

FOLIA

PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA

Vedecký časopis
UNIVERZITY VETERINÁRSKEHO LEKÁRSTVA
A FARMÁCIE V KOŠICIACH

ISSN 2585-9609



1
II • 2020



FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA je vedecký časopis vydávaný Univerzitou veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. Časopis je vydávaný štvrtročne s príspevkami v slovenskom, českom alebo anglickom jazyku s abstraktom v angličtine.

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA is a scientific journal issued by the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, the Slovak Republic. The journal is published quarterly with articles in English, or Slovak or Czech with English abstracts.

Šéfredaktorka/Editor-in-Chief:

Výkonná redaktorka/Deputy/Managing Editor:

Redakčná rada/Editorial Board:

Jana Mojžišová

Zita Faixová

Abu-Darwish, M. S. (Shoubak, Jordan), Boknik, P. (Münster, Germany), Castejon, A. M. (Fort Lauderdale, Florida, USA), Csöllei, J. (Brno, Czech Republic), Deelman, L. E. (Groningen, Netherlands), Devinyak, O. (Uzhhorod, Ukraine, El Naggat, El M. B. A. (Damanhour, Egypt), Getova, D. (Plovdiv, Bulgaria), Kyselovič, J. (Bratislava, Slovak Republic), Leddy, J. J. (Ottawa, Canada), Mojžiš, J. (Košice, Slovak Republic), Mučaji, P. (Bratislava, Slovak Republic), Opatřilová, R. (Brno, Czech Republic), Pirník, Z. (Košice, Slovak Republic), Pistl, J. (Košice, Slovak Republic), Şekeroğlu, N., (Turkey, Kilis), Šimůnek, T. (Hradec Králové, Czech Republic), Zitterl, K. (Vienna, Austria)

Vydavateľ/Publisher:

© Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2019

Adresa redakcie/Editor Address:

Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, e-mail: folia.pharma@uvlf.sk

Technická redaktorka/Technical Editor:

Holečková, Z., tel.: +421 917 729 873, e-mail: zuzana.holeckova@uvlf.sk

Grafická úprava/graphic design:

Báštiová, I.

ISSN: 2585-9609

EVČ: EV 5741/18

IČO: 00 397 474

On-line verzia časopisu sa nachádza na web sídle Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach:
<http://www.uvlf.sk/univerzitne-casopisy/folia-pharmaceutica-cassoviensia-vytlacky>.

Február 2020

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA

VYDÁVA
UNIVERZITA VETERINÁRSKEHO LEKÁRSTVA A FARMÁCIE V KOŠICIACH
SLOVAKIA



FOLIA
PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA
II., 1, 2020

PUBLISHED BY
THE UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE AND PHARMACY IN KOŠICE
2020



EDITORIÁL

Milí čitatelia,

v roku 2019 začal pravidelne vychádzať univerzitný vedecký časopis *Folia Pharmaceutica Cassoviensia* pri príležitosti sedemdesiateho výročia založenia Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. Vydané boli štyri čísla, ktoré sa stretli s pozitívnou odozvou od Vás, našich čitateľov. Vstup do nového roka sa spája s novými víziami, výzvami a predsavzatiami. Tradícia predsavzatí je známa už od čias Rímskej ríše, kedy bola spojená s uctievaním boha Janusa. Janus bol boh dvoch tvárí: nových začiatkov a starých koncov. Od mena Janus je odvodený aj prvý mesiac v roku Januarius, teda január.

Mojím prianím do roka 2020 je pravidelné vydávanie časopisu *Folia Pharmaceutica Cassoviensia* so stále zvyšujúcou sa kvalitou obsahu. Želám si, aby náš univerzitný vedecký časopis naďalej aktívne prispieval k rozvoju odboru farmácie prostredníctvom moderných odborných príspevkov z oblasti všetkých farmaceutických a biomedicínskych disciplín.

V prvom tohtoročnom čísle sa môžete oboznámiť s aktuálnymi možnosťami implementácie najnovších terapeutických trendov do farmaceutického vzdelávania. V ďalšom článku je uvedený prehľad dejinného vývoja vzdelávania lekárnikov vo vzťahu k teritóriu súčasného Slovenska. Autori sledovali aj efektívnosť podávania prípravkov s obsahom železa v období gravidity. V nasledujúcich štúdiách je opísaná farmakoterapia Parkinsonovej choroby a alternatívne podávanie antipsychotík. Ďalšie príspevky sa zaoberajú látkami naturálneho pôvodu: salicínom a jeho prírodnými zdrojmi, polyfenolovými látkami v rastlinnej strave a vo forme výživových doplnkov a antioxidačnou kapacitou extraktov *Capsella bursa-pastoris*, *Brassica nigra*, *Prunus avium* (L.) a *Cerasus vulgaris* (Mill.). V poslednom článku prvého tohtoročného čísla je porovnaná toxicita ciprofloxacínu pomocou biotestu na *Artemisia fransciscana* s toxicitou zistenou na *Daphnia magna* udávanou výrobcom.

Prajem Vám úspešný rok 2020,

prof. MVDr. Zita Faixová, PhD.
výkonná redaktorka



EDITORIAL

Dear readers,

in 2019 we launched a new university scientific journal *Folia Pharmaceutica Cassoviensia* on the occasion of the 70th anniversary of the establishment of the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice. Four issues, which have already been released, met a positive feedback from you, our readers. The entry into the new year means new visions, challenges and resolutions. The tradition to make resolutions dates back to The Roman Empire, when it was associated with the worship of god Janus. Janus was the god of two faces: new beginnings and old ends. The first month of the year, January, is derived from the name of Janus.

My 2020 new year wish is to publish *Folia Pharmaceutica Cassoviensia* on the regular basis, with still increasing quality of the content. I wish our university scientific journal could actively contribute to the development of the field of pharmacy through the publishing of modern professional articles from all pharmaceutical or biomedical disciplines.

In the first issue of this year you can learn about the current options of implementation of the newest therapeutic trends in the pharmaceutical education. The following article offers an overview of the historical development of education of pharmacists in relation to the territory of the contemporary Slovakia. Further, the authors also monitored the efficacy of iron supplementation during pregnancy. Another two studies describe a pharmacotherapy of Parkinson's disease and alternative routes of administration of antipsychotics. The following articles focus on substances of the natural origin: salicin and its natural sources, polyphenol substances in the plant-based foods or in the form of dietary supplements, and an antioxidant capacity of *Capsella bursa-pastoris*, *Brassica nigra*, *Prunus avium* (L.) and *Cerasus vulgaris* (Mill.) extracts. In the last article of the first issue this year, the authors compare the toxicity of ciprofloxacin by the means of biotest on *Artemia franciscana* with the toxicity on *Daphnia magna* declared by the ciprofloxacin producer.

I wish you a successful year 2020,

Prof. Zita FAIXOVÁ, DVM, PhD.
Managing Editor

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA, II., 1, 2020

O B S A H

Faixová, D., Mudroňová, D., Faixová, Z., Kyselovič J.: MOŽNOSTI IMPLEMENTÁCIE NAJNOVŠÍCH TERAPEUTICKÝCH TRENDOV DO FARMACEUTICKÉHO VZDELÁVANIA OPTIONS OF IMPLEMENTATION OF NEWEST THERAPEUTIC TRENDS IN PHARMACEUTICAL EDUCATION.....	7
Bartunek, A.: PREHLAD DEJINNÉHO VÝVOJA VZDELÁVANIA LEKÁRNIKOV VO VZŤAHU K TERITÓRIU SÚČASNÉHO SLOVENSKA OVERVIEW OF HISTORICAL DEVELOPMENT OF EDUCATION OF PHARMACISTS IN RELATION TO THE TERRITORY OF CONTEMPORARY SLOVAKIA.....	13
Bachňáková, V., Váczi, P., Valko-Rokytovská, M.: EFEKTÍVNOSŤ PODÁVANIA PRÍPRAVKOV S OBSAHOM ŽELEZA V OBDOBÍ GRAVIDITY EFFICACY OF IRON SUPPLEMENTATION DURING PREGNANCY.....	20
Kolesárová M., Čukýlová, J.: ANALÝZA FARMAKOTERAPIE PARKINSONOVEJ CHOROBY ANALYSIS OF THE PHARMACOTHERAPY OF PARKINSON'S DISEASE.....	26
Kozáková, D., Wolaschka, T.: ALTERNATÍVNE CESTY PODANIA ANTIPSYCHOTÍK ALTERNATIVE ROUTES OF ADMINISTRATION OF ANTIPSYCHOTICS.....	41
Kurhajec, S., Eftimová, J.: SALICÍN A JEHO PRÍRODNÉ ZDROJE SALICIN AND ITS NATURAL SOURCES.....	56
Süli, J., Sobeková, A., Bujdošová, Z.: POLYFENOLOVÉ LÁTKY V RASTLINNEJ STRAVE A VO FORME VÝŽIVOVÝCH DOPLNKOV POLYPHENOL SUBSTANCES IN THE PLANT-BASED FOODS AND IN THE FORM OF DIETARY SUPPLEMENTS.....	62
Salayová, A., Palkovičová, V.: ANTIOXIDAČNÁ AKTIVITA A CELKOVÝ OBSAH FENOLICKÝCH LÁTOK V EXTRAKTOCH <i>CAPSELLA BURSA-PASTORIS</i> A <i>BRASSICA NIGRA</i> ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TOTAL PHENOLIC CONTENT IN EXTRACTS OF <i>CAPSELLA BURSA-PASTORIS</i> AND <i>BRASSICA NIGRA</i>	70
Kukučková, S., Eftimová, J.: ANTIOXIDAČNÉ VLASTNOSTI PLODOV A STOPIEK <i>PRUNUS AVIUM</i> (L.) A <i>CERASUS VULGARIS</i> (MILL.), VÝZNAM PRE PREVENCIU ZDRAVIA ANTIOXIDANT PROPERTIES OF FRUITS AND STEMS OF <i>PRUNUS AVIUM</i> (L.) AND <i>CERASUS VULGARIS</i> (MILL.), IMPORTANCE FOR HEALTH PREVENTION	77
Fabian, F., Špalková, M.: POROVNANIE TOXICITY CIPROFLOXACÍNU POMOCOU BIOTESTU NA <i>ARTEMIA</i> <i>FRANCISCANA</i> S TOXICITOU ZISTENOU NA <i>DAPHNIA MAGNA</i> UDÁVANOU VÝROBCOM COMPARISON OF CIPROFLOXACIN TOXICITY BY MEANS OF BIOTEST ON <i>ARTEMIA</i> <i>FRANCISCANA</i> WITH THE TOXICITY ON <i>DAPHNIA MAGNA</i> DECLARED BY CIPROFLOXACIN PRODUCER.....	88
Pokyny pre autorov.....	96



MOŽNOSTI IMPLEMENTÁCIE NAJNOVŠÍCH TERAPEUTICKÝCH TRENDOV DO FARMACEUTICKÉHO VZDELÁVANIA

OPTIONS OF IMPLEMENTATION OF NEWEST THERAPEUTIC TRENDS IN PHARMACEUTICAL EDUCATION

Faixová, D.¹, Mudroňová, D.¹, Faixová, Z.², Kyselovič, J.^{3,4}

¹ Ústav imunológie, Katedra mikrobiológie a imunológie

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 081 41 Košice

² Ústav patologickej fyziológie, Katedra patologickej anatómie a patologickej fyziológie

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 081 41 Košice

³ Jednotka klinického výskumu V. Internej kliniky

Lekárska fakulta Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice, Ilkovičova 8, 841 04 Bratislava

⁴ Ústav humánnej a klinickej farmakológie

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 081 41 Košice

Slovenská republika

dominika.faixova@student.uvlf.sk

ABSTRAKT

Inovatívne lieky sú súčasťou moderného vývoja terapie chorôb a vďaka medicínskym inováciám sa predlžuje nielen doba prežitia, ale zlepšuje sa aj kvalita života pacientov. Farmaceutický priemysel si vyžaduje permanentný výskum, na základe ktorého sa môžu vyvíjať vždy nové a moderné liečivá implementované do praxe, čo vedie k sústavnému boju s chorobami, ktorý už oddávna prináša ľuďom prospech a nádej na lepší život. Neodmysliteľnou súčasťou inovatívneho farmaceutického odvetvia je príprava vysoko-kvalifikovaných farmaceutických expertov už počas ich vysokoškolského štúdia. V článku

uvádzame vzťah farmaceuta k inovatívnym liekom ako aj návrhy na modifikáciu osnov farmaceutického štúdia a ich dopad na výsledky liečby pacientov.

Kľúčové slová: farmakoterapia; inovatívne lieky; vývoj liekov; vzdelávanie

ABSTRACT

Innovative medicines are the part of modern development of disease control and through medicinal innovations not only survival time of patients extends but also the quality of patient's life improves. Innovative pharmaceutical industry

provides permanent research and development of new drugs and their implementation into the practice leading to constant fight against diseases. Inseparable part of innovative pharmaceutical sector is training of high-quality pharmaceutical experts already during their university studies. In this article we mention the relationship between pharmacists and innovative drugs, modifications of pharmaceutical study plans and their effects on patient's therapy results.

Key words: drug development; education; innovative medicines/drugs; pharmacotherapy

ÚVOD

Farmaceut - jediný odborník, ktorý v spoločnosti vie o lieku všetko

Študijný odbor farmácia poskytuje znalosti týkajúce sa vývoja, prípravy, výroby, použitia liečiv a liekov, zdravotníckych a diagnostických pomôcok a ďalších farmaceutických produktov a súvisiacich kvalifikovaných činností. Tento študijný odbor na území Slovenskej republiky nie je možné študovať samostatne v študijných programoch prvého a druhého stupňa – absolvent spojeného prvého a druhého stupňa má možnosť vykonať rigoróznú skúšku, obhájiť rigoróznú prácu a získať titul PharmDr. V Slovenskej republike je možné študovať študijný odbor farmácia na dvoch univerzitách: v Bratislave na Farmaceutickej fakulte Univerzity Komenského (FaF UK) a v Košiciach na Univerzite veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach (UVLF). Každoročný predpokladaný počet prijatých uchádzačov na FaF UK je 250 a na UVLF 90 študentov (www.portalvs.sk, 2019).

Absolvent magisterského štúdia má vysoký stupeň znalostí a praktických zručností vo farmaceutických, medicínskych, biologických a chemických vedách vo vzťahu k liečivám a liekom. Má rozsiahle vedomosti o pôvode, účinkoch, nežiaducich účinkoch a použití liečiv, o mechanizme ich pôsobenia a o ich osude v organizme,

o problematike liekových foriem a lekárstva, o otázkach zdravotných, sociálnych a chemických aspektov používania liečiv a liekov. Vie spracovať najnovšie vedecké poznatky o liečivách a liekoch. Na základe týchto poznatkov je schopný poskytnúť kvalifikované informácie smerom k pacientovi a verejnosti, ale aj smerom k ostatným zdravotníckym pracovníkom (zákon č.131/2002 Z. z. o vysokých školách).

Inovatívne lieky

Inovatívne lieky neustále posúvajú hranice možnosti terapie chorôb. Vďaka pokrokom a vedeckým objavom sa rozširujú možnosti ovplyvnenia priebehu niektorých závažných chorôb, resp. ich vyliečenia. Bez inovatívneho farmaceutického odvetvia by sa výskum a vývoj spomalil, neimplementovali by sa nové lieky do praxe a zastavil by sa aj celý proces boja s chorobami, ktorý už oddávna prináša ľuďom prospech a nádej na lepší a kvalitnejší život. Preto je nevyhnutnou súčasťou stratégie ďalšieho progresu v oblasti inovatívnych liekov príprava vysokokvalifikovaných farmaceutických expertov.

Na Slovensku sa problematikou implementácie inovatívnych liekov do zdravotného systému zaoberá Asociácia inovatívneho farmaceutického priemyslu (AIFP), ktorá vznikla v novembri 2013 ako nástupnícka asociácia po zániku Slovenskej asociácie farmaceutických spoločností orientovaných na výskum a vývoj (SAFS) (www.aifp.sk, 2019).

MATERIÁL A METODIKA

V štúdiu sme sa zaoberali štúdiom odborných prameňov týkajúcich sa problematiky inovatívnych liekov a ich implementácie do farmaceutickej praxe. Téma inovatívnych liekov je veľmi aktuálna, nakoľko farmaceutické odvetvie je špecifické svojou dynamickosťou a schopnosťou adaptácie sa na aktuálne požiadavky medicíny a spoločnosti.

Hodnota medicínskych inovácií

Vďaka vývoju v oblasti inovatívnej liečby sa v najbližších rokoch môže zlepšiť život mnohých pacientov. Vyvíja sa viac ako 7000 nových liekov, z toho 1813 liekov na liečbu rakoviny, 1329 liekov na liečbu neurologických chorôb, 1256 liekov na in-fekčné choroby, 1120 liekov na terapiu imunologických ochorení, 599 liekov na srdcovocievne choroby a 511 liekov na psychické ochorenia (Health Advances Analysis, Adis R&D Database, 2015).

Z údajov Národného inštitútu zaoberajúceho sa rakovinou (National Cancer Institute) vyplýva, že doba prežitia pacientov chorých na mnohopočetný myelóm rástla v rokoch 1990 až 2011 vďaka inovatívnym liekom štyrikrát rýchlejšie ako pri ostatných druhoch rakoviny. Medzi ostatné druhy rakoviny boli zaradené rakovina ústnej dutiny a hltana, pažeráka, žalúdka, hrubého čreva a konečníka, pečene a žlčovodu, pankreasu, hrtana, pľúc a priedušiek, melanóm kože, prsníka, krčka maternice, vaječníkov, prostaty, semenníkov, močového mechúra, obličiek, nervového systému, štítnej žľazy, Hodgkinov lymfóm, non-Hodgkinov lymfóm a leukémia (National Cancer Institute, Surveillance Epidemiology and End Results, 2017).

Medzi očakávané prínosy inovatívnych liekov patria napríklad racionálny dizajn molekuly liečiva, génová terapia a kontrolné systémy pre liečivá, terapia orientovaná na pacienta a lieky šité na mieru. Pri ich výrobe sa využívajú najnovšie poznatky z biotechnológie, bioinformatiky, genomiky a proteomiky, ktoré predstavujú revolučné zmeny v zdravotníctve.

Problémy inovatívnych liekov

Otázkou inovatívnych liekov sa zaoberala aj tlačová správa Ministerstva zdravotníctva SR, ktorá uvádza, že od roku 2018 budú mať postupne aj slovenskí pacienti prístup k najmodernejším inovatívnym liekom bez toho, aby boli odkázaní na výnimky od zdravotných poisťovní. Dovtedy sa mohli pacienti dostať k moderným inovatívnym

liekom požiadanim zdravotnej poisťovne o takzvanú výnimku a potom čakali na rozhodnutie poisťovne, ktorá nebola povinná hradiť nekategorizované lieky (tlačová správa MZ SR, 30. 11. 2017).

V roku 2018 Všeobecná zdravotná poisťovňa (VšZP) schvaľovala približne 300 liekov na výnimky, ktorých rozpočet predstavoval cca 30 mil. €, z čoho najnákladnejší výnimkový liek (cca 2 milióny €) bol Soliris (monoklonálna protilátka eculizumab). Najdrahší pacient (0,73 milióna €) užíval liek Naglazyme, ktorý je indikovaný u pacientov s potvrdenou mukopolysacharidózou VI. typu. V roku 2019 sa nepredpokladal finančný nárast výnimkových liekov vzhľadom na vstup niektorých výnimkových liekov do systému (Duodopa, Keytruck, Adcetris) (PharmDr. Daniel Ferianc, Odbor liekovej politiky).

Zo štatistiky nákladov na lieky v roku 2018 vyplýva, že až 60 % nákladov na lieky odčerpá 5 % najnákladnejších pacientov a 80 % nákladov na lieky odčerpá 14 % najnákladnejších pacientov. Vo Všeobecnej zdravotnej poisťovni malo v roku 2018 až 82 pacientov poskytnuté lieky v hodnote nad 100 000 € za rok. Lieky pacienta s najvyššími nákladmi stáli v roku 2018 VšZP 899 518 €.

Nové úlohy farmaceuta v lekárenskej praxi

Úloha farmaceuta v lekárenskej praxi sa vyvíjala postupne. V r. 1240 rímsky cisár Frederik II. (1194 – 1250) zriadil oddelenie lekárskej a farmaceutickej profesie a až od roku 1970 sa úloha farmaceuta presúvala z prípravy liekov a analytickej kontroly na informovanie pacienta. Farmaceut sa stal jeho konzultantom prvej línie v použití predpísaného a voľnopredajného lieku (Van Mil a kol., 2004). Takáto farmaceutická starostlivosť mu dávala reálnu možnosť byť plnohodnotným zdravotníckym profesionálom, teda zabezpečiť celý systém počnúc prevenciou, dostupnosťou terapie, monitoringom liečby s cieľom zabezpečiť jej efektívnosť, kvalitu života a reálne finančné náklady na lieky (Department of Health, 2000).

V súčasnosti je farmaceut vo vedomí pacientov

expert na lieky, je ľahko dostupný a veľmi dôveryhodný v radách o liečbe. Jeho aktivita je plne cielená na pacienta a je plne integrovaná do celkovej zdravotníckej starostlivosti ostatných špecialistov. Lekárneň je otvorená celý deň, dostupná pre väčšinu ľudí a nevyžaduje sa časenka pre možnosť konzultácie s lekárnikom. So zvyšujúcim sa počtom voľno predajných liekov a individuálne pripravovaných liekov pre bezpečné a účinné samoliečenie je lekárnik jediným odborným konzultantom. Farmaceut je prirodzeným najľahšie dostupným kontaktom a konzultantom pre väčšinu pacientov (Wiedenmayer a kol., 2006).

Úlohy a ciele súčasnej lekárenskej starostlivosti

V súčasnosti sa výrazne mení dlhoročný vzťah medzi lekárom, lekárnikom a pacientom. Farmaceut vystupuje ako jeden z členov zdravotníckeho tímu, pozornosť sa upriamuje na jeho vedomosti, zručnosti a vlastnosti farmaceuta vyžadujúce starostlivosť, preto dochádza k zmenám vo vzdelávaní, ktoré sú nevyhnutné pre realizáciu farmaceutickej starostlivosti orientovanej na pacienta.

Služby poskytované lekárňami v rámci Európskej únie sa líšia v závislosti od platnej legislatívy daného štátu. V súčasnosti zahŕňajú: manažment arteriálnej hypertenzie (9 krajín), manažment diabetes mellitus (10 krajín), manažment astmy (10 krajín), vakcinácia (6 krajín), pomoc pri odvykaní od fajčenia (12 krajín), revízia užívaných liekov (11 krajín), meranie koncentrácie cholesterolu v krvi (12 krajín), meranie koncentrácie glukózy v krvi (14 krajín), meranie krvného tlaku (15 krajín) (Pharmaceutical Group of European Union, Annual Report 2014).

Európsky systém regulácie liekov – jednotný prístup k regulácii liekov v Európskej únii

Európsky systém regulácie liekov je založený na sieti približne 50-tich regulačných orgánov z 31 štátov Európskeho hospodárskeho priestoru (28 členských štátov EÚ a Island, Lichtenštajnsko a Nórsko), Európskej komisie a agentúry EMA (European Medicines Agency). Agentúra EMA a členské štáty

spolupracujú a spoločne používajú odborné znalosti pri hodnotení nových liekov a nových informácií o ich bezpečnosti. Tiež sa na seba navzájom spoliehajú pri výmene informácií v oblasti regulácie liekov, napríklad pokiaľ ide o oznamovanie vedľajších účinkov liekov, vykonávajú dohľad nad klinickým skúšaním a kontrolou u výrobcov liekov a tiež nad dodržiavaním správnej klinickej praxe (SKP), správnej výrobnnej praxe (SVP), správnej distribučnej praxe (SDP) a správnej farmakovigilančnej praxe (SFP). Funguje to, pretože právne predpisy EÚ vyžadujú, aby každý členský štát postupoval podľa tých istých pravidiel a požiadaviek, pokiaľ ide o schvaľovanie a monitorovanie liekov (www.ema.europa.eu., 2019).

Kvôli ochrane zdravia verejnosti a zabezpečeniu vysoko kvalitných, bezpečných a účinných liekov pre európskych občanov musia byť všetky lieky pred uvedením na trh v EÚ schválené. Centralizovaný postup umožňuje uvedenie lieku na trh na základe jediného celoeurópskeho hodnotenia a povolenia na uvedenie na trh, ktoré je platné v celej EÚ. Týmto spôsobom sú schvaľované napr. biologické lieky (bioterapeutiká), ktoré predstavujú skupinu liekov produkovaných živými bunkami pomocou technológie rekombinantnej DNA (biotechnológiu).

Na základe nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) sa medzi lieky vyrábané biotechnologickým postupom zaraďujú lieky vyrábané rekombinantnou DNA technológiou, kontrolovanou expresiou génov kódovaním pre biologicky aktívne proteíny v prokaryotických a eukaryotických bunkách, hybridómy a lieky vyrábané metódou pre monoklonálne protilátky, biosimilárne lieky vyvíjané biotechnologickými postupmi a pokroková liečba (lieky na génovú terapiu, lieky na liečbu somatickými bunkami, lieky pripravované tkaninovou technológiou) (EC 1394/2007).

Vzhľadom na dramatický progres poznania v molekulovej medicíne sú biologiká veľmi rýchlo zavádzané do klinickej praxe. Pre ich vysoký terapeutický potenciál sú v súčasnosti súčasťou

algoritmov liečby viacerých typov ochorení, napr. zápalových reumatických ochorení, rakoviny, psoriázy a iných (EvaluatePharma® World Preview 2017, Outlook to 2022).

Východiská pre súčasné farmaceutické vzdelanie

Je nevyhnutné, aby v povinnom kurikule farmaceutického štúdia študenti získavali ucelené vedomosti o pokrokoch vo farmakoterapii za posledné desaťročia, o míľnikoch v liečbe závažných ochorení a klinickom význame inovatívnych liekov a terapeutických postupov. Systém vzdelávania sa dynamicky mení a vyvíja sa na základe nových vedecko-výskumných objavov a zistení, technických inovácií (vývoj nových molekúl, príchod hi-tech materiálov, produktov a pomôcok, nové diagnostické a terapeutické postupy, genomika-proteomika-personalizácia terapie, nové informačné a komunikačné technológie), legislatívnych a administratívnych povinností (nové zákony, smernice, vyhlášky) a finančných podmienok (zníženie rastu celkového obratu za lieky, generická/biosimilárna substitúcia a preskripcia, finančná kríza, otvorenie trhu).

Nevyhnutnou súčasťou stratégie ďalšieho progresu v oblasti inovatívnych liekov je príprava vysokokvalifikovaných farmaceutických expertov, ktorí by sa zoznámili s príkladmi inovatívnych liečebných postupov vo vybraných medicínskych odboroch vo svete a na Slovensku, ako aj s prekážkami či riešeniami, ktoré sa v praxi pri využití nových postupov objavujú. Preto je nutné neustále dopĺňať o nové informácie už existujúce študijné predmety, ale aj nájsť priestor pre vytvorenie nových, ktoré vytvoria komplexný obraz súčasných trendov. Inovatívne lieky tvoria a budú tvoriť neodmysliteľnú súčasť novej modernej medicíny. Teraz sa len ťažko predpokladá a odhaduje význam ich prínosu do budúcnosti, ale rýchlosť ich uplatňovania v praxi odzrkadľuje mieru ich klinického významu a úspechu. Pri vzdelávaní farmaceutov bude potrebné implementovať interprofesionálne vzdelávanie – farmaceuti spolu s medikmi a pod.

Implementácia inovatívnych liekov do praxe musí zahŕňať charakteristiku pojmu a významu inovácií v medicíne (zameranie na farmakoterapiu), výskum a vývoj nových liekov so zameraním sa na praktické ukážky toho, čo inovácie prinášajú pre pacientov, lekárov a spoločnosť a vývoj lieku z pohľadu farmaceutickej spoločnosti: aktuálne trendy vo výskume, proces výskumu a objavovanie nádejnej molekuly ako kandidáta na liek, nové technológie, nové skupiny liekov a inovatívna liečba (biologické lieky, protilátky, na pacienta orientovaná liečba, kmeňové bunky).

Nové výzvy farmaceutického vzdelávania môžu zlepšiť výsledky liečby jednotlivých pacientov, a to najmä vďaka riadenej medikácii a zároveň podpore pacientov, aby si ju sami spravovali, maximalizácii výsledkov v patientskej starostlivosti pomocou prístupu k pacientovmu zdravotnému záznamu (pri dodržaní národnej legislatívny na ochranu osobných údajov a s pacientovým súhlasom), angažovaniu sa v komplexnej starostlivosti (napr. pri odhaľovaní a liečbe chronických chorôb alebo v poskytovaní vedomostí o liekoch v systémoch špecializovanej starostlivosti), zaisteniu kontinuity farmaceutickej starostlivosti počas prechodu pacienta z prostredia akútnej starostlivosti do domácej liečby, poskytovaniu lekárenskej služby, ktorej cieľom je zlepšovať dodržiavanie liečebného režimu a racionálneho využitia liekov u pacientov, ktorí užívajú viac liekov, podpore použitia lacnejších liekov vhodnou substitúciou a podpore služieb ako opakované vydávanie liekov a monitorovanie farmakoterapie individuálnych pacientov alebo úprava dávkovania liekov v prípade potreby (Bates a kol., 2018).

ZÁVER

Inovatívne lieky tvoria a budú tvoriť neodmysliteľnú súčasť novej modernej medicíny. V súčasnosti sa len ťažko predpokladá a odhaduje význam ich prínosu do budúcnosti, ale rýchlosť ich uplatňovania v praxi odzrkadľuje mieru ich klinického významu a úspechu.

ZOZNAM LITERATÚRY

Bates, I., John, Ch., Seegobin, P., Bruno, A.: An analysis of the global pharmacy workforce capacity trends from 2006 to 2012. *Human Resources for Health*, 2018, 16 (3). DOI: 10.1186/s12960-018-0267-y.

Department of Health. *Pharmacy in the Future – implementing the NHS Plan: A programme for Pharmacy in the National Health Service*. London: Department of Health, 2000.

Európsky systém regulácie liekov: jednotný prístup k regulácii liekov v Európskej únii. [The European regulatory system for medicines: a consistent approach to medicines regulation across the European Union]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/leaflet/european-regulatory-system-medicines-european-medicines-agency-consistent-approach-medicines_sk.pdf. [cit. 9. 12. 2019].

EvaluatePharma® World Preview 2017, Outlook to 2022. 10th edn. <https://info.evaluate-group.com/rs/607-YGS-364/images/WP17.pdf>. Accessed 12, 2019.

Farmácia. [Pharmacy]. <https://www.portalvs.sk/sk/studijne-odbory/zobrazit/farmacia>. [cit. 9. 12. 2019].

Health Advances Analysis; Adis R&D Database. March 2015. http://pharma-docs.pharma.org/sites/default/files/pdf/2015_pharma_profile.pdf. Accessed 12, 2019.

Kto sme – AIFP. [Who we are – AIFP]. <https://www.aifp.sk/sk/kto-sme>. [cit. 9. 12. 2019]

Nariadenie Európskeho Parlamentu a Rady (ES) č. 1394/2007 z 13. novembra 2007 o liekoch na inovatívnu liečbu, ktorým sa mení a dopĺňa Smernica

2001/83/ES a Nariadenie (ES) č. 726/2004. [Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council of 13 November 2007 on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004]. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/TXT/PDF/?uri=CELEX:32007R1394&from=EN>. [cit. 9. 12. 2019].

National Cancer Institute, Surveillance Epidemiology and End Results. http://seer.cancer.gov/csr/1975_2012/browse_csr.php?sectionSEL=18&pageSEL=sect_18_table.08.html#table. Accessed May, 2017.

Pacienti budú mať k dispozícii viac moderných liekov. [Patients will have more modern medicines available]. <https://www.health.gov.sk/Cla-nok?pacienti-budu-mat-k-dispozicii-viac-modernych-liekov>. [cit. 9. 12. 2019].

Pharmaceutical Group of European Union, Annual Report 2014. https://www.ema.europa.eu/en/documents/annual-report/annual-report-european-medicines-agency-2014_en.pdf. [cit. 9. 12. 2019].

Van Mil, J. W., Schultz, M., Tromp, T. F.: Pharmaceutical care, European developments in concepts, implementation, teaching, and research: a review. *Pharm. World Sci.*, 2004, 26 (6), 303 – 311.

Wiedenmayer, K., Summers, R. S., Mackie, C. A., Gous, A. G. S., Everard, M., Tromp, D.: *Developing pharmacy practice. A focus on patient care*. World Health Organization, International Pharmaceutical Federation, 2006. s. 87.

Zákon č. 131/2002 Z. z. o vysokých školách a o zmene a doplnení niektorých zákonov. [Act no. 131/2002 coll. on higher education as amended].



PREHLAD DEJINNÉHO VÝVOJA VZDELÁVANIA LEKÁRNIKOV VO VZŤAHU K TERITÓRIU SÚČASNÉHO SLOVENSKA

OVERVIEW OF HISTORICAL DEVELOPMENT OF EDUCATION OF PHARMACISTS IN RELATION TO THE TERRITORY OF CONTEMPORARY SLOVAKIA

Bartunek, A.

Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie,
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

esencia@stonline.sk

ABSTRAKT

Témou predloženej štúdie je zhrnutie prehľadu vývoja farmaceutického vzdelávania vo vzťahu k teritóriu súčasného Slovenska od 14. storočia až dodnes. Až do roku 1770 toto vzdelávanie prebiehalo učňovským spôsobom priamo v lekárňach. Po vzniku Trnavskej univerzity došlo k významnému kvalitatívnemu prelomu: noví adepti, ako aj praktikujujúci lekárnici už boli povinní absolvovať prípravu a skúšky na jej pôde. Po založení prvej Československej republiky v roku 1918 lekárnici zo Slovenska študovali na Karlovej univerzite v Prahe. Štúdium farmácie na Slovensku bolo založené v roku 1940 na Fakulte medicíny Slovenskej Univerzity v Bratislave (Univerzity Komenského). V roku 1952 vznikla v Bratislave samostatná farmaceutická fakulta.

Nakoniec, v roku 2006, bolo štúdium farmácie otvorené aj na východe Slovenska na Univerzite veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach.

Kľúčové slová: farmaceutické vzdelávanie; Slovensko

ABSTRACT

The topic of this study is the summary of the overview of the development of pharmaceutical education in relation to the territory of today's Slovakia since 14th century until now. Until 1770, this training took place as an apprenticeship directly in pharmacies. After the emergence of the University in Trnava there was a significant qualitative breakthrough: new adepts and practicing pharmacists were already obliged to

undergo training and examination at its premises. After the establishment of the first Czechoslovak republic in 1918, pharmacists from Slovakia studied at the Charles University in Prague. Pharmacy studies in Slovakia were established in 1940 in Bratislava at the Faculty of Medicine of the Slovak (Comenius) University. A separate pharmaceutical faculty was established in this town in 1952. Finally, in 2006, pharmacy studies were also predicated at the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in the East Slovakian city Košice.

Key words: pharmaceutical education; Slovakia

Dejinný vývoj farmaceutického vzdelávania, ktorý bezprostredne súvisí s územím Slovenska, je dnes už podrobne preskúmaný (Bartunek, 2018a; Bartunek, 2018b). Týka sa jednak vývoja vzdelávacích aktivít od vzniku tzv. klasickej európskej lekárne, resp. európskeho lekárstva v 12 – 13. storočí, ale aj neskoršieho obdobia stredoveku i novoveku. Na našom území táto vývojová fáza kvalitatívne vrcholí vznikom lekárskej fakulty Trnavskej univerzity v roku 1769, resp. 1770. V skratke možno povedať, že od spomenutého 12. – 13. stor. sa vzdelávanie farmaceutov v Európe realizovalo tzv. učňovským spôsobom priamo v prostredí jednotlivých lekární. Mladík vo veku 14 – 15 rokov, ktorý už predtým absolvoval požadované vzdelanie v latinskej škole, bol prijatý do učenia ako učeň, tzv. tirón. Táto perióda vzdelávania trvala asi 5 rokov a po jej ukončení sa z tiróna po tzv. tirocinálnej skúške stal tovaríš, lat. sodales. Mal na výber: buď zostal nadobro v tejto tovarišskej pozícii ako lekárenský pomocník alebo mohol absolvovať tzv. vandrovku, ktorá trvala niekoľko rokov a vyžadovala si pobyt v cudzine, obvykle postupne vo viacerých lekárňach. Absolvent vandrovky získal po jej ukončení certifikát, ktorý potvrdzoval jeho lekárnické vzdelanie a navyše bol akýmsi dokladom o jeho nielen odbornej pripravenosti, ale aj dobrom správaní, náboženských a

morálnych zásadách, ktoré bol povinný počas praxe v jednotlivých lekárňach bezpodmienečne dodržiavať. Na základe tohto osvedčenia sa mohol stať majiteľom alebo správcom, provízorom lekárne kdekoľvek na kontinente; bol teda vyučeným, aprobovaným lekárnikom.

Nové impulzy na skvalitnenie edukácie farmaceutov priniesol v prvom rade pokrok vo vývoji prírodných vied a následne aj osvietenstvo, osvietenská monarchia, ktorá sa prostredníctvom reforiem Márie Terézie začala aj v našich končinách presadzovať od 40. rokov 18. stor. Jej reformy sa v hlbokjej miere prejavili aj v oblasti zdravotníctva, na čom mal zásluhu jeden z jej hlavných poradcov, holandský lekárnik a lekár, ríšsky protomedikus Gerhard van Swieten (Egghardtová, 2017). V roku 1769 bola na tomto základe založená a roku 1770 začala svoju činnosť Trnavská univerzita, a v jej rámci aj lekárska fakulta. Univerzita sa vlastne stala svetskou pokračovateľkou jezuitskej univerzity, založenej už v roku 1635 (Bokesová, 1973). V roku 1772 sa na lekárskej fakulte skusmo pristúpilo k organizovaniu trojmesačných nepovinných kurzov pre lekárnikov a po ich absolvovaní nasledovala povinná skúška pred komisiou tamojších profesorov a zástupcom trnavského lekárnického cechu, ktorý založili lekárnici Pinka, Puff a Czechner. O dva roky neskôr sa už štúdium stalo povinným a navyše sa situácia výrazne kvalitatívne zmenila: vzdelávanie sa predĺžilo na jeden rok a stalo sa povinným nielen pre nových adeptov, ale aj pre lekárnikov z praxe. Bol to skutočne revolučný krok a ozajstný začiatok univerzitného vzdelávania farmaceutov z celého Uhorska. Na záver boli poslucháči povinní pristúpiť k štyrom rigoróznym skúškam – teoretickým z chémie, botaniky a materie mediky a jednej praktickej z prípravy liečivých prípravkov. Univerzita sa však na území Slovenska udržala iba krátkych sedem rokov: v roku 1777 bola presťahovaná do Budína a našla svoje sídlo na jeho hrade (Bokesová, 1982). Bola to veľká kultúrna strata pre celé Slovensko a tým aj pre slovenskú medicínu a farmáciu. Trvalo celých 163 rokov, kým štúdium farmácie znova našlo svoje

uplatnenie na Slovenskej univerzite v Bratislave.

Na novom mieste v Budíne dochádzalo k postupnému skvalitňovaniu tohto jednoročného štúdia. K jeho predĺženiu na dva roky došlo až v roku 1851 a súčasne bolo skrátené tirocinálne vzdelávanie v lekárňach zo štyroch na tri roky, ale ešte predtým musel adept absolvovať štvorročné štúdium na gymnáziu. Prvý univerzitný rok prebiehal na filozofickej fakulte, druhý už na lekárskej (Rusek, 1972a). Za veľké skvalitnenie štúdia považujeme zákonnú možnosť, ktorá poskytla absolventom štúdia farmácie získať doktorát z chémie – nik iný ako lekárnici nemal toto privilégium. Svedčí to o tom, že vzdelávanie lekárníkov v chemických disciplínach už bolo v tejto dobe na veľmi vysokej úrovni, lekárnici boli v tomto čase bezkonkurenčne vynikajúcimi chemikmi. V roku 1859 bol tento titul zmenený na doktorát farmácie a samotná chémia sa z jednoliatej disciplíny rozčlenila na chémiu anorganickú, organickú a analytickú (Bartunek, 2012). V tom istom roku došlo aj k zmene predtirocinálneho vzdelávania: pred nástupom do lekárne už boli noví adeпти povinní disponovať maturitnou skúškou. Roku 1892 sa tento úzus ešte sprísnil: vyžadovalo sa už šesťročné štúdium na gymnáziu a navyše ešte úspešná skúška z latinského jazyka. Posledné úpravy pred zánikom Uhorska bol zrealizované v rokoch 1912 a 1914. Pred tirocínium sa už vyžadovalo kompletné gymnaziálne štúdium s maturitou, potom dva roky praxe v lekárni a ani po promócii na univerzite ešte absolvent stále nebol tým, kto bol oprávnený samostatne vykonávať komplexnú lekárnickú prax. Bol totiž povinný ešte dva roky absolvovať v lekárni pod vedením skúsených lekárníkov tzv. kondičnú prax a po nej aj aprobačnú skúšku, ktorá sa stala podmienkou na vedenie lekárne. K podstatnému rozšíreniu chemických disciplín v štúdiu farmácie došlo v roku 1914 (Rusek, 1972b). V takomto stave zastihol vzdelávanie farmaceutov aj definitívny zánik Uhorska a vznik Československej republiky v roku 1918.

Po roku 1918 sa k svojej slovenskej nácii otvorene hlásilo zo desať lekárníkov a asi 25 lekárov. Činilo

to zopár percent z celkového počtu príslušníkov týchto povolání. Slovenské lekárnictvo sa teda v roku 1918 ocitlo vo veľmi nezávideniahodnej situácii, diametrálne odlišnej od stavu lekárnictva v českých zemiach. Českí a moravskí lekárnici mali svoje zemské orgány, grémiá, svoje tirocinálne školstvo, svoju odbornú spoločnosť, svoje časopisy a v nich svojich redaktorov – farmaceutov, stavovskú elitu na čele s farmaceutmi – univerzitnými profesormi, pôsobiacimi na českej a nemeckej časti Karlovej univerzity v úlohe učiteľov poslucháčov farmácie. V radoch praktických lekárníkov z lekární celej krajiny disponovalo české lekárnictvo celou plejádou vzdelaných a skúsených kolegov, ktorých mal stav k dispozícii ihneď po vzniku spoločného štátu. Napriek tomu bol vývoj farmácie v oboch častiach republiky rovnako zložitý: kým česká časť, disponujúca už základnou infraštruktúrou, sa po roku 1918 usilovala hlavne o reformu farmaceutického školstva a vybojovanie základných predpokladov pre harmonický rozvoj lekárenstva, slovenská si kladla za úlohu položiť fundamentálne prvky elementov pre samotný zrod a rozvoj národnej farmácie (Bartunek, 2018c).

Tých zopár slovenských, moravských a českých lekárníkov, majiteľov poväčšine malých vidieckych lekární, roztrúsených po celom území Slovenska, disponujúcich mizernými vzájomnými komunikačnými možnosťami a plne zaujatých vlastnými existenčnými problémami, si po roku 1918 stanovilo tri konkrétne, z dnešného pohľadu gigantické ciele: pochopili, že – po prvé iba založenie vlastného stavovského spolku, po druhé vlastného komunikačného média – stavovského časopisu a po tretie vlastnej slovenskej praktikantskej školy pre prípravu adeptov na lekárnické povolanie – im dokáže umožniť dosiahnutie vysnívanej méty (Bartunek, 2018d). Stáli pred mnohými rokmi trepezlivej a mravčej práce, čiastkových úspechov i nezdarov i prvotného nepochopenia zo strany českých lekárnických spolkov. Otázku, prečo bolo u nás tak málo lekárníkov slovenského pôvodu, veľmi zreteľne demonštruje vyjadrenie priameho svedka

vtedajších pomeroch. Ján Bábik, rodák z moravských Vacenovic, ktorý celý profesionálny život prežil na Slovensku, na margo toho napísal: „Slovenských synkov, ktorí sa pridali k maďarizačnému prúdu, podporovali v škole i v živote. Tých ale, ktorí zostali svojmu rodu verní a za Slovákov sa hlásili, trestali a zo škôl vyhadzovali. Lekárne sú v neslovenských rukách a do tých zriedkave vezmú Slováka za praktika“ (Bábik, 1934).

Slovensko v tomto čase nedisponovalo ani jednou vysokoškolskou vzdelávacou inštitúciou. V Bratislave síce existovali zárodoky tzv. Alžbetínskej univerzity, založenej tesne pred Veľkou vojnou, ale táto škola ešte nevykazovala prakticky žiadnu činnosť (Bartunek, 2018e). Zásluhou českých profesorov z Karlovej univerzity a Jaroslava Vlčka, prednostu Odboru slovenského Národného zhromaždenia sa začala v Prahe rodiť myšlienka na založenie čs. štátnej univerzity v Bratislave. Táto iniciatíva mala vedúcu osobnosť v prof. MUDr. Kristiánovi Hynekovi a v krátkom čase ju podporil aj prezident Masaryk. O týchto zámeroch nevedel ani Vavro Šrobár, v tomto čase vedúca osobnosť Ministerstva s plnou mocou pre správu Slovenska v Bratislave. Dňa 12. mája 1919 bol návrh na zriadenie univerzity predložený do parlamentu, 11. júla 1919 vošiel do platnosti, 20. septembra 1919 docestovali z Prahy zakladatelia a 21. septembra 1919 – teda zhruba pred sto rokmi – zasadol v Bratislave kompletný profesorský zbor tejto štátnej univerzity, ktorá 11. novembra 1919 dostala svoj oficiálny názov Univerzita Komenského. Prof. MUDr. Kristián Hynek sa stal rektorom školy, dekanom Lekárskej fakulty bol prof. MUDr. Gustáv Müller (Bartunek, 2018f).

V tomto čase sa stal vedúcim Ústavu farmakognózie LF UK prof. MUDr. Bohuslav Polák, taktiež bývalý pracovník LF Univerzity Karlovej v Prahe. V roku 1920 sa zmenil názov jeho ústavu na Ústav farmakológie a farmakognózie. Práve ten druhý odborný predmet bol aj jedným z profilových predmetov výučby farmaceutov (Bartunek, 2018 g). Po vzniku ČSR sa zmenilo aj miesto vysokoškolského vzdelávania lekárov zo Slovenska: Budapešť

bola vystriedaná Univerzitou Karlovou v Prahe, jej filozofickou, resp. prírodovedeckou a lekárskou fakultou.

