobních bočních řetězců komonomerů (fyzikální síť)⁵⁷ a nebo může jít i o příčné vazby vzniklé na základě kationt-aniontových interakcí⁵⁸. U polymerních hydrogelů způsobuje termoresponzivní chování silný pokles stupně nabotnutí při překročení CPT (cit.⁵⁶). Pokud se použije čistě polymerní gel, kinetika odbotnutí po zvýšení teploty bývá dosti pomalá, protože na povrchu gelu se kvůli fázové separaci utvoří hydrofobní vrstva, která pak brání úniku vody z vnitřku gelu^{56,63}. Uvnitř sítě pak vznikají nehomogenity tvořené fázově separovaným polymerem a vodou, což narušuje strukturu gelu. Toto lze obejít přidáním hydrofilního komonomeru, který ovšem zároveň zvyšuje CPT (cit.²⁷), anebo přidáním pevného nebo netvrdícího plniva typu silikátu, které povrchovou vrstvu naruší, a tím významně urych-

lí odbotnutí polymeru uvnitř bloku gelu a zároveň i zlepšuje mechanické vlastnosti gelu^{60,64}. Takto lze plnivem i přepínat mezi negativní a pozitivní kontrolou difuze skrz gel a využít termoresponzivitu např. pro membránové aplikace. Difuze samotným polymerním gelem, odbotnalým zvýšenou teplotou, je totiž po fázové separaci zpomalena v důsledku desolvatace a agregace polymerních řetězců (negativní kontrola). V přítomnosti plniva, které s teplotou nemění svůj objem a je mechanicky dostatečně odolné, se však odbotnáním otevřou póry mezi gelem a částicemi plniva, takže zvýšením teploty se propustnost takového kompozitu naopak zvýší⁶⁵.

Dalším typem aplikace jsou polymerní vrstvy s hydrofobicitou řízenou teplem, a tím i smáčivostí. Nejčastější metodou přípravy takových vrstev je roubování termoresponzivního polymeru na nerozpustnou podložku⁶⁶. Hlavními oblastmi aplikací takovýchto vrstev jsou chromatografické materiály umožňující teplem řízenou adsorpci/desorpci hydrofobního solutu⁶⁷ a povrchy kultivačních misek pro tkáňové kultury, kde lze buňky vyrostlé na hydrofobním podkladu nad CPT snadno a velmi šetrně uvolnit do média pouhým ochlazením, které zhydrofilizuje povrch takovéto termoresponzivní misky a tím sníží adhezivitu buněk na takovýto povrch^{66,68}.

6. Závěr

Termoresponzivní polymery s dolní kritickou rozpouštěcí teplotou blízkou teplotě lidského těla, které byly kdysi pouhou laboratorní kuriozitou, jsou nyní velmi perspektivními a intenzivně studovanými materiály pro technické, biologické a medicínské aplikace. Jejich vlastnosti je možno nastavit v širokém rozmezí pomocí vhodné volby architektury systému a hydrofilně-hydrofobní rovnováhy, a upravit je tak dle požadavků aplikací. Lze tak vnést citlivost na změny teploty okolního prostředí do polymerních micel, hydrogelů, dep léčiv a dalších systémů.

Práce vznikla v rámci řešení grantového projektu Grantové agentury Akademie věd České republiky č. IAA-400480616.

Seznam zkratk:

CPT	teplota fázové separace (cloud point temperature)
EPR (efekt)	efekt zvýšené akumulace makromolekul a supramolekulárních struktur v nádorové tkáni (enhanced permeation and retention)
LCST	dolní kritická rozpouštěcí teplota (lower critical solubility temperature)
PCR	polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)
MRI	zobrazování jadernou magnetickou rezonancí (magnetic resonance imaging)

LITERATURA

1. Gil E. S., Hudson S. A.: *Prog. Polym. Sci.* 29, 1173 (2004).
2. Alarcon C. D. H., Pennadam S., Alexander C.: *Chem. Soc. Rev.* 34, 276 (2005).
3. Chytrý V., Netopilík M., Bohdanecký M., Ulbrich K.: *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* 8, 817 (1997).
4. Hrubý M., Kučka J., Kozempel J., Lebeda O.: *Chem. Listy* 100, 10 (2006).
5. Sohn Y. S., Kim J. K., Song R., Jeong B.: *Polymer* 45, 3081 (2004).
6. Monteux C., Mangeret R., Laibe G., Freyssingeas E., Bergeron V., Fuller G.: *Macromolecules* 39, 3408 (2006).
7. Lessard D. G., Ousalem M., Zhu X. X., Eisenberg A., Carreau P. J.: *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* 41, 1627 (2003).
8. Meyer D. E., Chilkoti A.: *Biomacromolecules* 5, 846 (2004).
9. Chytrý V., Ulbrich K.: *J. Bioactiv. Compat. Polym.* 16, 427 (2001).
10. Yoshino K., Kadowaki A., Takagishi T., Kono K.: *Bioconjugate Chem.* 15, 1102 (2004).
11. Ebara M., Aoyagi T., Sakai K., Okano T.: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 39, 335 (2001).
12. Aoki T., Muramatsu M., Torii T., Sanui K., Ogata N.: *Macromolecules* 34, 3118 (2001).
13. Soga O., van Nostrum C. F., Fens M., Rijcken C. J. F., Schiffelers R. M., Storm G., Hennink W. E.: *J. Controlled Release* 103, 341 (2005).
14. Gan L. H., Deen G. R., Loh X. J., Gan Y. Y.: *Polymer* 42, 65 (2001).
15. Suwa K., Yamamoto K., Akashi M., Takano K., Tanaka N., Kunugi S.: *Colloid Polym. Sci.* 276, 529 (1998).
16. Rincon A. C., Molina-Martinez I. T., de Las Heras B., Alonso M., Bailez C., Rodriguez-Cabello J. C., Herro-Vanrell R.: *J. Biomed. Mater. Res.* 78A, 343 (2006).
17. Bhattacharjee R. R., Chakraborty M., Mandal T. K.: *J. Phys. Chem., B* 110, 6768 (2006).
18. Lee S. C., Cho Y. W., Park K.: *J. Bioactiv. Compat. Polym.* 20, 5 (2005).
19. Lee B. H., Lee Y. M., Sohn Y. S., Song S. C.: *Bull. Korean Chem. Soc.* 23, 549 (2002).
20. Hatefi A., Amsden B.: *J. Controlled Release* 80, 9 (2002).
21. Jeong B., Bae Y. H., Lee D. S., Kim S. W.: *Nature* 388, 860 (1997).
22. Kim M. S., Hyun H., Seo K. S., Cho Y. H., Lee J. W., Lee C. R., Khang G., Lee H. B.: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 44, 5413 (2006).
23. Shehata H., Shalaby M. T., Hassan A. M.: *J. Food Sci. Technol. (Mysore)* 31, 298 (1994).
24. Kuijpers A. J., Engbers G. H. M., Feijen J., De Smedt S. C., Meyvis T. K. L., Demeester J., Krijgsveld J., Zaat S. A. J., Dankert J.: *Macromolecules* 32, 3325 (1999).
25. Petti C. A. *Clin. Infect. Dis.* 44, 1108 (2007).
26. Hrubý M., Kučka J., Lebeda O., Macková H., Babič M., Koňák Č., Studenovský M., Sikora A., Kozempel J., Ulbrich K.: *J. Controlled Release* 119, 25 (2007).
27. Zhang X. Z., Yang Y. Y., Wang F. J., Chung T. S.: *Langmuir* 18, 2013 (2002).
28. Makhaeva E. E., Tenhu H., Khokhlov A. R.: *Macromolecules* 35, 1870 (2002).
29. Yamazaki Y., Tada T., Kunugi S.: *Colloid Polym. Sci.* 278, 80 (2000).
30. Kuramoto N., Shishido Y., Nagai K.: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 35, 1967 (1997).
31. Chung J. E., Yokoyama M., Aoyagi T., Sakurai Y., Okano T.: *J. Controlled Release* 53, 119 (1998).
32. Xia Y., Burke N. A. D., Stover H. D. H.: *Macromolecules* 39, 2275 (2006).
33. Okamura H., Mori T., Minagawa K., Masuda S., Tanaka M.: *Polymer* 43, 3825 (2002).
34. Schild H. G., Muthukumar M., Tirrell D. A.: *Macromolecules* 24, 948 (1991).
35. Lee S. B., Song S. C., Jin J. I., Sohn Y. S.: *Polym. Bull.* 45, 389 (2000).
36. Lee B. H., Song S. C.: *Macromolecules* 37, 4533 (2004).
37. Neradovic D., Hinrichs W. L. J., Kettenes-van den Bosch J. J., van Nostrum C. F., Hennink W. E.: *J. Controlled Release* 72, 252 (2001).
38. Ruel-Gariepy E., Leroux J. C.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 58, 409 (2004).
39. Hrubý M.; Šubr V., Kučka J., Kozempel J., Lebeda O., Sikora A.: *Appl. Radiat. Isot.* 63, 423 (2005).
40. Kim S., Chung E. H., Gilbert M., Healy K. E.: *J. Biomed. Mater. Res.* 75A, 73 (2005).
41. Han H. D., Choi M. S., Hwang T., Song C. K., Seong H., Kim T. W., Choi H. S., Shin B. C.: *J. Pharm. Sci.* 95, 1909 (2006).
42. Kang S. I., Na K., Bae Y. H.: *Colloids Surf., A* 231, 103 (2003).
43. Cammas-Marion S., Okano T., Kataoka K.: *Colloids Surf., B* 16, 207 (1999).
44. van Nostrum C. F., Neradovic D., Soga O., Hennink W. E., v knize: *Polymeric Drug Delivery Volume I - Particulate Drug Carriers* (S. Svenson, ed.), ACS Symposium Series, vol. 923, kap. *Polymeric micelles with transient stability: a novel drug delivery concept*. American Chemical Society, Washington 2006.
45. Koňák Č., Hrubý M.: *Macromol. Rapid Commun.* 27, 877 (2006).
46. Maeda H., Wu J., Sawa T., Matsumura Y., Hori K.: *J. Controlled Release* 65, 271 (2000).
47. Cho C. S., Cheon J. B., Jeong Y. I., Kim I. S., Kim S. H., Akaike T.: *Macromol. Rapid Commun.* 18, 361 (1997).
48. Chee C. K., Rimmer S., Soutar I., Swanson L.: *Polym. Int.* 55, 740 (2006).
49. Davidsen J., Jorgensen K., Andresen T. L., Mouritsen O. G.: *Biochim. Biophys. Acta* 1609, 95 (2003).

50. Han H. D., Shin B. C., Choi H. S.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **61**, 110 (2006).
51. Chandaroy P., Sen A., Hu S. W.: *J. Controlled Release* **76**, 27 (2001).
52. Kono K., Yoshino K., Takagishi T.: *J. Controlled Release* **80**, 321 (2002).
53. Zhang J. L., Srivastava R. S., Misra R. D. K.: *Langmuir* **23**, 6342 (2007).
54. Shamim N., Hong L., Hidajat K., Uddin M. S.: *Colloids Surf., B* **55**, 51 (2007).
55. Muller-Schulte D., Schmitz-Rode T.: *J. Magn. Magn. Mater.* **302**, 267 (2006).
56. Zhang X. Z., Chu C. C.: *J. Mater. Chem.* **13**, 2457 (2003).
57. Akiyoshi K., Kang E. C., Kurumada S., Sunamoto J., Principi T., Winnik F. M.: *Macromolecules* **33**, 3244 (2000).
58. Dautzenberg H., Gao Y. B., Hahn M.: *Langmuir* **16**, 9070 (2000).
59. Seida Y., Takeshita K., Nakano Y.: *J. Appl. Polym. Sci.* **90**, 2449 (2003).
60. Serizawa T., Wakita K., Kaneko T., Akashi M.: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **40**, 4228 (2002).
61. Hsiue G. H., Hsu S. H., Yang C. C., Lee S. H., Yang I. K.: *Biomaterials* **23**, 457 (2002).
62. Stile R. A., Burghardt W. R., Healy K. E.: *Macromolecules* **32**, 7370 (1999).
63. Kato N., Sakai Y., Shibata S.: *Macromolecules* **36**, 961 (2003).
64. Haraguchi K., Takehisa T., Fan S.: *Macromolecules* **35**, 10162 (2002).
65. Iwata H., Oodate M., Uyama Y., Amemiya H., Ikada Y.: *J. Membr. Sci.* **55**, 119 (1991).
66. Tsuda Y., Kikuchi A., Yamato M., Sakurai Y., Umezumi M., Okano T.: *J. Biomed. Mater. Res.* **69A**, 70 (2004).
67. Kobayashi J., Kikuchi A., Sakai K., Okano T.: *J. Chromatogr., A* **958**, 109 (2002).
68. Canavan H. E., Cheng X. H., Graham D. J., Ratner B. D., Castner D. G.: *Langmuir* **21**, 1949 (2005).

M. Hrubý^a, J. Kučka^{b,c}, H. Macková^a, O. Lebeda^c, and K. Ulbrich^a (^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 near Prague*): **Thermoresponsive Polymers – from Laboratory Curiosity to Advanced Materials for Medicinal Applications**

Thermoresponsive (thermosensitive) polymers have their lower critical solubility temperature close to body temperature. These promising and intensively studied “smart” materials for medical applications are the topic of this review. Properties of the polymers can be tailored for a wide range of applications through a proper choice of polymer architecture and hydrophilic/hydrophobic balance of the polymer segments. The temperature sensitivity may thus be introduced into micelles, hydrogels, depot drugs and other polymer systems.



Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta
CHEMIE

Proděkan chemické sekce Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze upozorňuje, že

na bakalářské obory studijního programu Chemie

jsou ve školním roce 2008/2009, kromě učitelské kombinace chemie – biologie,

studenti přijímáni bez přijímacích zkoušek.

Ke studiu budou přijati uchazeči s ukončeným úplným středním nebo úplným středním odborným vzděláním. Přihlášky a podrobné informace: PŘF UK, studijní oddělení, Albertov 6, 128 43 Praha 2, tel: 221 951 155, 221 951 156.
Přihlášky ke studiu se přijímají do 29. února 2008.

Další informace naleznete na webových stránkách PŘF UK – www.natur.cuni.cz.

METODY STUDIA VZÁJEMNÝCH INTERAKCÍ PROTEINŮ

MARCELA WILDOVÁ a MICHAELA RUMLOVÁ

*Výzkumné centrum GILEAD SCIENCES & ÚOCHB, AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6 a Ústav biochemie a mikrobiologie a Centrum aplikované genomiky, VŠCHT v Praze, Technická 3, 166 28, Praha 6
rumlova@uochb.cas.cz*

Došlo 19.4.07, přijato 18.5.07.

Klíčová slova: afinitní vazba, fúzní sekvence, identifikace interakčního partnera, imunoprecipitace

Obsah

1. Úvod
2. Metody využívající vazby na nosič
 - 2.1. Koimunoprecipitace
 - 2.2. Separace pomocí afinitních ligandů
 - 2.3. Tandemová afinitní purifikace
3. Detekce interakcí s proteiny imobilizovanými na membráně
4. Chemické prokřížení bifunkčními činidly
5. Otisk proteinu
6. Kvasničný dvojhybridní systém
7. Prezentace peptidů pomocí fágů
8. Přenos rezonance fluorescenční energie
9. Závěr

1. Úvod

Jednou ze základních vlastností proteinů je tvorba specifických nekovalentních komplexů, které hrají klíčovou roli ve většině buněčných procesů. Předpokládá se, že všechny proteiny v buňce jsou součástí obrovské proteinové sítě (angl. „interactome“), ve které vzájemné vazby proteinů přechodně vznikají a zanikají. Odhaduje se, že na jeden protein připadá průměrně pět interakčních partnerů, což značně převyšuje komplexnost genomu¹. K porozumění dějů probíhajících v buňce na molekulární úrovni je tedy třeba studovat kromě izolovaných proteinů i proteinové komplexy. Identifikace a charakterizace interakčních partnerů, proteinových komplexů a jimi tvořených proteinových sítí přispěly během posledních 15 let k poznání řady procesů v organismech. Tohoto pokroku by nebylo možno dosáhnout bez progresivního rozvoje technik a metodik pro studium vzájemných proteinových interakcí.

Typy interakcí mezi proteiny mohou být klasifikovány na základě biologického významu (interakce enzym-inhibitor, antigen-protilátka, receptor-ligand nebo interakce v multiproteinových komplexech jako jsou např. ribosomy) nebo na základě chemické podstaty (slabé a přechodné vs. silné a trvalé, elektrostatické interakce, vodíkové vazby, van der Waalovy síly a hydrofobní efekty). Základní vlastností interakce mezi proteiny je její specifita, která ji odlišuje od náhodných kolizí způsobených Brownovým pohybem.

Řada interakcí je přechodného charakteru např. během enzymové modifikace proteinů (zprostředkovaných proteinkinasami, proteinfosfatasami, transferasami, proteasami atd.), při tvorbě transkripčních komplexů, transportu proteinů přes membrány, sbalení proteinů pomocí dohlížejících proteinů (chaperonů) atd. Studium těchto přechodných komplexů je obtížnější a závisí na nalezení podmínek stabilizace komplexu.

Tento článek poskytuje přehled o technikách, běžně používaných pro identifikaci a charakterizaci vzájemných interakcí mezi proteiny. Důležitý byl i vývoj instrumentálních technik, jako je hmotnostní spektroskopie, mikrokolorimetrie a povrchová plasmonová rezonance. Dále pak rozvoj speciálních mikroskopických technik jako např. mikroskopie atomárních sil nebo metody fluorescenční mikroskopie jako FRET (fluorescence resonance energy transfer), umožňující identifikovat vzájemné interakce proteinů přímo v živých buňkách.

2. Metody využívající vazby na nosič

Studovaný protein je po navázání na nosič (např. sepharosa, agarosa) využit k zachycení interakčních partnerů např. z buněčného extraktu. Protein může být imobilizován kovalentně, na komerčně dostupné aktivované nosiče, nebo nekovalentně, prostřednictvím afinitní vazby. Nejčastěji je pro imobilizaci využívána fúzní sekvence, např. hexahistidinová kotva (6xHis), glutathion S-transferasa (GST), hemaglutinin (HA), 8 aminokyselinový epitop FLAG (viz tab. I), která je při translaci připojena k N- či C-konci studovaného proteinu. Toho lze dosáhnout bakteriální expresí fúzního genu připraveného metodami genového inženýrství. Po odstranění nespecificky navázaných proteinů několikanásobným promytím nosiče, jsou komplexy interagujících a navázaných proteinů z nosiče uvolněny, buď denaturací např. povařením v denaturujícím pufru pro SDS elektroforézu v polyakrylamidovém gelu, nebo za nativních podmínek např. zvyšující se koncentrací solí, kompetujícími molekulami, chaotropními rozpouštědly atd. Navázané proteiny jsou detegovány SDS elektroforézou v polyakrylamidovém gelu, western blotem, hmotnostní spektroskopií, N-koncovým sekvenováním nebo,

Tabulka I
Přehled běžných fúzních sekvencí

Fúzní sekvence	Velikost	Typ purifikace	Vázací složka	Eluční činidlo	Dostupnost (příklady)
Protein A	14 kDa	afinitní	IgG	štěpení TEV	GE Healthcare
His	6 ak (HHHHHH)	afinitní	Ni-NTA	imidazol	Qiagen
GST	26 kDa	afinitní	glutathion	glutathion	Novagen
FLAG	8 ak (DYKDDDDK)	imunoafinitní	anti-FLAG Ab	FLAG	Sigma
MBP	40 kDa	afinitní	amylosa	maltosa	Biolabs
CBP	4 kDa	afinitní	kalmodulin	EGTA	GE Healthcare
c-myc	10 ak (EQKLISEEDL)	afinitní	anti-c-myc Ab	–	Sigma
HA	9 ak (YPYDVPDYA)	afinitní	anti-HA Ab	–	Sigma

Protein A – povrchový glykoprotein ze *Staphylococcus aureus*, interagující s imunoglobuliny; TEV proteasa – 27 kDa katalytická doména proteinu Nuclear Inclusion a (NIa) z viru TEV (tobacco etch virus); His – sekvence 6 histidinů; GST – glutathion-S-transferasa; FLAG – epitop peptid 8 aminokyselin; MBP – (Maltose-Binding Protein) protein vázající maltosu; CBP – (Calmodulin-Binding Protein) protein vázající kalmodulin; c-myc – epitop z protoonkogenu myc; HA – epitop z hemaglutininu; ak – aminokyselina; Ni-NTA – agarosa s chelatačně navázanými nikelnatými ionty; Ab – protilátka

v případě radioaktivně značených proteinů, autoradiograficky.

Důležitými parametry jsou čistota proteinu, zachování nativní struktury, koncentrace imobilizovaného proteinu a množství aplikovaného buněčného lyzátu, obsahujícího interagující protein. Výhody této metody spočívají v její citlivosti (deteguje i interakce, jejichž vazebná konstanta se pohybuje v řádu 10^{-5} M) a ve skutečnosti, že testuje všechny proteiny buněčného extraktu. Zachycené proteiny tedy mezi sebou soutěží o vazebná místa interakčního partnera, imobilizovaného na koloně. Další výhodou je identifikace interakce nejen monomerních proteinů, ale i proteinových komplexů.

Nevýhodou této techniky je paradoxně její citlivost, vedoucí k falešně pozitivním výsledkům. Proto je nutno výsledky získané afinitní chromatografií potvrdit ještě další, nezávislou metodou (např. koimunoprecipitací).

2.1. Koimunoprecipitace

Princip spočívá v šetrné lyzi buněk, nepoškozující proteinové komplexy, s následným přidáním protilátky, rozpoznávající testovaný protein. Poté je komplex interagujících proteinů a dané protilátky imunoprecipitován částicemi sepharosu či agarosu s navázaným proteinem A ze *Staphylococcus aureus* a precipitované proteiny jsou analyzovány². Prokazujeme-li interakci dvou známých proteinů, může být identita interagujícího proteinu potvrzena použitím imunochemických technik, např. pomocí western blotu. Ke zjištění neznámých interakčních partnerů se většinou používá rozdělení proteinů pomocí SDS elektroforézy v polyakrylamidovém gelu s následným barvením komerčně dostupnými barvivy jako Coomassie blue, SYPRO Ruby nebo Deep Pyrole. V případě metabolicky radioaktivně značených proteinů (např. ³⁵S) probíhá

detekce autoradiograficky. Příslušné proteiny lze po rozdělení identifikovat např. Edmanovým sekvenováním nebo hmotnostní spektroskopií (mass spectroscopy – MS). Pro Edmanovo sekvenování je zpravidla požadováno cca 10 pikomolů proteinu. MS metody jsou citlivější a pro sekvenování vyžadují pikomolová množství proteinu.

Tato metoda se používá pro testování interakcí mezi dvěma známými proteiny nebo pro identifikaci nových interakcí. Při tomto postupu je nezbytné, aby proteinový komplex zůstal nativní během série promývacích kroků. Přechodné interakce a interakce s nízkou afinitou, které v buňce ve stavu dynamické rovnováhy existují, nebudou touto metodou identifikovány. Výhodou koimunoprecipitace je detekce interakcí za fyziologických podmínek v buňce včetně posttranslačních modifikací interagujících proteinů.

2.2. Separace pomocí afinitních ligandů

Tato metoda (anglicky nazývaná Pull-down) je analogická těm, využívajícím k detekci proteinů protilátky (western blot, imunoprecipitace, koimunoprecipitace), a jejich princip spočívá v připojení afinitního ligandu pro navázání nebo identifikaci proteinu. V současné době je využívána řada fúzních ligandů³ jako např. hexahistidinová kotva (6xHis), glutathion S-transferasa (GST), hemaglutinin (HA), 8 aminokyselinový epitop FLAG (viz tab. I).

Tato technika byla poprvé použita ke zjištění interakcí mezi proteinem modifikovaným glutathion S-transferasou (GST) a jeho možnými interakčními partnery v roztoku⁴. Testovaný protein s terminálně připojeným ligandem je purifikován pomocí komerčních afinitních nosičů (tab. I) a je použit jako „návnada“ pro interagující proteiny při-

tomné v buněčném lyzátu. Buněčný lyzát je inkubován s nosičem obsahujícím navázanou „návnadu“. Po odstředění je peletovaný nosič s navázanými proteinovými komplexy promyt a po povaření v denaturačním pufru analyzován SDS elektroforézou v polyakrylamidovém gelu (např. v kombinaci se specifickou detekcí jako je western blot s protilátkou proti předpokládanému interakčnímu partneru). Obecně lze tuto metodu použít k identifikaci interakcí mezi fúzním proteinem a neznámými proteiny^{4,5} nebo k potvrzení interakce mezi dvěma známými proteiny^{6,7}. V případě charakterizace nových interakčních proteinů je SDS-PAGE následovaná hmotnostní spektroskopií nebo *N*-terminálním sekvenováním.

2.3. Tandemová afinitní purifikace

Jsou-li k proteinu připojeny dvě nebo více fúzních sekvencí, ať k *N*- či *C*-koncev části, hovoříme o tandemové afinitní purifikaci (TAP). Fúzní protein je nejprve purifikován pomocí jedné fúzní sekvence, která je posléze odstraněna proteolytickým štěpením. Tím dojde k odhalení druhé fúzní sekvence, využitelné pro další purifikaci. Tím jsou významně omezeny falešně pozitivní výsledky. Touto metodou byla popsána detekce nových interakčních partnerů v tkáňových buňkách^{8,9}.

V klasickém uspořádání TAP je protein syntetizován s připojenou doménou proteinu A ze *Staphylococcus aureus* vážící imunoglobulin G (IgG). Ta je následovaná další afinitní značkou, zpravidla peptidem vážícím protein

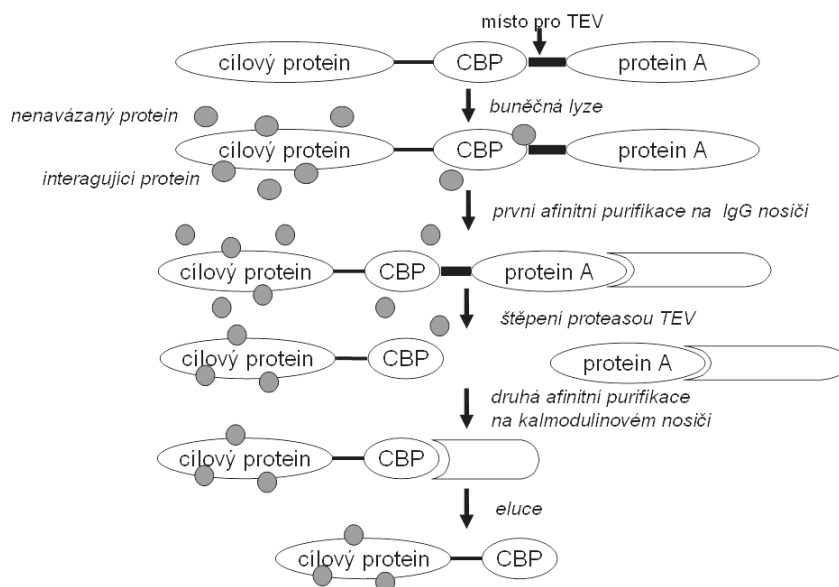
kalmodulin (calmodulin binding peptide – CBP). Mezi oběma doménami je štěpné místo pro proteasu z viru TEV (tobacco etch virus)⁸ (viz obr. 1).

Komplexy TAP fúzních proteinů s interakčními partnery jsou z buněčného lyzátu izolovány pomocí afinitní purifikace použitím IgG nosiče. Fúzní sekvence proteinu A je odstraněna štěpením proteasou TEV, čímž jsou proteinové komplexy s CBP kotvou specificky uvolněny z nosiče. Následuje druhá purifikace využívající kalmodulinového nosiče, za přítomnosti vápenatých iontů. K identifikaci interagujících proteinů po jejich elektroforetickém rozdělení se využívá technik MALDI-TOF MS nebo tandemové hmotnostní spektroskopie¹⁰.

Přes patrné přednosti není TAP univerzální metodou, vhodnou pro všechny případy. Přítomnost TAP-fúzní sekvence (~ 20 kDa) může negativně ovlivňovat konformaci proteinu, a tím i jeho interakci s vazebnými partnery¹¹. Řešením může být například umístění fúzní sekvence na opačný konec proteinu či použití jiných, menších fúzních sekvencí.

3. Detekce interakcí s proteiny imobilizovanými na membráně

Tato metoda (anglicky označována far western) je založena na testování vazby na proteiny imobilizované po elektroforetickém rozdělení na membráně¹². Další variantou je přenesení různých vzorků na membránu vakuovým



Obr. 1. Schématické znázornění tandemové afinitní purifikace; cílový protein je připraven ve fúzi ke dvěma fúzním sekvencím: CBP (sekvence proteinu vážící kalmodulin) a proteinu A, navzájem spojených krátkou sekvencí obsahující místo pro proteasu z viru TEV (tobacco etch virus). Nejprve jsou komplexy fúzních proteinů s interakčními partnery z buněčného lyzátu izolovány pomocí afinitní purifikace použitím IgG nosiče. Fúzní sekvence proteinu A je odstraněna štěpením proteasou TEV, čímž jsou proteinové komplexy s CBP kotvou specificky uvolněny z nosiče. Následuje druhá purifikace využívající kalmodulinového nosiče, za přítomnosti vápenatých iontů

prosátím (tzv. dot nebo slot blot). Membrána, obsahující takto rozdělené proteiny, je po zablokování nespecifických interakcí (inkubací např. s albuminem), inkubována s proteinem, pro nějž hledáme interakční partnery. Po následném promytí eliminujícím slabé, nespecifické interakce je přítomnost navázaného studovaného proteinu zjišťována většinou imunochemicky (detekce analogická western blotu). Místo protilátky lze použít specifickou sekvenci např. hexahistidinovou kotvu (6xHis), glutathion S-transferasu (GST), epitop z hemaglutininu (HA), 8 aminokyselinový epitop FLAG, epitop z protoonkogenu myc (c-myc), která může být připojena k proteinu při bakteriální expresi fúzního genu, kódujícího takovouto chiméru. Interagující protein může být při produkci také radioaktivně značen (inkorporací aminokyseliny značené pomocí ^{35}S) pro velmi citlivou autoradiografickou detekci.

4. Chemické prokřížení bifunkčními činidly

Tato metoda se pro studium vzájemných interakcí proteinů používá již více než 50 let a je tedy jednou z nejstarších a nejpoužívanějších. Cílové skupiny postranních řetězců interagujících proteinů, nacházející se ve vzdálenosti odpovídající délce bifunkčního činidla, jsou chemicky prokříženy kovalentní vazbou, čímž jsou jejich vzájemné interakce stabilizovány. Vzniklé multimery jsou po elektroforetickém rozdělení za denaturačních podmínek (SDS-PAGE) identifikovány na základě vyšší molekulové hmotnosti. Metoda může být kombinována s imunochemickou detekcí či hmotnostní spektroskopií¹³. V současné době našla tato metoda největší uplatnění při potvrzování nově nalezených interakcí proteinů pomocí dvojhybridního systému, imunoprecipitace nebo koimmunoprecipitace.

Většinou jsou při prokřížení využívány nukleofilní substituční reakce, ve kterých postranní řetězec atakující aminokyseliny poskytuje pár elektronů bifunkčnímu činidlu, za vzniku kovalentní vazby. Běžně používaná bifunkční činidla obsahují dvě chemicky reaktivní skupiny, které reagují se dvěma postranními řetězci aminokyselin cílových proteinů. Část činidla, spojující dvě reaktivní skupiny, nazývaná linker, určuje vzdálenost mezi reaktivními skupinami a přispívá k celkové geometrii bifunkčního činidla a k jeho rozpustnosti.

Podle reaktivních funkčních skupin můžeme bifunkční činidla rozdělit na homobifunkční, obsahující identické reaktivní skupiny (např. N,N' -*p*-fenylenbismaleimid (p-PDM), dimethyl-pimelimidát (DMP), disukcinimidylglutarát (DSG)), a na heterobifunkční, obsahující různé funkční skupiny (např. *m*-maleimidobenzoyl-*N*-hydroxysukcinimid ester (MBS)). Mezi heterobifunkční činidla patří také tzv. světlem aktivovatelné linkery, které obsahují chemicky reaktivní a fotoreaktivní skupiny¹⁴. Tato fotoreaktivní skupina je aktivována světlem o určité vlnové délce. Nedávno byla také vyvinuta trifunkční činidla, zahrnující látky, které obsahují dvě reaktivní skupiny pro prokřížení proteinů a třetí skupinu (často biotin), umožňující

detekci a purifikaci prokřížených proteinů¹⁵. Další skupinou jsou činidla s nulovou délkou (angl. zero-length cross-linker)¹⁶. Tato činidla (např. 1-ethyl-3-[3-dimethylamino-propyl]karbodiimid (EDC)) aktivují funkční skupiny postranních řetězců na cílových proteinech, čímž umožňují vytvoření kovalentních vazeb bez linkeru. Pro snadnější identifikaci prokřížených proteinů může být použito značené bifunkční činidlo. Mezi nejpoužívanější značky patří fluorofory, chromofory detegovatelné ve viditelné oblasti a radionuklidy, především ^{125}I .

Chemické prokřížení má tu výhodu, že prokřížené proteiny interagují za nativních podmínek a může být tedy prováděno nejen *in vitro* ale i *in vivo*^{17,18}. Další předností ve srovnání s ostatními metodami je možnost zachytit i velmi slabé interakce, jinými metodami téměř nepostihnutelné, a možnost detekce přechodných interakcí, které jsou prokřížením „zamrazeny v čase“. Nevýhodou je nízká specifita při použití dlouhých bifunkčních činidel, kdy k prokřížení proteinů může dojít i tehdy, nacházejí-li se poblíž, aniž by spolu interagovaly.

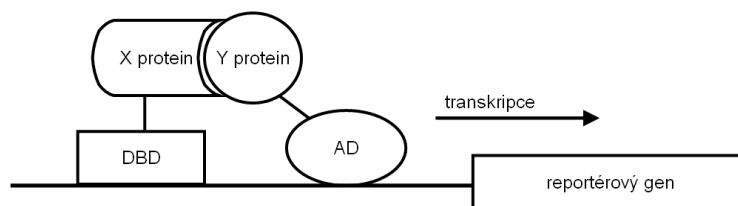
5. Otisk proteinu

Jedná se o metodu, využívající chemického nebo proteolytického štěpení ke zjištění oblastí proteinu, chráněných nebo naopak obnažených při vytváření proteinových komplexů¹⁹. Isotopově *N*- nebo *C*-koncově radioaktivně značený protein je smíchán s interakčním partnerem a tato směs, stejně jako kontrolní vzorek, jsou podrobeny proteolýze. Proteolýza může probíhat působením malých chemických sloučenin (např. vytvářejících hydroxylové radikály) nebo enzymově (např. proteinasou K nebo trypsinem). Produkty štěpení jsou poté analyzovány denaturující SDS elektroforézou v polyakrylamidovém gelu a jsou porovnány štěpné produkty samotného proteinu a proteinu, který byl součástí komplexu²⁰. Štěpné produkty mohou být identifikovány *N*-koncovým sekvenováním či hmotnostní spektroskopií.

Metoda je snadno proveditelná a díky citlivému koncovému značení postačuje k reakci malé množství proteinu. Protein však nesmí obsahovat endogenní fosforylační místa, rozpoznávaná proteinkinásou A a je třeba ověřit, zda vzorek neobsahuje kratší formy proteinu, které by vedly ke zkreslení výsledků.

6. Kvasničný dvojhybridní systém

Skutečný průlom v testování interakcí proteinů *in vivo* přinesl před 18 lety kvasničný dvojhybridní systém vyvinutý pro kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* (yeast two hybrid Y2H)²¹. Jedná se o metodu založenou na rekonstituci funkčního transkripčního faktoru, sestávajícího z DNA-vazebné domény (DBD), zajišťující lokalizaci faktoru na specifickém místě DNA, a aktivační domény (AD), která je vlastní katalyticky aktivní doménou pro transkripci. Rozdělení DBD a AD inaktivuje transkripci



Obr. 2. Schématické znázornění kvasničného dvojhybridního systému; interakci mezi proteiny X a Y, připravených ve fúzi k vazebné doméně DBD-X a k aktivační doméně AD-Y, je umožněna transkripce reportérového genu

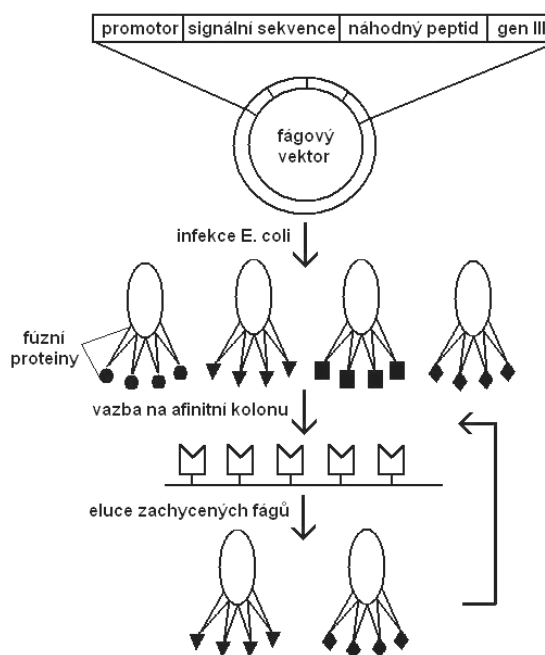
faktor, ale jeho funkce může být obnovena koexpresí a opětovnou asociací DBD a AD. Y2H využívá tohoto jevu k identifikaci interakce proteinů, která zajistí spojení obou domén (DBD a AD) a tím aktivaci transkripčního faktoru. Pro tento účel je konstruována fúze DBD s proteinem X, ke kterému hledáme interakčního partnera, tzv. „návnadový protein“ (bait protein), a fúze AD s knihovnou potenciálních interakčních partnerů Y, tzv. „kořist protein“ (prey protein) (obr. 2).

V případě interakce studovaných proteinů dojde k asociaci připojených domén DBD a AD a k indukcí transkripce reportérového genu komplementujícího poškozený chromosomální gen. Jeho exprese umožní defektním kvasničným buňkám růst na selektivním médiu (např. minimální médium bez histidinu). Kolonie rostoucí na médiu bez histidinu jsou klony, u nichž došlo k hledané interakci. Kromě auxotrofie pro histidin jsou často využívány i geny, kódující snadno detegovatelnou enzymovou aktivitu (např. *lacZ* pro β -galaktosidasu, *MEL1* pro α -galaktosidasu). Kvasničné buňky narostlé na selektivním médiu je nutno nejméně dvakrát testovat opětovným nárůstem na nejselektivnějším médiu (např. minimální médium bez tryptofanu, leucinu, histidinu, adeninu) a s přidávkem X- α -gal pro snadnou selekci modrých a bílých kolonií. Kolonie, které rostou na těchto půdách a mají modré zabarvení, jsou ty, u kterých dochází k interakci mezi proteiny. Pokud se k testování použily plasmidy kódující neznámé proteiny, např. cDNA knihovna, je nutné plasmidovou DNA z příslušné kolonie izolovat, sekvenovat a porovnáním s databází (např. pomocí programu na webových stránkách <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) určit, o jaký protein se jedná. Vzájemné, nově identifikované interakce mezi proteiny, je poté nutno ověřit dalšími metodami, např. separací pomocí afinitních ligandů či koimunoprecipitací.

Limitujícím faktorem, vycházejícím přímo z principu Y2H, je, že testování interakce probíhá v jádře kvasničné buňky, kde dochází k aktivaci transkripce²². Proto prošel Y2H mnoha modifikacemi a v současné době jsou k dispozici dvojhybridové systémy pro savčí²³ a bakteriální buňky^{24,25}. Y2H a jeho modifikace mohou být také použity pro ověření interakce dvou známých proteinů a i k vytipování minimální domény, nutné k interakci, nebo k testování vlivu bodových mutací na interakci.

Dvojhybridní systém je citlivá metoda, jejíž výsledek

však závisí na množství faktorů, jako např. koncentrace hybridních proteinů, sekvence a uspořádání vazebných míst pro transkripční faktor na reportérovém genu a také množství reportérového proteinu, nutné pro zachycení změny fenotypu. Limitací je použitelnost této metody pouze pro proteiny, které mohou být transportovány do jádra a které si zachovávají strukturu a aktivitu i ve formě fúzního proteinu.



Obr. 3. Schématické znázornění uspořádání prezentace peptidů pomocí fágů a průběhu experimentu; buňky *E. coli* jsou infikovány bakteriofágy, do jejichž DNA byl vpraven úsek cizorodé DNA či celá knihovna náhodných sekvencí. Exprimované peptidové sekvence jsou exponovány na povrchu fága. Pro selekci interakčních partnerů jsou fágové částice, nesoucí různé typy peptidů, aplikovány na kolonu s imobilizovaným cílovým proteinem. Fágy s exponovaným peptidem, vykazujícím afinitu k imobilizovanému proteinu, jsou na koloně zadrženy, zatímco ostatní fágy jsou promýváním uvolněny

7. Prezentace peptidů pomocí fágů

Metoda prezentace peptidů pomocí fágů (anglicky phage display), která byla poprvé popsána Smithem²⁶, je založena na faktu, že vláknité bakteriofágy *E. coli* mohou být geneticky upraveny tak, aby na jejich povrchu byly vystaveny různé peptidy, představující např. knihovnu náhodných sekvencí (1 fág nese pouze peptidy stejné sekvence). Pro selekci interakčních partnerů jsou fágové částice, nesoucí různé peptidy, aplikovány na kolonu s imobilizovaným cílovým proteinem. Fágy s exponovaným peptidem, vykazujícím afinitu k imobilizovanému proteinu, jsou na koloně zadrženy, zatímco ostatní fágy jsou promýváním uvolněny. Fágy zachycené na koloně jsou infikovány bakterií, z nichž je následně izolována DNA, kódující příslušný peptid, která je sekvenována (obr. 3).

Původní použití těchto knihoven fúzních fágů bylo pouze pro konstrukci a testování proteinů, vážících specifické protilátky. Díky mnoha modifikacím je tato technologie nyní použitelná i pro řadu interakcí protein-protein a protein-peptid^{27,28}.

K hlavním výhodám této metody patří zejména možnost testovat velké knihovny peptidů. Vhodným zvolením podmínek během promývání fágů zachycených afinitní kolonou je také možné regulovat specifitu interakce. Nevýhodou je, že proteiny musí být exprimovány v *E. coli*, a tudíž mohou postrádat některé posttranslační modifikace, běžné v eukaryotických buňkách. Všechny proteiny/peptidy na povrchu fágů jsou ve fúzi s povrchovým proteinem, což může ovlivnit jejich aktivitu nebo možnost vázat určité interakční partnery.

8. Přenos rezonance fluorescenční energie

S objevem zeleného fluorescenčního proteinu (green fluorescent protein (GFP)) z medúzy *Aequorea victoria*²⁹ se otevřela nová cesta ke studiu a analýze proteinových interakcí. Přenos rezonance fluorescenční energie (fluorescence resonance energy transfer (FRET)) je jedinečná a velmi účinná metoda pro zjištění konformace, asociace či disociace molekul, a pro detekci intra- či intermolekulárních interakcí proteinů v živých buňkách³⁰. FRET je proces, při kterém dochází k přenosu energie z excitovaného donorového fluoroforu na akceptorový fluorofor, nacházející-li se v těsné blízkosti (typicky 10–100 Å). Pro FRET je možné použít proteiny, připravené jako fúzní konstrukty s GFP nebo jeho variantami (např. modrozelený fluorescenční protein (cyan fluorescent protein – CFP), žlutý fluorescenční protein (yellow fluorescent protein – YFP), nebo proteiny, které byly chemicky modifikovány kovalentním připojením k syntetickým fluoroforům (například k fluorescein isothiokyanátu – FITC)³¹. FRET se používá v řadě aplikací např. při analýze struktury a konformace proteinů, při zkoumání interakcí receptor-ligand, při studiu struktury a konformace nukleových kyselin, při zkoumání rozdělení a transportu lipidů

v membránách a mnoha dalších aplikacích³².

Techniky, využívající FRET jsou limitovány poměrně vysokým pozadím, způsobeným buněčnou autofluorescencí a přímou excitací fluorescenčního donoru. Tyto nevýhody mohou být odstraněny použitím techniky, nazvané přenos rezonance bioluminiscenční energie (bioluminescence resonance energy transfer (BRET)), která jako zdroj energie donoru využívá bioluminiscenci³³. Jako donor BRET je většinou používán enzym luciferasa, indukující fluorescenci luciferinu v přítomnosti ATP, a akceptory mohou být GFP nebo YFP.

Výhodou FRET mikroskopie je, že ji lze provádět v buňce za fyziologických podmínek. V porovnání s ostatními metodami studia proteinových interakcí, poskytuje FRET mikroskopie navíc také informace o lokalizaci interagujících proteinů v buňce. Spojuje tak v sobě výhody několika různých metod, např. afinitní chromatografie, charakterizující vzájemné interakce proteinů a imunochemické kolokalizace, pro zjištění přítomnosti dvou studovaných proteinů na stejném místě v buňce.

9. Závěr

Tento článek poskytuje přehled řady biochemických metod, využívaných pro identifikaci vzájemných proteinových interakcí. Zde popsané metody např. metody využívající vazby na nosič, koimunoprecipitace, chemické prokřížení nebo kvasničný dvojhybridní systém mohou být použity jak pro zjištění interakce mezi dvěma známými proteiny, tak pro odhalení nového interakčního partnera. Pro tento účel je výhodné použití metod umožňujících testování celých knihoven proteinů, jako např. kvasničný dvojhybridní systém či prezentace peptidů pomocí fágů.

