Farmacie 2-07 9.5.2007 10:45 Str. 90
proLékaře.cz | 18.12.2025

Charakterizácia polyfenoloxidázy z latexu lastovičníka väčšieho (*Chelidonium majus* L.)

BILKA F., VANKO M., BALAŽOVÁ A., BILKOVÁ A., HOLKOVÁ I.
Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra bunkovej a molekulárnej biológie liečiv

Došlo: 22. 2. 2007 / Přijato: 1. 3. 2007

SÚHRN

Charakterizácia polyfenoloxidázy z latexu lastovičníka väčšieho (*Chelidonium majus* L.)
Lastovičník väčší podobne ako iné rastliny z čeľade Papaveraceae produkuje benzylizochinolínové alkaloidy, predovšetkým benzofenantridíny. Polyfenoloxidáza (PPO) je pravdepodobne zapojená do tvorby dopamínu, ktorý je jedným z prekurzorov norkoklaurínu, prvého intermediátu s benzylizochinolínovou štruktúrou. V rámci práce bolo zistené, že PPO prítomná v latexe lastovičníka je lokalizovaná v organelách, ktoré slúžia k uskladneniu alkaloidov (tzv. 1000 g organely). Enzým bol purifikovaný afinitnou chromatografiou do elektroforetickej homogenity, má relatívnu molekulovú hmotnosť približne 65 kDa a vykazuje dve aktivity – monofenolázovú a difenolázovú. Použitím polymerázovej reťazovej reakcie sa podarilo amplifikovať časť génu PPO z oblasti aktívneho miesta.
Kľúčové slová: *Chelidonium maju*s L. – polyfenoloxidáza – latex – sanguinarín

Čes. slov. Farm., 2007; 56, 90–94

SUMMARY

Characterization of polyphenoloxidase from the latex of greater celandine (*Chelidonium majus* L.)
Greater celandine, similarly as other plants of the family Papaveraceae, produces benzylisoquinoline alkaloids, primarily benzophenanthridines. Polyphenoloxidase (PPO) is most probably involved in the formation of dopamine, which is one of the precursors of norcoclaurine, the first intermediate with the benzylisoquinoline structure. This study has revealed that PPO present in the latex of greater celandine is localized in the organelles, which serve to store alkaloids (the so-called 1000 g organelles). The enzyme was purified by means of affinity chromatography into electrophoretic homogeneity. It possesses a relative molecular mass of approximately 65 kDa and exerts two activities, the monophenolase and diphenolase ones. With the use of a polymerase chain reaction, it was possible to amplify a part of the PPO gene from the region of the active site.
Key words: *Chelidonium majus* L. – polyphenoloxidase – latex – sanguinarine

Čes. slov. Farm., 2007; 56, 90–94 *Má*

Úvod

Biosyntetická dráha, ktorá vedie od tyrozínu k benzofenantridínovému alkaloidu sanguinarínu je až na niekoľko výnimiek kompletne objasnená. Nedostatočne preštudované kroky sa nachádzajú v úvodnej tzv. pre-retikulínovej fáze biosyntézy. Táto fáza je spoločná pre tvorbu širokého spektra benzylizochinolínových alkaloidov (BICH), napr. morfínanov, benzofenantridínov, ftalydizochinolínov, sekoftalydizochinolínov, benzyltetrahydroizochinolínov a aromatických benzylizochinolínov [1]. Neobjasnené sú kroky, ktoré by mohli katalyzovať enzýmy so širokou sub-

Adresa pro korespondenci:
RNDr. František Bilka, PhD.
Katedra bunkovej a molekulárnej biológie liečiv FaF UK
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, SR
e-mail: bilka@fpharm.uniba.sk

proLékaře.cz | 18.12.2025

strátovou špecifitou – polyfenoloxidáza a aminooxidáza. Polyfenoloxidáza sa pravdepodobne podieľa na tvorbe aminokondenzačnej jednotky, ktorou je dopamín a aminooxidáza na tvorbe 4-hydroxyfenylacetaldehydu, ktorý predstavuje aldehydkondenzačnú jednotku [2]. Dopamín a 4-hydroxyfenylacetaldehyd kondenzujú za účasti norkoklaurínsyntázy na centrálny intermediát všetkých BICH alkaloidov (*S*)-norkoklaurín [3].