Dôležitým medzičlánkom k zrodu univerzitného vzdelávania lekárov u nás sa stal vznik Slovenskej praktikantskej školy v roku 1924. Traja z málopočetnej skupiny slovenských lekárov – Vladimír Žuffa, Ján Bábik a Žiška Šimkovic – ju založili svojpomocne a vlastnými prostriedkami v roku 1924. Svoju činnosť začala v roku 1925 a zaoberala sa organizovaním praktikantských kurzov a v ich závere tirocinálnou skúškou adeptov na štúdium farmácie (Bartunek, 2018h; Bábik, 1932).

Bola to prvá lastovička, ktorá podnietila zrod ďalšieho historického zvratu vo vývoji slovenskej farmácie: v roku 1927 bol založený Sväz lekárov Slovákov, v ktorom sa spočiatku združilo takmer tridsať lekárov slovenského, českého a moravského pôvodu. Spomeňme aspoň najvýznamnejších z nich: okrem Žuffu, Bábika a Šimkovica to boli Andrej Martvoň, Samuel Búľovský, Bedrich Hlava, Otto Graubner, Gustáv Voda, Leopold Císař, Karol Kempný, Gejza Vozárik, Matej Ballegh, čoskoro k nim pribudli ďalší, nesmierne aktívni členovia – Ákoš Rayman, Emil Holčík, Ján Monček, Karol Námer, Mikuláš Entner a iní. Ďalším úspechom vo vývoji tohto spolku bolo založenie vlastného časopisu Slovenský lekárnik v roku 1931, ktorý až do jeho likvidácie bolševikmi v roku 1951 dôsledne mapoval nielen stavovský život, ale aj zrod farmaceutického školstva, priemyslu, správy lekárnických záležitostí, študentského spolku i zahraničných kontaktov.

Zakladatelia praktikantskej školy, teda Žuffa a spolovníci, pre ňu získali vynikajúcich prednášateľov, o. i. aj prof. Poláka a na chémiu prof. Buchtalu z lekárskej fakulty Univerzity Komenského. Práve Polák, ktorý sa zoznámil s elitnou skupinou slovenských lekárov na čele so Žuffom, navrhol v roku 1929 dekanátu lekárskej fakulty, aby sa na nej perspektívne počítalo s možnosťou zriadenia štúdia farmácie aj na Slovensku (Bartunek, 2018i). V ďalšom období, keď sa stal rektorom i prorektorom UK, pokračoval Polák vo svojom úsilí už systematicky

a podarilo sa mu vo svojom ústave vyprofilovať docenta farmakognózie, s ktorým rátal pre výučbu budúcich lekárnikov. Rok 1938, mníchovská potupa, kreovanie autonómnej Slovenskej krajiny ako samostatnej správnej jednotky v rámci I. ČSR a následné vyhostenie českých profesorov zo Slovenska, o. i. aj Poláka a Buchtalu, naoko zhatilo jeho úsilie. Na štúdium farmácie však už bolo – okrem formálnych záležitostí – všetko pripravené (Beniak a Tichý, 1992). Akútna núdza nedostatku civilných farmaceutov, ktorá vznikla jednak odchodom maďarských lekárnikov za hranice, prenasledovaním židovských lekárnikov a prevelením ďalších farmaceutov do služieb armády, ktorá bola vo vojnovom stave, však podstatne urýchlila celý proces zriadenia štúdia farmácie v rámci už premenovanej Slovenskej univerzity. Už v školskom roku 1940/41 bolo na filozofickej, resp. prírodovedeckej a lekárskej fakulte s veľkými priestorovými a organizačnými problémami otvorené dvojročné a rok neskôr už trojročné štúdium, čím sa oproti Prahe predĺžilo o jeden rok. Bolo to veľké víťazstvo lekárskeho stavu, ktorý sa o to – v úzkej súčinnosti s českými lekárnikmi – usiloval niekoľko desaťročí. Samozrejme tento proces bol nepomerne kľukatejší, dramatickejší a komplikovanejší, než ho možno demonštrovať na tomto obmedzenom priestore.

V týchto súvislostiach je potrebné pripomenúť veľmi významnú epizódu, ktorou vyvrcholili vynikajúce vzťahy medzi slovenskými a českými lekárnikmi počas I. ČSR. Ich ústrednou postavou bol prof. PhDr. PhMr. František Plzák, profesor chémie na Prírodovedeckej fakulte Univerzity Karlovej v Prahe a súčasne predseda Komisie pre reformu farmaceutického školstva. Od roku 1918 mal veľmi blízky a priateľský vzťah k slovenským lekárnikom. Bol to najzasvätenejší a najdôslednejší presadzovateľ hlbkej reformy farmaceutického vzdelávania; osobnosť, ktorá neustále upozorňovala na prehliadanie významu farmácie a lekárnikov zo strany štátu a ministerských úradníkov a formovateľ kvality prvého československého liekopisu. Medzi 10. – 12. marcom 1939, keď vrcholila na Slovensku

hystéria a protičeské nálady, teda doslova zopár hodín pred zánikom spoločného štátu, obetavo prijal naliehavé pozvanie vedúcich osobností Sväzu lekárnikov Slovákov, aby sa ako člen ich delegácie a naslovovzatý expert zúčastnil rokovania s vtedajším predsedom autonómnej vlády Slovenskej krajiny Karolom Sidorom a ministrom školstva Jozefom Sivákom vo veci urýchléného prijatia zákonov, umožňujúcich výučbu lekárnikov na Slovensku. V delegácii boli okrem Plzáka aj PhMr. Ákoš Raýman ako predseda stavovského spolku a PhMr. Andrej Martvoň, ktorý mal v tomto čase veľmi silnú politickú pozíciu a čoskoro sa stal aj poslancom Snemu SR. Plzák mal za úlohu presvedčiť Sidora o naliehavej potrebe realizácie tohto zámeru. Misia bola úspešná a tento vytúžený cieľ sa čoskoro, v školskom roku 1940/41, stal realitou (Redakcia Slovenský lekárník, 1940; Vyhláška MŠaNO č. 32.353/40/IV, 1940; Zák. zo 4.7.1940, Slov. zákonník, č. 33, 1940; Vlád. Nariadenie č.276 z 22. 10. 1940, Slov. zákonník, č. 58/1940, 1940). O Plzákovom vzťahu ku kolegom zo Slovenska výstižne svedčia slová, ktoré napísal pár týždňov pred spomenutou audienciou: „Kolegové Slováci veľmi vřele ujímají se reformy studia a nadšeně, ruka v ruce našimi kruhy českými, vítáme a s povděkem kvitujeme tuto jejich pomoc a přejeme jim i sobě hojnost zdaru“ (Štěpán, 1939). Pár dní po tejto audiencii došlo pod ultimatívny vydieraním zo strany nacistického Nemecka k vyhláseniu samostatnosti Slovenska, vpádu do Čiech a vytvoreniu Protektorátu Čechy a Morava.

Po 2. svetovej vojne a dlhšej príprave ešte v období, ktoré môžeme bez rozpakov charakterizovať ako pomerne demokratické a za účasti stavovskej Lekárnickej komory, bol v auguste 1948 prijatý zákon č. 190/1948, ktorým sa v ČSR štúdium farmácie predĺžilo na štyri roky: na Slovensku z troch a v Česku z dvoch rokov (Zák. č. 190/1948 zo 4. 8. 1948 o lekárskej škole; Slovenský lekárník, 1948). V roku 1950 bolo zrušené štúdium farmácie v Prahe, zostali teda iba učilišťa v Brne a Bratislave. V roku 1952 sa štúdium farmácie vymanilo z Lekárskej fakulty SU – vznikla samostatná Farmaceutická

fakulta, hoci sa výuka ešte osem rokov uskutočňovala roztrieštene po celej Bratislave. V rokoch 1953 – 1955 sa pristúpilo k projektovej príprave novej budovy fakulty v dnešnej Ul. Odbojárov, v roku 1954 bolo štúdium farmácie predĺžené na päť rokov a v roku 1958 bol vykonaný výkop základov budovy fakulty. O dva roky neskôr, v septembri 1960, bola novostavba daná do čiastočného užívania. Práve táto nová budova prispela k tomu, že v roku 1960 sa bratislavská fakulta na základe politických rozhodnutí spojila s brnenskou v jednu celočeskoslovenskú fakultu. Na spoločnej fakulte sa odborne a profesionálne príchodom vysokokvalifikovaných pedagógov z Brna posilnila odborná fundovanosť celého kolektívu učiteľov. Táto fáza vývoja trvala pomerne krátkych deväť rokov, ale zanechala vo vývoji bratislavskej fakulty výraznú pozitívnu stopu. Po federalizácii v roku 1968 vznikla nová fakulta aj v Hradci Králové v rámci Karlovej univerzity. Odvtedy sa na FaF UK v Bratislave vývoj uberal kontinuálne, síce s mnohými zákrutami a viac či menej vydatými reformami pod egidou komunistickej strany až do roku 1989. Po revolúcii, v ktorej na fakulte zohrali veľmi pozitívnu rolu hlavne študenti, nastal po krátkom váhaní pozitívny posun, ktorý sa uskutočnil pod vplyvom harmonizácie štúdia farmácie v rámci Európskej únie (Bartunek, 2018j). V roku 2006 sa po niekoľkoročnom úsilí podarilo zriadiť aj druhé slovenské farmaceutické univerzitné učilište – v Košiciach v rámci dnešnej Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie (Bartunek, 2018k). V týchto mesiacoch si teda okrem okrúhleho 70. výročia vzniku tejto školy a stého výročia založenia Univerzity Komenského môžeme pripomenúť aj krátku, zatiaľ len 13-ročnú históriu štúdia farmácie na východnom Slovensku. Veríme, že budúcnosť ukáže, že to bol pozitívny počín a naši nasledovníci – farmaceutickí historiografi – ho budú po rokoch hodnotiť na základe objektívnych kritérií ako významný akt, ktorý prispel k skvalitneniu slovenského farmaceutického vzdelávania.

ZOZNAM LITERATÚRY

Bábik, J.: Pomery v lekárnictve na Slovensku. [Conditions in pharmacy in Slovakia]. *Časopis čs. lekárnictva*, 1934, 14, 183 – 186.

Bábik, J.: Slovenská ašpirantská škola v Bratislave. [Slovak aspirant school in Bratislava]. *Slovenský lekárnik*, 1932, 2 (4), 3 – 5.

Bartunek, A.: *Dejiny slovenského lekárnictva I. 10. stor. – 1918*. [History of Slovak pharmacy I. 10th cent. – 1918]. Prešov: Abart Gallery, 2012. 303 – 321.

Bartunek, A.: *Dejiny slovenského lekárnictva II. 1918 – 2018*. [History of Slovak pharmacy II. 1918 – 2018]. Prešov: Abart Gallery, 2018a. 400 s.

Bartunek, A.: *Dejiny slovenského lekárnictva II. 1918 – 2018*. [History of Slovak pharmacy II. 1918 – 2018]. Prešov: Abart Gallery, 2018e – k. s. 58, 75 – 81, 85, 98 – 101, 101 – 103, 194 – 301, 295 – 301.

Bartunek, A.: *Historický vývoj farmaceutického vzdelávania vo vzťahu k územiu dnešného Slovenska v rokoch 1918 – 2018*. [Historical development of pharmaceutical education in relation to the area of today's Slovakia in 1918 – 2018]. Dizertačná práca. Prešov: Inštitút histórie, Filozofická fakulta Prešovskej univerzity (ved. prof. PhDr. Peter Švorc, PhD.), 2018b, 256 s.

Bartunek, A.: Lekárnictvo na Slovensku v rokoch 1918 – 1939. [Pharmacy in Slovakia in 1918 – 1939]. *Lekárnik*, 2018c, d, 23 (12), s. 56 – 57.

Beniak, M., Tichý, M.: *Dejiny lekárenskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave*. [History of Faculty of Pharmacy at Comenius University in Bratislava]. Bratislava: Univerzita Komenského, 1992. 151 – 152.

Bokesová, M.: *Zdravotníctvo na Slovensku v období feudalizmu*. [Health service in Slovakia in the period of feudalism]. Bratislava: Vydavateľstvo Slov. akadémie vied (SAV), 1973, s. 183.

Bokesová, M.: *Lekárska fakulta trnavskej*

univerzity (1770 – 1777). [Faculty of Medicine at Trnavská Univerzita v Trnave (1770 – 1777)]. Bratislava: Vydavateľstvo SAV, 1982.

Egghardtová, H.: *Muži Marie Terezie. Její milování, její rádci a opory trůnu*. [Maria Theresias Männer. Ihre Leben, ihre Ratgeber und die Stützen ihres Throns]. Praha: Ikar, 2017, 88 – 90.

Redakcia. Reforma lekárnického štúdia uzákonená. [Pharmacy study reform enacted]. *Slovenský lekárnik*, 1940, 10 (20), 135 – 136.

Redakcia. Lekárnické štúdium jednotné! [Pharmacy study unified!]. *Slovenský lekárnik*, 1948, 17 (1), 1 – 2.

Rusek, V. a kol.: *Kapitoly z dějin československé farmacie*. [Chapters from the history of Czechoslovak pharmacy]. Bratislava: Slovenské pedagogické nakladatelství (SPN), 1972a, b, 155 – 156, 157.

Štatút dvojročného štúdia farmácie. [Statute of the two-year pharmacy study]. Vyhláška MŠaNO č. 32.353/40/IV. Z 3. 4. 1940.

Štěpán, J.: Reforma farmaceutického studia. [Pharmacy study reform]. *Mladá farmacie*, VII. Pravidelná příloha časopisu čs. lékařnictva, 1939, 3, 25 – 70. Plzáková odpoveď na anketu.

Vládne nariadenie s mocou zákona č. 276 z 22. 10. 1940 o štúdiu lekárnictva. [Government order with the power of law no. 276 from 22. 10. 1940]. Slovenský zákonník, čiastka 58/1940.

Zákon zo dňa 4. 7. 1940. [The act of 4. 7. 1940]. Slovenský zákonník, čiastka 33, 1940, s. 251.

Zákon č. 190/1948 zo 4. 8. 1948 o lekárnickom štúdiu. [The act no. 190/1948 from 4. 8. 1948 on pharmacy study]. Sbíрка zákonů Republiky československé.



EFEKTÍVNOSŤ PODÁVANIA PRÍPRAVKOV S OBSAHOM ŽELEZA V OBDOBÍ GRAVIDITY

EFFICACY OF IRON SUPPLEMENTATION DURING PREGNANCY

Bachňáková, V.¹, Váczi, P.¹, Valko-Rokytovská, M.²

¹ Katedra farmakológie a toxikológie, Ústav farmakológie

² Katedra chémie, biochémie a biofyziky, Ústav biochémie

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 040 81 Košice
Slovenská republika

peter.vaczi@uvlf.sk

ABSTRAKT

V štúdiu sme hodnotili efektívnosť antianemickej terapie v období gravidity a jej vplyv na zmenu hodnôt erytrocytov, hemoglobínu a hematokritu v 5. a 9. mesiaci tehotenstva oproti 1. trimestru tehotenstva, kedy bola diagnostikovaná anémia a nebolo podané žiadne antianemikum. Zamerali sme sa na dva najčastejšie používané prípravky – Ferro-Folgamma cps. a Sorbifer Durules tbl. Oba druhy liekov boli sledované v dávkovaní 1 tableta denne a 2 tablety denne. Celkovo boli zosumarizované hematologické vyšetrenia od 157 pacientok, pričom 75 pacientok užívalo prípravok Ferro-Folgamma cps. a 69 pacientok užívalo prípravok Sorbifer Durules tbl. Ostatné pacientky boli zo štúdie vylúčené z dôvodu užívania iného antianemika.

Porovnávanie rozdielov medzi účinkom jednotlivých antianemík na základe zmeny hodnôt erytrocytov, hemoglobínu a hematokritu bolo vyhodnotených Studentovým t-testom, pri štatistickej významnosti $p < 0.05^*$ (významné); $p < 0.01^{**}$ (významné); $p < 0.001^{***}$ (veľmi významné).

Pokles zmeny koncentrácie hemoglobínu, počtu erytrocytov a hematokritu bol vo všetkých prípadoch vyhodnotený ako štatisticky významný/štatisticky veľmi významný, okrem zmeny hematokritu pri užívaní Sorbifer Durules 1 tableta denne, kedy bola zmena hodnôt vyhodnotená ako štatisticky nevýznamná.

Kľúčové slová: anémia; gravidita; liečba; prevencia

ABSTRAKT

In this study we examined the effectiveness of antianemic therapy during pregnancy and its effect on the change in erythrocytes, hemoglobin and hematocrit in the 5th and 9th month of pregnancy versus the 1st trimester of pregnancy, when anemia was diagnosed and no anti-anemic was administered. We focused on the two most commonly used formulations: Ferro-Folgamma cps. and Sorbifer Durules tbl. Both types of drugs were monitored at a dose of 1 tablet per day or 2 tablets per day. Overall, hematological examinations were collected from 157 patients, with 75 patients receiving Ferro-Folgamma and 69 patients using Sorbifer Durules. The remaining patients were excluded from the study because of the use of other anti-anemic formulations.

Comparison of the differences between the effect of individual antianemic on the basis of changes in erythrocyte, hemoglobin and hematocrit was evaluated using Student t-test by the statistical significance $p < 0.05^*$ (significant); $p < 0.01^{}$ (significant); $p < 0.001^{***}$ (very significant).**

The decrease in hemoglobin concentration, number of erythrocytes and hematocrit was evaluated in all cases as statistically significant/statistically very significant, except for the change in hematocrit by administration of Sorbifer Durules 1 tablet daily when the change of values was evaluated as statistically insignificant.

Key words: anemia; pregnancy; prevention; therapy

ÚVOD

Podľa Svetovej zdravotníckej organizácie v roku 2005 trpelo anémiou až 1,62 miliárd ľudí, čo znamená 24,8 % celosvetovej populácie. Táto porucha postihuje v najväčšej miere deti predškolského veku (47,4 %) a tehotné ženy (41,8 %). Polovica prípadov anémie

je spôsobená nedostatkom železa (De Benoist a kol., 2004; Lopez a kol., 2016). Najčastejšie vyskytujúci sa príznakom anémie sú bledosť, bolesti hlavy, únava, dyspepsia, závraty a v chronickom stave aj zvýšený výskyt potratov, predčasných pôrodov, gestóza a infekcií močových ciest. Zdravie ohrozujúce sú aj možné straty krvi počas pôrodu (Hulín a kol., 2005). V tehotenstve patrí anémia k najčastejším chorobným stavom. Denná potreba železa sa v tomto období zvyšuje dvoj- až trojnásobne (Vachek a Tesař, 2016).

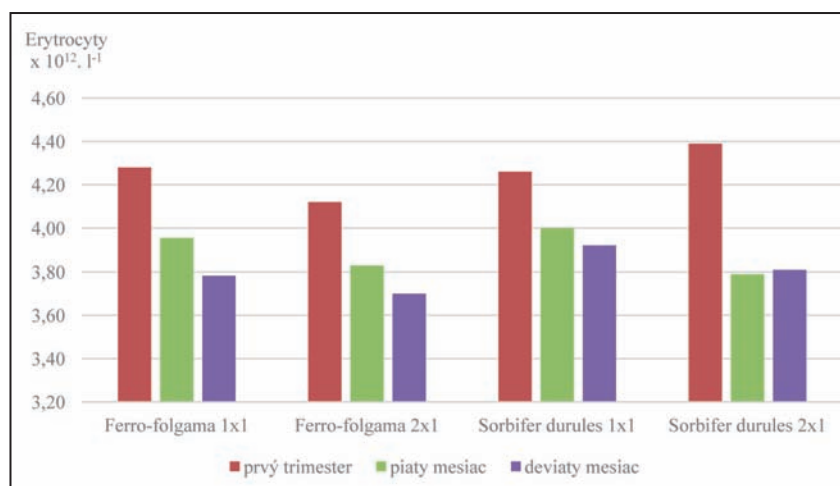
Sideropenická anémia (anémia z nedostatku železa) zvyšuje riziko morbidít a mortality matky a novorodencov. Prvou voľbou v prevencii anémie v tehotenstve je doplnenie železa a folátu podávaného prioritne perorálne (Goonewardene a kol., 2012), ktoré však spôsobuje časté gastrointestinálne ťažkosti (nauzea, bolesti brucha, obštipácie) (Khalafallah a Dennis, 2012). V prípade ťažkej sideropenickej anémie, intolerancie perorálneho železa, nedostatočnej odpovede na perorálne použitie železa alebo v prípade klinickej potreby rýchleho a účinného liečenia anémie (tehotenstvo v pokročilom štádiu) sa železo podáva intravenózne (Breyman a kol., 2017).

MATERIÁL A METÓDY

Cieľom štúdie bolo vyhodnotiť výsledky hematologických vyšetrení u anemických gravidných pacientok, ktorým bola odporúčaná liečba perorálnymi prípravkami s obsahom železa Ferro-Folgamma cps. a Sorbifer Durules tbl. Zamerali sme sa na počet erytrocytov, koncentráciu hemoglobínu a hematokrit.

Údaje boli získané z troch gynekologických ambulancií z okresu Revúca (1) a Rožňava (2). V prvej fáze (v rokoch 2015 – 2016) nám informovaným súhlasom poskytlo informácie 111 pacientok, v druhej etape (v rokoch 2017 – 2018) 46 pacientok. Hematologické parametre boli porovnávané v 5. a 9. mesiaci tehotenstva oproti 1. trimestru tehotenstva, kedy bola anémia diagnostikovaná.

Graf 1: Vplyv jednotlivých antianemík na hodnoty erytrocytov



Hodnotená bola účinnosť prípravkov používaných v klinickej praxi: Ferro-Folgamma (50 cps/100 cps; 1 kapsula obsahuje 100 mg síranu železnatého, 5 mg kyseliny listovej a 0,010 mg kyanokobalamínu) v dávkovaní 1-krát denne 1 kapsula, Ferro-Folgamma v dávkovaní 2-krát denne 1 kapsula, Sorbifer Durules (50 tbl; 320 mg bezvodého síranu železnatého, čo zodpovedá 100 mg dvojmočného železa a 60 mg kyseliny askorbovej) v dávkovaní 1-krát denne 1 tableta, a Sorbifer Durules v dávkovaní 2-krát denne 1 tableta (www.sukl.sk).

Rozdiely medzi účinkom jednotlivých antianemík (na základe najvýraznejších zmien) na počet erytrocytov, koncentráciu hemoglobínu a hematokrit boli vyhodnotené pomocou štatistickej významnosti p-hodnôt Studentovho t-testu ($p < 0.05^*$ štatisticky významné, $p < 0.01^{**}$ štatisticky významné, $p < 0.001^{***}$ štatisticky veľmi významné).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V stĺpcových grafoch je znázornená efektívnosť terapie prípravkami Sorbifer Durules cps. a Ferro-Folgamma tbl. v dávkovaní 1 tableta denne, resp. 2 tablety denne. Štatistická významnosť medzi 1. – 9. mesiacom a 5. – 9. mesiacom tehotenstva bola znázornená len graficky, z dôvodu nízkeho počtu

pacientok, ktoré absolvovali krvný odber v poslednom mesiaci tehotenstva.

Pri užívaní prípravku **Ferro-Folgamma** v dávkovaní 1 kapsula denne bol pozorovaný pokles počtu erytrocytov z $4,28 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$ na $3,96 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$ v 5. mesiaci tehotenstva. Tento pokles bol vyhodnotený ako štatisticky veľmi významný ($p = 0,000071^{***}$).

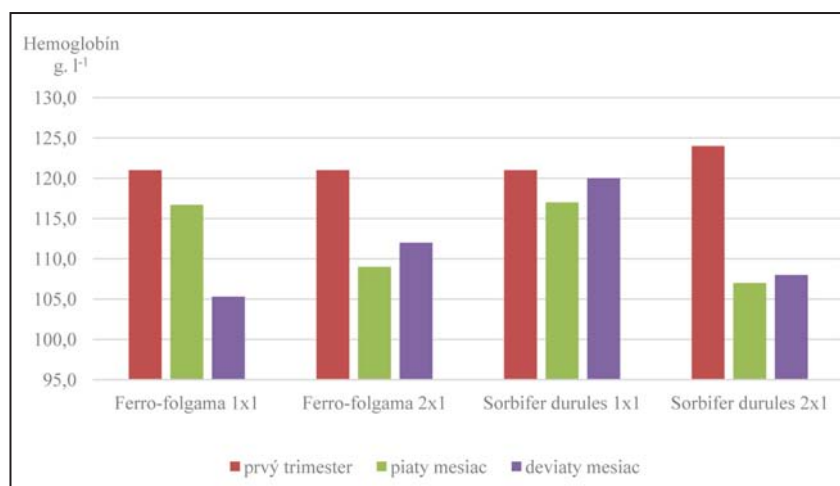
Priemerné hodnoty počtu erytrocytov poklesli pri užívaní prípravku **Ferro-Folgamma** 2 kapsuly denne z $4,12 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$ v 1. trimestri tehotenstva na $3,83 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$ v 5. mesiaci tehotenstva. Tento pokles bol vyhodnotený ako štatisticky významný ($p = 0,00251^*$).

Pri užívaní prípravku **Sorbifer Durules** v dávkovaní 1 tableta denne došlo k poklesu priemerného počtu erytrocytov z $4,26 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$ na $4,00 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$ v 5. mesiaci gravidity. Tento pokles bol štatisticky významný ($p = 0,00251^*$).

Prípravok **Sorbifer Durules** v dávkovaní 2 tablety denne spôsobil pokles priemerného počtu erytrocytov z 1. trimestra $4,39 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$ na hodnotu $3,79 \times 10^{12} \cdot l^{-1}$ v 5. mesiaci tehotenstva. Tento pokles bol štatisticky veľmi významný ($p = 0,0000000000123^{***}$) (viď graf 1).

Pri užívaní prípravku **Ferro-Folgamma** v dávkovaní 1 kapsula denne bol pokles priemernej

Graf 2: Vplyv jednotlivých antianemík na hodnoty hemoglobínu



koncentrácie hemoglobínu z 121 g.l⁻¹ na 116,7 g.l⁻¹ v 5. mesiaci gravidity, pričom táto zmena je štatisticky významná ($p = 0,0178^*$).

K štatisticky významnému ($p = 0,0020^*$) poklesu priemernej koncentrácie hemoglobínu došlo pri užívaní prípravku **Ferro-Folgamma** v dávkovaní 2 kapsuly denne, a to zo 121,0 g.l⁻¹ na 109,0 g.l⁻¹ v piatom mesiaci gravidity.

V prípade prípravku **Sorbifer Durules** pri dávkovaní 1 tableta denne bol pokles priemernej koncentrácie hemoglobínu zo 121,0 g.l⁻¹ na 117,0 g.l⁻¹, čo je taktiež štatisticky významné ($p = 0,0473^*$).

Prípravok **Sorbifer Durules** bol podávaný pacientkam s priemernou hodnotou koncentrácie hemoglobínu 121 g.l⁻¹ v dávkovaní 2 tablety denne, pokles tejto koncentrácie v 5. mesiaci 107,0 g.l⁻¹ je štatisticky významný ($p = 0,00012^{**}$) (viď graf 2).

Priemerná hodnota hematokritu v 1. trimestri tehotenstva pri pacientkach, ktorým bola neskôr nasadená terapia prípravkom **Ferro-Folgamma** 1 kapsula denne, klesla z 0,38, (38 %), na 0,36 (36 %). Tento pokles bol štatisticky významný ($p = 0,005832^{**}$).

Priemerná hodnota hematokritu u pacientok, ktoré užívali prípravok **Ferro-Folgamma** 2 kapsuly denne bola 0,39 (39 %) a v 5. mesiaci klesla na 0,32 (32 %). Tento pokles bol štatisticky veľmi významný (p

$= 0,000633^{***}$).

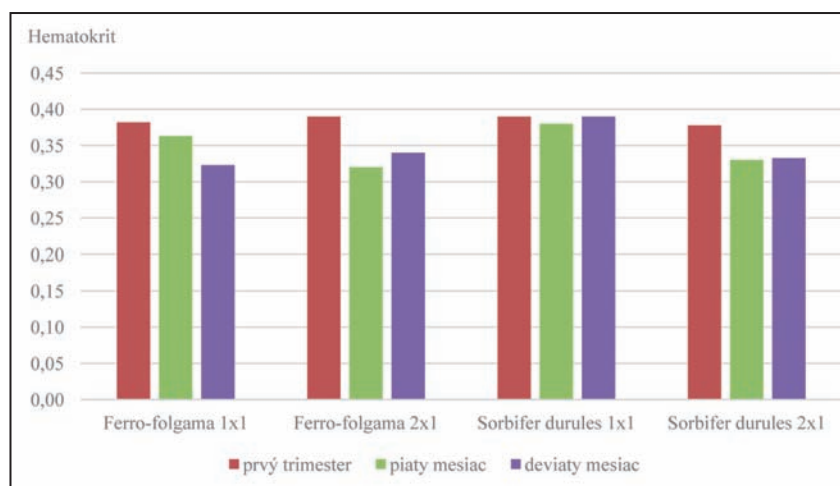
Pri užívaní prípravku **Sorbifer Durules** v dávkovaní 1 tableta denne došlo k štatisticky nevýznamnému ($p = 0,2182$) poklesu priemernej hodnôt hematokritu z 0,39 (39 %) na 0,38 (38 %) v 5. mesiaci gravidity.

Pri užívaní prípravku **Sorbifer Durules** v dávkovaní 2 tablety denne bol výraznejší pokles priemernej hodnoty hematokritu z 0,38 (38 %) na 0,33 (33 %) v 5. sledovanom mesiaci gravidity. Tento pokles bol vyhodnotený ako štatisticky veľmi významný ($p = 0,0000584^{***}$) (viď graf 3).

Referenčné hodnoty hematologických parametrov u žien boli nasledovné: počet erytrocytov: 3,83 – 5,22 x 10¹².l⁻¹, koncentrácia hemoglobínu 120 – 155 g.l⁻¹ a hematokrit 0,36 – 0,46. V období gravidity vzhľadom k zväčšeniu objemu plazmy dochádza aj k miernemu posunu referenčných hodnôt o približne 10 %, čo napríklad pri hemoglobíne predstavuje spodnú hranicu 110 g.l⁻¹.

Podľa Kumara a kol. (2005) došlo po perorálnej suplementácii železom (100 mg elementárneho železa) u tehotných pacientok k absolútnej zmene hemoglobínu 118 ± 68 g.l⁻¹ a hematokritu 4,02 ± 2,59 %. Pri parenterálnom podaní nastala zmena koncentrácie hemoglobínu 134 ± 77 g.l⁻¹ a hematokritu 4,93 ± 3,65 %.

Graf 3: Vplyv jednotlivých antianemík na hodnoty hematokritu



V našej štúdii pri užívaní Ferro-Folgamma, ktoré bolo dávkované 1-krát denne, nastala zmena koncentrácie hemoglobínu zo $121 \pm 8,8 \text{ g.l}^{-1}$ na $116,7 \pm 7,41$ a hematokrit poklesol z $38,2 \% \pm 3,8 \%$ na $36,6 \% \pm 3,6 \%$. Pri dávkovaní 2-krát denne nastal pokles koncentrácie hemoglobínu zo $121 \text{ g.l}^{-1} \pm 9 \text{ g.l}^{-1}$ na $109 \text{ g.l}^{-1} \pm 11 \text{ g.l}^{-1}$. Zmeny hematokritu boli z $39 \% \pm 4 \%$ na $32 \% \pm 6 \%$. Pri užívaní prípravku Sorbifer Durules užívaného 1-krát denne 1 tableta došlo k zmene koncentrácie hemoglobínu zo $121 \text{ g.l}^{-1} \pm 10 \text{ g.l}^{-1}$ na $117 \text{ g.l}^{-1} \pm 8 \text{ g.l}^{-1}$ a zmena hematokritu z $39 \% \pm 4 \%$ na $38 \% \pm 4 \%$. Pri užívaní prípravku Sorbifer Durules 2-krát denne 1 tableta došlo k zmene koncentrácie hemoglobínu z $124 \text{ g.l}^{-1} \pm 11 \text{ g.l}^{-1}$ na $107 \text{ g.l}^{-1} \pm 21 \text{ g.l}^{-1}$ a k zmene hematokritu z $38 \% \pm 3 \%$ na $33 \% \pm 6 \%$.

Najvýraznejší pokles sledovaných hodnôt nastal pri užívaní prípravku Sorbifer Durules, ktorý bol podávaný 2-krát denne, takmer v každom prípade však bola pozorovaná žiaduca zmena smerom k referenčným hodnotám. Po diskusii s gynekológmi zo spolupracujúcich gynekologických ambulancií sme sa dozvedeli, že prípravok Sorbifer Durules a Ferro-Folgamma predpisujú pacientkam podľa ich finančných možností, keďže aktuálny doplatok pacienta na prípravok Ferro-Folgamma je 3,96 €,

zatiaľ čo na prípravok Sorbifer Durules pacient nedopláca a je plne hrađený zo zdravotného poistenia.

ZÁVER

Pri anémii je dôležité dodržiavať správne stravovacie návyky a prijímať potravu s vyšším obsahom železa. Prípravky s obsahom železa je potrebné užívať pravidelne, podľa odporúčaní lekára a lekárničky. Je dôležité lekára alebo lekárničky upozorniť na ostatné užívané lieky, vzhľadom na možné interakcie a ovplyvnenie účinku. V tejto štúdii bolo našim cieľom vyhodnotiť, či najčastejšie odporúčané prípravky s obsahom železa v období gravidity dosahujú požadovaný efekt, a to na základe výsledkov hematologických vyšetrení absolvovaných v 1. trimestri, 5. mesiaci a 9. mesiaci gravidity. V praxi sa z hematologického vyšetrenia zisťuje počet erytrocytov, koncentrácia hemoglobínu, hodnota hematokritu, stredný objem erytrocytov, stredný objem hemoglobínu v erytrocytoch, stredná farebná koncentrácia hemoglobínu a šírka distribúcie erytrocytov. Zamerali sme sa na počet erytrocytov, koncentráciu hemoglobínu a hematokrit. Pri týchto parametroch došlo po užívaní antianemík k najvýraznejším zmenám. Obidva prípravky zo

sledovaných dosahujú efekt úpravy sledovaných hematologických ukazovateľov, je však dôležité ho užívať správne a pravidelne.

ZOZNAM LITERATÚRY

Breyman, C., Honegger, C., Hösli, I., Surbek, D.: Diagnosis and treatment of iron-deficiency anaemia in pregnancy and postpartum. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 296 (6), 2017, 1229 – 1234.

De Benoist, B., Mc Lean, E., Egli, E., Cogswell, M.: Iron deficiency. *Worldwide prevalence of anemia 1993 – 2005*. WHO Global Database on Anaemia. Geneva: World Health Organization, 2008, 9 – 11.

Goonewardene, M., Shehata, M., Hamad, A.: Anaemia in pregnancy. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2012, 26 (1), 3 – 24.

Hulín, I. a kol.: *Patofyziológia a klinická fyziológia*. [Pathophysiology and clinical physiology]. Martin: Slovak Academic Press, 2005, 593 s.

Khalafallah, A. A. a Dennis, A. E: Iron deficiency anaemia in pregnancy and postpartum:

pathophysiology and effect of oral versus intravenous iron therapy. *J. pregnancy*, 2012, 10, 630519.

Kumar, A. Jain, S., Singh, N. P., Singh, T.: Oral versus high dose parenteral iron supplementation in pregnancy. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 2005, 89 (1), 7 – 13.

Lopez, A. a Cacoub, P., Macdougall, I. C., Peyrin-Biroulet, L.: Iron deficiency anaemia. *The Lancet*, 2016, 387, 907 – 916.

Vachek, J. a Tesař, V.: *Farmakoterapie v těhotenství a při kojení*. [Pharmacotherapy during pregnancy and breastfeeding]. Praha: Maxdorf, 2016, 371 s.

Detail lieku Sorbifer Durules tbl. flm. 100 mg/60 mg. [Drug detail Sorbifer Durules tbl. flm. 100 mg/60 mg.]. https://www.sukl.sk/hlavna-stranka/slovenska-verzia/pomocne-stranky/detail-lieku?page_id=386&lie_id=67045. [cit. 30. 3. 2018].

Detail lieku Ferro Folgamma cps. [Drug detail Ferro Folgamma cps.]. https://www.sukl.sk/hlavna-stranka/slovenska-verzia/pomocne-stranky/detail-lieku?page_id=386&lie_id=97402. [cit. 30. 3. 2018].



ANALÝZA FARMAKOTERAPIE PARKINSONOVEJ CHOROBY

ANALYSIS OF THE PHARMACOTHERAPY OF PARKINSON'S DISEASE

Kolesárová, M., Čukylová, J.

Ústav humánnej a klinickej farmakológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

maria.kolesarova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Parkinsonova choroba (PCH) je idiopatické progresívne neurodegeneratívne ochorenie spojené s úbytkom dopamínu v mozgu, ktoré sa prejavuje nielen poruchou motoriky, ale aj kognitívnym deficitom a poruchami správania.

Predložená štúdia analyzuje vývoj a farmakoterapiu ochorenia u pacientov s idiopatickou PCH od roku 2013 až 2018. Na základe anonymizovaných výpisov zo zdravotnej dokumentácie 50 pacientov boli vyhodnocované údaje ako sú vek, pohlavie, štádium choroby, kardinálne motorické a nemotorické príznaky PCH. V analyzovanej skupine 50 pacientov bolo 52 % žien a 48 % mužov, najpočetnejšia veková kategória bola v rozpätí 81 – 90 rokov (34 %). Väčšina pacientov sa nachádzala v 3. štádiu PCH podľa modifikovanej škály Hoehnovej a Yahra (1967). Z nemotorických príznakov najviac pacientov trpelo poruchami

spánku (60 %). Z kardinálnych motorických príznakov sa u pacientov najčastejšie vyskytovala bradykinéza (100 %), rigidita (80 %) a pokojový tremor (68 %). Výsledky farmakoterapie u pacientov s PCH počas 6 ročného obdobia od roku 2013 až 2018 ukazujú, že v priebehu rokov klesá počet pacientov s monoterapiou a stúpa počet pacientov s kombinovanou liečbou. Pri monoterapii sú pacienti najčastejšie liečení levodopou. Z kombinovanej liečby sa najčastejšie vyskytuje dvojkombinácia levodopa a dopamínové agonisty (30 %). Priemerná totálna levodopová ekvivalentná denná dávka (LEDD) má stúpajúci charakter počas obdobia rokov 2013 až 2018 u pacientov v počiatočnom aj v pokročilom štádiu PCH. Zároveň bola potvrdená závislosť medzi štádiom PCH a LEDD hodnotou, kedy v terapii pokročilejšieho štádia PCH bola potrebná vyššia totálna levodopová ekvivalentná denná dávka.

Kľúčové slová: dopamínové agonisty; farmakoterapia; inhibitory MAO-B; levodopa; Parkinsonova choroba

Key words: dopamine agonists; levodopa; MAO-B inhibitors; Parkinson's disease; pharmacotherapy

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is an idiopathic progressive neurodegenerative disorder associated with dopamine loss in the brain, which is manifested not only by dexterity impairment but also by cognitive deficits and behavioral disorders.

The study analyzes the development and pharmacotherapy of the disease in patients with idiopathic PD from 2013 to 2018. Data such as age, gender, stage of the disease, cardinal motoric and non-motoric symptoms of PD were evaluated on the basis of anonymized medical records of 50 patients. In the analyzed group of 50 patients, 52 % were women and 48 % were men, the most numerous age group ranged from 81 – 90 years (34 %). Most patients were in the 3rd stage of PD according to the modified scale of Hoehn and Yahr (1967). Of non-motoric symptoms, most patients suffered from sleep disorders (60 %). Of the cardinal motoric symptoms, bradykinesia (100 %), rigidity (80 %) and rest tremor (68 %) were the most common. The results of pharmacotherapy for patients with PD during a 6-year period from 2013 to 2018 showed that the number of patients with monotherapy declined over the years and the number of patients receiving combination therapy increased. In monotherapy patients are most commonly treated with levodopa. Of the combination therapy, the double combination of L-dopa and dopamine agonists (30 %) is the most common. The average total levodopa equivalent daily dose (LEDD) had an increasing character over the years (from 2013 to 2018) for patients at the initial and also advanced stage of PD. At the same time, the dependence between stage of PD and the LEDD value was confirmed, when a higher total levodopa equivalent daily dose is needed to treat a more advanced stage of PD.

ÚVOD

Parkinsonova choroba (PCH) je progresívne neurodegeneratívne ochorenie prejavujúce sa poruchou motoriky. Klinická manifestácia PCH sa typicky začína vo veku 50 – 70 rokov a prejavuje sa motorickými a nemotorickými symptómami. Medzi nemotorické symptómy patria psychické poruchy, vegetatívna dysfunkcia, poruchy rytmu spánku a bdenia a ďalšie, ktoré sa objavujú ešte pred výskytom kardinálnych motorických symptómov (Benetin a Valkovič, 2009). Charakteristickým prejavom PCH je porucha motoriky, tzv. parkinsonizmus, ktorý možno potvrdiť pri prítomnosti aspoň dvoch zo štvorice kardinálnych symptómov ako bradykinéza, pokojový tras, rigidita a posturálna instabilita (Valkovič, 2006). Väčšina týchto kardinálnych motorických symptómov sa prejaví pri strate dopamínerných neurónov v *substantia nigra*, projikujúcich do striáta (*ncl. caudatum a putamen*), z čoho vyplýva nedostatok dopamínu v striate (Oertel a Schulz, 2016). Hlavným neuropatologickým znakom PCH je tvorba intracytoplazmatických inklúzií – Lewyho teliesok v prežívajúcich neurónoch, ktoré vznikajú agregáciou alfa-synukleínu. Tieto agregáty alfa-synukleínu sa nenachádzajú len v *substantia nigra*, ale môžu byť rozšírené aj do autonómneho nervového systému (Goedert a kol., 2013). Priamym následkom nedostatku dopamínu je dysfunkcia motorických okruhov bazálnych ganglií, ktoré zohrávajú dôležitú úlohu v regulácii vôľovej motoriky, rozhodujú o výbere vhodných a inhibícií nevhodných pohybových vzorcov a synergizmov (Valkovič, 2006). Preto hlavnou snahou terapeutického prístupu je nastolenie opätovnej dopamínovej rovnováhy.

Klinické skúsenosti podporené farmakologickými a elektrofyziológickými štúdiami viedli k vzniku teórie o kontinuálnej dopamínergnej stimulácii.

Aj keď táto teória nie je jednoznačne dokázaná, je všeobecne akceptovaná a ovplyvnila aj spôsob liečby PCH a vývoj nových liečebných postupov (Suchowersky a kol., 2006). Súčasná liečba PCH je zatiaľ symptomatická a zahajuje sa individuálne v závislosti od symptómov, veku pacienta, štádia ochorenia (Hauser a Zesiewicz, 2007). Za zlatý štandard v terapii PCH sa považuje levodopa, ktorá sa metabolizuje na dopamín prostredníctvom enzýmu DOPA-dekarboxylázy v nigrostriálnych neurónoch a nahrádza tak nedostatok dopamínergnej stimulácie spôsobenej úbytkom neurónov (Richter, 2011). Levodopa je stále najúčinnším a hlavným symptomatickým liekom PCH, substituuje deficit dopamínu v mozgu, ktorý aktivuje postsynaptické dopamínové receptory D1 a D2. Kvôli lepšiemu vstrebávaniu sa užíva nalačno 30 – 45 min pred jedlom. Minimálna účinná denná dávka je 200 – 300 mg, výrazný klinický efekt je zaznamenaný pri 600 mg dávke na deň. Väčšina dávky (95 %) liečiva je metabolizovaná na dopamín na periférii, čím vznikajú nežiaduce účinky ako nauzea, vomitus a ortostatická hypotenzia. Preto na potlačenie metabolizácie levodopy na periférii sa terapia levodopou dopĺňa inhibítormi DOPA-dekarboxylázy, a to karbidopou alebo benserazidom (Švihovec a kol., 2018). Zvyšovanie hladiny dopamínu v CNS prostredníctvom levodopy vedie k vzniku nežiaducich psychologických účinkov ako zmätenosť, insomnie, dezorientácia, halucinácie a bludy. Najväčším problémom pri dlhodobom užívaní levodopy je postupné znižovanie účinnosti, vznik dyskinéz a fluktuácie účinku. Fluktuácia účinku je striedanie stavu so zvýraznenými príznakmi parkinsonizmu „off“, a stavu dobrej pohyblivosti „on“ (Valkovič, 2006). Pre zníženie fluktuácie účinku sa v terapii levodopou používajú inhibítory katechol-O-metyltransferázy (COMT) ako entakapon a tolkapon. V kombinovanej terapii s levodopou majú význam aj inhibítory monoamínoxidázy B (MAO-B) – selegilín a rasagilín, ktoré zabráňujú metabolizácii dopamínu MAO-B. V súčasnosti medzi najpoužívanejšie antiparkinsoniká patria aj agonisty dopamínu (DA) pôsobiace priamo

na dopamínergné receptory ropirinol, pramipexol, rotigotín. Oproti levodope majú niekoľko výhod: môžu byť užívané spolu s jedlom, stimulujú špecifické podtypy dopamínových receptorov, sú k dispozícii v rôznych liekových formách a majú dlhší biologický polčas. Nové liekové formy pramipexolu a ropirinolu vo forme tabliet s riadeným uvoľňovaním zabezpečujú stabilnú hladinu počas celých 24 hodín, čím spôsobujú menší výskyt fluktuácií a dyskinéz v porovnaní s levodopou. Rotigotín je jediné antiparkinsonikum, ktoré sa aplikuje vo forme transdermálnych náplastí (Richter, 2011). DA sa používajú v monoterapii alebo v kombinácii s ostatnými antiparkinsonikami vrátane levodopy. V terapii PCH je možné využiť aj amantadín, ktorý zlepšuje uvoľňovanie dopamínu z presynaptických vezikúl. U pacientov s pokročilou farmakologicky nezvládnuteľnou PCH je indikovaná hlboká mozgová stimulácia alebo kontinuálna aplikácia levodopy priamo do duodéna pomocou pumpy (Richter 2011; Benetin a Valkovič, 2009, Moravčíková a kol., 2019). Cieľom štúdie bolo vyhodnotiť vývoj a farmakoterapiu ochorenia u pacientov s idiopatickou Parkinsonovou chorobou z roku 2018 a zároveň analyzovať priebeh farmakoterapie a vývoj totálnej levodopovej ekvivalentnej dávky u pacientov s PCH od roku 2013 až 2018.