Jednou z hlavních výhod těchto metod je, že detekce vzájemných interakcí probíhá za fyziologických podmínek např. při koimunoprecipitaci nebo přímo v buňce např. v kvasničném dvojhybridním systému nebo při přenosu rezonance fluorescenční energie. Přes nesporný přínos těchto metod má každá z nich určité limitace. Jedná se zejména o falešně pozitivní či negativní reakce či omezení na určité podmínky, např. při prokřížení bifunkčními činidly (poměrně úzké pH rozmezí pro jejich aktivitu). Proto je často nutné ověřit výsledek dvěma nebo více metodami.

LITERATURA

1. Piehler J.: *Curr. Opin. Struct. Biol.* 15, 4 (2005).
2. Golemis E. A., Adams P. D.: *Protein-Protein Interactions*. Cold Spring Harbor Academic Press, Cold Spring Harbor, New York 2005.
3. Terpe K.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60, 523 (2003).
4. Kaelin W.G., Pallas D. C., DeCaprio J. A., Kayo F. J., Livingston D. M.: *Cell* 64, 521 (1991).
5. Orlinick, J. R., Chao, M. V.: *J. Biol. Chem.* 271, 8627 (1996).
6. Cao X., Cismowski M. J., Sato M., Blumer J. B., La-

- nier S. M.: *J. Biol. Chem.* 279, 27567 (2004).
7. Li L., Xin H., Xu X., Huang M., Zhang X., Chen Y., Zhang S., Fu X. Y., Chang Z.: *Mol. Cell. Biol.* 24, 856 (2004).
 8. Rigaut G., Schevchenko A., Rutz B., Wilm M., Mann M., Seraphin B.: *Nat. Biotechnol.* 17, 1030 (1999).
 9. Knuesel M., Wan Y., Xiao Z., Holinger E., Lowe N., Wang W., Liu X.: *Mol. Cell. Proteomics* 2, 1225 (2003).
 10. Veraksa A., Bauer A., Artavanis-Tsakonas S.: *Dev. Dyn.* 232, 827 (2005).
 11. Gavin A. C., Boshe M., Krause R., Grandi P., Marzi-och M., Bauer A.: *Nature* 415, 141 (2002).
 12. Carr D. W., Scott J. D.: *Trends Biochem. Sci.* 17, 246 (1992).
 13. Hurst G. B., Lankford T. K., Kennel S. J.: *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* 15, 832 (2004).
 14. Fisher K. D., Helms J. B., Zhao L., Wieland F. T.: *Methods* 20, 455 (2000).
 15. Alley S. C., Ishmael F. T., Jones A. D., Benkovic S. J.: *J. Am. Chem. Soc.* 122, 6126 (2000).
 16. Simon M. J., Day R. A.: *Anal. Lett.* 33, 861 (2000).
 17. Jackson V.: *Methods* 17:125 (1999).
 18. Alaedini A., Day R. A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 264, 191 (1999).
 19. Heyduk E., Heyduk T.: *Biochemistry* 33, 9643 (1994).
 20. Golemis E. A., Adams P. D.: *Protein-Protein Interactions*. Cold Spring Harbor Academic Press, Cold Spring Harbor, New York 2001.
 21. Fields S., Song O.: *Nature* 340, 245 (1989).
 22. Kuroda K., Kato., Mima J., Ueda M.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 71, 127 (2006).
 23. Dang C. V., Barrett J., Villa-Garcia M., Resar L. M. S., Kato G. J., Fearon E. R.: *Mol. Cell. Biol.* 11, 954 (1991).
 24. Dove S.L., Joung J. K., Hochschild A.: *Nature* 386, 627 (1997).
 25. Karimova G., Pidoux J., Ullmann A., Ladant D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 5752 (1998).
 26. Smith G. P.: *Science* 228, 1315 (1985).
 27. Sidhu S. S., Fairbrother W. J., Deshayes K.: *ChemBioChem* 4, 14 (2003).
 28. Fuh G., Sidhu S. S.: *FEBS Lett.* 480, 231 (2000).
 29. Prasher D. C., Eckenrode V. K., Ward W. W., Prendergast F. G.: *Gene* 111, 229 (1992).
 30. Sekar R.B., Periasamy A.: *J. Cell. Biol.* 160, 629 (2003).
 31. Wallrabe H., Periasamy A.: *Curr. Opin. Biotechnol.* 16, 19 (2005).
 32. <http://probes.invitrogen.com/handbook/boxes/0422.html>, staženo 11.4.2007
 33. Issad T., Blanquart C., Gonzales-Yanes C.: *Expert. Opin. Ther. Targets.* 11, 541 (2007).

M. Wildová and M. Rumlová (*Gilead Sciences & IOCB Research Centre, Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic*): **Methods of Study of Protein-Protein Interactions**

The knowledge of the pattern and mechanism of protein-protein interactions helps in elucidation, on the molecular basis, of functioning of living organisms as well as in understanding cellular processes and functions. This review summarizes the widely used biochemical methods, from the oldest (but still powerful) to the most recent techniques, for identification and characterization of novel protein-protein interactions.

IVAX



Člen skupiny Teva

IVAX Pharmaceuticals s.r.o. (člen skupiny TEVA) se sídlem v Opavě-Komárově hledá **výzkumné a vývojové pracovníky pro divizi aktivních substancí** (se zaměřením na organickou a analytickou chemii) a výhledově rovněž **technology, kontrolory kvality a registrační pracovníky** (přednostně absolventy farmaceutických a chemických oborů).

Bližší informace o volných místech najdete na www.ivax-cz.com

NANO- A MIKROTUBULY PRO LÉČIVA

KATEŘINA KREJČOVÁ
a MILOSLAVA RABIŠKOVÁ

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

katerinakrejцова@yahoo.com

Došlo 2.11.07, přijato 5.12.07.

Klíčová slova: uhlíkové tubuly, peptidové tubuly, lipidové tubuly, formované tubuly, tubulární minerály, enkapsulace léčiv

Obsah

1. Úvod
2. Enkapsulace léčivých látek do nano- a mikrotubulů
3. Tubulární nosiče
 - 3.1. Uhlíkové nanotubuly
 - 3.2. Peptidové nanotubuly
 - 3.3. Lipidové nano- a mikrotubuly
 - 3.4. Formované nano- a mikrotubuly
 - 3.5. Tubulární minerály
4. Závěr

1. Úvod

Lékové transportní systémy zlepšují účinnost mnoha již existujících léčivých látek a umožňují zavádění nových léčebných postupů. Snaha o jejich miniaturizaci z makro- rozměrů (> 1 mm) k mikro- a nano- rozměrům spolu s objevem uhlíkových nanotubulů v roce 1991 zvýšily v průběhu posledních desetiletí zájem o nano- a mikrotubulární systémy, jež by bylo možné použít jako nosiče pro řízený přívod biologicky aktivních látek do organismu. Jsou tvořeny dutými trubicovitými jednotkami, na řezu kulatými, oválnými, trojčípými nebo i hvězdicovitými, jednoduchými nebo vrstvenými¹ (obr. 1).

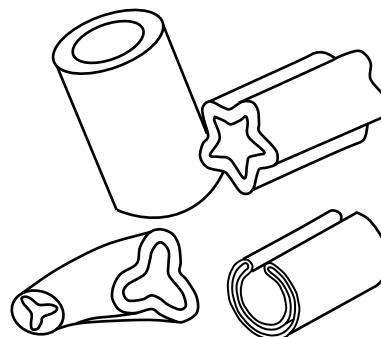
Tubulární nosiče představují geometricky zajímavou alternativu vhodnou pro uzavírání léčiv. Ve srovnání s tradičními sférickými nano- a mikroformami (pelety, mikro- a nanočástice, liposomy) nabízejí tubulární nosiče relativně velký vnitřní prostor, který je díky otevřeným koncům snadno přístupný a pro enkapsulaci látek výhodný².

Jednou z nevýhod těchto systémů, jež zatím brání širšímu využití, je jejich vysoká cena³. Není proto divu, že značně úsilí je věnováno zejména hledání nových výrobních metod a postupů, jež by umožňovaly jejich hromadnou produkci za přijatelnou cenu. Uhlíkové nanotubuly je možné vyrábět třemi metodami: metodou obloukového výboje, metodou laserové ablace a metodou depozice par (tzv. CVD metodou). Posledně jmenovaná metoda se jeví jako vhodná pro průmyslovou výrobu nanotubulů nejen z čistého uhlíku, ale i jiných materiálů⁴.

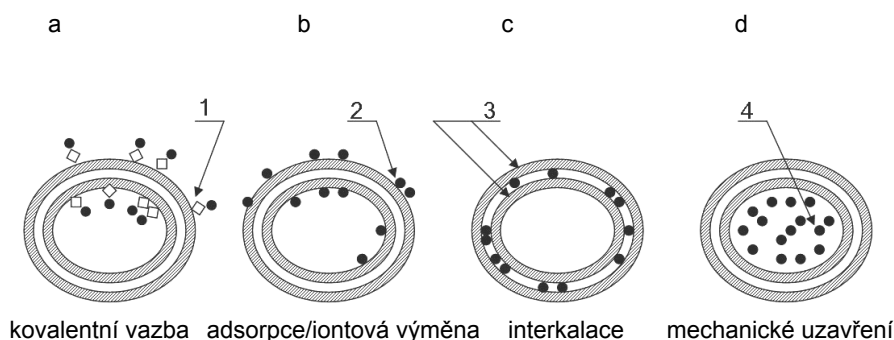
Nano- a mikrotubuly jiných anorganických sloučenin lze připravit synteticky, např. resublimací⁵, rychlou krystalizací taveniny⁶ nebo krystalizací silně koncentrovaných roztoků za hydrotermálních podmínek⁷. Například Yang a spol. syntetizovali v roce 2005 mikrotubuly tvořené jediným krystalem $Al_{18}B_4O_{33}$ se stěnami o síle 50–300 nm. Díky hladkému povrchu, dutému průřezu po celé délce a velmi ostrým hranám jsou tyto krystaly schopné pronikat biologickými tkáněmi, a tak je v budoucnu možné využít je pro transportní systémy doručující účinnou látku do místa očekávaného účinku nebo pro injekční aplikace⁶.

Další způsob výroby tubulárních útvarů využívá speciálních nano- nebo mikropórovitých forem². Jedná se v podstatě o membrány, jimiž po celé šířce prostupují válcovité póry stejného průměru. Do těchto pórů se nanáší nebo se v nich syntetizuje materiál tvořící stěnu budoucích tubulů. Po odstranění formy, např. jejím rozpuštěním, vznikají v závislosti na velikosti pórů monodisperzní pevná vlákna nebo duté tubuly stejné délky úměrně tloušťce použité formy⁸. Výhodou je možnost výroby útvarů rozmanitých rozměrů tvořených různými materiály, např. kovy, polovodiči, oxidem křemičitým nebo polymery^{8,9}.

Tubulární útvary mohou vznikat také samovolně, příkladem mohou být peptidové nanotubuly nebo lipidové nano- a mikrotubuly. Od 80. let 20. století se výzkum v této oblasti zaměřil na hledání malých organických molekul, jež jsou schopné se za normální teploty a atmosférického tlaku samovolně organizovat za vzniku supramolekulárních útvarů s makroskopicky jasně definovaným tvarem.



Obr. 1. Schematické znázornění možných tubulárních útvarů; US Patent 7168605 z roku 2007



Obr. 2. **Enkapsulační mechanismy** – chemická vazba (a), fyzikální adsorpce a/nebo iontová výměna (b), interkalace (c) a mechanické uzavření (d); 1 – molekula „spaceru“, 2 – molekuly léčivé látky, 3 – jednotlivé vrstvy tvořící stěnu tubulu, 4 – vnitřní prostor („lumen“)

rem¹⁰. Mechanismus jejich vzniku není přesně znám, předpokládá se účast nekovalentních vazeb, zejména vodíkových můstků, π - π interakcí, hydrofobních sil, van der Waalsových sil a sil elektrostatických^{10,11}. Výhodou samovolně vytvořených tubulů je jejich téměř bezchybná struktura¹².

Za slibný druh nanomateriálů je možné označit přírodní tubulární minerály, např. boulangerit, cylindrit, imogolit a halloysit. Jílový minerál halloysit představuje z farmaceutického hlediska nejvýznamnějšího zástupce této skupiny látek. Jílové minerály se těží v otevřených povrchových dolech a zpracovávají se např. odprašováním a promýváním, kdy se odstraňují nejílové složky, které tyto minerály v horninách doprovázejí¹³.

2. Enkapsulace léčivých látek do nano- a mikrotubulů

Léčivé látky se do tubulů mohou uzavírat prostřednictvím chemické vazby, fyzikální adsorpce, iontové výměny, interkalace nebo mechanicky (obr. 2).

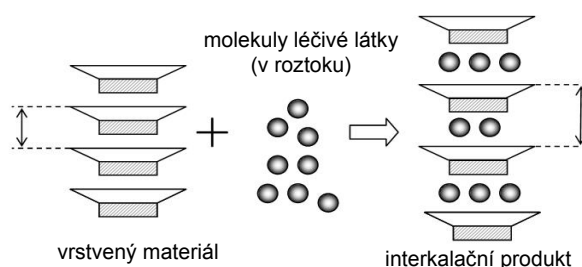
Chemicky se váže molekula účinné látky buď přímo na stěnu tubulu nebo přes spojovací molekulu tzv. spacer (obr. 2a). Příkladem může být 1,3-dipolární cykloadice uhlíkových tubulů reakcí s *N*-substituovaným glycinem a paraformaldehydem. Vznikají tak uhlíkové tubuly s modifikovaným (tzv. funkcionalizovaným) povrchem, ke kterému je možné kovalentně připojit různé antigeny, nukleové kyseliny, peptidy a aminokyseliny¹⁴ nebo molekuly cytostatik, antibiotik a antivirotik¹⁵.

Fyzikální adsorpce (obr. 2b) nastává, je-li povrch tubulů (vnější i vnitřní) ionizovaný nebo za určitých okolností ionizovatelný, stejně jako molekuly léčivé látky. Adsorpční jevy se uskutečňují v menších vzdálenostech, a proto průměr tubulů může být velmi malý a pohybovat se v řádech 1000 Å. Proces uvolňování účinné látky je poměrně pomalý. Molekula enkapsulovaného léčiva totiž během svého uvolňování podléhá uvnitř tubulu opakovaně adsorpci-desorpci a do okolí se uvolní až v okamžiku, kdy dosáhne jeho okraje¹⁶. Tubulární minerály, zejména hlini-

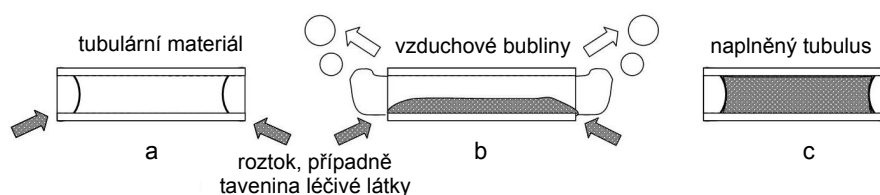
tokřemičitany (halloysit, imogolit), mají povahu polyelektrolytů, a je možné je využít pro formování vrstvených jílových nanokompozitů vznikajících střídavou adsorpcí opačně nabitých složek^{17,18}. Lvov a spol. takto připravili „sendvičový“ systém tvořený kladně nabitým polyethyleniminem a zápornými halloysitovými nanotubuly naplněnými účinnou látkou, jež vykazovala výrazně zpomalenou rychlost uvolňování¹⁸.

Princip vmezeření – interkalace (obr. 2c) je možné vysvětlit na příkladu fylosilikátů – vrstvených jílových minerálů. Tyto anorganické sloučeniny jsou složeny z tenkých lamel vzájemně propojených slabými van der Waalsovými silami a vodíkovými můstky. Díky tomu jsou tyto látky schopné mezi jednotlivé vrstvy pojmout různé menší organické molekuly, a tak vytvářet celou řadu interkalačních produktů¹⁹. Během interkalační reakce vstupuje hostující molekula do mezilamelárního prostoru a oddaluje hlinítokřemičitanové vrstvy minerálů (obr. 3). Interkalace se může realizovat iontovou výměnou nebo reakcí funkčních skupin minerálu a molekuly léčiva²⁰.

Čtvrtým mechanismem vedoucím k zabudování molekul léčivé látky do dutého trubcovitého útvaru je jejich prosté mechanické uzavření uvnitř tubulárního jádra (obr. 2d). Plnění tubulů se provádí tzv. „vakuovou meto-



Obr. 3. **Schematické znázornění interkalační reakce**



Obr. 4. Schematické znázornění plnění účinných látek do tubulů; US Patent 5538735 z roku 1996

dou“ založenou na principu kapilárních jevů a kapilární přitažlivosti¹⁶. Suché tubuly se smíchají s roztokem účinné látky, který proniká dovnitř otevřenými konci (obr. 4a). Působením vakua vzduch uzavřený uvnitř tubulů expanduje a uniká ve formě bublin (obr. 4b). Pod tlakem se roztok nasává do dutiny tubulu, až ji zcela vyplní (obr. 4c). V podstatě je možné do tubulů plnit jakoukoli kapalnou léčivou látku, anebo léčivou látku v podobě roztoku, taveniny, emulze nebo suspenze. Uzavíranými látkami mohou být mj. protilátky, antibiotika, antikoagulantia, antivirotika, látky působící proti AIDS, steroidy, antimykotika²¹.

3. Tubulární nosiče

3.1. Uhlíkové nanotubuly

Uhlíkové nanotubuly patří do skupiny fullerénů, po grafitu a diamantu třetí alotropické formy elementárního uhlíku. Jsou tvořeny atomy uhlíku uspořádanými do soustavy kondenzovaných benzenových kruhů²². Ty vytváří šestiúhelníkovou síť, tzv. grafenový plát, jež je svinutý do tvaru válce¹⁴ o průměru 1–5 nm a délce dosahující až 100 μm (cit.²). V závislosti na jejich struktuře se rozlišují dvě hlavní podskupiny: jednovrstevné a vícevrstevné uhlíkové nanotubuly složené ze dvou a více, až padesáti, soustředěných grafenových vrstev. Uhlíkové nanotubuly se komerčně dodávají v různých délkách (20–1000 nm) o různém průměru (2–100 nm) (cit.²²). Makroskopicky se jedná o aglomerovaný prášek, jež se může převádět na disperzi zpravidla pomocí ultrazvuku.

Uhlíkové nanotubuly vykazují zajímavé strukturální, optické, mechanické a elektrické vlastnosti. Ačkoli svým průměrem odpovídají 1/50 000 průměru lidského vlasu, jsou až 100× pevnější a 6× lehčí než ocelová vlákna stejné tloušťky. Jsou velmi ohebné a jsou schopné odolat i extrémním teplotám kolem 2800 °C. Uhlíkové nanotubuly emitují záření v blízké infračervené oblasti, pro lidské tělo neškodlivé, a proto je pravděpodobně bude možné v budoucnu využít pro neinvazivní diagnostiku a léčbu některých onemocnění⁴. Je možné je použít jako nosiče léčiv a biologicky aktivních molekul. Enkapsulace se uskutečňuje především prostřednictvím van der Waalsových a hydrofobních sil. Uhlíkové nanotubuly s modifikovaným povrchem jsou schopné procházet biologickými membránami a vstupovat do buněčných jader. Díky svým rozměrům nejsou nanotubuly buňkami rozeznány jako cizorodé, a tak

by v budoucnu mohly najít své využití v genové terapii, protinádorové léčbě a vakcinační praxi²³.

3.2. Peptidové nanotubuly

V roce 1993 M. Reza Ghadiri a spol.² jako první popsalí zajímavou skupinu nanotubulů vznikajících složením většího počtu prstenců cyklických polypeptidů. Cyklické polypeptidy jsou malé organické molekuly s molekulovou hmotností mezi 700–1400 D tvořené sudým počtem střídajících se D- a L-aminokyselin²⁴. Koncové aminokyseliny se spojují amidovou vazbou, přičemž se kruh uzavírá. Vznikají ploché podjednotky, jež se do podoby nanotubulů samovolně organizují postupným vrstvením. Jednotlivé vrstvy jsou propojeny vodíkovými můstky^{10,24}. Vlastnosti vnějšího povrchu tubulů (tj. spektrum chemických funkčních skupin) a velikost jejich vnitřního průměru lze upravit změnou druhu nebo počtu aminokyselin tvořících kruh. Například kruh tvořený 8, 10 a 12 aminokyselinami vede ke vzniku tubulů s vnitřním průměrem 0,8 nm, 1,0 nm, resp. 1,3 nm (cit.²⁵).

Samovolný vznik tubulární morfologie za přirozených podmínek společně s jejich hydrofilní povahou, schopností odolávat působení proteolytických enzymů, vysokou mechanickou, chemickou a tepelnou stabilitou, pevností, biodegradovatelností a biokompatibilitou naznačují, že peptidové nanotubuly by se v budoucnu mohly stát základem mnoha nanotechnologických aplikací včetně nosičů léčivých látek^{10,11}. Zajímavé je též využití peptidových nanotubulů jako antibiotik nové generace. Tubuly složené z polypeptidových prstenců tvořených šesti až osmi zbytky aminokyselin vykazují schopnost se selektivně zabudovávat do buněčných membrán některých Gram-pozitivních i Gram-negativních bakterií. Zde, podobně jako gramicidin A nebo amfotericin B, vytvářejí póry fungující jako umělé iontové kanály, jež ve svém důsledku vedou k rozvratu vnitřního prostředí bakteriální buňky a k její bezprostřední smrti¹⁰. Používání těchto „tubulárních antibiotik“ by v budoucnu mohlo představovat účinné řešení bakteriální rezistence vůči klasickým antibiotikům, jež v současnosti představuje v podstatě již globální problém^{2,24}.

3.3. Lipidové nano- a mikrotubuly

Lipidové tubuly představují poměrně nedávno objevený samovolně vznikající supramolekulární systém. Určité nesymetrické amfifilní lipidové molekuly krystalizují do

podoby velmi těsných vrstev spontánně tvořících rovná neohebná dutá vlákna s průměrem okolo 500–750 nm (cit.²⁶), délkou v rozmezí 1–200 μm (cit.^{10,27}) a tloušťkou stěny od 10 do 60 nm (cit.²).

Existuje několik teorií vysvětlujících samovolný vznik lipidových tubulů. V každém případě se však vznik tubulární struktury spojuje s použitím chirálních amfifilních molekul, např. glykolipidů²⁸, diacetylovaných fosfatidylcholinů nebo diacetylovaných fosfolipidů, v nichž je cholin nahrazen hydroxyethanolem²⁹. Velmi zjednodušeně lze říci, že chirální lipidové molekuly se v roztocích samovolně organizují do plochých nesymetrických vrstev, jež se následně svinou a tvoří některou ze známých, termodynamicky stálých, „ne-liposomálních“ mikrostruktur^{26,30}.

Lipidové mikrotubuly lze použít jako extracelulární nosiče pro celou řadu různých typů léčiv, antibiotik, biocidů, kontrastních látek nebo genetického materiálu. Tyto látky mohou být přímo součástí základní strukturní jednotky tubulů (tzv. „lipidovaná“ proléčiva), včleněny do lipidové dvojvrstvy, adsorbovány na povrch tubulů nebo působením kapilárních sil uzavřeny uvnitř centrální dutiny²⁹. Lipidové nano- a mikrotubuly pravděpodobně naleznou své uplatnění nejdříve pro topické a subkutánní aplikace (dlouhodobé vakcíny, nosiče antibiotik a růstových faktorů zabudované do chirurgických obvazů, nosiče antimykotik, genetického materiálu a kosmetik atd.). Nelze však vyloučit ani jejich použití jako perorálních nosičů např. peptidových léčiv a polynukleotidů. Díky těsnému uspořádání lipidových molekul je totiž obsažené léčivo ochráněno před jeho případnou předčasnou enzymatickou hydrolyzou²⁶.

3.4. Formované nano- a mikrotubuly

Formované nano- a mikrotubuly představují chemicky poměrně nesourodou skupinu. Společným jmenovatelem je v jejich případě vlastně metoda, jež vede k jejich vzniku.

Z biotechnologického hlediska se jako velmi zajímavé jeví tubulární útvary z oxidu křemičitého, jež byly syntetizovány ve formách z oxidu hlinitého metodou sol-gel. Tyto tubuly se snadno suspendují ve vodných roztocích a díky reaktivním silanovým skupinám na povrchu je poměrně snadné je selektivně chemicky modifikovat například tak, že vnitřní povrch je hydrofobní, zatímco vnější povrch je hydrofilní. Upravené křemičité tubuly se mohou použít např. pro extrakce lipofilních molekul z vodných roztoků nebo mohou sloužit pro imobilizaci proteinů a enzymů jejich navázáním za tvorby Schiffovy báze⁹.

3.5. Tubulární minerály

Nejnadějnějším zástupcem této skupiny je jílový minerál halloysit. Z chemického hlediska se jedná o hydratovaný vrstvený hlinitokřemičitan ze skupiny fylosilikátů¹³. Halloysit tvoří součást téměř všech zvětralých hornin, v nichž se nachází v různých tvarových modifikacích

a hydratovaných stavech³¹. Ačkoli se halloysitové tubuly nacházejí v hojné míře prakticky po celém světě, proces těžby a jejich izolování je technicky poměrně náročný³². Halloysit se nejčastěji vyskytuje ve formě dutých vícevrstevných trubiček mikroskopických rozměrů¹³, jejichž délka se v závislosti na místě původu pohybuje od 1 do 15 μm (cit.³³). Vnější průměr zpravidla nepřesahuje 300 nm a vnitřní průměr se pohybuje od 16 do 50 nm (cit.³⁴). Vzdálenost mezi dvěma nejbližšími vrstvami je přibližně 10 Å. Přítomnost vrstvy vody vklíněné mezi dvě přiléhající strukturní jednotky vede k odlupování vrstev, jejich rolování a vzniku typické tubulární morfologie halloysitu³⁵. Jako většina jílových minerálů vykazuje v širokém rozmezí pH permanentní negativní náboj^{36,37}. Podobně jako ostatní jílové minerály má velký vnější i vnitřní povrch a schopnost tvořit tzv. organojílové nanokompozity^{14,36}. Jejich formování se uskutečňuje zejména prostřednictvím kationtové výměny, elektrostatických interakcí, vodíkových můstků nebo jejich kombinací³⁶. Lze předpokládat, že stejně jako bentonit, hektorit a kaolinit, jež patří mezi běžně používané farmaceutické pomocné látky, i halloysit bude možné bez obav použít pro farmaceutické transdermální nebo perorální aplikace.

Lze ho plnit molekulami léčivých látek, ať už jejich uzavřením uvnitř centrální dutiny, jejich povrchovou adsorpcí, anebo vmezeřením (interkalací) do prostorů mezi jednotlivými vrstvami stěn tubulu, a zpomalovat rychlost jejich uvolňování do okolí. Po předcházejícím vhodném ošetření nativního halloysitu je možné minerální tubuly plnit jak hydrofilními (nejlépe kationtovými), tak hydrofobními molekulami³³.

4. Závěr

Využití syntetických i přírodních nano- a mikrotubulů ve farmacii a medicíně se pozvolna stává samostatnou a nadějnou oblastí výzkumu. Tubuly submikroskopických rozměrů se svými unikátními vlastnostmi slibují mnohonásobné využití, zejména jako nosiče v lékových transportních systémech. Některé z nich, např. proteinové nanotubuly, se mohou uplatnit jako léčiva samotná, jiné jako tubulární minerály mají použití výrazně širší, např. jako adsorbenty v ropném průmyslu, plniva do plastů, flokulující a suspendující činidla, nosiče katalyzátorů nebo jako přísady v papírenském, gumárenském, chemickém, kosmetickém, farmaceutickém a potravinářském průmyslu.

Přes popsané slibné vlastnosti nano- a mikrotubulů v řízeném, popř. cíleném transportu léčivých látek zbývá vynaložit ještě mnoho úsilí do jejich praktické aplikace. U většiny z nich je funkce nosičů léčiv ověřena pouze v podmínkách *in vitro*, otázkou zůstává jejich chování *in vivo* stejně jako toxicita řady z nich pro živý organismus. Lze však očekávat, že si najdou v terapii chorob své nezapustitelné postavení a přispějí k vyšší účinnosti a bezpečnosti farmakoterapie.

LITERATURA

1. Walak S. (Boston Scientific Scimed, Inc.): USP 7168605 (B21D39/04).
2. Kohli P., Martin C. R.: *Current Pharm. Biotechnol* 6, 35 (2005).
3. Price R. R., Gaber B. P., Lvov Y.: *J. Microencapsulation* 18, 713 (2001).
4. Rey D. A., Batt C. A., Miller J. C.: *Nanotech. Law Business* 2006, 263.
5. Heuer M., Wagner G., Doering T., Bente K., Kryukova G.: *J. Crystal Growth* 267, 745 (2004).
6. Yang J., Xie Z., Ma J., Miao H., Luo J., Zhang L., An L.: *J. Am. Ceram. Soc.* 88, 485 (2005).
7. Ohashi Y., Tomura S., Akaku K., Hayashi S., Walda S. I.: *J. Mater. Sci.* 39, 1799 (2004).
8. Cepak V. M., Martin C. R.: *Chem. Mater.* 11, 1363 (1999).
9. Mitchell D. T., Lee S. B., Trofin L., Lin N., Nevanen T. K., Söderlund H., Martin C. R.: *J. Am. Chem. Soc.* 124, 11864 (2002).
10. Zhou Y.: *Recent Patents on Nanotechnology* 1, 21 (2007).
11. Reches M., Gazit E.: *Current Nanosci.* 2, 105 (2006).
12. Whitesides G. M., Boncheva M.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99, 4769 (2002).
13. Christie T., Thomson B., Brathwaite B.: *N. Z. Mining* 27, 26 (2000).
14. Bianco A., Kostarelos K., Partidos C. D., Prato M.: *Chem. Commun.* 2005, 571.
15. Pastorin G., Wu W., Wieckowski S., Briand J. P., Kostarelos K., Prato M., Bianco A.: *Chem. Commun.* 2006, 1182.
16. Price R. R., Gaber B. P. (The United States of America, Secretary of the Navy): USP 5651976 (A01N025/28).
17. Arida A. I., Al-Tabakha M. M.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 66, 48 (2007).
18. Lvov Y., Price R., Gaber B., Ichinose I.: *Colloids Surf., A Physicochem. Eng. Asp.* 198–200, 375 (2002).
19. Suzuki N., Nakamura Y., Watanabe Y., Kanzaki Y.: *Chem. Pharm. Bull.* 49, 644 (2001).
20. Ambrogio V., Fardella G., Grandolini G., Nocchetti M., Periolo L.: *J. Pharm. Sci.* 92, 1407 (2003).
21. Ahn S. S.: USP 5538735 (A61K009/70).
22. Lacerda L., Bianco A., Prato M., Kostarelos K.: *Adv. Drug Deliv. Rev.* 58, 1460 (2006).
23. Sinha N., Yeow J. T. W.: *IEEE Trans. Nanobioscience* 4, 180 (2005).
24. Rouhi A. M.: *Chem. Eng. News* 79, 41 (2001).
25. Hartgerink J. D., Beniash E., Stupp S. I.: *J. Am. Chem. Soc.* 118, 43 (1996).
26. <http://faculty.washington.edu/yagerp/tubuleproposal.html>, staženo 8. 9. 2006.
27. Spector M. S., Singh A., Messersmith P. B., Schnur J. M.: *Nano Lett.* 1, 375 (2001).
28. Douliez J. P., Gaillard C., Navailles L., Nallet F.: *Langmuir* 22, 2942 (2006).
29. Riess J. G., Giulieri F., Krafft M. P., Zarif L. (Alliance Pharmaceutical Corp.): USP 5965258 (B32B1/00).
30. Masuda M., Shimizu T.: *Langmuir* 20, 5969 (2004).
31. Joussein E., Petit S., Churchman J., Thing B., Righi D., Delvaux B.: *Clay Miner.* 40, 383 (2005).
32. Wilson I. R.: *Clay Miner.* 39, 1 (2004).
33. Shchukin D. G., Sukhorukov G. B., Price R. R., Lvov Y.: *Small* 5, 510 (2005).
34. Levis S. R., Deasy P. B.: *Int. J. Pharm.* 253, 145 (2003).
35. Tari G., Bobos I., Gomes C. S. F., Ferreira J. M. F.: *J. Colloid Interface Sci.* 210, 360 (1999).
36. Kono K., Arshady R. (ed.): *Smart Nano and Microparticles*. Kentus Books, London 2006.
37. Itami K., Fujitani H.: *Colloids Surf., A* 265, 55 (2005).

K. Krejčová and M. Rabišková (*Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno*): **Nano- and Microtubes for Drugs**

In the recent 30 years, numerous nano- and micro-scale systems have been developed in order to find efficient carrier systems for drugs, antigens and genes which would facilitate their transport into specific tissues, cell populations and intracellular compartments. Tubular structures with submicroscopic dimensions seem to be an interesting alternative to spherical particles (e.g. liposomes, nano- and microparticles) already used for the above purposes. The structures are expected to offer new possibilities for diagnostic and therapeutic applications. Thanks to their large inner space, inner and outer surfaces and open ends, they might carry drug molecules, nucleic acids or even whole antigens and thus act as nonviral vectors for gene therapy or long-circulating vaccines. The present paper brings an overview of most important tubular materials. Carbon, peptide, lipid and template-synthesized nano- and microtubes as well as naturally occurring tubular minerals, their preparation and potential biomedical and biotechnological applications are reviewed.

DDAVP – 40 LET PRVÉHO SUPERAKTIVNÍHO VASOPRESINU. OBJEV A SOUČASNÝ PRAKTICKÝ VÝZNAM

Motto: I canterburský arcibiskup je z 60% jen voda. (Platí doslova). J.B.S. Haldane v E.H.F. Baldwin: The Nature of Biochemistry. Cambridge University Press, Cambridge 1966.

Bei meiner Arbeit hat mir eigentlich niemand geholfen; diejenigen, die mich dabei behinderten, will ich nicht aufzählen, denn dies würde zuviel Platz erfordern. (Neplatí, naštěstí, doslova). Stanislaw Lem: Die Sterntagebücher des Weltraumfahrers Ijon Tichy. Verlag Volk und Welt, Berlin 1961.

MILAN ZAORAL

V r. 1949–1989 vědecký pracovník Ústavu organické chemie a biochemie Československé akademie věd, 166 10 Praha 6, Flemingovo nám. 2. Současná adresa: Na Louko-ti 12, 160 00 Praha 6

Došlo 14.5.07, přijato 11.7.07.

Klíčová slova: objev, vlastnosti, výroba DDAVP, DDAVP v lékařské praxi, DDAVP inovace

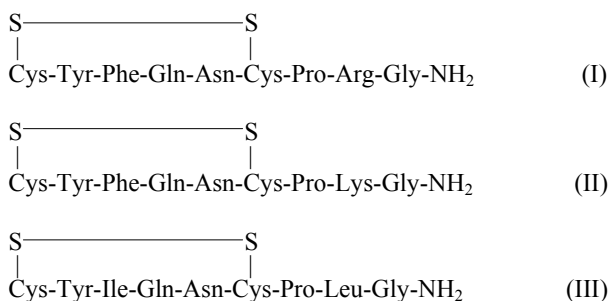
Obsah

1. Úvod
2. Základní úvahy
3. Od disociace antidiuretického a presorického účinku k DDAVP
4. Základní vlastnosti DDAVP
5. Zobecnění získaných poznatků
6. Struktura postranního řetězce bazické aminokyseliny v poloze 8 a biologické účinky vasopresinů. 8-D-substituce a 1-desaminace
7. Cesta DDAVP do výroby
8. DDAVP v lékařské praxi. Úvodní poznámka
 - 8.1. Terapie diabetes insipidus centralis
 - 8.2. Terapie enuresis nocturna
 - 8.3. Test na maximální koncentrační kapacitu ledvin
 - 8.4. Terapie hemofilie A a von Willebrandova syndromu
 - 8.5. DDAVP při uremiích
 - 8.6. DDAVP v chirurgii
 - 8.7. Další aplikace DDAVP
9. Inovace DDAVP
10. Závěr

1. Úvod

Vasopresiny, LVP a AVP (obr. 1), jsou neurohypofyzární, peptidové hormony, které jsou důležitým homeostatickým faktorem savčího a tedy i lidského organismu. Hormonem lidského organismu je AVP. Vasopresiny mají dva hlavní biologické účinky: diurézu snižující, antidiuretický účinek (AD) a účinek na krevní tlak. U savců krevní tlak zvyšují, mají presorický účinek (BP), u ptáků snižují, působí tedy depresoricky. Kromě toho mají reziduální účinky příbuzného hormonu oxytocinu (OT) (obr. 1 a tab. I). Z hlediska biologických účinků jsou vasopresiny látkami polyfunkčními, což má z praktického hlediska své zřejmé nevýhody.

V polovině 60. let minulého století – *hora ruit* – jsme se v naší tehdejší laboratoři Peptidy II Ústavu organické chemie a biochemie Československé akademie věd v Praze (ÚOCHB ČSAV), zabývali výzkumem vztahů mezi chemickou strukturou vasopresinů a jejich biologickými účinky. Práci jsme zaměřili atraktivním, ale v té době velmi riskantním směrem, tj. na přípravu látek s co nejvyšším a co nejjistším AD (cit.¹). Bylo zřejmé, že tyto látky, skutečné adiretivy, by byly nejen teoreticky, ale také prakticky zajímavé. Na praktický význam výzkumu byl tehdy kladen – *per fas nefasque* – velký důraz.



Obr. 1. Primární struktura AVP (I), LVP (II) a OT (III)

Tabulka I
Biologické účinky LVP, AVP a OT^a

Sloučenina	AD	BP	UT
LVP	209±10	243±3	4,7±0,5
AVP	429±42	380±38	16±4
OT	5±1	5±1	450±30

^a Hodnoty biologických účinků uvedené v tabulce jsou převzaty z publikací (cit. 4,7,23)

2. Základní úvahy

Klíč k přípravě látek s vysokým a specifickým AD jsme spatřovali v 8-D-substituci, tj. ve změně konfigurace bazické aminokyseliny v poloze 8 vasopresinové molekuly. Důvody, které nás k tomu vedly, jsem několikrát popsal dříve^{1–8}. Pro ty, kterým stále uniká podstata věci a snaží se parazitovat na DDAVP tým, že deformují základní racionálně objevu, opakují:

Polohu 8 jsme vybrali za místo pro provádění strukturních změn na základě jejího významu pro kvalitu a kvantitu biologických účinků vasopresinů (OT jsme při tom považovali za analog vasopresinů^{9,10}). Byl znám značný počet přirozených analogů modifikovaných v této poloze (tab. II). Když tedy Příroda mohla provádět v této poloze strukturní změny, proč ne my. Není bez zajímavosti, že polohu 8 považují někteří autoři za velmi citlivou na strukturní změny¹¹.

Při úvahách o typu strukturních změn jsme vycházeli z plauzibilní představy o interakci vasopresinu se dvěma typy receptorů, antidiuretickým a presorickým. Bylo logické předpokládat, že tyto interakce budou odlišné povahy

a tedy že strukturní změny v poloze 8 ovlivní biologické účinky vasopresinu odlišným způsobem. Občas se nám vytýkalo, že existovala, v nejlepším případě, jen 50% pravděpodobnost, že se tak stane požadovaným způsobem a že pozitivní výsledek, který jsme získali, byl v tomto směru náhodný. Tito glosátoři však přehlédli existenci analogů^{12–17} uvedených v tabulce III. Z jejich vlastností jsme usuzovali na větší citlivost BP na stereochemické strukturní změny v poloze 8 než účinku AD. Na výzkumu dvou ze tří uvedených analogů jsem se podílel, takže jsem měl informace „z prvé ruky“ a dovedl jsem je správně využít. Na základě toho jsem zvolil jako strukturní změnu změnu konfigurace, ve snaze docílit maximální delokalizaci postranního řetězce bazické aminokyseliny v poloze 8.

Změnou konfigurace v poloze 8 jsme se snažili dosáhnout – a také dosáhli – disociace AD a BP, nikoliv prodloužení biologických účinků. Každý, kdo má alespoň elementární představu o enzymatické degradaci vasopresinů v organismu ví, že pokus o prodloužení biologických účinků vasopresinů pouhou změnou konfigurace v poloze 8 je absurdní.

Tabulka II
Přirozené analogy vasopresinů a oxytocinu^a

	S							S		
Arginin vasopresin	Cys	Tyr	Phe	Gln	Asn	Cys	Pro	Arg	Gly-NH ₂	
Lysin vasopresin								Lys		
Arginin vasotocin			Ile					Arg		
Fenypresin		Phe						Lys		
Oxytocin			Ile					Leu		
Mezotocin			Ile					Ile		
Valitocin			Ile					Val		
Izotocin			Ile	Ser				Ile		
Glunitocin			Ile	Ser				Glu		
Aspartocin			Ile	Asn				Leu		
Poloha	1	2	3	4	5	6	7	8	9	

Pozn.: Schematicky je vyznačen disulfidový most mezi Cys¹ a Cys⁶. ^a Další údaje k látkám uvedeným v tabulce lze nalézt v publikacích (cit. 1,4,5,7,10). Zaslouží zmínky, že vasotocin, mezotocin, valitocin a aspartocin byly připraveny synteticky dříve, než byly izolovány z přírodního materiálu

Tabulka III

Oxytocinové a vasopresinové analogy se zvýšenou specifičností antidiuretického účinku syntetizované před DDAVP

Sloučenina	AD	BP	UT	Lit.
[Phe ³]OT ^a	30	3	20	12,14
[D-Leu ⁸]OT	slabý účinek	0	20	15
[Tly ⁸]VP	400±50	35±5	5	16,17

^aOxypresin

3. Od disociace antidiuretického a presorického účinku k DDAVP

Náš přístup byl úspěšný. Hned prvý analog, který jsme podle něj připravili^{18,19} [D-Dab⁸]VP, měl v podstatě vlastnosti, které jsme hledali, tj. měl značný a značně specifický AD (tab. IV). Důvod, proč jsme připravili tento analog jako prvý, byl jednoduchý. V té době, ve druhé polovině 60. let, byla totiž kyselina D-2,4-diaminomáselná jedinou bazickou aminokyselinou konfigurace D, kterou jsme měli k dispozici v dostatečném množství. Zaslouží zmínky, že diastereomerní látku, all-L-sloučeninu, jsme připravili^{18,20} již ve druhé polovině 50. let a referovali²¹ jsme o ní na Kongresu IUPAC v Mnichově (1959). Byl to druhý vůbec připravený vasopresinový analog a prvý se značnými biologickými účinky (tab. IV). Od [D-Dab⁸]VP vedla cesta přímo, přes [D-Lys⁸]VP a [D-Arg⁸]VP (cit.^{22,23}) k DDAVP, tj. k [Mpr¹, D-Arg⁸]VP (cit.²⁴).

4. Základní vlastnosti DDAVP

DDAVP má minimálně o dva řády vyšší AD ve srovnání s AVP, nepatrný BP a snížené reziduální účinky OT (tab. IV). V literatuře se setkáváme s širokým rozpětím hodnot pro AD DDAVP (což závisí na způsobu stanovení AD). Při stanovování AD metodou podle Sawyera²⁵ modifikovanou Pliškou a Rychlíkem²⁶, má závislost účinku na logaritmu dávky exponenční podobu a příslušná křivka není paralelní s křivkou standardu (LVP nebo AVP). Velikost AD DDAVP nelze tedy vyjádřit jedním číslem.

Pro nízké nadprahové dávky jsme udávali pro AD DDAVP hodnotu 870 IU mg⁻¹. Pro terapeutické dávky jsme hodnotu AD DDAVP odhadovali na 50 000 IU mg⁻¹, což později, v nezávislé studii, potvrdil Vávra se spolupracovníky²⁷. Metoda podle Plišky a Rychlíka používá chirurgicky preparované pokusné zvíře (krysa potkan, dále jen krysa), které má zavedenou žaludeční sondu, voperovanou kanylu do močového měchýře a je v alkoholové narkóze. Velký rozptyl výsledků jsme zprvu přičítali nízké kvalitě pokusných zvířat, která jsme měli tehdy k dispozici, a účinkům stresu. Stres ovlivňuje nejen sekreci adrenalinu, ale také vasopresinů²⁸. AD vysokých dávek DDAVP podávaných pacientům při rozsáhlých chirurgických zásazích, se prakticky neprojevuje (viz kapitola DDAVP v chirurgii). A „sawyerovská krysa“, nebo krysa podle Plišky a Rychlíka chcete-li, je operované a narkotizované zvíře. Podle mého názoru nebyla také brána v úvahu existence vodního a solného centra v mezimozku, které je spojeno nervovými drahami s prodlouženou míchou²⁹. Nebyla tedy vzata v úvahu neuronální složka mechanismu antidiurezy, která může být významně ovlivněna chirurgickou přípravou a premedikací pokusného zvířete. Abychom se tomu všemu vyhnuli, obrátili jsme se k metodě podle Burna³⁰, která používá intaktní, nestresované zvíře. Metoda podle Burna nám poskytla mnohem konzistentnější, uspokojivé výsledky. Metoda podle Burna je také podstatně bližší klinickému experimentu a klinické praxi než metoda podle Plišky a Rychlíka. Pacienti by asi protestovali, kdyby měli být připravováni a premedikováni jako „sawyerovská krysa“ při hodnocení biologického účinku antidiuretik vasopresinového typu.