Pri štúdiu a charakterizácii enzýmov zúčastňujúcich sa tvorby BICH alkaloidov sa najčastejšie ako modelové objekty používajú mak siaty (*Papaver somniferum* L.) a slncovka kalifornská (*Eschscholtzia californica* Cham.) [4, 5]. Lastovičník väčší (*Chelidonium majus* L.), takisto patriaci do čeľade *Papaveraceae*, ktorý sa hojne vyskytuje v strednej Európe, býva pre experimentálne účely v enzymológii využívaný málo. V poslednom období sa v odbornej literatúre vyskytla iba práca venovaná endopeptidázam lastovičníka [6].

V lastovičníku bolo identifikovaných viac než tridsať alkaloidov. S výnimkou sparteínu patria do skupiny benzylizochínolínov. Ich distribúcia v rastline je nerovnomerná a vykazuje variabilitu počas vegetácie v závislosti od klimatických podmienok a veku rastliny. Hlavnými alkaloidmi koreňa sú koptisín a chelidonín, hoci významný je i obsah sanguinarínu, chelerytrínu, berberínu a kvartérneho aporfínového alkaloidu magnoflorínu. V nadzemných častiach rastliny sú dominantnými štruktúrami chelidonín, koptisín, stylopín, sanguinarín a chelerytrín. Zatiaľ čo obsah koptisínu je stály počas celého vegetačného obdobia, zastúpenie sanguinarínu, chelidonínu a chelerytrínu dosahuje maximum po odkvitnutí [7].

Z alkaloidov lastovičníka väčšieho má najperspektívnejšie využitie vo farmácii sanguinarín pre jeho antibakteriálne, antiprotozoálne, antivírusové a protizápalové účinky. V súčasnosti sú na trhu dostupné prípravky pre dentálnu hygienu a veterinárne aditíva s obsahom sanguinarínu. V *in vitro* testoch na cicavčích bunkových líniách bola pozorovaná schopnosť sanguinarínu indukovať apoptózu, a preto sa uvažuje s jeho potenciálnym využitím pri terapii nádorov. K opatrnosti však nabáda schopnosť sanguinarínu interkalovať sa do DNA (genotoxický účinok). Napriek potenciálnemu toxickému efektu je sanguinarín stále atraktívnym prírodným produktom pre základný a aplikovaný farmaceutický výskum [8].

POKUSNÁ ČASŤ

Príprava vzoriek z latexu

Vytekajúci latex sme zbierali zo stoniek po odlomení toboliek do skúmaviek obsahujúcich 0,5 mol.l^{-1} manitol/0,1 mol.l^{-1} fosforečnanový tlmivý roztok (pH 6,5) tak, aby výsledný pomer latex:tlmivý roztok bol 1:1. Organely sme usadili centrifugáciou pri 1000 g (30 min) a resuspendovali v manitol/fosforečnanovom tlmivom roztoku do pôvodného objemu. Organely sme dezintegrovali trojnásobným zmrazením a rozmrazením a sonifikáciou v prítomnosti 1% Tritonu X-100. Supernatant, získaný centrifugáciou (12 000 g, 15 min, 4 °C) sme použili ako hrubý enzýmový roztok.