Súbor pacientov

Na základe anonymizovaných výpisov zo zdravotnej dokumentácie pacientov Neurologickej ambulancie z Michaloviec bola náhodne vyselektovaná skupina 50 pacientov s diagnózou G20.00 až G20.91, Parkinsonova choroba slovenskej verzie desiatej revízie podľa Medzinárodnej klasifikácie chorôb (MKCH – 10) (ICD – 10 Version: 2016). Výsledky týkajúce sa charakteristiky pacientov, nemotorických a motorických symptómov a spektrum indikovaných antiparkinsoník pochádzajú z roku 2018. Pacienti boli rozdelení do piatich vekových kategórií podľa veku dosiahnutého na konci sledovaného obdobia v roku 2018 v rozpätí 55 – 60 rokov, 61 – 70 rokov, 71 – 80 rokov,

Tab. 1: Modifikovaná škála podľa Hoehnovej a Yahra (1967)

Štádium	Symptómy
1	Jednostranné príznaky
1,5	Jednostranné a axiálne príznaky (hypofónia, hypomímia, flekčné držanie tela)
2	Obojstranné príznaky bez poruchy rovnováhy
2,5	Obojstranné príznaky s miernou poruchou rovnováhy, pacient je schopný vyrovnať postoj pri skúške zvrátenia trupu
3	Mierne až stredne ťažké obojstranné príznaky, posturálna instabilita pri pull teste, pacient je stále sebestačný
4	Ťažké postihnutie, ale pacient je stále schopný chodiť alebo stáť bez pomoci
5	Pacient je odkázaný na vozík alebo pripútaný na posteľ

Zdroj: Jankovic a kol., 1990

Tab. 2: Liečivá a konverzný faktor pre výpočet LED dávky

Liečivo	Konverzný faktor
Levodopa s okamžitým uvoľňovaním	x 1
Levodopa s postupným uvoľňovaním	x 0,75
Entakapon	LD* x 0,33
Pramipexol (ako soľ)	x 100
Ropinirol	x 20
Rotigotín	x 30
Selegilín	x 10
Rasagilín	x 100
Amantadín	x 1

LD* – levodopová dávka

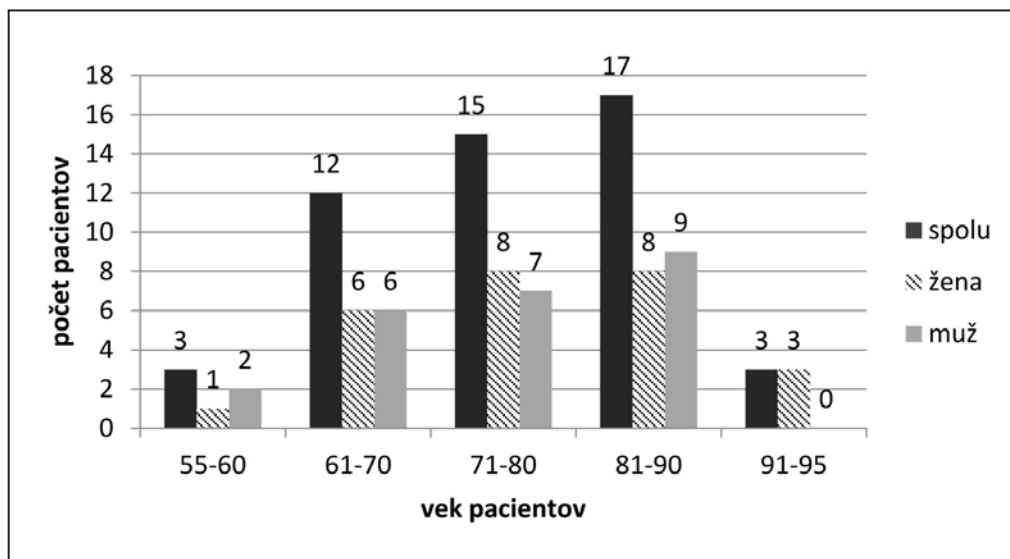
Zdroj: Tomlinson a kol., 2010

81 – 90 rokov a 91 – 95 rokov. Na posúdenie štádia PCH sa použila modifikovaná škála Hoehnovej a Yahra z roku 1967 (HY). Štádiá PCH sú označené od 1 až po 5. Štádiá 1 – 2,5 označujú tzv. skoré formy PCH, a štádiá 3 – 5 určujú pokročilé formy PCH (viď tab. 1). Niektorí pacienti boli v priebehu 6-ročného obdobia preradení v rámci jednotlivých štádií HY, ale stále spadali do rovnakej fázy PCH, či už skorej alebo pokročilej formy PCH. Vyrazení neboli žiadni pacienti. Na konci sledovaného obdobia v roku 2018 bol u pacientov sledovaný aj výskyt komorbidít. Farmakoterapia komorbiditných ochorení nebola

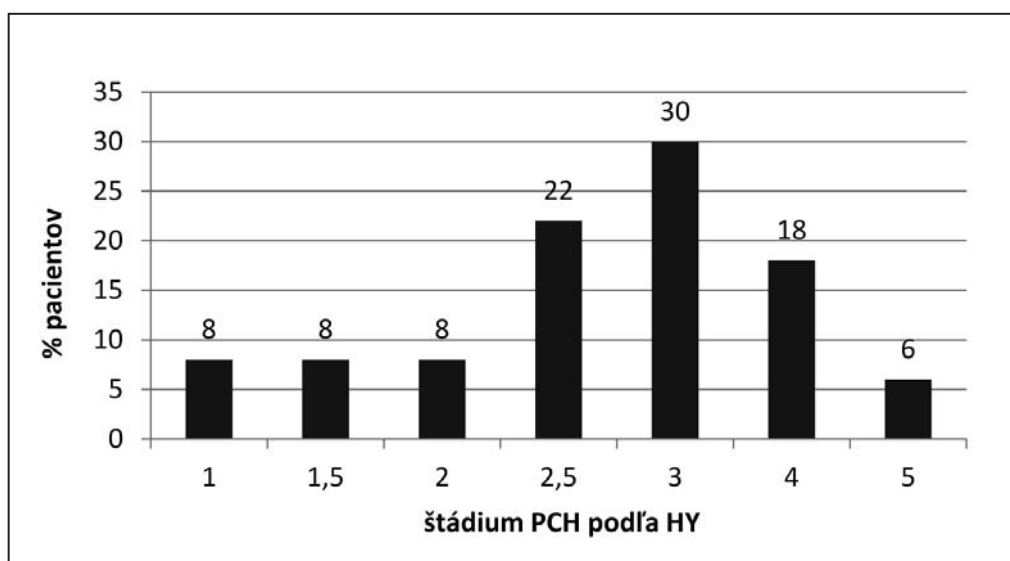
sledovaná. Počas 6 rokov, a to od roku 2013 do roku 2018 vrátane, bola sledovaná totálna levodopová ekvivalentná denná dávka (LEDD).

Súčasťou práce je výpočet LED – levodopová ekvivalentná dávka v mg. Je to dávka lieku potrebná pre dosiahnutie porovnateľného antiparkinsonického účinku v porovnaní s levodopou (Tomlinson a kol., 2010). Totálna LEDD označuje levodopovú ekvivalentnú dennú dávku v mg/deň. Totálnu LEDD sme získali súčtom čiastkových LED pre jednotlivého pacienta a jednotlivú fázu PCH. V klinickej praxi tento výpočet umožňuje jednoduchý prechod z liečiva

Graf 1: Vekové kategórie pacientov



Graf 2: Percentuálne zastúpenie pacientov v jednotlivých štádiách PCH podľa modifikovanej škály Hoehnovej a Yahra (1967)



HY – podľa modifikovanej škály Hoehnovej a Yahra (1967)

na iné liečivo. Výpočet LED pre každé liečivo podľa konverzného faktora uvádza tabuľka 2. Výsledky boli spracované v programe Microsoft Excel.

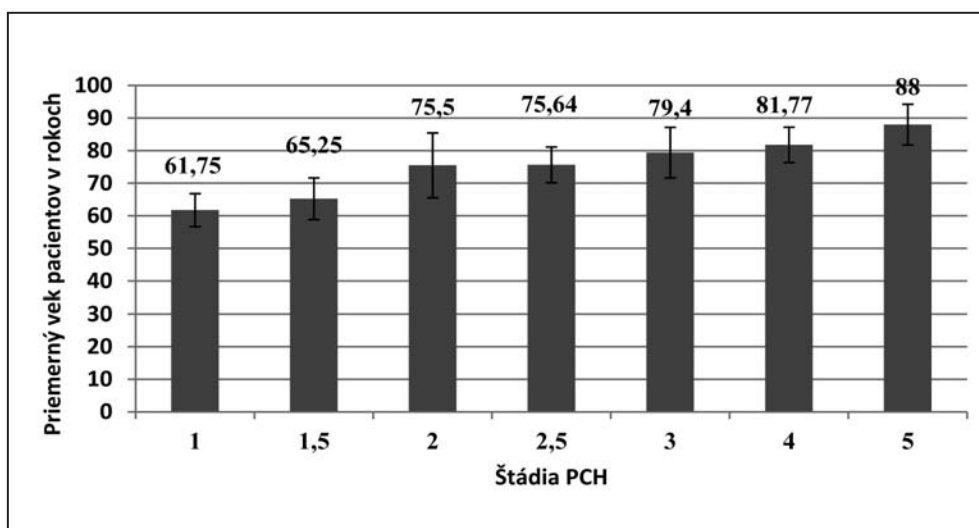
VÝSLEDKY

Charakteristika pacientov

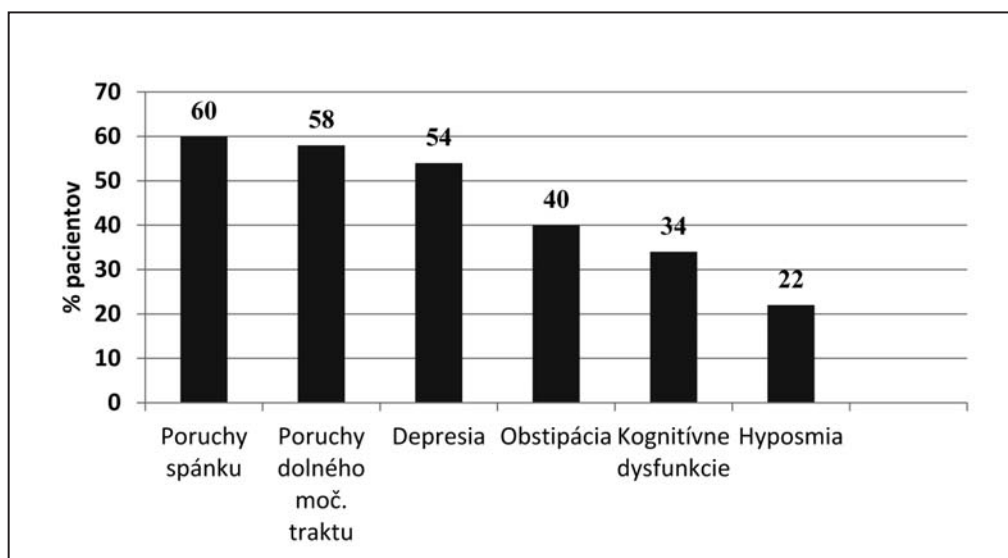
V analyzovanej skupine 50 pacientov mierne

prevažovali ženy (52 %) nad mužmi (48 %) s celkovým priemerným vekom 76,66 rokov. Najväčšie zastúpenie (34 %) mala kategória 81 – 90 rokov s vekovým priemerom 83,6 rokov. Najmenšie zastúpenie pacientov (6 %) bolo vo vekovej skupine 55 – 60 rokov a v skupine 91 – 95 rokov, pričom túto skupinu tvorili 3 ženy (viď graf 1). V prípade zastúpenia pacientov v jednotlivých štádiách PCH

Graf 3: Priemerný vek pacientov vo vzťahu k jednotlivým štádiám PCH podľa modifikovanej škály Hoehnovej a Yahra (1967)



Graf 4: Nemotorické symptómy pacientov s PCH

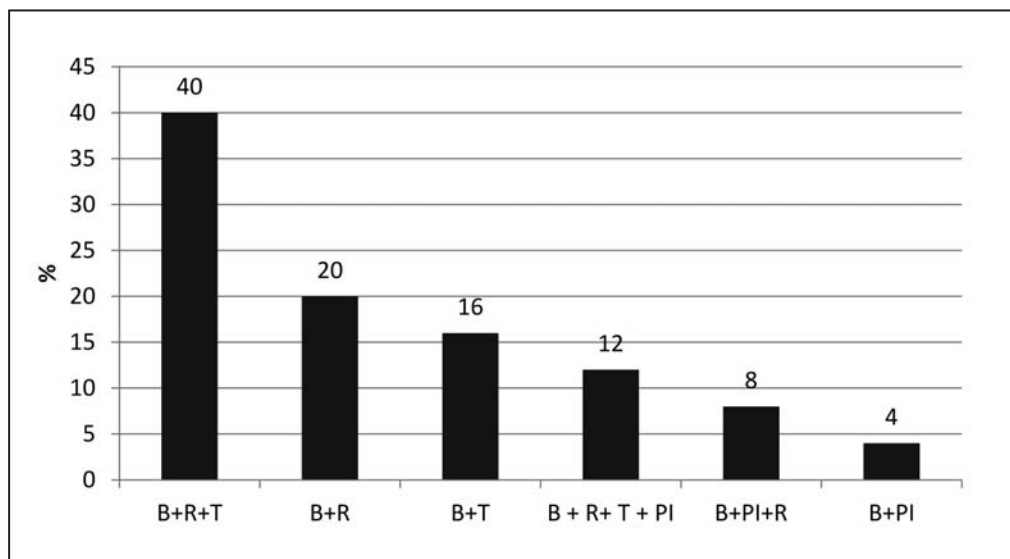


podľa modifikovanej škály Hoehnovej a Yahra (1967) mali najväčšie zastúpenie (30 %) pacienti so štádiom 3 a najmenšie zastúpenie (6 %) predstavovali pacienti v štádiu 5 (viď graf 2). Stupne jednotlivých štádií PCH korelovali so zvyšujúcim sa vekom pacientov, keď štádium 1 sa vyskytovalo u pacientov s priemerným vekom 61,75 rokov a štádium 5 bolo zaznamenané u pacientov s priemerným vekom 88 rokov (viď graf 3).

Komorbidity pacientov

V prípade komorbidít najviac pacientov trpelo artériovou hypertenziou (58 %). Druhou najčastejšou komorbiditou bola náhla cievna mozgová príhoda (CMP, 26 %). U pacientov sa vyskytovala aj hypercholesterolémia (20 %), diabetes mellitus II. typu (DM II, 18 %) a reumatoidná artritída (RA, 18 %). Z celkového pohľadu bol najväčší výskyt týchto komorbidít zaznamenaný u pacientov so štádiom PCH 2,5 a 3.

Graf 5: Kombinácie motorických symptómov



B – bradykinéza, R – rigidita, T – tremor, PI – posturálna instabilita

Nemotorické symptómy

Z nemotorických symptómov sa u pacientov najčastejšie vyskytovali poruchy spánku (60 %), poruchy dolného močového traktu (58 %) a depresia (54 %). Obštipácia, porucha GIT motility, bola v anamnéze zaznamenaná u 40 % pacientov. Kognitívne dysfunkcie boli prítomné u 34 % pacientov. Poruchou v detekcii, identifikácii vôní – hyposmiou trpelo 22 % pacientov (viď graf 4).

Motorické symptómy

Porucha motoriky je typický prejav PCH. U sledovaných pacientov bola zistená 100 % prevalencia bradykinézy, 80 % rigidity, 68 % tremoru a 24 % posturálnej instability. PCH možno potvrdiť, ak sa vyskytuje prítomnosť aspoň dvoch zo štvorice kardinálnych príznakov. Pre definitívne určenie diagnózy PCH musí byť prítomná bradykinéza + aspoň jeden ďalší príznak. Najčastejšie bola zaznamenaná kombinácia bradykinézy, rigidity a tremoru (40 %). Druhou najčastejšou bola kombinácia bradykinézy a rigidity (20 %).

U 16 % pacientov sa vyskytovala bradykinéza s tremorom. Štvorkombinácia motorických príznakov bradykinéza, rigidita, tremor a posturálna instabilita bola zaznamenaná u 12 % pacientov. Trojkombinácia motorických symptómov bradykinéza, posturálna instabilita a rigidita sa vyskytovala u 8 % pacientov a len 4 % pacientov trpelo bradykinézou a posturálnou instabilitou (viď graf 5).

Užívanie antiparkinsoník v roku 2013 a 2018

V roku 2013 užívalo monoterapiu levodopou alebo DA až 62 % pacientov. Z toho 32 % pacientov užívalo len levodopu, 12 % pacientov užívalo len pramipexol, 12 % pacientom bol indikovaný ropinirol, 4 % pacientov užívalo rasagilín a 2 % pacientov užívalo len entakapon, kým v roku 2018 bola monoterapia indikovaná u 24 % pacientov, kedy levodopu užívalo len 14 % pacientov, ropinirol 6 % a pramipexol 4 % pacientov.

Dvojkombinácia antiparkinsoník bola indikovaná u 36 % pacientov v roku 2013, kým v roku 2018

Tab. 3: Prehľad farmakoterapie antiparkinsonikami u pacientov v roku 2018

Monoterapia a kombinovaná terapia	Počet pacientov	Priemerný vek (roky)	Priemerné štádium podľa HY	%
L-dopa + karbidopa/benserazid	7	77,5 ± 12,7	2,5	14
DA (pramipexol, ropinirol)	5	74,5 ± 6,5	2,4	10
L-dopa + DA	15	74,25 ± 11,2	2,7	30
L-dopa + rasagilín	7	79,04 ± 7,8	3,06	14
L-dopa + DA + amantadín	4	79,75 ± 6,8	3,75	8
L-dopa+DA+rasagilín	3	73,75 ± 7,5	2,3	6
L-dopa+entakapon+rasagilín	3	74,5 ± 7,0	3,25	6
DA+rasagilín	2	73,5 ± 14,8	1,75	4
L-dopa + entakapon	2	82,5 ± 6,4	3	4
DA+rasagilín+ L-dopa+entakapon	2	78,5 ± 0,7	2,75	4

DA – dopamínový agonista, HY – modifikovaná škála podľa Hoehnovej a Yahra (1967)

stúpol počet pacientov s dvojkombinačnou liečbou na 52 %. V roku 2013 trojkombináciu antiparkinsoník užívalo 2 % pacientov a v roku 2018 až 20 % pacientov. Tento výsledok svedčí o tom, že PCH je progresívne ochorenie.

Farmakoterapia antiparkinsonikami u pacientov v roku 2018

V roku 2018 z celkového počtu pacientov (50), 24 % pacientom bola indikovaná monoterapia a 76 % užívalo kombinovanú terapiu antiparkinsonikami. Z toho bola najčastejšie indikovaná dvojkombinácia levodopy a DA u 30 % pacientov. Dvojkombináciu levodopy s rasagilínom užívalo 14 % pacientov. 8 % pacientov užívalo trojkombináciu levodopy s DA a amantadínom. Trojkombinácia levodopa s DA a rasagilínom bola indikovaná u 6 % pacientov. U rovnakého počtu pacientov (6 %) bola indikovaná trojkombinácia levodopy s entakaponom a rasagilínom. Najmenej indikovanou kombináciou bola dvojkombinácia DA + rasagilín (4 %) a levodopa + entakapon (4 %), a štvorkombinácia

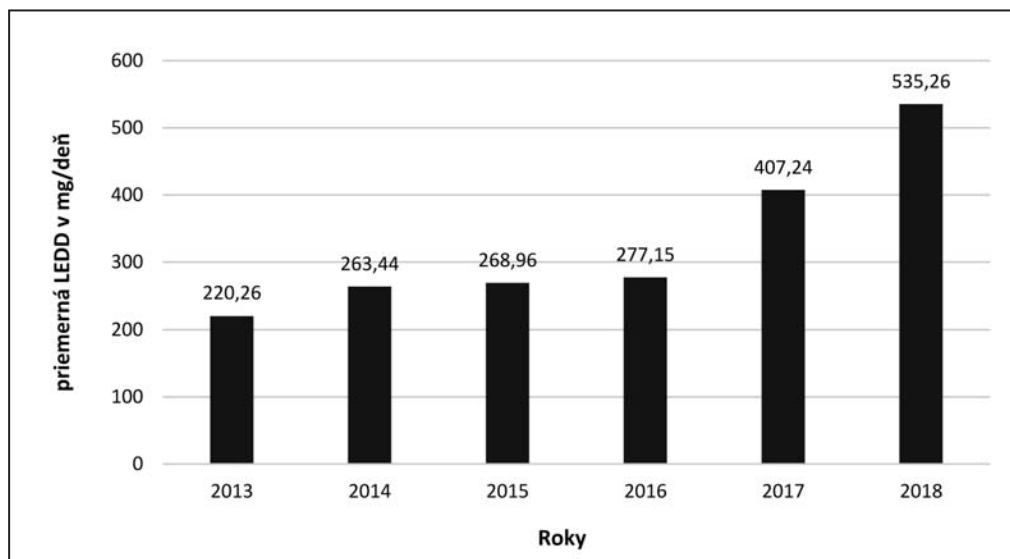
levodopa + DA + rasagilín + entakapon (viď tab. 3)

Levodopová ekvivalentná denná dávka – LEDD od roku 2013 do 2018

U 50 sledovaných pacientov bola vypočítaná priemerná levodopová ekvivalentná denná dávka (LEDD) v mg/deň v priebehu rokov 2013 až 2018. V skorej fáze PCH (štádiá 1 – 2,5) sa nachádzalo 46 % pacientov s priemerným vekom 71,39 rokov a priemerným štádiom HY 1,97. Celková priemerná LEDD pre skorú fázu PCH bola v roku 2013 220,26 mg/deň a v 2018 bola zvýšená na 535,26 mg/deň (viď graf 6).

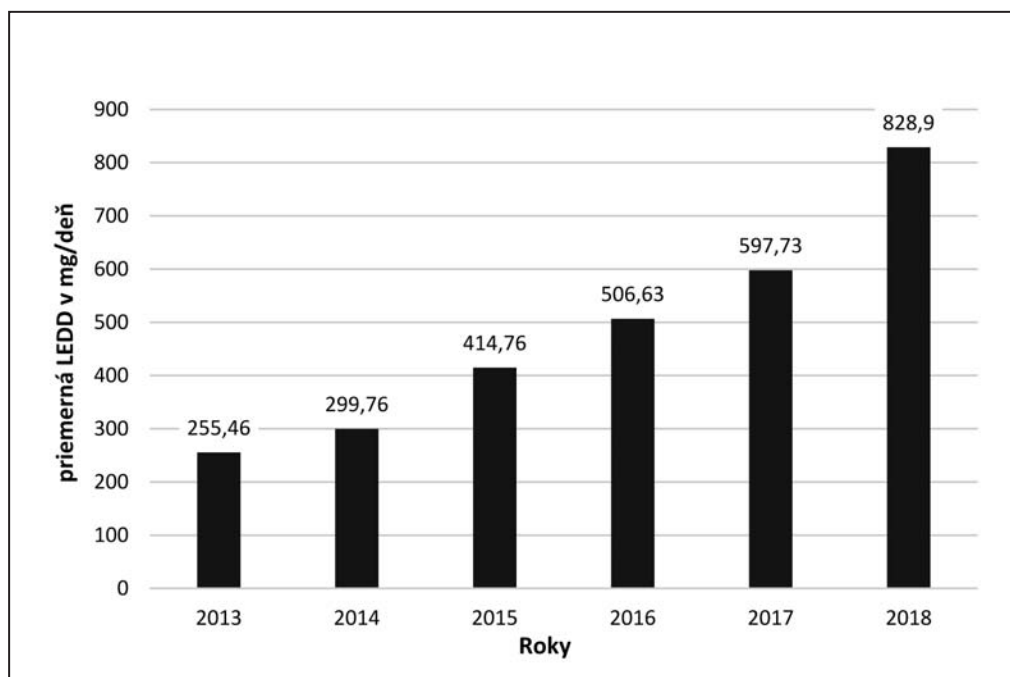
V pokročilej fáze PCH sa nachádzalo 54 % pacientov s priemerným vekom 81,14 rokov a priemerným štádiom HY 3,5. Priemerná LEDD pre pokročilé štádium PCH bola v roku 2013 255,46 mg/deň a v roku 2018 828,9 mg/deň (viď graf 7). Ďalej bolo potvrdené, že LEDD sa zvyšuje v závislosti od fázy PCH a od štádia HY (viď graf 8).

Graf 6: Priemerná LEDD v mg/deň – skoré štádium PCH u pacientov



LEDD – levodopová ekvivalentná denná dávka

Graf 7: Priemerná LEDD v mg/deň – pokročilé štádium



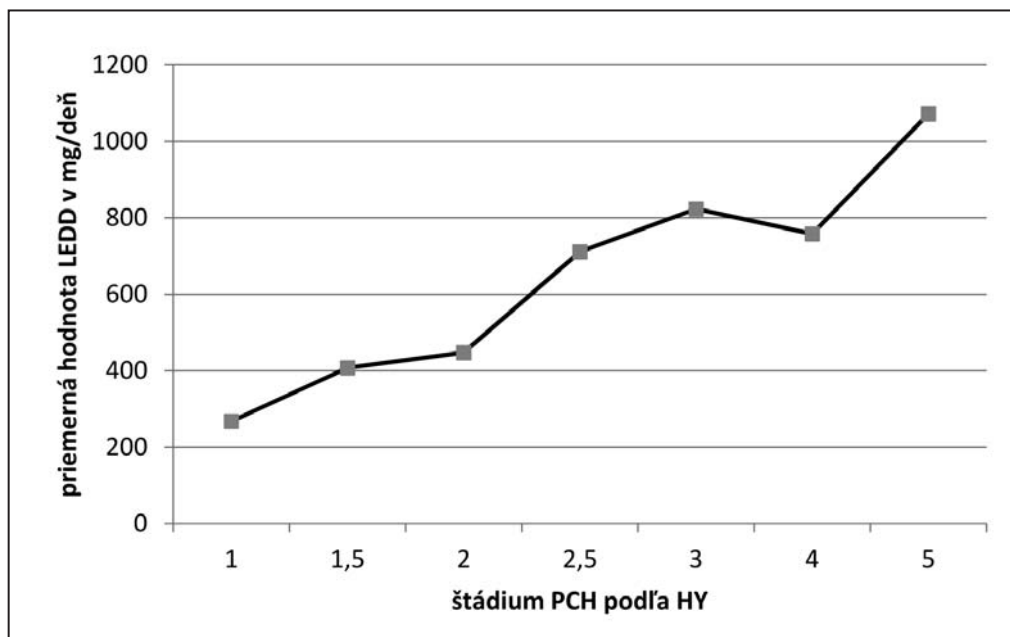
LEDD – levodopová ekvivalentná denná dávka

DISKUSIA

Hlavným cieľom pri liečbe pacientov s PCH je spomaliť alebo zastaviť neurodegeneráciu. V súčasnosti je však terapia PCH len symptomatická a

zahajuje sa individuálne s ohľadom na vek pacienta, symptómy a štádium PCH. Najvýznamnejším rizikovým faktorom PCH je vek (de Lau a Breteler, 2006). Klinická manifestácia PCH nastáva medzi 50. – 70. rokom. Pred 50. rokom života je incidencia

Graf 8: Vplyv štádia PCH na priemernú hodnotu LEDD v mg/deň



HY – modifikovaná škála podľa Hoehnovej a Yahra (1967)

PCH nízka, ale rapídne narastá s pribúdajúcim vekom. Pri prejave motorických príznakov dochádza k úbytku 30 až 50 % dopamínerných neurónov v CNS. PCH progreduje najrýchlejšie v prodromálnom štádiu, t. j. ak sú prítomné prvé nemotorické príznaky, a prvé roky po stanovení diagnózy (Ascherio a Schwarzschild, 2016; Benetin a Valkovič, 2010). Viaceré epidemiologické štúdie potvrdili mierne vyšší výskyt PCH u mužov ako u žien (Van Den Eeden a kol., 2003; de Lau a Breteler, 2006). Avšak niektoré štúdie nezistili žiadne významné rozdiely v prevalencii PCH medzi mužmi a ženami (de Rijk a kol., 1995). Naopak, japonská štúdia Kusumi a kol. (1995) potvrdila miernu prevahu žien nad mužmi. V analyzovanej skupine 50 pacientov mierne prevažovali ženy (52 %) nad mužmi (48 %) s celkovým priemerným vekom 76,66 rokov. Najväčšie zastúpenie (34 %) mala skupina pacientov vo vekovej kategórii 81 – 90 rokov. Najmenšie zastúpenie (6 %) pacientov bolo vo vekovej skupine 55 – 60 rokov a 91 – 95 rokov, pričom túto skupinu tvorili 3 ženy. Ženám je pripisovaný oneskorený nástup PCH, čo sa pripisuje pravdepodobne neuroprotektívnemu účin-

ku estrogénu na nigrostriatálny dopamínergický systém (Miller a Cronin-Golomb, 2010).

Z celkového počtu pacientov sa 46 % nachádzalo v počiatočnom štádiu PCH (štádium 1 – 2,5 podľa HY). Priemerný vek skupiny bol 71,4 rokov. V počiatočnej fáze PCH nemá pacient výrazné klinické ťažkosti s poruchami postoja alebo chôdze, jeho motorický stav je dobre kompenzovaný liečbou. Pokročilé štádium charakterizuje postupné zlyhávajúce dopamínergickej liečby s motorickými a nemotorickými fluktuáciami, posturálne poruchy a zhoršenie sebestačnosti (Benetin a Valkovič, 2009). V pokročilej fáze PCH sa nachádzalo 54 % pacientov (štádium 3 – 5 HY) s priemerným vekom 81,14 rokov. Najviac pacientov (30 %) sa nachádzalo v štádiu 3 podľa HY. V tomto štádiu je pacient stále sebestačný, prejavujú sa mierne až stredne ťažké obojstranné príznaky s posturálnou instabilitou. Len 6 % pacientov sa nachádzalo v štádiu 5 podľa HY, kde je pacient odkázaný na invalidný vozík alebo pripútaný na lôžko. PCH sa zvyčajne rozvíja vo veku 55 až 65 rokov. PCH sa vyskytuje u 1 – 2 % ľudí vo veku nad 60 rokov, pričom vyšší výskyt až (3,5 %) je vo veku 85 – 89 rokov (Rizek

a kol., 2016). Bolo zistené, že najnižší priemerný vek u sledovaných pacientov bol v štádiu 1 podľa HY, a to 61,75 rokov. Priemerný vek žien bol 56 rokov a priemerný vek mužov 63,66 rokov. Najvyšší priemerný vek 88 rokov mali pacienti v 5. štádiu podľa HY, kde priemerný vek žien bol 90,5 rokov a priemerný vek u mužov 83 rokov, z čoho vyplýva, že stupne jednotlivých štádií PCH korelovali so zvyšujúcim sa vekom pacientov.

Komorbidity významne prispievajú ku kognitívnemu a funkčnému poklesu u pacientov s PCH. Španielska štúdia z roku 2017 zistila, že hypertenzia je najčastejšou komorbiditou u pacientov s PCH (Santos Garcia a kol., 2017). Na základe výpisu zo zdravotnej dokumentácie pacientov s PCH bol potvrdený výskyt artériovej hypertenzie u 58 % sledovaných pacientov a diabetes mellitus (DM) typu II u 18 % pacientov. Pacienti s PCH, ktorí užívajú L-dopu, môžu mať občas prechodne zvýšený krvný tlak (TK). Zvýšenie sa objaví väčšinou počas „off“ stavov, predpokladaným mechanizmom je tzv. rebound fenomén pri poklese centrálnej a periférnej hladiny dopamínu. Občasné zvýšenie TK trvá krátko a významne neohrozuje pacienta (Benetin, 2005). Nedávna štúdia sledovala 36 294 pacientov s diagnózou DM typu II a zistilo sa, že títo pacienti mali 1,36 krát vyššiu incidencia PCH ako nediabetickí pacienti (Yang a kol., 2017). Súčasný výskyt DM typu II, hypertenzie a hypercholesterolémie sa nazýva metabolický syndróm. Metabolický syndróm môže byť považovaný za rizikový faktor vývoja PCH. Nedávna kórejská štúdia potvrdila, že metabolický syndróm je spojený so zvýšeným rizikom vzniku PCH. Kohortovou štúdiou sledovali viac ako 40 000 pacientov s metabolickým syndrómom a zistili, že pacienti mali 2,2 krát vyššiu incidencia PCH ako pacienti bez metabolického syndrómu (Nam a kol., 2018).

Nemotorické príznaky sa vyskytujú takmer u všetkých pacientov trpiacich PCH. Dokonca niektoré nemotorické príznaky sa môžu objaviť oveľa skôr než sa objavia klasické motorické príznaky. Okrem deficitu dopamínu sa na manifestácii nemotorických

príznakov v ktorejkoľvek fáze PCH môžu podieľať aj poruchy noradrenergného, serotonínerného a cholinergného systému (Pfeiffer, 2016).

Hyposmia – porucha čuchu je prítomná až u 90 % pacientov s PCH často niekoľko rokov pred diagnostikovaním PCH. Hyposmia alebo oslabenie čuchu predstavuje jeden z najčastejších pre-motorických príznakov PCH (Pfeiffer, 2016). Na základe zdravotnej dokumentácie sledovaných pacientov bola hyposmia prítomná u 22 % pacientov. Nižšie percento pacientov zrejme súvisí s možnosťou, že pacienti nemusia vedieť alebo vnímať, že ich čuchový zmysel je oslabený. Väčšina pacientov s PCH trpí poruchami spánku, ktoré sa môžu objaviť už desiatky rokov pred manifestáciou choroby. Poruchy spánku zahŕňajú nespavosť, syndróm nepokojných nôh, nadmernú dennú spavosť a poruchy správania sa počas REM fázy spánku. Prevalencia spánkových porúch sa pohybuje medzi 60 – 98 % (Dhawan a kol., 2006). Naše výsledky potvrdili poruchy spánku u 60 % pacientov. Z autonómnych dysfunkcií sa u pacientov najčastejšie vyskytovala obstipácia (40 %) a urogenitálne poruchy (58 %). Podkladom vzniku autonómnych dysfunkcií je neurodegeneratívne poškodenie v rôznych častiach sympatikového a parasympatikového vegetatívneho nervového systému s výskytom Lewyho teliesok a Lewyho neuritov (Palma a Kaufmann, 2014). Depresia je bežným nemotorickým príznakom PCH a môže sa vyskytnúť kedykoľvek v priebehu PCH. Štúdia Nilsson a kol. (2001) zaznamenala, že v skupine osôb trpiacich depresívnymi stavmi dochádza častejšie k vzniku a rozvoju PCH v porovnaní napr. s diabetes mellitus II. typu. V našej skupine pacientov sa depresia vyskytla u 54 % chorých a kognitívne dysfunkcie u 34 % pacientov. V štúdii Pfeiffer (2016) boli u 25 % pacientov v počiatočnej fáze PCH zaznamenané kognitívne poruchy, ktoré majú stúpajúci charakter úmerne s progresiou PCH.

V období manifestácie za motorických príznakov PCH dochádza v CNS k úbytku 30 – 50 % pigmentovaných dopamínerných neurónov s poklesom hodnôt dopamínu v striate. Nástup

motorických príznakov je zvyčajne jednostranný a asymetria pretrváva počas celej doby (Poewe a kol., 2017). Najtypickejším kardinálnym príznakom PCH je bradykinéza s prevalenciou takmer 100 % (Benetin a Valkovič, 2009). Pokojový tremor sa u pacientov s PCH vyskytuje u 70 – 90 % a môže byť najviditeľnejším príznakom (Weintraub a kol., 2008). V analyzovanej skupine pacientov bola zaznamenaná 100 % prevalencia bradykinézy a 68 % výskyt pokojového tremoru. Rigidita sa vyskytla u 80 % pacientov a posturálna instabilita u 24 %. Najčastejšou kombináciou kardinálnych príznakov bola kombinácia tremoru, bradykinézy a rigidity, ktorá sa vyskytla u 40 % pacientov s priemerným vekom 79,2 rokov. Len u 4 % pacientov sa vyskytla kombinácia bradykinézy s posturálnou instabilitou.

Výsledky farmakoterapie u pacientov s PCH počas 6 ročného obdobia od roku 2013 až 2018 ukazujú, že v priebehu rokov klesá počet pacientov s monoterapiou a stúpa počet pacientov s kombinovanou liečbou. Najčastejšie boli pacienti v monoterapii liečení levodopou spolu s inhibítorom dopamín dekarboxylázy (karbidopa) alebo dopamínovým agonistom. V roku 2013 monoterapiu užívalo až 62 % pacientov, kým v roku 2018 bola indikovaná u 24 % pacientov, čo svedčí o tom, že PCH je progresívne ochorenie. Na základe našich zistení v roku 2013 32 % pacientov užívalo len levodopu, 12 % pacientov užívalo monoterapiu pramipexolom a 12 % pacientom bol indikovaný ropinirol, kým v roku 2018 monoterapiu levodopou užíva len 14 %, ropinirol 6 % a pramipexol 4 % pacientov. Monoterapia levodopou a DA v roku 2018 bola indikovaná u pacientov so skoršími štádiami PCH s priemerom 2,5 (levodopa) a 2,4 (DA). Levodopa sa používa vždy vo fixnej kombinácii s inhibítorom dekarboxylázy. Terapia levodopou je odporúčaná vo všetkých štádiách ochorenia, či už v monoterapii v skorých fázach PCH alebo v pokročilých štádiách PCH v kombinovanej terapii (Oertel a Schulz, 2016). Výhodou levodopy je lepšia symptomatická účinnosť a relatívne nízke riziko NÚ, avšak vykazuje vyššie riziko rozvoja neskorších motorických komplikácií.

Iničiálna liečba DA preukazuje síce menší výskyt neskorších motorických komplikácií v porovnaní s monoterapiou levodopy v priebehu 5 rokov, ale DA majú vyšší výskyt nežiaducich účinkov ako je psychóza, spavosť, poruchy kontroly impulzov a edémy dolných končatín (Oertel a Schulz, 2016; Poewe a kol., 2017). DA v porovnaní s levodopou majú podstatne dlhší polčas eliminácie a tým zabezpečia fyziologickejšiu stimuláciu striatálnych neurónov (Benetin a Valkovič, 2009).

S progresiou ochorenia stúpa aj počet indikovaných antiparkinsoník. Tento nárast kombinovanej terapie antiparkinsonikami bol zaznamenaný aj v našej analýze v priebehu 6-ročného obdobia u sledovaných pacientov. V roku 2013 dvojkombináciu antiparkinsoník užívalo 36 % pacientov, ktorých počet v roku 2018 stúpol na 52 %. Trojkombináciu antiparkinsoník užívali v roku 2013 2 % pacientov a v roku 2018 až 20 % pacientov. Kolumbijská štúdia skúmala 3-mesačné predpisovanie a užívanie antiparkinsoník u 2 898 pacientov. Zistili, že 69,4 % pacientov bolo nastavených na monoterapiu a 30,6 % užívalo kombináciu dvoch a viac liekov; z toho 23,7 % dvojkombináciu, 5,3 % trojkombináciu, 1,5 % štvorkombináciu; 0,1 % užívalo 5 antiparkinsoník. Najčastejšou predpisovanou kombináciou bola levodopa + entakapon u 10,7 % pacientov (Machado-Alba a kol., 2018). Výsledky týkajúce sa farmakoterapie ukázali, že sledovaná skupina 50 pacientov podľa aktuálnej terapie z roku 2018 najčastejšie užívala kombináciu levodopy a DA (30 %) u oboch pohlaví. Priemerný vek skupiny bol 74,25 rokov a priemerné štádium HY 2,7. Levodopa v kombinácii s DA je indikovaná u pacientov s PCH v pokročilých štádiách. Výhody dvojkombinácie levodopy a DA spočívajú v zníženej frekvencii tzv. „wearing off“ stavov a v redukcii dávky levodopy (DeMaagd a Philip, 2015). Pokročilé štádium PCH je charakterizované postupným zlyhávaním dopamínergickej liečby a motorickými fluktuáciami. Základom je terapia levodopou v kombinácii s DA, inhibítormi COMT alebo MAO-B. Pridanie inhibítorov COMT alebo MAO-B k L-dope predĺži

efekt jednotlivej dávky približne o 20 % (Benetin a Valkovič, 2009). 14 % pacientov užívalo kombináciu levodopy a rasagilínu s priemerným štádiom podľa HY 3,06 a priemerným vekom 79,04 rokov. Rasagilín je novší preparát, nahradil selegilín, lebo vykazuje lepšiu účinnosť. Výsledky štúdií s rasagilínom (TEMPO a ADAGIO) ukázali, že rasagilín spomaľuje zhoršovanie PCH (Rascol a Olanow, 2009; Parkinson Study Group., 2002). U 8 % pacientov s pokročilou formou PCH s priemerným štádiom 3,75 bola indikovaná trojkombinácia levodopy + DA + amantadín, ktorý je antagonistom NMDA receptorov a zlepšuje uvoľňovanie dopamínu z presynaptických väzíkúl. Amantadín v pokročilých formách PCH zmierňuje dyskinézy a zlepšuje u pacientov stabilitu stoja a chôdze (Švihovec a kol., 2018). Najmenej užívanou kombináciou antiparkinsoník (4 %) bola kombinácia DA + rasagilín, ktorá bola indikovaná u pacientov s počiatočným priemerným štádiom PCH 1,75. Podobne 4 % pacientov užívalo dvojkombináciu DA + entakapon s priemerným štádiom PCH 3. Entakapon sa väčšinou v používa v kombinácii s levodopou, pričom zvyšuje jej dostupnosť a stabilizuje hladinu v mozgu znížením jej metabolizmu (Richter, 2011). Štvorkombinácia antiparkinsoník (levodopa + DA + rasagilín + entakapon) bola indikovaná u 4 % pacientov s pokročilou formou PCH s priemerným štádiom podľa HY 2,75.

U 50 sledovaných pacientov bola vypočítaná priemerná levodopová ekvivalentná denná dávka (LEDD) v mg/deň v priebehu rokov 2013 až 2018. V skoršej fáze PCH (štádium 1 – 2,5) sa nachádzalo 46 % pacientov s priemerným vekom 71,39 rokov a priemerným štádiom podľa HY 1,97. Pre skorú fázu PCH bola v roku 2013 celková priemerná LEDD hodnota 220,26 mg/deň, kým v roku 2018 bola 535,26 mg/deň. V pokročilejšej fáze PCH sa nachádzalo 54 % pacientov s priemerným vekom 81,14 rokov a priemerným štádiom podľa HY 3,5. Pre pokročilé štádium bola priemerná LEDD hodnota v roku 2013 255,46 mg/deň a v roku 2018 828,9 mg/deň.

V analyzovanej vzorke pacientov bol potvrdený nárast LEDD hodnoty v závislosti od fázy PCH a od štádia HY. Prvý všeobecný systematický prehľad o levodopovej ekvivalentnej dávke u pacientov s PCH bol uverejnený v roku 2010 (Tomlinson a kol., 2010). Kórejská štúdia uskutočnená na vzorke 1 762 pacientov s PCH uvádza, že priemerná LEDD hodnota pre všetkých pacientov bola 608,9 mg/deň a zároveň sa LEDD hodnota lineárne zvyšovala v závislosti od fázy ochorenia a štádia podľa HY. Podobne ako v našej analýze, najčastejšie indikovanou terapiou bola kombinácia levodopy a DA (61,2 %), potom nasledovala monoterapia levodopou (29,2 %) a monoterapia DA (6,9 %) (Jee-Young a kol., 2010).

ZÁVER

Výsledky štúdie ukazujú, že vývoj a progresia PCH sa indikovanou terapiou nedá zastaviť. Najpočetnejšiu skupinu tvorili pacienti vo vekovej skupine 81 – 90 rokov. Väčšina pacientov sa nachádzala v 3 štádiu PCH podľa modifikovanej škály Hoehnovej a Yahra (1967). Z nemotorických príznakov najviac pacientov trpelo poruchami spánku (60 %). Z kardinálnych motorických príznakov sa u pacientov najčastejšie vyskytovala bradykinéza (100 %), rigidita (80 %) a pokojový tremor (68 %). Výsledky farmakoterapie u pacientov s PCH počas 6-ročného obdobia (2013 – 2018) ukazujú, že v priebehu rokov klesá počet pacientov s monoterapiou a stúpa počet pacientov s kombinovanou liečbou. Najčastejším liečivom indikovaným v monoterapii bola levodopa. V rámci kombinovanej liečby boli pacienti najčastejšie liečení dvojkombináciou levodopa a dopamínové agonisty (30 %). Počas obdobia rokov 2013 až 2018 bol zaznamenaný nárast LEDD u pacientov v počiatočnom aj v pokročilom štádiu. Zároveň bola potvrdená závislosť medzi štádiom PCH a LEDD hodnotou, kedy v terapii pokročilejšieho štádia PCH je potrebná vyššia totálna levodopová ekvivalentná denná dávka.