Tabulka IV

Analogy připravené na cestě k DDAVP

[X ⁸]VP	AD	BP	UT	Lit.
Dab	120±30	149	3,5	18,20,21
D-Dab	120±30	3,6	0,1	18,19
D-Lys	6–10	0,75	0,4	22,23
D-Arg	114	4,1	0,4	22,23
[Mpr ¹ , D-Arg ⁸]	50445±9840	0,96	5,1	24

5. Zobecnění získaných poznatků

Na papíře to vypadá vše velmi jednoduše a snadno. V počátcích naší práce jsme však nevěděli, jak obecný je vliv změny konfigurace v poloze 8 a není-li rušen dalšími strukturními změnami, což mělo zásadní význam pro cílelou konstrukci vasopresinových analogů. Abychom si tyto otázky objasnili, uskutečnili jsme v létech 1966–1979 dosti rozsáhlou studii, během níž jsme syntetizovali a re-syntetizovali celkem 28 vasopresinových analogů. Získané výsledky jsme shrnuli v přehledu⁴ publikovaném v r. 1985. Vedly k těmto závěrům: Změna konfigurace bazické aminokyseliny v poloze 8 vasopresinové molekuly vede, prakticky obecně, k analogům s výrazně zvýšenou specifíčností AD, způsobenou snížením BP. Změna konfigurace má dominantní postavení, tj. její vliv není rušen zavedením dalších strukturních změn do vasopresinové molekuly. *Změna konfigurace v poloze 8 vede tedy k nové skupině vasopresinových analogů, vyznačující se vysokou specifíčností AD.* Délka postranního řetězce bazické aminokyseliny v poloze 8 ovlivňuje v L-řadě velikost a částečně i specifíčnost AD. V D-řadě ovlivňuje velikost AD a jen nepatrně jeho specifíčnost.

6. Struktura postranního řetězce bazické aminokyseliny v poloze 8 a biologické účinky vasopresinů. 8-D-substituce a 1-desaminace

Nyní, po uplynutí více než 20 let od zveřejnění souhrnné tabulky⁴, doplňujeme naši předchozí studii o korelaci vztahů mezi biologickými účinky analogů obsahujících v poloze 8 bazické aminokyseliny o sudém a lichém počtu uhlíkových atomů.

Srovnávali jsme 6 skupin analogů uvedených

v tabulce V. V jednotlivých skupinách jsme zprůměrovali hodnoty AD analogů obsahujících v poloze 8 bazické aminokyseliny o sudém a lichém počtu uhlíkových atomů v postranním řetězci. Výsledky jsou uvedeny v tab. VI. V L-řadách, jak vyplývá z tab. VI, je AD zřetelně vyšší u analogů obsahujících v poloze 8 bazickou aminokyselinu o sudém počtu uhlíkových atomů, v D-řadách je AD vyšší u analogů obsahujících v poloze 8 bazickou aminokyselinu o lichém počtu uhlíkových atomů. Tento nálezn je nesporně zajímavý a v oblasti biologicky účinných peptidů nový. Odráží, velmi pravděpodobně, rozdíly v prostorovém uspořádání vasopresinových analogů a jejich interakci s V2 receptory v ledvinách.

AD DDAVP a strukturně podobných látek je výsledkem kooperativního působení 8-D-substituce a 1-desaminace. Relativní příspěvek těchto strukturních změn vyplývá ze srovnání změn velikosti průměrného AD a BP při přechodu z amino-L-řady do desamino-L-řady, ze změn biologických účinků pozorovaných při analogických přechodech v D-řadě a při přechodech z L-řad do D-řad (tab. VII). 1-Desaminace způsobuje v L-řadě značné zvýšení AD (ze 125 na 721; 5,8×) a nesignifikantní snížení BP (226–220; 1,03×). Specifíčnost AD vypočtená z poměrů AD/BP pro jednotlivé analogy, vzrostla sice 29× ve srovnání s amino-L-řadou, ale BP zůstává při tom vysoký. 1-Desaminace v D-řadě způsobuje značné zvýšení AD (111–415; 3,7×) a nevýznamné zvýšení BP (5,5–6,2; 1,13×), BP zůstává při tom velmi nízký. 8-D-substituce způsobuje v aminořadě a desaminořadě malé snížení AD (125–111; 1,13× a 721–415; 1,7×) a velké snížení BP (226–5,5; 41× a 220–6,2; 35×) (tab. VII). Hlavním faktorem při disociaci AD a BP je 8-D-substituce. 1-Desaminace má jen malý vliv na poměr mezi AD a BP a při přípravě vasopresinových analogů s vysokým a vysoce specifickým AD má jen podpůrný, potenciační význam.

Tabulka V
Srovnání skupin analogů

Aminokyselina v poloze 8		Řada												
		L			dL ^b			D			dD ^c			
	C ^a	AD	BP	AD/BP	AD	BP	AD/BP	AD	BP	AD/BP	AD	BP	AD/BP	
I	Dap	1	50	109	0,5	1097	14	78	160	21	8	953	23	41
II	Dab	2	120	149	0,8	1373	450	3	120	3,6	33	360	2,0	176
III	Orn	3	88	360	0,2	202	355	0,6	60	0,2	250	590	4,8	123
IV	Lys	4	209	243	0,9	301	126	2,4	8	0,7	11	3,8	1,0	3,6
V	Hly	5	159	267	0,6	634	153	4,1	207	1,8	113	170	0,5	340
VI	Dap(G)	1	--	--	--	7500	49,1	152	--	--	--	43500	2,7	16100
VII	Nar	2	--	--	--	90500	150	60	--	--	--	10000	16,3	613
VIII	Arg	3	400	430	0,9	1300	370	3,5	--	--	--	50000	0,9	52000
IX	Har	4	--	--	--	5500	274	20	--	--	--	1500	0,5	3000

Hodnoty AD a BP uvedené v tabulce, použité pro výpočet dat uvedených v tabulce VI, jsou převzaty z přehledného článku⁴ str. 567.

^a Počet uhlíkových atomů v postranním uhlíkovém řetězci bazické aminokyseliny v poloze 8, ^b dL = desamino-L, ^c dD = desamino-D

Tabulka VI

Průměrný AD vasopresinových analogů obsahujících v poloze 8 bazické aminokyseliny o sudém nebo lichém počtu uhlíkových atomů v postranním řetězci

Skupina	L ^a	dL ^a	D ^a	DD ^a	dL ^b	DD ^b
lichý počet	99	644	142	571	4400	46 750
sudý počet	164	837	64	182	48 000	5750

^a Analogy lysinového typu (I–V, tab. V), ^b analogy argininového typu (VI–IX, tab. V)

Tabulka VII

Relativní vliv 8-D-substituce a 1-desaminace na průměrnou velikost a specifčnost AD

Biologický účinek	1 L ^a	2 dL ^a	3 D ^a	4 DD ^a	5 dL ^b	6 DD ^b
AD	125	721	111	415	26200	26250
BP	226	220	5,5	6,2	211	5,1
AD/BP	0,6	17,6	83	137	59	1,8·10 ⁴

Vliv 8-D-substituce ilustruje srovnání sloupců 1,3; 2,4 a 5,6. Vliv 1-desaminace srovnání sloupců 1,2 a 3,4; ^a analogy lysinového typu (I–V, tab. V), ^b analogy argininového typu (VI–IX, tab. V)

7. Cesta DDAVP do výroby

Když byly nesporně atraktivní vlastnosti DDAVP nezávisle potvrzeny v tehdejší Výzkumném ústavu pro farmacii a biochemii³¹ a když orientační klinické testy prokázaly jeho vysokou účinnost při substituční terapii *diabetes insipidus*³², bylo rozhodnuto zavést jej urychleně do výroby a lékařské praxe. To je složitá, pracná a zdlouhavá procedura, kterou se zde nemůžeme podrobněji zabývat. Jednotlivé stupně realizačního procesu jsou chronologicky zachyceny v tab. VIII, převzaté z mé přednášky na 28. Peptidovém sympoziu⁸. Jak je z tab. VIII patrné, byl DDAVP vyráběn v České republice asi 28 let. V létech 1973–1975 byl produkován na ÚOCHB ČSAV, poněvadž podnik, který měl zajišťovat výrobu, nebyl na ni včas připraven. Oficiálně byla výroba v České republice zahájena v r. 1976. Preparát byl záhy zařazen mezi společensky nezbytná léčiva a jeho výroba byla subvencována státem. V podniku Léčiva np., závod 03 v Modřanech, byla výroba DDAVP skončena v r. 1989. V období 1976 až 1989 nevyvolal DDAVP v ČR žádnou zvláštní pozornost. Jeho roční produkce nepřesáhla několik set gramů. V r. 1989–1999 vyráběla DDAVP v ČR firma Ferring-Léčiva. Rok 1999 znamená definitivní konec výroby DDAVP v ČR.

V r. 1971 byla licence na výrobu DDAVP prodána švédské firmě Ferring AB, Malmö. Tato firma věnovala DDAVP zaslouženou pozornost. Stimulovala a podporovala klinický výzkum, organizovala konference, sympo-

zia, atd. Není divu, že produkce DDAVP měla u této firmy stále rostoucí tendenci. Jeho roční výroba se v současnosti odhaduje na 30–40 kg. To je, vyjádřeno v korunách, za použití běžných cenových relací, $10,5 \cdot 10^9 - 14 \cdot 10^9$ Kč. Což je velmi slušný výsledek na preparát typu DDAVP.

8. DDAVP v lékařské praxi. Úvodní poznámka

Tuto pasáž koncipuji poněkud šířeji tak, aby umožňovala reálné zhodnocení významu DDAVP. Funkci vasopresinů můžeme ilustrovat jednoduchým způsobem. Ledvinami proteče asi 600 ml plazmy/min. (tj. cca 864 l/24 h). Z 600 ml plazmy se vytvoří asi 120 ml min⁻¹ (tj. cca 173 l/24 h) glomerulárního filtrátu. Z tohoto množství se zhruba 90 %, tj. cca 156 l/24 h vrací do organismu pasivní rezorpcí v ledvinách. Ze zbylých asi 17 l/24 h se zase asi 90 % vrací do organismu, ale rezorpcí řízenou vasopresinem. Zbytek, cca 1,5 l/24 h, odchází z organismu jako moč. Při úplném selhání vasopresinového regulačního mechanismu odtéká z organismu renální cestou minimálně 17 l moče/24 h. Lze si snadno představit, co to znamená, uvážíme-li, že vitální kapacita močového měchýře činí 300 až 600 ml, že ztráta vody vyvolává pocit žízně a že ztrátu vody je nutné nahrazovat*. Vzniká tak velmi nepříjemný stav, který bývá – poněkud naturalisticky – popisován jako život mezi WC a vodovodním kohoutkem. Přesněji řečeno, je to stav vyznačující se polyurií a polydipsií. To jsou symptomy choroby nazývané *diabetes insipidus* (DI), český

* Relevantní údaje lze nalézt v učebnicích lékařské biochemie, fyziologie a anatomie.

Tabulka VIII
Cesta DDAVP do výroby a lékařské praxe

Příhláška patentu:	PV 5996, 15.9.1966.
Patent:	č. 132685, 15.6.1969.
Publikace:	1967 (cit. 24).
Základní farmakologický výzkum:	ÚOCHB ČSAV 1965–1966.
Podrobný farmakologický výzkum:	Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii, Praha 1966–1968. Závěrečná zpráva, Praha 1968.
Výrobní předpis:	Adiuretin SD, DDAVP. ÚOCHB ČSAV, Praha 1972.
Předklinické testy:	III. Klinika pro interní medicínu, LF UK Praha, 1966–1968 (cit. 32).
Klinické testy:	tamtéž, 1968–1972.
Rozšířené klinické testy:	tamtéž, 1972–1975.
Prodej licence:	Licence na výrobu a využití DDAVP byla prodána švédské firmě Ferring AB, Malmö, 1972.
Výroba DDAVP v ČSSR a ČR:	ÚOCHB ČSAV Praha, 1973–1975. Léčiva np. závod 03, Praha, 1976–1989. Ferring-Léčiva, Praha, 1989–1999.
Výroba lékové formy:	Ferring-Léčiva, Jesenice u Prahy, 1999–2006.
Výroba DDAVP (desmopressinu) u firmy Ferring AB, Malmö:	1972 až dosud.
Zavedení DDAVP do lékařské praxe:	V ČSSR od r. 1972, komerční název Adiuretin SD-Spofa, od r. 1999 komerční název Adiuretin [FERRING-Léčiva].
Objem výroby:	V ČSSR a ČR nepřekročil množství několika set g rok ⁻¹ . Objem výroby DDAVP (desmopressinu) u firmy Ferring AB se odhaduje na 30–40 kg rok ⁻¹ .

úplavice žíznivá, lidově žíznivka. Pro orientační informaci viz např.³³. Polyurie je ovšem různá, podle stupně rozvoje choroby. Za polyurii se považuje stav, kdy je množství vyloučené moče vyšší než 3–4 l/24 h. Pro informaci: z 59 pacientů sledovaných na III. Interní klinice Fakultní nemocnice UK v Praze během testování DDAVP, mělo 30 pacientů (51 %) diurézu 4–10 l/24 h a 29 pacientů (49 %) diurézu 10–20 l/24 h a vyšší. Z toho 6 pacientů mělo diurézu vyšší než 20 l/24 h.

Sekrece vasopresinu není v průběhu dne konstantní. V nočních hodinách je vyšší než ve dne. V nočních hodinách se proto tvoří menší množství moče, což je z fyziologického hlediska důležité. Pokud je cirkadiánní rytmus sekrece vasopresinu porušen, tj. když se v nočních hodinách uvolňuje do krevního řečiště méně vasopresinu, tvoří se větší množství moče, které pak přesahuje vitální kapacitu močového měchýře a vznikají tak podmínky pro velmi nepříjemnou chorobu, pro noční pomočování dětí (*enuresis nocturna*, EN), která ale postihuje i asi 1 % dospělé populace. Jak DI tak EN jsou choroby, které neohrožují přímo život pacienta, ale způsobují mu vážné psycho-

logicko-sociální problémy (k EN viz např.^{34–36}).

8.1. Terapie diabetes insipidus

DI není našťástí příliš časté onemocnění. Podle starších údajů připadá 15–16 nemocných na 100 000 obyvatel. Nyní jsou tato čísla podstatně vyšší, díky rostoucímu počtu dopravních nehod nezřídka spojených s poraněním hlavy a poškozením hypotalamo-neurohypofyzární oblasti. Hlavní způsob léčby DI spočívá, podobně jako u *diabetes mellitus* (úplavice cukrová), v substituční terapii, tj. do organismu dodáváme chybějící hormon. Až do zavedení DDAVP, používaly se k tomuto účelu preparáty založené na LVP a AVP nebo na směsi obou hormonů. Všechny tyto preparáty měly řadu nevýhod. Především nízký a krátkodobý účinek (2–3 h u LVP a 4–6 h u AVP) a vedlejší účinky, vysoký účinek na krevní tlak a reziduální účinky oxytocinové. Vysoký presorický účinek AVP a LVP je nebezpečný pro pacienty s refrakterním kardiiovaskulárním systémem a prakticky znemožňuje potřebné zvyšování terapeutických dávek. Podobně je tomu u reziduálních

účinků oxytocinových, které jsou nebezpečné pro těhotné ženy. Problém substituční terapie DI vyřešil teprve DDAVP. 1–2 kapky vodného roztoku DDAVP obsahujícího 0,1–0,2 mg DDAVP v 1 ml roztoku normalizují polyurii a polydipsii u většiny pacientů po dobu 12–24 h. DDAVP má jen nepatrný presorický účinek a velmi snížené reziduální účinky oxytocinové. Lze jej tedy aplikovat i u pacientů s oběhovými poruchami a u těhotných žen. U preparátů DDAVP nedochází také k postupné ztrátě účinnosti, která se vyskytuje u preparátů obsahujících LVP a AVP. DDAVP terapie DI je velmi účinná. Ještě dnes, po více než 30 letech DDAVP terapie DI, je DDAVP v této oblasti stále považován za preparát první volby. Je možné namítnout, že počet pacientů trpících DI je nízký. To je pravda z regionálního hlediska, ale ne z hlediska globálního. A současný svět se rychle globalizuje. Pak máme co dělat s počty pacientů zajímavých nejen z humánního, ale také z komerčního hlediska. Vedle vodného roztoku DDAVP jsou dnes na trhu k dispozici i preparáty pro použití *per os*.

8.2. Terapie enuresis nocturna

EN lze definovat jako samovolné pomočování dětí starších 5 let, s frekvencí 1–3× týdně. Příčina EN zůstává dlouho v oblasti dohadů a spekulací. S oblibou bývala spojována s různými psychosomatickými faktory. Dětské enuretice končovali často v psychiatrických léčebnách, kde jim byla aplikována různá, i toxická psychofarmaka, např. tricyklická antidepresiva, což nebyl zrovna nejšetrnější přístup. Není bez zajímavosti, že teprve pozitivní výsledky DDAVP terapie^{37–40} EN obnovily zájem o velikost noční produkce moče u enuretiků⁴¹ a o cirkadiánní rytmus vylučování vasopresinu. Tak původně symptomatická DDAVP terapie EN byla vlastně kauzální terapií a přispěla k objasnění příčiny EN. Podobně jako u DI je v současné době DDAVP považován za lék první volby i u EN. Velmi úspěšná je DDAVP terapie EN v akutních případech, jako jsou výlety, zájezdy, krátkodobé pobyty, ap. Při krátkodobé aplikaci (kratší než 3 měsíce) však dochází k recidivám choroby³⁴. Tomu lze zabránit dlouhodobou (více než 8 měsíční) kontrolovanou léčbou⁴⁴. Doporučuje se rovněž kombinace DDAVP terapie se zvukovou signalizací³⁴. DDAVP terapie EN má dva aspekty. Kromě, v podstatě substituční terapie zaměřené na snížení produkce moče v nočních hodinách, jde o vytvoření a fixaci podmíněného „antidiuretického reflexu“. V tomto případě se patrně uplatňuje i pozitivní vliv DDAVP na paměť.

8.3. Test na maximální koncentrační kapacitu ledvin

Používá se při diagnostice ledvinových chorob. Fyziologicky nejpřirozenější je postup založený na žíznění. Pacient nepřijímá tekutiny a sleduje se množství a koncentrace (osmolalita) vylučované moče. Test je dlouhodobý (14–36 h) a pro pacienty nepříjemný a náročný. Problema-

tický je u malých dětí. U batolat a kojenců je prakticky neproveditelný. Dobu testu se podařilo zkrátit aplikací pitressin tannátu⁴⁵ (suspenze tannátu vasopresinů v podzemnicovém oleji). Olejové injekce však byly velmi nepříjemné. Komplikujícím faktorem byl rovněž vysoký BP preparátu. Tyto problémy byly odstraněny náhradou Pitressin tannátu DDAVP. Test založený na použití DDAVP byl zaveden v pediatrii^{46–48}. Byl standardizován a kvantifikován Jandou a spol.⁴⁹ a jeho aplikační možnost byla rozšířena i na batolata a kojence. V těchto případech je nutno provádět test za pečlivé kontroly. Předávkování může vést k vážným komplikacím (intoxikace vodou). V současné době lze DDAVP test použít ve všech věkových kategoriích pacientů^{46–51} a je považován za nejlepší metodu pro stanovení maximální koncentrační kapacity ledvin⁵².

8.4. Terapie hemofilie A a von Willebrandova syndromu

Hemofilie je vážné, především dědičné, ale také získané onemocnění, způsobené poruchami srážlivosti krve. Srážlivost krve je složitý, mnohastupňový proces, na němž se podílí řada faktorů. U klasické hemofilie A chybí v krvi pacienta faktor VIII (antihemofilní globulin), u hemofilie B faktor IX (Christmas factor), u von Willebrandovy choroby faktor von Willebrandův (vWF), který hraje klíčovou roli při adhezi krevních destiček k subendotelové pojivové tkáni. Mírné formy hemofilie se vyskytují mnohem častěji než těžké formy.

Bylo známo, že intravenózní aplikace vasopresinů, pitressinu a AVP, zvyšuje aktivitu aktivátoru plasminogenu^{53–55} a tak ovlivňuje krvácivost. Toto působení se přisuzovalo jednak vasokonstrikčnímu účinku vasopresinů, jednak jejich nespecifickému působení, především schopnosti vyvolávat silnou abdominální bolest. Bylo proto dosti překvapivé, když se ukázalo, že DDAVP, který má jen nepatrný vasokonstrikční účinek a nevyvolává abdominální bolesti, výrazně ovlivňuje aktivátor plasminogenu, faktor VIII a von Willebrandův faktor vWF (cit.⁵⁶). Tento poznatek otevřel pro DDAVP cestu do oblasti terapie krvácivosti⁵⁷.

Standardní způsob terapie hemofilie A, před vstupem DDAVP do této oblasti, spočíval v aplikaci plazmatických koncentrátů faktoru VIII a kryoprecipitátů. Tento postup je nákladný a rizikový. Pacientovi při něm hrozí nebezpečí infekce takovými chorobami, jako jsou hepatitida B a C a AIDS. Riziko přenosu těchto virálních onemocnění se sice postupně snižuje, ale stále zůstává. Kromě toho, další problém aplikace koncentrátů faktoru VIII a kryoprecipitátů, spočívá v omezených zdrojích plazmy, v nízkých výtěžcích při přípravě obou preparátů a v jejich nákladnosti. Využití DDAVP v oblasti krvácivosti byla proto věnována značná pozornost. Souborné základní informace lze nalézt např. ve Sborníku pracovní sekce (workshop) věnované použití desmopressinu (DDAVP) při poruchách krvácivosti²⁸. V současné době se DDAVP doporučuje pro terapii mírných forem hemofilie A a typu 1 von Willebrandova

syndromu. DDAVP terapie je méně nákladná ve srovnání s používáním koncentrátů faktoru VIII a kryoprecipitátů a pacienti nejsou vystaveni riziku infekce. DDAVP lze použít nejen k terapii, ale také k přípravě koncentrátů faktoru VIII a kryoprecipitátů. Spotřeba výchozí plazmy se v tomto případě snižuje zhruba o 1/2 (cit.²⁸, str. 227).

8.5. DDAVP při uremiích

Ke krvácivosti dochází i při akutním i chronickém selhání funkce ledvin. Krvácivost komplikuje řadu lékařských ošetření a vyšetření nemocných, jako jsou chirurgické zásahy, trháni zubů, biopsie ap. Má značný podíl na celkové úmrtnosti mezi uremickými pacienty. Příčina krvácivosti u uremiků je komplexní povahy. Etiologie choroby není dosud dostatečně známa.

K částečnému zlepšení poruch hemostázy dochází po dialyzách^{58,59}, které jsou součástí celkové terapie uremiků, ale neodstraňuje se tak nebezpečí krvácivosti. Pozitivní efekt mají transfuze červených krvinek^{60,61} a podávání erythropoietinu⁶². Velmi dobré výsledky byly získány při aplikaci kryoprecipitátů⁶³, které obsahují velké množství vyšemolekulárních von Willebrandových multimerů. Nevýhodou tohoto postupu je obtížná reprodukovatelnost výsledků a nebezpečí přenosu hepatitidy B a C a AIDS na pacienta. DDAVP nemá tyto nevýhody^{64,65} a je účinný i v případech, kdy kryoprecipitáty selhávají. Ve srovnání s nimi je tedy DDAVP výhodnější. Nevýhodou DDAVP je relativně krátkodobý účinek a pokles účinnosti při opakovaném podávání⁶⁶. Jako nejvýhodnější se dosud jeví aplikace konjugátů estrogenů⁶⁷. Účinek nasazuje sice až po několika hodinách, ale je dlouhodobý, trvá až 14 dnů. DDAVP je vhodný pro zvládnutí akutních stavů, konjugátů estrogenů pro dlouhodobou terapii.

8.6. DDAVP v chirurgii

Při rozsáhlých, nicméně poměrně často prováděných chirurgických zásazích, jako jsou srdeční operace (bypass) a náhrady kyčelního kloubu (totální endoprotéza), dochází ke značné ztrátě krve. Bylo logické pokusit se využít v těchto případech hemostatických účinků DDAVP. Výsledky této aplikace se očekávaly se značným optimismem. Klinická realita byla střizlivější (cit.²⁸, str. 177, 191, 203). V případech, kdy zmíněné chirurgické zásahy probíhaly bez komplikací, premedikace pacienta DDAVP nesnížila ztrátu krve, v řadě případů ji dokonce zvýšila. Jinak tomu bylo u operací srdce s komplikovaným průběhem, kdy byl pacient např. delší dobu zapojen na mimotělní oběh. U těchto případů docházelo k významnému snížení ztráty krve. U diskutovaných rozsáhlých chirurgických zásahů nelze používat DDAVP paušálně, nýbrž je nutné pečlivě volit jeho aplikaci případ od případu. V tomto kontextu zaslouží zmínky, že antiuretický účinek vysokých dávek DDAVP, které se používaly při rozsáhlých chirurgických zásazích, se prakticky neprojevoval a nevyvolával komplikace.

8.7. Další aplikace DDAVP

Kromě lékařské praxe a klinické diagnostiky, zmíněné v předchozím, využívá se DDAVP jako standard ve farmakologii a jako selektivní agonista při výzkumu vasopresinových receptorů. Nesporně velmi zajímavé a atraktivní jsou neurotropní a psychotropní účinky DDAVP. Ten, podobně jako LVP, AVP, OT a některé jejich analogy, aktivuje prvky učení a paměti. DDAVP má zřejmě pozitivní vliv na posttraumatickou amnézii a retrogradní amnézii při elektrošokové terapii. Mohl by se také uplatnit při odvykací terapii alkoholismu a při terapii Korsakovova syndromu. V oblastech, zmíněných v předchozím, však DDAVP soustavněji užíván nebyl. Touto problematikou se proto zde nebudeme zabývat.

9. Inovace DDAVP

Historie DDAVP by nebyla úplná bez zmínky o jejím pokračování. V polovině 80. let (20. století) vyslovila tehdejší SPOFA zájem o inovaci DDAVP. To bylo v té době něco tak neobvyklého, a tak nás to příjemně překvapilo, že jsme se rozhodli projevenému zájmu vyhovět, i když se již tehdy těžiště našeho zájmu přesouvalo do jiné oblasti (imunologie). Při této příležitosti jsme obrátili pozornost na druhý konec vasopresinové molekuly, na její *N*-konec, který obsahuje druhou klíčovou polohu, polohu 3. Výsledky orientačních pokusů, které jsme v této poloze uskutečnili, nebyly bez zajímavosti, ale nebyly v souladu s naším záměrem. Pozornost jsme proto přesunuli k sousední poloze, k poloze 2, interakci (stacking) svázané s polohou 3. Změnu konfigurace v této poloze uskutečnil již V. Hruby a spol.⁶⁸ Podle nich má [D-Tyr²]AVP značný AD a BP, přičemž oba účinky jsou v poměru zhruba 1:1. V našich rukách však [D-Tyr²]AVP (I) vykazoval značně vysoký a značně specifický^{4,69} AD (tab. IX, cit.⁴). Tento poznatek se stal východiskem pro naši další práci. Abychom získali základní informaci, zda lze získat kombinaci 2-D-Tyr substituce s dalšími strukturálními změnami látky požadovaných vlastností, připravili jsme [Mpr¹, D-Tyr²]AVP (II) (cit.⁴). Když jsme získali pozitivní výsledek, (tab. IX), připravili jsme 5 analogů DDAVP: [D-Tyr²]DDAVP (III), [D-Tyr², Abu⁴]DDAVP (IV) a carbaanalogy [Car¹, D-Tyr²]DDAVP (V), [Car¹, D-Tyr², Val⁴]DDAVP (VI) a [Car⁶, D-Tyr²]DDAVP (VII) (cit.⁶⁹) (tab. IX). Analog III má zřetelně vyšší AD než DDAVP, více než o řád nižší BP a má nízký, ale dobře patrný inhibiční účinek na UT. Analogy IV–VII představují nový typ vasopresinových analogů. Mají vysoký (IV, VII) až mimořádně vysoký a zcela specifický AD (V, VI). Působí dokonce jako slabé, ale zcela zřetelné kompetitivní inhibitory BP a UT. Nejméně 2 z uvedených analogů (V, VI) přicházely v úvahu jako nástupci DDAVP, především v preparátech pro použití *per os*. Ve srovnání s DDAVP mají až o řád vyšší a zcela specifický AD. Jejich relativně nízké inhibiční účinky proti BP a UT by se neměly v praxi negativně projevit. Do lékařské praxe se však tyto nesporně perspek-

Tabulka IX

Aktivity vasopresinových analogů obsahujících aminokyseliny konfigurace D v poloze 2 a v polohách 2 a 8

Sloučenina	AD	BP	UT	AD/BP	Lit.
I. [D-Tyr ²]AVP	207±10 10% ^a	194±11 39,5	1,53±0,09 0,01	1,1 126	68 4,69
II. [Mpr ¹ , D-Tyr ²]AVP	100% ^a	483	0,045	104	4,69
III. [D-Tyr ²]DDAVP	120–150% ^a	0,1	inh.	7,1·10 ⁵	4,69
IV. [D-Tyr ² , Abu ⁴]DDAVP	40–60% ^a	inh.	inh.	–	4,69
V. [Car ¹ , D-Tyr ²]DDAVP ^b	790% ^a	pA ₂ 7,2	pA ₂ 7,5	–	69
VI. [Car ¹ , D-Tyr ² , Val ⁴]DDAVP	1000% ^a	pA ₂ 6,8	pA ₂ 7,9	–	69
VII. [Car ⁶ , D-Tyr ²]DDAVP	100–200% ^a	pA ₂ 6,8	pA ₂ 7,8	–	69

^a % účinku DDAVP, ^b Car = Carba

tivní látky bohužel nedostaly.

10. Závěr

V lékařské praxi se využívá především homeostatických a hemostatických účinků DDAVP. DDAVP poprvé uspokojivě vyřešil starý problém, substituční terapii *diabetes insipidus centralis*. I dnes, po více než 30 letech od zavedení DDAVP do této oblasti, je zde DDAVP stále považován za lék první volby. Podobně je tomu u terapie *enuresis nocturna*, kde se DDAVP velmi dobře osvědčil, zvláště při zvládání akutních situací. Dobré výsledky byly získány i při dlouhodobé léčbě, zaměřené na snížení výskytu recidiv. Léčebný význam DDAVP v oblasti hemofilii dobře vystihuje výrok Světové federace pro hemofilii, který označil desmopressin (DDAVP) za první, oficiálně doporučený preparát pro terapii mírných forem hemofilie A a von Willebrandova syndromu. DDAVP se osvědčil také při léčbě krvácivosti při uremiích. U rozsáhlých chirurgických zásahů (bypass, totální endoprotéza) s komplikovaným průběhem, DDAVP výrazně snižuje ztrátu krve. V klinické diagnostice DDAVP slouží jako pomůcka k rozlišení typu onemocnění. Zavedení DDAVP do testu pro stanovení maximální koncentrační kapacity ledvin umožnilo zrychlení a zjednodušení testu, takže jej lze použít i u dětí nejútlejšího věku. Ve farmakologii se DDAVP používá jako standard, jako selektivní agonista se využívá při výzkumu vasopresinových receptorů, atd. Pod heslem desmopressin (DDAVP) obsahuje odborná literatura přes 3000 citací. Desmopressin (DDAVP) byl řazen mezi 15 nejvýznamnějších vyráběných léků. A to plným právem.

Použité zkratky

V textu jsou použité obvyklé třípísmenné zkratky aminokyselin. Další zkratky:

Mpr	kyselina 3-merkaptopropionová
Dap	kyselina 2,3-diaminopropionová
Dab	kyselina 2,4-diaminomásečná
DapG	kyselina 2-amino-3-guanidinopropionová
Nar	norarginin
Har	homoarginin
Hly	homolysin
Tly	thialysin, thiozin, S-(2-aminoethyl)cystein
Car ^x	náhrada jednoho atomu S disulfidového můstku methylenovou skupinou, v poloze vyznačené indexem
VP	vasopresin
AVP	arginin vasopresin
LVP	lysin vasopresin
OT	oxytocin
AD	antidiuretický účinek
BP	presorický účinek
UT	uterotonický účinek
DI	diabetes insipidus
EN	enuresis nocturna

Pokud není uvedeno jinak, jsou aminokyseliny konfigurace L. All-L vasopresinové analogy jsou považovány za členy L-řad, ty, které obsahují v poloze 8 aminokyselinu konfigurace D, za členy D-řad. Údaje biologických účinků jsou vyjádřeny v mezinárodních jednotkách (IU mg⁻¹), případně jsou vztaženy k aktivitě DDAVP jako standardu.

LITERATURA

1. Zaoral M.: *Doktorská dizertace*, str. 9. Ústav organické chemie a biochemie ČSAV, Praha 1968.
2. Zaoral M.: *Vesmír* 51, 100 (1970).
3. Zaoral M.: *Adiuretin. Závěrečná zpráva*, ÚOCHB ČSAV, Praha 1972.
4. Zaoral M.: *Int. J. Peptide Protein Res.* 25, 561 (1985).
5. Zaoral M. v: *Vztahy mezi strukturou látek a jejich biologickou účinností*. Edice Macro, řada N-

- Monografie, sv. N-13, cyklus Organická chemie sv. 12 (Bláha K., Tichý M., ed.) str. 143. Ústav organické chemie a biochemie ČSAV a Ústav makromolekulární chemie ČSAV, Praha 1985.
6. Zaoral M.: *Chemistry and Biotechnology of Biologically Active Natural Products, 4th Int. Conf.*, str. 1, Budapest 1987.
 7. Zaoral M.: *Česko-Slovenská Pediatrie* 53, 506 (1998).
 8. Zaoral M.: *PEPTIDES 2004, Proceedings of the Third International and Twenty-Eight European Peptide Symposium, Prague 5 – 10 September* (Flegel M., Fridkin M., Gilon Ch., Slaninová J., ed.), str. 113. Kenes International, Geneva 2005.
 9. Schwartz I. L., Livingston L. M.: *Vitamins and Hormones* 22, 261 (1964).
 10. Walter R., Rudinger J., Schwartz I.L.: *Symposium on Antidiuretic Hormones*. Am. J. Med. 42, 653 (1967).
 11. Hruby V. J., Smith C. W., v: *The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology* (Smith C. W., ed.), sv. 8, str. 77. Academic Press, New York 1987.
 12. Boissonnas R. A., Guttman S., Jaquenoud P. A., Waller J. P.: *Helv. Chim. Acta* 39, 1421 (1956).
 13. Katsoyannis P. G.: *J. Am. Chem. Soc.* 79, 109 (1957).
 14. Rudinger J., Honzl J., Zaoral M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 21, 770 (1956).
 15. Schneider C.H., du Vigneaud V.: *J. Am. Chem. Soc.* 84, 3005 (1962).
 16. Hermann P., Stalla K., Zaoral M.: *PEPTIDES 1964, Proceedings of the 7th European Peptide Symposium, Budapest* (Bruckner V., Medzihradsky K., ed.), str. 219. Akadémiai Nyomda, Budapest 1965.
 17. Hermann P., Zaoral M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 30, 2817 (1965).
 18. Zaoral M., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 30, 611 (1965).
 19. Zaoral M., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 31, 310 (1966).
 20. Zaoral M., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 31, 90 (1966).
 21. Zaoral M., Jošt K., Šorm F., Rudinger J.: *Symposium on the Structure, Biogenesis and Synthesis of Biologically Important Oligopeptides. XVIIth Internat. Congress of Pure and Applied Chemistry*, Munich 1959.
 22. Zaoral M., Kolc J., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 31, 382 (1966).
 23. Zaoral M., Kolc J., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 32, 1242 (1967).
 24. Zaoral M., Kolc J., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 32, 1250 (1967).
 25. Sawyer W. H.: *Endocrinology* 63, 694 (1958).
 26. Pliška V., Rychlík I.: *Acta Endocrinol.* 54, 129 (1967).
 27. Vávra I., Machová A., Krejčí J.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 188, 241 (1974).
 28. Grant P. J., v: *Desmopressin in Bleeding Disorders* (Mariani G., Mannucci P. M., Cattaneo M., ed.). NATO ASI Series, Vol. 242, str. 2. Plenum Press, New York 1993.
 29. Hamsík A., Šantavý F.: *Biochemie*, str. 602. Stát. zdrav. nakl., Praha 1962.
 30. Burn J. H., Finney D. J., Goodwin L. C.: *Biological Standardization*, 2. vyd., str. 187. Oxford University Press, Oxford 1950.
 31. Vávra I., Machová A.: *Farmakologie desamino-D-arginin vasopresinu. Závěrečná zpráva*. Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii, Praha 1967.
 32. Vávra I., Machová A., Holeček V., Cort J. H., Zaoral M., Šorm F.: *Lancet* 1 1968, 948.
 33. Schück O.: *Poruchy metabolismu vody a elektrolytů v klinické praxi*, str. 53. GRADA, Praha 2000.
 34. Kovács L.: *Detský lékař* 1, 154 (1994).
 35. Kolektiv autorů.: *Česko-Slovenská Pediatrie* 50, (3), 1 (1995).
 36. *Poruchy močení u dětí* (Kovács L., Valanský L., ed.). Osveta, Martin 2001.
 37. Lichardus B., Némethová V., Lehotská V.: *Sov. Med.* 1976(10), 106.
 38. Dimson S.B.: *Lancet* 1 1977, 1260.
 39. Birkášová M., Birkáš O., Flynn M. J., Cort J. H.: *Pediatrics* 62, 970 (1978).
 40. Aladjem M., Wohl R., Boichis H., Orda S., Lotan D., Freeman S.: *Arch. Dis. Child.* 57, 137 (1982).
 41. Poulton E. M.: *Lancet* 2 1952, 906.
 42. Norgaard J. P., Pedersen E. B., Djurhuus J. C.: *J. Urol.* 134, 1029 (1985).
 43. Rittig S., Knudsen U. B., Norgaard J. P., Pedersen E. B., Djurhuus J. C.: *Am. J. Physiol.* 25, 664 (1989).
 44. Lehotská V., Lichardus B., Némethová V.: *Bratislav. Lek. Listy* 72, 670 (1979).
 45. Jones R. V. H., Wardener H. E.: *Brit. Med. J.* 1956, 271.
 46. Aronson A. S., Svenningsen N. W.: *Arch. Dis. Child.* 49, 654 (1974).
 47. Némethová V., Lichardus B., Lehotská V.: *Monatschr. Kinderheil.* 125, 165 (1977).
 48. Helin I.: *J. Urol.* 127, 78 (1982).
 49. Janda J., Marek V., Reitspiesová K., Šikut M., Korous J.: *Česko-Slovenská Pediatrie* 37, 285 (1982).
 50. Nádvorníková H., Schück O., Cort J. H.: *Clin. Nephrol.* 14, 142 (1980).
 51. Delin K., Aurell M.: *J. Urol. Nephrol.* 20, 143 (1986).
 52. Andersson K.-E., Bengtsson B., Paulsen O.: *Drugs of Today* 24, 509 (1988).
 53. Schweck S. A., von Kaula K. N.: *Neurology* 11, 959 (1961).
 54. Mannucci P. M., Barbi G. L.: *Eur. Clin. Invest.* 3, 253 (1973).
 55. Cash J. D., Bader A. M. A., Da Costa J.: *Brit. J. Haematol.* 27, 363 (1974).
 56. Mannucci P. M., Aberg M., Nilsson I. M., Robertson B.: *Br. J. Haematol.* 30, 81 (1975).
 57. Mannucci P. M.: *Blood* 72, 1449 (1988).
 58. Castaldi P. A., Rozenberg M. C., Stewart J. H.: *Lancet* 2 1968, 66.
 59. Remuzzi G., Livio M., Marchiaro G., Mecca G., de Gaetano G.: *Nephron* 22, 347 (1978).

60. Livio M., Marchesi D., Remuzzi G., Gotti E., Mecca G., de Gaetano G.: *Lancet* 2 1982, 1013.
61. Fernandez F., Goudable C., Sic P.: *Br. J. Haematol.* 59, 139 (1985).
62. Moia M., Mannucci P. M., Vizzotto L., Casatis S., Cattaneo M., Ponticelli C.: *Lancet* 2 1987, 1227.
63. Jason P. A., Jubelier S. J., Weinstein M. J., Deykin O.: *N. Engl. J. Med.* 303, 1318 (1980).
64. Mannucci P. M., Remuzzi G., Pusineri F., Lombardi R., Valsecchi C., Mecca G., Zimmermann T. S.: *New Engl. J. Med.* 308, 8 (1983).
65. Vigano G., Mannucci P. M., Lattuada A., Harris A., Remuzzi G.: *Am. J. Haematol.* 32, 31 (1989).
66. Canavese C., Salomone M., Pacitti A., Magiarotti G., Calitri V.: *Lancet* 1 1985, 867.
67. Livio M., Mannucci P.M., Vigano G., Mingardi G., Lombardi R., Mecca G., Remuzzi G.: *New Engl. J. Med.* 315, 731 (1986).
68. Hruby V., Yamamoto D. M., Smith C. W., Walter R.: *J. Am. Chem. Soc.* 101, 2717 (1979).
69. Zaoral M., Bláha I., Lebl M., Barth T.: *PEPTIDES 1986, Proceedings of the 19th European Peptide Symposium, Porto Carras Chalkidiki, Greece, August 31 – September 5* (Theodoropoulos D., ed.), str. 465. Walter de Gruyter, Berlin – New York 1987.

M. Zaoral (1949–1989 *Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Czechoslovak Academy of Sciences, 166 10 Praha 6, Flemingovo nám. 2. Present address: Na Loukoti 12, 160 00 Praha 6*): **DDAVP – 40 Years of the First Superactive Vasopressin. Discovery and Contemporary Importance**

The change of configuration of the basic amino acid in position 8 of the vasopressin molecule (8-D-substitution) impressively shifts the ratio of antidiuretic/

pressor activity in favor of the first one. Vasopressin analogues are thus formed possessing strongly increased specificity of AD. A number of structural parameters of the amino acid side chain in position 8, such as its size, shape, space location and the presence of even and odd numbers of C atoms in it, exert influence on the magnitude and specificity of AD. The combination of 8-D-substitution with additional structural changes yields vasopressin analogues with very high and highly specific AD – even analogues with extremely high and entirely pure AD. One of such compounds [Mpr¹,D-Arg⁸]VP (known worldwide under the commercial name Desmopressin and abbreviation DDAVP) proved useful in medical practice. Both homeostatic and hemostatic properties of DDAVP are exploited. DDAVP satisfactorily solved the old problem of substitution therapy of diabetes insipidus centralis for the first time. For over 30 years it has been considered the drug of first choice in this field. For nearly quarter of a century DDAVP has also been successfully used as the drug of first choice for the treatment of enuresis nocturna in children as well as in adult patients. Hemostatic properties of DDAVP are employed for the therapy of bleeding disorders. The World Organization for Hemophilia declared Desmopressin the first recommended drug for the treatment of milder forms of hemophilia A and von Willebrand's disease. DDAVP corrects bleeding in uremic patients and prevents excessive blood loss in complicated, extensive surgeries. In clinical diagnostics DDAVP helps to differentiate between the types of diabetes insipidus. The frequently performed test on the maximum concentrating capacity of the kidney, based on DDAVP, is considered the best for the purpose. As a selective vasopressin agonist, DDAVP is often used in studies on vasopressin receptors. In pharmacology DDAVP serves as a standard, etc. The key words DDAVP and Desmopressin cover thousands of citations. DDAVP has been included among the 15 most important drugs so far produced.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

VYUŽITÍ BRDIČKOVY REAKCE PRO STANOVENÍ METALOTHIONEINU U PACIENTŮ SE ZHOUBNÝMI NÁDORY

VOJTĚCH ADAM^a, ONDŘEJ BLAŠTÍK^a, SOŇA KRÍŽKOVÁ^a, PŘEMYSL LUBAL^b, JIŘÍ KUKAČKA^c, RICHARD PRŮŠA^c a RENÉ KIZEK^a

^a Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, ^b Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno, ^c Ústav klinické biochemie a pathobiochemie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Došlo 17.7.06, přepracováno 5.2.07, přijato 29.3.07.

Klíčová slova: elektrochemické techniky, leukémie, zhoubný nádor prsu, zhoubný nádor plic, Brdičková reakce, katalytický signál, rakovina, nádorová diagnostika, krevní sérum

Věnováno ke stému výročí narození Rudolfa Brdičky a jeho objevům na poli využití elektrochemie v nádorové diagnostice

Úvod

Podle statistických údajů Světové zdravotnické organizace (WHO) je každým rokem ve vyspělých zemích rozpoznáno kolem 11 milionů nových případů onemocnění zhoubným nádorem a více než šest milionů lidí na tuto nemoc každoročně umírá. V České republice podle Národního onkologického registru žije s maligním nádorem více než 300 tisíc lidí. Dále je z těchto údajů zřejmé, že ve světě připadá asi 360 případů maligních nádorů na 100 000 obyvatel, ale v České republice je to 560 případů. Z těchto důvodů vyhlásilo Ministerstvo zdravotnictví ČR a Česká onkologická společnost program zaměřený na snížení výskytu zhoubných onemocnění v české populaci, který se má, kromě jiného, zaměřit na zlepšení včasné diagnostiky včetně hledání nových markerů.