Identifikácia a stanovenie sanguinarínu

Stanovenie sanguinarínu a prípravu vzoriek na jeho stanovenie sme uskutočnili podľa Balažová et al. [9]. Na platňu SILUFOLu (Kavalier) sme naniesli 50 µl z každej vzorky, resp. 10 µl štandardného roztoku sanguinarínu. Ako mobilnú fázu sme použili zmes chloroform:metanol (3:97). Chromatogram sme vyhodnotili pod UV-lampou (Reprostar II, Camag) pri 254 nm. Jednotlivé škvrny sanguinarínu sme z chromatografickej platne oddelili a eluovali do 2 ml 0,02 mol.l^{-1} NaOH v 50% UV-metanole. Obsah sanguinarínu v eluátoch sme stanovili luminiscenčným spektrometrom Perkin-Elmer LS-30 pri λ_{ex} = 324 nm a λ_{em} = 408 nm [9].

Stanovenie aktivity PPO

Aktivitu PPO vo vzorkách sme stanovili spektrofotometricky pri 475 nm. Ako substrát sme použili dopamín v koncentrácii 2 mmol.l^{-1}. Jednotku enzýmovej aktivity (1 U) sme definovali ako zmenu absorbancie o 1,0 za minútu [10]. Michaelisove–Mentenovej konštanty sme stanovili podľa Lineweavera a Burka [11].

Stanovenie bielkovín

Bielkoviny vo vzorkách sme stanovili podľa Bradforda [12].

Purifikácia PPO

Na purifikáciu PPO sme použili afinitnú chromatografiu na stĺpci PABA-Sepharose CL-4B. Sepharose CL-4B sme aktivovali pomocou divinylsulfónu. K aktivovanej Sepharose sme pridali 1 mol.l^{-1} uhličitanový tlmivý roztok (pH 11,0) obsahujúci kyselinu *p*-aminobenzoovú (PABA). Sklenenú kolónu sme naplnili PABA-Sepharose CL-4B (12 cm x ∅ 14 mm). Na stĺpec sme aplikovali 1 ml hrubého enzýmového roztoku. Po jeho vsiaknutí sme stĺpec premyli fosforečnanovým tlmivým roztokom (50 mmol.l^{-1}; gradient pH 6,0–8,0; rýchlosť prietoku 12 ml.h^{-1}). Polyfenoloxidázu sme eluovali 1 mol.l^{-1} NaCl v 50 mmol.l^{-1} fosforečnanovom tlmivom roztoku (pH 8,0).

Separácia bielkovín pomocou SDS-PAGE

Polyakrylamidovú gélovú elektroforézu za denaturujúcich podmienok (SDS-PAGE) sme uskutočnili podľa Laemliho [13]. Proteíny v géli sme vizualizovali striebrom podľa Nesterenka [14].

Izolácia DNA

Na izoláciu DNA z listov *Chelidonium majus* sme použili DNeasy® Plant Mini Kit od firmy Qiagen (SRN).

Polymerázová reťazová reakcia

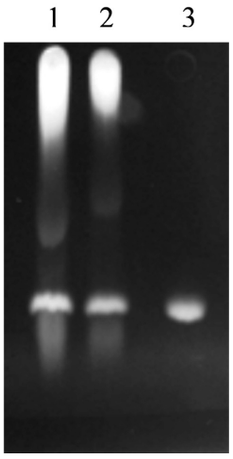
Primery sme navrhli podľa sekvencií rastlinných polyfenoloxidáz uvedených v publikáciách [15, 16]. „Upstream“ primer: 5'-CCI GA(CT) GA(AG) GA(CT) CCI CGI AG(CT) TT(CT) AA(AG)-3'; „downstream“ primer: 5'-CAT CC(GT) (AG)TC (GC)AC (AG)(AT)T IG(AC) (AG)TG GTG-3'. Reakčná zmes (25 µl) obsahovala: Taq polymerázu (1,5 U) a reakčný tlmivý roztok (Promega, EU), zmes dNTP (každý 0,2 mmol.l^{-1}), primery (50 nmol.l^{-1}), $MgCl_2$ (3 mmol.l^{-1}), templátovú DNA (0,4 µg). Program PCR: počiatočná denaturácia (5 min pri 94 °C); 40 amplifikačných cyklov (denaturácia 20 s pri 94 °C, anelácia 40 s pri 58 °C, polymerizácia 1 min pri 72 °C); záverečná polymerizácia 10 min pri 72 °C. PCR prebiehala v cykleri Mastercycler Personal (Eppendorf, SRN).

