

FARMACEVTSKI VESTNIK

št. 5

OSREDNJA TEMA:
NOVOSTI
S PODROČJA
ZDRAVILNIH
RASTLIN





ODGOVORNI UREDNIK:
Borut Štrukelj

GLAVNA UREDNICA:
Nina Kočevar Glavač

UREDNIŠKI ODBOR:
Žiga Jakopin
Marjetka Korpar
Mitja Kos
Anja Pišlar
Andrea Šetina
Matjaž Tuš
Dunja Urbančič
Tomaž Vovk
Alenka Zvonar Pobirk

IZDAJATELJSKI SVET:
Matejka Cvirn Novak
Mirjana Gašperlin
Sara Kenda
Smiljana Milošev Tuševljak
Janez Mravljak
Helena Pavšar
Aljaž Sočan

NASLOV UREDNIŠTVA /
ADDRESS OF THE EDITORIAL OFFICE:
Slovensko farmacevtsko društvo,
Dunajska cesta 184a, 1000 Ljubljana
T.: +386 (01) 569 26 01
Transakcijski račun pri Novi LB d.d. Ljubljana:
02010-0016686585.

Brez pisnega dovoljenja uredništva Farmacevtskega vestnika so prepovedani reproduciranje, distribuiranje, javna priobčitev, predelava in kakršna koli druga uporaba avtorskega dela ali njegovih delov v kakršnem koli obsegu in postopku kot tudi tiskanje in predelava elektronske oblike.

Izhaja petkrat letno.
Letna naročnina je 70 EUR.
Za tuje naročnike 100 US\$.

Tiska: COLLEGIUM GRAPHICUM
Fotografija na naslovnici: Shutterstock
Naklada: 3.600 izvodov

Farmacevtski vestnik (Pharmaceutical Journal of Slovenia) is published 5 times a year by the Slovenian Pharmaceutical Society, Subscription rate in inland 70 EUR other countries US\$ 100.

Farmacevtski vestnik sofinancira Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije iz sredstev državnega proračuna iz naslova razpisa za sofinanciranje domačih periodičnih znanstvenih publikacij.

MOJ ZADNJI UVODNIK

Kako čas beži, se zavem, ko se vozim z vlakom proti Nagasakiju na Japonskem, in pomislim na mojih več kot dvajset let urednikovanja Farmacevtskega vestnika. Slike pokrajine, ki se zaradi izjemne hitrosti vlaka menjajo kot v filmu, mi odpirajo dogodke, povezane s Farmacevtskim vestnikom in Slovenskim farmacevtskim društvom v zadnjih dveh desetletjih. V tem dolgem obdobju smo preoblikovali Farmacevtski vestnik, ki je sedaj osrednje znanstveno-strokovno glasilo slovenske farmacije, pa tudi širše. Ponosni smo na njegovo veliko branost tudi med širšo strokovno javnostjo, kot so zdravniki, biologi, biotehnologi, kemiki ... Zasnova Farmacevtskega vestnika temelji na tematskih sklopih, ki zaokrožajo posamezno številko in prikazujejo novosti na različnih farmacevtskih in tudi medicinskih področjih. Tako številka Farmacevtskega vestnika, ki jo imate v roki, opisuje nekatere novosti na področju zdravilnih rastlin. Ker pa so spremembe nujen del našega vsakdana, lahko tudi v bližnji prihodnosti pričakujemo nadgradnje vsebin in oblikovnih značilnosti Farmacevtskega vestnika, kar bo vizija novega odgovornega urednika oz. urednice.

Največja vrednota, ki smo jo v vseh teh letih poskusili zadržati in celo pojačati, je bila pripadnost stroki in znanju, ki gradi farmacijo kot samostojno znanstveno in strokovno vedo že stoletja. Kljub različnim poskusom razbijanja enotnosti, predvsem z vidika ekonomskih koristi vplivnežev izven stroke, nam je do sedaj uspelo obdržati stroko na izjemno visoki ravni, tako z vidikov industrije, lekarništva, predstavništev pomembne inovativne veje farmacije, izobraževanja in znanosti ter regulative. V zadnjih nekaj letih sicer opažamo velika odstopanja od regulative in zakonodaje na področju predvsem prehranskih dopolnil, ki se zelo agresivno reklamirajo kot alternativa zdravilom, kar pa vsekakor po svoji osnovni definiciji niso! In kdo bi na tem »divjem« tržišču, ki ga izjemno aktivno spodbujajo mediji, lahko naredil zopet red, če ne farmacevti? Žal pa večinoma tiho spremljamo dnevne kršitve zakonodaje, verjetno zaradi trenutnega ekonomskega dobička. Še malo in bodo posamezniki ali družbe brez strokovnjakov s področja farmacije začeli tržiti izven lekarn in specializiranih trgovin tudi zdravila brez recepta ali celo nekatera zdravila na recept, po vzoru ZDA in nekaterih drugih držav. Desetletja dolgo učimo naše študente, da celostno zdravljenje vedno spremlja tudi strokovni nasvet, ki ga lahko da le farmacevt oz. farmacevtski tehnik. To osnovno načelo smo nekako uspeli prenesti tudi na zdravnike in ostale zdravstvene delavce, sedaj moramo opolnomočiti tudi tiste deležnike, ki z odločitvami posegajo v farmacevtsko stroko, tako na lokalni, kot državni ravni!