ZOZNAM LITERATÚRY

- Benetin, J.: Komorbidita pri Parkinsonovej chorobe. [Comorbidity in Parkinson's disease]. *Neurológia pre prax*, 2005, 6 (5), 242 – 246.
- Benetin, J. a Valkovič, P.: *Parkinsonova choroba*. [Parkinson's disease]. 1. vyd. Bratislava: Herba, 2009. 224 s.
- Goedert, M., Spillantini, M. G., Del Tredici, K., Braak, H.: 100 years of Lewy pathology. *Nat. Rev. Neurol.*, 2013, 9 (1), 13 – 24.
- Hauser, R. A. a Zesiewicz, T. A.: Advances in the pharmacologic management of early Parkinson disease. *The Neurologist*, 2007, 13 (3), 126 – 132.
- De Lau, L. M. a Breteler, M. M.: Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurology*, 2006, 5 (6), 525 – 535.
- Demaagd, G. a Philip, A.: Parkinson's disease and its management. Part 2. *P T.*, 2015, 40, 504 – 510.
- De Rijk, M. C., Breteler, M. M., Graveland, G. A., Ott, A., Grobbee, D. E., Van der Meché F. G., Hofman, A.: Prevalence of Parkinson's disease in the elderly: the Rotterdam study. *Neurology*, 1995, 45 (12), 2143 – 2416.
- Dhawan, V., Healy, D. G., Pal, S., Ray Chaudhuri, K.: Sleep-related problems of Parkinson's disease. *Age Ageing*, 2006, 35, 220 – 228.
- International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision (ICD-10 Version:2016)*. <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en>. Accessed October 27, 2016.
- Jee-Young L., Jae, W. K., Won, Y. L., Jong-Min, K., Tae-Beom, A., Han-Joon, K., Jinwhan, Ch., Beom, S. J.: Daily dose of dopaminergic medications in Parkinson's disease: Clinical correlates and a posteriori equation. *Neurology Asia*, 2010, 15, 137 – 143.
- Machado-Alba, J. E., Calvo-Torres, L. F., Gaviria-Mendoza, A., Castrillón-Spítia, J. D.: Prescribing patterns of antiparkinson drugs in a group of Colombian patients. *Biomédica: revista del Instituto Nacional de Salud*, 2018, 38, 417 – 426.
- Miller, I. N. a Cronin-Golomb, A.: Gender differences in Parkinson's disease: clinical characteristics and cognition. *Mov. Disord.*, 2010, 25 (16), 2695 – 2703.
- Moravčíková, D., Necpál, J., Pirník, Z.: Liečba levodopa/karbidopa intestinálnym gélom ako terapia pokročilého stavu Parkinsonovej choroby. [Levodopa/carbidopa intestinal gel treatment as a therapy of the advanced stage of Parkinson's disease]. *Folia Pharmaceutica Cassoviensia*, 2019, 1 (1), 87 – 99.
- Nam, G. E., Kim, S. M., Han, K., Kim, N. H., Chung, H. S., Kim, J. W., Han, B., Cho, S. J., Yu, J. H., Park, Y. G., Choi, K. M.: Metabolic syndrome and risk of Parkinson disease: A nation wide cohort study. *Plos medicine*, 2018, 15 (8), e1002640.
- Nilsson, F. M., Kessing, L. V., Bolwig, T. G.: Increased risk of developing Parkinson's disease for patients with major affective disorder: a register study. *Acta psychiatrica Scandinavica*, 2001, 104 (5), 380 – 386.
- Oertel, W. a Schulz, J. B.: Current and experimental treatments of Parkinson disease: A guide for neuroscientists. *Journal of Neurochemistry*, 2016, 139 (Suppl. 1), 325 – 337.
- Palma, J. A. a Kaufmann, H.: Autonomic disorders predicting Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, 2014, 20 (1), 94 – 98.
- Parkinson Study Group. Dopamine transporter brain imaging to assess the effects of pramipexole vs levodopa on Parkinson disease progression. *JAMA*, 2002, 287, 1653 – 1661.
- Poewe, W., Seppi, K., Tanner, C. M., Halliday, P. M., Brundin, P., Volkmann, J., Schrag, A. E., Lang, A. E.: Parkinson disease. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 2017, 3. DOI: 10.1038/nrdp.2017.13.
- Pfeiffer, R. F.: Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, 2016, 22, 119 – 122.
- Rascol, O. a Olanow, C.: The ADAGIO delayed-start study demonstrates that early rasagiline treatment slows UPDRS decline. *In 9th International*

Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases (AP/PD) 2009, Prague, 11. – 15. 3. 2009, Ref Type: Abstract.

Richter, D.: Súčasný pohľad na liečbu Parkinsonovej choroby. [A current view on treatment of Parkinson's disease]. *Edukafarm MediNews*, 2011, 1, 37 – 38.

Rizek, P., Kumar, N., Jog, M. S.: An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease. *Canadian Medical Association journal*, 2016, 188 (16), 1157 – 1165.

Santos García, D., Suárez Castro, E., Expósito, I., de Deus, T., Tuñas, C., Aneiros, A., López Fernández, M., Núñez Arias, D., Bermúdez Torres, M.: Comorbid condition associated with Parkinson's disease: A longitudinal and comparative study with Alzheimer disease and control subjects. *J. Neurol. Sci.*, 2017, 373, 210 – 215.

Suchowersky, O., Gronseth, G., Perlmutter, J., Reich, S., Zesiewicz, T., Weiner, W. J.: Practice Parameter: Neuroprotective strategies and alternative therapies for Parkinson disease (an evidence-based review). *American Academy of Neurology*, 2006, 66, 976 – 982.

Švihovec, J., Bultas, J., Anzenbacher, P., Chládek, J., Příborský, J., Slíva, J., Votava, M.:

Farmakologie. [Pharmacology]. Praha: Grada Publishing, a. s., 2018. 219 – 227.

Tomlinson, C. L., Stowe, R., Patel, S., Rick, C., Gray, R., Clarke, C. E.: Systematic review of Levodopa dose equivalency reporting in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2010, 25 (15), 2649 – 2652.

Valkovič, P.: Súčasný pohľad na Parkinsonovu chorobu. [A current view on Parkinson's disease]. *Via practica*, 2006, 3 (5), 256 – 261.

Van Den Eeden, S. K., Tanner, C. M., Bernstein, A. L., Fross, R. D., Leimpeter, A., Bloch, D. A., Nelson, L. M.: Incidence of Parkinson's disease: variation by age, gender, and race/ethnicity. *American journal of epidemiology*, 2003, 157 (11), 1015 – 1022.

Vlček, J., Fialová, D. a kol.: *Klinická farmácie II*. [Clinical pharmacy]. 1.vyd. Praha: Grada, 2014, 157 – 170.

Weintraub, D., Comella, C. L., Horn, S.: Parkinson's disease part 1. *The American journal of managed care*, 2008, 14 (2), 40 – 48.

Yang, Y. W., Hsieh, T. F., Li, C. I., Liu, C. S., Lin, W. Y., Chiang, J. H., Li, T. C., Lin, C. C.: Increased risk of Parkinson disease with diabetes mellitus in a population-based study. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96 (3), e5921.

ALTERNATÍVNE CESTY PODANIA ANTIPSYCHOTÍK

ALTERNATIVE ROUTES OF ADMINISTRATION OF ANTIPSYCHOTICS

Kozáková, D., Wolaschka, T.

Katedra farmaceutickej technológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

tomas.wolaschka@uvlf.sk

ABSTRAKT

Antipsychotiká sú skupinou liečiv, ktoré sa používajú na liečbu psychóz. Ide o stavy, pri ktorých dochádza k poruchám myslenia, vnímania, strate kontaktu s realitou. Klinické štúdie preukázali, že zavedením antipsychotík do terapie sa výrazne znížil počet hospitalizovaných pacientov. Antipsychotiká sa môžu nachádzať v rôznych liekových formách v závislosti od frekvencie podávania. V našej štúdii sme sa venovali alternatívnym cestám podania antipsychotík. Z hľadiska zvýšenia kompliance pacientov navrhujeme použiť transdermálne terapeutické systémy, ktoré zahŕňajú kontrolované podávanie liečiva v priebehu dlhšieho časového obdobia. Praktická časť štúdie popisuje prípravu a hodnotenie matricovej náplasti. Pripravená náplasť obsahovala haloperidol, čo je typické antipsychotikum, ďalej polyetylén glykol

polyvinylpyrolidón a hydroxypropylmetylcelulózu.

Kľúčové slová: antipsychotiká; liekové formy; riadené uvoľňovanie; transdermálne terapeutické systémy

ABSTRACT

Antipsychotics are a class of drugs used to treat psychoses. These are the states in which thinking and perception disorders or loss of contact with reality occur. Clinical studies showed that the introduction of antipsychotics into the therapy significantly reduced the number of hospitalized patients. Antipsychotics may be present in a variety of dosage forms, depending on the frequency of administration. In our study we dealt with alternative routes of administration of antipsychotics. In terms of

increasing patient's compliance, transdermal therapeutic systems are proposed. They include controlled drug administration over a longer period of time. The practical part of the study describes the preparation and evaluation of the matrix patch. The prepared patch contained haloperidol, a typical antipsychotic, followed by polyethylene glycol, polyvinylpyrrolidone and hydroxypropylmethylcellulose.

Key words: antipsychotics, dosage forms, controlled release, transdermal therapeutic systems

ÚVOD

Schizofrénia je závažná psychiatrická porucha, ktorá má hlboký vplyv na jednotlivca a spoločnosť. Pochopenie etiológie a patogenézy schizofrénie a vývoj nových, účinnejších a prijateľnejších liečebných postupov zostáva jedným z najvýraznejších výziev, ktorým čelí moderná medicína. Posledné desaťročie však zaznamenalo výrazný pokrok v uplatňovaní genomiky, epidemiológie a neurovedy pri schizofrénii (Owen a kol., 2016).

Vývoj v oblasti antipsychotík má za sebou 6 desaťročí a priniesol okrem nových liečiv s lepším bezpečnostným profilom aj injekčnú depotnú formu aplikácie antipsychotík. Injekčné formy antipsychotík sú vhodné najmä pre pacientov s nedostatočnou komplianciou, u ktorých zabezpečia stabilnú hladinu liečiva v krvnej plazme, a tým nižší výskyt psychotických príhod a nežiadúcich účinkov liečiv (Bačkorová a kol., 2019).

Pre pacientov, ktorí nie sú schopní tolerovať orálnu alebo injekčnú liečbu, môže byť veľmi prínosné podávanie psychotropných liekov alternatívnymi cestami. Aj keď sú orálne a injekčné spôsoby podania relatívne dobre znášané, nie sú vždy uskutočniteľné u každého pacienta. Preto vďaka alternatívnym spôsobom podania liečiva nemusí dôjsť k prerušeniu liečby. Jedným z efektívnych riešení by mohlo byť použitie nových liekových foriem,

a to transdermálnych terapeutických systémov, ktoré v porovnaní s perorálnou liečbou tabletami majú množstvo výhod.

Táto štúdia prináša prehľad alternatívnych ciest podania antipsychotík a zároveň sa v nej pokúsime navrhnúť, pripraviť a farmaceuticky zhodnotiť matricovú náplasť s obsahom haloperidolu, ktorá predstavuje liekovú formu, ktorá vďaka svojim výhodám môže zlepšiť kvalitu života pacientom.

Alternatívne cesty podania antipsychotík

Antipsychotiká sa využívajú na liečbu schizofrénie a akútnych behaviorálnych stavov. Využívajú sa aj na liečbu asociálneho správania, motorických tikov, ako doplnková terapia u psychických depresíí, bipolárnych poruchách a mánii. V klinických štúdiách sa preukázalo, že zavedenie neuroleptík do terapie výrazne znížilo počet hospitalizovaných pacientov a umožnilo im návrat do normálneho života (Kameníková a kol., 2015). Jedná sa o heterogénnu skupinu liečiv, ktorú je možné rozdeliť na antipsychotiká prvej generácie, tzv. klasické (viď tab. 1) a druhej generácie, tzv. atypické (viď tab. 2).

Pre pacientov, ktorí nie sú schopní tolerovať orálnu alebo injekčnú liečbu, môže byť veľmi prínosné podávanie psychotropných liekov alternatívnymi cestami. Ich vývoj by tak mohol zabrániť prerušeniu liečby potrebnej k zlepšeniu stavu pacienta. Pokroky v dostupných liekových formách a alternatívne spôsoby podania lieku môžu zlepšiť pacientovu liečbu. Liekové formy môžu byť použité na rozvoj cielenej terapie a alternatívne cesty na zvýšenie adherencie, pohodlia pacienta. Aj keď sú orálne a injekčné spôsoby podania relatívne dobre znášané, nie sú vždy uskutočniteľné u každého pacienta. K pacientom, u ktorých je problém podať perorálnu liečbu zaradujeme tých, ktorí majú ťažkosti s prehĺtaním, sú v bezvedomí, majú gastrointestinálne abnormality alebo ich stav vyžaduje oddych čriev.

Ak sa pozrieme na intravenóznou alebo intramuskulárnu aplikáciu lieku, tá nemusí byť k dispozícii pre všetky lieky. Preto vďaka alternatívnym

Tab. 1: Klasické antipsychotiká

Liečivo	Dostupné liekové formy	Komentár
Incizívne antipsychotiká		
haloperidol	tbl, gtt, sol inj, solo inj depot	riziko EPS; využívaný hlavne v akútnom štádiu pri agitovanosti a v depotnej forme
flufenazín	solo inj depot	dlhodobá liečba
Bazálne antipsychotiká		
flupentixol	solo inj depot	dlhodobá liečba
zúklopentixol	tbl flm, solo inj depot	účinný predovšetkým na pozitívne symptómy
chlórpromazín	sol inj	v súčasnosti zriedkavo využívaný ako primárna liečba
chlórprotixén	tbl flm	ako prídavná liečba, anxiolytické účinky
levomepromazín	tbl flm, sol inj	tlmivý účinok, riziko ortostatických kolapsov

tbl – tablety, tbl flm – filmom obalené tablety, gtt – perorálne kvapky, sol inj – injekčný roztok, solo inj depot – injekčný olejový roztok s predĺženým uvoľňovaním, EPS – extrapyramídové symptómy

Tab. 2: Incizívne antipsychotiká

Liečivo	Dostupné liekové formy	Komentár
Parciálne dopamínové antagonisty (DPA)		
aripirazol	tbl, tbl oro, plu igf	prolaktín šetriaci
Serotonínové a dopamínové antagonisty (SDA)		
paliperidón	tbl plg, sus ijp	metabolit risperidónu
risperidón	tbl flm, sol por, plu igf	základné atypické antipsychotiká so širokým využitím, zvýšenie prolaktínu, EPS pri vysokých dávkach
sertindol	tbl flm	minimálne EPS, vhodný pri negatívnom syndróme, potrebná kontrola EKG
ziprasidón	cps dur	má čiastočne aktivačný – antidepresívny efekt
Multireceptorové antagonisty (MARTA)		
olanzapín	tbl oro, tbl flm, plu igf, plv ino	široko využiteľný, riziko metabolického syndrómu
kvetiapín	tbl flm, tbl plg	zanedbateľné riziko EPS, antidepresívny efekt
klozapín	tbl obd	schizofrénia rezistentná na liečbu; nevyhnutné kontroly diferenciálny KO pre riziko agranulocytózy
zotepín	tbl obd	účinný hlavne na pozitívne symptómy, tlmivý efekt vo vyšších dávkach
Selektívne dopamínové antagonisty (DSA)		
amisulprid	tbl, tbl flm	v nižších dávkach antidepresívny efekt, zvýšenie prolaktínu
sulpirid	cps	využívaný antidepresívny efekt
tiaprid	tbl, gtt	využívaný v gerontopsychiatrii a pri liečbe delíria

cps – kapsuly, tbl – tablety, tbl flm – filmom obalené tablety, tbl oro – orodispergovateľné tablety, tbl – obd – obalené tablety, tbl plg – tablety s predĺženým uvoľňovaním, gtt – perorálne kvapky, plu igf – prášok a disperzné prostredie na injekčnú suspenziu s predĺženým uvoľňovaním, plv inj – prášok na injekčný roztok, sol por – perorálny roztok, EPS – extrapyramídové symptómy, EKG – elektrokardiogram, KO – krvný obraz

spôsobom podania liečiva vieme zabezpečiť terapiu pacientov, ktorí nie sú schopní tolerovať tradičné liekové formy a nemusia tak dôjsť k prerušeniu liečby. Z toho vyplýva, že vývoj a používanie alternatívnych ciest podávania psychotropných látok sú veľmi žiaduce. Rozvoj alternatívnych ciest podania je možný len u liekov, ktorých farmakokinetika a fyzikálno-chemické vlastnosti umožňujú účinnú permeáciu liečiva prostredníctvom inhalačných, intranazálnych, sublingválnych, bukalných, transdermálnych ciest podania (Kaminsky a kol., 2015).

Inhalačná cesta podania

Podávanie liekov prostredníctvom pľúc je výhodné hlavne pre lokálne terapeutické účinky pri chorobných stavoch pľúcneho systému. Vďaka veľkej ploche pľúc a dobrej relatívnej priepustnosti vaskulárneho systému je tento spôsob aplikácie lieku prospešnou voľbou pre systémovo pôsobiace lieky. Dá sa povedať, že absorpcia prostredníctvom tejto cesty je najrýchlejšia. Všeobecne sa môže inhalačne podať dávka približne 20 mg. Ideálne sú liečivá s molekulovou hmotnosťou menšou ako 10 000 g/mol, $\log P = -1 - 2$ a $pK_a = 4 - 9$. Aby mohli byť liečivá podávané prostredníctvom pľúc, ich absorpcia nesmie podliehať rušeniu mukociliárnym klírensom, pľúcnyimi povrchovo aktívnymi látkami alebo enzymatickou degradáciou. Systém dodávania liečiva touto cestou musí mať príslušnú veľkosť častíc a molekulovú hmotnosť. Rozpustnosť liečiva, prípadne ochorenie pľúc môžu tiež ovplyvňovať absorpciu liečiv. Pri podaní liečiv touto cestou môže dôjsť k bronchospazmu a taktiež tento spôsob podania nemusí byť vhodný pre pacientov trpiacich ochorením pľúc (Kaminsky a kol., 2015). Na svetovom trhu je z psychotropných látok pre orálnu inhaláciu do pľúc k dispozícii loxapín (Adasuve). V rámci klinickej štúdie sa inhalačná forma loxapínu podávala na liečbu akútnej agitovanosti spojenej so schizofréniou a bipolárnou poruchou. Jednorazový inhalátor s indikátorom zobrazujúcim aplikovanosť dávky obsahoval placebo alebo 5 mg, resp. 10 mg loxapínu. Klinické zlepšenie nastávalo v priemere 10 minút po

úvodnej dávke. Z NÚ sa oproti placebo mierne zvýšil výskyt dysgeúzie (5,7 % vs. 17,2 %) a sedácie (2,9 % vs. 6,2 %). Keďže je tu riziko vzniku bronchospazmu, inhalovaný loxapín má aj obmedzené použitie, napr. v zdravotníckych zariadeniach, schopných zvládnuť bronchospazmus – schopnosť poskytnúť riadené dýchanie, intubáciu (Kwentus a kol., 2012).

Intranazálna cesta podania

Podávanie liekov prostredníctvom nosovej dutiny umožňuje rýchlu absorpciu liečiva a rýchly nástup terapeutických účinkov. Intranazálne podanie sa môže použiť na podanie dávky približne 20 mg. Ideálne sú liečivá, ktorých molekulová hmotnosť je menšia ako 1000 g/mol, $\log P = 1 - 4$, $pK_a = 4 - 9$. Zatiaľ čo intranazálne podanie bráni systémovému zriedeniu a first-pass efektu, absorpcia liečiva touto cestou môže byť obmedzená nízkou lipofilitou, enzymatickou degradáciou, veľkou molekulovou hmotnosťou a mukociliárnym klírensom nosových dutín. Možnosť podráždenia a nepríjemný zápach samotného liečiva alebo neaktívnych excipientov sú tiež dôležitými faktormi, ktoré je potrebné brať do úvahy pri vývoji liekov podávaných prostredníctvom tejto cesty (Mathias a Hussain, 2010).

Malá farmakokinetická štúdia skúmala potenciálne intranazálne podanie antipsychotika haloperidolu. Do tejto štúdie boli zapojení 4 zdraví dobrovoľníci, ktorí dostali jednu 2,5 mg dávku haloperidolu podanú intravenóznou, intramuskulárnou a intranazálnou cestou, pričom každá dávka bola oddelená 2-týždňovým intervalom. Vzorky krvi boli získané počas prvých 48 hodín po podaní. Intranazálny haloperidol dosiahol svoju vrcholovú koncentráciu po 15 minútach ($C_{\max} = 9,8 \text{ ng.ml}^{-1}$) obdobne ako po intravenóznom podaní ($C_{\max} = 23,3 \text{ ng.ml}^{-1}$), zatiaľ čo po intramuskulárnom podaní bolo maximum dosiahnuté po 37,5 minútach ($C_{\max} = 8,4 \text{ ng.ml}^{-1}$). Maximálna hladina haloperidolu v krvi po intranazálnej aplikácii bola porovnateľná s intramuskulárnou, ale menej ako polovičná (42 %) z hodnoty po intravenózne aplikácii. Absolútna biologická dostupnosť počítaná z plochy

pod krivkou bola pri intranazálnej a intramuskulárnej aplikácii 63,8 %; resp. 134 % oproti intravenózne aplikácii (100 %). Pri intranazálnej aplikácii bol okrem prvého maxima hladiny haloperidolu v plazme pozorovaný aj druhý pík koncentrácie po 30, resp. 45 minútach u dvoch subjektov. Druhý pík koncentrácie súvisí pravdepodobne s absorpciou haloperidolu, ktorý bol prehltnutý. Z NÚ, ktoré sa objavili po intranazálnom podaní, to boli lokálne podráždenie a slzenie očí (Miller a kol., 2008).

Bukálna cesta podania

Bukálnou cestou je liečivo absorbované cez stenu líc a môže dosahovať lokálne alebo systémové účinky. Bukálna sliznica je v porovnaní so sublingválnou menej priepustná a vedie k pomalejšej absorpcii. Lieky s dlhým polčasom rozpadu a širokým terapeutickým indexom sú najvhodnejšie na bukálne podanie. Ukončenie ich pôsobenia sa dá ľahko dosiahnuť ich odstránením z tejto oblasti. Konzumácia potravy alebo nápoja krátko pred alebo po podaní môže ovplyvniť absorpciu liečiva aj jeho terapeutické účinky. Hoci aplikácia týmto spôsobom predstavuje vhodný a neinvazívny spôsob podávania liekov, pacienti musia byť schopní udržať liečivo v styku s bukálnym tkanivom, aby sa dosiahol terapeutický efekt. Pri formovaní takéhoto typu lieku sa venuje pozornosť horkosti chuti alebo sklonu k vyvolaniu žalúdočnej neznášanlivosti alebo nauzey (Thompson a DiMartini, 1999).

Na našom trhu nie sú k dispozícii antipsychotiká v bukálnej forme. Farmakokinetická štúdia Heemstra a kol. (2010) bola zameraná na permeabilitu risperidónu cez bukálnu sliznicu prasiat a vplyv použitia Azonu®, látky zvyšujúcej permeáciu. Aplikácia mukoadhezívneho gélu s risperidónom viedla k ustálenej permeabilite $64,65 \pm 8,0 \text{ mg/cm}^2/\text{h}$, čo pri extrapolácii na *in vivo* podmienky viedlo k predpokladaným plazmatickým koncentráciám risperidónu v rozsahu $11,2 - 56,1 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ pri bukálnej aplikácii na ploche $2 - 10 \text{ cm}^2$. Keďže predpokladané hladiny risperidónu boli na úrovni terapeutických hladín, autori konštatovali, že bukálna aplikácia

risperidónu má potenciál dosiahnuť terapeuticky relevantné plazmatické koncentrácie pre liečbu schizofrénie.

Sublingválna cesta podania

Pri sublingválnom podaní sa liek umiestňuje medzi jazyk a spodný povrch úst. Sublingválna sliznica je relatívne permeabilná a poskytuje prístup k sieti kapilár, výsledkom čoho je rýchla absorpcia lieku. Sublingválne podávanie zabráňuje first-pass efektu a pokiaľ ide o zastavenie absorpcie liečiva, vieme ho ľahko dosiahnuť, a to jeho odstránením z miesta pôsobenia. Tým, že je sliznica pod jazykom viac permeabilná a koncentruje sa tu viac slín, sublingválne podanie oproti bukálnemu podaniu poskytuje rýchlejšie a menej riadené uvoľňovanie. Sublingválnou cestou je možné podať 20 až 30 mg liečiva. Ideálna je molekulová hmotnosť menej ako 500 g/mol , $\log P = 2 - 4$ a $\text{pKa} = 4 - 9$ (Mathias a Hussain, 2010). Medzi komplikácie, ktoré môžu vzniknúť v mieste aplikácie, radíme toleranciu chuti alebo lokálne podráždenie. Tie môžu obmedziť podávanie liekov tohto typu, keďže sublingválna sliznica je veľmi tenká. Azenapín (Saphris) je sublingválne antipsychotikum schválené FDA v USA. Sublingválna formulácia azenapínu viedla k výrazne vyššej biologickej dostupnosti (35 %) oproti perorálnej aplikácii (2 %). Výrobca odporúča nejst' a nepiť 10 minút po sublingválnom podaní azenapínu (Food and drug administration, 2014).

V rámci malej klinickej štúdie s 10 dobrovoľníkmi bol podávaný olanzapín 5 mg tromi spôsobmi perorálne (tablety), orálne a sublingválne (orodispergovateľné tablety). Pri perorálnom podaní bol olanzapín v plazme detekovateľný po 30 minútach, zatiaľ čo po orálnom a sublingválnom podaní po 10 minútach. Čas na dosiahnutie maximálnej plazmatickej hladiny bol pri aplikácii orálnej $3,47 \text{ hod}$ ($7,10 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), sublingválnej $3,77 \text{ hod}$ ($6,82 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) a perorálnej $4,37 \text{ hod}$ ($7,09 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). Napriek uvedeným rozdielom bola celková biologická dostupnosť všetkých troch aplikácií porovnateľná (Markowitz a kol, 2006).

Transdermálna cesta podania

Táto forma podania má niekoľko výhod, medzi ktoré patrí vyhnutie sa first-pass efektu a kontrolované podávanie liečiva v priebehu dlhšieho časového obdobia. Transdermálne podávané liečivá sa uvoľňujú z transdermálnej formy do subkutánneho tkaniva, difundujú do epidermálneho a dermálneho tkaniva až do kapilár. Po odstránení dávkovacieho systému sa vstrebávanie zastaví, no niektoré liečivá sa budú ďalej absorbovať zo zásoby, ktorá sa zhromaždila v kožných tkanivách. Transdermálna aplikácia sa volí u liečiv, ktoré sa podávajú v dávke 10 mg alebo menej. Ideálna je molekulová hmotnosť menej ako 500 g/mol, $\log P > 2 - 5$ a liečivo musí byť v neionizovanom stave. Táto cesta nie je spojená s rýchlym nástupom účinku, je však výhodná pre liečivá, ktoré vyžadujú pomalý nástup účinku a vyrovnané plazmatické hladiny. Aj keď transdermálne podanie môže zvyšovať kompliance pacienta, keďže ide o neinvazívnu metódu so zníženou frekvenciou dávkovania, je dôležité spomenúť, že môže dochádzať k podráždeniu pokožky do tej miery, že si to vyžaduje odstránenie náplasti (Mathias a Hussain, 2010).

V rámci bioformulačnej štúdie boli pripravené transdermálne organogély s haloperidolom. Organogél, označovaný ako GP1, pozostával z gélotvornej látky dibutylaurylglutamínu a rozpúšťadla propylénglykolu. Na zvýšenie permeácie boli použité terpeny (limonén, linalool a cineol). Limonén najviac zvyšoval permeáciu haloperidolu cez modelovú ľudskú kožu, zároveň zvyšoval viskozitu a elasticitu organogélu. Postupné zvyšovanie koncentrácie gélotvornej látky (2 % až 8 %) vo formulácii spomaľovalo uvoľňovanie haloperidolu z gélu a následne jeho permeáciu kožou (Lim a kol., 2006).

MATERIÁL A METÓDY

Materiál

V experimentálnej časti sme sa venovali príprave transdermálnych náplastí s obsahom

Tab. 3: Koncentrácie kalibračných roztokov

Kalibračný roztok	Riedenie	Koncentrácia	
		%	$\mu\text{g.ml}^{-1}$
0		100	100
1	5:5	50	50
2	4:6	40	40
3	3:7	30	30
4	2:8	20	20
5	1:9	10	10

haloperidolu. Náplasti boli vyrobené s rôznym pomerom pomocných látok. Ako pomocné látky sme použili hydroxypropylmetylcelulózu (HPMC), polyvinylpyrrolidón (PVP) a plastifikátor. Za plastifikátor sme zvolili polyetylénglykol (PEG), glycerol (G) alebo propylénglykol (PG).

Spektrálna analýza a kalibračná priamka haloperidolu

Na určenie koncentrácie haloperidolu v disolučnom médiu sme potrebovali stanoviť kalibračnú priamku. Spektrofotometricky sme merali absorbanciu kalibračných roztokov haloperidolu (viď tab. 3) pri vlnovej dĺžke 245 nm, ktorú sme použili aj v predchádzajúcej práci (Rohal'ová a Wolaschka, 2019).

Pre potvrdenie absorbčného maxima sme vykonali spektrálnu analýzu v rozsahu 200 – 400 nm v intervale 5 nm použitím roztoku haloperidolu s koncentráciou $30 \mu\text{g.ml}^{-1}$. Následne sme vyvodili závislosť absorbancie od koncentrácie haloperidolu v roztoku a zostrojili kalibračnú priamku. Absorbanciu predstavoval priemer troch meraní každého kalibračného roztoku.

Príprava polymérnych filmov

Filmy s obsahom PVP sme pripravovali v Petriho miskách s priemerom 5 cm. Na analytických váhach sme si navážili suroviny pre každý film samostatne. V kadičke s destilovanou vodou sme za stáleho miešania pomocou sklenenej tyčinky rozpustili

Tab. 4: Zloženie filmov pre stanovenie ich fyzikálnych vlastností

Film	HPMC (mg)	PVP (mg)	PEG (μl)	PG (μl)	Voda (g)
H:P 7:3	224	96	–	–	8
H:P 1:1	160	160	–	–	8
H:P 3:1	96	224	–	–	8
H:P 7:3 PEG1	224	96	32	–	8
H:P 1:1 PEG1	160	160	32	–	8
H:P 3:1 PEG1	96	224	32	–	8
H:P 7:3 PEG2	224	96	64	–	8
H:P 1:1 PEG2	160	160	64	–	8
H:P 3:1 PEG2	96	224	64	–	8
H:P 7:3 PEG3	224	96	96	–	8
H:P 1:1 PEG3	160	160	96	–	8
H:P 3:1 PEG	96	224	96	–	8
H:P 7:3 PG1	224	96	–	32	8
H:P 1:1 PG1	160	160	–	32	8
H:P 3:1 PG1	96	224	–	32	8
H:P 7:3 PG2	224	96	–	64	8
H:P 1:1 PG2	160	160	–	64	8
H:P 3:1 PG2	96	224	–	64	8
H:P 7:3 PG3	224	96	–	96	8
H:P 1:1 PG3	160	160	–	96	8
H:P 3:1 PG3	96	224	–	96	8

H – HPMC, P – PVP

potrebné množstvo PVP. Po rozpustení PVP sme takto pripravený koloidný roztok vyliali do Petriho misky. Filmy sme sušili v sušičke pri teplote 50 °C po dobu 12 hodín. Po uplynutí tejto doby sme filmy zo sušičky vybrali a dosušili na vzduchu pri laboratórnych podmienkach približne 12 hodín.

Na prípravu filmov s HPMC sme použili zásobný roztok s koncentráciou 3,85 %. Ten sme vylievali do Petriho misiek, ktoré mali priemer 5 cm. Za stáleho intenzívneho miešania sme postupne pridávali potrebné množstvo HPMC do 2/3 objemu destilovanej vody. Tá bola zahriata na 90 °C. Po tom, čo sme pridali celé množstvo HPMC, doplnili sme chýbajúci objem vody, a to destilovanou vodou vychladenou na 5 °C. Pripravenú zmes sme uložili do

chladničky na 1 hodinu. Množstvo gélu potrebného na jednu Petriho misku sme naberali do skúmaviek s uzáverom. Následne sme pomocou mikropipety pridávali plastifikátor. Príslušné množstvo plastifikátora bolo prepočítané na objem. Bolo potrebné, aby sme polymér a plastifikátor premiešali a preto sme skúmavky s daným obsahom zahriali vo vodnom kúpeli, ktorý mal teplotu 80 °C, a to približne 15 minút. Po vybratí skúmaviek z vodného kúpeľa bol ich obsah skvapalnený a bolo možné skúmavky pretrepať. Následne sme ich vložili do centrifúgy a nechali centrifugovať po dobu 5 minút pri 3000 rpm. Ak sme pozorovali, že v hornej časti skúmavky, pod uzáverom sú nazhromaždené vzduchové bubliny, odstránili sme ich lyžičkou.

Obsah skúmaviek sme vyliali do Petriho misiek, no ešte predtým sme skúmavky opätovne zahriali vo vodnom kúpeli. Dôvodom bolo dosiahnutie nižšej viskozity. Polymérne filmy sme sušili v sušičke pri teplote 50 °C, a to 8 hodín. Po vysušení a vybratí filmov z Petriho misiek sme ich skladovali pri laboratórnych podmienkach, s obmedzeným prístupom vzduchu i vlhkosti.

Pripravili sme polyméry HPMC:PVP v pomeroch 7:3, 1:1, 3:7 a ku každému sme pridali plastifikátor PEG a PG, a to v troch rôznych množstvách (viď tab. 4). Na prípravu polymérov v rôznych pomeroch sme použili postupy, ktoré sme spomenuli vyššie. Roztok PVP sme pripravovali do kadičky stále iba v množstve potrebnom pre daný film. Naopak, roztok HPMC sme si pripravili do zásoby a následne sme z neho navažovali do skúmaviek dané množstvo pre konkrétny film. K HPMC sme pridali roztok PVP a predtým, ako sme skúmavku uzavreli, pridali sme ešte plastifikátor v príslušnom množstve. Do pripraveného vodného kúpeľa s teplotou 80 °C sme dali skúmavku zohriať. Roztoky sme po skvapalnení pretrepali a dali centrifugovať do centrifúgy. V prípade, že v skúmavke boli prítomné vzduchové bubliny, odstránili sme ich. Skúmavky sme opäť zahriali a obsah vyliali na Petriho misku. Filmy sme potom umiestnili do sušičky, kde sa sušili pri teplote 50 °C 16 hodín.

Fyzikálne vlastnosti filmov

Aby sme zhodnotili vlastnosti filmov, ktoré sme doposiaľ pripravili, vykonali sme tieto testy: skladacia sila (odpor), plochosť (percento stiahnutia). Na vykonanie skúšok bolo potrebné si vyrobené filmy upraviť. Filmy sme nastrihali na štvorce o veľkosti 1 cm². Priemer troch nameraných hodnôt predstavoval výslednú hodnotu každého merania.

Skladacia sila (odpor)

Film sme diagonálne prekladali v tom istom smere a zlome, kým nedošlo k zjavnému poškodeniu (prasklina, pretrhnutie). Skladacia sila je vyjadrená počtom prehnutí, pri ktorom nedošlo k poškodeniu

náplasti. Za náplast' dostatočne odolnú sme považovali tú, u ktorej nedošlo k viditeľnému poškodeniu po stonásobnom prehnutí.

Plochosť (percento stiahnutia)

Z filmu dlhého 1 cm sme odrezali prúžky po bokoch a zo stredu filmu (l_1). Po odrezaní sme zmerali dĺžku prúžkov po nožnej zmene (l_2), vzniknutej v dôsledku nejednotnosti v hrúbke plochy, pričom 0 % stiahnutie znamená 100 % plochosť povrchu. Percento stiahnutia sme vypočítali podľa vzorca:

$$\% = \frac{l_1 - l_2}{l_2} \cdot 100$$

Disolučná skúška

Na základe získaných fyzikálnych vlastností náplasti bez liečiva sme vybrali najvhodnejšiu formuláciu so stredným množstvom PEG. Pripravili sme náplasti s tromi pomermi HPMC a PVP, stredným množstvom PEG bez haloperidolu (kontrola) a s haloperidolom (vzorky). Pripravené vzorky náplasti s haloperidolom sme podrobili skúške disolúcie, absorbanciu sme merali oproti odberom kontrolných náplasti s rovnakým zložením bez haloperidolu. Zloženie filmov pre disolúciu je znázornené v tabuľke 5.

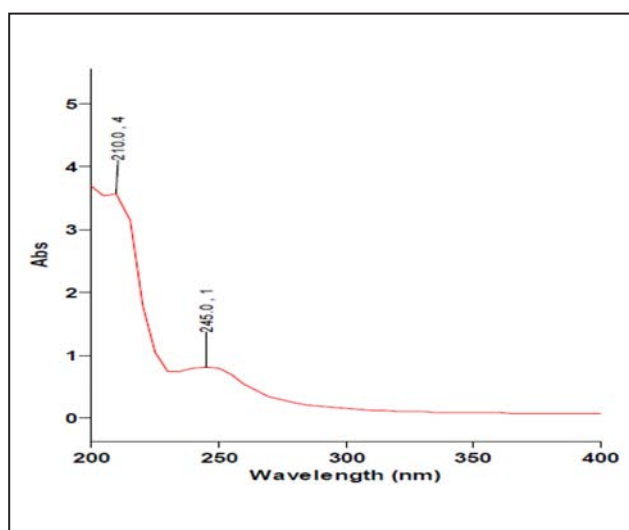
Použili sme disolučný prístroj, kde úlohu miešania plnilo lopatkové miešadlo. Jednotlivé vysušené vzorky sme umiestnili do sklenených nádob a upevnili ich sieťkou, ktorá mala rovnaký priemer ako bol priemer Petriho misiek. Nasadili sme gumové úchytky po bokoch Petriho misiek, aby sme sieťku zafixovali. Sieťka mala za úlohu udržať polohu náplasti rovnobežne so skleneným dnom nádoby a dolnou hranou miešadla. Vrstva, ktorá uvoľňovala liečivo, smerovala stále nahor a nie naopak. Chceli sme vedieť, či použité materiály budú/nebudú nejako reagovať s haloperidolom. V prípade, že by dochádzalo k interakcii, mohli by vzniknúť medziprodukty, ktoré by negatívne ovplyvnili spektrofotometrické stanovenie haloperidolu. Aby sme tomu predišli, rozhodli sme sa vykonať disolučný test, kde sme použili čistú Petriho misku, Petriho

Tab. 5: Zloženie filmov pre disolúciu

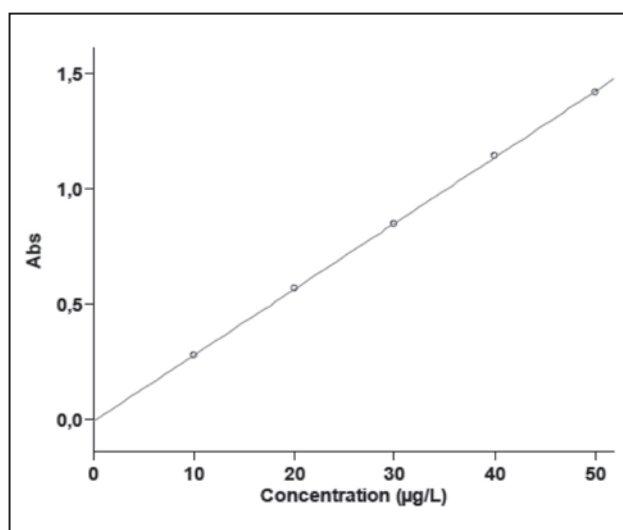
Film	HPMC (mg)	PVP (mg)	PEG (μl)	Voda (g)	haloperidol (mg)
H:P 7:3 PEG2 Kontrola	224	96	77	8	–
H:P 1:1 PEG2 Kontrola	160	160	77	8	–
H:P 3:1 PEG2 Kontrola	96	224	77	8	–
H:P 7:3 PEG2	224	96	77	8	15
H:P 1:1 PEG2	160	160	77	8	15
H:P 3:1 PEG2	96	224	77	8	15

H – HPMC, P – PVP

Graf 1: Absorbčné spektrum 30 μg.ml⁻¹ haloperidolu



Graf 2: Kalibračná priamka haloperidolu



misku s úchytmi a Petriho misku s úchytmi a sitom, a to v disolučnom médiu s prídavkom haloperidolu. Test trval 12 hodín. Výsledkom boli minimálne odchýlky v hodnotách absorbančie. Spektrálnou analýzou sme zistili prítomnosť samotného haloperidolu, a teda neprítomnosť medziproduktov.

Rýchlosť otáčania miešadla sme nastavili na 50 otáčok/min. Vodný kúpeľ sme udržiavali pri teplote 32 °C (± 0,5). Naše disolučné médium tvoril acetátový pufer (pH 4,5). Pozostával z octanu sodného (2,99 g) a kyseliny octovej (14 ml, 2 mol.l⁻¹) na liter vody. Do každej z ôsmich sklenených nádob sme naliali 500 ml disolučného média, ktoré sme vždy po odbere 2 ml doplnili 2 ml čistého média. Disolučné médium sme pripravovali každý deň nanovo a to v objeme, ktorý bol potrebný na vykonanie jedného disolučného testu.

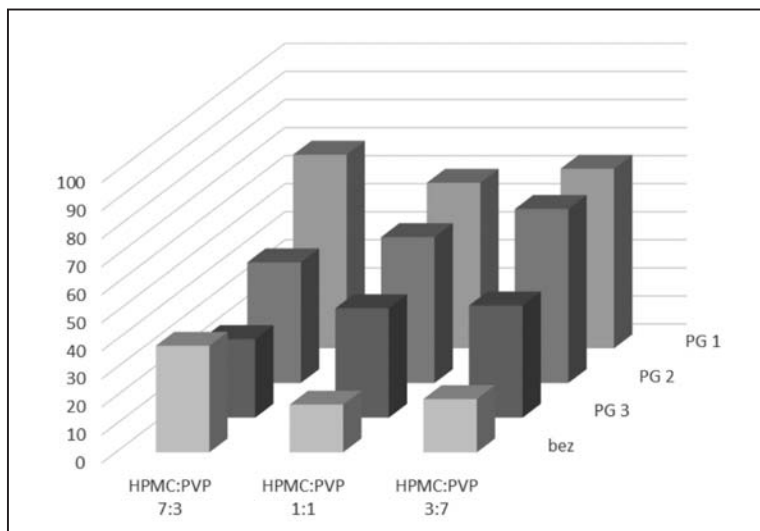
Vzorky sme odoberali osemkrát v týchto časoch: 15, 30, 60 minút, 2, 4, 6, 8 a 24 hodín. Na odobratie vzoriek sme použili injekčné striekačky s ihlou. Absorbanciu odobratých vzoriek sme merali vždy až po poslednom odbere, teda po 24 hodinách. Disolúcia sa uskutočňovala vždy s jedným z troch pomerov HPMC:PVP. Ostatné filmy boli zatiaľ skladované v podmienkach, ktoré zahŕňajú obmedzený prístup vzduchu i svetla.

VÝSLEDKY

Spektrálna analýza a kalibračná priamka haloperidolu

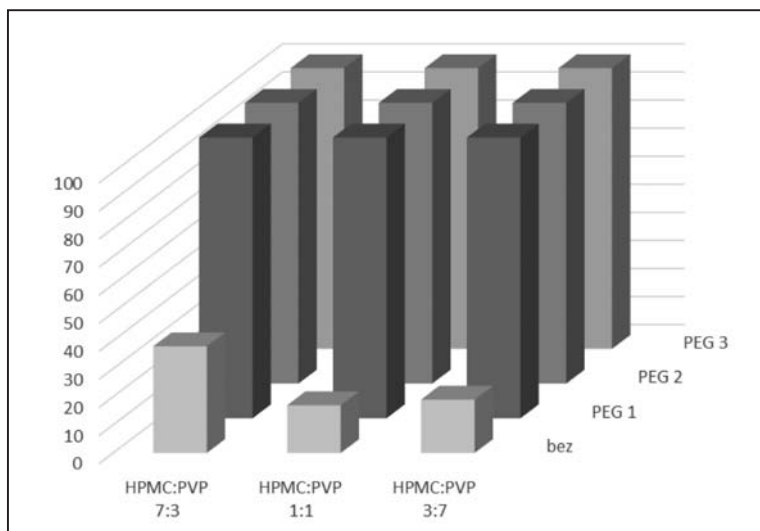
V rámci spektrálnej analýzy sme potvrdili absorbčné maximum pri vlnovej dĺžke 245 nm a

Graf 3: Počet prehnutí filmov bez plastifikátora a s plastifikátorom PG



PG 1= 32 µl, PG 2 = 64 µl, PG 3 = 96 µl

Graf 4: Počet prehnutí filmov bez plastifikátora a s plastifikátorom PEG



PEG 1= 32 µl, PEG 2 = 64 µl, PEG 3 = 96 µl

zaznamenali aj maximum pri vlnovej dĺžke 210 nm (vid' graf 1). Vzorec kalibračnej priamky (vid' graf 2) je $Abs = 0,02864 * Conc - 0,00484$, $R^2 = 0,99990$.

Skladacia sila

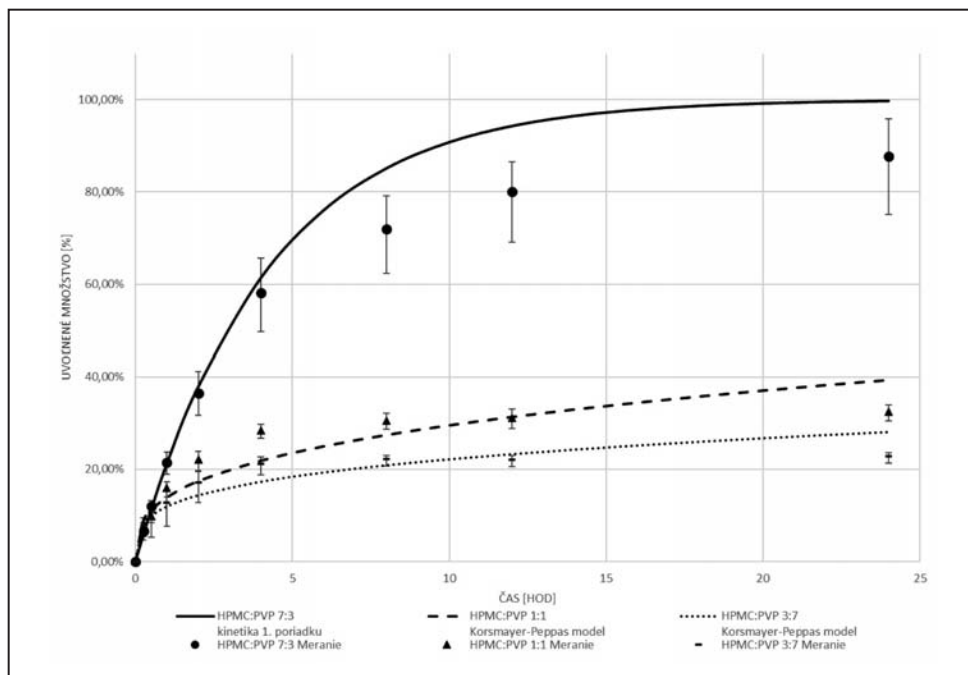
Smerodajnou skúškou pri výbere plastifikátora bola skúška skladacej sily. Išlo o jednoduchý test, ktorý poukázal na dôležitosť prídavku zmäkčovadla do jednotlivých formulácií. Filmy pripravené zo zmesi HPMC:PVP v pomere 7:3, 1:1 a 3:7 bez plastifikátora

boli viditeľne poškodené po 38, 17 a 19 prehnutiach. Prídaním PG sa krehkosť filmov zlepšila, no výsledná flexibilita stále nebola dostatočujúca (vid' graf 3).