Farmacie 2-07 9.5.2007 10:45 Str. 92
proLékaře.cz | 18.12.2025

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Chemická syntéza BICH alkaloidov nie je dostatočne efektívna, preto je farmaceutický priemysel dodnes závislý na ich prirodzenom obsahu v rastlinách. Tvorba a akumulácia alkaloidov v rastlinách čeľade *Papaveraceae* je viazaná na špecifické rastlinné štruktúry – mliečnice. Ich plazmatickým obsahom je latex. Úlohou latexu je absorbcia, translokácia a uskladnenie alkaloidov; 95–99% z celkového obsahu alkaloidov sa nachádza v organelách latexu, ktoré sedimentujú pri 1000 g (tzv. 1000 g organely) a len malá časť (1–5 %) je lokalizovaná v supernatante. Fairbairn et al. [17] predpokladajú, že aj alkaloidy, prítomné v supernatante, pochádzajú z 1000 g organel, ktoré sa poškodili pri príprave vzoriek.

Centrifugáciou 2 ml latexu sme získali 1,3 ml supernatantu a 0,7 ml sedimentu. V supernatante sme namerali 24,7 μg a v sedimente 398,0 μg sanguinarínu (obr. 1).



Obr. 1. Identifikácia sanguinarínu chromatografiou na tenkej vrstve
1. dráha: vzorka z 1000 g organel latexu; 2. dráha: vzorka zo supernatantu; 3. dráha: štandardný sanguinarín

Tab. 1. Aktivita PPO v latexe lastovičníka väčšieho

Vzorka	supernatant	sediment	sonifikát
ΔA_{475}/min	0,075	0,008	0,480

Reakčná zmes (2 ml) obsahovala dopamín (2 mmol.l^{-1}) a 50 μl vzorky (supernatant, sediment, sonifikát).

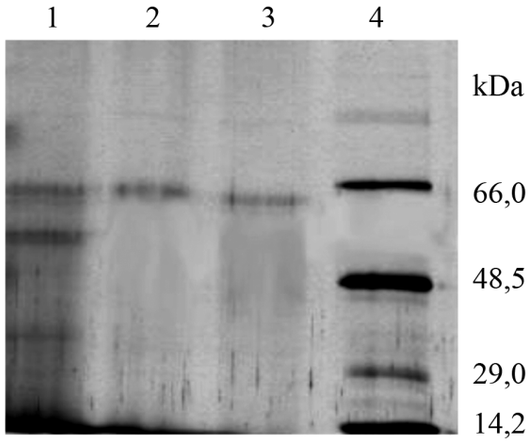
Enzýmovú aktivitu latexovej PPO sme stanovili v supernatante, sedimente a v sonifikáte rozsuspendovaného sedimentu (tab. 1). V supernatante sme zistili približne 10x vyššiu aktivitu enzýmu ako vo vzorke, ktorá obsahovala neporušené organely (sediment). Sonifikáciou sedimentu sa aktivita PPO zvýšila cca 60x, čo znamená, že v lastovičníku väčšom je PPO lokalizovaná vo vnútri 1000 g organel, podobne ako je tomu v latexe maku siateho [18, 19]. Aktivita PPO, ako aj sanguinarín, ktoré sme namerali v supernatante, pravdepodobne pochádzali z organel, ktoré popraskali pri spracovaní vzoriek.