V několika málo studiích byla ukázána souvislost mezi hladinou metalothioneinu (MT) a progresí zhoubného nádoru^{1–9}. Metalothioneiny jsou charakteristické jak obsahem iontů kovů, tak obsahem síry ve formě thio-

vých (SH) skupin^{10,11}. Savčí formy MT jsou charakteristické molekulovou hmotností v rozmezí 6 až 7 kDa. Většinou se skládají z 60 až 68 aminokyselinových zbytků a ve své centrální části obvykle obsahují dvacet molekul cysteinu, přičemž nejčastěji se opakujícím motivem je cystein (C)-serin (S)-cystein (C)^{10,12,13}. Aromatické aminokyseliny v primární struktuře těchto látek obvykle chybí. Všechny přítomné cysteiny jsou v redukované podobě a koordinované s ionty kovu, přičemž vytvářejí metalothiolátové klastry. Celkově je jedna molekula savčího metalothioneinu schopna vázat jedenáct jednovazných nebo sedm dvouvalentních iontů kovu^{14,15}. Všechny MT mají krátký lineární úsek, na který jsou vázány dvě proteinové domény. Domény obsahují klastry s vysokou afinitou k iontům kovů¹². Kovy (Me) jsou vázány do společných tetrahedrálních Me^(II)-Cys jednotek. MT se vyskytují v celé živočišné říši a jsou také známy u vyšších rostlin, eukaryotických mikroorganismů a řady prokaryot¹⁴. U živočichů je jejich výskyt pozorován především v tkáních, jako jsou játra, ledviny, slinivka a střeva¹³. Jsou pozorovány značné rozdíly v koncentraci MT v závislosti na různém druhu, tkáni (odráží se vliv věku, stádium vývoje), potravních zvyklostech a dalších dosud ne zcela známých a identifikovaných faktorech.

Souvislost mezi metalothioneinem a zhoubnými nádory je na samém počátku zkoumání. Nejnovější výzkumy ovšem naznačují, že existuje vztah mezi množstvím metalothioneinu a rychlostí rozvoje zhoubného nádoru^{16,17}. Pro ověření těchto předpokladů je potřebné studovat změny hladiny MT u pacientů se zhoubnými nádory. Analytických metod pro citlivou analýzu MT není v současné době mnoho. Většina z nich vyžaduje velmi složitou přípravu vzorku, náročnou a drahou instrumentaci^{6,18}. Mezi analytické metody vyžadující minimální přípravu vzorku a velmi nízké provozní a pořizovací náklady patří elektrochemické techniky. Cílem této práce bylo využití elektroanalytické techniky (Brdičkovy reakce) pro monitorování sérové hladiny metalothioneinu u pacientů se zhoubnými nádory.

Experimentální část

Chemikálie

MT z králíčích jater (molekulová hmotnost 7143), obsahující 5,9 % Cd a 0,5 % rel. Zn, byl zakoupen u firmy Sigma-Aldrich (St. Louis, USA); tris(2-karboxyethyl) fosfan (TCEP) u firmy Molecular Probes (Evgen, USA). Ostatní použité chemikálie byly získány v čistotě ACS od společnosti Sigma. Zásobní roztok standardu MT 10 µg ml⁻¹ byl připraven za využití vody ACS (Sigma) a uložen ve tmě při -20 °C. Pracovní roztoky byly denně připravovány ředěním zásobního roztoku.

Klinický materiál

V průběhu roku 2005 byla získána séra od pacientů léčených pro zhoubné nádory ve fakultní nemocnici Motol. Krevní séra byla ihned zmrazena na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ až do doby jejich dalšího zpracování. Celkem bylo analyzováno 80 sér pacientů (44 mužů, 36 žen): zhoubný nádor tlustého střeva (9, průměrný věk 55 let), melanom (4, 59,5 roku), zhoubný nádor prsu (14, 51,5 roku), zhoubný nádor plic (12, 62 let), zhoubný nádor štítné žlázy (12, 57 let), zhoubný nádor ledviny (7, 31 let), lymfoidní leukémie (18, 19 let) a jícnu (4, 55,5 roku).

Příprava vzorků pro elektroanalytické stanovení

Ze získaných vzorků krevních sér bylo odebráno 100 μl a umístěno na 15 min při $99\text{ }^{\circ}\text{C}$ do termobloku (Eppendorf 5430, USA). Poté byly vzorky ochlazeny na $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ a centrifugovány při $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ a 15 000 g po dobu 30 min (Eppendorf 5402, USA). Metalothioneiny patří k termostabilním proteinům, které zůstávají přítomné v roztoku i po jeho tepelné denaturaci. Takto připravené vzorky byly 1000 \times zředěny a analyzovány námi upraveným postupem adsorpční přenosové techniky (AdTS) s diferenční pulzní voltametrií (DPV). Množství analyzovaného vzorku bylo 5 μl .

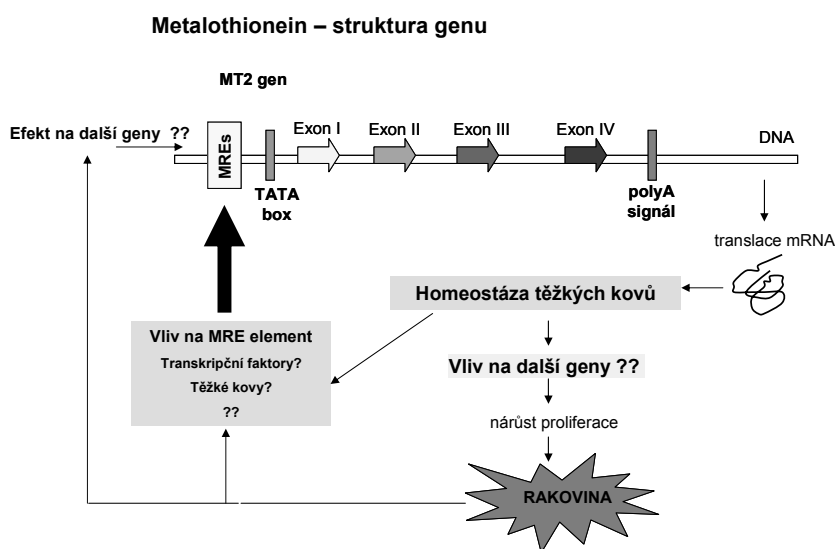
Elektroanalytické stanovení metalothioneinu metodou AdTS DPV s použitím Brdičkovy reakce

Vzorky byly analyzovány na přístroji Autolab Analyser (EcoChemie, Nizozemí) ve spojení s VA-Stand 663

(Metrohm, Švýcarsko) v klasickém tříelektrodeovém uspořádání. Pracovní elektrodou byla visící rtuťová kapková elektroda (HMDE) s plochou kapky $0,4\text{ mm}^2$; referenční elektrodou byla Ag/AgCl/3 M KCl a pomocnou grafitová elektroda. Základní elektrolyt ($1\text{ mmol dm}^{-3}\text{ Co}[(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ a amonný pufr, $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$, pH 9,6) byl po každých pěti analýzách vyměněn. Parametry AdTS DPV: počáteční potenciál $-0,6\text{ V}$, konečný potenciál $-1,6\text{ V}$, modulační čas $0,057\text{ s}$, časový interval $0,2\text{ s}$, potenciálový krok $1,05\text{ mV s}^{-1}$, modulační amplituda 250 mV , $E_{\text{ads}} = 0\text{ V}$, teplota $5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Výsledky a diskuse

Přesně před sto lety (25. února 1906) se narodil jeden z významných žáků Jaroslava Heyrovského Rudolf Brdička¹⁹, který objevil polarografický signál vznikající v přítomnosti proteinů obsahujících síru^{20,21}. Tento jev byl pojmenován Brdičkova reakce. Rudolf Brdička se pokusil metodu využít pro diagnostiku rakoviny a výsledky své práce publikoval v roce 1937 v časopise Nature^{22,23}. Zjistil, že signál krevního séra zdravého člověka a pacienta s nádorovým onemocněním je výrazně odlišný a mohl být proto využit pro rozlišení zdravého a nemocného člověka^{22–25}. Nebylo však zcela zřejmé, které proteiny byly podle vypracované metodiky stanovovány. Později se zjistilo, že jde o skupinu mukoproteinů (MP-1, MP-2 a MP-3)^{26,27}, ale proteinům o nižší molekulové hmotnosti nebyla věnována žádná pozornost. Jak se v poslední době ukazuje, nízkomolekulární proteiny (jako je metalothionein) a peptidy (jako je glutathion) hrají významnou roli v řadě biologických procesů včetně regulace buněčného dělení (obr. 1).



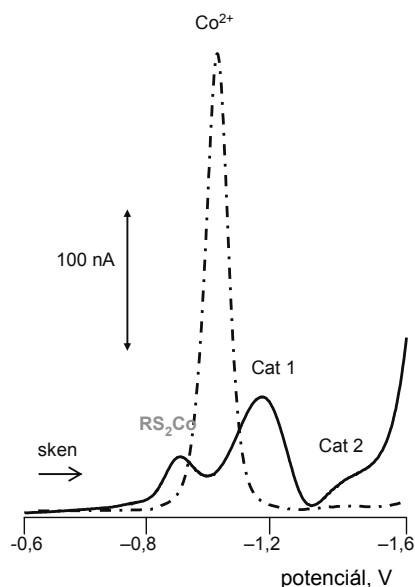
Obr. 1. Schéma uspořádání metalothioneinového genu u člověka na chromosomu 16; MREs – regulační úsek DNA, na který se váže transkripční faktor (MTF-1). TATA box je místo, kam se váže RNA-polymerasa a od něj začíná transkripce genu. Exony jsou úseky DNA, které nesou informaci pro složení výsledného proteinu. PolyA signál ukončuje transkripci genu. V další části jsou navrženy možné mechanismy vztahu MT k dalším genům a zhoubnému onemocnění

Elektrochemické stanovení metalothioneinu Brdičkovou reakcí

Elektrochemická analýza MT představuje jeden z vhodných analytických nástrojů pro detekci v biologických vzorcích^{28–42}. V současnosti prakticky neexistuje žádná vhodná analytická metoda pro rutinní stanovení MT^{37,43}. Téměř všechny klinické studie jsou založeny na imunohistochemickém stanovení za použití různých protilátek proti MT^{2,3,44,45}, případně detekce hladiny mRNA za využití technik molekulární biologie^{46–49}. Nedávno bylo ukázáno, že pro citlivé stanovení MT Brdičkovou reakcí je výhodné provádět měření za snížené teploty v rozmezí 5–10 °C (cit.²⁸). My jsme v našich experimentech metodou AdTS a DPV tento výsledek potvrdili. Na získaných voltamogramech jsou pozorovatelné signály vzniklého komplexu MT s ionty kobaltu (RS_2Co) a typické katalytické signály Cat1 a Cat2 (obr. 2)⁵⁰. Katalytický signál Cat2 se s klesající koncentrací MT lineárně snižoval ($y_{Cat2} = 0,6616x + 10,211$; $R^2 = 0,9955$).

Analýza MT v krevním séru zdravých lidí

Náš kontrolní soubor tvořili dárce krve (věkový interval 22–35 let; $n=10$). Ze studií, které hodnotily obsah MT u pacientů se zhoubnými nádory, je možno očekávat, že změna hladiny MT by neměla být závislá na věku a pohlaví^{6,18,45,51}. V těchto analyzovaných vzorcích lid-



Obr. 2. AdTS DP voltamogramy; čárkovaná čára je základní elektrolyt, plná čára je záznam 1 μM MT. Počáteční potenciál – 0,35 V, konečný potenciál – 1,8 V, modulační čas 0,057 s, časový interval 0,2 s, potenciálový krok 1,05 mV s^{-1} , modulační amplituda 250 mV, $E_{\text{ads}} = 0$ V, čas akumulace MT byl 120 s, základní elektrolyt 1 mM $\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ v amonném pufru (pH 9,6)

ského séra byla zjištěna průměrná koncentrace MT $0,72 \pm 0,09 \mu\text{mol dm}^{-3}$.

Analýza MT v krevním séru pacientů se zhoubnými nádory

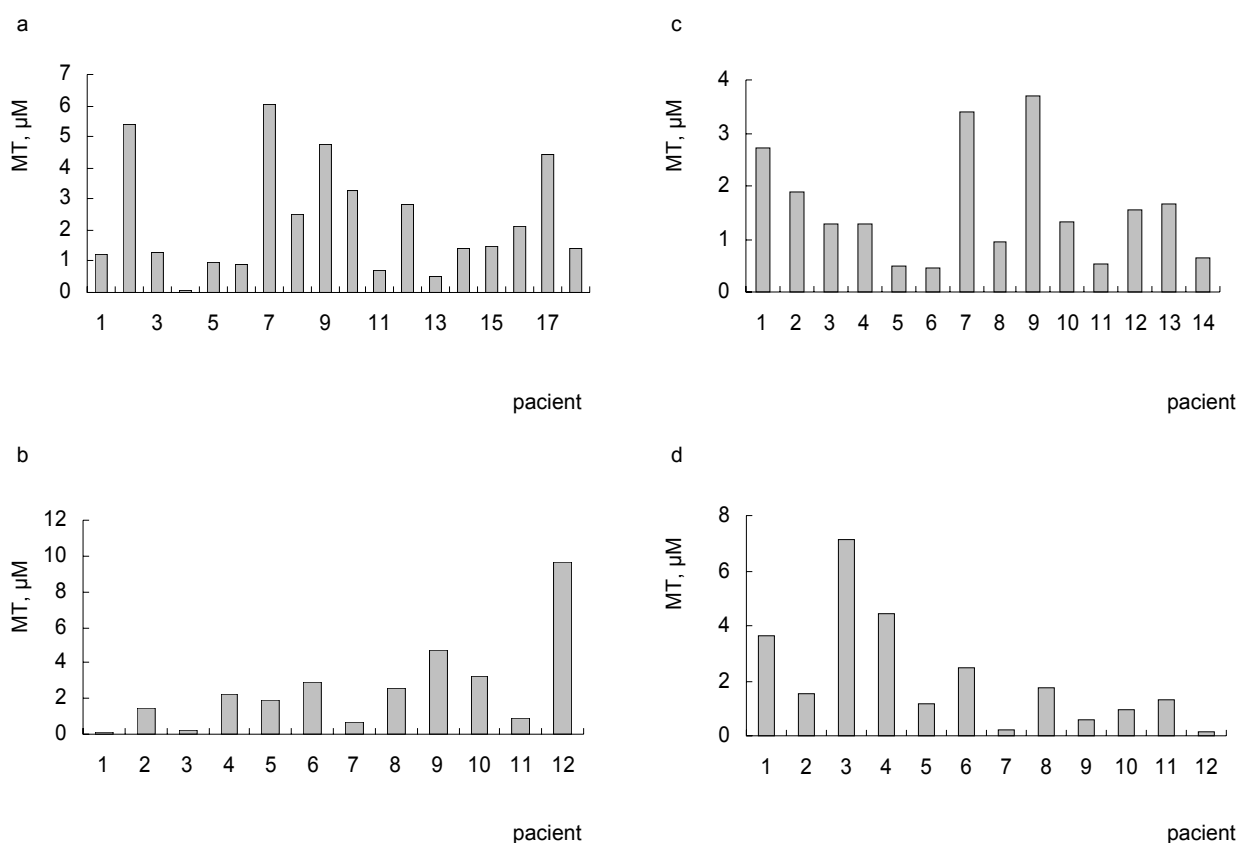
V další části práce nás zajímalo, zda se bude měnit hladina MT u pacientů s různými typy zhoubných nádorů. Sledovali jsme hladiny MT u pacientů s osmi druhy diagnóz zhoubných nádorů hospitalizovaných ve Fakultní nemocnici Motol v průběhu roku 2005. V této práci jsme navázali na práci Brdičky^{22,23} a na naše pilotní studie^{52,53}.

Hladiny metalothioneinu u lymfoidní leukémie

V dřívějších studiích byla sledována hladina MT u dětí s akutní lymfoblastickou leukémií (ALL), kde se imunohistochemickými technikami podařilo rozlišit skupinu exprimující a neexprimující MT. Ze získaných experimentálních dat bylo možné odvodit, že pacienti s detegovanou hladinou MT mají lepší prognózu, a to jak v primárním záchytu, tak při znovuzvplanutí onemocnění¹. Byly získány vzorky krevního séra od jednoho pacienta s akutní myeloidní leukémií (zhoubné bujení postihuje složky imunitního systému; obsah MT byl $1,5 \mu\text{mol dm}^{-3}$) a devět pacientů s akutní lymfoblastickou leukémií (postíženy bílé krvinky; obsah MT $3,2 \mu\text{mol dm}^{-3}$). Navíc byly vyhodnoceny vzorky od tří pacientů, kteří zemřeli v průběhu hospitalizace (obsah MT $1,0 \mu\text{mol dm}^{-3}$) a dále pak pět vzorků od pacientů nezařazených ani do jedné skupiny. V našem souboru pacientů trpících lymfoidní leukémií byl průměrný obsah MT $2,29 \mu\text{mol dm}^{-3}$, u třinácti byl obsah MT vyšší než $1 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (72 %), u osmi pacientů přesáhla hladina MT $2 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (44 %) a u čtyř pacientů dokonce překročil obsah MT $4 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (22 %). U lymfoidní leukémie bylo pět pacientů v první remisi (= přechodné vymizení nemoci), tři v druhé a jeden v třetí. Jak je z našich dat zřejmé, pacienti v první remisi měli hladinu MT nejvyšší ve srovnání s druhou a třetí remisí. Dále bylo možné usoudit, že u pacientů s nízkou hladinou MT je prognóza onemocnění velmi špatná a v průběhu studie tyto pacienti zemřeli (obr. 3).

Hladiny metalothioneinu u zhoubného nádoru prsu

Zhoubné nádory mléčné žlázy jsou nejčastějším nádorovým onemocněním ženské části populace ve vyspělých zemích. Ze studií, které byly provedeny, vyplývá možná korelace mezi nízkou hladinou MT a dobrou prognózou onemocnění^{18,51,54–56}. Dále bylo prokázáno, že ve zhoubném nádoru prsu je hladina MT v porovnání s okolní zdravou tkání vždy vyšší^{57,58}. V naší práci jsme zjistili, že u pacientů s nádory prsu byl průměrný obsah MT nízký $1,56 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (nárůst hladiny MT pouze o 216 % v porovnání se zdravými dobrovolníky). Dále u devíti pa-



Obr. 3. Koncentrace MT u pacientů s (a) lymfoidní leukémií ($n=18$); (b) zhoubným nádorem prsu ($n=14$); (c) zhoubným nádorem plic ($n=12$); (d) zhoubným nádorem štítné žlázy ($n=12$); hladina MT byla určena v 1000x ředěném vzorku pomocí AdTS DPV

cientů překročila hladina MT $1 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (64 %) a pouze u tří byla hladina MT vyšší než $2 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (21 %, obr. 3). U zhoubných nádorů prsu hraje velmi významnou roli hormonální regulace (přítomnost steroidních receptorů). Je velmi pravděpodobné, že právě tento fakt ovlivňuje hladinu MT u těchto zhoubných nádorů.

Hladiny metalothioneinu u zhoubného nádoru plic

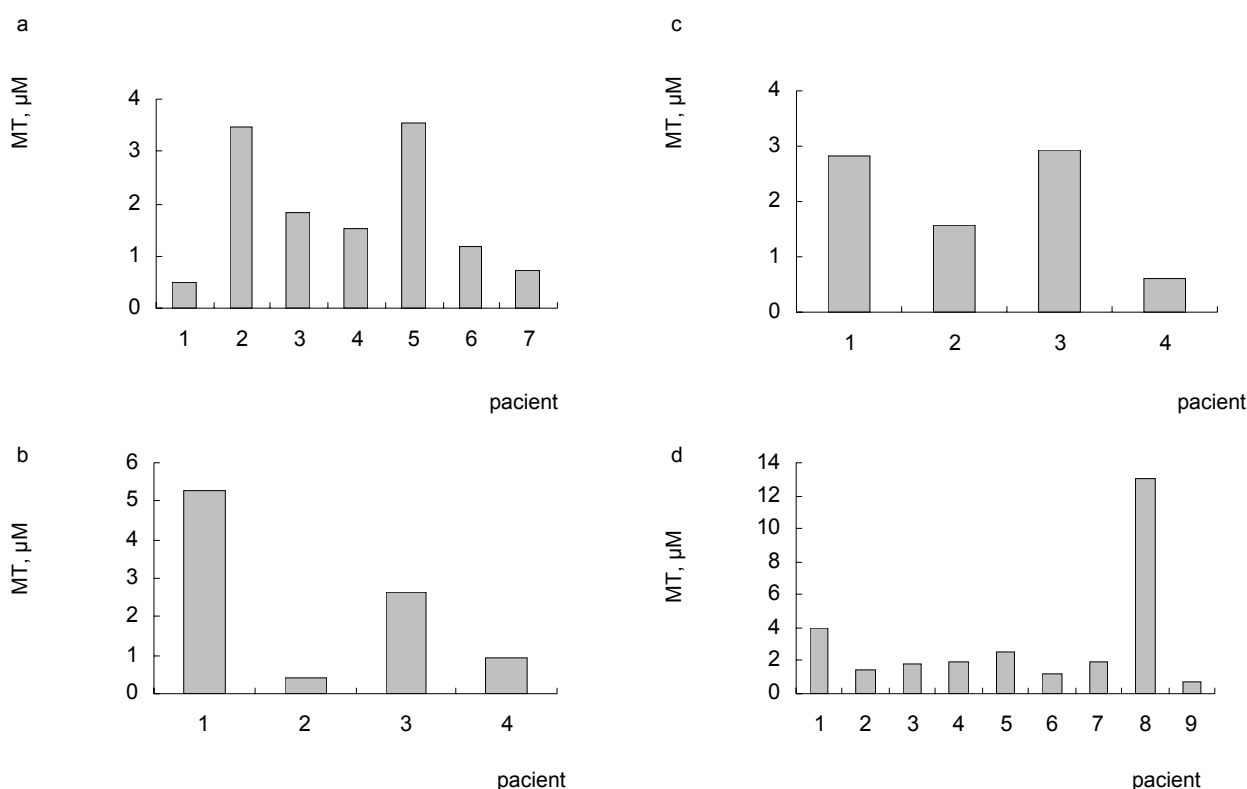
V České republice zaujímá zhoubný nádor plic první místo mezi zhoubnými nádory u mužů a je na prvním místě v příčinách úmrtí na zhoubné nádory. O vztahu těchto zhoubných nádorů k hladině MT není prakticky nic známo⁵⁹. U pacientů se zhoubným nádorem plic byl průměrný obsah MT $2,54 \mu\text{mol dm}^{-3}$, u osmi z nich byl obsah MT vyšší než $1 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (66 %), u šesti přesáhla hladina MT $2 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (50 %) a u dvou pacientů byl obsah MT vyšší než $4 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (16 %). Pozorovaná značná variabilita může souviset právě s histologickou různorodostí tohoto zhoubného nádoru (obr. 3).

Hladiny metalothioneinu u zhoubného nádoru štítné žlázy

Maligní onemocnění štítné žlázy tvoří heterogenní skupinu nádorů, která se vyskytují v každém věku, ale nejzávažnější průběh mají u starších pacientů. Byly provedeny analýzy obsahu MT v nádorech štítné žlázy, které ukázaly na velmi nízkou hladinu MT v těchto tkáních^{2,3}. Naší analýzou bylo možné v krevním séru pacientů detekovat průměrný obsah MT $2,11 \mu\text{mol dm}^{-3}$, přičemž u osmi přesáhla hladina MT $1 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (66 %), u čtyř byla vyšší než $2 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (33 %) a u dvou překročila $4 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (16 %). Také u tohoto zhoubného nádoru jsme pozorovali velmi značnou variabilitu v hladině MT, která je pravděpodobně způsobena heterogenitou primárního ložiska zhoubného nádoru (obr. 3).

Hladiny metalothioneinu u zhoubného nádoru ledviny

Tento nádor představuje vzácnější onemocnění, které tvoří asi 3 % ze všech malignit. Postihuje častěji muže než



Obr. 4. Koncentrace MT u pacientů s (a) zhoubným nádorem ledvin ($n=7$); (b) maligním melanomem kůže ($n=4$); (c) zhoubným nádorem jícnu ($n=4$); (d) zhoubným nádorem tlustého střeva ($n=9$); hladina MT byla určena v 1000x ředěném vzorku pomocí AdTS DPV

ženy v poměru 2 : 1 a vyskytuje se převážně u osob nad 60 let věku nebo u dětí. Studium obsahu MT v ledvinách je věnována větší pozornost (MT byl objeven v ledvinách) především pro výzkum vylučování těžkých kovů z organismu^{60–64}. V naší skupině byla průměrná hladina sérového MT pacientů se zhoubným nádorem ledvin $1,82 \mu\text{mol dm}^{-3}$, u pěti pacientů přesáhl obsah MT $1 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (71 %) a u dvou byl vyšší než $2 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (28 %, obr. 4).

Hladiny metalothioneinu u maligního melanomu kůže

Maligní melanom vzniká maligní přeměnou melanocytů, buněk neuroektodermálního původu, vyskytujících se především v kůži, v duhovce a spojivce, méně ve sliznicích. Nejčastěji se vyskytují kožní formy melanomu. Slizniční melanomy jsou vzácné. Byly provedeny dvě poměrně rozsáhlé studie hodnotící hladinu MT a progresi tohoto onemocnění^{4–6}. Byl prokázán vztah mezi zvýšenou hladinou MT a výrazně horší prognózou (zkrácení doby dožití)^{7,8}. Naše skupina pacientů s melanomem nebyla příliš rozsáhlá, ale hladina MT byla u všech zvýšená. Prů-

měrná hladina MT byla $1,97 \mu\text{mol dm}^{-3}$, u tří pacientů byl obsah MT vyšší než $1 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (75 %) a u dvou přesáhl $2 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (50 %, obr. 4).

Hladiny metalothioneinu u zhoubného nádoru jícnu

Zhoubný nádor jícnu představuje 4 % nádorů trávicího traktu. Jako možné příčiny onemocnění se udává častá konzumace horkých nápojů a kancerogenů v potravě. O vztahu MT u nádorů jícnu také není prakticky nic známo. Jsou zveřejněny prvotní náznaky, že by mohla být souvislost mezi MT a apoptózou případně rezistencí na protinádorovou léčbu^{65–67}. V naší zkoumané skupině pacientů s touto diagnózou byla průměrná hladina MT $2,32 \mu\text{mol dm}^{-3}$, přičemž u dvou pacientů překročila $1 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (50 %), u dvou pacientů byla vyšší než $2 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (50 %) a u jednoho pacienta přesáhla hladina $4 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (25 %). Bohužel náš zkoumaný soubor byl také velmi malý, ale i zde je pozorovatelná výrazná variabilita, která má pravděpodobně souvislost s různou buněčnou formou vzniklého zhoubného nádoru (obr. 4).

Tabulka I

Koncentrace metalothioneinu ($\mu\text{mol dm}^{-3}$) v krevním séru pacientů s různou diagnózou zhoubného nádoru

Diagnóza	n_C	\bar{x} (MT)	$n>1$ [n , (%)]	$n>2$ [n , (%)]	$n>4$ [n , (%)]	Koncentrace	
						max.	min.
Maligní melanom kůže	4	1,97	3 (75)	2 (50)	0 (0)	2,9	0,6
Zhoubný nádor prsu	14	1,57	9 (64)	3 (21)	0 (0)	3,7	0,5
Zhoubný nádor tlustého střeva	9	3,20	8 (88)	3 (33)	2 (22)	13,1	0,7
Zhoubný nádor plic	12	2,54	8 (66)	6 (50)	2 (16)	9,7	0,2
Zhoubný nádor štítné žlázy	12	2,11	8 (66)	4 (33)	2 (16)	7,2	0,2
Zhoubný nádor ledvin	7	1,82	5 (71)	2 (28)	0 (0)	3,5	0,5
Zhoubný nádor jícnu	4	2,32	2 (50)	2 (50)	0 (0)	5,2	0,4
Lymfoidní leukémie	18	2,29	13 (72)	8 (44)	4 (22)	6,0	0,1

n_C – počet pacientů s určitou diagnózou, \bar{x} (MT) – průměrné zjištěné koncentrace, $n>1$ – počet případů s koncentrací vyšší než $1 \mu\text{mol dm}^{-3}$, $n>2$ – počet případů s koncentrací vyšší než $2 \mu\text{mol dm}^{-3}$, $n>4$ – počet případů s koncentrací vyšší než $4 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (v závorkách jsou uvedena procenta z n_C)

Hladiny metalothioneinu u zhoubného nádoru tlustého střeva

Až v 99 % jsou zhoubné nádory tlustého střeva tvořeny karcinomem, kterého v poslední době neustále přibývá. V České republice patří zhoubný nádor tlustého střeva k nejzávažnějším malignitám; v incidenci jej předčí jen karcinom prsu u žen a karcinom plic u mužů. Onemocnění je velmi intenzivně sledované a pro jeho včasnou detekci byla navržena celá řada vyšetřovacích postupů včetně markerů^{68–70}. Avšak o vztahu MT a nádoru tlustého střeva není také mnoho známo⁹. U pacientů se zhoubným nádorem tlustého střeva byla průměrná hladina MT $3,2 \mu\text{mol dm}^{-3}$. Obsah MT vyšší než $1 \mu\text{mol dm}^{-3}$ byl pozorován u osmi pacientů (88 %), u tří byl vyšší než $2 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (33 %) a u dvou (22 %) se pohyboval nad hodnotou $4 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (obr. 4).

Závěr

Zjistili jsme, že průměrné hladiny metalothioneinu v krevním séru pacientů s různými druhy zhoubných nádorů kolísají od $1,5$ do $3,5 \mu\text{mol dm}^{-3}$. Navíc je zřejmé, že hladina MT je u všech studovaných nádorových onemocnění zvýšena proti naší zjištěné průměrné hladině v krevním séru zdravých lidí. Nejnížší hladiny MT byly pozorovány u zhoubných nádorů prsu a ledviny, výrazně vyšší hodnoty byly pozorovány u ZN plic a lymfoidní leukémie (výsledky shrnuje tabulce I). Získaná data jsou unikátní a přináší první údaje o obsahu MT v krevním séru lidí. Studium množství MT v biologických vzorcích, jak ukážeme v této práci, je potřebné a slibné.

Část těchto výsledků byla prezentována na soutěži O cenu firmy Merck 2006 za nejlepší studentskou vědec-

kou práci v oboru analytické chemie. Práce na tomto příspěvku byla financována grantem: LPR 2006 a Běh Terryho foxe 2007.

LITERATURA

1. Sauerbrey A., Zintl F., Volm M.: *Ann. Hematol.* 69, 111 (1994).
2. Suzuki K., Kawashima K., Nakajima K., Otaki N., Kimura M., Oyama T., Takatama M.: *Acta Histochem. Cytochem.* 29, 39 (1996).
3. Nartey N., Cherian M. G., Banerjee D.: *Am. J. Pathol.* 129, 177 (1987).
4. Weinlich G., Eisendle K., Hassler E., Baltaci M., Fritsch P. O., Zelger B.: *Br. J. Cancer* 94, 835 (2006).
5. Weinlich G., Bitterlich W., Mayr V., Fritsch P. O., Zelger B.: *Br. J. Dermatol.* 149, 535 (2003).
6. Sugita K., Yamamoto O., Asahi M.: *Am. J. Dermatopathol.* 23, 29 (2001).
7. Breazeale R. I., Fishburn J., Buchanan T., Stone J.: *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 37, 2877 (1996).
8. Zelger B., Hittmair A., Schir M., Ofner C., Ofner D., Fritsch P. O., Bocker W., Jasani B., Schmid K. W.: *Histopathology* 23, 257 (1993).
9. Hishikawa Y., Kohno H., Ueda S., Kimoto T., Dhar D. K., Kubota H., Tachibana M., Koji T., Nagasue N.: *Oncology* 61, 162 (2001).
10. Kagi J. H. R., Schaffer A.: *Biochemistry* 27, 8509 (1988).
11. Margoshes M., Vallee B. L. A.: *J. Am. Chem. Soc.* 79, 4813 (1957).
12. Palmiter R. D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91, 1219 (1994).
13. Kagi J. H. R.: *Methods Enzymol.* 205, 613 (1993).
14. Cobbett C. S., Goldsbrough P. B.: *Annu. Rev. Plant Biol.* 53, 159 (2002).
15. Studnickova M., Turanek J., Zabrsova H., Krejci M.,

- Kysel M.: *J. Electroanal. Chem.* 421, 25 (1997).
16. Sutherland G. R., Baker E., Callen D. F., Garson O. M., West A. K.: *Genomics* 6, 144 (1990).
 17. Goasguen J. E., Lamy T., Bergeron C., Sunnaram B. L., Mordelet E., Gorre G., Dossot J. M., LeGall E., Grosbois B., LePrise P. Y., Fauchet R.: *Blood* 88, 3319 (1996).
 18. Oyama T., Takei H., Hikino T., Iino Y., Nakajima T.: *Oncology* 53, 112 (1996).
 19. Kalous V.: *Chem. Listy* 100, 78 (2006).
 20. Brdicka R.: *Coll. Czech. Chem. Commun.* 5, 148 (1933).
 21. Brdicka R.: *Coll. Czech. Chem. Commun.* 5, 112 (1933).
 22. Brdicka R.: *Nature* 139, 1020 (1937).
 23. Brdicka R.: *Nature* 139, 330 (1937).
 24. Brdicka R.: *Klinische Wochenschrift* 18, 305 (1938).
 25. Heyrovsky J.: *Nature* 142, 317 (1938).
 26. Kalous V.: *Chem. Listy* 100, 57 (2006).
 27. Kalous V.: *Chem. Listy* 94, 1087 (2000).
 28. Raspor B., Paic M., Erk M.: *Talanta* 55, 109 (2001).
 29. Kizek R., Vacek J., Trnková L., Klejduš B., Havel L.: *Chem. Listy* 98, 166 (2004).
 30. Kizek R., Trnkova L., Palecek E.: *Anal. Chem.* 73, 4801 (2001).
 31. Olafson R. W., Olsson P. E.: *Methods Enzymol.* 205, 205 (1991).
 32. Olafson R. W., Sim R. G.: *Anal. Biochem.* 100, 343 (1979).
 33. Sestakova I., Kopanica M., Havran L., Palecek E.: *Electroanalysis* 12, 100 (2000).
 34. Sestakova I., Vodickova H., Mader P.: *Electroanalysis* 10, 764 (1998).
 35. Sestakova I., Mader P.: *Cell. Mol. Biol.* 46, 257 (2000).
 36. Sestakova I., Navratil T.: *Bioinorg. Chem. Appl.* 3, 43 (2005).
 37. Dabrio M., Rodríguez A. R., Bordin G., Bebianno M. J., De Ley M., Šestáková I., Vašák M., Nordberg M.: *J. Inorg. Biochem.* 88, 123 (2002).
 38. El Hourch M., Dudoit A., Amiard J. C.: *Electrochim. Acta* 48, 4083 (2003).
 39. Trnkova L., Kizek R., Vacek J.: *Bioelectrochemistry* 56, 57 (2002).
 40. Strouhal M., Kizek R., Vacek J., Trnkova L., Nemeč M.: *Bioelectrochemistry* 60, 29 (2003).
 41. Prusa R., Kizek R., Vacek J., Trnkova L., Zehnalek J.: *Clin. Chem.* 50, A28 (2004).
 42. Prusa R., Blastik O., Potesil D., Trnkova L., Zehnalek J., Adam V., Petrlova J., Jelen F., Kizek R.: *Clin. Chem.* 51, A56 (2005).
 43. Szpunar J.: *Analyst* 130, 442 (2005).
 44. Marikar F., Sun Q. M., Hua Z. C.: *Acta Biochim. Biophys. Sin.* 38, 305 (2006).
 45. Reid B. J., Levine D. S., Longton G., Blount P. L., Rabinovitch P. S.: *Am. J. Gastroenterol.* 95, 1669 (2000).
 46. Rebelo M. F., Pfeiffer W. C., da Silva H., Moraes M. O.: *Aquat. Toxicol.* 64, 359 (2003).
 47. Kim E. H., Kim T. S., Sun W., Kim D. S., Chung H. S., Kim D. K., Park S. H., Kim F.: *Mol. Cells* 18, 326 (2004).
 48. Nury D., Chabanon H., Levadoux-Martin M., Hesketh J.: *Biochem. J.* 387, 419 (2005).
 49. Laurie A. D.: *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.* 38, 869 (2004).
 50. Petrlova J., Potesil D., Mikelova R., Blastik O., Adam V., Trnkova L., Jelen F., Prusa R., Kukacka J., Kizek R.: *Electrochim. Acta* 51, 5112 (2006).
 51. Reid A., Pereira H., Galea M., Bell J. A., Elston C. W., Jasani B., Schmitt K., Kay J., Cryer A., Blamey R. W., Ellis I. O.: *J. Pathol.* 168, A100 (1992).
 52. Petrlova J., Blastik O., Prusa R., Kukacka J., Potesil D., Mikelova R., Adam V., Zehnalek J., Kizek R.: *Biomed. Papers* 149, 485 (2005).
 53. Petrlova J., Blastik O., Prusa R., Kukacka J., Mikelova R., Stiborova M., Adam V., Zitka O., Eckschlager T., Kizek R.: *Klinická Onkologie* 19, 138 (2006).
 54. Surowiak P., Paluchowski P., Dziegiel P., Wysocka T., Wojnar A., Spaczynski M., Zabel M.: *Med. Sci. Monitor* 10, BR300 (2004).
 55. Goulding H., Jasani B., Pereira H., Reid A., Galea M., Bell J. A., Elston C. W., Robertson J. F., Blamey R. W., Nicholson R. A., Schmid K. W., Ellis I. O.: *Br. J. Cancer* 72, 968 (1995).
 56. Nadji M., Fresno M., Herrera A., Morales A.: *Lab. Invest.* 70, A19 (1994).
 57. Florianczyk B., Grzybowska L.: *Acta Oncol.* 39, 141 (2000).
 58. Florianczyk B., Grzybowska L.: *J. Tumor Marker Oncol.* 14, 23 (1999).
 59. Kasahara K., Fujiwara Y., Nishio K., Ohmori T., Sugimoto Y., Komiya K., Matsuda T., Saijo N.: *Cancer Res.* 51, 3237 (1991).
 60. Bobillier-Chaumont S., Maupoil V., Berthelot A.: *J. Appl. Toxicol.* 26, 47 (2006).
 61. Filipovic V., Raspor B.: *Water Res.* 37, 3253 (2003).
 62. Campana O., Sarasquete C., Blasco J.: *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 55, 116 (2003).
 63. Saito S., Hiyamuta S., Kurasaki M., Saito T., Hosokawa T., Fujita H., Yoshida K.: *Chem.-Biol. Interact.* 140, 265 (2002).
 64. Brambila E., Liu J., Morgan D. L., Beliles R. P., Walalkes M. P.: *J. Toxicol. Environ. Health Pt A* 65, 1273 (2002).
 65. Li Y., Wo J. M., Cai L., Zhou Z. X., Rosenbaum D., Mendez C., Ray M. B., Jones W. F., Kang Y. J.: *Exp. Biol. Med.* 228, 286 (2003).
 66. Li Y., Wo J. M., Zhou Z. X., Rosenbaum D. H., Jones W., Ray M., Kang Y. J.: *Gastroenterology* 120, A444 (2001).
 67. Yamamoto M., Shiozaki H., Tamura S., Inoue M., Monden M.: *Gastroenterology* 110, A616 (1996).
 68. Telang N. T., Li G., Katdare M.: *Int. J. Oncol.* 28, 1523 (2006).
 69. Gwak J., Park S., Cho M. J., Song T., Cha S. H., Kim

- D. E., Jeon Y. J., Shin J. G., Oh S.: *Int. J. Mol. Med.* 17, 1005 (2006).
70. Collins P. D., Mpofo C., Watson A. J., Rhodes J. M.: *Cochrane Database Syst Rev.*, Iss. 2, CD000279 (2006).

V. Adam^a, O. Blašík^a, S. Křížková^a, P. Lubal^b, J. Kukačka^c, R. Průša^c, and R. Kizek^a (^a *Department of Chemistry and Biochemistry, Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno*, ^b *Department of Analytical Chemistry, Masaryk University, Brno*, ^c *Department of Clinical Biochemistry and*

Pathobiochemistry, Charles University, Prague): **Application of the Brdička Reaction in Determination of Metallothionein in Patients with Tumours**

The connection between the metallothionein (MT) content and the presence of tumor was studied by adsorptive stripping technique and differential pulse voltammetry (Brdička reaction). The average content of MT in the blood serum of tumour patients was higher than in controls ($0.72 \pm 0.09 \mu\text{mol dm}^{-3}$). In leukemia and lung cancer, the MT content was more than five times higher in comparison with control.

POLYSACHARIDY 2007 – DODATKY

INSOLUBLE FIBER-RICH FRACTIONS OF GRAPE SEED

EBRU FIRATLIGIL-DURMUS and OZGUL EVRANUZ

Istanbul Technical University, Food Engineering Department, Maslak – Istanbul, Turkey

VYUŽITÍ ŠKROBU PRO PŘÍPRAVU BIODEGRADOVATELNÝCH OBALŮ

SANDRA CIRMACIOVÁ, MIROSLAV MAREK, HANA SMÍTKOVÁ a JAROSLAV DOBIÁŠ

Ústav konzervace potravin a technologie masa, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6

PREVENTION OF CANCER WITH DIET SUPPLEMENTATION WITH MUSHROOMS

A. KARMALI^a and T. H. FERNANDES^b

^a *ISEL, Rua Emilio Navarro, Lisboa*, ^b *CIISA-FMV-UTL, Rua Prof. Cid dos Santos, Portugal*

HYDROLÝZA OXIDOVANÉ CELULOSY

TOMÁŠ JEŘÁBEK^a, TOMÁŠ LUBAS^a, LUKÁŠ KREJČÍK^a, GORDON K. GOMBA^a, ALLA SYNYTSYA^b

^a *Ústav chemie a technologie sacharidů*, ^b *Ústav chemie a analýzy potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6*

Práce byla podpořena grantem MPO 2A-1TO1/041.

Oprava složení autorského kolektivu:

METHYLAČNÍ ANALÝZA β -GLUKANŮ

JANA ČOPÍKOVÁ, BARBORA KASÍKOVÁ, RADKA HAASOVÁ, ANDRIY SYNYTSYA a MIROSLAV NOVÁK

Ústav chemie a technologie sacharidů, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6

NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE

DOPORUČENÍ IUPAC

Metrological Traceability of Measurement Results in Chemistry

In commerce, society, and science, metrological comparability of measured quantity values and various published values is essential to determine their spatio-temporal differences, ratios, and drifts. Achieving metrological comparability of measurement results requires definition of calibration hierarchies providing metrological traceability chains which enable the establishment of metrological traceability of measured quantity values to a common metrological reference. Experience has shown that the understanding of the concepts involved, their relation, role, definition, and use is insufficient and varied. Consequently, an attempt is made in this study to arrive at a set of consistent concept systems with associated terminology for measurement in chemistry. The systems build on definitions of concepts and associated terms from the new 3rd edition (2007) of the International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms – VIM, such as quantity, measurand, calibration, measurement procedure, measurement uncertainty, measurement standard, calibrator, reference material. Additional concepts such as metrological equivalence of measurement results are also given. Flow charts of generic calibration hierarchies are presented as well as a variety of examples. The establishment, assessment, and reporting of metrological

traceability are discussed, including the needed metrological institutional hierarchy and the role of interlaboratory comparisons. Recommendations are made about the essential steps in planning and performing a measurement, and reporting a measurement result.

Otiskujeme synopsi názvoslovného návrhu z oboru metrologie, který byl připraven divizí IUPAC pro analytickou chemii. Návrh je určen k posouzení a kritice chemické veřejnosti. Zájemci o bližší informace či o texty návrhů se mohou obrátit na adresu Národního střediska IUPAC v České republice:

Ing. Jaroslav Kahovec, CSc.
Ústav makromolekulární chemie AV ČR
Heyrovského nám. 2
162 06 Praha 6
tel: 296 809 322, fax: 296 809 410,
e-mail: kah@imc.cas.cz

Návrh je též vystaven na webové stránce IUPAC na adrese http://www.iupac.org/reports/provisional/abstract07/fajgelj_290208.html

Připomínky k návrhům je třeba zaslat do 29. února 2008 na adresu:
Prof. Paul De Bièvre
e-mail: paul.de.bievre@skynet.be

APROCHEM 2008

17. Chemicko-technologická konference

Chemické technologie • Ropa • Petrochemie • Polymery

Rozvoj chemického průmyslu • Výzkum • Školství • Prostředí • Bezpečnost • Legislativa

14. – 16. duben 2008 Milovy – Sněžné na Moravě, Hotel Devět Skal

ODPADOVÉ FÓRUM 2008

3. Symposium • Výsledky výzkumu a vývoje pro odpadové hospodářství

Nebezpečné, chemické, biodegradabilní a inertní odpady • Termické využití • Recyklace •

Sanace zátěží • Systémové otázky • Odpadní vody • Čištění exhalací • Pachy

16. – 18. duben 2008 • Milovy – Sněžné na Moravě • Hotel Devět Skal

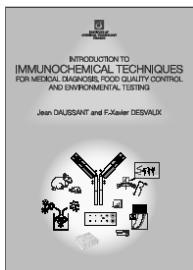
Doprovodná technická výstavka • Možnosti firemních prezentací

Přihlášky příspěvků – prodloužený termín 31. 1. 2008. Plná znění do 15. 3. 2008. Další informace v únoru na web – 2. cirkulář, odborný program, přihláška k účasti. Přihlášky účasti do 31. 3. 2008. Pro obě akce opět jediná registrace. Plná znění příspěvků na CD ROM i v tištěné formě. Vyhodnocení a ocenění nejlepších přednášek studentů.

Připravuje PCHE s ČSPCH, ČSCH, ČSCH, VŠCHT Praha, SCHP ČR, ÚCHP AV ČR
a CEMC, redakcí časopisu ODPADOVÉ FÓRUM.