Po pridaní PEG sme dosiahli dostatočnú ohybnosť pripravených filmov (vid' graf 4). Každý film s prídavkom PEG odolal viac ako 100 prehnutiam v rovnakom smere a ani po takomto namáhaní na filmoch neboli viditeľné žiadne známky ani najmenšieho opotrebenia či zhoršenia kvality.

Jednotlivé plastifikátory od najväčšej po najmen-

Graf 5: Disolúcia náplastí haloperidolu s jednotlivými pomermi polymérov a PEG



šiu koncentráciu zmäkčili všetky formulácie v priemere nasledovne: PG – 36, 52, 64 a PEG – 100, 100, 100. Uvedené hodnoty sú priemerom nameraných počtov prehnutí, po ktorých boli filmy viditeľne poškodené. Preto sme sa pre prípravu náplastí rozhodli použiť prídavok PEG.

dza pri zvýšenom obsahu povidónu. Pri formuláciách, kde je pomer HPMC:PVP 1:1 a 3:7 kinetiku uvoľňovania liečiva najviac vystihuje model Korsmayer-Peppas.

DISKUSIA

Plochosť (percento stiahnutia)

Percento stiahnutia sme skúšali u náhodne zvolených filmov. Na túto skúšku sme vybrali päť filmov z HPMC aj z pomeru HPMC:PVP. U všetkých vzoriek bolo percento rovné 0, z čoho vyplýva, že filmy môžeme považovať za 100 % ploché.

Skúška disolúcie

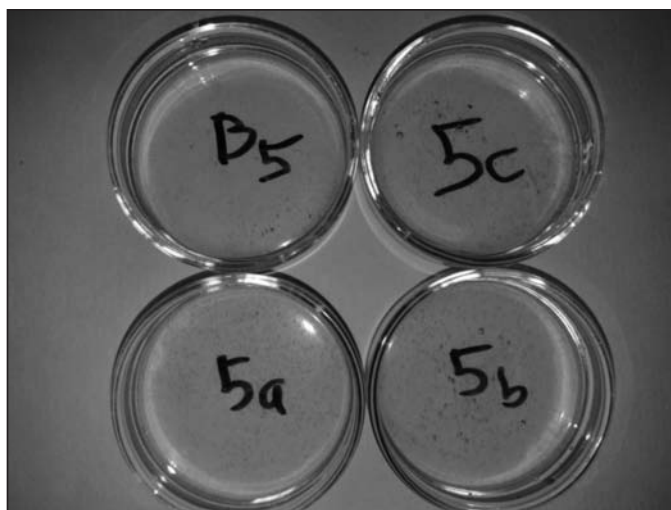
Z grafu 5 môžeme vyčítať, že za daný čas sa uvoľnilo najviac liečiva z pomeru HPMC:PVP 7:3. Uvoľňovanie liečiva z filmu s najvyšším obsahom HPMC má najbližšie ku kinetike prvého poriadku. Ako sa znižuje množstvo hypromelózy vo formulácii, mení sa aj kinetika uvoľňovania liečiva. K spomaleniu uvoľňovania liečiva dochá-

Navrhli a pripravili sme matricové systémy bez adhezíva ako liekovú formu, ktorá má vlastnosti vedúce k zvýšeniu efektivity antipsychotickej terapie. Vo formulácii sme zvolili použitie HPMC, PVP a PEG. Liečivo sme suspendovali, pretože sa vo vode prakticky nerozpúšťa. Ako zmäkčovadlo sme zvolili PEG. Spomedzi dvojice plastifikátorov, PEG a PG, sme podľa skúšok skladacej sily, plochosti (percenta stiahnutia) vyhodnotili práve PEG ako vhodnejší. Úlohou plastifikátorov je znížiť tuhosť polymérov, a to tak, že pri vysychaní polymérnych gélov zabránia agregácii polymérnych molekúl pri odparovaní rozpúšťadla naviazaním sa na tieto molekuly. Počet kontaktov polymér – polymér sa tak zníži a flexibilita systému sa naopak zvýši. Rovnaký efekt zmäkčenia

Obr. 1: Filmy HPMC:PVP 7:3 s PEG odliate v Petriho miskách, B4 – bez haloperidolu, 4a, 4b, 4c – vzorky s haloperidolom



Obr. 2: Filmy HPMC:PVP 1:1 s PEG odliate v Petriho miskách, B5 – bez haloperidolu, 5a, 5b, 5c – vzorky s haloperidolom



Obr. 3: Filmy HPMC:PVP 3:7 s PEG odliate v Petriho miskách, B6 – bez haloperidolu, 6a, 6b, 6c – vzorky s haloperidolom



má aj zvyšková voda v polyméroch (Aulton a kol., 1989). Zaujímavé je zistenie, že zvyšovanie koncentrácie PG viedlo k zníženej pružnosti filmov, rovnako zvýšený podiel HPMC vo formulácii znižoval plastifikačnú účinnosť PG. Veľmi dôležité je pri výrobe stanoviť vhodný čas sušenia. Vysušenie filmov na 100 % nemusí byť vždy žiadané. Prídavok PEG predĺžil pevnosť filmov a všetky formulácie tak odolali 100 ohnutiam v rovnakom smere. Nami pripravené formulácie boli uniformné čo sa týka hrúbky a hmotnosti, priehľadné i flexibilné. So zvyšujúcim sa obsahom HPMC sme vo vzorkách pozorovali väčšie množstvo vzduchových bublín, a naopak, s pribúdajúcim množstvom PVP boli vzorky viac uniformné (viď obr. 1, 2 a 3). Pomer HPMC:PVP 3:7 obsahoval najmenej vzduchových bublín. Najviac vzduchových bublín vo filmoch HPMC:PVP 7:3 vzniklo kvôli vysokej viskozite HPMC v týchto formuláciách, s ktorou sme sa stretli pri vylievaní disperzií na Petriho misky pred ich sušením.

Disolučná skúška poukázala na výrazný rozdiel v uvoľňovaní liečiva v závislosti od zloženia. Formulácia s najvyšším podielom HPMC uvoľňovala haloperidol najrýchlejšie a po približne 17 hodinách sa uvoľnilo takmer 100 %. Uvedená formulácia aproximovala z nami vybraných modelov najviac k modelu kinetiky 1. poriadku, i keď z grafu 5 vidíme, že korelácia nie je ideálna a prekryv s nameranými hodnotami môžeme pozorovať v prvých piatich hodinách. Ďalšie dve formulácie uvoľňovali liečivo výrazne pomalšie, po 24 hodinách došlo k uvoľneniu 40 % (HPMC:PVP 1:1) a 28 % haloperidolu (HPMC:PVP 3:7). Obdobnú zmenu uvoľňovania haloperidolu v závislosti od pomeru polymérov sme zaznamenali aj v predchádzajúcej štúdii (uvoľnené množstvo liečiva po 24 hodinách: HPMC:PVP 7:3 – 100 %, HPMC:PVP 1:1 – 50 %, HPMC:PVP 7:3 – 40 %), kde bol ako plastifikátor použitý glycerol (Rohaľová a Wolaschka, 2019).

HPMC sme zvolili ako jednu zo základných konštitutívnych látok. Ide o hydrofilný polymér používaný pri formulácii liekových foriem s riadeným uvoľňovaním (Colombo, 1993). Vo formuláciách sa

používa pre jej schopnosť inhibovať kryštalizáciu liečiv a predĺžiť stav supersaturácie liečiv v liekovej forme. Tým sa môže zvýšiť rýchlosť difúzie liečiva a uvoľňovanie liečiva je dlhšie konštantné (Sun a kol., 2018). Ako druhú konštitutívnu pomocnú látku sme použili PVP. Ide o hydrofilný polymér, ktorý je vo vode rozpustný. Od molekulovej hmotnosti PVP závisí uvoľnenie liečiva z pevnej fázy. Čím vyššia je molekulová hmotnosť, tým pomalšie prebehne difúzia dispergovaného liečiva. Predĺžením reťazca PVP sa zníži jeho rozpustnosť vo vode, predĺži sa čas bobtnania a zvýši sa viskozita (Leuner a Dressman, 2000). Haloperidol je prakticky nerozpustný vo vode, jeho pKa je 8,66. Rýchlosť disolúcie ťažko rozpustných látok bola zvýšená z pevných disperzií obsahujúcich HPMC (Jain a Joshi, 2007), obdobne ako v našom prípade, keď rýchlosť uvoľňovania haloperidolu z náplastí stúpala so zvyšujúcim sa podielom HPMC. PVP môže tiež rovnako zvyšovať rozpustnosť niektorých ťažko rozpustných látok (Karavas kol., 2006), avšak Fornells a kol. (2018) zistili, že PVP nemá takýto vplyv na haloperidol.

ZÁVER

Alternatívne liekové formy antipsychotík, ktorých prínos a výhody sú potvrdené štúdiami, by mohli psychiatrickým pacientom poskytnúť väčší komfort pri liečbe a uľahčiť život. Znížilo by sa riziko zhoršenia ich stavu alebo vzniku tolerancie či neúčinnosť liečby. Dnes existuje široká škála antipsychotík podávaných klasickými cestami a nedostatok produktov, ktoré by boli modernou liekovou formou na liečbu schizofrenických pacientov.

V tejto štúdii sme navrhli a spracovali postup prípravy transdermálnych náplastí. Tieto matricové transdermálne filmy obsahovali haloperidol, HPMC a PVP ako konštitutívne látky a PEG ako zmäčkovadlo. Pri formulácii s najvyšším obsahom HPMC sa liečivo uvoľnilo za približne 17 hodín. Výrazne pomalšie uvoľňovanie liečiva bolo pri zvyšných dvoch formuláciách. Pri formulácii s rovnakým množstvom HPMC a PVP bolo po 24 hodinách

uvoľnených 40 % haloperidolu a pri formulácii, kde bol obsah HPMC najnižší, sa po 24 hodinách uvoľnilo 28 % haloperidolu. Nami formulované náplasti s priemerom 5 cm a celkovým obsahom haloperidolu 15 mg uvoľňovali so vzrastajúcim podielom PVP 15 mg, 6 mg, resp. 4,2 mg haloperidolu v priebehu 24 hodín. Formulácie H:P 1:1 PEG2 a H:P 3:1 PEG2 by tak zodpovedali odporúčanému dávkovaniu pri liečbe schizofrénie a schizoafektívnych porúch a bolo by ich možné dávkovať raz za 48, resp. 72 hod.

Aby sme potvrdili účinnosť liekovej formy, bolo by potrebné uskutočniť ďalšie testy (napr. penetrácia liečiva cez kožu, iritácia kože, farmakokinetické štúdie). Podarilo sa nám však pripraviť dostatočne pružné, homogénne filmy a prostredníctvom skúšky disolúcie zhodnotiť kinetiku uvoľňovania haloperidolu.

POĎAKOVANIE

Štúdia vznikla za podpory projektu zo štrukturálnych fondov „Obnova výskumnej a vývojovej infraštruktúry a prístrojového vybavenia na UVLF, ITMS 26210120028.“

ZOZNAM LITERATÚRY

Aulton, M. E., Abdul-Razzak, M. H., Hogan, J. E.: The mechanical properties of hydroxypropylmethylcellulose films derived from aqueous systems part 1: the influence of plasticisers. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 1981, 7 (6), 649 – 668.

Báčkorová, M., Rozman Antolíková, N., Mátyus, A.: Súčasná antipsychotická terapia depotnými antipsychotikami. [The current antipsychotic treatment with depot antipsychotics]. *Folia Pharmaceutica Cassoviensia*, 2019, 1 (2), 35 – 41.

Colombo, P.: Swelling-controlled release in hydrogel matrices for oral route. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 1993, 11, 37 – 57.

Food and drug administration: Saphris (asenapine) sublingual tablet [product information].

Irvine, CA: Allergan USA, Inc; 2017. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/022117s022lbl.pdf. Accessed December 21, 2019.

Fornells, E., Fuguet, E., Mañé, M., Ruiz, R., Box, K., Bosch, E., Ráfols, C.: Effect of vinylpyrrolidone polymers on the solubility and supersaturation of drugs; a study using the Cheqsol method. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2018, 117, 227 – 235.

Heemstra, L. B., Finnin, B. C., Nicolazzo, J. A.: The buccal mucosa as an alternative route for the systemic delivery of risperidone. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2010, 99 (11), 4584 – 4592.

Jain, S. a Joshi, S. C.: Development of transdermal matrix system of captopril based on cellulose derivative. *Pharmacologyonline*, 2007, 1, 379 – 390. https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2007/vol1/41_Jain.pdf. Accessed September 29, 2019.

Kameníková, L., Pomykacz, J., Farghali, H.: Nežádoucí účinky antipsychotické léčby. Side effects of antipsychotic treatment. *Psychiatrie pro praxi*. 2015, 16 (2), 56 – 59. https://www.psychiatriepropraxi.cz/artkey/psy-201502-0005_Nezadouci_ucinky_antipsychoticke_lecby.php. Accessed September 29, 2019.

Kaminsky, B. M., Bostwick, J. R., Guthrie, S. K.: Alternate routes of administration of antidepressant and antipsychotic medications. *Annals of Pharmacotherapy*, 2015, 49 (7), 808 – 817.

Karavas, E., Ktistis, G., Xnakis, A., Georgarakis, E.: Effect of hydrogen bonding interactions on the release mechanism of felodipine from nanodispersions with polyvinylpyrrolidone. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2006, 63 (2), 103 – 114.

Kwentus, J., Riesenber, R. A., Marandi, M., Manning, R. A., Allen, M. H., Fishman, R. S., Spyker, D. A., Kehne, J. H., Cassella, J. V.: Rapid acute treatment of agitation in patients with bipolar I disorder: a multicenter, randomized, placebo-controlled clinical trial with inhaled loxapine. *Bipolar Disorders*, 2012, 14 (1), 31 – 40.

Leuner, C. a Dressman, J.: Improving drug

solubility for oral delivery using solid dispersions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2000, 50 (1), 47 – 60.

Lim, P. F. C., Liu, X. Y., Kang, L., Ho, P. C. L., Chan, Y. W., Chan, S. Y.: Limonene GP1/PG organogel as a vehicle in transdermal delivery of haloperidol. *International Journal of Pharmaceutics*, 2006, 311, (1 – 2), 157 – 164.

Markowitz, J. S., DeVane, C. L., Malcolm, R. J., Gefroh, H. A., Wang, J. S., Zhu, H. J., Donovan, J. L.: Pharmacokinetics of olanzapine after single-dose oral administration of standard tablet versus normal and sublingual administration of an orally disintegrating tablet in normal volunteers. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 2006, 46 (2), 164 – 171.

Mathias, N. R. a Hussain, M. A.: Non-invasive systemic drug delivery: developability considerations for alternate routes of administration. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2010, 99 (1), 1 – 20.

Miller, J. L., Ashford, J. W., Archer, S. M., Rudy, A. C., Wermeling, D. P.: Comparison of intranasal administration of haloperidol with

intravenous and intramuscular administration: a pilot pharmacokinetic study. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 2008, 28 (7), 875 – 882.

Owen, M. J., Sawa, A., Mortensen, P. B.: Schizophrenia. *Lancet*, 2016, 388, (10039), 86 – 97.

Rohařová, S. a Wolaschka, T.: Matrix patch as a dosage form leading to improvement of patients' compliance. *Folia Pharmaceutica Cassoviensia*, 2019, 1 (4), 17 – 28.

Sun, Z., Huicong, Z., Huiyang, H., Xiaorui, Z., Qun, W., Kexin, L., Zhonggui, H.: Cooperative effect of polyvinylpyrrolidone and HPMC E5 on dissolution and bioavailability of nimodipine solid dispersions and tablets. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, 3, 2018.

Thompson, D. a DiMartini, A.: Nonenteral routes of administration for psychiatric medications: a literature review. *Psychosomatics*, 1999, 40 (3), 185 – 192.

SALICÍN A JEHO PRÍRODNÉ ZDROJE

SALICIN AND ITS NATURAL SOURCES

Kurhajec, S., Eftimová, J.

Katedra farmakognózie a botaniky
Katedra farmakológie a toxikológie, Ústav farmakológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

slavomir.kurhajec@uvlf.sk

ABSTRAKT

Jedným z najznámejších fenolových glykozidov je salicín. Tento ester glukózy a salicylalkoholu disponuje antipyretickým, antiflogistickým, antireumatickým a antiedematóznym účinkom. Môže sa uplatniť aj v dermatológii a vďaka schopnosti ovplyvňovať angiogézu aj ako potenciálne liečivo hypervaskularizovaných tumorov. Najbohatším zdrojom tejto látky je vrbová kôra, ktorá obsahuje aj ďalšie terapeuticky významné fenolové glykozidy ako salikortín, fragilín, populín, salirepozid a tremulacín. Na produkciu drogy (kôra vrby, *Salicis cortex*) môžu slúžiť rozličné druhy vrb. Z našich zistení je za najbohatší zdroj možné považovať vzorky kôry druhu vrba previsnutá (*Salix × pendulina* Wender) a vrba rozmarínolistá (*Salix rosmarinifolia*

L.). Množstvo obsiahnutého salicínu výrazne koreluje s termínom zberu. Vzorky získané na jar disponujú v mnohých prípadoch až dvojnásobným množstvom tejto účinnej zložky.

Kľúčové slová: analgetiká; fenolové glykozidy; chromatografia; *Salix*; TLC; vrba

ABSTRACT

Salicin is one of the most common phenolic glycosides. It is an ester of glucose and salicyl alcohol with antipyretic, anti-inflammatory, anti-rheumatic and anti-oedematous effects. It can also be applied in dermatology because of its ability to influence angiogenesis and it is a potential drug for a therapy of hypervascularized tumors. The richest source of salicin is a willow

bark, which also contains other therapeutically interesting phenolic glycosides, such as salicortin, fragilin, populin, salireposide and tremulacin. The willow bark (*Salicis cortex*) for pharmaceutical use should come from the bark of various species of the genus *Salix*, but the experiments published in this article show the highest content of salicin in the samples of *Salix × pendulina* Wender and *Salix rosmarinifolia* L. The samples harvested at spring contain approximately double amount of salicine.

Key words: analgetics; chromatography; *Salix*; phenolic glycosides; TLC; willow

ÚVOD

Rod *Salix*, so svojimi 300 – 550 druhmi, má veľmi široké rozšírenie a prirodzene sa vyskytuje v miernom až studenom pásme severnej pologule s presahom do Južnej Ameriky a Afriky. Zástupcovia rodu *Salix* sú spravidla dvojdomé kry, prípadne stromy, ktoré môžu dorastať až do výšky 25 metrov. Listy sú opadavé a na stopke usporiadané väčšinou striedavo. Zuby na okraji listov sú u väčšiny druhov zakončené takzvanou salikoidnou špičkou, ktorou preniká drobná žilka siahajúca až k vrcholu zubu, kde je zakončená guľovitou žliazkou či tuhým chlpom (Vašut, 2013).

Už Hippokrates, najznámejší lekár staroveku, používal na liečbu bolesti a horúčky drogu *Salicis cortex*. Tvorí ju celá alebo polámaná usušená kôra mladých vetvičiek či celé usušené kusy konárikov najmä vrby bielej, ako aj rôznych druhov rodu *Salix* (napr. vrba purpurová – *Salix purpurea*, vrba lykovcová – *Salix daphnoides* Vill., vrba krehká – *Salix fragilis* L.) (Ph. Eur. 8).

Kôra sa zbiera na jar, najmä v marci, z odrezaných jedno až dvojročných konárov. Neskôr sa už ťažko odlupuje. V apríli sa niekedy zbierajú aj listy a kvety. Sušenie prebieha v prevzdušnených priestoroch v tieni aj na slnku (Sulima, 2008).

β -D-salicín je po chemickej stránke ester, tvorený β -D-glukózou a salicylalkoholom. Je to hlavná

obsahová látka vrbovej kôry, ktorá sa po podaní premieňa na aktívny metabolit – kyselinu salicylovú. Avšak samotný salicín takisto vykazuje antiflogistickú aktivitu, ktorá spočíva v znižovaní koncentrácií prozápalových cytokínov (TNF- α , IL-1 β a IL-6) a zvyšovaní koncentrácie protizápalového interleukínu (IL-10) (Li, 2015). Okrem iného, salicín suprimuje aktiváciu signalizačných kaskád sprostredkovaných mitogénmi aktivovanú proteínkinázu (MAPK) a NF- κ B, čím potláča zápalovú reakciu a takisto znižuje edém. Na základe tohto mechanizmu sa u salicínu predpokladá potenciálne využitie na terapiu akútneho pľúcneho poškodenia a akútneho syndrómu respiračnej tiesne (Li, 2015; Chi, 2012).

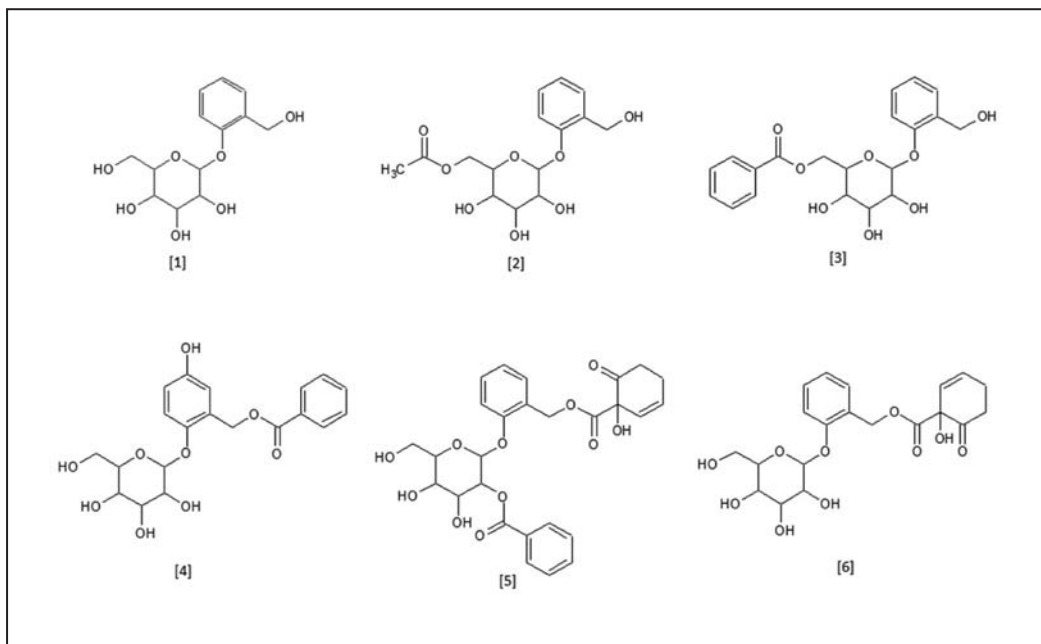
Výskum ukázal, že salicín významne ovplyvňuje expresiu génov YCG (youth gene clusters – zväzky génov mladosti), asociovaných s biologickými procesmi ako sú hydratácia pleti, pigmentácia a bunková diferenciácia. Preto možno považovať salicín za jedno z liečiv znižujúcich prejavy starnutia kože (Gopaul a kol., 2011).

Externe, vo forme obkladov, možno použiť odvar z vrbovej kôry na neuralgické a reumatické bolesti, kožné ochorenia a rany, a vďaka vysokému obsahu trieslovín aj proti poteniu nôh. Extrakty z kôry sa používajú aj ako kloktadlo pri faryngitíde a na odstránenie „kurieho oka“ (Leonti a Verpoorte, 2017).

Angiogenéza je základný proces uplatňujúci sa pri progresii nádoru, preto negatívna regulácia angiogenézy poskytuje dobrú stratégiu pre protinádorovú liečbu. Okrem toho, že práve salicín suprimuje angiogenézu endoteliálnych buniek, znižuje aj tvorbu reaktívnych foriem kyslíka a aktiváciu extracelulárnych kinázových systémov, čím predstavuje nové potenciálne liečivo v terapii hypervaskularizovaných tumorov (Kong, 2014). U extraktov z vrbovej kôry a listov bola zistená protinádorová aktivita, ktorej mechanizmus spočíva v indukcii apoptózy rakovinových buniek, poškodení DNA a bunkových membrán či denaturácii proteínov (El-Shemy, 2007).

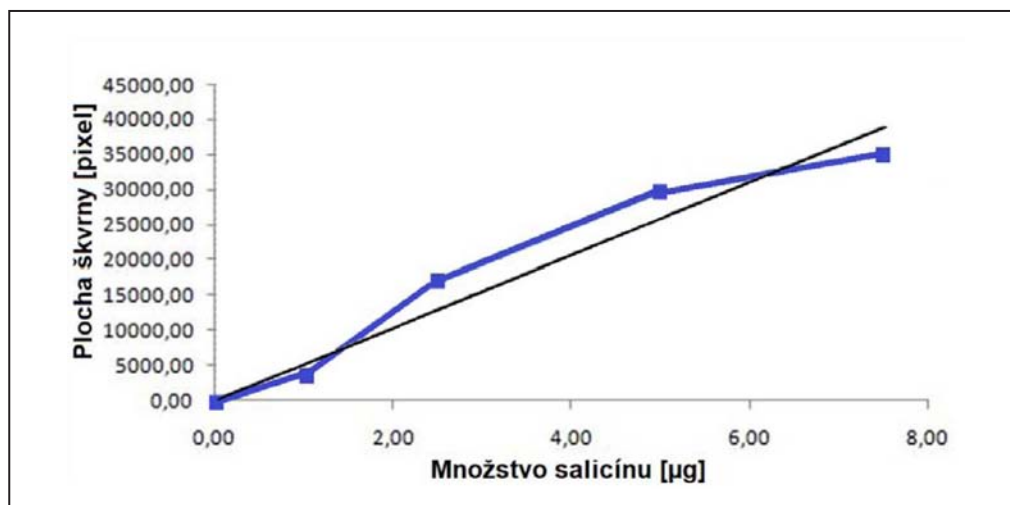
Kôra vrby okrem salicínu obsahuje aj jeho

Obr. 1: Fenolové glykozidy obsiahnuté v kôre vŕby



[1] salicín, [2] fragilín, [3] populín, [4] salirepozid, [5] tremulacín, [6] salikortín

Obr. 2: Kalibračný graf pre salicín



acylované deriváty ako salikortín, fragilín, populín, salirepozid a tremulacín (viď obr. 1). Droga je zdrojom kondenzovaných trieslovín (8 – 20 %), katechínov, organických kyselín, živíc, flavonoidov (izokvercitrín, naringenín, izosalipurpozid) či oxalátov (EMA, 2009).

MATERIÁL A METÓDY

Vzorky kôry rôznych druhov vŕb (*Salix alba*, *Salix alba* „*Tristis*“, *Salix caprea*♂, *Salix caprea*♀, *Salix × pendulina*, *Salix × erythroflexuosa*, *Salix integrifolia*, *Salix matsudana* „*Tortuosa*“, *Salix*

Tab. 1: Namerané množstvo salicínu v analyzovaných vzorkách

Druh vrby	Množstvo salicínu v jarých vzorkách [%]	Množstvo salicínu v jesenných vzorkách [%]	Rozdiel v množstve salicínu [%]
<i>Salix alba</i>	0,11	0,06	0,05
<i>Salix alba</i> „ <i>Tristis</i> “	0,12	0,02	0,10
<i>Salix caprea</i> [♂]	0,18	0,13	0,05
<i>Salix caprea</i> [♀]	0,20	0,14	0,06
<i>Salix</i> „ <i>pendula</i> “	0,39	0,25	0,14
<i>Salix</i> × <i>erythroflexuosa</i>	0,06	0,03	0,03
<i>Salix integrifolia</i>	0,18	0,07	0,11
<i>Salix matsudana</i> „ <i>Tortuosa</i> “	0,10	0,09	0,01
<i>Salix purpurea</i> „ <i>Gracilis</i> “	0,17	0,08	0,09
<i>Salix rosmarinifolia</i>	0,37	0,06	0,31
<i>Salix</i> × <i>smithiana</i>	0,12	0,05	0,07
Priemerné hodnoty	0,18	0,09	0,09

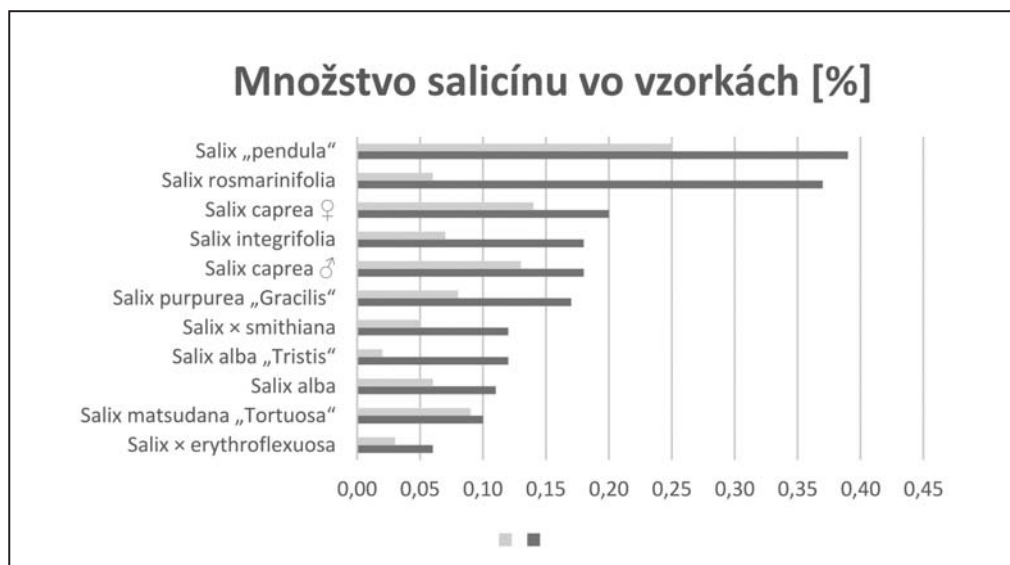
purpurea „*Gracilis*“, *Salix rosmarinifolia*, *Salix* × *smithiana*) boli získané z botanickej záhrady UPJŠ v Košiciach. Zber vzoriek bol uskutočnený v dvoch termínoch – jar (30.03.2016) a jeseň (23.10.2016). Po vysušení bola každá z drog podrobená analýze. Testované extrakty boli pripravené 15 minútovým povarením 0,1 g každej drogy s 25 ml metanolu pod spätným chladičom. Vo výsledných extraktoch sa doplnil objem na 25 ml. Každý z výluhov (25 µl) bol nanesený na chromatografickú platňu (ALUGRAM SIL G UV₂₅₄; Macherey Nagel). Ako porovnávací roztok sa použilo 25 µl štandardného roztoku salicínu (50 mg salicín/100 ml metanol). Chromatogramy sa vyvinuli v mobilnej fáze, ktorú predstavuje zmes etylacetátu, metanolu a vody v pomere 100:13,5:10 (v/v/v), vysušili a detekovali pod UV lampou s použitím PC programu *ImageJ*[®] (vyhodnotenie plochy škvŕn chromatogramu). Množstvo salicínu sa vypočítalo z kalibračného grafu (viď obr. 2), ktorý bol zostrojený z hodnôt plochy škvŕn na referenčnom chromatograme, na ktorom bol nanesený štandardný metanolvý roztok salicínu s koncentráciou

0,00175 mol.dm⁻³ (50 mg salicín/100 ml metanol) v objemoch 2, 5, 10, 15, 20 a 25 µl.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe výsledkov meraní (viď tab. 1 a obr. 3) je možné konštatovať, že najvyšším podielom salicínu disponovali na jar zberané vzorky kôry *Salix* × *pendulina* a *Salix rosmarinifolia*. Je zaujímavé, že práve tieto druhy sa vo farmácii bežne nepoužívajú a skôr zastávajú okrasnú funkciu. V literatúre sa uvádza, že medzi vrby s najvyšším obsahom salicínu patrí najmä *Salix purpurea* (European Medicines Agency, 2009), ktorá podľa nami vykonaných meraní patrí v množstve salicínu k priemerným. Najpoužívanejším druhom vrby na medicínske účely je práve *Salix alba*. Paradoxne sme vo vzorkách tohto druhu namerali podpriemerné množstvo salicínu. Je nutné poznamenať, že produkciu a množstvo obsahových látok značne ovplyvňujú vonkajšie vplyvy (slnečné žiarenie, teplota, zrážky, výskyt škodcov). Okrem toho sme pracovali prevažne so

Obr. 3: Graf zobrazujúci množstvo salicínu v analyzovaných vzorkách



šľachtenými odrodami, ktoré sa zvyknú používať predovšetkým na okrasné účely. Pravdepodobne aj z tohto dôvodu bol chromatograficky stanovený obsah salicínu v analyzovaných vzorkách relatívne v nízkom množstve (pod 1 %). Napriek tomu je možné konštatovať, že vzorky odobrané na jar majú v porovnaní s jesenným zberom v priemere až dvojnásobne vyšší podiel skúmanej obsahovej látky. Najnižšie množstvá salicínu vykazovali drogy odobraté z rastlín *Salix × erythroflexuosa*. Pri získavaní jesenných vzoriek sme pozorovali aj nižšie množstvo miazgy v dreve vrb, čo spôsobilo náročnejšie oddeľovanie kôry od dreva, a preto na produkciu takejto drogy bolo nutné použiť veľkú silu.

ZÁVER

Prostredníctvom našich experimentov sme zistili, že najznámejší a farmaceuticky najpoužívanější druh vrby, *Salix alba*, nedosahuje najvyššie koncentrácie salicínu. Z tohto hľadiska sa radí medzi vrby priemerné. Nakoľko za účinnok nezodpovedá len salicín, ale aj iné polyfenolové látky, ktorých má *Salix alba* dostatok, je tento druh vrby vo fytoterapii

stále veľmi používaný. Koncentrácia a dostupnosť salicylátov závisí nielen od podmienok pestovania, spracovania a prípravy drogy, ale významnú rolu zohráva aj obdobie zberu.

Na základe našich zistení je teda vhodné uvažovať o zaradení nových krížencov a kultivarov rodu *Salix* do modernej fytoterapie a rozšíriť tak konvenčne dostupné herbáre, ako aj obohatiť údaje v liekopisoch. V ďalšej fáze výskumu by bolo vhodné zamerať sa na stanovenie toxicity jednotlivých vzoriek, prípadne aj vzájomných synergických či antagonistických vzťahov jednotlivých obsahových látok vrbovej kôry.

ZOZNAM LITERATÚRY

El-Shemy, H. A., Aboul-Enein, A. M., Aboul-Enein, K. M., Fujita, K.: Willow leaves extracts contain anti-tumor agents effective against three cell types. *PLoS ONE*, 2007, 2, 178.

European Medicines Agency. *Community Herbal Monograph on Salix Cortex*. Londýn: EMEA, 2009.

European Pharmacopoeia Commission. *European Pharmacopoeia 8th Edition: Supplement*

8.0. Strasbourg: Council of Europe, 2014, 1422 – 1424.

Gopaul, R., Knaggs, H. E., Lephart, J.: Salicin regulates the expression of functional 'youth gene clusters' to reflect a more youthful gene expression profile. *International Journal of Cosmetic Science*, 2011, 33, 416 – 420.

Chi, G., Wei, M., Xie, X., Soromou, L. W., Liu, F., Zhao, S.: Suppression of MAPK and NF- κ B Pathways by Limonene Contributes to Attenuation of Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Responses in Acute Lung Injury. *Inflammation*, 2012, 36, 501 – 511.

Kong, C. S., Kim, K. H., Choi, J. S., Kim, J. E., Park, C., Jeong, J. W.: Salicin, an extract from white willow bark, inhibits angiogenesis by blocking the ROS-ERK pathways. *Phytotherapy Research*, 2014, 28, 1246 – 1251.

Leonti, M., Verpoorte, R.: Traditional Mediterranean and European herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology*, 2017, 199, 161 – 167.

Li, Y., Wu, Q., Deng, Y., Lv, H., Qiu, J., Chi, G., Feng, H.: D(-)-Salicin inhibits the LPS-induced inflammation in RAW 264.7 cells and mouse models. *International Immunopharmacology*, 2015, 26, 286 – 294.

Sulima, P., Krauze-Baranowska, M., Przyborowski, J. A.: Variations in the chemical composition and content of salicylic glycosides in the bark of *Salix purpurea* from natural locations and their significance for breeding. *Fitoterapia*, 2017, 118, 118 – 125.

Vašut, R. a kol.: *Vrby České republiky*. [Willows in the Czech republic]. Olomouc: Univerzita Palackého, 2013. 6 – 80.



POLYFENOLOVÉ LÁTKY V RASTLINNEJ STRAVE A VO FORME VÝŽIVOVÝCH DOPLNKOV

POLYPHENOL SUBSTANCES IN THE PLANT-BASED FOODS AND IN THE FORM OF DIETARY SUPPLEMENTS

Süli, J., Sobeková, A., Bujdošová, Z.

Ústav lekárskej chémie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

judit.suli@uvlf.sk

ABSTRAKT

Štúdia je krátkym zhrnutím pozitívnych a negatívnych biologických účinkov polyfenolových látok. Porovnáva ich účinky v závislosti od formy príjmu: z rastlinnej potravy a formou výživových doplnkov. Upozorňuje na nedostatočné informácie o účinkoch polyfenolových látok v príbalových letákoch výživových doplnkov a na úlohu marketingu pri oboznamovaní o ich bezpečnom užívaní.

Kľúčové slová: biologické účinky; marketing; polyfenoly; reklama

ABSTRACT

Authors briefly summarize positive and negative biological effects of polyphenol

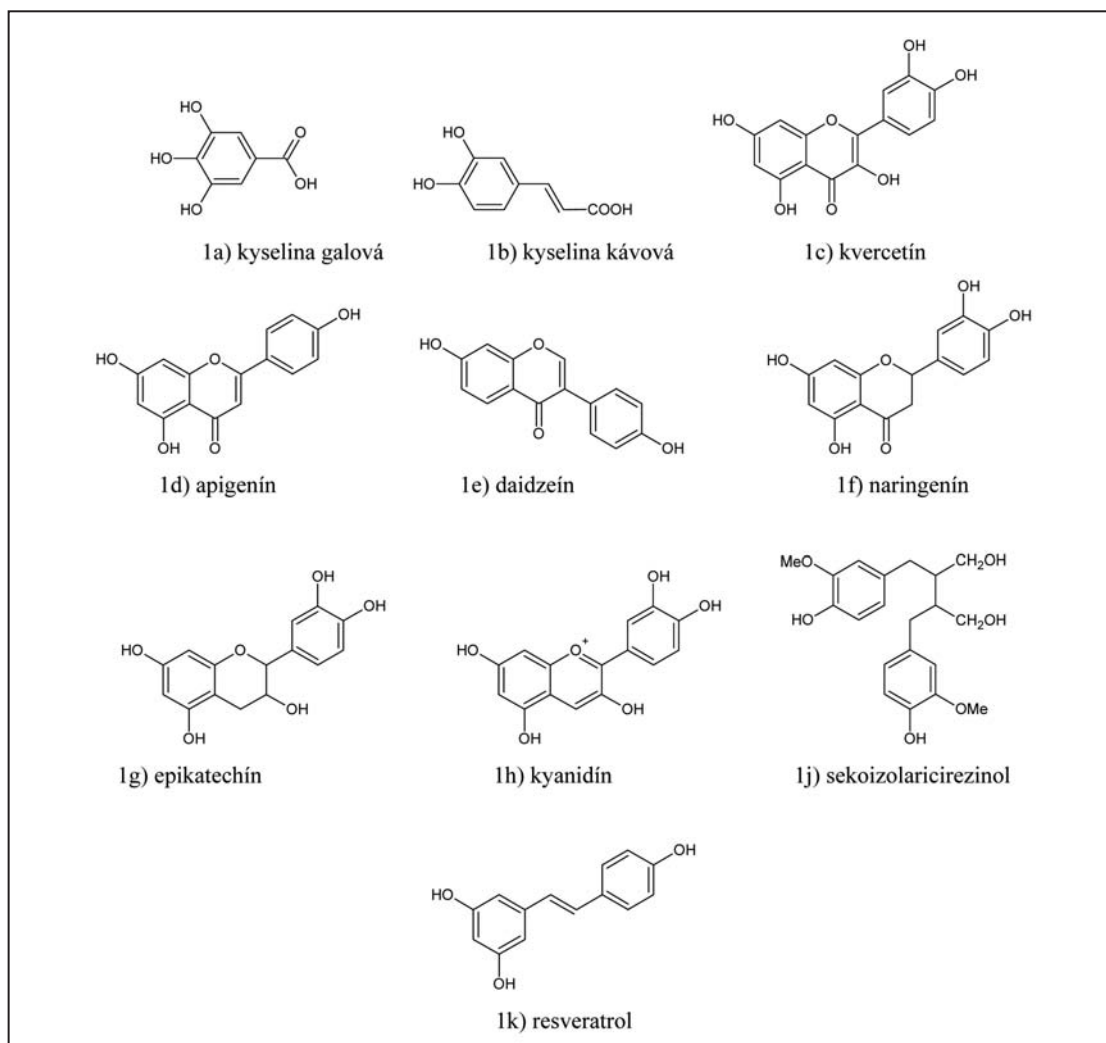
compounds and compare the intake of polyphenols from the plant-based foods and the dietary supplements. The authors draw attention to the lack of information on the effects of polyphenol substances in nutritional supplement leaflets and the role of marketing for their safe use.

Key words: biological effects; marketing; polyphenols; promotion

CHEMICKÁ CHARAKTERISTIKA A DELENIE POLYFENOLOV

Poznatky o priaznivých účinkoch rôznych zložiek potravín na ľudské zdravie sa v poslednej dobe dostávajú do povedomia širokej verejnosti. Okrem vitamínov je jednou z najviac diskutovaných látok skupina polyfenolových zlúčenín. Polyfenoly predstavujú rozmanitú skupinu sekundárnych

Obr. 1: Niektoré potravinársky významné polyfenolové zlúčeniny



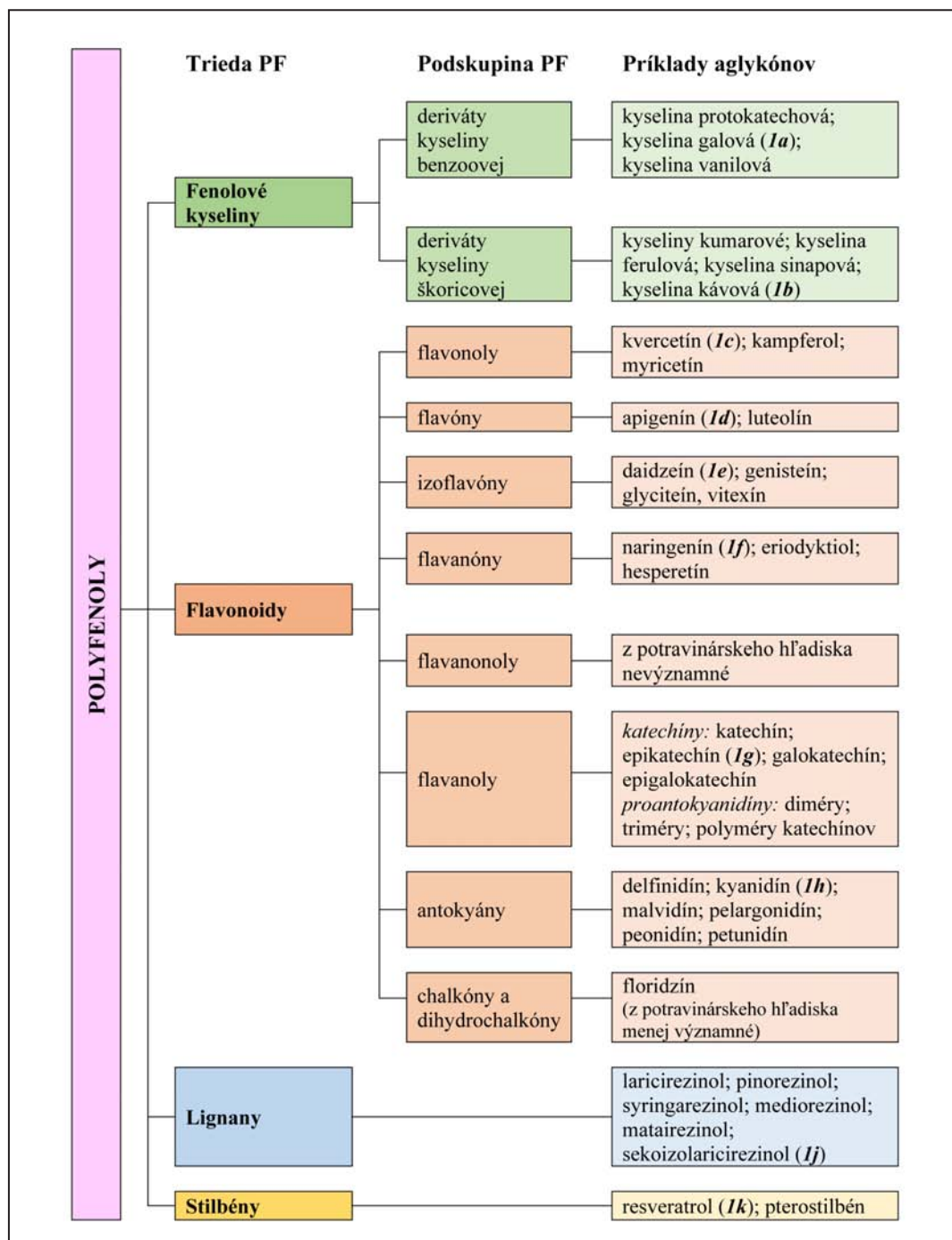
metabolitov rastlín. Z chemického hľadiska sú to látky charakteristické prítomnosťou viac ako jednej fenolovej skupiny. Táto skupina látok zahŕňa viac ako 6000 štruktúrne odlišných zlúčenín. Podľa štruktúrnej príbuznosti sa polyfenoly delia na štyri hlavné triedy: fenolové kyseliny, flavonoidy, lignany a stilbény (Manach, 2004). Najpočetnejšou a najznámejšou triedou polyfenolov sú flavonoidy, ktoré sa delia na ďalšie podskupiny (viď schéma 1, obr. 1). V potravinách rastlinného pôvodu sú tieto látky prítomné vo variabilnom množstve. Konzumácia bežnej rastlinnej stravy zabezpečuje ich dostatočný príjem, a to nielen pre skupinu vegetariánov/vegánov (Süli a kol., 2014a). Niektoré rastliny obsahujú pestrú zmes rôznych polyfenolových zlúčenín, pre iné sú

charakteristické iba niektoré polyfenolové látky. Polyfenoly sú v rastlinách prítomné väčšinou vo forme esterov alebo glykozidov. Vo voľnej forme sa vyskytujú iba v nízkych koncentráciách.