Na purifikáciu PPO z 1000 g organel latexu sme použili afinitnú chromatografiu (tab. 2). Ako ligand sme použili kyselinu *p*-aminobenzoovú (PABA), ktorá je kompetitívnym inhibítorom polyfenoloxidáz. Podobne purifikovali PPO (ako ligand použili kyselinu *p*-aminofenyloctovú) zo zemiaku Pathak a Ghole [20], ktorí na elúciu naviazanej PPO použili zmenu pH zo 6,0 na 8,0. V našom prípade na elúciu nestačilo zvýšenie pH, bolo nutné pridať 1 mol.l^{-1} NaCl. Ako sa ukázalo z našich ďalších experimentov, zvýšenie pH na 8,0 nepostačovalo z dôvodu, že pH 8,0 je ešte súčasťou pH optima latexovej PPO lastovičníka (pH optimum je pomerne široké v intervale 7,0–9,5). Týmto postupom sa nám enzým podarilo prečistiť do elektroforetickej homogenity (obr. 2). V géli sme

Tab. 2. Purifikácia polyfenoloxidázy z latexu lastovičníka väčšieho

Purifikačný krok	koncentrácia bielkovín (μg.ml^{-1})	aktivita (U.ml^{-1})	špec. aktivita (U.mg^{-1})	prečistenie
hrubý enzýmový roztok	718,9	0,95	1,32	–
PABA--Sepharose Cl-4B	4,8	1,37	285,42	216,2

Aktivita bola stanovená spektrofotometricky pri 475 nm, substrát 2 mmol.l^{-1} dopamín. Bielkoviny boli stanovené podľa Bradforda (1979).



Obr. 2. Elektroforetická analýza PPO purifikovanej z latexu lastovičníka väčšieho (SDS-PAGE)
1. dráha: hrubý homogenát; 2. a 3. dráha: vzorky po afinitnej chromatografii; 4. dráha: nízkomolekulové proteínové štandardy (sérový albumín 66,0 kDa, fumaráza 48,5 kDa, dehydratáza kyseliny uhličitej 29,0 kDa, α-laktalbumín 14,2 kDa)

proLékaře.cz | 18.12.2025

Tab. 3. Substrátová špecifita PPO

	Difenoly		monofenoly	
substrát	dopamín	DOPA	tyrozín	tyramín
aktivita (U)	0,195	0,047	0,005	0,030
porovnanie aktivity %	100	24,1	2,5	15,4
K_m (mmo.l^{-1})	0,681	2,502	–	–

Aktivita bola stanovená spektrofotometricky pri 475 nm. Reakčná zmes (2 ml) obsahovala substrát v koncentrácii 2 mmol.l^{-1} a 0,225 μg purifikovaného enzýmu.

QQANV**H**CAYCDGAYDQVGLPNLEXXV**H**NSWLFFPF**H**XYYVYFHEKILGSLIDDPT
FALPFWNWDGTPEGMRMPVMFTNPNSSLYBKLRDAKHQPPALIDLNYNLVDPTN
TERRLTNNNTIMYRQMVSNGKTPQLFLGSPYXAGBLPDPGAGSIENVP**H**GPV**H**SW
AGDRTQPNVENMGNFYSAARDPIFFAX**H**

Obr. 3. Sekvencia aminokyselín PCR produktu
A ~ Ala, M ~ Met, B ~ Asx (asparágová kyselina alebo asparagín), N ~ Asn, C ~ Cys, P ~ Pro, D ~ Asp, Q ~ Gln, E ~ Glu, R ~ Arg, F ~ Phe, S ~Ser, G ~ Gly, T ~ Thr, H ~ His, V ~ Val, I ~ Ile, W ~ Trp, K ~ Lys, Y ~ Tyr, L ~ Leu, Z ~ Glx (glutamín alebo kyselina glutámová)
Podčiarknutím sú zvýraznené vysoko konzervované Cu-viažuce oblasti, boldom sú vyznačené vysoko konzervované zbytky histidínu.

detegovali jeden pásik, ktorému zodpovedá relatívna molekulová hmotnosť približne 65 kDa. PPO s takouto molekulovou hmotnosťou bola popísaná aj v 1000 g organelách latexu maku siateho. Popri PPO s Mr 65 kDa bola v latexe maku identifikovaná aj mnohotná forma PPO s Mr 40 kDa [18]. V latexe lastovičníka sme takúto mnohotnú formu PPO nedetegovali.