PCHE – PetroCHemEng, Ing. J. Škarka, CSc., Na Dračkách 13, 162 00 Praha 6, Tel/Fax: 220 518 698 • Mobil: 607 671 866
pche@csvts.cz • www.aprochem.cz • www.odpadoveforum.cz

RECENZE

**Pro všechny zájemce o imunochemické techniky**

Vydavatelství VŠCHT v Praze vydalo pozoruhodnou publikaci:

J. Daussant
a F. X. Desvaux:

Introduction to Immunochemical Techniques for Medical Diagnosis, Food Quality Control and Environmental Testing
Praha 2007, ISBN 978-80-7080-641-8

Publikace je primárně určena pro výuku domácích i zahraničních studentů, ale je samozřejmě vhodná pro všechny zájemce o imunochemické techniky, zejména z oblastí medicíny, potravinářství, chemie, zemědělství a životního prostředí. Obsah publikace je rozčleněn do tří částí: Základy imunochemie, Principy imunochemických technik a Aplikace imunochemických metod v lékařské diagnostice, kontrole kvality potravin a kontrole životního prostředí. První část se zabývá historií imunochemie, popisem struktury, vlastností a interakcí antigenů a protilátek, buněčnými a molekulárními aspekty tvorby protilátek, jakož i technikami přípravy polyklonálních, monoklonálních i rekombinantních protilátek a samozřejmě i způsoby použití jednotlivých typů protilátek v imunochemických technikách. V druhé části publikace jsou imunochemické techniky členěny na tři velké skupiny, a to na techniky založené na primární interakci antigenů a protilátek (včetně RIA a EIA), techniky založené na reverzibilitě tvorby komplexu antigen-protilátka (imunoafinitní chromatografie) a konečně na techniky využívající sekundární efekty při tvorbě komplexu antigen protilátka (imunoprecipitace, imunoprecipitace a tvorba komplemenu). Třetí část se zabývá výčtem nejvýznamějších aplikací imunochemických technik ve vyznačených oblastech. Text vyniká přesností formulací, brilantním vysvětlením všech základních imunochemických termínů a excelentními barevnými obrázky. Je to plod mnohaleté pedagogické činnosti profesora Daussanta a celoživotních osobních zkušeností z imunochemických laboratoří, které se začaly formovat v Pasteurově ústavu v oddělení objevitele imunoelktroforezy profesora Grabara. Prof. Daussant vedl řadu let kursy nejen ve Francii, ale také v Čechách, na Slovensku a v Polsku. Přednášení imunochemie je jeho hobby a stálá láska. Jeho kolega F. X. Desvaux ověřil tuto vynikající učebnici nádhernými barevnými obrázky, které umožní snadno pochopit vysvětlovanou problematiku. Publikace je doplněna slovníčkem nejdůležitějších imunochemických termínů, doporučenou literaturou a především CD, které obsahuje nejen celou publikaci, ale také vyhledavač umožňující snadno najít v textu kterýkoliv termín, ale také co se o něm na určité straně píše. Najdeme zde i odkazy na webové stránky VŠCHT Praha.

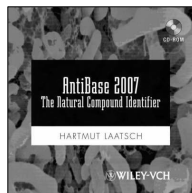
Závěrem mohu všem zájemcům o imunochemii tuto publikaci vřele doporučit. Bude se jistě hodit všem našim vysokoškolským učitelům kteří přicházejí do styku se zahraničními studenty, např. v rámci úspěšně se rozvíjející evropské spolupráce (programy Erasmus aj.). S potěšením si ji jistě přečtou i ti, kdo imunochemii znají nebo ji dříve studovali a potřebují si některé vědomosti oprášit a utřídit.

Publikaci si lze objednat na adrese: Vydavatelství VŠCHT Praha, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, e-mailem: vydavatelstvi@vscht.cz

Lze si ji také přímo koupit v prodejní skript v budově B, VŠCHT Praha, v přízemí vpravo, č. dveří B 8.

Cena publikace, včetně CD je 405 Kč + 9 % DPH. Řádní studenti si mohou koupit publikaci za sníženou cenu 249 Kč + 9 % DPH.

Jan Káš



Laatsch Hartmut
Antibase 2007: The Natural Product Identifier

Wiley-VCH Verlag GmbH Weinheim, cena € 7350. CD.

ISBN-10: 3-527-31975-1,

ISBN-13: 978-3-527-31975-6

"Antibase 2007" je vyčerpávající elektronickou databázi popisující 33 557 přírodních sloučenin z mikroorganismů a vyšších hub. Data byla excerpována z primárních a sekundárních literárních zdrojů. Opírá se zejména o: Dictionary of Antibiotics and Related Substances (Ed. B. W. Bycroft), Chapman and Hall, London 1988, Abstracts of the Journal of Antibiotics, 1976-1985, Chemical Abstracts, W.B. Turner and D.C. Aldridge, Fungal Metabolites II, Academic Press, London 1, R. H. Thomson, Naturally Occurring Quinones. Vol. II: Academic Press, London 1971 Vol. III: Chapman and Hall, London 1987 ale i o běžnou časopiseckou literaturu, kterou řádně cituje. Data byla pečlivě prověřena a validována. „Antibase“ zahrnuje popisná data (strukturní a sumární vzorec, hmotu, vzhled, CAS registry number, a [zřejmě vypočtené] parametry HR molekulárních iontu); fyzikálně-chemická data (bod tání, optická rotace, TLC mobilita a použitá soustava/pevná fáze, rozpustnost); spektroskopické údaje (UV, ¹³C-NMR, IR, MS); data biologická (farmakologickou aktivitu, toxicitu); informace o výskytu a izolaci a nakonec odkazy na literaturu. Celkový počet údajů v databázi je cca 400,000. Jako zajímavost lze uvést, že databáze obsahuje predikovaná ¹³C-NMR spektra pro sloučeniny, u kterých není k dispozici spektrum experimentální. Tato spektra byla predikována programem SpecInfo. Z neuvedených důvodů není takové spektrum predikováno u cca 1/10 látek. Přehled protonových spekter je chudší, je uvedeno u cca 1100 látek. U některých látek je uvedena

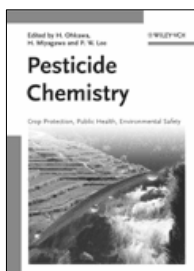
elementární analýza. Data která nejsou k dispozici v některém z předprogramovaných formulářů lze zobrazit na pokyn uživatele.

Databáze je k dispozici pod výše uvedeným číslem ISBN ve formátu pro ISIS/Base (MDL) a ChemFinder (CambridgeSoft). Pod ISBN-13: 978-3-527-31977-0 je k dispozici i pro SciDex za € 7850.

Celkem je databáze kvalitně provedena, trochu pokulhává přenos cut/paste u strukturálních vzorců, které jsou při přenosu například do dokumentu MS Word někdy zkresleny.

Databázi lze doporučit farmaceutickým chemikům, učitelům, chemikům, kteří hledají strukturální inspiraci v přírodě, ale i zájemcům o krásu a diversitu přírodních látek.

Pavel Drašar



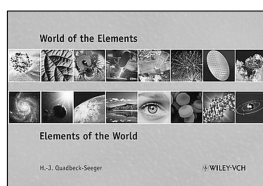
Ohkawa Hideo,
Miyagawa Hisashi,
Lee Philip W. (ed.):
Pesticide Chemistry
Crop Protection, Public Health,
Environmental Safety

Vydal Wiley-VCH, červen 2007,
pevná vazba
Cena 159.- Euro / 251.- SFR
ISBN-10: 3-527-31663-9,
ISBN-13: 978-3-527-31663-2

Renomovaní autoři prof. Hideo Ohkawa, prof. Hisashi Miyagawa a dr. Philip W. Lee shrnuli vybrané příspěvky ze světového pesticidového fóra (11th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry, Kobe, Japan 2006) do knihy. Prof. Okawa má dlouhodobé zkušenosti s organizováním takových setkání a editoval již několik podobných kompendií. Prof. Hisashi byl předsedou vědeckého výboru kongresu a dr. Lee editoval známou knihu o metodách residuální analýzy agrochemikálií. Hlavní náplní příspěvků z reprezentativního setkání odborníků z celého světa v oblasti vývoje a použití nových pesticidů byla orientace na ochranu úrody před plevelem, houbami a hmyzem. Popsány jsou rovněž významné technologie využívané v průmyslu. Současně je však věnována pozornost zdravotním aspektům používání pesticidů, jejich vlivu na kvalitu a bezpečnost potravin a dopadu používání pesticidů na životní prostředí.

Kromě pěti plenárních přednášek je v knize uvedeno 13 příspěvků o nových pesticidech, 6 sdělení o biologických aspektech použití pesticidů, popsány 2 nové technologie výroby pesticidů, 9 příspěvků z oblasti bezpečnosti potravin a vlivu na zdravotní stav a dalších 5 sdělení zabývajících se problematikou vlivu pesticidů na životní prostředí.

Knihou umožní čtenáři získat přehled o současném stavu výroby a využití pesticidů včetně dopadů jejich využívání na životní prostředí a na zdraví konzumentů potravin zvláště.



Hans-Jürgen
Quadbeck-Seeger

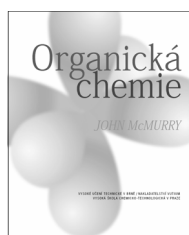
**World of the Elements –
Elements of the World**

ISBN-13: 978-3-527-32065-3 – Wiley-VCH, Weinheim, v němčině Die Welt der Elemente – Die Elemente der Welt ISBN-13: 978-3-527-31789-9. Prvé vydání 2007, 116 stran, pevná vazba, cena 15,90 Euro.

Půvabná knížečka z pera předsedy GDCh, která přináší povídání o každém prvku s tím, že se dozvíme proč potřebujeme kyslík k dýchání, jak to, že neon svítí a chrom se leskne. Knížka uvádí u každého prvku jeho historii, přináší ilustrativní obrázky a poučné čtení pro každého. Dovíme se, že náš mobil obsahuje arsen a že na rozdíl od pekla, které vůbec v Bibli není uvedeno, hovoří tato kniha o zlatu na 363 místech.

Knížka je natolik půvabná, že by neměla chybět v knihovně žádného učitele, ale ani žádného přítele věd přírodních.

Pavel Drašar



John McMurry

Organická chemie

Vydalo vydavatelství Vysoké školy chemicko-technologické v Praze a VUT Brno – nakladatelství VUTIUM 2007.
1176 stran + Dodatky

a rejstřík, cena 1600 Kč + 9 % DPH, 1300 Kč + 9 % DPH – pro studenty VŠCHT Praha.

ISBN 9788021432918 (VUT v Brně)

a ISBN 9788070806371 (VŠCHT Praha).

Knihu lze zakoupit ve velkých knihkupectvích a v prodejně LICHEMA na adrese Technická 3, 166 28 Praha 6. Objednat ji lze i elektronicky na adrese: vydavatelstvi@vscht.cz.

Přední vysokoškolské učitelé, J. Jonas, E. Klinotová, J. Klinot, F. Liška, M. Potáček, J. Svoboda a T. Trnka přeložili učebnici Organic Chemistry (6. vydání z roku 2004) profesora J. McMurryho z Cornell University.

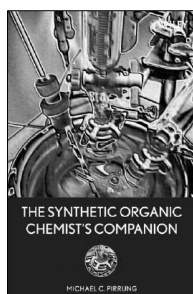
Členění obsahu knihy (31 kapitol) odpovídá pedagogicky osvědčenému sledu výkladu na chemii uhlovlíků, jejich derivátů a o biomolekulách (sacharidy, peptidy, lipidy, heterocykly a nukleové kyseliny). Následují kapitoly o metabolických procesech, o pericyklických reakcích, syntetických polymerech, o názvosloví, odpovědi k úlohám v textu a seznam Nobelových cen za chemii. Páteří učebnice, výborně vyištěné, je názorný výklad mechanismů reakcí jednotlivých skupin sloučenin. Přitom většinou místa, kde dochází k interakci, jsou barevně vy-

značena. V živém textu autor promlouvá k čtenáři a vtahuje ho do řešení úloh, kterých není málo a některé jsou dost obtížné. Autor jakoby nahrával na svou další knihu s otázkami. Sympatickým doplňkem jsou kapitoly „Chemie a lidská činnost“, s často zajímavými informacemi o přírodních látkách, léčivech a dalších. Při řešení několikastupňových syntéz autor akcentuje retrosyntetický postup. Čtenáři jistě ocení častě zobrazení modelu sloučěniny a převod obrázku na strukturní vzorec. Velký důraz je kladen na aplikaci spektrálních metod i v úlohách. V textu jsou otištěny údaje o výši výroby organických velkoproduktů. Kupodivu chybí zmínka o výrobě nejdůležitějšího aminu – anilinu – katalytickou hydrogenací nitrobenzenu. Světová produkce anilinu je kolem 3 milionů tun ročně, v ČR 150 000 tun. Drobným nedostatkem je absence fyzikálních dat o typických, prakticky důležitých sloučěnínách, ale například i výklad o přípravě fenyhydrazinu a chybí i strukturní vzorce většiny vitaminů.

Učebnice, která se prosadila vedle dalších kvalitních (např. F.A.Carey) a dosáhla šesti vydání, jistě prošla náročnou odbornou kritikou. Přesto, jak píše v předmluvě J. Svoboda, museli překladatelě vynaložit dost práce na úpravu a korektury původních vzorců a otázek. Dále zaslouží ocenění mnohé poznámky překladatelů a údaje o výši organických výrob u nás. Doplňkem textu jsou miniživotopisy autorů. Dlouholetá pedagogická zkušenost mluví ve prospěch „klípků“ jako oživení přednášek. Překladatelě v informaci o profesoru V. Prelogovi připomněli jeho vysokoškolské studium a vědecké začátky v Praze. Přednášející jistě rozšíří svůj výklad např. o J. Liebiga, J. B. A. Dumase, V. Meyera, C.D. Harriese a o autory narozené v našich zemích. Sem patří Hans Tropsch (Planá u Mariánských Lázní), Zdenko Hans Skraup (Praha), Simon Zeisel (Lomnice u Tišnova), z našich pak Emil Votoček a jeho pokračovatelě. V učebnici chybí informace o adamantanu, možná proto, že původně šlo o čistě evropskou záležitost (S. Landa, R. Lukeš, V. Prelog, R. Schleyer). V textu výborně provedeného překladu, je minimum literárních chyb. Správně je Butenandt (str. 1037), Friedrich Bergius, Hermann Staudinger; H. C. Brown zemřel roku 2004. Název disubstituovaného benzonitrilu (A-6-10) si čtenář opraví podle znění v textu na předešlé straně.

Překlad vynikající McMurryho učebnice konečně zaplňuje dlouho trvající nedostatek moderního učebního textu. Knihu lze vřele doporučit nejen studentům, ale i všem organickým chemikům.

Miloslav Ferles



Michael C. Pirrung

The Synthetic Organic Chemist's Companion

1. vydání 2007, 198 stran, měkká vazba, John Wiley & Sons, cena 42.90 Euro
ISBN-13: 978-0-470-10707-2

Průvodce organického chemika je cosi, co známe v české podobě od Václava Horáka či od kolektivu z UOCHB již po dlouhou dobu. Nicméně, tato knížka zachycuje autorovy zkušenosti ze studentských i výzkumných laboratoř a přináší i mnoho nových praktických nápadů na „metodiku práce v organické laboratoři“. Knížka obsahuje základy všeho důležitějšího, s čím se chemik o organické laboratoři setká od práce s reagenty, plyny, vakuem, rozpouštědly před provádění chemických reakcí, čištění látek až po analytickou chemii. Knížka se zabývá i prací s literaturou, webem, nebezpečím číhající m na chemika, prací v malých množstvích, psaním protokolů a mnohým dalším. V přílohách přináší NMR spektrální data běžných nečistot, přehled rozpouštědel, předpisy pro vyvolávání tenkých vrstev, návod na rozebrání zapečených zábrusů, přehled „kyselosti“ funkčních skupin, a to i v DMSO a zdroje informací na webu.

Knížka je „americká“ se zažitými a „zažranými“ chybami, jako jsou alonže a odsávací nástavce firmy Ace, kde výstupní trubice nepřesahuje přes zábrus a veškerý filtrát či destilát je odsát vakuem. Návodné použití rtuťových manometrů je dávnou historií, nehledě na to, že i v USA se cokoli se rtuť uř dá koupit jenom výjimečně. Převážně historizující laboratorní vybavení je v USA také běžné.

Pokud se přesuneme do Evropy, můžeme říci, že knížka je užitečná a poslouží v každě chemické laboratoři.

Pavel Drařar



Job

Cayman Chemicals: www.caymanchem.com SALES SPECIALIST

Pharmaceutical company, Cayman Pharma s. r.o., a part of U.S.A. based company Cayman Chemical, will expand the sales of biochemical reagents, assay kits, enzymes, and antibodies for the advancement of human and veterinary health care of Cayman Chemicals, and is looking for a suitable candidate for the position of Sales Specialist.

Responsibilities

- Setting up regular contacts with prospective customers
- Marketing and sale of assigned product portfolio
- Market surveys, monitoring and evaluation of competition activities
- Organization and conducting of marketing operations and campaigns
- Maintaining and strengthening of company goodwill

Requirements

- University degree – chemistry, biochemistry, possibly pharmaceutical
- English – fluent knowledge of technical and conversational language
- Previous employment experience in sales and marketing
- Excellent business and presentation skills, and strong verbal and written communication skills to correspond with laboratory and research department heads, doctors, and business managers
- Ability to travel frequently
- Possession of a Group B drivers license
- Available to start immediately

Benefits and Compensation Features

- Financial incentives depending upon sales results
- Professional training with a dynamic and motivated work team
- Company car, mobile phone
- Support of international company headquartered in the USA
- 5 weeks vacation

Kontakt: **Hana Kantuláková**, Cayman Pharma s.r.o., Tel. 315 664 525, Fax. 315 662 500,
hana.kantulakova@caymanpharma.cz



Zaměstnání

Cayman Pharma: www.caymanpharma.cz

Farmaceutická společnost Cayman Pharma s.r.o. se sídlem v Neratovicích hledá vhodného kandidáta na pozici:

ŘEDITEL VÝZKUMU A VÝVOJE

Náplň práce

- odpovědnost člena vrcholového vedení,
- řízení 2-3 výzkumných týmů zaměřených na chemický a technologický vývoj,
- paralelní řízení několika výzkumně-vývojových projektů,
- řízení strategických aliancí s výzkumně-vývojovými centry, výzkumnými ústavami a univerzitami,
- harmonizace výzkumně-vývojových aktivit s mateřskou společností v USA,
- odpovědnost za vývoj nových produktů,
- odpovědnost za intenzifikaci a optimalizaci technologických procesů,
- návrh výzkumně-vývojového programu společnosti, participace na tvorbě firemní strategie,
- odpovědnost za rozpočty a controlling výzkumně-vývojových činností,
- spolupráce na náboru nových pracovníků do výzkumu a vývoje.

Požadavky

- magisterský nebo inženýrský titul v chemii, Ph.D výhodou,
- velmi dobré odborné znalosti v organické chemii a organické technologii,
- minim. 8 let praxe ve výzkumu a vývoji,
- 4 roky praxe v řízení výzkumných týmů,
- znalost projektového a strategického managementu,
- velmi dobrá znalost AJ včetně odborné terminologie, znalost dalšího svět. jazyka výhodou,
- dobrá znalost práce na PC,
- komunikativnost, schopnost řídit a motivovat spolupracovníky,
- průkazné výsledky v chemickém nebo farmaceutickém výzkumu a vývoji,
- zkušenosti se systémem Správné výrobní praxe výhodou.

Co nabízíme

- finanční ohodnocení odpovídající zastávané pozici a výsledkům práce,
- možnost dalšího profesionálního růstu,
- účast na odborných konferencích a seminářích,
- 5 týdnů dovolené a další benefity.

Kontakt: **Hana Kantuláková**, Cayman Pharma s.r.o., Tel. 315 664 525, Fax. 315 662 500,
hana.kantulakova@caymanpharma.cz



2. ročník středoškolské soutěže v experimentální chemii

O pohár Becario

Preambule

Chemie je zejména experimentální vědou. Cílem projektu je, aby si studenti tuto skutečnost uvědomili a sami navrhli atraktivní chemický experiment na zadané téma, který posluchače nejenom poučí, ale také zaujme.

Vyhlašovatelé

Becario - sdružení na podporu vzdělanosti, Národní centrum pro mladé chemiky, VŠCHT Praha.

Pro koho je soutěž určena

Soutěže se mohou zúčastnit 2 až 3-členné týmy středoškolských studentů, zejména z gymnázií, SPŠCH a SPŠ s rozšířenou výukou přírodovědných předmětů. Členové týmu musejí pocházet z jedné školy. Účast není omezena ročníkem studia.

Zadání 2. ročníku soutěže

Navrhněte a zrealizujte experiment na téma
„Chemie a elektřina“

Harmonogram

Termín pro odeslání přihlášky a kompletní dokumentace **14. 3. 2008**
Odborná porota vybere až 14 nejlepších týmů do **28. 3. 2008**
Vybraní finalisté odešlou v elektronické podobě prezentaci do **11. 4. 2008**
Dvoudenní finále soutěže* **22. – 23. 4. 2008**

*Prezentace a demonstrace vybraných projektů před porotou na VŠCHT Praha, slavnostní vyhlášení vítězných týmů v Senátu ČR. Ubytování a stravování hradí organizátor.

Charakteristika experimentu

Zpracování experimentu musí splňovat tato kritéria:

- **Kreativita** – Experiment musí studenti sami předvést a to pokud možno originálním způsobem demonstrace.
- **Atraktivita** – Experiment by měl být atraktivní, aby dokázal upoutat pozornost a zaujmout studenty.
- **Kompletnost řešení** – Řešení musí obsahovat teoretický a praktický popis experimentu, nákres aparatury a fotodokumentaci, časovou náročnost přípravy a realizace, seznam potřebných pomůcek a chemikálií a nároky na bezpečnost.
- **Realizovatelnost ve výuce** – Časová náročnost, stejně jako náročnost na pomůcky a chemikálie musejí umožňovat realizaci experimentu při běžné výuce na střední škole.

Odborná porota

V porotě zasednou a odbornou úroveň soutěže budou zajišťovat prof. Rudolf Zahradník, čestný předseda AV ČR, RNDr. Petr Holzhauser, Národní centrum pro mladé chemiky, prof. Jitka Moravcová, VŠCHT Praha a Ing. Markéta Červinková, Becario.

Mediální partneři

ČR Leonardo, Adamantan, Lobby, Chemické listy (v tomto časopise budou formou článku zveřejněny projekty finalistů)

Kontakty

Informace k soutěži a přihláška www.becario.cz/poharchemie
Dotazy a zaslání kompletní dokumentace poharchemie@becario.cz

Ceny pro vítězné týmy: 1. místo věcné ceny a odměna 7.000 Kč pro každého člena týmu, pro školu 20.000 Kč
2. místo věcné ceny a odměna 5.000 Kč pro každého člena týmu, pro školu 15.000 Kč
3. místo věcné ceny a odměna 3.000 Kč pro každého člena týmu, pro školu 10.000 Kč

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 2008/2009 do následujících oborů doktorských studijních programů uskutečňovaných na fakultách VŠCHT Praha (<http://www.vscht.cz>):

Fakulta chemické technologie

<i>Studijní program:</i>	<i>Chemie</i>	<i>Studijní program:</i>	<i>Chemie a technologie materiálů</i>
Studijní obory:	Anorganická chemie Organická chemie Makromolekulární chemie	Studijní obor:	Technologie makromolekulárních látek Metalurgie Chemie a technologie anorganických materiálů Materiálové inženýrství
<i>Studijní program:</i>	<i>Chemie a chemické technologie</i>		
Studijní obory:	Anorganická technologie Organická technologie		

Fakulta technologie ochrany prostředí

<i>Studijní program:</i>	<i>Chemie a technologie ochrany životního prostředí</i>	<i>Studijní program:</i>	<i>Chemie a technologie paliv a prostředí</i>
Studijní obor:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí	Studijní obor:	Energetika v chemicko-technologických procesech Chemické a energetické zpracování paliv

Fakulta potravinářské a biochemické technologie

<i>Studijní program:</i>	<i>Chemie</i>	<i>Studijní program:</i>	<i>Biochemie a biotechnologie</i>
Studijní obor:	Organická chemie Biochemie	Studijní obor:	Biotechnologie
<i>Studijní program:</i>	<i>Mikrobiologie</i>	<i>Studijní program:</i>	<i>Chemie a technologie potravin</i>
Studijní obor:	Mikrobiologie	Studijní obor:	Chemie a analýza potravin Technologie potravin

Fakulta chemicko-inženýrská

<i>Studijní program:</i>	<i>Chemie</i>	<i>Studijní program:</i>	<i>Aplikovaná matematika</i>
Studijní obor:	Analytická chemie Fyzikální chemie	Studijní obor:	Aplikovaná matematika
<i>Studijní program:</i>	<i>Chemické a procesní inženýrství</i>		
Studijní obor:	Chemické inženýrství Technická kybernetika Řízení a ekonomika podniku		

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 **28. března 2008** na děkanáty příslušných fakult, Technická 5, 166 28 Praha 6.

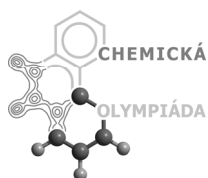
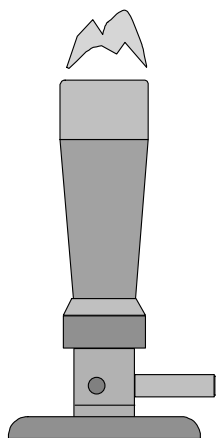


BULLETIN

ASOCIACE ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

Ročník 39

Číslo 1



Český komitét
ČKCH
pro chemii

ČSCHI

ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÉHO INŽENÝRSTVÍ
CZECH SOCIETY OF CHEMICAL ENGINEERING



Obsah Chemické listy 2007, číslo 11 a 12

ČÍSLO 11/2007

ÚVODNÍK	871
REFERÁTY	
β-Glukany, historie a současnost M. Novák	872
Potenciál modifikovaných nanočástic v analytické chemii P. Řezanka, K. Záruba a V. Král	881
studium využití některých N-donorových ligandů a jejich komplexů s ionty přechodných kovů R. Cibulka, E. Svobodová, B. König, J. Ludvík, F. Hampl a F. Liška	886
Přírodní látky hořké chuti L. Opletal, J. Čopíková, M. Uher, O. Lapčík, J. Moravcová a P. Drašar	895
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Využití HPLC ke stanovení produktu exprese genu pro mikrobiální tyrosindekarboxylasu R. Burdychová a V. Dohnal	907
Fermentace směsí laktosy a laktulose kmenem <i>Lactobacillus acidophilus</i> I. Bohačenko, J. Pinkrová, J. Peroutková a M. Pechačová	911
Možnosti diagnostiky intoxikací antidepresiv M. Staňková, P. Ondra a P. Kurka	916
RECENZE	923
DISKUSE	924
ZPRÁVY	925
LIBLICE 2007	927

ČÍSLO 12/2007

ÚVODNÍK	988
REFERÁTY	
Kritické veličiny látek a jejich predikce P. Chuchvalec a J. P. Novák	989
Iontové kapaliny – úvahy o jejich využití v homogenní asymetrické katalýze I. Černá, P. Klusoň, M. Drobek, T. Cajthaml a L. Bartek	994
Látky ovlivňující vnímání organoleptických vlastností J. Moravcová, L. Opletal, O. Lapčík, J. Čopíková, M. Uher a P. Drašar	1002
terc-Butylmethylether a jeho degradace oxidačními procesy J. Hetflejš, S. Šabata a G. Kuncová	1011
Matricové efekty a ich eliminácia pri analýze reziduí pesticídov v potravinách plynovou chromatografiou R. Húšková, M. Kirchner a E. Matisová	1020
Feroelektrické kapalně krystalové s vysokou spontánní polarizací S. Pirkl	1028
Zdravotní rizika rtuti ze zubních amalgámů M. Tuček, V. Bencko a S. Krýsl	1038
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Nanodispersní oxidy a hydroxidy pro destrukci otravných bojových látek V. Štengl, S. Bakardžieva, J. Šubrt, F. Opluštil a M. Olšanská	1045
Studium faktorů ovlivňujících vznik a zánik troposférického ozonu K. Šec, F. Skácel, L. Malec a V. Tekáč	1051
RECENZE	1058

O VYSOKÝCH ŠKOLÁCH A VĚDĚ (Svět a provincie)

RUDOLF ZAHRADNÍK

Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského, Akademie věd České republiky, v.v.i., Dolejškova 3, 182 23 Praha 8

Kvalita učitelských sborů

Školy, myslím vysoké školy, o nichž se mluví ve světě s respektem, mají několik výrazných společných rysů. Nejinak je tomu se školami, jež se netěší tak dobré pověsti; i ty mají společné rysy, pro jejich pověst příznačné, z nichž některé lze, jsou-li rozpoznány, při dobré vůli odstranit.

Hovoří-li se o stavu vysokého školství, probírá se většinou několik tradičních bodů: vybavení ústavů, laboratoří, knihoven, počet studentů, nedostatečné financování, potřeba nových prostor (budov), platy učitelů. Kupodivu zhusta se opomíjí bod, o němž už léta soudím, že je nejdůležitější: kvalita učitelského sboru. Vytvořit takový sbor není lehké. Jde totiž o proces, který na fakultě (univerzitě) pověsti dbalé musí být ve středu zájmu představitelů školy (akademických hodnostářů, děkanů, rektorů a výrazných osobností učitelského sboru). Ona totiž rozšířená představa o tom, že výběrové řízení zaručí nejlepší kvalitu uchazeče, není zcela správná, a to především, zajímá-li se o významné místo uchazeč jediný. Je-li počet zájemců o jediné místo několik desítek, je samozřejmě naděje na získání vhodného uchazeče mnohem větší.

Ve školách, jež patří k výkvětu, se to obvykle dělá zcela jinak. Děkan (rektor) takové školy má na základě rozsáhlé badatelské a vědecko-společenské zkušenosti vyhlédnutou osobnost (na základě rozhledu po celém světě), o níž pro další posílení své instituce energicky usiluje. Samozřejmě o takovou osobnost bývá horlivý zájem z více stran, které se pak často předhánějí v nabídkách vybavení laboratoří i platu. Je tedy třeba, chcete-li uspět, být součástí ctihodné instituce, ale také nebýt chudý. Ono to, jak bylo naznačeno, něco stojí, ale, a to je nutno dodat jedním dechem, ono se to ohromně vyplatí. Sestává-li učitelský sbor z takových osobností, patřívá škola k „horním deseti procentům“. Talentovaná část studentské mládeže neomylně pozná kvalitu, uchází se o studium právě na oně fakultě a usiluje o práci ve skupinách či ústavech oněch osobností. A tak jde o jakýsi katalytický či autokatalytický proces. (Je užitečné zmínit, že přes 50 % profesorů na curyšské ETH pochází z aktivního vyhledávání vynikajících učenců po celém světě. Tudiž méně než 50 % profesorských pozic je obsazeno Švýcary. Praxe ústavů Společnosti Maxe Plancka v Německu je poučná zase pro Akademii věd ČR: 30 % ředitelů a vědeckých pracovníků nejsou Němci¹.)

V končinách, v nichž není uplatnění naznačeného

postupu obvyklé, se lidé často nerozhlízejí ani po příbuzných pracovištích v téže zemi. Vedoucím ústavu se často stane prostě člověk, který tam má už pár let odpracováno. Žádná nová krev, žádný osvěžující průvan. Je to o to horší, že v těchto oblastech existuje u nás už léta krize osobností, je jich málo, místy zoufale málo. A tak se dokonce stává, že pokud fakulta potřebuje nového děkana a vyhraněnou osobnost nelze nalézt, je nutno vybrané bytosti urychleně pomoci s habilitací, protože mít nehabilitovaného děkana by bylo přece jen divné. I v případě rektora vysoké školy se může něco podobného přihodit. Akademičtí hodnostáři s touto anamnézou obvykle pro pronikavý růst úrovně učitelského sboru mnoho neudělají.

Důsledky pochybených koncepcí

Ve své nedávné krátké řeči k mladým badatelům, oceněným Cenou Josefa Hlávky, jsem některé špatné rysy našeho vysokého školství charakterizoval takto:

1. Roste počet vysokých škol a filiálék VŠ a fakult, což je v zásadě důvod k radosti. Při bližším pohledu však vidíme, že mnohé nedosahují ani úrovně odborných učilišť ve vyspělých zemích. Obdobně se můžeme vyjádřit k rychlému růstu počtu docentů a profesorů: mnohé zdejší habilitace by ve světě neprošly a některé naše profesury by vyvolaly ve zdatném světě veliký údiv.
2. Zaměření mnoha těchto škol, dílem škol soukromých, je bizarní, často dokonce jejich názvy znějí nesrozumitelně. Zaplatí-li však student, bakalářství ho nemine.
3. Velmi velký zájem bývá o školy, o nichž mnozí soudí, že jsou celkem snadno zvládnutelné, a přitom jejich absolventi mají vyhlídku na dobrý plat. Náročnější velmi potřebné školy však soustavně trpí malým zájmem studentů. Tomu lze alespoň dílem pomoci zlepšením podmínek pro ty, které naše země naléhavě potřebuje.
4. Roste počet studentů pedagogických škol, počet učitelů působících na základních a středních školách však prý klesá. Důvod: dosažená hodnota prostě poslouží k lepší obživě v oblasti mimo školství. Tak se v rozumné zemi s učitelským vzděláváním nezachází!
5. Způsob financování našich vysokých škol má za následek, že učitel, který nechce poškodit finanční situaci své školy, nesmí přispět k odchodu málo způsobilých, neboť by škola dostávala méně peněz – platí se totiž „od hlavy“. Obdoba tohoto způsobu v době třídního boje před půl stoletím zakazovala učitelům nechat propadnout absolventy dělnických kurzů proto, že by to poškodilo třídní složení studujících. Obojí vedlo a vede k poklesu úrovně školy. Podobně je tomu i na středních školách – odtud vyplývá mimo jiné

- pokles úrovně maturit.
6. Mnoho našich vysokých škol postrádá atmosféru skutečné univerzity. Kontakt učitelů se studenty je větší nedostatečný, a to i při nejvyšších formách vzdělávání. Studenti mnohdy nevidí své učitele, své Mistry, při experimentální či teoretické práci, a ani v knihovnách. Je tomu tak dílem proto, že pořád existuje nepřipustná bariéra mezi učiteli a studenty, dílem proto, že se učitelé ke zmíněným aktivitám nedostanou. Vzdělanost studentů, mnohé tomu nasvědčuje, neroste. Naopak přibývá studentů, kteří se za několik málo dní připraví ke zkoušce, absolvují ji a přibližně stejnou rychlostí většinu zcela povrchních znalostí zapomenou. Stává se, nejednou jsem byl toho svědkem, že škola mající přes 1000 studentů a pár stovek učitelů nedokáže opakovaně obsadit ani z poloviny nevelkou posluchárnu při přednášce zahraniční autority věru světového formátu. Co to je za univerzitu!
 7. Přijmeme-li novodobou definici gramotnosti, podle níž je gramotný ten, kdo ovládá vedle své mateřštiny angličtinu slovem i písmem, patříme v Evropě k zemím málo gramotným. Je ovšem povzbudivé, že roste počet studentů středoškolských i vysokoškolských, kteří dobře ovládají angličtinu. Někteří učitelé těchto škol, podobně jako úředníci státní správy (včetně nejvyšších) jsou na tom však někdy špatně.
 8. Samozřejmě existují u nás vynikající univerzitní učitelé, kteří jsou současně badateli, existují velmi dobré, ve světě známé badatelské týmy, avšak celková situace většiny škol je vzdálená této situaci. Úspěšní jedinci a týmy nepatří vždy ve své škole k oblíbeným, často naopak. Naděje na zlepšení je malá zvláště tam, kde se neví, jak fungují prvotřídní univerzity v dnešním světě. Pro získání správné představy samozřejmě nestačí několikadenní formální návštěvy na vynikajících školách; pro skutečnou vědu nevyplyne z těchto návštěv často vůbec nic.

Lepší příčky žebříčku univerzit v nedohlednu

Krátce se zmíním o rozladění z toho, že ani jedna z našich vysokých škol se neobjevila ve světovém žebříčku univerzit mezi několika prvními stovkami. Abychom alespoň trochu ucítili velikou, velmi velikou vzdálenost, kterou by naše školy musely ujit, aby dosáhly oblasti zdatných, použiji informace z rozhovoru, který poskytl prof. Helmut Schwarz (TU, Berlín). S decentním posměchem mluví o dvou miliardách euro na pět let, které dostaly od své vlády německé univerzity, aby se – některé z nich – dopracovaly k elitním univerzitám. Elitní univerzity vznikají, říká prof. Schwarz, pouze tam, kde se získávají vynikající učitelé aktivním výběrem z celého světa, podobně aktivně taková škola vyhledává studenty a konečně disponuje takovým rozpočtem, aby dokázala realizovat zmíněný bod první a bod druhý. Autor pro srovnání uvádí, že samotný Stanford má roční rozpočet rovný oněm 2 mld. €. A dodává pro ilustraci, jak je to s financováním několika evropských škol (částky v € na studenta a rok): TH

Darmstadt 5000, TU Mnichov 15 000, ETH Curych 50 000. Pro srovnání relativně dobře financovaná VŠCHT Praha má roční částku na studenta, která činí asi 60 % částky v Darmstadtu.

Rada vlády – kámen úrazu

Velice dlouhá cesta, kterou bychom museli ujit k žádoucímu cíli, je však zahrazena svým způsobem mnohem žalostněji z jiných důvodů. Není to jen neschopnost administrátorů na některých ministerstvech, způsobující hrozivé zpoždění financí z Bruselu a kdo ví, zda ne něco horšího. Poměry nejen na Ministerstvu školství působí na velmi mnohé velice tísnivě. V konfliktu, který se v souvislosti s financemi z Bruselu vyvinul, vystupovala Rada vlády pro výzkum a vývoj jako zdatný pól – rozumí se zdatný vůči bývalé ministryni. Při bližším přihlédnutí má však tato Rada v průběhu plynoucích let se současnou vědou méně a méně společného. Z patnácti členů Rady jsou jen čtyři doktoři věd, ani jeden není členem Učené společnosti a více než 50 % členů nemá s oblastmi věd, jež jsou aktuální pro legislativní a výkonnou moc, vůbec žádné zkušenosti. Vědecké dílo pouze několika málo členů je takové, jaké by mělo být spojené s každým členem Rady.

V obyčejném světě (mezi Vídní, Paříží, Washingtonem a Tokiem) je tomu docela jinak: takováto poradní tělesa sestávají ne eventuálně i z takových, ale jen a pouze takových, kteří představují výkvět z vědecké elity té které země.

S jistotou lze říci, že naše Rada není způsobilá přispět k posunu potřebným směrem. Dokonce není způsobilá přispět ani v oblasti, o níž ráda hovoří, v oblasti využití výsledků vědeckého výzkumu v průmyslové praxi. Ono to totiž nejde bez horlivého a aktivního zájmu průmyslu o získávání nových idejí; tento zájem v naší zemi v posledním půlstoletí je chabý. O to více zájmu má Rada o vytipování tzv. nosných směrů a o „hodnocení badatelství“ jednoduchými a zkreslujícími indexy, tedy o věci pochybné, či nevelké důležitosti. Těžko oponovat názoru, že takový přístup může vést leda jen k prohlubování propadu.

Prosí se, že v některých administrativních kruzích Ministerstva školství se pracuje na nápravě pomocí reformy. Některé uvažované kroky jsou to poslední, co naše školství a věda potřebují. Patří mezi ně úmysl posílit vědu založením nového ministerstva. To by mělo určité dobrý smysl jako vítaný bod do CV ministra a jeho náměstků, jinak je to v naší situaci velmi špatný nápad. Právě tak má široce medializovaná problematika školního daleko od podstaty a nejvlastnějších příčin potíží. A úvahy o rozptýlení fungující Akademie věd k různým fakultám či podnikům, to patří už do kategorie úvah vysloveně ničemných, vpravdě kriminálních.

Proklamace a skutečnost

Závěr: Naše vlády a politické strany patří v programových prohlášeních o školství, vzdělávání

a vědě v evropském kontextu k velmi aktivním, avšak v realizaci úmyslů, v dotování školství a vědy, v ustavování kvalitních poradních těles a v uskutečňování ozdravných kroků k nejlépejšímu.

LITERATURA

1. Schwarz H., ve svazku: *Gegenworte* (Hefte für den Disput über Wissen) v rozhovoru s W. von Rahden a Ch. Mielzarek. Str. 38–43, sešit 17, jaro 2007.



Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta
CHEMIE

*Proděkan chemické sekce Přírodovědecké fakulty
Univerzity Karlovy v Praze informuje
o přijímacím řízení ve školním roce 2008/09*

navazující magisterské studium
studijní obory / programy

<p><u>Program: Chemie</u> Studijní obory Analytická chemie Anorganická chemie Fyzikální chemie Biofyzikální chemie Jaderná chemie Makromolekulární chemie Organická chemie Chemie životního prostředí Modelování chemických vlastností nano- a biostruktur Učitelství chemie a biologie pro SŠ Učitelství chemie a matematiky (UK MFF) pro SŠ</p>	<p><u>Program: Biochemie</u> Studijní obor Biochemie</p> <p><u>Program: Klinická a toxikologická analýza</u> Studijní obor Klinická a toxikologická analýza</p>
--	---

Přihlášky a podrobné informace: PŘF UK, studijní oddělení, Albertov 6, 128 43 Praha 2,
tel: 221 951 155, 221 951 156. Přihlášky ke studiu se přijímají do 29. února 2008.
Další informace naleznete na webových stránkách PŘF UK – www.natur.cuni.cz.

PAN HELL BY SE DIVIL – HISTORIE VÝROBY LÉČIVÝCH PŘÍPRAVKŮ V OPAVĚ

MILOŠ ŠTĚRBA

IVAX Pharmaceuticals s.r.o., TEVA-Group, Ostravská 29, Opava – Komárov

Český farmaceutický průmysl prošel od svých počátků v 19. století četnými změnami. Během těchto let se měnila státní řízení, prošly dvě světové války a firmy měnily své majitele ze soukromých na státní, ze státních na soukromé a trendem současného farmaceutického průmyslu je sdružování do nadnárodních firem. V regionu střední Evropy však není mnoho továren, v nichž by se udržel původní sortiment výroby více než sto let. Historii změn českého farmaceutického průmyslu lze přiblížit na osudu jedné z těchto původních firem, dnes IVAX Pharmaceuticals s.r.o., dříve (a vlastně stále) známé jako Galena – patřící mezi farmaceutické výrobce, kteří mohou prohlásit „Vyrábíme pro vás léky již 125 let.“

Jak to všechno začalo? V Opavě byla známá lékárna „U bílého anděla“, jejímž provizorem se, po smrti původního majitele, Dr. Adolfa Hanckeho, stal PhMr. Gustav Hell. V lékárně se v té době vyráběla sodová voda, která se stala v regionu velmi oblíbenou poté, co Slezskem prošly pruské pluky po válce v roce 1866. Její odbyt však později klesal, a proto Hell musel hledat jiný sortiment. Odkoupil práva na výrobu Bergerových dehtových preparátů a zanedlouho nabízel zájemcům rozsáhlý sortiment léčivých a toaletních mýdel. Po zahájení výroby extraktů již kapacita lékárny nestačila a Hell hledal jiný objekt. Za kapitálový vklad svého společníka (a švagra) Dr. Hellmana koupil v Komárově „Hraniční mlýn“ a převedl sem výrobu z lékárny. Spolu se svým švagrem založili v Opavě veřejnou obchodní společnost, která byla dne 24.5.1883 zaprotokolována ve firemním rejstříku. Tímto zápisem se tedy počíná historie továrny, která v letošním roce oslaví výročí 125 let farmaceutické výroby v Opavě.

V roce 1884 získal Hell lukrativní zakázku na zásobování lékárny rakousko-uherského námořnictva a prostory mlýna již nedostačovaly. Proto koupil dne 1.9.1885 zrušenou Glassnerovu továrnu na výrobu krevní soli a po její rekonstrukci sem převedl výrobu vaseliny, extraktů a ob vazů. A právě tento rok lze považovat za počátek tovární výroby farmaceutických preparátů na území nynějšího IVAXu. I když se vzhled továrny v průběhu let změnil, zůstala zachována původní budova u silnice (původně obytný dům pro úředníky).

Dalším druhem zboží, které mělo velký vliv na rozvoj továrny a umožnilo větší export, byly medicínální „Fasserovy“ oplatky, podle tyrolského lékárníka Fassera. Hell získal roku 1885 oprávnění pro jejich výrobu a prodej.

V roce 1886 byla ve Vídni zřízena filiálka veřejné obchodní společnosti „Hell & Comp.“ Výroba medicínálních mýdel a oplatků byla tak výnosná, že v roce 1888

bylo možno rozšířit továrnu a zřídit velkodrogerii, která usnadňovala odbyt výrobků. V květnu 1913 se podařilo docílit toho, že správa Severní dráhy zřídila v Komárově úplnou nakládací stanici. Do té doby byla totiž v místě pouze zastávka a továrna byla při dopravě materiálu odkázána na koňské potahy.