BIOLOGICKÉ ÚČINKY A AKTIVITA POLYFENOLOV

Za mnohé zdravie prospešné účinky polyfenolov zodpovedajú ich antioxidačné vlastnosti (Yao a kol., 2004; Dordevic a kol., 2019). Antioxidačná aktivita je napriek rôznorodej štruktúre spoločnou vlastnosťou všetkých polyfenolov (Kovács a kol., 2014). Táto vlastnosť je podmienená prítomnosťou viacerých fenolových skupín. Antioxidačná kapacita mnohých

Schéma 1: Schéma delenia polyfenolových (PF) zlúčenín



flavonoidov je oveľa vyššia ako antioxidačná kapacita vitamínu C a E (Prior, Cao, 2000). Okrem antioxidačných vlastností majú polyfenoly antivírusový, antimikrobiálny, antimutagénny, antikarcinogénny, antialergický, imunomodulačný

a antiflogistický účinok. Sú súčasťou reparačného mechanizmu DNA, ovplyvňujú aktivitu viacerých enzýmov, znižujú krvný tlak a hladinu cholesterolu v krvi, priaznivo pôsobia v prevencii aterosklerózy a kardiovaskulárnych ochorení. Známy je ich

antidiabetický, hepatoprotektívny, nefroprotektívny a neuroprotektívny účinok (Süli a kol., 2014b). Tieto účinky boli jednoznačne dokázané pri zvýšenej konzumácii rastlinnej potravy. Pravdepodobne sú výsledkom synergického pôsobenia rôznych polyfenolov a iných bioaktívnych látok prítomných v prírodných potravinových zdrojoch (Kadřabová a kol., 2005).

Biologická aktivita polyfenolov sa väčšinou hodnotí v *in vitro* systémoch na tkanivových kultúrach alebo izolovaných tkanivách. V pokusoch sa používajú neprirodzene vysoké koncentrácie aglykónov polyfenolových látok alebo niektorých glykozidov, ktoré sa bežne nachádzajú v potravinách. V plazme alebo v tkanivách konzumentov sú polyfenoly prítomné vo forme konjugovaných derivátov. O ich biologických vlastnostiach máme málo informácií, pretože neexistuje vhodný biomarker, ktorý by hodnotil reálny príjem polyfenolových zlúčenín. Takýto údaj by umožnil vyhodnotenie skutočných účinkov týchto látok v organizme (Manach a kol., 2005). Pokusy o stanovenie bioaktivity polyfenolov *in vivo* sú často vykonávané na zvieratách. Ich výsledky sú v závislosti od druhu experimentálnych zvierat protichodné. Je samozrejmé, že ešte viac rozdielov sa pozoruje v porovnávaní účinkov medzi zvieratom a človekom (Süli a kol., 2014b).

Vysoký príjem polyfenolových látok však môže z viacerých dôvodov predstavovať riziko (Mennen a kol., 2005). Antioxidačné vlastnosti sa v takom prípade zmenia na prooxidačné a z toho vyplýva karcinogenita a genotoxicita týchto látok (Catterall a kol., 2000). Niektoré flavonoidy (predovšetkým izoflavóny) môžu inhibovať tyreoidálne peroxidázy a zasahovať do biosyntézy hormónov štítnej žľazy (Doerge a Chang, 2002; Ferreira a kol., 2002). Tyreoidná toxicita izoflavónov môže viesť k vážnemu poškodeniu srdca alebo k vzniku strumy.

Estrogénna aktivita izoflavónov sa vo farmácii úspešne využíva na terapiu menopauzálnych a postmenopauzálnych syndrémov u žien. Vysoký príjem izoflavónov však môže narušiť pohlavný vývoj

detí (Mendez a kol., 2002). Vážne riziko predstavuje u dojčiat vegánskych/vegetariánskych rodičov, ktoré sú v prípade nedostatku materského mlieka kŕmené namiesto bežného alebo hypoalergénneho náhradného mlieka (vyrobeného z kravského mlieka) sójovým mliekom. Takéto deti prijímajú v prepočte na kg hmotnosti 5 – 10-násobok terapeutických dávok izoflavónov určených pre ženy v menopauze (Manach, 2004). Preto by sa sójové mlieko malo podávať deťom jedine v prípade laktózovej intolerancie alebo alergie na niektorú bielkovinovú zložku mlieka (napr. β -laktoglobulín, kazeín).

Antinutričné pôsobenie polyfenolov sa prejavuje inhibíciou absorpcie nehémového železa, hlavne pri zvýšenej konzumácii kávy a čaju (Velíšek a Hajšlová, 2009). U jedincov s hraničnými hodnotami železa môže dochádzať až k jeho deplécii. Proantokyanidíny a elagotáníny sú prekurzormi trieslovín, ktoré interagujú s bielkovinami a inhibujú činnosť viacerých enzýmov (Arts a Hollman, 2005).

Niektoré polyfenoly môžu zasahovať do farmakokinetiky niektorých liečiv a spôsobiť predávkovanie lieku. Benzodiazepíny, terfenadín a statíny majú až trojnásobne vyššiu účinnosť pri zapití grapefruitovou šťavou, ktorá je bohatá na naringenín zo skupiny flavanónov (Veronese a kol., 2003). Pre správne užívanie liekov je preto potrebné o užívaní výživových doplnkov informovať lekára (Farghali a kol., 2014). V príbalových letákoch liekov sa väčšinou uvádzajú iba možné interakcie s niektorými druhmi potravín, výživové doplnky sa nespomínajú.

ANTIOXIDAČNÝ ÚČINOK POLYFENOLOV VO VEDECKÝCH ŠTÚDIÁCH

Záujem o polyfenoly za posledné desaťročia enormne vzrástol (Obied, 2013; vid' tab. 1). Začalo sa to v roku 1956, keď Denham Harman (1916 – 2014) uverejnil teóriu o súvislosti starnutia s oxidačným poškodením organizmu vplyvom voľných radikálov (Harman, 1956; 1992). Keďže látky s antioxidačným účinkom môžu zabrániť oxidačnému poškodeniu,

Tab. 1: Nárast počtu publikácií o polyfenoloch a antioxidantoch v anglickom jazyku do roku 2010 podľa ISI Web of Knowledge

Roky	Počet publikácií					
	polyfenoly	biofenoly	antioxidanty	voľné radikály	ROS*	oxidačný stres
1900 – 1950	37	0	122	296	1	0
1951 – 1960	107	0	321	736	0	1
1961 – 1970	253	0	726	2 556	0	3
1971 – 1980	452	0	1 738	5 357	51	31
1981 – 1990	613	0	7 279	15 234	940	887
1991 – 2000	6 244	17	65 182	76 364	25 159	39 759
2001 – 2010	35 211	90	223 791	133 768	115 504	248 185

* – ROS: reaktívne formy kyslíka

Zdroj: Obied, 2013

zdá sa byť logické, že pomocou nich je možné starnutie spomaliť. Mnohí si zároveň myslia, že chorobám súvisiacim s oxidačným stresom sa dá predchádzať zvýšeným príjmom antioxidantov, obzvlášť polyfenolov. Štatistické výskumy naznačujú, že konzumácia vyššieho množstva potravy s obsahom flavonoidov (zelenina, ovocie, čaj, kakao) znižuje riziko kardiovaskulárnych chorôb a rakoviny. Je však otázne, či tento efekt možno jednoznačne pripísať samotnému antioxidačnému účinku, resp. iba jednej účinnej látke. Potraviny vždy obsahujú pestrú zmes rôznych zlúčenín, ktoré pôsobia synergicky. Výskumy sa zameriavajú na sledovanie účinkov rôznych potravín bohatých na polyfenoly, resp. extraktov z nich. Štúdií hodnotiacich výhradne účinok konkrétnych polyfenolových zlúčenín je zatiaľ menej.

V súčasnosti je pojem „antioxidant“ natoľko rozšírený, že ho bežne používajú aj ľudia, ktorí nemajú ani predstavu o tom, čo tento termín znamená. Vedia však, že je potrebné prijímať antioxidanty (teda aj polyfenoly) v čo najvyššom množstve. Jednou z najdostupnejších foriem sú výživové doplnky, ktorých široký sortiment je na trhu dostupný bez lekárskeho predpisu. Tieto prípravky v súčas-

nosti nevyrábajú iba veľké farmaceutické firmy, ale aj menšie podniky, zamerané výhradne na takúto produkciu. V takom prípade je potrebné zdôrazniť zodpovednosť marketingovej práce daných podnikov.

VÝŽIVOVÉ DOPLNKY

Podľa definície sú výživové doplnky „... potraviny na doplnenie prirodzenej stravy, ktoré sú koncentrovanými zdrojmi živín, ako sú vitamíny a minerálne látky alebo iných látok s výživovým alebo fyziologickým účinkom“ (ŠÚKL; Zákon č. 308/2000 Z. z.). Na rozdiel od liečiv, bezpečnosť a účinnosť výživových doplnkov štátne kontrolné orgány nehodnotia, výrobca však musí deklarovať priemerné hodnoty živín alebo látok s výživovým alebo fyziologickým účinkom a výsledky mikrobiologickej kontroly prípravku (Postup pri umiestnení výživového doplnku na trh v Slovenskej republike, 2015). Pre výživové doplnky platia podobné legislatívne pravidlá ako pre potraviny. V rámci výživových doplnkov sa polyfenolové látky charakterizujú nasledovne: „Potravinové polyfenoly – potravinové „chemikálie“, ktoré majú údajnú bioaktivitu (antioxidačné a protizápalové účinky). Možno ich

konzumovať vo forme jedla alebo izolovane“ (SADA, 2017).

Výživové doplnky boli pôvodne vyvinuté predovšetkým pre tie etniká alebo populačné skupiny, ktoré majú sťažený prístup (napr. kvôli geografickej polohe alebo kvôli tradičným stravovacím návykom) k potravinám obsahujúcim esenciálne a zdravotne benefičné zložky (Kovács a kol., 2014). Stali sa však populárnymi pre širokú verejnosť, obzvlášť pre zástancov alternatívnej medicíny. Kupujú sa často s nádejou vyriešiť určitý zdravotný problém, napriek tomu, že v ich príbalových letákoch sa nič také nesľubuje.

POLYFENOLY VO VÝŽIVOVÝCH DOPLNKOCH

V prípade užívania polyfenolových látok vo forme výživových doplnkov je ich príjem v porovnaní s príjmom výlučne zo stravy podstatne vyšší. Zástancovia alternatívnej medicíny a prírodných produktov sa totiž stravujú tak, že zároveň konzumujú zvýšené množstvo rastlinnej potravy, t. j. prijímajú viac polyfenolových látok v prirodzenej forme.

Ako sa vlastne výživové doplnky vyrábajú? Výživové doplnky môžu obsahovať presne definovanú konkrétnu zlúčeninu so známou koncentráciou, prípadne zmes viacerých zlúčenín. V takom prípade sa najčastejšie využívajú prírodné identické zlúčeniny, tzn. synteticky vyrobené čisté látky s identickou štruktúrou prírodnej látky.

Ďalším, v prípade polyfenolov častejším, spôsobom výroby je získanie extraktov z rastlín, resp. z odpadového materiálu po výrobe potraviny z danej rastliny (Ondrejovič a kol., 2009). Extrakty obsahujú vždy zmes rôznych tried fenolových látok, ktoré sú za daných podmienok extrakcie rozpustné, z čoho vyplýva, že nekopírujú prirodzený pomer jednotlivých látok v potravinách. Pri extrakcii je dôležitá voľba a použité množstvo extrakčných činidiel a dodržanie vhodných fyzikálnych parametrov procesu. Výhodou tohto spôsobu výroby je to, že sa do určitej miery zachová možnosť synergického

pôsobenia jednotlivých zložiek extraktu. Pri extrakcii polyfenolov sa ako extrakčné činidlá používajú buď polárne alebo nepolárne rozpúšťadlá. V hydrofilných rozpúšťadlách (voda, metanol, etanol) sú rozpustné polyfenolové zlúčeniny s vyšším zastúpením hydroxylových skupín ($-OH$). Lipofilnými rozpúšťadlami (acetón, hexán, benzén, chloroform, etylacetát) sa extrahuje iná skupina polyfenolových látok, ktoré obsahujú viac metoxy- skupín ($-OCH_3$). Na extrakciu sa menej používajú propanol, butanol, dimetylformamid, prípadne dichlórmetán. Známe sú aj extrakcie kombináciou uvedených činidiel (Ondrejovič a kol., 2009). Extrakčné činidlo sa potom odstráni a polyfenolové zlúčeniny sa rozpustia vo vhodnom, zdravotne bezpečnom rozpúšťadle, predovšetkým v zmesi etanolu a vody v rôznom pomere. Paradoxom je, že rastlinné extrakty kupujú často práve osoby, ktoré uprednostňujú všetko „prírodné“ a nechcú mať nič do činenia „s chémiou“.

ÚLOHA MARKETINGU

Výživové doplnky si získali vysokú popularitu hlavne vďaka marketingovej práci výrobcov. Väčšina ľudí má všeobecne minimálne poznatky o výsledkoch vedeckého výskumu. Nepoznajú konkrétne účinky polyfenolových látok, ani pozitívne ani negatívne. Informácie získavajú z internetu, z rôznych blogov, často od samozvaných odborníkov. Pri pátraní môžu naraziť na opis pozitívnych aj negatívnych účinkov polyfenolov, väčšinou spájaných s konkrétnymi potravinami.

Za posledné desaťročie sa na internetových stránkach objavujú aj správy o prooxidačných vlastnostiach flavonoidových látok a o niektorých ďalších negatívnych účinkoch. Nie je náhoda, že z hľadiska chémie potravín sú fenolové látky zaradené medzi antinutričné látky. Fenolové zlúčeniny môžu znamenať riziko z dôvodu prooxidačnej aktivity, karcinogenicity, genotoxicity, tyreoidnej toxicity, estrogénnej aktivity izoflavónov, antinutričného pôsobenia, tiež kvôli interakciám s liekmi (Süli a kol., 2014b). Účinky súvisiace s antioxidantnými

vlastnosťami polyfenolov jednoznačne závisia od použitej dávky. Pri prekročení ideálneho množstva príjmu sa antioxidant stáva prooxidantom a môže zosilniť práve účinky, proti ktorým bol pôvodne namierený (napr. namiesto antikarcinogénneho účinku bude pôsobiť karcinogénne). Čoraz častejším problémom sú interakcie s liekmi klasickej medicíny. Takéto interakcie môžu viesť až k toxickému účinku, vznikajúceho z predávkovania (Farghali a kol., 2014).

Žiadne negatívne účinky polyfenolových látok marketing nepripúšťa. Nepopiera ich, jednoducho o nich nerozpráva. V upozornení príbalových letákov sa väčšinou uvádza: „Výživový doplnok sa nesmie používať ako náhrada rozmanitej stravy. Ustanovená odporúčaná denná dávka sa nesmie presiahnuť. Skladovať mimo dosahu malých detí! Skladovať na suchom a tmavom mieste. Chráňte pred priamym slnečným žiarením!“. V lepšom prípade sa uvádza: „Ak sa vyskytnú nejaké nežiaduce účinky, prerušte užívanie a poraďte sa so svojím lekárom alebo lekárnikom.“ V reklamách sa nikdy neupozorňuje na možné riziká a potrebnú opatrnosť pri užívaní. Mnohí ľudia v snahe dosiahnuť čo najrýchlejšie a čo najvýraznejšie pozitívne účinky užívajú vyššie dávky ako sú odporúčané. Veď ak je niečo prospešné, nemôže škodiť. Upozornenia neberú vážne a pripisujú ich prípadnému negatívne postoj lekárov k alternatívnej medicíne. Otázne je aj to, aké percento ľudí si prečíta príbalový leták prípravku, ktorý sa uvádza ako „výživový doplnok“ a nie ako „liek“. Reklama liekov zameraná na laickú verejnosť je upravovaná zákonom (Zákon č. 147/2001 Z. z.), ale výživové doplnky nepodliehajú tomuto zákonu. Upozornenia uvedené v letákoch výživových doplnkov nie sú dostatočné, skutočné bezpečnostné otázky užívania sa uvádzajú iba okrajovo a neúplne. V tejto oblasti by bolo na mieste rozšíriť osvetovú prácu a marketing zamerať na podávanie komplexnejších informácií o prípravkoch obsahujúcich polyfenolové zlúčeniny.

ZÁVER

K užívaniu výživových doplnkov s obsahom polyfenolových látok je potrebné pristupovať s podobnou zodpovednosťou ako k užívaniu liekov. Úlohou výrobcu by malo byť primerané upozorňovanie konzumentov nielen na pozitívne, ale aj na negatívne účinky polyfenolových zlúčenín a na prípadné riziká užívania formou výživových doplnkov.

ZOZNAM LITERATÚRY

Arts, I. C. W. a Hollman, P. Ch.: Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2005, 81, (suppl. 1), 317S – 325S.

Catterall, F., Souquet, J. M., Cheynier, V., de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., Clifford, M. N., Ioannides, C.: Differential modulation of the genotoxicity of food carcinogens by naturally occurring monomeric and dimeric polyphenolics. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2000, 35, 86 – 98.

Doerge, D. R., Chang, H. C.: Inactivation of thyroid peroxidase by soy isoflavones, in vitro and in vivo. *Journal of Chromatography B. Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2002, 777, (1 – 2), 269 – 279.

Dordevic, D., Jancikova, S., Tremlova, B.: Antioxidant profile of muelled wine. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2019, 13 (1), 415 – 421.

Farghali, H., Kameníková, L., Hodis, J., Kutinová Canová, N.: Potenciální interakce mezi léčivy a doplňky stravy rostlinného původu. [Potential drug interactions and dietary supplements of the plant origin]. *Časopis lékařů českých*, 2014, 153 (2), 67 – 71.

Ferreira, A. C., Lisboa, P. C., Oliveira, K. J., Lima, L. P., Barros, I. A., Carvalho, D. P.: Inhibition

of thyroid type 1 deiodinase activity by flavonoids. *Food and Chemical Toxicology*, 2002, 40 (7), 913 – 917.

Harman, D.: Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology*, 1956, 11 (3), 298 – 300.

Harman, D.: Free radical theory of aging. *Mutation Research/DNAging*, 1992, 275, (3 – 6), 257 – 266.

Kadrová, J., Maďarič, A., Németh, K.: Prírodné zdroje polyfenolov a iných bioaktívnych látok. [Natural sources of polyphenols and other bioactive substances]. *Farmaceutický obzor*, 2005, 74 (7), 171 – 180.

Kovács, L., Csupor, D., Lente, G., Gunda, T.: *100 Chemical Myths. Misconceptions, Misunderstandings, Explanations.* Switzerland: Springer, 2014. 396 pp.

Manach, C.: Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, 79 (5), 727 – 747.

Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Rémésy, C.: Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2005, 81 (suppl. 1), 230S – 242S.

Mendez, M. A., Anthony, M. S., Arab, L.: Soy-based formulae and infant growth and development: a review. *Journal of Nutrition*, 2002, 132 (8), 2127 – 2130.

Mennen, L. I., Walker, R., Bennetau-Pelissero, C., Scalbert, A.: Risks and safety of polyphenol consumption. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2005, 81 (suppl. 1), 326S – 329S.

Obied, H. K.: Biography of biophenols: past, present and future. *Functional Foods in Health and Disease*, 2013, 3 (6), 230 – 241.

Ondrejovič, M., Maliar, T., Polívka, L., Ilhár, S.: Polyfenoly jablk. [Apple Polyphenols]. *Chemické Listy*, 2009, 103 (5), 394 – 400.

Postup pri umiestnení výživového doplnku na trh v Slovenskej republike – aktualizácia z 24. apríla

2015. http://www.uvzsr.sk/docs/info/hv/Postup_pri_umiestn_vyz_doplnku_na_trh_v_SR.pdf. [cit. 2019-7-23].

Prior, R. L., Cao, G.: Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *Horticultural Science*, 2000, 35, (4), 588 – 592.

SADA: Zakázané látky vo vzťahu k liekom a výživovým doplnkom. https://www.antidoping.sk/data/files/160_zakazane-latky-vo-vztahu-s-liekmi-a-vyzivovymi-doplnkami.pdf. Aktualizované Október 10, 2017. [cit. 2019-6-26].

Süli, J., Homzová, K., Sobeková, A., Bujdošová, Z., Hrušková, T.: Polyfenolové látky v potravinách. [Polyphenol substances in food]. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa*, 2014a, 17 (3), 47 – 55.

Süli, J., Homzová, K., Sobeková, A., Bujdošová, Z., Hrušková, T.: Fyziologické účinky polyfenolov a ich metabolitov v strave. *Československá fyziologie*, 2014b, 63 (2), 92 – 97.

ŠÚKL: Liek alebo výživový doplnok? https://www.sukl.sk/sk/registracia-humannych-liekov/mam-moj-produkt-registrovat-ako-liek/liek-alebo-vyzivovy-doplnok?page_id=941. [cit. 25.1.2020].

Velíšek, J. a Hajšlová, J.: *Chemie potravin II.* [Food chemistry]. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. 623 s.

Veronese, M. L., Gillen, L. P., Burke, J. P., Dorval, E. P., Hauck, W. W., Pequignot, E., Waldman, S. A., Greenberg, H. E.: Exposure-dependent inhibition of intestinal and hepatic CYP3A4 *in vivo* by grapefruit juice. *Journal of Clinical Pharmacology*, 2003, 43, 831 – 839.

Yao, L. H., Jiang, Y. M., Tomás-Barberán, F. A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S. S.: Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2004, 59 (3), 113 – 122.

Zákon č. 147/2001 Z. z. Zákon o reklame a o zmene a doplnení niektorých zákonov, čiastka 62/2001. Platnosť od 01.01.2019.



ANTIOXIDAČNÁ AKTIVITA A CELKOVÝ OBSAH FENOLICKÝCH LÁTOK V EXTRAKTOCH *CAPSELLA BURSA-PASTORIS* A *BRASSICA NIGRA*

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TOTAL PHENOLIC CONTENT IN EXTRACTS OF *CAPSELLA BURSA-PASTORIS* AND *BRASSICA NIGRA*

Salayová, A., Palkovičová, V.

Ústav farmaceutickej chémie
Katedra chémie, biochémie a biofyziky
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

aneta.salayova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Antioxidanty v strave zohrávajú dôležitú úlohu ako doplnky endogénnych antioxidantov pri neutralizácii oxidačného stresu. Ich úlohou je neutralizovať nadbytok voľných radikálov, chrániť bunky pred ich toxickými účinkami a prispievať tak k prevencii mnohých civilizačných chorôb.

V tejto štúdii bola študovaná schopnosť rôznych extraktov kapustovitých rastlín kapsičky pastierskej (*Capsella bursa-pastoris*) a horčice čiernej (*Brassica nigra*) vychytávať radikály pomocou DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) a ABTS (kyselina 2,2'-azino-bis(3-etylbenzotiazolín-6-sulfónová)) metódy a bol stanovený

celkový obsah fenolických látok (TPC) v jednotlivých extraktoch. Cieľom štúdie bolo skúmať vplyv teploty, extrakčných podmienok a rozpúšťadla na antioxidačnú kapacitu jednotlivých rastlinných extraktov.

Výsledky ukázali, že obe rastliny majú vysoký potenciál zachytávať voľné radikály. Najvyšší obsah extrahovaných antioxidantov, vrátane celkového obsahu fenolických látok, sa získal použitím zmesi rozpúšťadiel metanol-voda a refluxu alebo sonifikácie ako extrakčnej metódy. Celkový obsah fenolických látok, vypočítaný ako ekvivalent kyseliny galovej (GAE), sa pohyboval v rozsahu od 278 ± 22 do 1125 ± 37 pre extrakty *Capsella bursa-pastoris* a od 626 ± 53 do 943 ± 21 pri extraktoch *Brassica nigra* vyjadrený v mg

GAE/100 g sušiny. Bola pozorovaná pozitívna lineárna korelácia medzi celkovou antioxidačnou aktivitou stanovenou metódami DPPH a ABTS a celkovým obsahom fenolických látok. Vysoký korelačný koeficient medzi výsledkami TPC a DPPH metódy pre extrakty *Capsella bursa-pastoris* naznačuje, že fenolické zlúčeniny sú jednou z hlavných zložiek zodpovedných za antioxidačnú aktivitu v porovnaní s *Brassica nigra* s nízkym korelačným koeficientom.

Význam štúdia antioxidačnej aktivity kapustovitých rastlín (*Brassicaceae*) je opodstatnený. Okrem možnosti využitia týchto rastlín v prírodnej medicíne môžu vďaka ich antioxidačnej aktivite slúžiť aj ako potenciálne chemopreventívne látky.

Kľúčové slová: ABTS; antioxidačná aktivita; *Brassica nigra*; *Capsella bursa-pastoris*; DPPH; TPC

ABSTRACT

Dietary antioxidants play an important role as supplements to endogenous antioxidants in neutralizing oxidative stress. The role of antioxidants is to neutralize the excess of free radicals, protect cells from their toxic effects and contribute to the prevention of many civilization diseases.

In this study, the abilities of various extracts of a crucifer plant *Capsella bursa-pastoris* and *Brassica nigra* to scavenge the radicals using the DPPH (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) methods, as well as the total phenolic content (TPC) in the individual extracts were studied. The aim of the study was to study the influence of temperature, extraction procedure and solvent on an antioxidant capacity of the extracts.

The results indicated that both plants had a high potential to scavenge free radicals. The

highest content of extracted antioxidants, including total phenolic content, was obtained by using a solvent mixture of methanol-water and reflux or sonication as the extraction method. Total phenolic content, calculated as gallic acid equivalent (GAE), ranged from 278 ± 22 to 1125 ± 37 for *Capsella bursa-pastoris* extracts and from 626 ± 53 to 943 ± 21 for *Brassica nigra* extracts expressed in mg GAE/100 g of a dry matter. A positive linear correlation between the total antioxidant activity, determined by the DPPH and ABTS methods, and total phenolic content was observed. A high correlation coefficient between TPC and DPPH results for *Capsella bursa-pastoris* extracts suggests that phenolic compounds are one of the major components responsible for antioxidant activity compared to *Brassica nigra* with a low correlation coefficient.

The importance of studying the antioxidant activity of crucifer plants (*Brassicaceae*) is well-founded. These plants can be used in natural medicine as well as the potential chemopreventive agents due to their antioxidant activity.

Key words: ABTS; antioxidant activity; *Brassica nigra*; *Capsella bursa-pastoris*; DPPH; TPC

ÚVOD

V posledných desaťročiach sa záujem vedcov čoraz častejšie zameriava na štúdium zdraviu prospešných vlastností rastlín čeľade kapustovité (*Brassicaceae*), ktoré sú významnou súčasťou ľudskej potravy. Epidemiologické štúdie potvrdili inverznú koreláciu medzi príjmom kapustovitej zeleniny a rizikom výskytu niektorých druhov nádorových ochorení. Antikarcinogénny účinok týchto rastlinných druhov bol pripisovaný produktom rozkladu glukozinolátov, indolovým zlúčeninám, izotiokyanátom, fytoalexínom a iným antioxidantom (Pilátová a kol., 2011).

Do čeľade kapustovitých rastlín (*Brassicaceae*)

patria aj kapsička pastierska (*Capsella bursa-pastoris*) a horčica čierna (*Brassica nigra*), rastliny, ktoré majú uplatnenie pri terapii rôznych ochorení. Horčica čierna sa pestuje hlavne pre svoje semeno, ktoré má výraznú chuť, a preto má uplatnenie ako aromatická korenina. Táto rastlina má tiež významné liečivé účinky pri terapii reumatizmu, bolesti kĺbov a nádorov hrdla, ako aj diuretické a laxatívne účinky (Al-Snafi, 2015a). Rôzne časti kapsičky pastierskej vykazujú množstvo liečivých účinkov uplatňujúcich sa pri poškodení spojiviek, žalúdočných nevoľnostiach, metrorágii a hydropsii, ako aj účinky regulujúce vysoký krvný tlak (Al-Snafi, 2015b).

Zdraviu prospešný účinok kapustovitých rastlín je čiastočne spájaný s ich antioxidačnou aktivitou, kde sú za hlavné antioxidanty týchto rastlín považované fenolické zlúčeniny (Soengas a kol., 2011, 2012; Cartea a kol., 2010). Voľné radikály zohrávajú dôležitú úlohu v oxidačnom poškodení biologických systémov, preto sa pri zisťovaní antioxidačných vlastností čistých látok alebo výťažkov z rastlín zisťuje ich schopnosť zachytávať voľné radikály. Na tento účel sa používajú metódy, ktoré sú založené na stanovení schopnosti vychytávania voľných radikálov (Dawidowicz a kol., 2012).

Cieľom tejto štúdie bolo preskúmať možnosti extrakcie antioxidantov z rastlín čeľade kapustovité (*Brassicaceae*), a to kapsičky pastierskej a semien horčice čiernej v rôznych rozpúšťadlách (voda a metanol), kde boli porovnávané tri extrakčné techniky, a to macerácia pri laboratórnej teplote, ultrazvukom asistovaná extrakcia a klasická extrakcia refluxom.

MATERIÁL A METÓDY

Činidlá a rozpúšťadlá metanol p.a. 99,5 % (Mikrochem s. r. o., SR), 2,2-difeny-1-pikrylhydrazyl – DPPH (Sigma Aldrich, USA), kyselina 2,2'-azino-bis(3-etylbenzotiazolín-6-sulfónová) – ABTS (Sigma Aldrich, USA), kyselina askorbová (Lach-Ner s.r.o., SR), peroxodisíran draselný – $K_2S_2O_8$ (Acros Organics, Fisher Scientific, Pittsburgh, USA),

uhličitan sodný, bezvodý (Mikrochem s.r.o., SR), Folin-Ciocalteu reagenčné činidlo (Sigma Aldrich, USA) boli použité ako komerčné chemikálie bez ďalšieho čistenia. Zakúpené vzorky rastlín kapsička pastierka – vňať (Hanus, Bylinné prípravky Nitra, SR), horčica čierna – semeno (Benkor, ČR) boli použité pre všetky experimenty bez ďalšieho sušenia.

Prístroje a zariadenie

V našej štúdii boli použité: UV-Vis spektrofotometer Cary 60 (Agilent Technologies, USA), kremenné kyvety QS s optickou dĺžkou 10 mm, elektrický mlynček a ultrazvuková vaňa (Sonorex Digitec, Bandelin electronic, Nemecko).

Príprava rastlinných extraktov

Rastlinné extrakty boli pripravené z homogenizovaných semien horčice čiernej (*Brassica nigra*) a vňate kapsičky pastierskej (*Capsella bursa-pastoris*) s použitím elektrického mlynčeka. Príslušné extrakty boli pripravené navážením 600 mg rastlinného materiálu a pridaním 12 ml extrakčného rozpúšťadla – vody, metanolu alebo zmesi metanol-voda 1:1 (v/v). Pre maceráty sa táto zmes nechala stáť pri izbovej teplote za občasného miešania počas 120 minút. Pre extrakty pripravené sonifikáciou sa zmes sonifikovala v ultrazvukovej vani po dobu 30 minút a extrakty pripravené refluxom boli refluxované počas 30 minút. Po prefiltrovaní cez filtračný papier boli extrakty použité na ďalšiu analýzu.

Stanovenie antioxidačnej aktivity DPPH metódou

K 100 μ l extraktu sme pridali 900 μ l rovnakého rozpúšťadla a následne 2 ml pracovného roztoku DPPH (0,1 mmol.l⁻¹). Kontrolný roztok DPPH (A_0) sme pripravili zmiešaním 1,0 ml rozpúšťadla a 2,0 ml pracovného roztoku DPPH (0,1 mmol.l⁻¹). Po 30 minútach státia v tme boli namerané absorbancie (A) pri 517 nm oproti metanolu.

Stanovenie antioxidačnej aktivity ABTS metódou

Pri stanovení antioxidačnej aktivity ABTS

metódou sme pridali 100 µl rastlinného extraktu k 2,7 ml pracovného roztoku ABTS a po 5 minútach sa namerala absorbancia (A) pri 734 nm a 30 °C oproti metanolu. Zásobný roztok sa pripravil zmiešaním roztoku ABTS (7 mmol.l⁻¹) a roztoku K₂S₂O₈ (2,45 mmol.l⁻¹) v rovnakom pomere a zmes sa nechala stáť pri izbovej teplote najmenej 12 h. Pracovný roztok sme pripravili zriedením 2 ml pripraveného zásobného roztoku metanolom na 50 ml v odmernej banke. Takto pripravený pracovný roztok ABTS sa počas analýzy uchovával v chladničke a spotreboval najneskôr do 16 h. Kontrolný roztok ABTS (A₀) sme pripravili zmiešaním 100 µl rozpúšťadla a 2,7 ml pracovného roztoku ABTS.

Stanovenie celkového obsahu fenolických látok (TPC)

Ku 20 µl jednotlivých vodných a metanolových rastlinných extraktov sme pridali 1,6 ml destilovanej vody, 100 µl Folin-Ciocalteuovho činidla a po 5 min 300 µl roztoku Na₂CO₃ (10 %). Roztoky sme premiešali na vortrexe a namerali sme absorbanciu pri vlnovej dĺžke 765 nm oproti slepej vzorke po 2 h inkubácii v tme pri laboratórnej teplote. Slepá vzorka bola pripravená rovnakým postupom s použitím 20 µl príslušného rozpúšťadla.

Spracovanie výsledkov a štatistická analýza

Pre štúdium antioxidačnej aktivity kapustovitých rastlín sme zvolili dve nezávislé metódy (ABTS a DPPH), a tiež metódu stanovenia celkového obsahu fenolických látok (TPC). Stabilné voľné radikály, ako je 2,2'-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH) a kyselina 2,2'-azino-bis(3-etylbenzotiazolín-6-sulfónová) (ABTS), sú často používané na štúdium antioxidačných vlastností. Ide o spektrofotometrické metódy založené na vychytávaní týchto radikálov antioxidantmi. Výsledky stanovení antioxidačných aktivít DPPH a ABTS metódou sme vyjadrili ako percentuálny účinok I (%), vypočítaný ako zníženie absorbancie extraktov (A) relatívne ku kontrole (A₀) podľa rovnice (Chen a kol., 2013):

$$I (\%) = (A_0 - A) / A_0 \times 100$$

Výsledky stanovenia TPC sme vyjadrili ako ekvivalent kyseliny galovej (GAE) v mg/100 g suchej rastliny pomocou kalibračnej priamky ($y = 0,8789x + 0,0145$, $R^2 = 0,9988$).

Výsledky troch stanovení antioxidačných aktivít metódami ABTS, DPPH a TPC boli spriemerované a následne bola vypočítaná smerodajná odchýlka (SD). Korelačná analýza medzi antioxidačnou aktivitou (DPPH, ABTS) a celkovým obsahom fenolických látok (TPC) bola spracovaná pomocou programu MS Excel a boli vypočítané Pearsonove korelačné koeficienty.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kvalita extraktu rastlinného materiálu závisí od použitého extrakčného postupu, ktorý sa odráža v percentuálnom podiele zlúčenín prítomných v extrakte. Medzi najbežnejšie používané extrakčné postupy patrí sonifikácia, ohrev pod refluxom, Soxhletova extrakcia alebo macerácia či perkolácia čerstvých zelených rastlín, alebo sušených homogenizovaných rastlinných materiálov vo vode alebo v organickom rozpúšťadle (Sasidharan a kol., 2011). Antioxidačná aktivita stanovená DPPH a ABTS metódami a celkový obsah fenolických látok (TPC) boli študované vo vodných aj metanolových extraktoch kapsičky pastierskej (*Capsella bursa-pastoris* – CBP) a horčice čiernej (*Brassica nigra* – BN) pri zachovaní rovnakého pomeru medzi rastlinným materiálom a rozpúšťadlom. Výsledky sú uvedené v tabuľkách 1 a 2.

Vplyv rozpúšťadla

Najvyššiu antioxidačnú aktivitu stanovenú metódou DPPH aj ABTS vykazovali v prípade kapsičky pastierskej vodno-metanolové extrakty a najnižšiu metanolové extrakty. Antioxidačná aktivita horčice čiernej bola ovplyvnená hlavne výberom rozpúšťadla, pričom vyššiu aktivitu k DPPH aj

Tab. 1: Výsledky antioxidačnej aktivity stanovené metódou DPPH, ABTS a celkový obsah fenolických látok (TPC) v extraktoch kapsičky pastierskej (CBP)

extrakt		DPPH	ABTS	TPC
		I (%) ± SD	I (%) ± SD	mg GAE/100 g ± SD
macerácia	CBP _{voda}	88,7 ± 0,1	98,41 ± 0,16	855 ± 60
	CBP _{metanol}	62,0 ± 2,1	51,79 ± 1,66	278 ± 22
	CBP _{metanol-voda}	91,1 ± 0,2	99,48 ± 0,13	1020 ± 143
sonifikácia	CBP _{voda}	86,4 ± 0,6	98,23 ± 0,21	1047 ± 51
	CBP _{metanol}	65,4 ± 0,7	95,30 ± 5,46	451 ± 48
reflux	CBP _{voda}	85,9 ± 0,3	98,23 ± 0,21	1125 ± 37
	CBP _{metanol}	76,9 ± 2,0	95,30 ± 5,46	871 ± 33

ABTS radikálom mali metanolové extrakty oproti vodným, najvyššiu vodno-metanolové extrakty. Dôvodom rozdielu v porovnaní s extraktmi kapsičky pastierskej je prítomnosť vysokého obsahu tuku v semenách horčice čiernej, kde predpokladáme, že organické rozpúšťadlo je lepšie médium na extrakciu antioxidačných zlúčenín.

Najvyšší celkový obsah fenolických látok (TPC) pri extraktoch kapsičky pastierskej bol pozorovaný pri použití zmesi rozpúšťadiel voda-metanol. Vo všetkých študovaných extraktoch bol celkový obsah fenolických látok vyšší vo vodnom extrakte ako v metanolovom, keďže fenolické látky sú vo vode rozpustné antioxidanty. Pri extraktoch horčice čiernej bol rovnaký trend ako pri kapsičke pastierskej, ale rozdiely obsahu extrahovaných fenolických látok vo vode a metanole neboli až také výrazné. Celkový obsah fenolických látok v metanolovom extrakte listov horčice čiernej bol podľa študovanej literatúry $171,73 \pm 5,043$ ekvivalentov kyseliny galovej v mg/g suchej vzorky (Rajamurugan a kol., 2012) alebo podľa iného literárneho zdroja v etanolovom extrakte 6,67 mg/g GAE (Alam a kol., 2011). V semenách horčice čiernej sme stanovili celkový obsah fenolických látok 626 až 943 mg GAE/100 g.

Vplyv extrakčnej metódy

Vplyv teploty pri extrakcii je významný parameter, ktorý môže zvýšiť schopnosť rozpúšťadla extrahovať zlúčeniny a znižuje viskozitu roztoku vzorky, čo umožňuje lepší prienik rozpúšťadla do rastlinného materiálu. Ultrazvukom asistovaná extrakcia umožňuje skrátenie extrakčného času s rovnakými alebo dokonca lepšími výťažkami (Azwanida, 2015). Výber extrakčných podmienok nemal výrazný vplyv na konečnú antioxidačnú aktivitu pri jednotlivých extraktoch. V prípade metanolových extraktov bolo výhodnejšie použitie refluxu alebo sonifikácie. Pri výsledkoch celkového obsahu fenolických látok kapsičky pastierskej v metanole bol pozorovaný najvyšší rozdiel medzi použitými metódami. Pre celkový obsah fenolických látok sa všeobecne prejavoval rastúci trend v tomto poradí: macerácia pri laboratórnej teplote < extrakcia asistovaná ultrazvukom < reflux.

Korelácia

Na vyhodnotenie vzťahu medzi celkovým obsahom fenolických látok (TPC) a antioxidačnou aktivitou bola použitá korelačná analýza. Boli porovnané výsledky antioxidačnej aktivity získané

Tab. 2: Výsledky antioxidačnej aktivity stanovenej metódou DPPH, ABTS a celkový obsah fenolických látok (TPC) v extraktoch horčice čiernej (BN)

extrakt		DPPH	ABTS	TPC
		I (%) ± SD	I (%) ± SD	mg GAE/100 g ± SD
macerácia	BN _{voda}	62,7 ± 2,5	83,81 ± 2,68	712 ± 48
	BN _{metanol}	76,1 ± 1,6	92,13 ± 2,63	626 ± 53
	BN _{metanol-voda}	91,1 ± 1,1	98,78 ± 0,07	943 ± 21
sonifikácia	BN _{voda}	76,0 ± 1,9	96,18 ± 0,20	798 ± 7
	BN _{metanol}	79,8 ± 0,9	99,78 ± 0,08	652 ± 107
reflux	BN _{voda}	75,1 ± 1,9	95,68 ± 0,44	798 ± 125
	BN _{metanol}	79,0 ± 4,7	99,75 ± 0,02	752 ± 18

rôznymi metódami (DPPH, ABTS) a celkový obsah fenolických látok (TPC) všetkých pripravených extraktov. Z korelačnej analýzy pri extraktoch kapsičky pastierskej na základe hodnôt Pearsonových koeficientov vyplýva veľmi výrazná korelácia medzi TPC a antioxidačnou aktivitou určenou DPPH metódou (0,9226). Taktiež veľká korelácia bola vyhodnotená medzi TPC a ABTS metódou (0,7610), ako aj medzi DPPH a ABTS metódami (0,6992). Avšak pri korelačnej analýze medzi TPC a DPPH, a tiež TPC a ABTS jednotlivých extraktov horčice čiernej sme získali rozdielne výsledky. Hodnoty Pearsonových korelačných koeficientov (-0,053 a 0,153) naznačujú triviálnu koreláciu, z čoho vyplýva, že fenolické látky pravdepodobne nepredstavujú hlavné antioxidanty týchto extraktov. Schopnosť vychytávania ABTS radikálu dobre koreluje s výsledkami DPPH antioxidačnej aktivity (0,8255).

ZÁVER

Niektoré potraviny a zelenina sú dôležitými zdrojmi exogénnych antioxidantov, pričom rastliny čeľade kapustovité (*Brassicaceae*) patria medzi

zeleninu s najvyššou antioxidačnou aktivitou. Táto ich vlastnosť je často spájaná s ich zdravím prospešnými vlastnosťami a so znížením rizika chronických chorôb vrátane kardiovaskulárnych chorôb a rakoviny.

Extrakty kapustovitých rastlín kapsičky pastierskej (*Capsella bursa-pastoris*) a horčice čiernej (*Brassica nigra*) majú potenciál vychytávať voľné radikály DPPH a ABTS vo vysokej miere, a teda ich možno považovať za dobrý zdroj prírodných antioxidantov. Antioxidačná aktivita oboch rastlín je rozdielna vo vodnom a metanолоvom extrakte a vzrastá použitím zmesi týchto rozpúšťadiel. Pre získanie vyššieho obsahu extrahovaných antioxidantov, zahrňujúc fenolické látky, je najvýhodnejšie použitie rozpúšťadla voda-metanol a refluxu alebo sonifikácie ako extrakčnej metódy.

POĎAKOVANIE

Táto štúdia vznikla za podpory grantu IGA č. 13/2016: „Antioxidačná a antibakteriálna aktivita strieborných nanočastíc pripravených pomocou rastlinných extraktov“ a podpory projektu VEGA 2/0044/18 „Vysoko-energetické mletie pre

syntézu nanomateriálov bio-prístupom a vybrané environmentálne aplikácie“. Podakovanie patrí aj Ústavu biofyziky UVLF za umožnenie merania na UV-Vis spektrofotometri.

ZOZNAM LITERATÚRY

Al-Snafi, A. E.: The chemical constituents and pharmacological effects of *Capsella bursa-pastoris*. A review. *International Journal of Pharmacology & Toxicology*, 2015a, 5 (2), 76 – 81.

Al-Snafi, A. E.: The pharmacological importance of *Brassica nigra* and *Brassica rapa* grown in Iraq. *Journal of Pharmaceutical Biology*, 2015b, 5 (4), 240 – 253.

Alam, M. B., Hossain, M. S., Haque, E. M.: Antioxidant and anti-inflammatory activities of the leaf extract of *Brassica nigra*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2011, 2, 303 – 310.

Azwanida, N. N.: A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 2015, 4, 3 – 8.

Cartea, M. E., Francisco, M., Soengas, P., Velasco, P.: Phenolic compounds in *Brassica* vegetables. *Molecules*, 2010, 16 (1), 251 – 280.

Dawidowicz, A. L., Wianowska, D., Olszowy, M.: On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method

(Problems in estimation of antioxidant activity). *Food Chemistry*, 2012, 131 (3), 1037 – 1043.

Chen, Z., Bertin, R., Foldi, G.: EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH• assay using several statistical programs. *Food Chemistry*, 2013, 138 (1), 414 – 420.

Pilátová, M., Chripková, M., Mojžiš, J.: Cruciferous vegetables in cancer prevention. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae*, 2011, 58, 62 – 71.