Purifikovaný enzým sme použili na stanovenie základných kinetických parametrov. Podobne ako polyfenoloxidázy z iných rastlín aj PPO z lastovičníka katalyzuje dve reakcie: hydroxyláciu monofenolov na *o*-difenoly (monofenolázová aktivita) a oxidáciu *o*-difenolov na *o*-chinóny (difenolázová aktivita). Monofenolázová aktivita latexovej PPO je v porovnaní s difenolázovou pomerne nízka (tab. 3). Podobne je tomu aj u iných rastlín, napríklad u repy [10] alebo maku [21]. K_m sme stanovili pre substráty dopamín (0,681 mmol.l^{-1}) a DOPA (2,502 mmol.l^{-1}) (tab. 3). Tieto hodnoty sú porovnateľné s inými rastlinnými polyfenoloxidázami. Väčšinou sa hodnoty K_m pohybujú v intervale 1–10 mmol.l^{-1} [22]. Pre monofenoly sme pre nízku aktivitu enzýmu K_m nestanovovali.

Na testovanie inhibičného účinku na PPO sme použili inhibítory NaN_3, KCN, kyselinu askorbovú a cysteín. Azid sodný a kyanid draselný sú všeobecnými inhibítormi oxidáz. Kyselina askorbová a cysteín sa používajú ako inhibítory enzymatického hnednutia, pričom okrem priameho účinku na PPO prichádzajú do úvahy ešte dva možné mechanizmy ich pôsobenia – redukcia *o*-chinónov na dihydroxyfenoly a vznik bezfarebných *cis*-aduktov chinónov [23]. Podľa IC_{50} najvyšší účinok na aktivitu PPO má cysteín (IC_{50} = 0,090 mmol.l^{-1}), nasleduje kyselina askorbová (IC_{50} = 0,134 mmol.l^{-1}), KCN (IC_{50} = 0,213 mmol.l^{-1}), najnižší účinok má azid sodný (IC_{50} = 4,780 mmol.l^{-1}).

Polymerázovou reťazovou reakciou (PCR) sme pripravili produkt dlhý cca 600 bázových párov. Po osekvenovaní sme získali nukleotidovú sekvenciu s počtom 578 nukleotidov (sekvencia neobsahuje primery). Nukleotidovú sekvenciu sme preložili do sekvencie aminokyselín (obr. 3) a porovnali pomocou databázy BLAST – NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) so známymi sekvenciami rastlinných PPO. PCR-produkt sa najviac podobá na polyfenoloxidázu z *Camelia sinensis*. Zo 189 aminokyselín je rovnakých 130 (68% identita). Po zohľadnení pozitivity (aminokyseliny podobných vlastností) je podobnosť 82 % (156 zo 189 AK).

V sekvencii sme identifikovali dve trojice histidínových zvyškov, na ktoré sa koordinačne viažu dva atómy medi, ktoré sú súčasťou tzv. Cu-viažúcich domén A a B a sú ako kofaktory súčasťou aktívneho miesta PPO [24].

Sekvencie oboch identifikovaných Cu-viažucich domén sme pomocou databázy BLAST-NCBI porovnali zvlášť. Porovnaním CuA domény z lastovičníka, dlhej 37 AK, najväčšiu zhodu vykazovali: *Populus balsamifera* – 91% zhoda a až 97% pozitivita, *Lycopersicon esculentum* – 86% a 97% a *Malus domestica* – 89% a 94%. U 35 AK dlhej domény CuB je najvyššia zhoda s *Nelumbo nucifera* – 88% identita a 94% pozitivita, *Prunus persica* – 80% a 88%, *Camellia sinensis* – 77% a 85%. Táto doména je v porovnaní s CuA menej konzervovaná, o čom svedčí nižšia identita s ostatnými rastlinami. Na základe vyššie uvedených porovnaní môžeme skonštatovať, že nami pripravený PCR-produkt zodpovedá časti génu pre polyfenoloxidázu z lastovičníka väčšieho z oblasti aktívneho centra.