Období první světové války znamenalo výrazný přechod v rozvoji továrny. Byla (jako mnohé další) silně postihována rozpadem velkého soustátí Rakouska-Uherska, protože předtím mohla využívat odbytových možností pro 50 milionů obyvatel. Prvním důsledkem bylo, že se firma musela vzdát vídeňské filiálky, jež se sloučila s akciovou společností CHEMOSAN lékárníků Kremela a Waldheima. Vzájemná licenční smlouva měla zaručit odbyt obojích výrobků na území Rakouska a Československa. Druhý významný problém pro firmu představovala ztráta blízkého odbytí v Haliči, která připadla Polsku. Odbyt farmaceutických výrobků se stále zmenšoval, výroba se stávala méně hospodárnou. Proto se vedení továrny rozhodlo rozšířit technické vybavení. Gustavu Hellovi byl jasné, že pokud se rozhodne rozšířit technické vybavení, musí mít k dispozici více finančních prostředků. Založil tedy akcio-

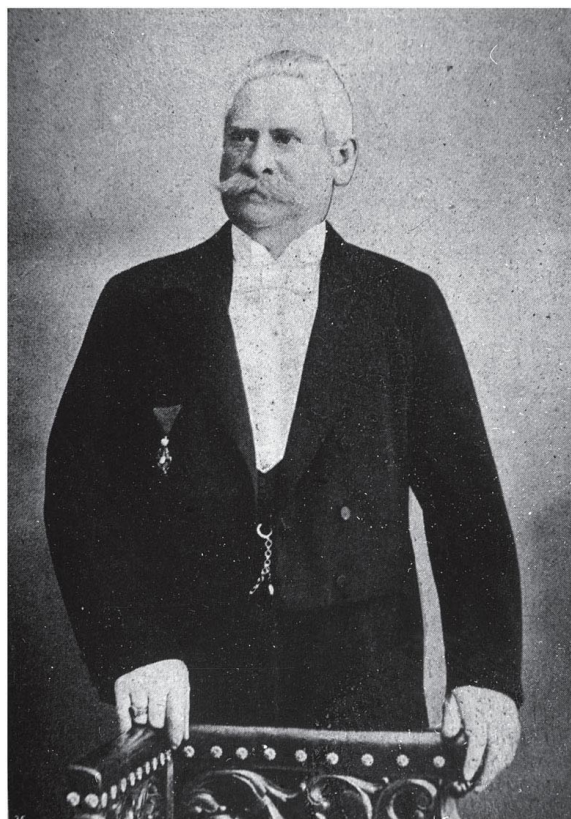


Foto: PhMr. Gustav Hell, zakladatel firmy

vou společnost „Gustav Hell a spol.“ Ustavující valná hromada se konala dne 31. září 1921. Akciový kapitál nové společnosti činil 7 milionů korun a byl rozdělen na 17 500 akcií na majitele se jmenovitou hodnotou 400 korun. O několik měsíců později, 21.12. 1921, ale Gustav Hell zemřel ve svém bytě v domě lékárny „Zum weissen Engel“.

V roce 1922 začaly potíže s odbytem zboží na skladě a jako nevhodné se ukázaly investice do technického vybavení s cílem snížit režii farmaceutické výroby. Akciová společnost „Gustav Hell a spol.“ byla nucena spojit se s vídeňskou firmou CHEMOSAN, s níž byla již dříve uzavřena dohoda o sloučení vídeňské pobočky a která získala akcie. Název byl změněn na CHEMOSAL-HELLCO. Pro lepší zvládnutí slovenského trhu bylo rozhodnuto zřídit pobočku v Košicích. V tomto období bylo nutno zrušit výrobu vazeliny, neboť výchozí suroviny byly získávány z Haliče, která po rozpadu Rakousko-Uherské monarchie připadla Polsku, a na suroviny bylo uvaleno clo, čímž se staly neúnosně drahé. V roce 1931 byla ustavena pobočka firmy v Praze na Těšnově, jež se po Košicích stala druhým obchodním zastoupením společnosti.

Rok 1932 byl důležitý tím, že vláda zvýšila dovozní clo na léčiva, a zpřísnila vydávání dovozních povolení na léčiva z Německa. Německé firmy byly proto nuceny v zájmu zachování československého trhu nechat zde část svých produktů vyrábět. Tak se stalo, že v komárovské továrně byl smluvně vyráběn aspirin a další preparáty firmy Bayer. V následujících letech se podařilo získat zastoupení i dalších firem.

Na mimořádné valné hromadě dne 22.12. 1933 bylo rozhodnuto přeložit sídlo společnosti z Opavy do Prahy a rozšířit předmět podnikání též na obchod s fotografickými potřebami. Byl pronajat dům na Hybernské ulici č. 4, kam bylo oficiálně přemístěno sídlo společnosti a byl sem přestěhován sklad výrobků z Těšnova. Od 1.11. 1933 byl převzat prodej fotografických výrobků firmy AGFA pro Československo.

Po září 1938, kdy byla Velkoněmeckou říší zabrána pohraniční území Československa, byl další vývoj továrny ovlivněn změnou geopolitickou situací a snahou prodávat co nejvíce na celém území říše. Byly proto zřízeny pobočky v Liberci a Karlových Varech a na území Slovenského štátu v Žilině a v Bratislavě. V této souvislosti je nutno zdůraznit, že továrna vždy zaměstnávala převážně občany německé národnosti, což bylo dáno strukturou obyvatelstva v regionu.

Přenesme se nyní do období konce nejničivější války v dějinách lidstva. Po náletech spojeneckých vojsk koncem března 1945 bylo rozhodnuto přemístit výrobu do továrny na papír v Lanškrouně. Obchodní vedení společnosti v čele s Dr. Bedřichem Hellem sídlilo v budově sladoven v Zábřehu. Objekt továrny válečnými událostmi dosti utrpěl, a tak po kapitulaci Německa začalo zbylé osazenstvo s odklízecími a udržovacími pracemi. V srpnu 1945 bylo započato s nakládáním strojního vybavení a zásob surovin z Lanškrouna zpět do Komárova. Již

v říjnu 1945 byla v továrně obnovena výroba tablet.

Dekretem presidenta republiky ze dne 24.10. 1945 byly znárodněny podniky tovární výroby chemicko-farmaceutické. Na podkladě tohoto dekretu stanovil ministr průmyslu vyhláškou ze dne 27.12. 1945, že podnik byl znárodněn zestátněním. Tímto administrativním úkonem se stal novým majitelem továrny stát, který převedl majetkovou podstatu továrny na „Spojené farmaceutické závody, národní podnik (SPOFA) se sídlem v Praze. Znárodněné velkosklady bývalé firmy HELCO v Praze, Brně a v Žilině vytvořily samostatný závod s názvem MEDICA. Osud nového závodu nebyl dlouho vyjasněn, dokonce se uvažovalo o jeho zrušení. Dne 2.6. 1946 však oznámilo ministerstvo průmyslu SPOFĚ, že souhlasí s obnovou závodu v Komárově. Tím se továrna stala 41. závodem SPOFY.

Ke dni 1.10. 1952 došlo k reorganizaci SPOFY a bylo určeno, že se k tomuto datu zřizuje národní podnik GALENA a vyčleňuje se tímto z majetku národního podniku SPOFA. V souvislosti se vznikem samostatného národního podniku došlo k vytvoření uceleného výrobního programu, ke specializaci na výrobu tekutých léčivých přípravků, galenik a chemických substancí, izolovaných z přírodního materiálu.

V roce 1958 vydal ministr zdravotnictví příkaz, týkající se nového uspořádání výrobních jednotek. Podle tohoto příkazu byl národní podnik GALENA sdružen ve výrobně-hospodářské jednotce SPOFA jako samostatný národní podnik. Toto uspořádání existovalo až do roku 1990. V roce 1959 byla převzata výroba námelových kapek, což později vyústilo v přesun výroby substancí námelových alkaloidů do podniku. Tímto sortimentem se GALENA stala známou ve světě a v sortimentu i objemu výroby různých semisyntetických námelových derivátů patří dosud mezi přední světové výrobce. Z úcty k firmě pojmenovali pracovníci výzkumu i jeden z nově objevených námelových alkaloidů jménem Ergogalin.

V letech 1963–1964 byla zahájena v podniku výroba polosyntetických antibiotik řady penicilinů a cefalosporinů. Základní suroviny byly nakupovány z podniku BIOTIKA. Tento zdroj se však stal počátkem devadesátých let příčinou ukončení výroby antibiotik v GALENĚ, neboť cena, za kterou byl podnik schopen vyrábět, byla vyšší než tehdy platné světové ceny.

Dne 26.3. 1990 podepsal ministr zdravotnictví zakládací listinu státního podniku. Tím byla ukončena existence koncernu SPOFA a jednotlivé koncernové podniky se staly samostatnými subjekty.

Dne 1. ledna 1994 byla do obchodního rejstříku zapsána akciová společnost GALENA. Jediným majitelem byl Fond národního majetku, který splatil celé základní jmění společnosti. Ocenění majetku bylo obsaženo ve schváleném privatizačním projektu, podle něhož se majitelem podniku stala od 1.7. 1994 americká společnost IVAX. Po fúzi korporace IVAX s izraelskou společností TEVA, která byla schválena v lednu 2006 je současným majitelem továrny, známé v okolí stále jako GALENA, právě tato nadnárodní společnost.

Ze života společnosti

Nový nositel Ceny Alfreda Badera za organickou chemii, rok 2007

Novým a v pořadí již čtrnáctým nositelem Ceny Alfreda Badera za organickou chemii pro české chemiky do 35 let se stal Doc.Ing. Jiří Hanusek PhD. (32 let) z Katedry organické chemie na Univerzitě v Pardubicích. Předložil soubor prací o syntézách několika typů pěti- a šestičlenných heterocyklických sloučenin za acido-bazické katalýzy a studiu mechanismů těchto cyklizací. Slavnostní předání Ceny^a se tradičně uskutečnilo na 42. konferenci „Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii – Liblice 2007“ konané v Nymburku a zde, opět tradičně, nový laureát přednesl plenární přednášku na téma oceněného souboru prací s názvem „Příprava a reaktivita heterocyklických sloučenin obsahujících dusík a síru“.

Nový nositel Ceny se narodil v Ostravě v roce 1975. Po střední průmyslové škole chemické v Ostravě (1989 až 1993) absolvoval vysokoškolské studium na Katedře anorganické chemie VŠCHT v Pardubicích, kde získal diplom Inženýra chemie v r. 1998. Na stejném pracovišti pokračoval v postgraduálním studiu pod vedením Doc. M. Sedláka a v r. 2001 obhájil doktorskou dizertační práci. Po získání vědecké hodnosti byl zaměstnán jako odborný asistent a v r. 2006 se stal docentem. V témže roce byl na stáži na University of Huddersfield (Prof. M. Page). Je řešitelem a spoluřešitelem řady grantových projektů. Zabývá se syntézou, reaktivitou a mechanismy vzniku heterocyklických sloučenin a reakční kinetikou. Dosažené výsledky byly dosud publikovány v 30 původních sděleních v recenzovaných odborných časopisech. Nový nositel Ceny získal ocenění za své výsledky také dříve, a to 1. cenu Colorchem Clariant Award 2004.

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

Dosavadní nositelé Ceny Alfreda Badera 1: 1) RNDr. Ivo Starý CSc. (1994), Ústav organické chemie a biochemie AVČR, Praha; 2) RNDr. Martin Smrčina CSc. (1995), Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha; 3) Dr.Ing. Vladimír Havlíček (1996), Mikrobiologický ústav AVČR, 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 AVČR, Praha; 6) Ing. Michal Hocek CSc. (1999), Ústav organické chemie a biochemie AVČR, Praha; 7) Ing. Vladimír Círka PhD. (2000), Ústav chemických procesů AVČR,

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 AVČR, Praha ; 11) Ing. Dana Hocková CSc. (2004), Ústav organické chemie a biochemie AVČR, Praha; 12) Ing. Radek Cibulka PhD. (2005), Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha; 13) Doc.RNDr. Petr Štěpnička PhD. (2006), Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha.

Přihlášky do soutěží o Ceny Alfreda Badera v r. 2008

Ceny jsou dotovány částkou 3300 USD.

V roce 2008 bude Česká společnost chemická tradičně pořádát soutěže o dvě prestižní Ceny Alfreda Badera. „Starší“ Cena je za organickou chemii, „mladší“ Cena je od r. 2002 udělována za bioorganickou a bioorganickou chemii. Nemusí být pochyb o tom, že oblasti působnosti obou Cen se dosti překrývají. Markantním důkazem překryvu může být skutečnost z minulých ročníků soutěže, kdy soubor prací, který neuspěl v jedné soutěži, byl přihlášen do soutěže o druhou Cenu – a zde uspěl. Nadále však platí omezení, že je možno získat jen jednu z Cen Alfreda Badera pro české chemiky, přitom obě Ceny jsou rovnocenné.

Uzávěrka přihlášek do konkurzu o „Cenu za organickou chemii v roce 2008“ byla stanovena na 16. červen 2008 (případně jde o 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 uzavěrky přihlášek a nemají hlavní pracovní poměr v zahraničí (postdoktorská stáž se za takový pracovní poměr nepovažuje). Soubory přihlášených prací mohou rovněž zahrnovat studie mechanismů. Na druhé straně do působnosti Ceny nepřísluší práce z analytické oblasti (včetně strukturní analýzy) a výpočetní chemie. Uchazeči o Cenu se zpravidla přihlašují sami na sekretariátu České společnosti chemické (Novotného lávka 5, 11668 Praha 1), návrh však mohou podat také kolegové, instituce a rovněž vědecké rady a senáty. *Cena je udělována nejlepšímu souboru prací bez ohledu na to, kolikrát je autor o ni ucházel. Od r.2005 je Cena je dotována částkou 3300 USD.* Tato úprava odpovídá původní dotaci a týká se obou Cen.

Uzávěrka přihlášek do konkurzu o „Cenu za bioor-

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

ganickou a bioorganickou chemii v roce 2008“ byla stanovena na 31. březen 2008. Přihlášky musí obsahovat stejné náležitosti jako přihlášky do konkurzu o Cenu za organickou chemii.

Hlavní částí přihlášky jsou separáty publikovaných prací přihlášených do soutěže a k nim zpracovaný **souhrn vlastních výsledků** s příslušným komentářem v rozsahu 3 až 6 běžných strojopisných stran. V seznamu publikací se hvězdičkou označí autor, který práci podal do redakce a vyřizoval komunikaci s redakcí. Souhrn obsahuje vhodná schémata a struktury ilustrující výsledky uchazeče, dále jsou v souhrnu uvedeny citace jen na příslušné práce, které jsou předmětem soutěže. Řada publikací vzniká týmovou činností a z toho důvodu je potřeba v seznamu publikací uvést, jak se uchazeč na publikaci a jejím zveřejnění podílel (např. šlo (zčásti) o výsledky diplomové práce, výsledky doktorské práce, (zčásti) řešení grantu získaného uchazečem, samostatně řešenou část projektu, vlastní projekt, výsledky diplomanda nebo doktoranda – které uchazeč školil 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. Příložený životopis by měl zachytit odborný vývoj, např. téma diplomové a doktorské (kandidátské disertace) se jménem školitele, získaná ocenění, stáže a jejich tematické zaměření, získané granty apod. Hodnotící komise posuzuje soubory prací nezávisle na doporučeních školitelů, vedoucích apod., takže přihláška je plně platná a plnohodnotná i bez těchto doporučení.

Na závěr zdůraznění – **uzávěrka do soutěže o Cenu Alfreda Badera za bioorganickou a bioorganickou chemii je již 31. března 2008 a do soutěže za organickou chemii je 16. června 2008**, což případně může být datum poštovního razítka na zásilce s přihláškou.

*Oldřich Paleta,
předseda Komise pro Cenu Alfreda Badera 1
Tomáš Trnka,
předseda Komise pro Cenu Alfreda Badera 2*

Udělení Hanušovy medaile RNDr. Jiřímu Medkovi, CSc.

Na začátku jednání hlavního výboru ČSCH v listopadu 2007 byla slavnostně předána Hanušova medaile dlouholetému pracovníkovi Ústavu struktury a mechaniky hornin AV ČR v Praze RNDr. Jiřímu Medkovi, CSc., který toto vysoké ocenění získal především za celoživotní, světově uznávaný přínos v problematice stanovení povrchu mikroporézních uhlíkatých látek.

Tvůrčí život laureáta je bytostně spjat s Ústavem struktury a mechaniky hornin AV ČR, kde nastoupil v roce 1946 (tehdy Ústav pro vědecký výzkum uhlí) a kde (jako vědecký konzultant) pracuje dodnes.

Jeho celoživotním oborem (spíše však koníčkem) se stala fyzikální chemie se zaměřením na texturu uhlíkatých materiálů. Věnoval se zejména studiu mikropórů – vytvo-



řil ucelenou představu o jejich stavbě a odvodil obecně platné rovnice pro výpočet jejich parametrů, které jsou dnes známy jako *Medkovy rovnice*. Mimo tuto problematiku je autorem původních prací z oboru reaktivity koksů, kinetiky oxidace a pyrolýzy, nové teorie samovznícování uhlí, mechanických a elektrických vlastností uhlí a koksů a rozsáhlé studie smolné mezofáze a jehličkového koksů. Výsledky (dosud) publikoval ve 120 odborných článcích a úspěšně je prezentoval na řadě mezinárodních konferencí, kromě Evropy také v Austrálii a Číně; ohlasem je více než 100 SCI citací.

Získané poznatky RNDr. J. Medek, CSc. využil i při řešení prakticky orientovaných problémů; byl například členem expertní skupiny pověřené analýzou příčin vedoucích k tragickému výbuchu na Dole Pluto v roce 1981. Stojí rovněž za zmínku, že v roce 1968 byl členem užšího realizačního výboru konference *Coal Science*, která se za mimořádného zájmu zahraničních odborníků konala v Praze. S odstupem času je tato „pražská“ konference vnímána jako zakládající, „nultý“ ročník dnes již tradičních, světových konferenčních setkání *Coal Science*, které se s dvouletou periodicitou pořádají dosud.

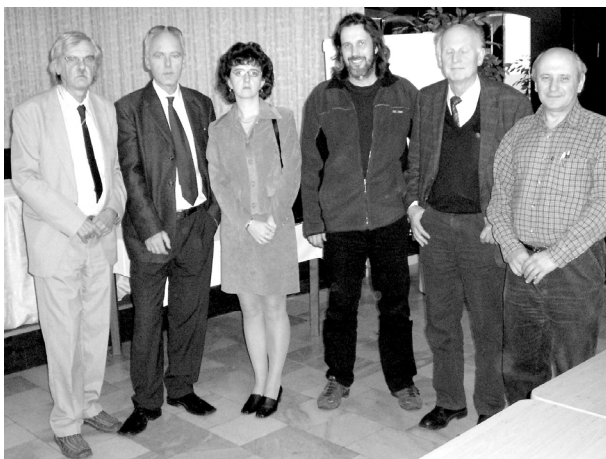
V roce 1983 byla odborná činnost laureáta oceněna diplomem „Zasloužilý vědecký pracovník ČSAV“ a v roce 1989 mu bylo uděleno „Čestné uznání ČSAV za vývoj přístrojů vysoké vědecké úrovně“.

Ocenění Hanušovou medailí získal RNDr. Jiří Medek, CSc. v roce, kdy se dožil jubilea 85 let a nutno dodat – v obdivuhodné vitalitě a svěžesti. Rádi přejeme, ať se laureátovi obojího v plné míře dostává i v příštích letech!

*Boleslav Taraba
předseda ostravské pobočky ČSCH*

Z činnosti Odborné skupiny termická analýza

Ve dnech 17. až 20. srpna 2007 byl uspořádán mezinárodní seminář „Methods of Thermal Analysis in Plant Cryopreservation“ v prostorách Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Ruzyni. Semináře se zúčastnilo asi 20 od-



Na skupinové fotografii jsou zleva J. Šesták (stávající předseda, který hledá svého nástupce), J. Hrdlička (ANAMET), P. Šulcová a V. Slovák (nová „krev“ nastupující do výboru skupiny TA), K. Heide (významný německý odborník v oboru TA, který spolu s J. Šestákem se v roce 1965 spolupodílel na zrodu mezinárodní organizace ICTAC), P. Šimon (stávající předseda sesterské skupiny TA ze Slovenska).

borníků (včetně 10 zahraničních posluchačů) a tématicky byl rozdělen na teoretickou část (přednášky) a praktickou část (kryogenní laboratoř, práce s přístroji termické analýzy). Hlavními organizátory byli Miloš Faltus a Jiří Zámečník (oba VÚRV), spoluorganizátory Odborná skupina termické analýzy ČSCH (Jaroslav Šesták) a Odborná skupina chemické termodynamiky a kalorimetrie ČSCH (Eva Čer-

nošková). Seminář doprovázel tištěný sborník přednášek (ISBN 978-80-87011-05-8), který je k dispozici u M. Faltuse (faltus@vurv.cz).

Dvoudenní seminář „Termická analýza v teorii a praxi“, který proběhl 5. až 7. listopadu 2007 v hotelu Myslivna u Brna za účasti 80 odborníků, byl organizován ve spolupráci Odborné skupiny termické analýzy ČSCH, firmy ANAMET (J. Hrdlička) a NETZSCH (L. A. Giersig) u příležitosti 35. výročí založení Odborné skupiny termické analýzy ČSCH. Úvodní přednášku „Energie, planeta Země a člověk: mikro- a makropohled termoanalytika“ (J. Šesták) doplnily pozvané přednášky E. Fügleina (TA polymerů, kinetika, přístrojová technika), P. Šulcové (TA pigmentů), Z. Čížka (TA aplikace), P. Šimona (Kinetika polymerizace), K. Heideho (TA v geologii). Program semináře a fotografie lze nalézt na webovských stránkách J. Šestáka (www.fzu.cz/~sestak), kde je mnoho dalších užitečných informací včetně řady přednášek z nejrůznějších oborů (termodynamika, výzkum materiálů) včetně životního prostředí.

Ve dnech 3–7. září proběhla v Řeckém městě Patras mezinárodní konference ICSAM (Int. Conf. on Structural Analysis of Advanced Materials), kam byl pozván předseda odborné skupiny termické analýzy, J. Šesták, aby přednesl pozvanou přednášku „Bulk and mesoscopic thermodynamic studies of inorganic biocompatible materials utilizable for implants in dentistry“ a kde obdržel od rektora univerzity významnou cenu za celoživotní přínos k termodynamice materiálů.

Jaroslav Šesták

Odborná setkání

Konference "POLYSACHARIDY III"

Ve spolupráci České společnosti chemické a Ústavu chemie a technologie sacharidů VŠCHT Praha se 16. listopadu 2007 na Novotného lávce v Praze uskutečnila v pořadí již třetí mezinárodní konference Polysacharidy III. Přednášky a poster byly zaměřeny na výskyt, přípravu, vlastnosti, strukturu a využití polysacharidů. Tradičním tématem těchto konferencí, a nejenak tomu bylo i zde, jsou biologicky aktivní polysacharidy z hub a obilovin, jejich výskyt, vlastnosti, složení a struktura. Pozornost byla dále zaměřena na vlivy působící na syntézu škrobu v plodinách, jeho funkci ve výživě a na jeho využití pro výrobu ethanolu a biodegradovatelných obalových materiálů. Další sdělení se týkala polysacharidových derivátů a analytiky polysacharidů. Součástí programu byly i dvě komerční prezentace instrumentálních analytických metod.

Konference se zúčastnilo 56 aktivních účastníků z České republiky, Slovenské republiky, Polska a Portugalska. Potěšitelná byla účast studentů VŠCHT. Součástí konference byla výstavka firem, dodávajících laboratorní přístroje, a firem zabývajících se produkcí polysacharido-



vých preparátů.

Sponzorsky k bezproblémovému průběhu konference přispěly firmy DataApex s.r.o., Ecom s.r.o., Chromservis s.r.o., Chromspec s.r.o., Ing. Terezia Svátová – Terezia Co., Maneko s.r.o., Nicolet CZ s.r.o., Pragon s.r.o. a Sci-Tech s.r.o., za což jim náleží náš dík. Děkujeme rovněž

pracovním České společnosti chemické a redakce Chemických listů za jejich organizační pomoc.

*Za vědecký výbor konference Miroslav Novák,
Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha*

Pokroky v chromatografii a elektroforéze 2007 & Chiranal 2007

Ve dnech 24. až 27. června 2007 se uskutečnilo již desáté sympozium Pokroky v chromatografii a elektroforéze 2007 & Chiranal 2007. Sympozium bylo věnováno významnému životnímu jubileu prof. Evy Smolkové-Keulemansové, která se zabývala studiem inkluzních komplexů v plynové chromatografii a využitím cyklodextrinů v analytické chemii, a to nejen pro separaci enantiomerů.

Konferenci organizovala Katedra analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci ve spolupráci s Odbornou skupinou chromatografie a elektroforézy České společnosti chemické. Uvítací ceremoniál se konal v reprezentačních prostorách bývalého Jezuitského konviktu a Rektorátu Univerzity Palackého, odborný program pak v areálu Fakulty tělesné kultury UP v Neředíně. Sympozia se letos zúčastnilo více než sto účastníků z více než deseti zemí světa a pěti kontinentů. Jsme velmi rádi, že jsme mohli v Olomouci přivítat významné hosty, jako prof. Daniela W. Armstronga (Texas University at Arlington, USA), který celé sympozium zahajoval svou plenární přednáškou: „New chiral selectors and mechanisms“.

Na konferenci byly prezentovány příspěvky ve formě přednášek nebo posterů zabývající se vývojem a aplikací separačních metod určených pro analýzu farmaceutických, potravinářských a environmentálních vzorků. Již tradičně bylo též sympozium věnováno analýze enantiomerů nejen pomocí dnes již konvenčních technik, jako jsou chromatografie a elektroforéza, ale i v této oblasti méně využívanými technikami jako např. hmotnostní spektrometrie. Ne-

chyběla ani prezentace „state of the art“ technik, jakými jsou dnes např. příprava monolitických kolon, nano-LC, UPLC, separace peptidů pomocí kapilární zónové elektroforézy nebo analýza na čípech. Celé sympozium tradičně doplňoval bohatý společenský program, který zahrnoval nejen poznávací výlety, ale i sport. Vrcholem společenského programu byl varhanní koncert v kostele sv. Mořice, na kterém se představila významná česká sólistka Kateřina Chroboková.

Sympozium se uskutečnilo za podpory firem Waters GmbH, HPST s.r.o., Shimadzu GmbH, Sigma-Aldrich s.r.o., Thermo Fischer Scientific, Radanal s.r.o., Leco Corporation, Chromservis s.r.o., Bio-Rad Laboratories s.r.o., Millipore, AP Czech s.r.o. a Applied Biosystems, kterým tímto děkujeme.

Jedenáctý ročník sympozia se bude konat začátkem roku 2009 v Olomouci, těšíme se na setkání s Vámi.

Kateřina Vítková, Václav Ranc, Radim Knob, Jan Petr **4th NoSSS International Conference v Litvě**

V termínu 26. – 29. srpna 2007 jsme měli možnost účastnit se 4th Nordic Separation Science Society International Conference, která se konala v druhém největším městě Litvy Kaunasu. Plenární přednášky výjimečných osobností separační chemie, jako je prof. Riekkola, prof. Hjertén, prof. Brogren, prof. Nilsson, prof. Buszewski, prof. Unger nebo prof. Timerbaev skvěle doplnily přednášky mnoha mladých vědeckých pracovníků. Spoustu příležitostí k diskuzi pak měla posterová sekce i doprovodný program. Při výletu na hrad Trakai a do hlavního města Vilniusu jsme měli příležitost obdivovat krásu litevských památek i krajiny této velmi zajímavé země. Nezbyvá než poděkovat organizátorovi prof. Maruškovu za skvělou atmosféru konference, která umožnila navázat spoustu zajímavých kontaktů a přinesla velké množství nápadů. Již teď se těšíme, že stejně výjimečnou atmosféru bude mít i pátá konference NoSSS v roce 2009 v Talinu.

Jan Petr, Kateřina Vítková, Joanna Znaleziona

Pražské analytické centrum inovací
<http://www.gacr.cz/PACI>



Využití senzorů v analytické chemii

V moderní analytické chemii hrají stále významnější úlohu senzory, čili zařízení umožňující nějakým způsobem převádět informaci o chemickém složení analyzovaného prostředí na dekódovatelný elektrický signál, který umožňuje tuto informaci vhodným způsobem zpracovat. Vzhledem k neustále rostoucímu významu senzorů rozhodla se rada Pražského analytického centra inovací uspořádat týdenní kurz zaměřený na problematiku analytického využití senzorů. Tento kurz proběhl ve dnech 4. – 8. června 2007 v moderním areálu Studijního a informačního centra Čes-

ké zemědělské univerzity v Praze-Suchbátově. Přednášející byli vesměs naši i zahraniční renomovaní odborníci aktivně pracující v oblasti vývoje různých typů senzorů i jejich aplikací na konkrétní analytické problémy. Po úvodních přednáškách prof. J. Janaty (Georgia Institute of Technology, USA) zaměřených na obecnou teorii senzorů a principy jejich selektivity, byla věnována pozornost senzorům na bázi polarizovatelného rozhraní elektrolytů (prof. Mareček, Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR), na bázi porézního křemíku (doc. Dian, Matematicko-fyzikální fakulta Univerzity Karlovy v Praze, a doc. Jelínek, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze), kompozit-

ních materiálů (Dr. Navrátil, Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR) či rtuťových amalgamů (Dr. Yosypchuk, Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR), uhlíkových past (prof. Švancara, Univerzita Pardubice) a borem dopovaného diamantu (prof. Berek, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze). Pozornost byla věnována i tlustovrstvým elektrochemickým senzorům (Ing. Krejčí, BVT Technologies, a.s., Brno), elektrochemickým DNA biosenzorům (doc. Fojta, Biofyzikální ústav AV ČR, Brno) a senzorům pro biomedicínu a proteomiku (prof. Paleček, Biofyzikální ústav AV ČR, Brno). Zajímavé byly i přednášky věnované návrhu receptorů pro optické a elektrochemické senzory (prof. Král, Zentiva Praha a VŠCHT Praha), senzorům v proudících tekutinách (prof. Štulík, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Pra-

ze), optickým afinitním biosenzorům (Ing. Homola, Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR), chemickým vláknovým senzorům (Dr. Kašík, Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR), senzorům plyných látek (prof. Opekar, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze) a využití nanomateriálů pro chemické senzory (prof. Labuda, Slovenská technická univerzita, Bratislava). I k tomuto kurzu byla vydána skripta a připraveno CD s powerpointovými prezentacemi jednotlivých přednášek. Další informace o činnosti Pražského analytického centra inovací lze nalézt na adrese <http://www.gacr.cz/PACI>.

Jiří Berek

*Katedra analytické chemie PřF UK,
Albertov 2030, 128 40 Praha 2
Barek@natur.cuni.cz*



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a Státním rozpočtem České republiky.

Evropský koutek

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

38. výroční zasedání DAC EuCheMS proběhlo 9. září 2007 v Antverpách v návaznosti na mezinárodní konferenci "EUROANALYSIS XIV". Zúčastnili se ho zástupci 25 evropských chemických společností z 21 evropských zemí. Prvním bodem byla volba nového předsedy DAC, kterým byl opětovně zvolen prof. Bo Karlberg, zástupce Švédské chemické společnosti. Nově zvolený předseda poté navrhl do funkce tajemníka na období 2008–2010 prof. Jens Andersena, zástupce Dánské chemické společnosti. Dále byly projednány otázky související s činností DAC, příprava analytické sekce na druhém Evropském chemickém kongresu v Torinu (16. - 20. září 2008), příprava konference EUROANALYSIS XV, která proběhne 6. - 10. září 2009 v Innsbrucku a EUROANALYSIS XVI, která se bude konat v roce 2011 v Bělehradě. Byl diskutován další rozvoj „Eurocurricula“ analytické chemie a jeho

koordinace s projekty Evropské unie TUNING a ECTN zaměřenými na sladování bakalářských a nyní i magisterských a doktorských studijních programů v oblasti chemie. Zde stojí za zmínku, že žádost o právo udělovat titul CHEMISTRY EUROBACHELOR a CHEMISTRY EUROMASTER si podala chemická sekce Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

Účast zástupce České společnosti chemické na práci DAC FECS byla umožněna jednak grantem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v rámci projektu INGO LA 273 (2007) (Reprezentace české analytické chemie v Evropské asociaci pro chemické a molekulární vědy) a jednak laskavou podporou firem Merck s.r.o. Praha a ChromSpec, Praha. Je milou povinností autora poděkovat výše uvedeným firmám za jejich pochopení a podporu aktivit České společnosti chemické a Odborné skupiny analytické chemie. Všechny materiály související s činností DAC EuChEMS jsou k dispozici na níže uvedené adrese.

Jiří Berek,

*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*



Professor Luis Oro becomes President Elect NEWS RELEASE

Professor Luis Oro, Past President of the Real Sociedad Española de Química (Spanish Royal Society of Chemistry), has been elected to the position of

President-Elect of EuCheMS.

He will become President of EuCheMS in October 2008.

Professor Luis Oro has made an important contribution to the renaissance of chemistry, not only in Spain, through his outstanding scientific contributions, but also in different positions by his selfless devotion to championing and encouragement of chemistry at European level. He has been Vice-President of the European Science Foundation, a member of the European Science and Technology Assembly, the CREST EU Committee and the OECD Science Policy Committee. He is the Immediate Past President of the Spanish Royal Society of Chemistry, having served as President during the period 2000–2005.



Luis Oro is welcomed by Giovanni Natile

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

Declaration on Sustainable Development NEWS RELEASE

EuCheMS, representing 50 societies across Europe together having 150,000 individual members and some of the best scientific minds on the planet, pledges to work to

promote global sustainable development, demand responsible use of resources, and ensure that the next generation of scientists protects and maintains the well-being of the Earth and its inhabitants. The need to address these intertwined issues is urgent, and chemistry is absolutely essential to the development of solutions.

The Earth's systems, upon which we all depend, are facing complex and imminent threats. Chemistry must contribute towards a sustainable future. To this end, we will collaborate with other stakeholders to:

Educate: We will support chemists/chemical scientists in developing their skills to ensure the sustainability of our planet.

Innovate: We will develop a roadmap and priorities for the contributions of chemical and molecular sciences to sustainability and advocate for the resources needed to develop and deploy technologies globally.

Communicate: We will convene academia, industry, and government to better understand the contributions of chemical and molecular sciences to sustainability and the need for action.

Giovanni Natile, EuCheMS President

The Declaration was approved by the EuCheMS General Assembly, Frankfurt, 4 October 2007.



STRUČNÝ PRŮVODCE 7. Rámcovým programem pro výzkum, vývoj a demonstrační aktivity

7.RP je v rozpočtovém období 2007–2013 největším komunitárním program Evropského společenství pro výzkum, vývoj a demonstrační aktivity. Na konci roku 2007 byly vyhlášeny nové výzvy na podávání návrhů projektů v celém širokém spektru tohoto programu. Výzvy se budou uzavírat v průběhu jara 2008.

Vysoké zapojení českých řešitelských týmů do projektů 7. RP a čerpání dostatečně vysokých finančních prostředků z evropského rozpočtu jsou imperativem dnešní doby. Ovšem úmysl je věc jedna a realita věc druhá. Vedle úspěšných a schopných akademických či vědeckých pracovníků musíme mít rovněž schopné a informované administrativní pracovníky, kteří poskytují řešitelům projektů veškerou možnou podporu. Vzhledem k nárokům administrativy Evropské komise a našemu dosud nezharmonizovanému právnímu prostředí je tato podpora skutečně velmi potřebná.

Následující článek podá základní přehled o struktuře, financování, právních vztazích a o zdrojích informací k 7. Rámcovému programu.

1. Programy spolufinancované z evropských prostředků

Evropská komise nabízí prostřednictvím svých direktorátů (DG)¹ celou řadu komunitárních programů, které prostřednictvím veřejných soutěží přispívají na projekty v různých oblastech. Programy zahrnující výzkum a vývoj najdeme v působnosti různých direktorátů, nejvýznamnější je však 7.RP spravovaný Directorate General Research (DG R)². 7.RP je určen pro všechny zájemce z Evropského společenství i třetích zemí, kteří se zabývají výzkumem, vývojem a inovacemi. V projektech jsou řešena témata prospěšná Společenství, jsou většinou cílově orientovány a pokrývají celé spektrum potřeb společnosti. Témata pro předkládané projekty jsou popsána v pracovních programech (Work Programmes), jež jsou součástí zadávací dokumentace každé vyhlašované výzvy.

2. Struktura a rozpočet 7. RP

Většina projektů je řešena mezinárodními konsorciemi řešitelů v souladu se stanovenými pravidly účasti. Evropská komise přispívá na náhrady způsobilých nákladů projektů podle stanovených pravidel Rámcového programu v daném rozpočtovém období. Nutno podotknout, že jde o podílové financování, kde část projektu financuje řešitel či jeho mateřská organizace, a pokud to umožňuje právní prostředí národní legislativy, podílí se na spolufinancování i daný členský stát. V České republice není bohužel stále k dispozici prováděcí vyhláška o způsobu žádání a přidělování těchto prostředků, ačkoliv zákon již tuto podporu schválil.

Rozpočet Evropské komise je pro 7. RP schválen ve výši 53,272 mld. € s rozdělením prostředků na jednotlivé specifické a tématické programy³.

3. Schéma financování specifických programů v 7. RP

V rámci specifických programů existují různá finanční schémata pro stanovení výše příspěvku Evropské komise na náklady projektu. V zásadě je nutno řídit se základním rozdělením na několik typů projektů:

Ve specifickém programu **COOPERATION** mohou být přijaty k financování Kolaborativní projekty (CP), Síť excelence (NoE) a Koordinační a podpůrné akce (CSA). Vysoké školy, veřejné výzkumné instituce a malé a střední podniky mohou na aktivity výzkum a vývoj dostat od Komise až 75% náhradu způsobilých nákladů projektu. To je situace velmi příznivá, neboť v 6. RP financovala Komise pouze 50 % nákladů projektu.

Ve specifickém programu **IDEAS** (řízeném Evropskou výzkumnou radou, ERC), který je určen pro základní výzkum, uhradí komise až 100 % způsobilých nákladů projektu.

Ve specifickém programu **PEOPLE**, známém jako Lidské zdroje a mobilita Marie Curie, používá Evropská komise pro náhrady škálu fixních sazeb, které jsou stanoveny jak v pracovním programu, tak i ve smlouvě

s Evropskou komisí. Výše těchto sazeb je pro výzkumníky velmi příznivá.

Ve specifickém programu **CAPACITIES** se financování řeší kombinací předchozích možností podle typu projektu.

Pravidla pro refundace způsobilých nákladů jsou stanoveny ve všeobecných podmínkách Grantové dohody⁴.

4. Co jsou způsobilé náklady projektu

Jsou to náklady projektu, které jsou vynaloženy v průběhu řešení projektu na dosažení jeho cílů stanovených v popisu práce projektu. Tyto náklady musí být obvyklé, nesmí být nadměrné či lehkomyšlné, musí být zaneseny v účetnictví podle běžných zvyklostí dané organizace, a musí být vyplaceny, nesmí vést ke zisku.

Komise přispívá jak na přímé náklady projektu, tak i na režii organizace vztahující se k řešenému projektu. Pokud organizace dokáže režii daného projektu přímo identifikovat v účetním systému, je stanovená výše nahrazena Komisí. To však zatím nedokáže většina vysokých škol, proto může žádat až do roku 2010 o náhradu režijních nákladů ve výši 60% přímých nákladů projektu⁵.

Způsobilým nákladem projektu však nejsou nepřímé daně, jako např. DPH, kurzové ztráty, dluhy atd., které musí bohužel organizace řešitele hradit z vlastních prostředků.

Na rozdíl od 6. RP lze hradit z prostředků projektu i osobní náklady kmenových zaměstnanců, organizace však musí prokázat konzistentní systém pro stanovení produktivních hodin strávených na projektu a z toho odvozených osobních nákladů, které jsou v souladu se správními zásadami a účetními postupy účastníka a neliší se výrazně od obvykle používaných osobních nákladů.

5. Právní a smluvní vztahy

Řešitel odpovídá za odbornou stránku projektu, případně za management projektu nebo pracovního balíčku (WP, „work package“). Organizace je smluvním partnerem pro Evropskou komisi, dodržuje závazky a povinnosti vyplývající ze smluvního vztahu s Komisí⁶ a z pravidel účasti⁷ v 7. RP, má prospěch a nese rizika spojená s účastí v projektu.

Při realizaci projektu je nutno dodržovat kromě pravidel stanovených v Grantové dohodě s Evropskou komisí, včetně jejích Annexů, a v Konsorciální dohodě, uzavřené mezi jednotlivými partnery projektu, i řadu právních předpisů jak Evropského společenství, schválených Evropskou radou a Parlamentem, tak i řadu národních právních předpisů vymezujících pravidla pro oblast VaV⁸. Ne vždy je jednoduché dostat všem požadavkům legislativy, neboť harmonizace českého právního systému s evropským je ještě pořád nedostačující.

6. Informační zdroje

Podrobné informace o 7. RP, včetně vyhlašovaných výzev (call) jsou velice přehledně nabízeny na stránkách CORDIS (Community Research and Development Information Service)⁹.

Národním kontaktním bodem pro 7. RP je Technologické centrum AV ČR¹⁰ a jeho velmi dobře fungující kancelář CZELO¹¹ v Bruselu. Mobilita výzkumníků má svůj vlastní internetový portál¹².

Na VŠCHT Praha byla založena 1.1.2007 kancelář pro administrativní a manažerskou podporu účasti vědeckých týmů VŠ v 7. a 6.RP – KAMPUŠ¹³, která kromě dalších služeb poskytuje na svých webových stránkách aktuální informace užitečné pro vědecké týmy vysokých škol, zapojujících se do projektů RP. Pod vedením této kanceláře se podařilo v roce 2007 získat na VŠCHT účast ve 3 projektech, z nichž jedním z nich je prestižní grant udělený Evropskou výzkumnou radou v programu IDEAS.

LITERATURA

1. http://www.europa.eu/pol/index_cs.htm
2. <http://ec.europa.eu/research/>
3. 7.RP v kostce, <http://ec.europa.eu/research/fp7/>
4. Annex II – General Conditions, Upper funding limits, http://cordis.europa.eu/fp7/calls-grant-agreement_en.html#ideas_ga
5. Annex II – General Conditions, Eligible costs of the projet, http://cordis.europa.eu/fp7/calls-grant-agreement_en.html#ideas_ga
6. Model Grant agreement, http://cordis.europa.eu/fp7/calls-grant-agreement_en.html#ideas_ga
7. http://cordis.europa.eu/fp7/find-doc_en.html#implementation
8. <http://www.vscht.cz/homepage/veda/index/pravo>
9. http://cordis.europa.eu/fp7/home_en.html
10. <http://www.fp7.cz/>
11. <http://www.czelo.cz/7rp>
12. http://europa.eu.int/eracareers/index_en.cfm
13. http://www.vscht.cz/homepage/veda/index/Profil_vav/kampus

Anna Mittnerová

Noví členové ČSCH

Babuněk Mario, studující VŠCHT Praha
 Bartůněk Vilém, Ing., VŠCHT Praha
 Bednařiková Tereza, studující PŘF UK Praha
 Betík Robert, Mgr., studující PŘF UK Praha
 Buchta Michal, Bc., studující VŠCHT Praha
 Bušínová Petra, Ing., studující FCH VUT Brno
 Čerňa Igor, Mgr., studující ÚOCHB AV ČR v.v.i. Praha
 Červenková Lucie, Ing. Ph.D., ÚCHP AV ČR v.v.i. Praha
 Elnerová Michaela, Ing., studující Univerzitu Pardubice
 Fadrná Veronika, Mgr., PŘF UP Olomouc
 Fišerová Alena, Ing., Univerzita Pardubice
 Flídrová Karolina, studující VŠCHT Praha
 Fridrichová Michaela, studující PŘF UK Praha
 Habartová Věra, Mgr., studující PŘF UK Praha
 Halenková Lenka, Bc., studující UP Olomouc
 Herich Peter, Mgr., studující PŘF UP Olomouc
 Hlaváč Jan, doc. RNDr. Ph.D., PŘF UP Olomouc
 Holendová Vlasta, Ing., Gymnázium dr. Václava Šmejkalů Ústí nad Labem
 Homzová Eva, Mgr., studující KJCH FJFI ČVUT
 Hudeček Oldřich, studující VŠCHT Praha
 Chyba Jan, Mgr., studující PŘF MU Brno
 Jahn Ullrich, doc., ÚOCHB AV ČR v.v.i. Praha
 Jakeš Vít, Ing., VŠCHT Praha
 Janáková Stanislava, studující VŠCHT Praha
 Janušová Barbora, Mgr., studující FAF UK Hradec Králové
 Jiránek Ivan, Mgr., studující PŘF UK Praha
 Kasálková Nikola, Ing., studující VŠCHT Praha
 Kleinová Veronika, Ing., studující ČVUT FJFI Praha
 Kočí Kamila, Ing., VŠB-TU Ostrava
 Kolářová Kateřina, Ing., VŠCHT Praha
 Kovařík Petr, Ing., studující FJFI ČVUT Praha
 Kovářová Jana, RNDr. CSc., ÚMCH AV ČR v.v.i. Praha
 Krist Jiří, studující Mendelovo gymnázium v Opavě
 Kubáč David, Ing., studující VŠCHT Praha
 Kutlákova Kateřina, Mgr., studující PŘF UP Olomouc
 Krupková Alena, Ing., ÚCHP AV ČR v.v.i. Praha

Kurfürst Milan, Ph.D., ÚCHP AV ČR v.v.i. Praha
 Kuzněcovová Lucie, studující Ostravskou univerzitu v Ostravě
 Lisý David, studující VŠCHT Praha
 Lyapkalo Ilya, Dr., ÚOCHB AV ČR Praha
 Macek Antonín, Mgr., Výzkumný ústav pro chov skotu Vikýřovice
 Machová Eva, Mgr., studující SOŠ a SOÚ Hořovice
 Maier Lukáš, studující PŘF MU Brno
 Majzlík Petr, Ing., FCH VUT Brno
 Marek Aleš, Ing., studující Univerzitu Pardubice
 Marek Jan, Mgr., Vakos XT a.s. Praha
 Marková Hana, studující VŠCHT Praha
 Michl Josef, prof. RNDr. CSc., ÚOCHB AV ČR v.v.i.
 Mojr Viktor, Bc., studující VŠCHT Praha
 Musilová Jana, Ing., studující PŘF UK Praha
 Novotný Michal, Mgr., studující FAF UK Hradec Králové
 Panáčková Andrea, Mgr., PŘF UP Olomouc
 Pastva Jakub, studující Ostravskou univerzitu v Ostravě
 Pavelek Lubomír, studující Ostravskou univerzitu v Ostravě
 Piskorski Rafal, Ph.D., ÚOCHB AV ČR Praha
 Plevová Eva, Ing. Ph.D., Ústav geoniky AV ČR v.v.i. Ostrava
 Procházková Jana, Mgr., SSČ AV ČR Praha
 Příbylová Marie, Mgr., studující PŘF UK Praha
 Ruppenthalová Lucie, studující Ostravskou univerzitu v Ostravě
 Rychtáriková Renata, studující ÚOCHB AV ČR v.v.i. Praha
 Ryparová Olga, studující Gymnázium v Hranicích
 Sazanov Zdeněk, Ing., studující VŠCHT Praha
 Sedláček Petr, Ing., studující FCH VUT Brno
 Schröder Detlef, Dr., ÚOCHB AV ČR v.v.i. Praha
 Siegel Jakub, Ing., studující VŠCHT Praha
 Slepíčka Petr, Ing., VŠCHT Praha
 Strašák Tomáš, Ing., ÚCHP AV ČR v.v.i. Praha
 Sýkora Jan, Ing. Ph.D., ÚCHP AV ČR v.v.i. Praha
 Šárka Evžen, Ing. CSc., VŠCHT Praha
 Šárová Radka, Ing., VÚŽV Praha
 Šitner Václav, Ing., STOCK Plzeň a.s. Plzeň
 Šmidl Milan, studující UJEP Ústí nad Labem

Šplíchalová Jana, Ing., studující VŠCHT Praha
 Štarha Pavel, Mgr., UP Olomouc
 Štefko Martin, Ing., ÚOCHN AV ČR v.v.i. Praha
 Šugárková Věra, Ing. Ph.D., ÚGN AV ČR v.v.i. Praha
 Švecová Blanka, Ing., VŠCHT Praha
 Tomaniová Monika, Ing. Ph.D., VŠCHT Praha
 Urbanová Iva, studující Univerzitu Pardubice

Vaculíková Lenka, Ing. Ph.D., ÚGN AV ČR v.v.i. Ostrava
 Végh Roman, studující PřF Ostravskou univerzitu v Ostravě
 Vrábel Milan, Ing., studující ÚOCHB AV ČR v.v.i. Praha
 Vyoralová Kateřina, Bc., UP Olomouc
 Winkler Jan, MěÚ Rožnov pod Radhoštěm
 Yosypchuk Bogdan, Ph.D., ÚFCH AV ČR v.v.i. Praha
 Zajícová Markéta, studující VŠCHT Praha

Akce v ČR a v zahraničí

rubriku kompiluje Lukáš Drašar, drasarl@centrum.cz

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

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

Chemik na cestách

Jak jsme reprezentovali ČR na 39. IChO

Jednoho slunečného červencového rána se na letišti v Ruzyni sešla skupinka čtyř studentů a dvou dospělých. Všichni měli namířeno do Moskvy, byli to totiž reprezentanti České republiky na 39. mezinárodní chemické olympiádě v Moskvě a jejich mentoři. Proč jsem byl mezi nimi právě já? Výběr tradičně probíhal podle výsledků celostátního kola a následujících dvou poměrně náročných soustředění, z nichž vzešli právě čtyři nejlepší.