Rajamurugan, R., Selvaganabathy, N., Kumaravel, S., Ramamurthy, Ch., Sujatha, V., Thirunavukkarasu, C.: Polyphenol contents and antioxidant activity of *Brassica nigra* (L.) Koch. leaf extract. *Natural Product Research*. 2012, 26 (23), 2208 – 2210.

Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., Yoga Latha, L.: Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 2011, 8 (1), 1 – 10.

Soengas, P., Sotelo, T., Velasco, P., Cartea, M. E.: Antioxidant properties of *Brassica* vegetables. *Functional Plant Science and Biotechnology*. 2011, 5 (2), 43 – 55.

Soengas, P., Cartea, M. E., Francisco, M., Sotelo, T., Velasco, P.: New insights into antioxidant activity of *Brassica* crops. *Food Chemistry*, 2012, 134 (2), 725 – 733.



ANTIOXIDAČNÉ VLASTNOSTI PLODOV A STOPIEK *PRUNUS AVIUM* (L.) A *CERASUS VULGARIS* (MILL.), VÝZNAM PRE PREVENCIU ZDRAVIA

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF FRUITS AND STEMS OF *PRUNUS AVIUM* (L.) AND *CERASUS VULGARIS* (MILL.), IMPORTANCE FOR HEALTH PREVENTION

Kukučková, S., Eftimová, J.

Katedra farmakognózie a botaniky
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 041 81 Košice

Slovenská republika

jarmila.eftimova@uvlf.sk

ABSTRAKT

Cieľom predloženej štúdie bolo stanoviť a porovnať obsah flavonoidov, celkových polyfenolov a antioxidačnú aktivitu ôsmich vzoriek plodov a stopiek čerešne vtácej *Cerasus avium* (L.) Moench a čerešne višňovej *Cerasus vulgaris* (Mill.). Z našich analýz vyplynulo, že obsah celkových polyfenolov stanovených spektrofotometrickou metódou pomocou Folin-Ciocalteuovo činidla (FC) pri vlnovej dĺžke 750 nm je vyšší v stopkách čerešne višňovej ($0,789 \pm 0,032$ %/0,5 g vzorky) ako v stopkách čerešne vtácej ($0,534 \pm 0,020$ %/0,5 g vzorky). Najvyšší obsah flavonoidov podľa Lamaison a Carnat (Willett, 2002) sme namerali

pri vlnovej dĺžke 425 nm v stopkách čerešne višňovej zakúpenej z internetového obchodu ($0,245 \pm 0,004$ %/0,6 g vzorky). O niečo nižšie množstvo flavonoidov sa nachádzalo v stopkách čerešne višňovej z voľného zberu ($0,213 \pm 0,003$ %/0,6 g vzorky) a najmenej v plodoch čerešne vtácej z voľného zberu ($0,048 \pm 0,004$ %/0,6 g vzorky). Pri porovnávaní plodov čerešne vtácej *Cerasus avium* (L.) Moench a čerešne višňovej *Cerasus vulgaris* (Mill.) sme zistili, že obsah polyfenolov v plodoch čerešne višňovej ($0,385 \pm 0,044$ %/0,5 g vzorky) je vyšší ako v plodoch čerešne vtácej ($0,283 \pm 0,141$ %/0,5 g vzorky). Pri porovnaní obsahu polyfenolov v závislosti na spracovaní vzoriek plodov sme zistili, že vyšší obsah polyfenolov je vo vzorkách spracovaných procesom lyofili-

zácie. Vo všeobecnosti však môžeme konštatovať, že stopky skúmaných rastlín sú bohatšie na obsah celkových polyfenolov v porovnaní s plodmi. Na stanovenie antioxidačnej aktivity sme použili metódu FRAP (Aktumsek a kol., 2011), založenej na schopnosti antioxidantov redukovať železitý kation Fe^{3+} sme zistili, že najvyššiu antioxidačnú aktivitu majú stopky čerešne višňovej z internetového obchodu ($8,667 \pm 0,061.100 \mu\text{mol.l}^{-1} \text{Fe}^{2+}$). Hodnoty antioxidačnej aktivity vzoriek priamo korelovali s hodnotami obsahu flavonoidov a celkových polyfenolov. Na základe dosiahnutých výsledkov môžeme odporúčať plody a stopky *Prunus avium* (L.) a *Cerasus vulgaris* (Mill.) ako zdroj polyfenolov, flavonoidov a antioxidačných vlastností, ktoré sa môžu využívať na prevenciu a podpornú terapiu ochorení vyvolaných stresom. Okrem konzumácie plodov odporúčame využívať aj stopky, ktoré pri spracovaní tvoria odpad na výrobu čajov alebo na výrobu funkčných potravín.

Kľúčové slová: antioxidačná aktivita; čerešňa višňová; čerešňa vtáčia; flavonoidy; polyfenoly

ABSTRACT

The aim of the presented study was to determine and compare the flavonoid content, total polyphenols and antioxidant activity of eight samples of fruit and stems of the cherries *Cerasus avium* (L.) Moench and *Cerasus vulgaris* (Mill.). Our analyzes showed that the content of total polyphenols determined by the spectrophotometric method using the Folin-Ciocalteu reagent (FC) at a wavelength of 750 nm is higher in the cherry stem ($0.789 \pm 0.032\%/0.5 \text{ g of the sample}$) than in the cherry stem ($0.534 \pm 0.020/0.5 \text{ g of the samples}$). The highest flavonoid content according to Lamaison and Carnat (Willett, 2002) was measured at 425 nm in a sour cherry

stem purchased from an online store ($0.245 \pm 0.004\%/0.6 \text{ g of the sample}$). Slightly lower amounts of flavonoids were found in the cherries of the free-flowing cherry ($0.213 \pm 0.003\%/0.6 \text{ g of the sample}$) and the least in the fruit of the free-flowing cherry ($0.048 \pm 0.004\%/0.6 \text{ g of the sample}$). When comparing the cherries of *Cerasus avium* (L.) Moench and *Cerasus vulgaris* (Mill.) we found that the polyphenol content of cherry fruit of the sweet cherry ($0.385 \pm 0.044\%/0.5 \text{ g of the sample}$) is higher than in the cherry fruit of the sour cherry ($0.283 \pm 0.141\%/0.5 \text{ g of the sample}$). When comparing the polyphenol content depending on the processing of the fruit samples, we found that the higher polyphenol content was in the samples processed by the lyophilization process. However, in general it can be stated that the stems of the examined plants are richer in the content of total polyphenols compared to the fruits. To determine antioxidant activity we used FRAP method (Aktumsek et al., 2011), based on the ability of antioxidants to reduce the ferric cation Fe^{3+} . We found that the highest antioxidant activity had the cherry stems from the online store ($8,667 \pm 0,061.100 \mu\text{mol.l}^{-1} \text{Fe}^{2+}$). Antioxidant activity values of the samples directly correlated with values of flavonoids and total polyphenols. Based on the results obtained, we can recommend the fruits and stems of *Prunus avium* (L.) and *Cerasus vulgaris* (Mill.) as a source of polyphenols, flavonoids and antioxidant properties that can be used for the prevention and supportive therapy of stress-induced diseases. In addition to fruit consumption, we also recommend the use of stems, which in processing form waste for the production of tea or the production of functional foods.

Key words: antioxidant activity; flavonoids; polyphenols; sour cherry; sweet cherry

ÚVOD

Voľné radikály sú vysoko reaktívne substancie s nespáreným elektrónom kyslíka (ROS), dusíka (RNS) a kovových iónov. Aj keď na jednej strane v organizme človeka plnia dôležité funkcie, na druhej strane sa veľmi rýchlo spárujú s elektrónom, ktorý odoberú iným látkam a tým ich oxidujú. Produkcia voľných radikálov prebieha v organizme v dôsledku exogénnych a endogénnych faktorov (Minárik a Kimáková, 2016). Proti nekontrolovanému pôsobeniu voľných radikálov má organizmus vybudovaný ochranný mechanizmus antioxidantných systémov, ale v prípade zlyhania niektorého z nich dochádza k poškodeniu molekúl, buniek, orgánov až k smrti organizmu (Ďuračková a kol., 1999). Oxidačný stres vzniká v organizme ako nerovnováha medzi oxidantmi a antioxidantmi, čo môže spôsobiť potenciálne poškodenie organizmu (Sies, 2018). Ak majú byť antioxidantné látky účinné v boji proti voľným radikálom, musia byť v organizme v dostatočnej koncentrácii (Kimáková a Pavlík, 2017; Čaprnda, 2014). V súčasnosti existujú vedecké články potvrdzujúce antioxidantné vlastnosti polyfenolov, ktoré sú prítomné v mnohých rastlinách. Tieto rastliny by sa mohli využívať ako exogénne antioxidanty pri ochoreniach, ktoré spôsobuje oxidačný stres.

Modelovými rastlinami v našom experimente boli: čerešňa vtáčia *Cerasus avium* (L.) Moench a čerešňa višňová *Cerasus vulgaris* (Mill.). Čerešňa vtáčia (čerešňa) patrí do čeľade *Rosaceae*, rod *Prunus*, druh *Cerasus avium* (L.) Moench (syn.: *Prunus avium* L.). Plody čerešní obsahujú významné množstvá bioaktívnych zložiek (fenolových zlúčenín, sacharidov, organických kyselín, dusíkatých a minerálnych látok) (Nawirska-Olszańska a kol., 2017). Obsahujú od 11 % do 15 % sacharidov (sacharóza, glukóza, fruktóza, maltóza a sorbitol) a málo lipidov (200 – 700 mg/100 g). Hlavnou organickou kyselinou je kyselina jablčná (300 – 800 mg/100 g) (Chockchaisawasdee a kol., 2016). Celkový obsah kyselín v plodoch čerešní je od 0,2 %

– 0,7 % a sú zodpovedné za ich kyslosť (pH 3,7 – 4,2) (Usenik a kol., 2008). Čerešne sú zdrojom vitamínu C (7 mg/100 g). Obsahujú kyselinu citrónovú (4 – 50 mg/100 g) a malé množstvo kyseliny šikimovej, fumárovej a šťaveľovej. Obsahujú K (202 mg/100 g) a malé množstvo P, Ca, Mg, Na, Mn, Cu, Zn, Se (Simmonds a Preedy, 2016). Hlavnou antokyánovou zlúčeninou v čerešniach je kyanidín-3-rutinozid a vo višniach kyanidín-3-glukozylrutinozid (Chockchaisawasdee a kol., 2016).

Čerešňa višňová (višňa) *Cerasus vulgaris* (Mill.) patrí do čeľade *Rosaceae*. Plody obsahujú do 10 % sacharidov, voľné kyseliny (2 %), pektín (do 2 %), minerálne soli, bielkovinové látky, glykozidicky viazané antokyánové farbivá a triesloviny. Stopky, listy a kôra z višne obsahujú predovšetkým triesloviny. Plody majú vysoký obsah organických kyselín (1,0 % – 1,9 %), ktoré zodpovedajú za ich kyslosť a pH (3,1 – 3,6) (Usenik a kol., 2008; Simmonds a Preedy, 2016). Najviac zastúpenými kyselinami sú kyselina jablčná, citrónová a v malých množstvách kyselina šikimová, šťaveľová, fumárová. Z esenciálnych aminokyselín sa v nich nachádza lyzín, z podmienených esenciálnych aminokyselín kyselina glutámová a z neesenciálnych kyselina asparágová. Z nenasýtených mastných kyselín sa v plodoch nachádzajú kyselina olejová, linolénová a arachidónová) a z nasýtených mastných kyselín sú to myristová, palmitová a steárová (Simmonds a Preedy, 2016). Plody višni obsahujú aj melatonín (Kirakosyan a kol., 2010). Višne obsahujú vitamín C (do 10 mg/100g), B (tiamín, riboflavín, pyridoxín, niacín), A (0,155 mg/100 g), E (0,1 mg/100 g) (Komprda, 2012). Višne sú bohatým zdrojom polyfenolov. Z antokyánov sú významné deriváty kyanidínu (kyanidín-3-glukozid, kyanidín-3-rutinozid, kyanidín-3-glukozylrutinozid, kyanidín-3-fosforid, pelargonidín-3-glukozid, peonidín-3-rutinozid a kyanidín-3-arabinozylrutinozid) a z hydroxyškoricových kyselín kyselina chlorogénová, neochlorogénová a deriváty kyseliny p-kumárovej). Niektoré antokyány sú pri spracovaní a skladovaní nestabilné, čo ovplyvňuje ich biolo-

Tab.1: Vzorky na analýzu

vzorka č. 1	višne stopky kup.
vzorka č. 2	višne stopky zber
vzorka č. 3	čerešne stopky kup.
vzorka č. 4	čerešne stopky zber
vzorka č. 5	višne plody lyo.
vzorka č. 6	višne plody zber
vzorka č. 7	čerešne plody lyo.
vzorka č. 8	čerešne plody zber

gickú dostupnosť a antioxidačnú aktivitu. Višne obsahujú aj iné druhy flavonoidných glykozidov ako kvercetín-3-gkukozylrutinozid, kvercetín-3-rutinozid, kempferol-3-glukozid, kempferol-3-rutinozid a izoramnetín-3-rutinozid. Zo zlúčenín flavonolového typu je prítomný katechín, epikatechín a ich deriváty epikatechín-3-malát a epikatechín-3-(1''-metyl)-malát (Watson a Preedy, 2012).

V experimentálnej časti našej štúdie sme stanovili celkový obsah flavonoidov, polyfenolov a celkovej antioxidačnej aktivity v ôsmich vzorkách stopiek a plodov skúmaných rastlín (viď tab.1).

MATERIÁLA METÓDY

Biologický materiál

Čerešňa vtáčia (plod) – zber v lokalite obce Cejkov

Čerešňa vtáčia (stopka) – zber v lokalite obce Cejkov

Čerešňa vtáčia (plod) – objednaná z www.mix.it, Česká republika

Čerešňa vtáčia (stopka) – objednaná z www.zdraviebylin.sk, Dacia Plant, Rumunsko

Čerešňa višňová (plod) – zber v lokalite obce Cejkov

Čerešňa višňová (stopka) – zber v lokalite obce Cejkov

Čerešňa višňová (plod) – objednaná z www.mix.it, Česká republika

Čerešňa višňová (stopka) – objednaná z www.lemberona.at, Nemecko

Príprava vzoriek

Vzorky sme rozdelili do dvoch skupín: prvá skupina pozostávala zo stopiek a plodov z voľného zberu, plody boli usušené v teplovzdušnej rúre a stopky v polotieni po dobu dvoch týždňov. Druhú skupinu tvorili vzorky plodov a stopiek zakúpených prostredníctvom internetového obchodu, plody boli spracované procesom lyofilizácie a stopky usušené v polotieni po dobu týždňa a pol. Vzorky sme po rozdrobení zhomogenizovali v trecej miske a navážili množstvo potrebné na daný typ stanovenia.

Použité chemikálie

Acetón – Mikrochem, Slovensko

Kyselina chlorovodíková – Mikrochem, Slovensko

Etylacetát – Mikrochem, Slovensko

Chlorid hlinitý – Lachema, Česká republika

Kyselina octová ľadová – Mikrochem, Slovensko

Metanol – Mikrochem, Slovensko

Kyselina fosfowolframová – Lachema, Česká republika

Uhličitan sodný bezvodý – Mikrochem, Slovensko

Chlorid železitý – Mikrochem, Slovensko

Síran železnatý – Mikrochem, Slovensko

Použité prístroje

Spektrofotometer – UV-VIS – Beckman DU530, USA

Metódy stanovenia obsahu flavonoidov, celkových polyfenolov a antioxidačnej aktivity

V štúdiu sme stanovovali a porovnávali obsah flavonoidov, celkových polyfenolov a antioxidačnú aktivitu ôsmich vzoriek plodov a stopiek *Prunus avium* (L.) a *Cerasus vulgaris* (Mill.).

Stanovenie obsahu flavonoidov

Príprava vzorky

Drogu v množstve 0,6 g sme zahrievali v odmernej banke pod spätným chladičom s 1,0 ml kyseliny chlorovodíkovej, 20,0 ml acetónu a 1,0 ml 0,5 % roztoku meténamínu vo vodnom kúpeli po dobu 30 minút. Následne sa zmes po ochladení prefiltrovala

do odmernej banky na 100 ml tak, aby droga ostala v banke. Extrahovaná droga a vata sa zahrievali v banke ešte dvakrát rovnakým spôsobom po dobu 10 minút s 20,0 ml acetónu. Jednotlivé výluhy sa sfiltrovali do rovnakej odmernej banky, obsah sa následne doplnil acetónom po rysku a premiešal sa (roztok A). V deliacom lieviku sa 20,0 ml roztoku A zmiešalo s 20,0 ml vody a roztok sa vytrepával najskôr s 15,0 ml etylacetátu a potom ešte trikrát s 10,0 ml etylacetátu. Spojené etylacetátové zvyšky sa v deliacom lieviku vytreprávali ešte dvakrát s 50,0 ml destilovanej vody, následne sa previedli do odmernej banky na 50,0 ml a doplnili etylacetátom po značku (roztok B). Skúmaný roztok: 10,0 ml roztoku B sa prenieslo do odmernej banky na 25,0 ml, pridal sa 1,0 ml 2 % roztoku chloridu hlinitého v zmesi koncentrovanej kyseliny octovej a metanolu (1:19) a doplnil sa zmesou kyseliny octovej a metanolu (1:19) po rysku. Porovnávaci roztok: 10,0 ml roztoku B sa v odmernej banke doplnilo zmesou kyseliny octovej a metanolu (1:19) na 25,0 ml. Po 30 minútach sa pri 425 nm zmerala absorbanca v 10 mm vrstve oproti porovnávaciemu roztoku. Obsah flavonoidov sa vypočítal podľa nasledujúceho vzťahu:

$$\% = \frac{A * k}{m}$$

A = absorbanca roztoku pri maxime 425 nm

k = prepočítavací koeficient drogy pre daný štandard (1,25)

m = navážka drogy v gramoch

Lamaison a Carnat (Willett, 2002) in: Suchý, 2013.

Stanovenie celkového obsahu polyfenolov

Obsah celkových polyfenolov sme stanovovali spektrofotometrickou metódou pomocou Folin-Ciocalteuovo činidla (FC) pri vlnovej dĺžke 750 nm. Metóda je založená na princípe oxidačno-redukčných schopností fenolických látok v alkalickom prostredí, kedy dochádza k redukcii Folin-Ciocalteuovo činidla (FC) pozostávajúceho z fosfowolfrámo-fosfomolybdénového komplexu, ktoré sa prejaví vznikom modrého zafarbenia.

Príprava vzorky

Vo varnej banke sa zmiešalo 0,5 g drogy so 150 ml destilovanej vody. Zmes sa zahrievala do bodu varu a varila ďalších 30 minút, ochladila sa pod tečúcou vodou, a následne sa previedla do odmernej banky na 250 ml a doplnila vodou po značku. Po usadení častíc drogy sa roztok prefiltraval a prvých 50 ml filtrátu sa odstránilo, pričom 5,0 ml tohto filtrátu sa zriedilo vodou na 25,0 ml a 2,0 ml roztoku sa zmiešalo so 17,0 ml 20 % roztoku uhličitanu sodného s 1,0 ml kyseliny fosfowolfrámovej. Po uplynutí dvoch minút od posledného pridaného roztoku sa za použitia vody ako kontrolnej tekutiny odmerala absorbanca (A) v maxime pri 750 nm. Obsah trieslovín v % sa vypočítal podľa nasledujúceho vzorca:

$$\% = \frac{3,125 * A}{0,316 * m}$$

A = absorbanca roztoku pri maxime 750 nm

m = navážka drogy v gramoch

(Singleton a Rossi 1965).

Stanovenie antioxidačnej aktivity drogy metódou FRAP

FRAP metóda (ferric reducing antioxidant potencial) je založená na hodnotení schopností antioxidantov redukovať Fe^{3+} . Pri tejto metóde antioxidanty prítomné vo vzorke redukujú komplex Fe^{3+} -2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazin) (Fe^{3+} -TPTZ) na Fe^{2+} -TPTZ. Redukcia sa sleduje pri vlnovej dĺžke 593 nm. (Aktumsek, a kol., 2011; Singleton a Rossi, 1965). Pri tomto stanovení sa použil čerstvo pripravený roztok TPTZ, čo je zmes roztoku TPTZ s koncentráciou 0,01 mol.l⁻¹ v kyseline chlorovodíkovej s koncentráciou 0,04 mol.l⁻¹, roztoku chloridu železitého s koncentráciou 0,02 mol.l⁻¹ a vody v pomere 5:5:50. 50 µl analyzovanej vzorky sa zmiešalo s 1,0 ml pracovného roztoku TPTZ a po štyroch minútach sa odmerala absorbanca (A₄ min) pri vlnovej dĺžke 593 nm. Rovnakým spôsobom bola stanovená absorbanca (A₀) zmesi, ktorá pozostávala z 50 µl analyzovanej vzorky a 1,0 ml destilovanej vody. Roztok síranu železnatého

Tab. 2: Priemer meraní obsahu flavonoidov so smerodajnou odchýlkou

	Absorbancia	M [%]
višňa stopka kup.	0,132 ± 0,002	0,245 ± 0,004
višňa stopka zber	0,114 ± 0,002	0,213 ± 0,003
čerešňa stopka kup.	0,098 ± 0,002	0,181 ± 0,003
čerešňa stopka zber	0,085 ± 0,003	0,158 ± 0,005
višňa plod lyo	0,057 ± 0,001	0,104 ± 0,002
višňa plod zber	0,049 ± 0,002	0,092 ± 0,003
čerešňa plod lyo	0,037 ± 0,002	0,070 ± 0,004
čerešňa plod zber	0,026 ± 0,002	0,048 ± 0,004

s koncentráciou 100 µmol.l⁻¹ sa použil ako štandard. Hodnoty absorbancií tohto štandardu (A₀ a A_{4min}) boli stanovené rovnako ako u analyzovanej vzorky. Antioxidačnú aktivitu môžeme vyjadriť pomocou vzťahu:

$$FRAP = \frac{A_{vzorka}(A_0 - A_{4min.})}{A_{stand}(A_0 - A_{4min.})}$$

1 FRAP jednotka = 100 µmol.l⁻¹ Fe²⁺-TPTZ

A₀ = absorbancia

(Aktumsek a kol., 2011).

Získané výsledky sme prezentovali vo forme grafov a tabuliek vytvorených v softvéri Microsoft Excel 2007.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe stanoveného cieľa predloženej štúdie sme porovnávali osem vzoriek plodov a stopiek čerešne vtácej *Cerasus avium* (L.) Moench a čerešne višňovej *Cerasus vulgaris* (Mill.) na obsah flavonoidov, celkových polyfenolov a antioxidačnú aktivitu.

Stanovenie obsahu flavonoidov

Pri každej vzorke sme absorbanciu merali trikrát, pričom sme z nameraných hodnôt vypočítali percentuálny obsah flavonoidov prepočítaný na ekvivalent hyperozidu a určili priemerné hodnoty a

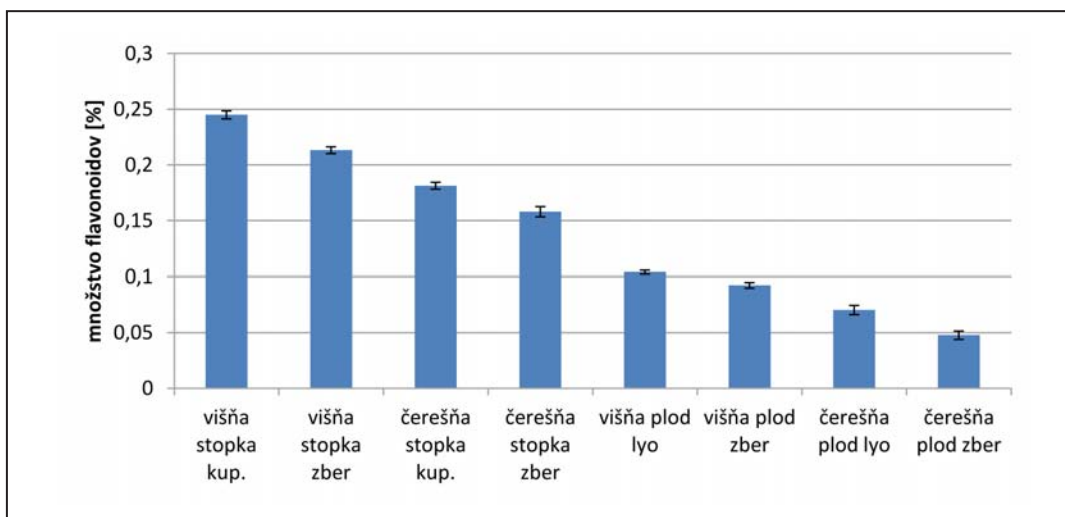
smerodajnú odchýlku (viď tab., graf 2). Na základe nameraných hodnôt sme zostrojili (viď graf 1), ktorý znázorňuje množstvo flavonoidov v skúmaných vzorkách.

Z grafu 1 vyplýva, že najvyšší obsah flavonoidov sa nachádzal v stopkách čerešne višňovej z internetového obchodu (0,245 ± 0,004 % /0,6 g vzorky).

Z výsledkov meraní sme zistili, že najvyšší obsah flavonoidov sme namerali v stopkách višní zakúpených prostredníctvom internetového obchodu. Ako ďalšie nasledovali stopky višní z voľného zberu, stopky čerešní z internetového obchodu, stopky čerešní z voľného zberu, plody višne a plody čerešne. Z výsledkov vyplynulo, že v stopkách višní alebo čerešní sa nachádza vyšší obsah flavonoidov ako v ich plodoch.

Mnoho vedeckých štúdií sa zaoberalo stanovovaním a porovnávaním obsahu flavonoidov v plodoch višní a čerešní. Kim a kol. (2005) porovnávali obsah antokyánov v štyroch kultivaroch čerešní a štyroch kultivaroch višní a zistili, že hodnota celkových antokyánov u čerešní sa pohybovala v rozmedzí od 30,2 do 76,6 mg CGE/100 g a hodnota celkových antokyánov u višní bola v rozmedzí od 49,1 do 109,2 mg CGE/100 g. Obsah antokyánov v plodoch višní je vyšší ako obsah antokyánov v plodoch čerešní. Autori uvádzajú, že podľa niektorých autorov obsah antokyánov v plodoch višní v porovnaní s plodmi čerešní je vyšší o 27 až 200 %.

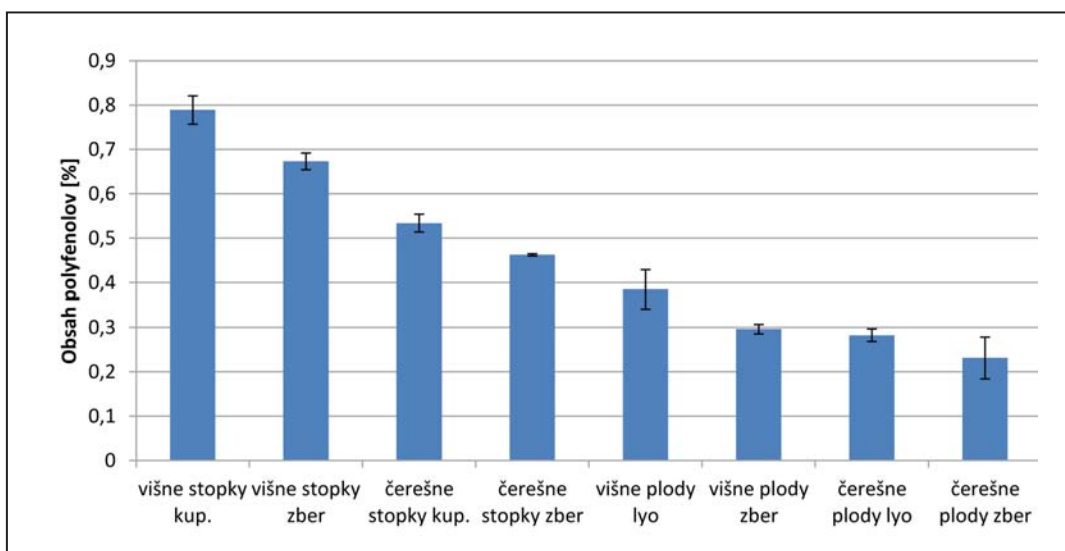
Graf 1: Obsah flavonoidov vo vzorkách



Tab. 3: Priemer meraní obsahu polyfenolov so smerodajnou odchýlkou

	Absorbancia	M [%]
višne stopky kup.	0,042 ± 0,001	0,789 ± 0,032
višne stopky zber	0,036 ± 0,002	0,673 ± 0,019
čerešne stopky kup.	0,029 ± 0,001	0,534 ± 0,020
čerešne stopky zber	0,024 ± 0,001	0,463 ± 0,002
višne plody lyo	0,02 ± 0,002	0,385 ± 0,044
višne plody zber	0,016 ± 0,001	0,296 ± 0,011
čerešne plody lyo	0,015 ± 0,001	0,283 ± 0,141
čerešne plody zber	0,012 ± 0,002	0,231 ± 0,047

Graf 2: Obsah polyfenolov vo vzorkách



Stanovenie celkových polyfenolov

Podobne ako v predchádzajúcom stanovení, absorbanciu jednotlivých vzoriek sme merali trikrát

a vypočítali sme smerodajnú odchýlku (vid' tab. 3). Percentuálny obsah celkových polyfenolov uvádzame v grafe 2.

Tab. 4: Priemer meraní antioxidačnej aktivity so smerodajnou odchýlkou

	A priemer	FRAP priemer
višne stopky kup.	0,165 ± 0,001	8,667 ± 0,061
višne stopky zber	0,156 ± 0,003	8,193 ± 0,161
čerešne stopky kup.	0,147 ± 0,002	7,754 ± 0,110
čerešne stopky zber	0,142 ± 0,003	7,456 ± 0,132
višne plody lyo	0,122 ± 0,001	6,421 ± 0,053
višne plody zber	0,119 ± 0,007	6,263 ± 0,345
čerešne plody lyo	0,08 ± 0,002	4,246 ± 0,185
čerešne plody zber	0,079 ± 0,005	4,14 ± 0,249

Z výsledkov jednotlivých stanovení vyplýva, že percentuálny obsah celkových polyfenolov je podobne ako pri stanovení flavonoidov najvyšší v stopkách čerešne višňovej z internetového obchodu ($0,789 \pm 0,032$ % /0,5 g vzorky). Z našich meraní vyplynulo, že obsah celkových polyfenolov je vo všeobecnosti vyšší v stopkách čerešne višňovej ako v stopkách čerešne vtácej. Zároveň sme preukázali, že obsah polyfenolov v plodoch čerešne višňovej je vyšší ako v plodoch čerešne vtácej. Pri porovnaní obsahu polyfenolov z hľadiska spracovania vzoriek plodov sme zistili, že vyšší obsah polyfenolov je vo vzorkách spracovaných procesom lyofilizácie. Vo všeobecnosti však môžeme konštatovať, že stopky skúmaných rastlín sú bohatšie na obsah celkových polyfenolov v porovnaní s plodmi.

Dziadek a kol. (2019) sledovali obsah celkových polyfenolov v stopkách, plodoch a listoch viacerých odrôd čerešne vtácej. Z výskumu vyplynulo, že najvyšší obsah celkových polyfenolov namerali v stopkách čerešne vtácej, v priemere 23 558 CP mg/100 g sušenej váhy vzorky. Listy čerešne vtácej obsahovali v priemere 7893 CP mg/100 g sušenej váhy vzorky a plody obsahovali priemerne 2912 CP mg/100 g sušenej váhy vzorky.

Ferretti a kol. (2010) namerali celkové polyfenoly u čerešne vtácej 109,8 mg/100 g a celkové polyfenoly čerešne višňovej 228,9 mg/100g.

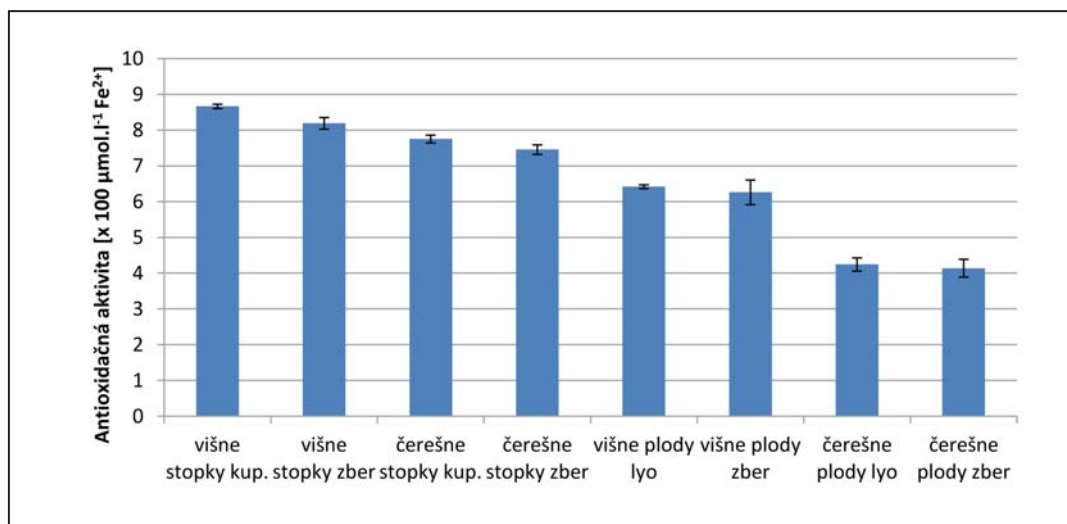
Stanovenie antioxidačnej aktivity

V výsledky tohto stanovenia sú dôležité z hľadiska určenia tej časti rastliny, ktorá má najvyššiu antioxidačnú aktivitu a najväčší potenciál k prevencii a podpornej terapii ochorení vznikajúcich na základe oxidačného stresu. Po príprave všetkých vzoriek sme absorbanciu každej vzorky merali trikrát a vypočítali priemernú absorbanciu vzoriek. Pri každej nameranej absorbancii sme určili antioxidačnú aktivitu a taktiež sme vypočítali priemerné hodnoty antioxidačnej aktivity pre jednotlivé vzorky (viď graf 3). Na záver sme vypočítali smerodajnú odchýlku, ktorou sme vyjadrili chybovosť meraní (viď tab. 4).

Z výsledkov vyplýva, že najvyššiu antioxidačnú aktivitu mali stopky čerešne višňovej z internetového obchodu ($8,667 \pm 0,061.100 \mu\text{mol. l}^{-1} \text{Fe}^{2+}$) a stopky čerešne višňovej z voľného zberu ($8,193 \pm 0,161 \times 100 \mu\text{mol. l}^{-1} \text{Fe}^{2+}$). Na záver je potrebné uviesť, že hodnota antioxidačnej aktivity priamo koreluje s hodnotami obsahu flavonoidov a celkových polyfenolov. Znamená to, že čím je vyšší obsah flavonoidov a celkových polyfenolov v danej vzorke, tým je jej antioxidačná aktivita vyššia. Výsledky nášho výskumu preukázali, že antioxidačná aktivita je vo všeobecnosti vyššia v čerešni višňovej ako v čerešni vtácej.

Štefánková a kol. (2015) stanovovali a porovná-

Graf 3: Antioxidačná aktivita vzoriek stanovená metódou FRAP



vali antioxidačnú aktivitu plodov v čerešni vtácej a čerešni višňovej metódou FRAP a výsledky porovnávali s rastlinami z rodu *Prunus* (slivka, broskyňa, nektárinka). Preukázali, že čerešňa višňová má zo všetkých skúmaných rastlín najvyššiu antioxidačnú aktivitu ($70,1 \pm 0,9 \text{ mmol TE.l}^{-1}$). V poradí druhú najvyššiu antioxidačnú aktivitu vykazovala čerešňa vtáčia ($63,6 \pm 0,7 \text{ mmol TE.l}^{-1}$).

Kirakosyan a kol. (2010) pomocou metódy TEAC sledovali, ako jednotlivé zložky u višne vykazujú antioxidačnú aktivitu a zistili, že kempferol, kvercetín, izoramnetín-3-rutinozid, kyanidín-3-rutinozid a melatonín vykazovali významnú antioxidačnú aktivitu, pričom kempferol bol z nich najaktívnejší. Aby určili, ako tieto zložky interagujú (synergicky, aditívne a negatívne), vykonali izobolografickú analýzu. Autori zistili, že dvojice zlúčenín s najvyššou antioxidačnou kapacitou (kempferol a melatonín v pomere 2:1, kyanidín-3-rutinozid a izoramnetin-3-rutinozid v dávkovom pomere 1:4) mali silné synergické typy interakcií. Doplnkové alebo negatívne typy interakcií sa vyskytli u dvojíc zlúčenín, ktoré mali nižšiu antioxidačnú aktivitu. Z toho dôvodu nie sú všetky polyfenoly u višne rovnako účinné pri zmiernení oxidačného stresu a tie, ktoré sú najefektívnejšie, pravdepodobne budú pôsobiť synergicky.

ZÁVER

V našej štúdii sme sa zaoberali antioxidačnými vlastnosťami rastlín *Prunus avium* (L.) a *Cerasus vulgaris* (Mill.). Predmetom nášho výskumu boli stopky a plody skúmaných rastlín a ich význam v prevencii a podpornej terapii rôznych chronických ochorení vznikajúcich na báze oxidačného stresu.

Na základe jednotlivých stanovení sme preukázali, že najvhodnejšou časťou oboch skúmaných rastlín z hľadiska obsahu flavonoidov, celkových polyfenolov a antioxidačnej aktivity sú stopky. Zároveň sme zistili, že výrazný vplyv na celkové množstvo obsahových látok má okrem iných faktorov aj proces sušenia. Vzorky plodov spracované procesom lyofilizácie obsahovali vyššie množstvo flavonoidov a celkových polyfenolov ako vzorky plodov spracované sušením v teplotovzdušnej rúre, a to u oboch skúmaných rastlín. Naše výsledky potvrdzujú, že obsahové látky rastlín *Prunus avium* (L.) a *Cerasus vulgaris* (Mill.) patria medzi významné antioxidanty, ktorých pravidelný prísun do organizmu je prospešný pre udržanie rovnováhy medzi prooxidačnými a antioxidačnými látkami. Sú vhodné pre pacientov ako súčasť adjuvantnej terapie ochorení, ktoré vznikajú na základe oxidačného stresu. V súčasnej dobe patria stopky *Prunus avium* (L.) a *Cerasus vulgaris* (Mill.) k odpadu, ktorý vzniká pri spracovaní plodov, a

preto navrhujeme, aby sa využívali nielen v oblasti farmácie pri výrobe čajovín či fytopreparátov, ale aj v potravinárstve na výrobu polyfunkčných potravín.

ZOZNAM LITERATÚRY

Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G. O., Cakmak, Y. S., Duran, A.: Screening for in vitro antioxidant properties and fatty acid profiles of five *Centaurea* L. species from Turkey flora. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49 (11), 2914 – 2920.

Čaprnda, M.: Oxidatívny stres a kardiovaskulárne ochorenia: možnosti liečby. [Oxidative stress and cardiovascular diseases: treatment options]. *Súčasná klinická prax*, 2005, 3, 25 – 30. <<http://www.skp-casopis.sk/obsah/2005-03/oxidativny-stres-a-kardiovaskularneochorenia-moznosti-liecby>>. [cit. 2018-11-08].

Đuračková, Z.: *Volné radikály a antioxidanty v medicíne I.* [Free radicals and antioxidants in medicine]. 1. vyd. Bratislava: Slovak Academic Press, 1998, 285 s.

Dziadek, K., Kopeć, A., Tabaszewska, M.: Potential of sweet cherry (*Prunus avium* L.) by-products: bioactive compounds and antioxidant activity of leaves and petioles. *European Food Research and technology*, 2019, 245 (3), 763 – 772.

Ferretti, G., Bacchetti, T., Belleggia, A., Neri, D.: Cherry Antioxidants: From farm to table. *Molecules*, 2010, 15 (10), str. 6993 – 7005. <<https://doi.org/10.3390/molecules15106993>>. Accessed February 18, 2019.

Chockchaisawasdee, S., Goldingab, J. B., Vuonga, Q. V., Papoutsisa, K., Stathopoulos, C. E.: Sweet cherry: Composition, postharvest preservation, processing and trends for its future use. *Trends in Food Science & Technology*, 2016, 55, 72 – 83. <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.002>>. Accessed July 18, 2017.

Kim, D. O., Heo, H. J., Kim, Y. J., Yang, H. S., Lee, C. Y.: Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53 (26),

9921 – 9927.

Kimáková, T. a Pavlík, V.: *Antioxidanty a ich význam v prevencii chronických ochorení.* [Antioxidants and their importance in the prevention of chronic diseases]. 1. vyd. Košice: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, 2017. 154 s. <<http://unibook.upjs.sk>>. [cit. 2017-12-03].

Kirakosyan, A., Seymour, E. M., Noon, K. R., Kathleen, R., Urcuyo Llanes, Daniel, E., Kaufman, P. B., Warber, S. L., Bollings, S. F.: Interactions of antioxidants isolated from tart cherry (*Prunus cerasus*) fruits. *Food Chemistry*, 2010, 122 (1), 78 – 83. <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.017>>. Accessed October 12, 2017.

Komprda, T.: *Základy výživy člověka.* [Basics of human nutrition]. 2. vyd. Brno: Mendelova Univerzita, 2012. 162 s.

Minárik, P. a Kimáková, T.: Antioxidanty a ich úloha pri prevencii a liečbe rakoviny. Antioxidants and their role in cancer prevention and treatment. *Praktické lekárnictvo*, 2016, 1 (6), 22 – 28. <http://www.solen.sk/index.php?page=pdf_view&pdf_id=7938>. Accessed August 26, 2018.

Nawirska-Olszańska, A., Kolniak-Ostek, J., Oziembowski, M., Ticha, A., Hyšpler, R., Zadák, Z., Židová, P., Paprstein, F.: Comparison of old cherry cultivars grown in Czech Republic by chemical composition and bioactive compounds. *Food Chemistry*, 2017, 228, 136 – 142. <<https://www.sciencedirect.com/journal/food-chemistry/vol/228/suppl/C>>. Accessed July 9, 2017.

Sies, H.: On the history of oxidative stress: concept and some aspects of current development. *Current Opinion in Toxicology*, 2018, 7, 122 – 126. <<https://doi.org/10.1016/j.cotox.2018.01.002>>. Accessed November 12, 2017.

Simmonds, M. P. a Preedy, V.: *Nutritional Composition of Fruit Cultivar.* 1. vyd. Atlanta: Academic press, 2016. 796 s.

Singleton, V. L. a Rossi, J. A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1965, 16, 144 – 158.

< <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>>. Accessed January 5, 2019.

Ștefănuț, M. N., Căta, A., Ienașcu, I.: Comparative antioxidant activity of some prunus genus fruits. *Revue Roumaine de Chimie*, 2015, 60, (5 – 6), 603 – 608. <<http://web.icf.ro/rrch/>>. Accessed may 10, 2019.

Suchý, V., Daňková, I., Dvorská, M., Hrazdilová, E., Kubínová, R., Šmejkal, K., Špačková, V., Žemlička, M.: *Praktická cvičení z farmakognosy*. [Practical exercises in pharmacognosy]. Brno, 2013. 256 s.

Usenik, V., Fabič, J., Štampar, F.: Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chemistry*, 2008, 107 (1), 185 – 192. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607007790>>. Accessed September 29, 2017.

Watson, R. a Preedy, V.: *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases*. 1. vyd. Atlanta: Academic Press, 2013. 680 s.



**POROVNANIE TOXICITY CIPROFLOXACÍNU POMOCOUBIOTESTU
NA *ARTEMIA FRANCISCANA* S TOXICITOU ZISTENOU
NA *DAPHNIA MAGNA* UDÁVANOU VÝROBCOM**

**COMPARISON OF CIPROFLOXACIN TOXICITY BY MEANS OF BIOTEST
ON *ARTEMIA FRANCISCANA* WITH THE TOXICITY
ON *DAPHNIA MAGNA* DECLARED BY CIPROFLOXACIN PRODUCER**

Fabian, F.,² Špalková, M.¹

²Pharmacy, spol. s r. o., Oravská 2, 080 01 Prešov

¹Ústav biológie, zoológie a rádiobiológie, UVLF v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika

michaela.spalkova@uvlf.sk

ABSTRAKT

V našej štúdii sme zisťovali hodnotu toxicity ciprofloxacínu na *Artemia franciscana* pomocou 96-hodinového biotestu, tzv. testu akútnej toxicity. Test bol realizovaný v dvoch fázach, v ktorých sme po 24, 48, 72 a 96 hodinách odčítavali uhynuté organizmy *Artemia franciscana*. Prvá fáza predstavovala koncentrácie ciprofloxacínu 1 mg.l⁻¹, 10 mg.l⁻¹, 100 mg.l⁻¹, 1000 mg.l⁻¹ a kontrolnú skupinu. Druhá fáza predstavovala koncentrácie 20 mg.l⁻¹, 40 mg.l⁻¹, 60 mg.l⁻¹, 80 mg.l⁻¹ a kontrolnú skupinu. Na základe meraní sme vypočítali údaj o letalite (LC₅₀). Pri testovaní sme použili dimetyl sulfoxid na zaistenie správneho rozpúšťania ciprofloxacínu. Namerané hodnoty sme porovnávali s hodnotou toxicity

ciprofloxacínu na *Daphnia magna* udávanou výrobcom Hospira, s.r.o. v SDS svojho výrobku „Ciprofloxacin Injection“. Na základe výsledkov sme popísali rozdiely medzi ekosystémami, ktoré tieto organizmy zastupovali, ako aj samotnými organizmami *Artemia franciscana* a *Daphnia magna*.

Kľúčové slová: *Artemia franciscana*; ciprofloxacín; letalita

ABSTRACT

In this study we investigated the value of the toxicity of ciprofloxacin to *Artemia franciscana* by means of a 96-hour bioassay, so-called acute toxicity test. The test was carried out in two

phases, in which we counted mortalities of individuals in the intervals of 24, 48, 72 and 96 hours. In the first phase, ciprofloxacin was used in concentrations of 1 mg.l⁻¹, 10 mg.l⁻¹, 100 mg.l⁻¹, 1000 mg.l⁻¹, and control. In the second phase, the concentrations of 20 mg.l⁻¹, 40 mg.l⁻¹, 60 mg.l⁻¹, 80 mg.l⁻¹ and control group were used. Based on the measurements, we calculated lethality (LC₅₀). Dimethyl sulfoxide was used in the test for proper dissolution of ciprofloxacin. The measured values were compared with the values of ciprofloxacin toxicity to *Daphnia magna* reported by Hospira, inc. in the SDS of its product “Ciprofloxacin Injection”. Based on the results, we described the differences between the ecosystems that these organisms represent as well as differences between organisms (*Artemia franciscana* and *Daphnia magna*) themselves.