Štúdium enzýmov, zapojených do úvodných krokov biosyntézy BICH alkaloidov, je motivované poznatkom, že biosyntetická dráha vedúca od retikulínu k jednotlivým typom BICH alkaloidov nie je dostatočne saturovaná prekurzormi. Napríklad v maku siatom pokusy s externe dodávanými prekurzormi ukázali, že rastlina má enzýmové kapacity na tvorbu väčších množstiev morfínanov [25]. Preto enzýmy polyfenoloxidázu, tyrozíndekarboxylázu a aminoxidázu, ktoré sa pravdepodobne zúčastňujú na regulácii množstva jednotlivých primárnych prekurzorov benzylizochinolínov, môžeme považovať za perspektívne ciele biotechnológií. Avšak zásahom do ich génovej expresie musí predchádzať detailné poznanie vlastností týchto enzýmov na úrovni enzymologickej aj molekulárno-biologickej.

Táto práca je súčasťou grantovej úlohy č. 1/4292/07 podporovanej grantovou agentúrou MŠ SR VEGA.

Za osekvenovanie PCR-produktu ďakujeme Dr. H. Drahovskej a Dr. G. Minárikovi z Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave.

Farmacie 2-07 9.5.2007 10:45 Str. 94
proLékaře.cz | 18.12.2025

LITERATÚRA

1. **Balažová, A., Pšenák, M.:** Chem. Listy, 1998; 92, 1006-1015.
2. **Bilková, A., Bilka, F., Bezáková, L.:** Čes. slov. Farm., 2005; 54, 17-22.
3. **Samanani, N., Facchini, P. J.:** Planta, 2001; 213, 898-906.
4. **Kutchan, T. M.:** In: The alkaloids: Chemistry and Biology. (Cordell, A. G., ed.), San Diego, Academic Press, 1998, 258-311.
5. **Stano, J., Nemec, P., Weissová, K. et al.:** Phytochemistry, 1995; 38, 859-860.
6. **Stano, J., Mičieta, K., Koreňová, M., Blanáriková, V.:** Chem. Listy, 2007; 101, 65-69.
7. **Táborská, E., Bochořáková, H., Dostál, J., Paulová, H.:** Čes. slov. Farm., 1995; 44, 71-75.
8. **Zdařilová, A., Malíková, J., Dvořák, Z. et al.:** Chem. Listy, 2006; 100, 30-41.
9. **Balažová, A., Bilka, F., Blanáriková, V. et al.:** Čes. slov. Farm., 2002; 51, 182-185.
10. **Escribano, J., Cabanes, J., Chazarra, S., García–Carmona, F.:** J. Agric. Food Chem., 1997; 45, 4209-4214.
11. **Lineweaver, H., Burk, D.:** J. American Chem. Soc., 1934; 56, 658-666.
12. **Bradford, M. M.:** Anal. Biochem., 1976; 72, 248.
13. **Laemli, U. K.:** Nature, 1970; 227, 680-685.
14. **Nesterenko, M. V., Tilley, M., Upton, S. Y.:** J. Biochem. Biophys. Methods, 1994; 28, 239.
15. **Chevalier, T., de Rigal, D., Mbégnié-A-Mbégnié, D. et al.:** Plant Physiol., 1999; 119, 1261-1270.
16. **Decker, G., Wanner, G., Zenk, H. M., Lottspeich, F. :** Elektrophoresis, 2000; 21, 3500-3516.
17. **Fairbain, J. W., Hakim, F., Kheir, Z. E.:** Phytochemistry, 1974; 13, 1133-1139.
18. **Bilka, F., Balažová, A., Bilková, A., Pšenák, M.:** Pharmazie, 2000; 55, 155-156.
19. **Roberts, M. F.:** J. Pharm. Pharmac., 1973; 25, 115.
20. **Pathak, S. U., Ghole, V. S.:** Phytochemistry, 1994; 36, 1165-1167.
21. **Bilka, F., Balažová, A., Bilková, A. et al.:** Biologia Plantarum, 2003/4; 47, 111-115.
22. **Mazzafera, P., Robinson, S. P.:** Phytochemistry, 2000; 55, 285-296.
23. **Kermasha, S., Goetghebeur, M., Monfette, A. et al.:** Phytochemistry, 1993; 34, 349-353.
24. **Krebs, B., Merkel, M., Rompel, A.:** J. Agr. Chem. Soc., 2004; 92, 1-15.
25. **Podobová, E., Kovács, P., Pšenák, M.:** Čsl. Farm., 1992; 41, 312-314.