Dovolite mi, da se vsem članom uredniškega odbora najlepše zahvaljujem za izjemno dobro in plodno sodelovanje. S ponosom in toplino shranjujem vse številke Farmacevtskega vestnika od mojega pričetka urednikovanja do danes in na razvoj gledam kot na otroka, ki odrašča, a lahko naredi in pokaže še mnogo novosti in izboljšav.

Novemu odgovornemu uredniku oz. urednici želim, da bi se čim več idej, ki vodijo v pozitivne spremembe na vseh področjih farmacije in zdravstva, v kar največji meri uresničilo, vsem bralcem Farmacevtskega vestnika pa čim več zanimivih, poučnih člankov in novic, ki bodo dodatno oplenitili že tako veliko farmacevtsko znanje.

prof. dr. Borut Štrukelj, odgovorni urednik



VSEBINA / CONTENT

STROKOVNI ČLANKI / PROFESSIONAL ARTICLES

- 323 Barbara Razinger
Novosti na področju zdravil rastlinskega izvora
Novelties in the field of herbal medicinal products

IZVIRNI ZNANSTVENI ČLANKI / ORIGINAL SCIENTIFIC ARTICLES

- 329 Ana Matičič, Katja Schoss
Eterično olje prave sivke in lavandina: primerjava sestave in antioksidativnega potenciala
Essential oil of common lavender and lavandin: Comparison of composition and antioxidant potential

PREGLEDNI ZNANSTVENI ČLANKI / REVIEW SCIENTIFIC ARTICLES

- 337 Eva Tavčar
Ekstrakcije konoplje: z optimalno metodo do kakovostnih ekstraktov
Cannabis extractions: Optimal methods for obtaining high-quality extracts
- 346 Sara Papa, Janez Mravljak
Pregled najnovejših raziskav dvokrpega ginka (*Ginkgo biloba*): potencial za nove indikacije
*Review of the latest research on ginkgo (*Ginkgo biloba*): Potential for new indications*
- 353 Andrijana Koceva, Nika Aleksandra Kravos Tramšek, Mojca Lunder, Miodrag Janić
Preboj v zdravljenju presnovnih bolezni: inovativna molekula tirzepatid
Breakthrough in the treatment of metabolic disorders: Innovative molecule tirzepatide
- 362 Alja Zottel, Vesna Kokondoska Grgič, Maša Sinreih
3D celični modeli in njihova uporaba pri testiranju protirakavih zdravilnih učinkovin
3D cell models and their use in testing of anticancer drugs

- 371 NOVICE IZ SVETA FARMACIJE

- 374 DRUŠTVENE VESTI

NOVOSTI NA PODROČJU ZDRAVIL RASTLINSKEGA IZVORA

NOVELTIES IN THE FIELD OF HERBAL MEDICINAL PRODUCTS

AVTORICA / AUTHOR:

mag. Barbara Razinger, mag. farm.

*Javna agencija Republike Slovenije
za zdravila in medicinske pripomočke,
Slovenčeva ulica 22, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: barbara.razinger@jazmp.si

1 UVOD

Zdravila so v evropskem pravnem redu, kot tudi drugod po svetu, eno najbolj normativno urejenih področij, ki se stalno spreminja in dopolnjuje, da nam omogoča spremljanje najnovejših izsledkov biomedicinskih znanosti. To velja tudi za zdravila rastlinskega izvora.

Na podlagi Direktive 2004/24/ES, ki je dopolnila Direktivo 2001/83/ES, so pri Evropski agenciji za zdravila (EMA) ustanovili Odbor za zdravila rastlinskega izvora (HMPC), ki ga sestavljajo člani vseh držav članic Evropske unije (EU) in pet kooptiranih strokovnjakov (1).

POVZETEK

Odbor za zdravila rastlinskega izvora (HMPC) pri Evropski agenciji za zdravila poleg monografij EU o rastlinskih snoveh in pripravkih rastlinskega izvora pripravlja tudi smernice o kakovosti, varnosti in učinkovitosti zdravil rastlinskega izvora ter strokovna mnenja in druge dokumente o različnih vprašanjih, ki zadevajo zdravila rastlinskega izvora. V zadnjih letih so posodobili smernice o kakovosti in specifikacijah zdravil rastlinskega izvora ter izjavi za javnost o pirolizidinskih alkaloidih in o uporabi zdravil rastlinskega izvora, ki vsebujejo estragol. Na pobudo Evropske komisije je HMPC pripravil tudi zbir izrazov in definicij ter vprašanja in odgovore v zvezi z zdravili, pridobljenimi iz konoplje. V članku predstavljamo pomembne vsebine teh smernic in dokumentov.