Před odletem jsme byli všichni napjatí, protože cesta do Ruska pro nás byla pořádnou cestou do neznáma. Co nás tam všechno čeká? Jak to tam vlastně vypadá? A hlavně jak dopadneme v hlavním bodu programu – soutěži mladých chemiků z celého světa?

Po klidném letu jsme přistáli na letišti Šeremetěvo – davy lidí, obrovské staveniště nových hal. Ruští celníci působili dojmem, že by nás radši nikam nepustili a poslali zpátky do Prahy. Jako první nás na letišti odchytila reportérka ruské televize. Během ne příliš povedeného rozhovoru nás šokovala tím, že nám organizátoři odeberou mobily i notebooky, abychom si s mentory nemohli vyměňovat informace o úlohách, které oni měli překládat a my pak řešit.

Po opuštění letiště následovalo první seznámení s Moskvou – její dopravou. Permanentně zacpané dvanáctiproudé komunikace, překotný stavební boom a vůbec megalomanství všeho druhu. Z letiště jsme jeli přes hodinu na Lomonosovu univerzitu (MSU), která převzala zástitu nad celou akcí. Tam již na nás čekal náš „guide“ – Katja. Dívka našeho věku, která nám měla dělat společnost během našeho pobytu a pomáhat nám řešit organizační problémy a dorozumívání s domorodci. Uměla obstojně česky a její milá a veselá společnost nám přišla vhod.

Organizátoři ubytovali soutěžící v hotelu Olympiets – olympijské vesnici, kde bydleli sportovci během moskev-



Reprezentační tým ČR na 39. IChO v Moskvě (zleva): Petr Hošek, Ctírad Červinka, Petr Juřík a Petr Stadlbauer

ské olympiády v roce 1980. Říkali jsme si, že to bude asi dobré sídlo, ale mělo jeden háček. Bylo na druhém konci Moskvy, vlastně až za městem. Cesta kolony osmi autobusů s náležitým policejním doprovodem trvala probíjením

se zácpami asi hodinu a půl. Tolik času jsme během deseti dnů v autobuse asi nikdy nestrávili. Mělo to i svá pozitiva. Spřátelili jsme se tak se slovenskou výpravou a zpestřovali si společně čas v autobuse různými vtípkami. Zírání na zpočátku nečitelné nápisy za okny vedlo k tomu, že si všichni nakonec osvojili azbuku. Ostatními jsme byli upozorněni na spot o olympiádě v ruské televizi. Napjatě jsme na něj čekali a těšili se. Obsahoval převážně rozhovor s ruským týmem, jak se pečlivě několik hodin denně měsíce dopředu připravují a jaké mají ambice. Následoval kratičký záběr naší výpravy, jak tlačí kufrы na letišti a byl konec. Náležitě jsme si své „dvě vteřiny slávy“ vychutnali. Vždyť ostatní týmy neměly ani to!

Poměrně záhy jsme byli separováni od našich mentorů, kteří se vydali překládat soutěžní úlohy. My jsme mezitím absolvovali společný program účastníků. Ten obsahoval jednak oficiální části – slavnostní zahájení, recepci na univerzitě; poznávací výlety – po centru Moskvy (okružní jízda autobusy, plavba lodí i procházka), návštěva pravoslavného kláštera Sergiev Posad, malování matřošek; v omezené míře byly dostupné i sportovní aktivity během výletu po řece Moskvě. Samotné historické centrum Moskvy je velmi pěkné. V architektuře se mísí inspirace jak západem, tak orientem a všechny památky jsou nově opravené a hlídané. Zajímavá byla i návštěva ruského cirkusu – velkolepá profesionální show s vrcholnými akrobatickými kousky či situačním humorem. Co se týče tradiční ruské kuchyně, světlejší okamžiky střídaly ty slabší. Strava v olympijské vesnici byla poněkud zvláštní, ale zato na ostatních akcích to stálo za to. Hlavní vzpomínka na ruské jídlo bude bezesporu chuť kopru. Ruští kuchaři ho asi mají tolik, že nevědí co s ním a přidávají ho do čehokoli v obrovském množství, snad kromě zmrzliny.

Čtvrtý den byla na programu praktická část úloh. Po našem večerním rychlokurzu jsme se ráno na pět hodin ocitli v laboratořích. Úlohy se týkaly chromatografické separace tří aminokyselin a spektrofotometrického stanovení jejich koncentrace a dále acidobazické titrace fosforečnanů. Po našich kiksech typu záporných koncentrací, záměny vzorků pro chromatografii či aproximaci titračních spotřeb „krát dvě“ jsme měli jasno, že v teorii musíme zabrat. Po dvou dnech před teoretickou zkouškou jsme radši další rychlokurz nepořádali a šli brzo spát. Všichni čekali, že Rusové pojmu úlohy velmi nacionalisticky se zaměřením na jejich významné objevy a vědecké kapacity ruského původu. Proto tak byla i zaměřena naše příprava. Nestalo se tak! Úlohy byly doslova pekelné a pět hodin na ně byl šibeniční nesplnitelný limit. Pro představu termodynamika nanočástic, kinetika polymerací, Fischerova titrace vody atd. Tradičně převážně fyzikální chemie, což pro mě byla ta lepší varianta. Říkali jsme si ale, že jestli získáme nějaké body, tak jedině snad z té praxe!

Ve zbylých dnech jsme si krátili čekání na výsledky opět společným programem, který byl už trochu volnější. Díky naší Katje, na niž jsme měli ve srovnání s jinými průvodci opravdu štěstí, jsme mohli poznat Moskvu i jinak než z oficiálního programu. Velká nákupní centra, v nichž však téměř nikdo neumí anglicky, astronomické ceny

v kavárnách nebo smlouvání o cenu v „černých taxicích“.

Nakonec jsme se dočkali a přišlo slavnostní vyhlášení výsledků a ukončení olympiády. Konalo se v hlavní aule monumentální univerzitní budovy. Aula vyzdobená bystami Marxe a Lenina s jejich památnými výroky a revolučními obrazy na nás působila poněkud komicky. Všechny však zajímaly hlavně výsledky. Po naší skepsi z katastrofálních výsledků jsme nakonec obstáli více než dobře: já a Petr Hošek jsme získali stříbrnou medaili, Petr Juřík bronzovou medaili a Petr Stadlbauer certifikát účastníka. O obtížnosti úloh svědčí i historicky nejnižší bodový průměr všech účastníků – necelých 40 bodů i fakt, že na zlatou medaili stačilo jen 59 bodů (ze sta). Závěr programu tvořila hodně uvolněná rozlučková party, nad ránem loučení, přechod přes nepřístupné celníky – opět by nás raději nepustili a odlet domů.

Celá akce byla obrovskou zkušeností a záručením naší práce a přípravy. Závěrem bych chtěl poděkovat našim mentorům Evě Muchové a Petru Slavičkovi za jejich velký podíl na našem úspěchu. Bez jejich překladů a hlavně obhajování našich někdy až nesmyslných výtvorů bychom tolik bodů těžko získali. Dále všem, kdo se nás trpělivě a s chutí snažili připravovat na výběrových soustředěních i na letním soustředění v Běstvině a v neposlední řadě Katje za její čas a přátelskou společnost. Nezbyvá než popřát našim příštím reprezentantům na 40. IChO v Maďarsku hodně štěstí a úspěchů.

Ctirad Červinka

Vrátit se do Jyväskylä

At' přijíždíte do tohoto města vlakem z Helsinek přes Tampere, kdy vlak neustále projíždí lesním koridorem a mezi stromy probleskují hladiny nespočetných jezer, anebo přilétáte linkou z Helsinek a dosedáte na malé místní letiště, tak skutečně první dojmy, které návštěvník zaznamená, je nesmírné množství vodních ploch všech velikostí. Možná by nějaký výstředník mohl použít také vodní cesty k příjezdu do Jyväskylä, ale musel by se dopravit nejdříve z Helsinek do Lahti a teprve odtud po cca 10 hodinové cestě lodí by mohl konečně být v cíli své cesty. Na letišti nás vítá nápis „Tervetuloa“, vítejte. Ano jsme ve Finsku, zemi tisíců jezer. Podle oficiálních údajů je ve Finsku 188 000 jezer s minimální plochou alespoň 500 čtverečních metrů. A protože jezero se řekne finsky järvi, nikoho asi nepřekvapí, že další, čeho je Finsku hodně, je příjmení Järvinen. Podle oficiálních údajů je nositelů tohoto příjmení (jezerní člověk) více než 30 000 a následují další příjmení jako např. Virtanen, Korhonen, Nieminen atd. Nikoho tedy nemůže udivit, že je jen velmi málo míst, kde by obec, vesnice, městečko neměla na svých pozemcích nějakou vodní plochu, a když ne vodní plochu, tak alespoň řeku, říčku, a ne jednu, raději více. Myslím, že už nikdo nepočítá a nespočítá ty další malé jezírka (lampi) a tůňky, nádherně zasazené do krajiny. Popravdě řečeno, i taková lidé se našli, např. finský inženýr Toivo Virkkala v polovině třicátých let minulého století trávil své volné

dny tím, že počítal jezera v Jižním Finsku. V roce 1956 obsahoval jeho katalog na 1500 jezer, ale již jsem se, bohužel, nakonec nikde nedočel, k jakému číslu se nakonec propracoval. Není divu, že v některých oblastech převládají vodní plochy nad pevnou půdou. Největší finský jezerní systém „Greater Saimaa“ má rozlohu 4 400 čtverečních kilometrů a zahrnuje jezera Saimaa, Haukivesi, Puruvesi, Orivesi a Pyhäselkä a celý jezerní systém má 13 710 ostrovů a 14 850 km pobřeží. Právě tento charakter krajiny s množstvím borovicových lesů, někde promíšených s větším množstvím břízy či smrku, a obklopujících množství jezer ji na první pohled přibližuje našemu vnímání. Ale pouze na první pohled. Vydáme-li se kamkoliv do okolí, budeme překvapeni členitostí krajiny, jen velmi málo úseků je tak rovinných, jako v jižních Čechách, lesy jsou plné skal, skalisek, různých skalních útvarů porostlých rozmanitými druhy rostlin a mechů. Lesní bylinné patro je často tak husté, že se kvůli náletovým dřevinám nedá projít. V případě, že se v lese těží, tak se většinou nechávají nejtenčí odřezané větve na místě a les chvílemi připomíná neprostupnou džungli, což je ideální terén pro závody v orientačním běhu. Úrodná půda v našem slova smyslu je pouze v jižním Finsku, tady ve středním Finsku si ji lidé museli po staletí pracně dobývat a vyrvávat přírodě. Dnešní mechanizace již umožňuje, pokud je to nezbytné, „zkultivovat“ kus lesa v rekordním čase, ale musíte přece jen obdivovat to, jak je zdejší lesní krajina utvářena a jak těžce se poddává člověku. Po zásahu člověka zbývají vždy jen obrovské hromady kamenů různé velikosti a upravené haldy kořenů s odkrytou půdou, která připomíná rašeliniště v jižních Čechách. Vytěžené kameny, ale i velké balvany se většinou velmi citlivě zasadí zpět do urbanistického celku. Na nějaké rašeliniště narazíte téměř vždy při procházce lesem, jestli se to dá procházkou nazvat, tedy pokud se nepohybujete po značených cestách. Tak krásně značené cesty, jako u nás v České republice, tady nenajdete, většinou nejsou značky barevné a nápisy na ukazatelích jsou často zvětřelé a špatně čitelné. Zato jsou tady k dostání velmi dobré turistické mapy v měřítku obvykle 1:10 000, které obsahují celou řadu detailů, takže se hojně využívají například k orientačnímu běhu.

Po krátké, asi 15 km cestě z letiště se dostáváme do města, jehož dominantou je kromě věže vodárny, která slouží jako rozhledna a skokanského můstku, nesporně jezero Jyväsjärvi, které se pomalu, ale jistě dostává do sevření městské zástavby. Kdo by nakonec nechtěl bydlet na břehu jezera, mít u břehu svůj motorový člun a procházet se kdykoliv po jeho břehu, anebo si jít v létě zaplavat, v zimě vytáhnout běžky nebo brusle a využít zmrzlé hladiny k provozování zimních sportů. Některé činžovní domy jsou tak blízko vody, že by obyvatelé domu mohli klidně po otevření balkonu nahodit udici a chytat ryby. Ke chvále architektů budiž řečeno, že domy na jihovýchodním břehu jsou maximálně pětipatrové a nepůsobí násilně. Dominantou jihovýchodní strany jezera je nový univerzitní komplex, který je jako perla zasazen do zeleně a je spojen se severozápadní stranou jezera, a tedy starým univerzitním komplexem novým mostem, který byl zprovozněn v roce

1991 a je vyložene architektonickou lahůdkou a charakteristickou dominantou univerzitního kampusu. Mostovka pro pěší a cyklisty je zavěšena na dvou pilířích, které se vzpínají vysoko k obloze. Most, kromě své zásadní funkce, slouží v letních měsících jako cílová páska při veslařských závodech zvláštních člunů připomínajících Cambridge nebo Oxford. Jeden takový mívám každý den v areálu univerzity a údajně sloužily v dřívějších dobách k dopravě věřících na bohoslužby na různých jezerech ve Finsku. Do člunu se často vešla i celá malá vesnice a obyvatelé soutěžili o to, kdo bude na bohoslužbách dříve. Na severozápadním břehu jezera je u paty mostu příjemný univerzitní hotel Alba a pokračujeme-li dále směrem do města, dostaneme se k rozlehlému komplexu firmy Nokia, který jakoby mlčky přes jezero stvrzoval spojení univerzitního výzkumu s firemním.

Přijedete-li do města vlakem a Pendolino z Helsinek jezdí opravdu bez závady, pak vás překvapí obrovské množství kol, které je zaparkováno u nádražní budovy. Přes velkou členitost terénu je to pořád velmi využívaný dopravní prostředek. Kola jsou sice zamčena, ale většinou je nikdo nehlídá a dokonce před šesti, sedmi lety nechávali cyklisté ochranné přilby, které se tady nosí běžně, jen tak pověšené na kole. Teď už to moc vidět není. Inu, časy se mění a mění se pomalu, ale jistě, i Finsko. Stará, dřevěná nádražní budova je již opuštěná, ale není to tak dlouho, co ještě spolehlivě sloužila stále se zvětšujícímu náporu cestujících. Neboť

Jyväskylä je nejen univerzitní, ale i kongresové město a do nového kongresového centra se prakticky dostanete přímo z nové nádražní budovy. Od nádraží je to jen kousek na hlavní obchodní ulici (Kauppakatu), která je zároveň takovou ústřední pěší zónou. V dolní části můžeme dobře posedět v Hemingway baru u sklenice celkem dobrého piva Karhu, Lapin Kulta a řady dalších, ale je třeba říci, že si můžete samozřejmě dát trochu dražší Budvar, Samson, ale například i treboňského Regenta. V pátek, někdy v sobotu večer, hraje v baru docela ucházející džezová kapela. Kdo přijede do Jyväskylä v červnu, určitě neprohloupí, protože se tady koná každoročně trochu komornější džezový festival, který spolu se slavnostmi v přístavu a oslavou svátku Juhannus dodávají městu nesporně trochu jinou atmosféru. Z přístavu na jezeře Jyväsjärvi vyjíždí celá řada parníků, které kanálem vplouvají do druhého nejdelšího jezera ve Finsku, jezera Päijänne a jejich houkání se nese nad vodní hladinou až do pozdních večerních hodin. Pokud by vás to rušilo, tak stejně se jako návštěvník příliš mnoho nevyspíte, protože v noci je jenom pološero a usíná se velmi těžko. Lepší je se projít v přístavu a dívat se na celkem živý provoz přijíždějících lodí a malých člunů. Nalodění a vylodění je celkem snadnou záležitostí, protože auto s přívěsem zacouvá tak daleko, že přívěs je ve vodě a spustit loď je již celkem snadnou záležitostí, stejně tak obrácený postup nalodění. Co je větší problém, a je často zdrojem zábavy přihlížejících diváků, je umění zacouvat s přívěsem do úzkého nalodovacího a vylodovacího kanálu. Je nutno podotknout, že hodně Finů vlastní nějaký člun a koncem víkendu je zajímavé pozorovat pro-

voz třeba na zdymadle Vaajakoski, kdy zdymadlo je k dispozici třeba i jenom pro dva malé motorové čluny. Pobyt a pohyb v přírodě je myslím Finům vlastní a někdy jsem měl pocit, že tam, kde to jde, se jen málo Finů se pohybuje normálně. Když nic, tak alespoň museli jít rychle chůzí, kromě těch, kteří pochodovali s hůlkami, ale tento druh pohybu je vytlačován velice rychle se rozšiřující jízdu na kolečkových bruslích. Bruslaři jsou tak zhruba v rovnováze s běžci, kteří krouží pravidelně po své dráze, anebo běží svůj ranní či denní okruh. Patřilo to ke stabilním hodnotám mého pobytu a zvyšovalo pocit jistoty, když jsem každé ráno na cestě do práce potkával tytéž běžce. V menšině jsou ti, kteří mají své vlastní disciplíny, např. běh do kopce, anebo skákání po univerzitních schodech vzhůru. Ke chvále Finů je třeba říci, že se opravdu o svá sportoviště starají a byl jsem doslova v šoku, když v jedné části města jsem mezi domky narazil na krásnou běžeckou dráhu vysypanou pilinami a hoblinami, kterou si občané udělali sami. Nedalo mi to a musel jsem to zkusit, no je to zkrátka paráda. To co platí v létě, platí ale i v zimě, kdy je na jezeře dobře udržovaná bruslařská dráha, několik běžeckých drah, které ale vznikají živelně a sjezdovka v Laajavuori. Pro zimní návštěvu se nejvíce hodí měsíc březen. U sjezdovky je také osvětlená běžecká dráha do 22.00 hod večer. No řekněte, nechtěli byste bydlet tak, abyste na jedné straně měli sjezdovku a na druhé straně jezero na bruslení, anebo na vodní sporty? Ale zůstaňme u léta. Přesto, že je hodně pozemků soukromých a každý Fin má patrně svou chatu a u ní svou plázičku, či alespoň dřevěný můstek, najdou se na břehu městské pláže, které hodně připomínají naše rybníky, jsou písčité, často ale mělké, ale voda je mnohem čistší a tmavší od rozpuštěných huminových látek. Obecně dosti rozšířený omyl, že ve Finsku je zima a málo sluníčka nám vyvrací sice krátké finské léto, kdy zejména v letošním roce dosahovaly teploty tropických hodnot, ale zato slunce svítí v červnu až do 22 hod. večer a opravdu vydatně prohřívá vodu, půdu a samozřejmě urychluje tím také veškeré fotosyntetické pochody, takže se dají na farmách pěstovat i jahody, na jejichž sklizeň přijíždějí autobusy brigádníků z Ruska a z Estonska.

Pokračujeme-li po Kauppakatu vzhůru, tak přejdeme náměstí s kostelem z roku 1880 a po několika stech metrech se dostaneme na začátek starého univerzitního kampusu. Budovy, většinou z červených cihel, jsou citlivě postaveny ve smíšeném borovicovém lesíku, přecházející v různých částech do parkové úpravy. Na levé straně na začátku kampusu narazíme na zajímavou budovu v „Jugendstillu“ a hned za ní je červená dřevěná roubená stavba, údajně nejstarší budova v Jyväskylä, která sloužila jako zajímavá ubytovna pro hosty univerzity. Do areálu univerzity se dostaneme vstupní budovou ležící na konci Kauppakatu. Univerzita, fungující původně jako Pedagogická vysoká škola, byla vyprojektována světoznámým architektem Alvarem Aaltem jako komplex budov, většinou z červených cihel, rozmístěných do tvaru podkovy. Otevřená strana podkovy je situována směrem od města a oblouky podkovy obklopují stadion s běžeckou dráhou.

Vedle komplexu univerzitních budov navrhl tento slavný architekt také studentské jídelny Lozzi a Lyhty a přál si mít v areálu také řecké divadlo. V obou jídelnách můžete posedět a dát si třeba kávu se zákuskem a vychutnávat sloupovou architekturu budovy, ale řecké divadlo pomalu, ale jistě zarůstá travou. O Alvaru Aaltovi byly napsány rozmanité monografie, ale připomeňme si snad, že se narodil v roce 1898 a v pěti letech se přestěhoval s rodiči z Kuortane do Jyväskylä, což nadlouho ovlivnilo jeho život. Hlavním důvodem přestěhování bylo gymnázium, ve kterém se vyučovalo ve finštině. Po ukončení studia architektury v Helsinkách se vrací do Jyväskylä a v suterénu nejlepšího hotelu ve městě si otevírá architektonickou kancelář. Jeho dílo je velmi rozsáhlé, připomeňme si jen jeho snad nejznámější stavbu, a sice halu Finlandia v Helsinkách. Vedle budov navrhoval Alvar Aalto také zařízení nemocnic, sanatorií, zabýval se navrhováním skla a nábytku. Všechno můžeme vidět v jeho muzeu v Jyväskylä. Po sňatku se svou druhou ženou vybudoval blízko Jyväskylä v Muuratsalo experimentální letní dům a dokonce navrhl motorový člun, který nazval „Nemo propheta in patria“, což volně přeloženo znamená „Nikdo není ve své vlasti prorokem“.

Univerzita v Jyväskylä patří sice podle počtu studentů k menším univerzitám, ale podle oficiálního hodnocení je na třetím místě pomyslného žebříčku, který je sestavován především na základě výsledků vědecké práce. Je pozoruhodné, jak odlišné disciplíny jsou shromážděny pod jednou střechou. Od pedagogické fakulty, přes fakultu historie, tělesné výchovy a sportů fakultu matematiky a přírodních věd až k unikátnímu urychlovači. Obecně je známo, že finská vláda výzkum velmi podporuje a zde je to skutečně znát. Během posledních několika let bylo otevřeno Centrum environmentálních studií a nová budova pro nanovědu. Mě osobně byl nejbližší Department of Chemistry, který se v současné době zabývá supramolekulární chemií a je veden prof. Rissanenem. Jeho předchůdcem byl prof. Paasivirta, který je znám svými pracemi v oblasti environmentální chemie a svým vřelým vztahem k České republice, který přešel i na nového vedoucího katedry, který je častým hostem v Praze. To místo má zcela určitě svého „genia loci“. Je to určitě dobrý pocit se procházet po chodbách katedry a na stěnách číst postery se jmény českých spoluautorů, jako např. prof. Drašara, prof. Krále a dalších pracovníků. Mimochodem, na jaře roku 1988 zde vznikala známý projekt „Tocoe“ prof. Holoubka.

Být ve Finsku a nenavštívit alespoň jeden národní park, kterých je asi přes třicet, by bylo velkým prohřeškem. Pravidla pro návštěvníky jsou ve všech zhruba stejná, někde je dovoleno stanování, koupání, rozdělování ohňů za použití našťipaného dřeva, které je volně k dispozici. Každý návštěvník našťípá tolik, co ztopí. Hranice našťipaného dříví spolu se sekerou, kterou nikdo neukradne, je typická a našinec se v duchu musí divit, jak je to možné, že to tam takhle vydrží. Mně nejbližší byl Národní park Helvetinkolu s jezerem Helvetinjärvi, který leží cca 170 km východně od Jyväskylä. To proto, že není typickým finským národním parkem v tom smyslu, že vedle mělkých jezer má

právě jezero Helvetinjärvi podobu kaňonu. K tomuto jezeru dorazíte z parkoviště krásnou lesní cestou po cca 5 km chůze, při které se ale nemůžete většinou ani na chvilku zastavit např. na fotografování, neboť v tu chvíli se na vás slétnou mračna komárů. Na konci cesty je vám ale odměnou krásný pohled ze skalního ostrohu do jezerního kaňonu a jestliže sejdete po schůdcích až ke břehu jezera, můžete využít opět pohostinství chaty, kde byli častými hosty známí finští umělci, např. A. Gallen-Kallela, H. Simburg, J.L. Runeberg a J. Sibelius.

Pokud se zastavíte na zpáteční cestě, anebo kdykoliv jindy v restauraci, pak obvykle po objednání nápojů a objednávce jídla jste vyzváni si posloužit u salátového bufetu, což je velmi příjemná zvyklost. Kuchyně je evropská s převahou rybích jídel, ale určitě si nezapomeňte dát alespoň jednou typické finské jídlo, např. jídlo s velmi dlouhou tradicí, kterým je hustá hrachová polévka s omeletou

a se sladkou marmeládou na ní. Typicky finským jídlem se určitě stane „makkara“, což je vlastně obyčejná grilovací klobása.

A co přivést přátelům a známým z Finska? Dá se koupit celá řada zajímavých a krásných věcí, které mají jednoho společného jmenovatele – jednoduchost a ladnost tvarů a skrytou severskou krásu, ať už se jedná o sklo, výrobky ze dřeva, anebo šperky. Určitě ale nezapomeňte přivést likér z morušky (lakka), výrobky obsahující xylytol, což je typický finský produkt a „salmiak“. Po posledně zmíněných pastilkách obsahujících, jak sám název napovídá, salmiak, anebo chemicky chlorid amonný, budete jen stěží chytat dech.

A jak říká jedno finské přísloví, návštěvník má jenom dvě cesty, přijet a odjet. A já tedy odjíždím s tím, že se snad někdy do této krásné země ještě jednou podívám.

jatr

Aprílový klub

Odborník radí: jak na uši (Metro, úterý 16.října 2007)

Že špatně slyšíte? S tím se dá něco dělat, vysvětluje odborník přes ušní svíce Martin Šafránek. „Zapálená svíce ze směsi včelího vosku a určitých bylin se vloží do ucha a na základě tzv. komínového efektu se spaluje škodlivá energie z celého člověka. Stahuje se energie z celé aury

člověka, takže se nečistí jen ucho, ale i celé okolí. Zevnitř se nasává vše, co tam nepatří.“

Hoření je výsostně chemický proces a proto malá poznámka pane Šafránku. Jsou přece i jiné tělní otvory a jistě i odborníci přes jiné svíce...

Bohumil Kratochvíl

Zprávy



Tisková zpráva VŠCHT Praha

Prestížní evropský grant míří do ČR

Dne 14. 12. 2007 byly Evropskou výzkumnou radou (ERC) oznámeny výsledky prvního ročníku soutěže o granty udělované v rámci programu IDEAS na podporu nejtalentovanějších mladých evropských vědců. Jeden z těchto prestižních grantů získal za projekt s názvem „Chemical Processing by Swarm Robotics“ jako jediný zástupce České republiky absolvent Fakulty chemicko-inženýrské VŠCHT Praha, doc. Ing. František Štěpánek, Ph.D.

Cílem tohoto pětiletého výzkumného projektu, na jehož řešení se na VŠCHT Praha bude pod vedením doc. Štěpánka podílet devítičlenný interdisciplinární tým, je vyvinout koncept tzv. chemických robotů, které si lze představit jako částice velikosti řádově jednotek až desítek

mikrometrů, mající schopnost autonomního pohybu, selektivní látkové výměny s okolím, chemické přeměny absorbovaných molekul, jejich akumulace a řízeného vyloučení. Takto definované chemické roboty mohou najít uplatnění v celé řadě oblastí, např. v diagnostice, syntéze a cíleném vylučování tzv. personalisovaných léčiv, či dekontaminaci těžko dostupných prostředí.

7. Rámcový program EU je v období 2007–2013 s rozpočtem téměř 54 miliard € největším evropským programem na podporu výzkumu, vývoje a demonstračních aktivit. Jeho dílčí část, specifický program IDEAS, je určený pro takzvaný „frontier research“ a s rozpočtem 7,5 miliardy € ho řídí přímo nově založená Evropská výzkumná rada (ERC). Granty typu ERC Starting grant jsou určeny uchazečům do 9 let po obhajobě Ph.D., bez omezení národnosti či složení výzkumného týmu. Z 9 167 podaných návrhů vybrala letos ERC ve dvoukolové soutěži prostřednictvím oborových panelů 300 nejlepších projektů, což

představuje úspěšnost pouhá 3 %. Kritéria hodnocení podaných návrhů zahrnovala nejen intelektuální potenciál navrhovatele a kvalitu, originalitu a průlomovost řešeného vědeckého tématu, ale též schopnost a ochotu hositelské organizace, v tomto případě VŠCHT Praha, nabídnout řešitelskému týmu špičkové technické zázemí a kvalitní manažerskou podporu.

Doc. Ing. František Štěpánek (33) získal titul Ph.D. v roce 2001 současně na VŠCHT Praha pod vedením prof. Ing. Miloše Marka, DrSc, a na Universitě Pierre et Marie Curie v Paříži. Ve své vědecké kariéře pak pokračoval

v R&D centru firmy Unilever ve Velké Británii, a dále na Department of Chemical Engineering, Imperial College v Londýně, kde vede vlastní výzkumnou skupinu. Doc. Štěpánek získal v posledních letech celou řadu významných ocenění, mj. se stal historicky prvním dvojnásobným nositelem Moultonovy Medaile, udělované od r. 1929 Institutem chemických inženýrů (ICChemE) za nejlepší vědeckou publikaci. V letošním roce mu byla udělena prestižní cena Philip Leverhulme Prize a mezinárodní cena Friedrich Wilhelm Bessel Award.

Anna Mittnerová

Střípky a klípky o světových chemících

Archeokrystalografie. Vykopávka čtvrtá. Otisky prstů podle Scherrera.

Poznámka úvodem: následující čtení se netýká stejnojmenného amerického herce, který se narodil skoro dvacet let po smrti svého slavného jmenovce.

V roce 1916, uprostřed světové války, pracoval na své disertaci „O Faradayově efektu u vody“, pravděpodobně levou rukou švýcarský občan Paul Scherrer. Pravou ruku si šetřil na sestavení rentgenové komůrky, která zajistila rentgenostrukturní analýze trvalé místo v pracovnách chemiků. Jeho šéfem byl o šest let starší asistent profesora Sommerfelda, který se čerstvě etabloval na univerzitě v Göttingen, Peter Debye. Tuto dvojici Sommerfeld znal, Paula Scherrera ze svého rodného Královce (Königsberg, Kaliningrad), Debyeho z Cách (Aachen), kam tento Holanďan chodil na Sommerfeldovy přednášky přes hranice z Maastrichtu. Když byl kdysi Sommerfeld dotazován, který svůj objev považuje za nejcennější, okamžitě zvolal „Paula Scherrera“! Debye byl v Göttingen prvním Sommerfeldovým doktorandem.

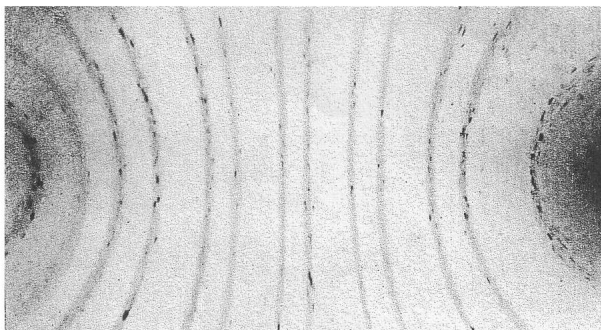
Dva roky po zveřejnění Braggovy podmínky byla strukturní analýza odkázána na vhodné monokrystaly a svízelné početní postupy. Debye si přečetl v práci W. Friedricha o pokusech s interferencí RTG-záření na amorfní látce (vosku)¹ a v teoretické práci projevil úmysl využít této metody k lokalizaci elektronů ve sloučeninách lehčích atomů. Komůrka k tomu určená byla zřejmě dílem Scherrerovým a jako představitel lehkých atomů byl zvolen mikrokrystalický fluorid lithný. Metoda se spokojila se špetkou látky, z níž Scherrer uválem s pomocí kolodí drobný váleček (posléze došlo na „udusání“ ve skleněné kapiláře) připevněný na hlavičce, která dovolovala několika šroubky umístit vzorek do osy válcové komůrky. Difrakci prozradily stopy na pásku fotografického filmu.

V našich skromných poměrech se prof. Dolejšek proslavil k tomuto účelu adaptovaným rendlíkem. Mezi válečnou kořist patřily i rentgenostrukturní aparatury zdejších laboratoří. Doktorandi 2. poloviny 20. století z oboru anorganické chemie místo mnohatýdenních chemických analýz měli za pár hodin zjištěno, zda mají v ruce stále stejnou

látku, nebo něco nového.

Původní komůrka doznala řady změn, především co do možnosti pracovat ve velkém rozmezí teplot a v uzavřené atmosféře, mnohdy i za vysokého tlaku. Informace o struktuře měly však vážné nedostatky – spolehlivé výsledky byly hlavně u krychlové soustavy, kde bylo možno spoléhat se na podobnost snímků, získaných na strukturně notoricky známých látkách. Práškový diagram byl považován za obdobu otisků prstů. Této představě zasadil v 80. letech zlou ránu dodatek² ke sbírce strukturních dat Donnaye a Ondíkové. Ukázal, že jednoznačné diagramy poskytuje jen 28 prostorových grup a že ty nejčastější jsou společné pro více grup.

Debye opustil svou představu krátce po jejím publikování³ a v plánované řadě sdělení II o difrakci na kapalinách vypadlo. Úspěšná dráha „práškové“ metody začala snímkem LiF udivujícím svou jednoduchostí⁴. Na „amorfním“ křemíku mohl dokázat, že je krystalický (obr. 1). Ve sdělení III (cit.⁵) je pozoruhodný obrázek pokusného uspořádání a výsledky studia struktury grafitu s objevem struktury sazí, do té doby považovaných za uhlík amorfní. V závěru této práce je RTG-difrakci dokázáno, že uhlík existuje jen ve dvou formách – diamantu a grafitu a že jejich struktury jsou předobrazem sloučenin alifatických a aromatických. Šťastnější gymnazisté se počátkem 40. let o tom dovídali i na našich školách.



Obr. 1. Práškový difraktogram křemíku, do té doby považovaného za "amorfní"

Na rozdíl od protagonistů první naší vykopávky⁶, Scherrer ani Debye nepodlehli motorismu. Odborně i osobně se dali každý jinou cestou. Debye dostal v roce 1936 Nobelovu cenu za chemii, Scherrer se rozvíjel v nukleární fyzice a od popsané komůrky (o průměru 114 mm) skončil u cyklotronu a projektu proslulého urychlovače v podzemí okolí Ženevy (o průměru 9 km). Jeho jméno zdobí řadu vědeckých institucí Švýcarska a je po celém světě hojně zastoupeno v textech dizertačních i jiných prací. Z nevelkého množství RTG-strukturních prací (již jen Scherrerových) zaujme první struktura kovu, který není v přírodě jako minerál, hliníku⁷. Prášková metoda dokázala stejnou strukturu, jako v té době již zjištěnou na nerostném zlatě, stříbře a olovu – Fm3m.

Debye dostal Nobelovu cenu již v Hitlerově Německu a nemohl se vyhnout pozdravu „Heil Hitler“ na akademických dokumentech. Emigroval do Spojených států, kde se dočkal nevybíravé kritiky za tento hřích. Novináři, kteří by chápali, že Debye byl též národnosti jako van der Lubbe, žhář „Reichstagu“, se dali tehdy a tam spočítat na prstech jedné ruky.

LITERATURA

1. Friedrich W.: Phys. Z. 14, 317 (1913).
2. Donnay J. D. H., Ondik H.: *Crystal Data*, 3. vyd., 2. dodatek. NBS, Washington 1979.
3. Debye P.: Ann. Phys. 43, 49 (1914).
4. Debye P., Scherrer P.: Phys. Z. 17, 277 (1916).
5. Debye P., Scherrer P.: Phys. Z. 18, 291 (1917).
6. Jenšovský L.: Chem. Listy 101, 337 (2007).
7. Scherrer P.: Phys. Z. 19, 232 (1918).

Lubor Jenšovský

Ludwig Gattermann

Německý chemik L. Gattermann se narodil 20. 4. 1860 v Goslaru u Hannoveru v rodině pekaře. Vyrůstal vedle čtyř sester, ale dvě brzy zemřely. Ludwig rád v dětství sbíral rostliny, minerály a chytal motýly. Později hrál na klavír a zajímal se o výtvarné umění. Jako student reálky dobře prospíval z matematiky a fyziky a doma prováděl chemické pokusy. Začal studovat na univerzitě v Lipsku, pokračoval v Heidelbergu, pak na technice v Berlíně a promoval na univerzitě v Göttingenu. Z laboratorních praktik ho předcházela výborná pověst, takže si ho v Göttingenu profesor Victor Meyer vybral za asistenta. Stal se jeho „pravou rukou“ nejen při přednáškách, ale i při rekonstrukci ústavu. Roku 1886 se Gattermann habilitoval, přešel na univerzitu v Heidelbergu a později jako profesor do Freiburgu im Breisgau. Kromě toho působil jako vědecký konzultant barvářských závodů Bayer v Elberfeldu.

Gattermann byl výborný a odvážný experimentátor. Jeho práce s trichloraminem (NCl₃), o které se zmínil i novinový článek, mu vynesla přezdívku „der Hero“. Nebál se pracovat ani s kyanovodíkem. Jako kuřák snadno identifikoval event. únik kyanovodíku. Svému příteli San-

dmeyerovi napsal, že když si na kyanovodík zvykne, není horší než alkohol („Spiritus“). Gattermann se věnoval hlavně výzkumu v aromatické chemii. Šlo o syntézy některých aromatických aldehydů z aromatických uhlovodíků a směsi chlorovodíku, buď s kyanovodíkem nebo s oxidem uhelnatým – v obou případech v přítomnosti chloridu hlinitého. Dále to byla modifikace Sandmeyerovy reakce. Podle Gattermanna k přípravě aromatických chlor- a bromderivátů z diazoniových solí se místo halogenidů měďných dá použít měděný prášek, získaný *ad hoc* z roztoku CuSO₄ zinkem. Podobně lze z areniazonium-hydrogensulfátů účinkem oxidu siřičitého připravit aren-sulfonové kyseliny, ale i nitrolátky, nitrily a isokyanáty (působením KNO₂, KCN, KCNO a měděného prášku). Gattermann je mimo jiné autorem přeměny nitrobenzenu na 4-aminofenol při elektrolytické redukci v kyselině sírové. Jak dokázal E. Bamberger, vzniká nejprve *N*-fenyl-hydroxylamin, který účinkem H₂SO₄ přemýkuje na 4-aminofenol. Studium azoderivátů a azoxyderivátů umožnilo mimo jiné přípravu 4,4'-dimethoxyazoxybenzenu, další sloučeninu tvořící kapalné krystaly (1890), po cholesterylbenzoátu F. Reinitzera (1888) a O. Lehmana (1889). Mezi organickými chemiky několika generací byla velmi oblíbená „kuchařka“ *Die Praxis des organischen Chemikers* (1894), která se dočkala dlouhé řady reedicí. Roku 1941 ve vysočanské laboratoři Spolku pro chemickou a hutní výrobu se docent Rudolf Lukeš vyjádřil, že „Gattermann“ je nejlepší kniha o organické chemii. Gattermannova kuchařka – v moderním zpracování T. Wielandem a C. Mayerem – dosáhla již 42. vydání r. 1972, a to ještě nebylo poslední.

Gattermann, vynikající chemik, v osobním životě moc šťastný nebyl. V manželství s herečkou to neklapalo, po 25 letech se rozešli; dlouho trpěl arteriosklerózou, zemřel již v 60 letech, 20. 6. 1920 ve Freiburgu. Ve sbírce humorných příběhů se dočteme, že na univerzitě ve Freiburgu Gattermannův kolega – fyziologický chemik – studoval složení střevních plynů. K tomu účelu si najal jednoho muže, dostatečně ho nakrmil luštěninami a připojil ho na aparaturu, která odváděla plyny do nádoby přes sloupec rtuť. Gattermann vstoupil do laboratoře, právě když potenciál muže nestačil překonat odpor rtuťového sloupce. Na to Gattermann pronesl k přítomnému kolegovi: „Jo, milý kolego, to musíte napojit dva muže za sebou“.

LITERATURA

1. Pötsch W. R., Fischer A., Müller W., Cassebaum H.: *Lexikon bedeutender Chemiker*, str. 162. VEB Bibliographisches Institut Leipzig, 1988.
2. Jacobson P.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 54 A, 115 (1921).
3. Hausen J.: *Was nicht in den Annalen steht*. Verlag Chemie, Weinheim 1958.
4. Temler R., Attard G.: New Sci. 1767, 25 (1991).
5. Tesařík B.: Chem. Listy 101, 612 (2007).

Miloslav Ferles a Eva Mašková

Osobní zprávy

K osmdesátinám Milana Horáka, nestora naší infračervené spektroskopie

Musím začít plurálem – jak jsem poznal Horáky. Když jsem počínal svá přírodovědná studia koncem 40. let na pražském Albertově, utkvěl v mé paměti mimo jiné také výrazný blondřatý čahoun s ostrým nosem, pohybuující se v bílém plášti přízemním rajonem organiky budovy chemických ústavů Univerzity Karlovy; po čtyřech zdárných semestrech jsem ale díky Alexeji Čepičkovi poznával 2,5 roku prvek uhlík v zeleném mundúru s černými výložkami na Ostravsku a ještě půl roku křemičitany v cihelně rodného města. Nicméně po této tříleté manuální interrupci jsem pokračoval v poznávání chemie, a to hned v organickém praktiku, vedeném výše zmíněným blondákem, docentem Václavem Horákem. Mé nemalé obavy, jak navážu na předchozí studium, tento pán svým přístupem a jednáním pro mě nezapomenutelně rozptýlil. Nějak jsme si záhy padli do oka, pan docent mi dokonce svěřil náročnější syntézy látek pro jejich laboratoř, což mi imponovalo a posílilo mou sebedůvěru. Náš dobrý vztah pokračoval, když jsem se po ukončení studia stal jako učitel fakulty vlastně páně docentovým kolegou, pochopitelně v patřičné subordinaci. Setkávali jsme se jako aktéři při různých společenských hrátkách na „chemáku“, kupříkladu na tzv. populárních mikulijádách zaměstnanců před vánočními a zejména při přípravě památného setkání absolventů chemie, tuším v roce 1960, jehož duchovním otcem byl právě doc. Václav Horák díky svému společenskému espritu a smyslu pro humor, vtip a eleganci. Tehdy se mimo jiná vážnější dění chemický lid původem z Albertova také plavil na vltavském parníku do Chuchle, kde na tamním hřišti proběhlo fotbalové utkání „Invalidak Albertovo“ versus Akademičtí Šormovci a Máchovka, za něž startoval, pokud se pamatuji, i bratr pana docenta, Milan Horák. V litém boji díky střetu se svým bratrem si Milan z chuchelského hřiště odnesl tři nalomená žebra.