Key words: *Artemia franciscana*; ciprofloxacin; lethality

ÚVOD

V našej spoločnosti sa využíva veľké množstvo chemických látok, medzi ktoré patria aj antibiotiká. Sú veľkým prínosom pre udržanie zdravia ľudí aj zvierat, ale sú tiež rizikom pre životné prostredie (Picó a Andreu, 2007). Fluórchinolóny sú látky odvodené od kyseliny nalidixovej, ide o terapeuticky využívané baktericídne liečivá. Ich mechanizmus účinku je založený na inhibícii DNA gyrázy baktérií. Sú pomerne pomaly degradovateľné a silno absorbovateľné, takže dochádza k ich hromadeniu v životnom prostredí. Celá skupina látok má tiež potenciál fototoxického pôsobenia (Lüllmann a kol., 2002).

Čoraz väčšia pozornosť sa venuje hodnoteniu rizík spojených s uvoľňovaním chemických látok do prostredia. Sledované sú koncentrácie látok v odpadových vodách aj rôznych kompartmentoch prirodzeného prostredia. Pre hodnotenie ekotoxicity liečiv sa využíva celý rad testov, ktorých paleta sa

stále rozširuje (Persoone a kol., 2003).

Hlavné cesty kontaminácie životného prostredia predstavujú mestské, priemyselné a nemocničné odpadové vody, spoločne s odpadovými vodami z akvakultúry, ale tiež zo živočíšnej a rastlinnej výroby. Mnoho nedávnych štúdií ukázalo prítomnosť merateľných koncentrácií približne 80 – 100 týchto molekúl vo vodnom prostredí v rozsahu ng.l⁻¹ až g.l⁻¹. (Kümmerer, 2004; Fent a kol., 2006).

Tlak spoločnosti, ktorý vyžadoval minimálne zmiernenie utrpenia zvierat pri testovaní, viedol ku koncepcii 3R (t. j. redukcia, jemnosť a náhrada). Táto stratégia zahŕňa aj nahradenie testovaných zvierat bunkami alebo tkanivovými kultúrami a nižšími organizmami (Russell a Burch, 1959), napríklad bezstavovcami alebo mikroorganizmami definovanými podľa Smernice Rady Európy 1986 (Council Directive 86/609/EEC). Stále častejšie sa využívajú alternatívne biotesty na bezstavovcoch, rastlinách a bunkových kultúrach.

Cieľom tejto štúdie bolo zistiť letalitu *Artemia franciscana* po jej vystavení jednotlivým koncentráciám, resp. zistiť LC₅₀ ciprofloxacinu pre *A. franciscana*, teda pri akej toxicite ciprofloxacinu zahynie polovica jedincov *Artemia franciscana*. Na základe získaných výsledkov sme porovnávali toxicitu ciprofloxacinu na morskom organizme *Artemia franciscana* s toxicitou ciprofloxacinu na sladkovodnom organizme *Daphnia magna* udávanou výrobcom.

MATERÁL A METÓDY

Pri experimente sme použili krátkodobý 96-hodinový test. *Artemia franciscana* alebo žiabronôžka bola použitá ako modelový organizmus (Dvořák a Beňová, 2002).

Pri testovaní sme použili vyliahnuté naupliové štádiá *Artemia franciscana*, ktorých liahnutie sa realizovalo v štandardizovanej morskej vode. Zloženie vody je uvedené v tabuľke 1 a príprava sa uskutočnila v laboratórnych podmienkach. Na titráciu vody sme použili 5 % Na₂CO₃, aby sme upravili pH

Tab. 1: Zloženie vody určené pre kultiváciu *A. franciscana*

Látka	Koncentrácia [g.l ⁻¹]
NaCl	23,90
MgCl ₂ .6H ₂ O	10,83
CaCl ₂ .6H ₂ O	2,25
KCl	0,68
Na ₂ SO ₄ .10H ₂ O	9,06
NaHCO ₃	0,20
SrCl ₂ .6H ₂ O	0,03
KBr	0,09
H ₃ BO ₃	0,027

Zdroj: Dvořák a kol., 2009

na 8,33. Liahnutie prebiehalo v sklenej fľaši s cca. 5 g dehydrovaných cýst a 500 ml morskej vody. Proces trval 24 hodín. Na liahnutie sme použili encystované dehydrované vajíčka. Morská voda počas liahnutia obsahovala aerátor, ktorý zabezpečil cirkuláciu cýst a saturáciu kyslíkom. Inkubačná teplota bola 25°C.

Pri experimente sme si pripravili Petriho misky, ktoré mali priemer 60 mm. Pomocou Pasteurovej pipety sme 10 čerstvo vyliahnutých naupliových štádií umiestnili do misky. Objem morskej vody v miske bol 10 ml. Test sme realizovali v dvoch fázach, ktoré predstavovali odlišné koncentrácie. V prvej fáze sme test realizovali v skupinách s koncentraciami 1 mg.l⁻¹, 10 mg.l⁻¹, 100 mg.l⁻¹, 1000 mg.l⁻¹ a kontrolnou skupinou. Každá skupina predstavovala 50 jedincov. Pri všetkých skupinách sme použili dimetyl sulfoxid (DMSO) ako rozpúšťadlo ciprofloxacínu v koncentrácii 2 %. V druhej fáze sme použili skupiny s koncentraciami 20 mg.l⁻¹, 40 mg.l⁻¹, 60 mg.l⁻¹, 80 mg.l⁻¹ a kontrolná skupina. Každá skupina obsahovala 50 jedincov. Všetky skúmané roztoky boli riedené v DMSO a morskej vode. Petriho misky boli uložené v termostate pri teplote 21 ± 1 °C, nakoľko za teplotné optimum je považované rozmedzie 20 až 22 °C (Dvořák, 1999). Pomocou ortuťového minimo-maximového teplomeru, umiestneného počas trvania celého experimentu v termostate, bola zaznamenaná

minimálna teplota na úrovni 20,6 °C a maximálna teplota na úrovni 21,7 °C. Odčítanie uhynutých artémií bolo vykonané po 24, 48, 72 a 96 hodinách, pričom larvy sme považovali za uhynuté vtedy, ak po 10 sekundách nevykazovali žiadne známky po-hybu (IRSA, 1995). Na vylúčenie odľahlých hodnôt sme použili testovanie hodnôt letality Deanov-Dixonovým testom na úrovni štatistickej významnosti $\alpha = 0,05$ (Dvořák a Šucman, 1995). Ako stredná hodnota úhynu v jednotlivých skupinách bol vypočítaný aritmetický priemer z 5 testovaných misiek v rámci jednej pokusnej skupiny. Ako miera variácie bola stanovená smerodajná odchýlka jedného merania „s“, ktorá sa vypočítava podľa vzorca určeného pre rozsah súboru menší než 8:

$$s = R \cdot kn$$

R – variačné rozpätie ($x_{\max} - x_{\min}$)

kn – koeficient, ktorého hodnota je pre 5 misiek 0,430.

LC₅₀ bolo vypočítané pomocou dvojdávkovej interpolačnej metódy podľa Rotha a kol. (1962).

VÝSLEDKY

1. fáza experimentu

V 24. hodine neboli pozorované žiadne štatisticky významné ($p = 0,05$) rozdiely v % letality.

V 48. hodine bola zaznamenaná štatisticky významne ($p = 0,05$) zvýšená letalita v skupine s koncentráciou 1000 mg.l⁻¹ oproti kontrolnej skupine.

V 72. hodine bola pozorovaná štatisticky významne ($p = 0,05$) zvýšená letalita v skupinách s koncentraciami 100 mg.l⁻¹ a 1000 mg.l⁻¹ v porovnaní s kontrolnou skupinou, ale tiež bola zaznamenaná štatisticky významne zvýšená letalita v skupine s koncentráciou 1000 mg.l⁻¹ oproti skupine s koncentráciou 100 mg.l⁻¹ (viď tab. 2).

V 96. hodine bola zaznamenaná štatisticky významne ($p = 0,05$) zvýšená letalita v skupinách s koncentraciami 10, 100 a 1000 mg.l⁻¹ oproti kontrolnej skupine, ale tiež štatisticky významne ($p = 0,05$) zvýšená letalita v skupine s koncentráciou 100 a 1000 mg.l⁻¹ v porovnaní so skupinou s

Tab. 2: Letalita (%) *Artemia franciscana* po vystavení pôsobeniu ciprofloxacínu v 1. fáze

Časový interval	24			48			72			96			LC ₅₀	CI (95 %)
Koncentrácia ciprofloxacínu	x	n	SD	x	n	SD	x	n	SD	x	n	SD	mg.l ⁻¹	mg.l ⁻¹
0 mg.l ⁻¹	2	5	4,3	2	5	4,3	4	5	4,3	8	5	4,3	–	–
1 mg.l ⁻¹	0	5	0	2	5	4,3	6	5	8,6	6	5	8,6	–	–
10 mg.l ⁻¹	0	5	0	2	5	4,3	6	5	4,3	28*	5	8,6	99,99	6,21 – 1608,14
100 mg.l ⁻¹	0	5	0	10	5	8,6	32*	5	8,6	52*	5	12,9	82,54	23,42 – 290,86
1000 mg.l ⁻¹	4	5	4,3	30*	5	8,6	88*	5	12,9	100*	5	0	90,85	44,52 – 185,40

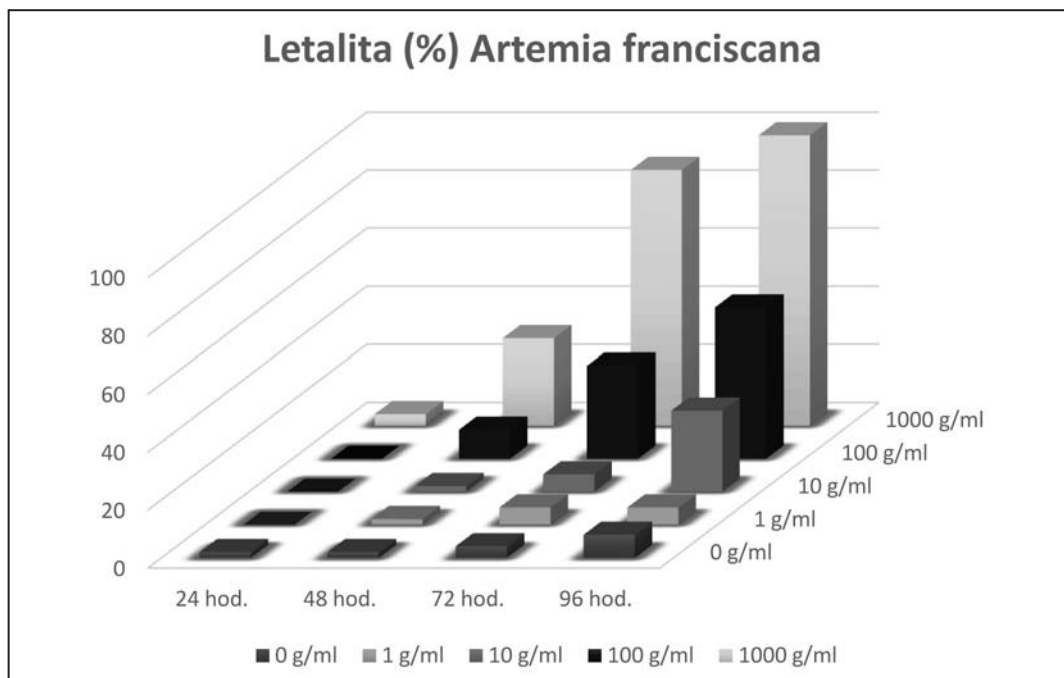
SD – smerodajná odchýlka, n – počet testovaných skupín, x – priemerná letalita v %

LC₅₀ – letálna koncentrácia pre 50 % experimentálnych jedincov

CI (95 %) – interval spoľahlivosti

* – štatisticky významne ($p = 0,05$) zvýšená letalita v pokusných skupinách oproti kontrolnej skupine

Obr. 1: Letalita (%) *A. franciscana* po vystavení pôsobeniu ciprofloxacínu



koncentráciou 10 mg.l⁻¹ a štatisticky významne ($p = 0,05$) zvýšená letalita v skupine s koncentráciou 1000

mg.l⁻¹ oproti skupine s koncentráciou 100 mg.l⁻¹ (vid' obr. 1).

Tab. 3: Letalita (%) *Artemia franciscana* po vystavení pôsobeniu ciprofloxacínu v 2. fáze

Časový interval	24			48			72			96			LC ₅₀	CI (95 %)
Koncentrácia ciprofloxacínu	x	n	SD	x	n	SD	x	n	SD	x	n	SD	mg.l ⁻¹	mg.l ⁻¹
0 mg.l ⁻¹	0	5	0	0	5	0	2	5	4,3	4	5	4,3	–	–
20 mg.l ⁻¹	0	5	0	2	5	4,3	2	5	4,3	6	5	4,3	–	–
40 mg.l ⁻¹	0	5	0	2	5	4,3	6	5	4,3	8	5	8,6	–	–
60 mg.l ⁻¹	0	5	0	10	5	8,6	12	5	8,6	32*	5	17,2	81,32	54,18 – 122,06
80 mg.l ⁻¹	4	5	4,3	10	5	4,3	18*	5	8,6	46*	5	12,9	86,85	59,14 – 127,55

x – priemerná letalita v %, n – počet testovaných skupín, SD – smerodajná odchýlka

LC₅₀ – letálna koncentrácia pre 50 % experimentálnych jedincov

CI (95%) – interval spoľahlivosti

* – štatisticky významne ($p = 0,05$) zvýšená letalita v pokusných skupinách oproti kontrolnej skupine

LC₅₀ bola stanovená v rozmedzí 82,54 – 99,99 mg.l⁻¹ (viď tab. 2).

DISKUSIA

2. fáza experimentu

V 24. a 48. hodine neboli pozorované žiadne štatisticky významné ($p = 0,05$) rozdiely v % letality.

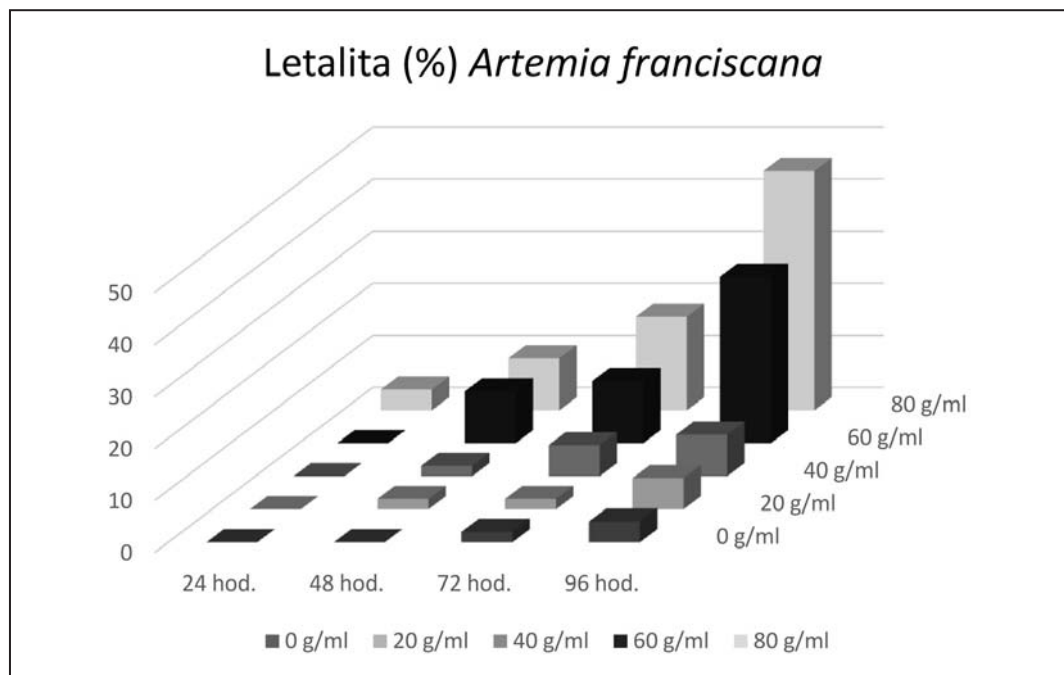
V 72. hodine bolo zaznamenané štatisticky významné ($p = 0,05$) zvýšenie letality v experimentálnej skupine s koncentráciou 80 mg.l⁻¹ oproti kontrolnej skupine (viď tab. 3).

V 96. hodine bolo pozorované štatisticky významné ($p = 0,05$) zvýšenie letality v experimentálnych skupinách s koncentráciou 60 a 80 mg.l⁻¹ v porovnaní s kontrolnou skupinou (viď obr. 2).

LC₅₀ bola stanovená v rozmedzí 81,32 – 86,85 mg.l⁻¹ (viď tab. 3).

Pre hodnotenie environmentálnych rizík v pôdnom i vodnom prostredí je nutné poznať rozpustnosť posudzovanej látky, a to nielen vo vode, ktorá tvorí najčastejšie prostredie, ale aj v 1-oktanole. Tento parameter charakterizuje povrchovú aktivitu látok a ich prestup cez membrány (Zhang a Wang, 2008). Výskyt ciprofloxacínu v životnom prostredí môže byť vyšší, a to práve z dôvodu, že je pomaly degradovateľný, silne adsorbuje a má antimikrobiálnu aktivitu, čo znamená, že je odolný voči mikrobiálnym vplyvom, ktoré sa podieľajú na biodegradácii (Leal a kol., 2012). Ciprofloxacín je pomerne chemicky stabilný vďaka chinolónovému kruhu a viac ako 75 % liečiva je vylúčených v nezmenenej podobe prevažne močom. To umožňuje, že sa ciprofloxacín dostane do životného prostredia odpadovými vodami z nemocníc alebo močom ambulantných pacientov, či exkrétnymi liečených zvierat.

Obr. 2: Letalita (%) *A. franciscana* po vystavení pôsobeniu ciprofloxacínu



Conte a kol. (2017) sledovali spotrebu a koncentráciu ATB vo švajčiarskych vodách v rokoch 2006 a 2010. U liekov, ktoré boli podávané ambulantne, zistili (najmä pri ciprofloxacíne) výraznú sezónnu fluktuáciu. V nemocniciach žiadny takýto efekt pozorovaný nebol. Rozdiely môžu byť dané odlišnými protokolmi pre liečbu v nemocniciach a ambulanciách, a ďalej tiež preto, že toto chemoterapeutikum sa intenzívne používa na liečbu infekcií dýchacieho traktu, ktoré sa v populácii objavujú v sezónnych vlnách. Ďalšou cestou do životného prostredia je nevhodná likvidácia nevyužitých liečiv, ktoré sa ľahko dostanú do odpadových vôd. Cestou do životného prostredia sú tiež odpadové vody z farmaceutického priemyslu. Veľkým zdrojom sú ATB podávané vo veterinárnej sfére, najmä u hospodárskych zvierat. S tým je spojený celý rad negatív: hnoj a močovka sa niekedy využívajú ako hnojivá, a tak sa látky môžu veľmi rýchlo dostať z poľnohospodárskej pôdy do plodín a touto cestou k človeku. Väčšie množstvo ATB sa uvoľňuje tiež z rybníkov, kde je liečivo

podávané vo forme potravy, avšak 15 – 40 % prejde nespotrebované do vody. Zdrojom je veľa a antibiotiká sa tak môžu dostať nielen do odpadových vôd, ale ďalej aj do povrchových a podzemných vôd, teda aj do pitnej vody. Objavujú sa v sedimente, a tiež v pôde (Kümmerer, 2003).

Daphnia magna je sladkovodný organizmus, ktorý je citlivejší na ciprofloxacín ako *Artemia franciscana*, ktorá žije v slaných vodách. Toto tvrdenie vyplýva z nameraných hodnôt, ktoré sme uskutočnili pomocou 5-dňového testu akútnej toxicity. Hodnota toxicity ciprofloxacínu pre *Artemia franciscana* je 81,32 mg.l⁻¹, pričom pre *Daphnia magna* je 65,3 mg.l⁻¹, ktorú uvádza výrobca Hospira, s.r.o. v SDS svojho výrobku „Ciprofloxacin Injection“. Táto hodnota bola zistená štúdiou Martinsa a kol. (2012), ktorá hodnotila účinky ciprofloxacínu na organizmy *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Lemna minor*, *Daphnia magna* a *Gambusia holbrooki*. Celkovo získané hodnoty toxicity (na úrovni mg.l⁻¹) boli vyššie ako koncentrácie v životnom prostredí. *P. subcapitata* a *L. minor* boli citlivejšie pri

krátkodobéj expozícii ako *D. magna* a *G. holbrooki*. U rýb nebola pozorovaná žiadna akútna toxicita. Výsledok akútnej toxicity ciprofloxacínu *D. magna* je 65,3 mg.l⁻¹.

Pri výskumnej časti tejto štúdie sme zistili aj fakt, že ciprofloxacín nie je rovnako rozpustný v slanej a sladkej vode. V sladkej vode je dobre rozpustný aj bez pomoci iného rozpúšťadla. Rozpustnosť v slanej vode bola horšia, na základe čoho sme museli použiť rozpúšťadlo dimetyl sulfoxid (DMSO), ktorý sme pridali do každej testovanej skupiny vrátane kontroly v 2-percentnej koncentrácii.

Riziko negatívnych vplyvov ciprofloxacínu na morský a sladkovodný ekosystém vyplýva z nameraných hodnôt, ktoré sme uskutočnili pri *Artemia franciscana* a z hodnôt, ktoré sme získali o *Daphnia magna*. Toxická hodnota ciprofloxacínu pre *A. franciscana*, ktorú sme zistili, a hodnota pre *D. magna*, ktorá bola zistená Martinsom a kol. (2012), nepredstavuje akútne riziko pre životné prostredie, nakoľko doposiaľ takéto hodnoty neboli namerané. Kolpin a kol. (2004) udávajú, že najvyššie detegovaná koncentrácia ciprofloxacínu v amerických vodách bola 30 ng.l⁻¹. V surovej odpadovej vode boli v štúdiu Penga a kol. (2006) preukázané koncentrácie chinolónov 350 až 600 ng.l⁻¹, zatiaľ čo v konečnej odpadovej vode z čističky odpadových vôd sa koncentrácie týchto liekov znižujú na jednu pätinu a menej, u niektorých látok až na nedetekovateľné koncentrácie.

ZÁVER

Výsledky, ktoré sme zistili pomocou 5-dňového testu akútnej toxicity v tejto štúdiu potvrdzujú, že *Artemia franciscana* je odolnejšia voči ciprofloxacínu ako *Daphnia magna*. Ďalším zistením bola horšia rozpustnosť ciprofloxacínu v morskej vode, ktorá bola zvýšená rozpúšťadlom dimetyl sulfoxid. Z uvedeného vyplýva predpoklad, že sladkovodný ekosystém

je vystavený vyššiemu riziku ako morský, keďže v sladkej vode je ciprofloxacín lepšie rozpustný než v slanej a vďaka absorpcii a biodegradácii sa dostane do morského ekosystému v nižších koncentráciách, než v akých sa vyskytuje v odpadových vodách. Doposiaľ neboli namerané hodnoty ciprofloxacínu vo vodnom ekosystéme, ktoré by ho negatívne ovplyvňovali z ekologického hľadiska. Výskyt ciprofloxacínu v životnom prostredí je zapríčinený jeho medicínskym a veterinárskym využitím v ambulantných, nemocničných a poľnohospodárskych zariadeniach.

POĎAKOVANIE

Táto štúdia bola podporovaná grantovým projektom IGA UVLF v Košiciach 07/2018.

ZOZNAM LITERATÚRY

Conte, D., Palmeiro, J. K., Nogueira, K. S., de Lima, T. M. R., Cardoso, M. A., Pontarolo, R., Pontes, F. L. D., Dalla-Costa, L. M.: Characterization of CTX-M enzymes, quinolone resistance determinants, and antimicrobial residues from hospital sewage, wastewater treatment plant, and river water. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2017, 136, 62 – 69.

Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Council of European Communities*, 1986.

Dvořák, P.: *Sledování interakcí nízkých expozic ionizujícího záření a cizorodých látek pomocí biotestu s Artemia salina*. [Monitoring low ionizing radiation exposure interactions and foreign substances by means of *Artemia salina* biotest]. Habilitačná práca. Brno: FVHE, 1999. s. 194.

Dvořák, P. a Beňová, K.: The investigation of interactions of low doses of ionizing radiation and risk factors by means of *Artemia salina* biotest. *Folia Vet.*, 2002, 46, 195 – 197.

Dvořák, P. a Šucman, E.: *Statistika ke cvičením z biofyziky*. Brno: Ústav biochemie a biofyziky FVHE VFU, 1995. 13 s.

Dvořák, P., Žďárský, M., Beňová, K.: Possibilities of alternative generation II biotests at *Artemia*. *Interdiscip. Toxicol.*, 2009, 2 (2), 45 – 47.

Fent, K. a Weston, A. A., Caminada, D.: Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat. Toxicol.*, 2006, 76 (2), 122 – 159.

IRSA. Metodi analitici per le acque. Quad. Ist. Ric. Acque, 1995, 342 – 344.

Kolpin, D. W., Skopec, M., Meyer, M. T., Furlong E. T., Zaugg, S. D.: Urban contribution of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants to streams during differing flow conditions. *Sci. Total. Environ.*, 2004, 328 (1 – 3), 119 – 130.

Kümmerer, K.: *Pharmaceuticals in the environment. Sources, fate, effects and risks*. 2nd edn., Berlin: Springer, 2004. 3 – 5.

Kümmerer, K.: Significance of antibiotics in the environment. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2003, 52 (1), 5 – 7.

Leal, R. M., Figueira, R. F., Tornisielo, V. L., Regitano, J. B.: Occurrence and absorption of fluoroquinolones in poultry litters and soils from São Paulo State, Brazil. *Sci. Total Environ.*, 2012, 432, 344 – 349.

Lüllmann, H., Mohr, K., Wehling, M.: *Farmakologie a toxikologie*. [Pharmacology and toxicology]. Praha: Grada, 2002. 490 – 493.

Martins, N., Pereira, R., Abrantes, N., Pereira, J., Gonçalves, F., Marques, C. R.: Ecotoxicological effects of ciprofloxacin on freshwater species: data integration and derivation of toxicity thresholds for risk assessment. *Ecotoxicol.*, 2012, 21 (4), 1167 – 1176.

Peng, X., Wang, Z., Kuang, W., Tan, J., Li, K.: A preliminary study on the occurrence and behavior of sulfonamides, ofloxacin and chloramphenicol antimicrobials in wastewaters of two sewage treatment plants in Guangzhou, China. *Sci. Total Environ.*, 2006, 371 (1 – 3), 314 – 322.

Persoon, G., Marsalek, B., Blinova, I., Törökne, A., Zarina, D., Manusadzianas, L., Nalecz-Jawecki, G., Tofan, L., Stepanova, N., Tothova, L., Kolar, B.: A practical and user-friendly toxicity classification system with microbiotests for natural waters and wastewaters. *Environ. Toxicol.*, 2003, 18 (6), 395 – 402.

Picó, Y. a Andreu, V.: Fluoroquinolones in soi--risks and challenges. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, 387 (4), 1287 – 1299.

Roth, Z. a kol.: *Statistické metody v experimentální medicíně*. [Statistical methods in experimental medicine]. Praha: Statní zdravotnické nakladatelství, 1962. s. 296.

Russell, W. M. S. a Burch, R. L.: *Princípy humánnej experimentálnej techniky*. [The principles of humane experimental technique]. Londýn: Methuen. 1959. 238 p.

Zhang, C. L., Wang, G, Y.: Aqueous solubilities for ofloxacin, norfloxacin, lomefloxacin, ciprofloxacin, perfloxacin, and popemic acid from (293.15 to 323.15) K. *Curr. Opin. Chem. Eng.*, 2008, 53 (6), 1295 – 1297.

POKYNY PRE AUTOROV

ZAMERANIE ČASOPISU

Folia Pharmaceutica Cassoviensia je vedecký časopis založený v roku 2019 a vydávaný Univerzitou veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, SR. Časopis je vydávaný štvrťročne a uverejňuje pôvodné štúdie prinášajúce najnovšie poznatky z farmaceutickej a biomedicínskej oblasti, prehľadové články a kazuistiky z lekárenskej a z klinickej praxe. Okrem toho sa v časopise publikujú aj krátke oznámenia zamerané na rýchle uverejnenie poznatkov o aktuálnych vedeckých problémoch a objavoch vo farmácii a medicíne. Časopis neuverejňuje správy o vedeckých podujatiach a redakciou nevyžiadané recenzie.

Autori sú zodpovední za originalitu zaslaných príspevkov, správnosť ich obsahu a za to, že predkladaná práca alebo jej časti neboli publikované alebo zaslané na publikovanie inde.

Autori zasielajú príspevky elektronicky vo formáte textového procesora MS Word alebo vo formáte RTF. Ozarovanie príspevkov do časopisu rozhoduje redakčná rada na základe posudkov aspoň dvoch anonymných recenzentov. Príspevky schválené na publikovanie sa zasielajú autorovi spolu s recenznými posudkami na prípadné doplnenie alebo prepracovanie. Autor vráti redakcii upravený rukopis a pripojí písomné stanovisko k návrhom a pripomienkam recenzentov. Rozhodnutie redakčnej rady o prijatí alebo zamietnutí príspevku je konečné.

Za uverejnenie článku v časopise sa nevyžadujú žiadne poplatky.

VŠEOBECNÉ ZÁSADY

Príspevky sa uverejňujú v slovenskom, českom alebo anglickom jazyku. Ak je príspevok písaný v

inom ako anglickom jazyku, vyžaduje sa názov práce, abstrakt a kľúčové slová v angličtine.

Kompletný text rukopisu vrátane fotografií, obrázkov, tabuliek a grafov sa zasiela v elektronickej forme na nasledovnú adresu: **folia.pharma@uvlf.sk**. Ak rukopis nespĺňa pokyny pre autorov, redakčná rada si vyhradzuje právo vrátiť rukopis autorom pred jeho posúdením recenzentmi.

Pri písaní príspevku (včítane grafov, tabuliek a pod.) je potrebné zachovávať jednotný štýl a formát práce (Times New Roman, veľkosť písma 12 bodov, riadkovanie 1,5, okraje 2,5 cm, zarovnanie podľa okrajov).

Pri zasielaní rukopisu autori pripájajú prehlásenie, že ich článok je pôvodný, nebol publikovaný ani zaslaný na publikáciu inde.

Ak štúdia hodnotí farmaceutický produkt, lekárske alebo vedecké zariadenie/pomôcku, alebo iný komerčný výrobok, autori informujú vydavateľa dôverným listom o akomkoľvek finančnom zainteresovaní, ktoré existuje v rámci spoločnosti, ktorá takýto produkt vyrába, alebo prípadnej konkurenčnej spoločnosti.

Používanie jednotiek. V texte sa zásadne používa medzinárodný systém jednotiek (SI). Iné jednotky je nevyhnutné vysvetliť a definovať.

Skratky a symboly. Pri voľbe fyzikálnych alebo fyzikálno-chemických symbolov je záväzný IUPAC Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units (Pergamon Press, Oxford, 1993). Používajú sa len štandardné skratky. Odporúča sa vyhýbať sa skratkám v názve a v abstrakte. Skratky by sa mali používať len pri ich častom opakovaní. Pri prvom použití skratky v texte sa pripojí jej vysvetlenie v zátvorke, pokiaľ sa nejedná o štandardnú jednotku merania.

Názvoslovie a terminológia. V texte je potrebné používať štandardné slovenské názvoslovie v zmysle platných odporúčaní IUPAC. Detailné inštrukcie pre anglicky písaný text sa nachádzajú v publikáciách IUPAC *Brief Guide to the Nomenclature of Inorganic Chemistry IUPAC 2015, Pure App. Chem. 87, 1039-1049*, © IUPAC & De Gruyter 2015 and *Nomenclature of Organic Chemistry, IUPAC Recommendations and Preferred Names 2013*, Royal Society of Chemistry, Cambridge 2014. Je vhodné sa vyhnúť novým triviálnym názvom. Nové zlúčeniny musia byť pomenované systémovým názvoslovím podľa IUPAC.

Pri uvádzaní látok izolovaných z prírodných zdrojov sa latinsky uvedie názov zdroja (napr. rodový a druhový názov rastliny) a príslušná čeľaď. Liečivá sa uvádzajú INN názvom v slovenskej, českej resp. v anglickej mutácii a to podľa jazyka, v ktorom je rukopis napísaný. Ak je známy liekopisný názov, tak sa uprednostní, resp. prípustné sú obidva.

Príklady: paracetamol (nie acetaminofén), bisfosfonát (nie bifosfonát), adrenalin/liekopis (nie epinefrín/INN), hydroxykarbamin (nie hydroxyurea), kromoglykán (nie chromoglykán), cholestyramín (nie colestyramín, kolestyramín), lítium (lithium), manitol (nie mannitol).

Latinské termíny sa píše kurzívou.

Fotografie, obrázky, grafy. Aby sa vyhlo prípadným nepresnostiam či chybám, odporúčame pripojiť fotografie, obrázky a grafy ako osobitný súbor a v texte uviesť odkaz na príslušnú fotografiu, obrázok a graf. Fotografie majú mať minimálne rozlíšenie na úrovni 300 dpi a musia byť jasné a ostré. Vzhľadom na technické komplikácie, ku ktorým môže dôjsť pri konvertovaní farebných obrázkov pre potreby čierno-bielej tlače sa odporúča zaslať obrázky a ilustrácie vo verzii vhodnej pre takúto tlač. V časopise môžu mať obrázky a ilustrácie šírku len 8,5 cm a nachádzať sa na strane širokej 17,5 cm, preto by veľkosť písmen v legende mala zodpovedať týmto rozmerom. Obrázky, fotografie a grafy majú byť priebežne očíslované a má byť k nim pripojený príslušný text týkajúci sa obsahu a prípadne aj zdroja.

Číslo a text nemá byť súčasťou fotografie/obrázku/grafu. Číslo a názov obrázku, fotografie a grafu sa má umiestniť nad a príslušný text týkajúci sa obsahu a prípadne aj zdroja (legenda) sa má umiestniť pod nimi. Pri mikrofotografiách text obsahuje aj údaje o mierke a technike farbenia. Hlavné objekty, zmeny a zistenia sa v mikrofotografiách označujú šípkou alebo iným symbolom, ktorý je vysvetlený v legende.

Ak sa nejedná o vlastný obrázok/fotografiu, pre každý obrázok/fotografiu sa v legende uvádza zdroj.

Tabuľky majú byť priebežne číslované a majú obsahovať podstatné a dôležité údaje, ktoré sa nenachádzajú v texte. Číslo a príslušný opis (názov) sa uvádza nad tabuľkou. Tabuľky obsahujú vodorovné a zvislé čiary, ktoré podporujú prehľadnosť zverejnených údajov. Pod tabuľkou sa uvádza vysvetlenie symbolov/skratiek použitých v tabuľke vrátane štatistiky (legenda).

Etické aspekty. Pri popise experimentov vykonávaných na zvieratách sa uvádza, či boli schválené etickou komisiou a či boli dodržané príslušné aktuálne legislatívne opatrenia, ktoré sa vzťahujú na túto oblasť ako aj číslo povolenia Štátnej veterinárnej a potravinovej správy SR. Pri klinických štúdiách sa uvádza, či boli schválené príslušnou etickou komisiou.

Štatistika. Pri opise použitých štatistických metód sa uvádzajú informácie potrebné na to, aby si informovaný čitateľ mohol na základe pôvodných výsledkov overiť ich správnosť.

ŠTRUKTÚRA PRÍSPEVKOV

Každý príspevok má byť tematicky kompletný. Odporúčaný rozsah pre odborný článok (pôvodnú štúdiu) je 12 strán, pre prehľadový článok 15 strán a pre kazuistiku 7 strán.

Hlavný text príspevku sa začína názvom príspevku v slovenskom alebo v českom jazyku a následne názov v jazyku anglickom, ktorý má byť stručný a výstižný (veľké tučné písmená, veľkosť písma 14, zarovnanie na stred). Pod názvom sa uvádzajú mená autorov (priezvisko, iniciála/y), pod nimi pracovné zaradenie

autorov (inštitúcia) a štát a nakoniec e-mailová adresa prvého/korešpondujúceho autora (všetko zarovnané na stred).

Pri empiricky orientovaných štúdiách je potrebné dodržať usporiadanie rukopisu do nasledovných častí: **ABSTRAKT, ÚVOD, MATERIÁL A METÓDY, VÝSLEDKY, DISKUSIA, ZÁVERY, (POĎAKOVANIE), ZOZNAM LITERATÚRY.**

Každý nadpis sa uvádza na osobitnom riadku (veľké tučné písmo, veľkosť 12). Nad ním a pod ním sa vynechá voľný riadok. Každý odsek začína zarážkou.

ABSTRAKT

Vyžaduje sa abstrakt v angličtine (tučné písmo, veľkosť 12). Jeho dĺžka by nemala presiahnuť 250 slov. Abstrakt stručne prezentuje cieľ a relevantnosť štúdie, základné postupy, hlavné zistenia a vyvedené závery. Zdôrazňuje nové a dôležité aspekty štúdie a pozorovaní.

Key words: Kľúčové slová (3–10) sa uvádzajú v slovenskom resp. českom a v anglickom jazyku v abecednom poradí pod abstraktom, od ktorého sú oddelené jedným voľným riadkom. Oddelujú sa bodkočiarkou.

ÚVOD

Uvádza sa stručný prehľad problematiky. Namiesto podrobného literárneho prehľadu je vhodnejšie sústrediť sa na striktné relevantné zdroje bez zahrnutia podrobných údajov a záverov prezentovaných v týchto zdrojoch. Úvod sa má končiť cieľom, ktorý si autori vytýčili.

MATERIÁL A METÓDY

Prezentuje sa podrobný popis a charakteristika objektov pozorovania/experimentov, vrátane kontrol. Identifikujú sa použité metódy, prístroje (meno a adresa výrobcu v zátvorke) a postupy s dostatočnými podrobnosťami na to, aby ich bolo možné reprodukovať. Citujú sa zavedené metódy a ich zdroje a stručne sa opisujú metódy, ktoré boli publikované,

ale nie sú veľmi známe. Poskytuje sa kompletný opis nových alebo podstatne modifikovaných metód, dôvody ich použitia a ich prípadné obmedzenia. Presne sa identifikujú všetky použité liečivá a chemikálie vrátane ich generického názvu, dávky a spôsobu podávania.

Poskytujú sa kompletné informácie o štatistických metódach a opatreniach použitých vo výskume.

VÝSLEDKY

Pri uvádzaní výsledkov sa používa medzinárodný systém jednotiek (SI).

Prezentácia výsledkov má byť výstižná, s logickou nadväznosťou a využívaním tabuliek a názorných grafov. V tabuľkách a grafoch je potrebné sa vyhnúť duplicite prezentovaných výsledkov. V texte sa zdôrazňujú a sumarizujú len dôležité pozorovania. Tam, kde je to vhodné/potrebné, tabuľky majú obsahovať výsledky štatistickej analýzy (hladiny významnosti).

DISKUSIA

Zdôrazňujú sa nové a dôležité aspekty štúdie, ktoré vedú ku konečným záverom. Je potrebné sa vyhnúť podrobnému opakovaniu údajov už spomenutých v častiach Úvod a Výsledky. Diskusia má obsahovať zhrnutie prezentovaných zistení, relevantné obmedzenia a význam týchto zistení pre ďalší výskum. Výsledky štúdie sú porovnávané s publikovanými výsledkami iných autorov.

ZÁVERY

Dávajú sa do súvislosti závery s cieľom štúdie. Je potrebné sa vyhnúť nekvalifikovaným vyhláseniam a záverom, ktoré nie sú plne podporované získanými údajmi. Tam, kde je to vhodné, môžu sa uvádzať odporúčania.

POĎAKOVANIE

(Kurzívou) Ak je to potrebné, uvádza sa poďakovanie (grant, špeciálne analýzy, technická podpora...).

ZOZNAM LITERATÚRY

Všetky zdroje uvedené v zozname musia byť citované v texte.

Použíte zdroje sa v zozname uvádzajú v abecednom poradí (podľa priezviska prvého autora), a každý z nich sa začína písať na nový riadok s odsadením. Zdroje musia obsahovať priezviská a iniciály všetkých autorov. Neodporúča sa použiť nadmerný počet citácií na podporu jedného vyhlásenia.

Od autorov sa vyžaduje použitie iba overiteľných a recenzovaných zdrojov z celosvetovo akceptovaných vedeckých databáz.

V texte sa cituje/ú autor/i priezviskom a rok publikovania. V slovenskom a českom jazyku sa používajú spojky „a“ a „a kol.“, ak je rukopis v anglickom jazyku spojky „and“ a „et al.“. Viacnásobné citácie sa uvádzajú v chronologickom poradí.

Pri písaní zdrojov štýl a interpunkcia má zodpovedať príkladom uvedeným nižšie:

Časopis (vedecký/odborný): Priezvisko/á a iniciála/y autora /ov. Celý názov článku, názov časopisu (kurzívou), rok publikácie, ročník a príslušné strany. Číslo časopisu sa uvedie (v zátvorke) len vtedy, keď sa v časopise neuvádza ročník. Možno uviesť skrátený názov časopisu, ak sa takýto nachádza v štandardnom ISO zozname skrátených názvov časopisov. ISSN číslo sa nevyžaduje:

Bagirova, V. L., Miřkina, L. I.: Determination of Tartrazine in drugs. *Pharm. Chem. J.*, 2003, 37, 558 – 559.

Kniha (editovaná, needitovaná):

Mená a iniciály autorov citovanej časti knihy, autori/editori knihy, názov knihy (kurzívou), miesto vydania, vydavateľ, rok vydania, celkový počet strán alebo citované strany (ISBN sa nevyžaduje):

Choi, C. K., Dong, M. W.: Chapter 5 – Sample preparation for HPLC analysis of drug products. In Ahuja, S., Dong, M. W. (Eds.). *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*. United Kingdom: Elsevier, 2005. 123 – 144.

Podczek, F., Jones, B. E.: *Pharmaceutical Capsules*, 2nd edn., Pharmaceutical Press, 2004. 66 –

67.

Zborník z konferencie: Mená a iniciály autorov. Celý názov článku. Názov zborníka/konferencie, miesto a dátum konania, rok publikácie, celkový počet strán alebo citované strany:

Canganella, F., Balsamo, R.: Isolation and selection of probiotic microorganisms with antagonistic activity against *Paenicibacillus larvae* and *Paenicibacillus alvei*. In *Proceedings of the International Probiotic Conference: Probiotics for the 3rd Millenium*, High Tatras, Slovakia, June 4 – 7, 2008, 28 – 29.

Online časopis:

Simon, J. A., Hudes, E. S.: Relationship of ascorbic acid to blood lead levels. *JAMA* 1999, 281, 2289 – 2293. <http://url>. Accessed July 11, 2009.

Online website:

King, M. W.: *The Medical Biochemistry Page*. <http://themedicalbiochemistrypage.org>. Updated July 14, 2009. Accessed July 14, 2009.

PREHLADOVÉ ČLÁNKY

Publikujú sa aj články, ktoré prezentujú súhrnné informácie o významných aspektoch vo farmácii a medicíne s relevantnou historickou perspektívou. Odporúčaná štruktúra prehľadových článkov je nasledovná:

NÁZOV/AUTORI – názov (aj v angličtine) má byť stručný a informatívny.

ABSTRAKT (v angličtine) – uvádza ciele a výsledky prehľadu s kľúčovými slovami (3-10).

ÚVOD – poskytuje informácie o kontexte, indikuje motiváciu autora/autorov prehľadu, definuje príslušné zameranie a otázky pre výskum a vysvetľuje štruktúru textu.

MATERIÁL A METÓDY – opisuje/sumarizuje metódy použité pre lokalizáciu, získavanie, selekciu a syntetizovanie údajov.

Hlavná časť prehľadového článku – pre prehľadnosť sa používajú relevantné podnadpisy.

ZÁVER – Zodpovedanie otázok pre výskum, položených v úvode.

ZOZNAM LITERATÚRY – Potvrďuje práce iných vedcov – zabraňuje obvineniam z plagiátorstva. Neodporúča sa použiť viac ako 100 literárnych zdrojov.

KAZUISTIKY

Publikujú sa aj články, ktoré prezentujú správy o výnimočnom prípade určitého liečiva, resp. substancie či zmesi a jej neobvyklého účinku alebo opis zaujímavého klinického prípadu, choroby a pod. Odporúčaná štruktúra kazuistík je nasledovná:

NÁZOV/AUTORI – názov (aj v angličtine) má byť stručný a informatívny.

ABSTRAKT (v angličtine) – skrátená verzia celého textu s kľúčovými slovami (3-10)

ÚVOD – vysvetľuje dôvody, pre ktoré bol daný prípad opísaný

OPIS PRÍPADU/PRÍPADOV – hlavná časť kazuistiky - uvádza sa priebeh, liečba, prognóza a ukončenie prípadu

DISKUSIA – zdôrazňujú sa zaujímavé aspekty prípadu

ZÁVER – opisujú sa súvislosti medzi hlavnými zisteniami/pozorovaniami a cieľom práce

ZOZNAM LITERATÚRY

RECENZIA

Publikujú sa aj kritické rozborové odborného diela (napr. knihy, článku), ktoré obsahujú odôvodnené hodnotenie. Odporúčaná štruktúra recenzie je nasledovná:

ZÁKLADNÉ INFORMÁCIE – uvádza sa názov knihy (článku, časopisu), mená autorov (priezvisko, iniciály), miesto vydania a názov vydavateľstva, rok vydania, počet strán, odporúčaná cena, ISBN

OBSAH KNIHY (ČLÁNKU, ČASOPISU) – opisujú sa dôležité informácie, napr. čím kniha (článok, časopis) recenzenta zaujala/sklamala.

VÝZNAM KNIHY (ČLÁNKU, ČASOPISU) – uvádza sa jej využitie pre odbornú verejnosť.

Redakčná rada