NOVÉ KNIHY

Komárek, P., Rabišková, M. (eds.) et al.: **Technologie léků.** 3. přepracované a doplněné vydání. Praha, Galén, 2006, 399 s., 203 obr., 75 tab. Cena 1200 Kč. ISBN 80 7262 423 7.

Základní učebnice z technologie léků vychází již od roku 1997 ve třetím vydání. Její autorský kolektiv se změnil, celkem má 15 odborníků z farmaceutických fakult, případně z farmaceutického průmyslu. Rozsáhlá tematika je rozdělena na 11 kapitol v rozsahu od 6 do 119 stran. Třetí vydání editoři věnovali památce zesnulého profesora M. Chalabaly, který toto dílo založil a první dvě jeho edice řídil.

V kapitolách recenzované publikace se podává základní problematika ze současné technologie léků, a to především z hledisek průmyslové výroby, méně pak z ohledu na lékárenství jak veřejné, tak i nemocniční, kde je dnes příprava magistraliter léků značně na ústupu.

Aby si bylo možné utvořit základní představy o obsahu jednotlivých kapitol, uvádím jejich názvy a rozsah stran. 1. Úvod vysvětluje základní pojmy, vývoj této základní farmaceutické disciplíny, jakož i názory na léky z různých hledisek (6); 2. Fyzikální a fyzikálně–chemické teorie lékových forem, kinetika jejich účinnosti (74); 3. Základní výrobní postupy a operace ve výrobě léků (37); 4. Farmaceutické pomocné látky, jejich vlastnosti a třídění, vhodně jsou zde uspořádány do přehledných tabulek (38); 5. Biogalenika – farmaceutické aspekty, různé možnosti ovlivnění liberace léčiv z určitých druhů léků (28); 6. Léky, jakožto aplikační systémy (l17); 7. Problematika přípravy a použití radiofarmak (21); 8. Stabilita a možnosti stabilizace léků (12); 9. Některé farmaceutické obaly (14); 10. Zajištění jakosti ve farmaceutické výrobě a kontrole (12). Příloha textu tvoří slovník odborných termínů, přehled názvů lékových forem a aplikačních cest, dále česko–anglický slovník aplikačních pomůcek a obalů, závěrem je stručný věcný rejstřík (12). V tomto vydání jsou na rozdíl od minulých u každé kapitoly uvedeni její autoři.

Vlastní rozdělení obsáhlé tematiky na deset kapitol je také věci diskuze. Snad by bylo možné ve druhé kapitole některé části vypustit a pak sem zařadit problematiku stability léků. Obdobně by bylo možné vypustit kapitolu o obalech léků a ty rozdělit k příslušným lékovým formám, což je například u tablet a injekcí a obalové hmoty dát jako část pomocných látek. Recenzovaná publikace má sloužit jako vysokoškolská učebnice, může však být vhodnou pomůckou pro atestace, případně jiné odborné zkoušky (doktoráty) farmaceutů.

J. Malý