Před návratnou plavbou byl odpálen první pražský Sputnik z hladiny Vltavy pomocí sodíkového starteru. V davu z paluby lodi přihlížel i další vysoký, štíhlý bělovlasý pán, tatínek bratří Horáků. Proto můj plurál.

V té době jsem se pustil do spektroskopie, a to Ramanovy. Nemaje žádné zázemí na Karlově univerzitě, kontaktoval jsem nesměle pracovníky spektrální laboratoře v Ústavu organické chemie a biochemie („U Šormů“), sídlící v tamním suterénu – jednak mého někdejšího spolužáka, Honzu Štokra, Dr. Bohdana Schneidera a p. Holuba. Jako odborník přes infračervená spektra organických látek zde již figuroval Dr. Milan Horák, který se jako externí přednášející a konzultant začal uplatňovat na jeho mateřské albertovské katedře organické chemie, jež získala jednonohranolový (natriumchloridový) spektrofotometr, výrobek brněnských akademických dílen. Spíše za trest se naši organizaci tehdy obohatili i sovětským přístrojem IKS 14.

Při měsíční stáži na TU Dresden v r. 1962 na pracovišti právě zemřelého prof. Simona, známého předválečného „Ramanisty“, jsem si tehdy u doc. E. Stegera vedle „Ramanských“ zkušeností uvědomoval nezbytnost a naléhavost pěstovat obě metody vibrační spektroskopie. Z českých spektroskopiků byl vedle Josefa Plívy Simonovým žákům, Stegerovi, Kriegsmannovi a Petzoldovi znám právě Milan Horák.

Další drážďanské pobyty mou snahu jen utvrdily, koncem 60. let jsme pak byli na katedře anorganické chemie relativně vyzbrojeni pro studium vibračních spekter a vedle výzkumné problematiky byly infračervená a Ramanova spektroskopie zařazeny jak do přednáškové, tak praktické výuky. Styky s Milanem Horákem, působícím již v Máchovce na Ústavu fyzikální chemie ČSAV („u Brdičků“), byly stále častější. Milana jako známého reprezentanta Československé spektroskopické společnosti obléhal stále rostoucí počet uživatelů infračervených spektrometrů, jejichž mnohdy značný diletantismus, produkující rozmanitá měřená falsa, tento stav značně trápil i rozčiloval. Zrodilo se tak z našich debat pořádání kurzů měření infračervených spekter, jejichž úkolem bylo naučit uživatele spektrometrů osvojit si správné metody přípravy vzorků a měření jejich infračervených spekter včetně ukázek z Ramanovy spektroskopie. Spolu s Milanem a dalšími spolupracovníky jsme tak pod hlavičkou Spektroskopické společnosti a příslušné školy vytvořili kurzy, jež dodnes pochopitelně v modifikovaném uspořádání vzdělávají každoročně desítky frekventantů. V průběhu doby vyplynulo, že frekventanti kromě měření spekter mají i problémy s jejich interpretací a použitím. Vznikl druhý kurz Interpretace vibračních spekter, probíhající návazně na kurzy měření a těší se rovněž dodnes velkému zájmu a pozornosti. Doc. Milan Horák byl v obou kurzech až do doby vzniklých zdravotních potíží po celá léta jejich stálým aktérem a přispěl zásadně do jejich náplňové strategie.

Naše vzájemné styky prohloubila zejména spolupráce na díle s dramatickou předehrou a nemalým úsilím, korunované v závěru pod názvem *Infračervená spektra a struktura molekul*, vydané v Akademii, nakladatelství Československé akademie věd, Praha 1976. Pokud je mi známo, monografie, na níž participoval později emigrovavší Josef Plíva, byla již takřka hotová, zredigovaná, nicméně její vydání bylo pozastaveno. Čas ubíhal, jeden ze spoluautorů, Slávek Toman, mezitím zemřel, část textů zastarávala, zejména však bouřlivě v té době rostla nová literární data. Je dominantní zásluhou Milana Horáka, že toto u nás naprosto ojedinělé dílo spatřilo světlo světa. Milan mě tehdy vyzval ke zpracování kapitol halogenidů, hydridů boru a hliníku a anorganických sloučenin včetně anionů typu XO_3 a XO_4 . Nahlédl jsem tak alespoň kousek na jeho obrovitou, až sisyfovskou činnost při zpracování hlavní části díla – interpretaci infračervených spekter molekul, ale i dalších náležitostí.

Díky interpretačním kurzům znám dost dobře terén

uživatelů vibrační spektroskopie, pro něž je zmíněná monografie přes různé sofistikované interpretační programy stále fundamentálním zdrojem pro vysvětlení a zdůvodnění příslušných charakteristických frekvencí. Byť toto přes 800 stránek rozsáhlé kompendium má svá léta, molekuly kmitají stále se stejnými frekvencemi a amplitudami, jen šíře a dostupnost informací je dnes bohatší a snazší. Norský profesor Sven J. Cyvin z Trondheimu, světový expert přes výpočty amplitud vibrací a pražský rodák, ve své době napsal v *European Spectroscopy*, že jde o ojedinělou monografii ve světové literatuře, zabývající se tak zevrubně problematikou charakterističnosti vibrací. Být napsána v angličtině, byla by trvalým hitem světové vibračně-spektroskopické literatury. Robustní kniha v červené vazbě je trvalým pomníkem Milana Horáka.

K Milanovým šedesátinám uspořádala Odborná skupina vibrační spektroskopie Čs. Spektroskopické společnosti celodenní seminář s pestrým programem a mezinárodní účastí, kdy v Československu byly poprvé prezentovány též brilantní výsledky, dosažené FTIR-mikroskopem (Dr. Ďurčová, Výzkumný ústav chemických vláken, Svit). ČSAV tehdy Milanovy zásluhy o vědu ocenila stříbrnou plaketou Jaroslava Heyrovského. Milanovy zásluhy o naši vědu ocenila při příležitosti 650. výročí též Karlova univerzita děkovným uznáním.

Doc. Milan Horák se zasloužil o československou a českou spektroskopii také svou dlouhodobou rozsáhlou aktivitou v Československé spektroskopické společnosti, později Spektroskopické společnosti Jana Marka Marci jak v běžné spolkové práci jako její vědecký tajemník, ale zejména při organizování různých mezinárodních setkání a konferencí díky svým zkušenostem i stykům se širokým zahraničím. Kamkoliv jsem v Evropě přišel, všichni významní spektroskopisté Milana Horáka znali a nechali ho pozdravovat.

Doc. Horák je nositelem medaile Jana Marka Marci a je čestným členem této Spektroskopické společnosti. Proto i náš pozdrav k Milanovým osmdesátým narozeninám.

Bohuslav Strauch

Prof. Ing. Jaroslav Holeček, DrSc. oslaví 75. narozeniny

Dne 6. února 1933 se ve Štamberku na Moravě narodil Jaroslav Holeček, emeritní profesor fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice. Po absolvování gymnázia v Příboře, začal v roce 1952 studovat na tehdejší Vysoké škole chemicko-technologické (nyní Univerzitě) v Pardubicích. Studium na Katedře organické technologie ukončil s vyznamenáním. Po celou svou profesionální kariéru se však věnoval a nadále i věnuje spíše chemii anorganické, později i organokovové. V letech 1957–1960 byl aspirantem profesora Klikorky, tehdejšího rektora VŠCHT Pardubice, poté pracoval na Katedře obecné a anorganické chemie jako asistent, později docent a profesor. Na této katedře vydržel více než 50 let a působí na ní

dodnes.

Pedagogickou činnost zahájil na Katedře obecné a anorganické chemie VŠCHT Pardubice již v roce 1960. Je autorem dvoudílných skript, jejichž přípravě věnoval velké úsilí. Po vyloučení ze strany nemohl v období normalizace delší dobu učit a věnoval se intenzivně výzkumné činnosti a spolupráci s průmyslem.

Od počátku 80. let mohl opět publikovat a začal se intenzivněji věnovat výzkumu organometalických, zejména organocínitých sloučenin. Jeho elán, nezdolný optimismus a mimořádné pracovní nasazení vzbuzovaly u většiny lidí zasloužený obdiv, u někoho možná až závist. O obojím to platí asi dodnes. Habilitoval se v roce 1990 a v následujícím roce byl jmenován profesorem pro obor Anorganická chemie. Hodnost doktora chemických věd získal v roce 1990 obhajobou své velmi rozsáhlé doktorské dizertační práce s názvem „Studium syntézy, vlastností, struktury a reaktivity některých tříd organokovových sloučenin prvků IVb skupiny“.

Prof. Holeček byl v letech 1992–1998 vedoucím Katedry obecné a anorganické chemie na Fakultě chemicko-technologické Univerzity Pardubice, pracoval ve vědeckých radách FCHT Univerzity Pardubice a VŠCHT Praha, byl předsedou akademického senátu, úspěšným řešitelem projektů Grantové agentury České republiky i dalších projektů, předsedou komise pro obhajoby dizertačních prací (PhD) a věnoval se mnoha dalším činnostem.

Je autorem nebo spoluautorem více než sto čtyřiceti původních vědeckých prací, publikovaných většinou v renomovaných zahraničních časopisech. Jeho práce jsou velmi často citovány, jak lze dokázat zařazením prof. Holečka mezi nejcitovanější české chemiky. Jeho 2 nejúspěšnější práce byly zatím citovány více než dvěstěkrát, několik dalších publikací více než stokrát. V roce 2004 byl zvolen členem Učené společnosti ČR. Stal se zakladatelem světově uznávané pardubické školy organokovových sloučenin cínu. Studoval i řadu dalších sloučenin, pozornost zaměřil i na využití NMR spekter a na určování struktury připravených sloučenin. V posledních letech, přestože je již v důchodu, stále dochází na své pracoviště a spolu s mladými spolupracovníky dále pomáhá budovat vznešený a krásný chrám chemie. Do kaple chemie anorganické přidává stále další a další kameny poznání. Tato činnost byla a je jeho milovanou, někdy i zatracovanou, přesto však hlavní náplní celého jeho dosavadního života.

Prof. Holeček se však nevěnoval jen chemii, ale našel si čas i na pravidelnou návštěvu koncertů, divadelních představení a četbu, v poslední době pak i na cyklistické výlety s malým převýšením v okolí Pardubic a Rybitví. Rozsáhlý je jeho všeobecný a kulturní přehled. Má dvě dcery a mnoho vnoučat.

My, jeho kolegové, jeho bývalí studenti, doktorandi a spolupracovníci, mu přejeme mnoho elánu, spokojenosti, zdraví a nových zajímavých poznatků. Snad nebude neskromné, když mu jako předseda Odborné skupiny anorganické chemie České společnosti chemické popřejí vše dobré a nejlepší i od všech českých anorganických chemiků a jistě i od slovenských přátel. Na Slovensko ostatně zajíž-

děl prof. Holeček velice často a rád.

Doufám také, že si s jubilantem uvaříme a vypijeme ještě mnoho šálků dobré kávy, jak se již v několika málo posledních (téměř 50) letech stalo našim každodenním zvykem.

*Miloslav Frumar,
Tomáš Wágner,*

kolegové, žáci, přátelé chemici i ostatní a snad i nepřátelé

Vítězslav Veselý (1877–1964), významný český chemik. Vzpomínky (130 let od narození)

Již vysokoškolské studium vtisklo nesmazatelný ráz celé jeho budoucí chemické činnosti. Dostalo se mu výtečné školení v základních oborech chemie a chemické technologie nejen u nás, ale i v zahraničí u nejvýznamnějších představitelů chemické vědy. Vynikající profesori, přední průkopníci, uvedli mladého adepta do metodiky oborů, v nichž dosáhl nejdůležitějších výsledků své životní práce.

Do roku 1919 byl asistentem u profesora Emila Votočka, vnímal výchovné poslání učitele tak, že se stal představitelem jednoho z nejmladších příslušníků slavné generace učitelů chemie, kteří vybudovali základy české chemie a technologie.

K tomu přispěla hlavně Veselého zvláštní a ve vědeckém světě dost ojedinělá schopnost harmonicky spojovat výzkumnou a pedagogickou činnost vědce s tvůrčí prací všestranného člověka. Syntetická barviva a barvářské produkty byly na počátku 20. století nejvýznamnějším průmyslovým odvětvím s využitím organické chemie.

Veselý několikrát změnil obor svých pracovních a vědeckých zájmů. Začátek Veselého průkopnické školy byl v Ústavu organické chemie, technologie tuků a barviv na Vysoké škole technické v Brně. Dne 30. ledna 1920 byl jmenován pro brněnskou techniku mimořádným a 20. června 1921 řádným profesorem.

Vítězslav Veselý, výjimečný člověk, byl psychicky silná osobnost, s velkou předností v důkladném hudebním školení a plným tvůrčím rozletem s různými zálibami a zájmy.

Praha měla svého profesora Dr. Emila Votočka, Dr. h. c., vynikajícího chemika, ale v jeho osobě i hudebníka, skladatele, violoncellistu. Brno zase jeho žáka, profesora Dr. Ing. Vítězslava Veselého, vzácnou shodou okolností byl také organický chemik, ale roku 1923 zřídil profesorské „chemické kvarteto“. Na rozdíl od prof. Votočka však prof. Veselý hrál první housle.

Profesor Veselý dovedl překonat obtíže a malichernosti v povolání svým typickým životním optimismem. Velmi svědomitě vykonával své povolání učitele a jeho posluchači si zvláště cenili, že se již od počátku svého působení staral, aby měli vhodné učebnice pro předměty, které přednášel. Nikdy se nebál, že snad z toho důvodu

budou jeho přednášky méně navštěvovány. Tak vychoval řady zdatných pracovníků jak v čisté organické chemii, tak i v různých oborech technologických, pro něž měl zvláště velké pochopení. Při zkoušení nešlo prof. Veselému jen o to zjistit, kolik toho posluchač nezná, ale názorně ukázat, co by měl znát a jak chemii rozumět.

Jeho významným obdobím se stává rok 1924, kdy je členem Masarykovy akademie práce, jednak Československé národní rady badatelské a jednak členem Moravské přírodovědecké společnosti v Brně. V roce 1929 se stává řádným členem Královské české společnosti nauk. Koncem roku 1938 dosáhl ocenění mimořádného člena České akademie věd a umění, třídy matematicko-přírodovědecké.

Vítězslav Veselý vytvořil dílo světového významu především svými pracemi v oboru derivátů aromatického uhlovodíku naftalenu, přechodně věnoval svůj zájem sklářským otázkám, dále se zabýval chemií a technologií vyšších mastných kyselin, především nenasycených, a pak se stal průkopníkem chemie plastických hmot.

Ve spojitosti vědy s rozvojem vysoké školy a chemické společnosti se stal již v roce 1909 členem České společnosti chemické v Praze, která patří k nejstarším, největším a nejvýznamnějším učeným společnostem v Českých zemích. Během doby vtiskla osobnost Vítězslava Veselého do činnosti brněnské pobočky, kterou spoluvytvářel, určitý profil, který reflektoval rozvoj oboru, potřeby praxe i odborné a postgraduální vzdělání. Vliv průmyslového vývoje a ne vždy příznivého společenského klimatu se odrážel i v oscilaci členské základny. Čestné členství Československé společnosti chemické bylo prof. Vítězslavu Veselému uděleno na sjezdu v Brně v roce 1950.

Řádným členem Československé akademie věd byl jmenován v roce 1952. Od roku 1953 udělila Státní kolice pro vědecké hodnosti Vítězslavu Veselému titul doktor chemických věd (DrSc.). U příležitosti jeho osmdesátin v roce 1957 byl mu udělen Řád práce.

Při oslavě příležitosti „85“ v lednu 1963 prohlásil prof. Veselý, že rád poznává nové teorie a každodenní hudební produkce, co patřilo vždy k jeho nejlepšímu duševnímu osvěžením. Však k udržení zdraví a tělesné kondice si ideálně představoval denní pochodovou trasu asi tak v délce 25 km. Zkrátka při kapce vína se člověk ve svém věku na svět jinak dívá.

Vítězslav Veselý, jeden z našich organizátorů českého vědeckého života i mezinárodní spolupráce vědců, nestor českých chemiků, zemřel 7. června 1964 v Brně. Při smutčném projevu zazněla slova: „...s ohledem na profesorskou věk zůstává jas jeho myšlenek!“

Česká společnost chemická, Odborná skupina pro tuky, detergenty a kosmetickou chemii uděluje Pamětní medaili Vítězslava Veselého na základě statutu ze 6. ledna 1994.

Adolf G. Pokorný

 Výročí a jubilea

Jubilanti v 2. čtvrtletí 2008**95 let**

Ing. František Plzák, (4.6.) SPŠCH Praha

90 let

Ing. Viktor Mansfeld, CSc., (4.2.), VÚFB Praha

RNDr. Věra Blumová, CSc., (29.4.), VÚZORT Praha

85 let

Ing. Vilém Reinöhl, CSc., (28.4.), VÚMCH Brno

Ing. Antonín Mrskoš, CSc., (29.4.), VÚ Pediatrický Brno

Ing. František Daněček, (2.6.), SPŠ Bzenec

MVDr. Karel Doležal, (30.6.), Pedagogická škola
Karlovy Vary

80 let

Ing. Tomáš Míšek, DrSc., (1.4.), VÚCHZ-Chepos Praha

Ing. Jiří Lašek, CSc., (21.4.), ÚFPL AV ČR v.v.i. Praha

Prof. RNDr. Iška Hauzar, CSc., (2.5.), PedF UK Praha

Prof. Ing. Jan Pokorný, DrSc., (30.6.), VŠCHT Praha

75 let

Ing. Zvonimír Nový, (1.4.), G.T. MANDL a.s. Merklín
u K. Varů

RNDr. Ivan Král, (4.5.), VÚGPT Zlín

RNDr. Věra Vaňková, (1.6.), Kladno

70 let

Ing. Josef Fryčka, (21.4.), OSEVA PRO s.r.o., VÚ
olejnin Opava

RNDr. Květuše Poljaková, CSc., (3.5.), VZU NHKG
Ostrava

Ing. Hana Mouchová, CSc., (18.5.), VÚRV Praha

Doc. Ing. Ivan Fořt, DrSc., (28.5.), ČVUT Praha

RNDr. Jiří Jindra, CSc., (7.6.), ÚSD AV ČR v.v.i. Praha

Ing. Jiří Fusek, CSc., (24.6.), ÚANCH AV ČR v.v.i. Řež
u Prahy

65 let

Ing. Ivan Dobáš, CSc., (25.4.), Synpo Pardubice

Ing. Jaroslava Langpaulová, (26.4.), VÚ KOLI Praha

Prof. RNDr. Milan Kubiček, CSc., (4.5.), VŠCHT Praha
Prof. Ing. Jaromír Šňupárek, DrSc., (10.6.), Univerzita
Pardubice

Prof. Ing. Pavel Kalač, CSc., (24.6.), JČU České
Budějovice

Doc. Ing. Zbyněk Plzák, CSc., (25.6.), ÚANCH AV ČR
v.v.i. Řež u Prahy

Prof. RNDr. Jan Lasovský, CSc., (27.6.), PřF UP
Olomouc

60 let

RNDr. Karel Lichtenberg, (3.4.), Gymnázium České
Budějovice

RNDr. Kamil Štěpánek, CSc., (8.4.), Chemopetrol
Litvínov

Ing. Jan Grom, CSc., (18.4.), VÚSAPL Nitra, Slovensko

Ing. Zdeněk Mrázek, CSc., (21.4.), ÚMCH AV ČR v.v.i.
Praha

Ing. Renata Jedličková, (29.4.), OHS Karlovy Vary

Ing. Jan Šejba, CSc., (16.5.), Praha

Ing. Vladimír Steiner, (6.6.), STOCK a.s., Plzeň Božkov

Ing. Zdeněk Chvátal, CSc., (7.6.), Spolchemie Ústí nad
Labem

RNDr. Ivan Beneš, (21.6.), OHS Teplice

*Blahopřejeme***Zemřelí členové Společnosti**

Doc. Ing. Vratislav Rábl, CSc., VŠCHT Praha, zemřel
2. října 2007 ve věku 76 let.

Ing. Jaroslav Tesař, VÚTECHP Praha, zemřel 12. listo-
padu 2007 ve věku 86 let.

Prof. Ing. Jiří Gasparič, DrSc., FAF UK v Hradci Králo-
vé, zemřel 22. prosince 2007 ve věku 81 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 EU,
- přístup ke službám a slevám poskytovaným členskými organizacemi EuCheMS pro členy národních organizací,
- možnost přidruženého členství v IUPAC,
- možnost získání a doporučení členské přihlášky do významných zahraničních chemických společností (RSC, ACS, GDCh, GÖCh, SFC aj.),
- možnost získání příležitostných slev obchodních firem spolupracujících s ČSCH,
- možnost uplatnit informace z vlastní pracovní činnosti (výsledky, novinky, inzerce, tisková oznámení aj.),
- možnost zveřejnění vlastního oznámení v rubrice Bulletinu Chemických listů „Práci hledají“,
- vedle individuálního členství je možné kolektivní členství firem,
- a řadu dalších služeb.

Jak se stát členem ČSCH

Členská přihláška je k dispozici na internetových stránkách ČSCH nebo na sekretariátu ČSCH. Členství je přístupné pro všechny zájemce o chemii a přijetí nového člena doporučí dva členové ČSCH (doporučení je možné nahradit odborných životopisem), členství nabývá platnosti po schválení hlavním výborem ČSCH.

Výši členských příspěvků a možné slevy schvaluje na návrh předsednictva hlavní výbor ČSCH.



Česká společnost chemická · Univerzita Palackého
Statutární město Olomouc · SIGMA-ALDRICH – hlavní sponzor



SIGMA-ALDRICH

60. JUBILEJNÍ SJEZD ASOCIACÍ ČESKÝCH A SLOVENSKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

Olomouc 1. – 4. září 2008

Odborné sekce:

- Anorganická chemie (včetně bioanorganické); Garant: Tomáš Wágner; Sponzor sekce **MERCI**
- Organická chemie (včetně bioorganické a farmaceutické); Garant: Jan Hlaváč; Sponzor sekce **FARMAK**
- Analytická chemie (včetně bioanalytické); Garantka: Eva Tesařová; Sponzor sekce **SHIMADZU**
- Přírodní látky (fytoceutika, biologická aktivita, fytofarmaka); Garant: Vladimír Křen; Sponzor sekce **TEVA**
- Chemické vzdělávání, historie a popularizace chemie; Garant: Hana Čtrnáctová, Juraj Ševčík; Sponzor sekce **UNIVERZITA PALACKÉHO** ve spolupráci s projektem MedVěd
- Průmyslová chemie (ChemProgres); Garant: Jiří Hanika; Sponzor sekce **SPOLCHEMIE**
- Teoretická a fyzikální chemie; Garant: Jaroslav Koča; Sponzor sekce **THERMOFISCHER** (dříve SPECTRONEX)
- Potravinářská chemie (včetně funkčních potravin, nutraceutik a doplňků stravy); Garant: Vladimír Filip; Sponzor sekce **MERCK**

Program:

Pondělí 1. 9. 2008 (Moravské divadlo)

Slavnostní zahájení

J.-M. Lehn: *From Supramolecular Chemistry to Constitutional Dynamic Chemistry*
Večer na uvítanou

Úterý 2. 9. (Regionální centrum Olomouc)

Irena Valterová: *Biosyntéza hmyzích feromonů*

Eubor Fišera: *1,3-Dipolárne cykloadície chirálnych nitrónov a ich využitie v syntéze*

Přednášky v sekcích, minisymposia

Plakátová sdělení (Umělecké centrum Univerzity Palackého)

Výstava firem (Umělecké centrum Univerzity Palackého)

Setkání u moravských vín

Středa 3. 9. (Regionální centrum Olomouc)

Miloslav Frumar: *Rychlé reversibilní změny amorfní – krystalická fáze a nové materiály pro optické a elektrické paměti vysoké hustoty*

Karel Lemr: *Hmotnostní spektrometrie – od elektrického výboje k zobrazování tkání*

Přednášky v sekcích, minisymposia

Vyhlášení vítězů plakátových sdělení a společenský večer

Čtvrtek 4. 9.

Exkurze, výlety (www.ckpressburg.cz)

www.sjezd2008.upol.cz

EuCheMS General Assembly in Frankfurt

Frankfurt, the home of three EuCheMS member societies – Deutsche Bunsen-Gesellschaft für Physikalische Chemie, DECHEMA and Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) – was the venue of the 2007 General Assembly on 4 to 5 October. More than 30 member societies from 27 countries were present. The prominent international guests included Katie Hunt, President of the American Chemical Society, Friedrich Wagner, President of the European Physical Society, and Nicole Moreau, Vice President and President Elect of IUPAC.

After the welcome of the delegates by Dieter Jahn, President of GDCh, presentations by Katie Hunt on sustainable development and by Emmanuel Boudard from the Directorate General for Research on the European Research Area set the stage for the subsequent discussion in the plenum and break out discussion groups. Among the main results of the General Assembly was the unanimous election of Luis A. Oro from Spain as Vice President and President Elect for 2008 (see below). EuCheMS President Giovanni Natile stated that EuCheMS' initiatives to unite European chemists will not only have a European impact but will also further strengthen the member societies.

Further, the General Assembly admitted the Societat Catalana de Química as a new



Giovanni Natile (right) and Luis A. Oro.

member society and approved the EuCheMS budget for the year 2008. Other important items were the creation of a new division for Organic Chemistry, chaired by Jay Siegel, the promotion of the working party on Inorganic Chemistry into a division, chaired by Nikos Katsaros, the establishment of a new working party on Green and Sustainable Chemistry, chaired by Pietro Tundo and the decision to intensify the cooperation between EuCheMS and the European Physical Society.

The General Assembly established a EuCheMS Finance and Strategy Standing Committee to succeed the EuCheMS Steering Group and an EU Policy Network to support the work of the EuCheMS policy consultant.

Wolfram Koch, w.koch@gdch.de
Giovanni Natile, natile@farmchim.uniba.it

New Vice President and President Elect

At the General Assembly in Frankfurt Luis A. Oro from Spain was elected as Vice President and President Elect for 2008. He will become EuCheMS President in the triennium 2009 to 2011. Luis A. Oro is Head of the Instituto Universitario de Catálisis Homogénea in Zaragoza. He obtained his Ph. D. in 1970, was a post-doctoral fellow at Cambridge University, and since 1982 is a full professor of Inorganic Chemistry in Zaragoza.

His main research interests are in the area of coordination- and organometallic chemistry of platinum group metals. He has co-author-

ed well over 500 scientific papers, several reviews and book chapters, as well as four books. He is a member of the editorial board of several scientific journals and President of the partnership of the *European Journal of Inorganic Chemistry*, has received several distinctions and prizes and is a member of several international scientific Academies. He is a former president of the Spanish Royal Society of Chemistry and has also served in high level positions in the Spanish science administration, as well as Vice President of the European Science Foundation. *lo*

SCI cooperates with WWF

Under the auspices of the most popular Italian television scientific anchorman, Piero Angela, an important agreement was signed between the Italian Chemical Society (SCI) and the Italian branch of the World Wide Fund For Nature (WWF). To our knowledge this is the first time worldwide that a common base for cooperation has been found between an association for the protection of the natural environment and a chemical association. This agreement involves the largest (with ca. 300 000 members) and most popular environmental association in Italy and a scientific society which has the goal of representing all the researchers working in chemistry in Italy.

On the one hand it is expected that the barriers in the public mind that still divide chemistry from nature will begin to disappear. On the other hand the respect and protection of nature will take priority as a consideration in chemical studies, research and industrial production. These two points of view, in fact, are the main items of the WWF-SCI agreement which can be found on the SCI web site page www.soc.chim.it/files/adminsci/convenzioni/WWF-SCI_Agreement.doc.

Francesco De Angelis, deangelis@univaq.it



From left to right: G. Natile (President EuCheMS), G. Bologna (Scientific Director WWF Italia), D. Spinelli (past President SCI), S. Rondinini, P. Angela, F. Pratesi (President WWF Italia), M. Candotti (General Secretary WWF Italia), F. De Angelis (President SCI), G. Cevasco and G. Bonorra (Vice President SCI).



Nobel Prize to Gerhard Ertl

photo: Max-Planck-Gesellschaft



EuCheMS congratulates Berlin-based Gerhard Ertl on the 2007 Nobel Prize in chemistry with which his outstanding contributions on the understanding of catalytic reactions on surfaces are being recognised.

2011 will be International Year of Chemistry

Chemistry organisations worldwide are invited to join with the International Union of Pure and Applied Chemistry in celebrating 2011 – the International Year of Chemistry. By fortunate coincidence, 2011 is also the centennial year of Marie Skłodowska Curie's 1911 Nobel Prize in Chemistry, recognising her discoveries of radium and polonium. The International Year of Chemistry will enhance the general understanding and appreciation of chemistry by promoting a dialog between chemical scientists and the lay public on the many benefits that chemistry provides. www.IUPAC.org jm

New DAC governance

After nine years Heiner Korte, Germany, resigned as Secretary for the Division of Analytical Chemistry (DAC). His successor, Jens E. T. Andersen, Denmark, was appointed at the DAC 2007 Annual Meeting in Antwerp for the period 2008 to 2010. Due to the contributions of Heiner Korte and his two chairmen DAC has gained wide respect and appreciation in the European analytical chemistry community and amongst EuCheMS colleagues. The DAC Steering Committee was also appointed at the Annual Meeting: Wolfgang Buchberger (Austria), George Horvai (Hungary), Paul Worsfold (UK), Jens E. T. Andersen (Denmark, Secretary) and Bo Karlberg (Sweden, re-elected DAC Chairman for the period 2008 to 2010). hk

The resigning DAC Secretary, Heiner Korte (left), delivering the DAC archives to Jens E. T. Andersen (middle). On the right: Bo Karlberg (DAC Chair).



44th IUPAC Council

There were 440 participants at the biennial IUPAC General Assembly in Torino, Italy on 4 to 12 August 2007. The IUPAC Council meeting on 11 to 12 August had 111 delegates from 43 out of 49 National Adhering Organisations. A major event at the General Assembly was the World Chemistry Leadership Meeting (WCLM), which focused on the health and environmental safety of chemical products, emerging issues of societal concern and the resulting regulatory trends. A set of four innovative Round Table discussions also generated valuable initiatives for the future.

For 2008 to 2009 the IUPAC Council elected Jung-Il Jin as President, Nicole Moreau as Vice President, and John Corish as Treasurer, while David Black was elected to a second four-year term as Secretary General. Bryan Henry will become Past President.

The Council endorsed the plan to obtain United Nations approval of 2011 as an International Year of Chemistry (see left).

IUPAC added three new National Adhering Organisations at Torino, bringing Cuba, Ethiopia and Uruguay into the Union. The application of the Federación Latinoamericana de Asociaciones Químicas for Associated Organisation status was also approved.

The Council approved a proposal from the Colegio de Químicos de Puerto Rico to host the 2011 IUPAC Congress and General Assembly. The 2009 Congress and General Assembly will be held in Glasgow, Scotland.

John W. Jost, secretariat@iupac.org

www.iupac.org/symposia/conferences/ga07/wclm07.html

Romanian tribute to chemical science

On 19 to 22 September, the 15th Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (RICCCE) took place in Sinaia, Romania, organised by the University Politehica of Bucharest (Faculty of Applied Chemistry and Material Science) under the patronage of the Romanian Chemical Society (RChS). This well established traditional conference attracts a considerable number of native and foreign scientists from all chemical fields.

The conference also hosted an extraordinary meeting of the RChS. President Sorin Rosca presented the resolution of RChS's Board aiming to enhance the general public's understanding of chemistry and declared 2008 as the year for "Promoting chemistry in Romania".

Besides these activities RChS awarded prizes to promising young students and distinguished personalities from Romania and abroad. Among the awarded people were the first prize winners at the Romanian National Olympiad, researchers, teachers and



New Honorary Member Giovanni Natile (middle) with representatives and guests of the conference.

university professors. Also honoured were several institutions (ranging from scientific journals to chemistry departments) that were particularly successful in promoting chemistry. On the same occasion Giovanni Natile, EuCheMS President and lecturer at the Conference, was awarded the Honorary Membership of RChS.

Cristina Todasca, bmcris@yahoo.com

European Technology Platform Food for Life

The European Technology Platform (ETP) Food for Life has just published its Strategic Research Agenda, which represents the priorities for research, communication, training and knowledge transfer in the agro-food sector. The Agenda serves as a basis for improving the competitiveness of the largest manufacturing sector in Europe (with a turnover of 835 billion Euro in 2005) and for ensuring that European citizens are supplied with healthy, safe, affordable and sustainably-produced food.

Three main drivers for the food and drink industry have been identified:

- improving health, well-being and longevity,
- building consumer trust in the food chain and
- responding to consumer demands for sustainable and ethical production.

The next stage of the ETP's development will be agreement on the Implementation



photo: 5 am Tag

Plan, which will describe how the public-private ETP partnership will be managed and funded. As part of the consultation process on the Strategic Research Agenda, National Food Platforms have now been established in 28 European Countries including Russia, Ukraine and Israel.

Roger Fenwick
roger.fenwick@BBSRC.AC.UK

http://etp.ciaa.eu/asp/nat_food_platforms/nat_foodplatforms.asp.

Strategic Research Agenda: http://etp.ciaa.eu/documents/CIAA-ETP%20broch_LR.pdf

EuCheMS Award for Service to Peter Kündig

Peter Kündig, University of Geneva, received the EuCheMS Award for Service from Giovanni Natile, EuCheMS President, during the Opening Ceremony of the Gesellschaft Deutscher Chemiker Forum in Ulm on 17 September 2007 in recognition of his significant contribution to European cooperation with particular reference to his exceptional contribution to the success of the 1st EuCheMS Chemistry Congress. *eme*

Robert Kellner Lecture 2007 to Alfredo Sanz-Medel

Alfredo Sanz-Medel of Oviedo University, Spain, was awarded the 2007 Robert Kellner Lecture, established by the EuCheMS Division of Analytical Chemistry (DAC) and named after its former Chairman.

Alfredo Sanz-Medel is an internationally reputed expert in mass-spectrometric analysis, his most exciting specialty being the combination of molecular and atomic approaches. The

Lecture was given at Euroanalysis XIV in Antwerp, Belgium, in September, a scientific event that attracted almost 700 participants.

The Robert Kellner Lecture is sponsored by Springer-Verlag and is delivered as a prominent plenary lecture at the DAC biennial conference series Euroanalysis. The awardee is selected by a jury of five eminent European analytical chemists. *hk*

Heinrich Emanuel Merck Award to analytical chemists

Two analytical chemists were awarded the Heinrich Emanuel Merck Award at the 14th Euroanalysis Congress in Antwerp, Belgium. Alexander A. Makarov of Thermo Fischer Scientific (Bremen, Germany) received the award for the invention of the electrostatic-ion trap, the Orbitrap, which greatly enhances the detection of ions in mass spectrometry. Shuming Nie of the Emory University School of Medicine (Atlanta, Georgia/USA) has introduced quantum dots as an analytical tool for diagnosis in medicine. He received the award for demonstrating the advantages of diagnosis by imaging. *hk*

Ethical principles for the chemical sciences

The Central Council of the Italian Chemical Society (SCI) has recently formulated and approved the "Charter of ethical principles for the chemical sciences".

The development of chemistry during the last century is the basis for the well-being of contemporary mankind. On the other hand the improper use of chemical sciences and technologies could be tremendously harmful for the environment, even for human life itself. Not only chemists must be aware of the special power in their hands, the public must be educated to recognise this also.

The main issues contained in the SCI charter of principles refer to the "safeguard of the ecosystem from permanent pollution and environmental degradation, and depletion of renewable resources". Special attention is focused onto research and production of new substances, their synthetic intermediates as well as chemical and biological fate at the end of their use. Of paramount importance is "the principle of prohibiting and eliminating chemical weapons, and vigilating that they are not produced or used in any country".

Following its preamble, the charter tries first to define ethical principles for the experimental sciences and chemistry. After stating some universal propositions the charter enlarges on the themes of education and information, evaluation of the areas of risk of improper use and then focuses onto the proper use of chemistry.

Finally, a declaration of principles and the "solemn promise of the chemist in receiving his degree to apply the ethical objectives of the chemical sciences" concludes the document.

SCI is now inviting academia to propose and read the "solemn promise" paragraph of the charter on the occasion of the degree ceremonies at universities.

Francesco De Angelis, deangelis@univaq.it

www.soc.chim.it/fles/doc/principi_etici_eu



The evolving identity of chemistry

More than 110 participants from over 26 nations attended the 6th International Conference on the History of Chemistry organised by the EuCheMS-Working Party on History of Chemistry. It took place at the University of Leuven, Belgium (28 August to 1 September). Europe was of course well represented but what is more striking is the growing presence of overseas visitors from Israel, Canada, United States, Mexico, Brazil and even Taiwan and Japan.

A major aim of these conferences is to facilitate communication between historically interested chemists and historians of chemistry from all over Europe. The 2007 theme "Neighbours and territories: the evolving identity of chemistry" focused on the disciplinary identity of chemistry and the changing relationships with other fields. The Programme Committee was chaired by José R. Bertomeu-Sanchez (University of Valencia) and the Belgo-Dutch Local Committee by Brigitte Van Tiggelen (University of Louvain and Mémoscience). Fifty nine oral presentations were given in 18 sessions; posters were available to view throughout the conference.

Session topics ranged from themes like alchemy and early modern chemistry, identity and boundaries in the XVII, XVIII, XIX and XX centuries up to teaching and knowledge in transit.

This conference lived well up to expectations in content, ambience, mix of participant's backgrounds, warmth of welcome and in the ensuing social programme and interactions. As usual, the conference outing centred on private visits to museums of interest, this time in Ghent.

*Ernst Homburg, Duncan Thorburn Burns,
Brigitte Van Tiggelen
E.Homburg@HISTORY.unimaas.nl.de*

Events 2008

20 – 21 March, Madrid, Spain

EYCN Meeting, bmcrist@yahoo.com

15 – 17 May, Cavtat, Croatia

4th CEFood 6th PBN (4th Central European Congress on Food (CEFood), 6th Croatian Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists (PBN), originally scheduled for 9 – 11 April 2008), www.pbn.hr/CEFood2008/

6 – 9 July, Istanbul, Turkey

9th European Conference on Research in Chemical Education, www.ecrice2008.org/

24 – 28 August, Garmisch-Partenkirchen, Germany

4th EuCheMS Conference on Nitrogen Ligands
www.nligands.uni-dortmund.de

24 – 29 August, Copenhagen, Denmark

EuCheMS Conference on Molten Salts and Ionic Liquids, www.euchem2008.dk

16 – 20 September, Torino, Italy

2nd EuCheMS Chemistry Congress
www.euchems-torino2008.it

21 – 26 September, Uppsala, Sweden

17th EuroQSAR 2008, www.qsar2008.org

C6 Meeting in Paris

The presidents, executive directors and other senior representatives of the chemical societies from France (SFC), Germany (GDCh), Japan (CSJ), the Netherlands (KNCV), the United Kingdom (RSC), and the United States (ACS) met in Paris on 13 to 15 July, just prior to the SFC Congress celebrating the 150th anniversary of the French Chemical Society. This informal, so-called C6 group comes together about every two years to exchange experiences and to discuss points of mutual interest.

Highlight of the Paris meeting was the signing of a joint statement on the promotion of global sustainable development and the important role the chemical sciences play in this regard. In the meantime this statement has been signed by other chemistry organisations, such as the chemical so-



cieties from Mexico and Canada. At its meeting in October 2007 in Frankfurt the EuCheMS General Assembly also decided to sign the declaration on behalf of the more than 150 000 members of the EuCheMS member societies. The declaration can be accessed at www.euchems.org/News/index.asp. wk

EuCheMS Newsletter

Newsletter coordinator: Karin Schmitz

Please send all correspondence and manuscripts to k.schmitz@gdch.de

Editor: Uta Neubauer, Frankfurt am Main

Advisory board: Reto Battaglia (Switzerland), Claudine Buess Herman (Belgium), Pavel Drasar (Czech Republic), Roger Fenwick (UK), Philippe Garrigues (France), Wolfram Koch (Germany), Minos Leontidis (Cyprus), Evelyn McEwan (EuCheMS Secretariat) and Giovanni Natile (Italy).

Layout: Jürgen Bugler, Frankfurt am Main

Production: *Nachrichten aus der Chemie*

Publisher: Gesellschaft Deutscher

Chemiker on behalf of EuCheMS
Postfach 900440, D-60444 Frankfurt am Main
euchems@gdch.de

EuCheMS General Secretary:

Evelyn McEwan, c/o RSC, Burlington House, Piccadilly, London W1J 0BA, UK
secretariat@euchems.org
www.euchems.org

EuCheMS is registered as "Association internationale sans but lucratif" (AISBL, international non-profit association)

AISBL-Registered office: Avenue E. Van Nieuwenhuysse 4, B-1160 Brussels



OBSAH**ÚVODNÍK** 1**REFERÁTY****Atorvastatin – nejprodávanější lék na světě** 3
M. Hájková, B. Kratochvíl a S. Rádl**Potenciálně onkomarkery proteomických, metabolomických a metabolonomických metod** 15
P. Kravčuková, M. Mareková a A. Ostró**Termoresponzivní polymery – od laboratorní kuriozity k perspektivním materiálům pro lékařské aplikace** 21
M. Hrubý, J. Kučka, H. Macková, O. Lebeda a K. Ulbrich**Metody studia vzájemných interakcí proteinů** 28
M. Wildová a M. Rumlová**Nano- a mikrotubuly pro léčiva** 35
K. Krejčová a M. Rabišková**DDAVP – 40 let prvního superaktivního vazopresinu. Objev a současný praktický význam** 40
M. Zaoral**LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY****Využití brdičkovy reakce pro stanovení metalothioneinu u pacientů se zhoubnými nádory** 51
V. Adam, O. Blašík, S. Křížková, P. Lubal, J. Kukačka, R. Průša a R. Kizek**NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE** 59**RECENZE** 60

CONTENTS**EDITORIAL** 1**REVIEW ARTICLES****Atorvastatin – the World's Best Selling Drug** 3
M. Hájková, B. Kratochvíl, and S. Rádl**Potential Oncomarkers of Proteomic, Metabolomic and Metabolonomic Methods** 15
P. Kravčuková, M. Mareková, and A. Ostró**Thermoresponsive Polymers – from Laboratory Curiosity to Advanced Materials for Medicinal Applications** 21
M. Hrubý, J. Kučka, H. Macková, O. Lebeda, and K. Ulbrich**Methods of Study Protein-Protein Interactions** 28
M. Wildová and M. Rumlová**Nano- and Microtubes for Drugs** 35
K. Krejčová and M. Rabišková**DDAVP – 40 Years of the First Superactive Vasopressin. Discovery and Contemporary Importance** 40
M. Zaoral**LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS****Application of the Brdicka Reaction in Determination of Metallothionein in Patients with Tumours** 51
V. Adam, O. Blašík, S. Křížková, P. Lubal, J. Kukačka, R. Průša, and R. Kizek**NOMENCLATURE AND TERMINOLOGY** 59**BOOK REVIEWS** 60

BULLETIN ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

O vysokých školách a vědě. (Svět a provincie) 69
R. Zahradník

Pan Hell by se divil – historie výroby léčivých
přípravků v Opavě 72
Miloš Štěrba

Ze života chemických společností 74
Odborná setkání 76
Evropský koutek 78
Noví členové ČSCH 81
Akce v ČR a v zahraničí 82
Chemik na cestách 82
Aprílový klub 86
Zprávy 86
Střípky a klípky o světových chemících 87
Osobní zprávy 89
Výročí a jubilea 92

BULLETIN OF THE CZECH CHEMICAL SOCIETIES

On universities and science 69
(world and backwoods)
R. Zahradník

Mr Hell would be surprised. History 72
of manufacture of pharmaceuticals in Opava
Miloš Štěrba

From the Chemical Societies 74
Meetings and Conferences 76
European Column 78
New Members 81
Meetings Calendar 82
Chemist on a Business Trip 82
Club of Jokes 86
News 86
Biographical Sketches of World Chemists 87
Personal News 89
Anniversaries and Jubilees 92

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 102 (2008), čís./no. 1 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 132, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 118 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT Praha, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUcí REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTOŘI/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámstný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), V. Větvička (USA), L. Opletal (Hradec Králové), P. Tarkowski (Olomouc), Z. Kolská (Ústí nad Labem) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžička, I. Štibor, 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 PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel/fax +420 222 220 184, e-mail: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: České Tiskárny, s.r.o., Generála Svobody 335, 533 51 Pardubice - Rosice nad Labem; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2008 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 153 Kč, roční plné předplatné 2008 (12 čísel) 1570 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 785 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 83 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 63 EUR (doručování via SCHS), 234 EUR (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2008 (12 issues) 225 EUR • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete v čísle 1/2002 a na internetu, zkratky časopisů v čísle 10/97 na str. 911 • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Molekulární námět na obálce: M. Pojarová • Dáno do tisku 11.1.2008.