KLJUČNE BESEDE:

estragol, HMPC, konoplja, pirolizidinski alkaloidi, zdravila rastlinskega izvora

ABSTRACT

The Committee for Herbal Medicinal Products (HMPC) at the European Medicines Agency, in addition to EU monographs on herbal substances and herbal preparations, also prepares guidelines on the quality, safety and efficacy of herbal medicinal products, as well as expert opinions and other documents on various issues concerning herbal medicinal products. In recent years, guidelines on the quality and specifications of herbal medicinal products, and public statements on pyrrolizidine alkaloids and the use of herbal medicinal products containing estragole have been updated. At the initiative of the European Commission, HMPC has also prepared a compilation of terms and definitions, as well as questions and answers related to medicinal products derived from cannabis. Important contents of these guidelines and documents are presented in this article.

KEY WORDS:

cannabis, estragol, herbal medicinal products, HMPC, pyrrolizidine alkaloids

Glavni nalogi HMPC sta:

- vzpostavitev monografij EU za rastlinske snovi in pripravke rastlinskega izvora, ki vsebujejo predvsem klinične



podatke in farmakološke lastnosti določene rastlinske snovi oz. pripravka rastlinskega izvora, v smislu povzetkov glavnih značilnosti zdravila (izraz rastlinske snovi ustreza izrazu rastlinske droge v Evropski farmakopeji);

- priprava vpisa na EU seznam tradicionalnih rastlinskih snovi, pripravkov rastlinskega izvora in kombinacij iz njih (s terapevtskimi indikacijami, jakostjo in odmerjanjem, načinom uporabe in drugimi informacijami, potrebnimi za varno uporabo).

Monografije spremlja obširno poročilo o oceni vseh relevantnih nekliničnih in kliničnih podatkov o posameznih rastlinskih snoveh, rastlinskih pripravkih in kombinacijah iz njih ter seznam uporabljene literature (2). Poročilo predstavlja verodostojen, znanstveno kritičen pregled podatkov o varnosti in učinkovitosti zdravil rastlinskega izvora, ki velja za enega najbolj cenjenih v svetu (3). Doslej je HMPC sprejel okrog 170 monografij, ki jih stalno posodablja. Monografije in seznam so namenjeni harmonizaciji zdravil rastlinskega izvora v Evropski uniji in olajšanju dela tako predlagateljem kot tudi pristojnim organom za zdravila.

HMPC pripravlja tudi regulativne in znanstvene smernice o kakovosti, varnosti in učinkovitosti zdravil rastlinskega izvora ter strokovna mnenja in druge dokumente o različnih vprašanih, ki zadevajo zdravila rastlinskega izvora. V zadnjih letih so na HMPC naslovili tudi pobude za pripravo dokumentov o konoplji (2).

2 NOVOSTI NA PODROČJU ZNANSTVENIH SMERNIC IN DRUGIH DOKUMENTOV HMPC

HMPC je v zadnjih letih poleg sprejema nekaj novih monografij in redne revizije obstoječih monografij posodobil naslednje smernice in dokumente na področju kakovosti:

- smernice o kakovosti zdravil rastlinskega izvora/tradicionalnih zdravil rastlinskega izvora (4);
- smernice o specifikacijah: preskusni postopki in merila sprejemljivosti za rastlinske snovi, rastlinske pripravke in zdravila rastlinskega izvora/tradicionalna zdravila rastlinskega izvora (5);
- vprašanja in odgovore o kakovosti zdravil rastlinskega izvora (6);
- izjavo za javnost o uporabi zdravil rastlinskega izvora, ki vsebujejo strupene, nenasičene pirolizidinske alkaloidne, vključno s priporočili glede kontaminacije zdravil rastlinskega izvora s pirolizidinskimi alkaloidi (7);
- izjavo za javnost o uporabi zdravil rastlinskega izvora, ki vsebujejo estragol (8).

Na pobudo Evropske Komisije je HMPC pripravil tudi:

- zbir izrazov in definicij za zdravila, ki so pridobljena iz konoplje (9);
- vprašanja in odgovore v zvezi z zdravili, pridobljenimi iz konoplje, in uporabo monografij EU za zdravila rastlinskega izvora v zakonodaji EU o zdravilih (10).

2.1 SMERNICE O KAKOVOSTI, SPECIFIKACIJAH TER VPRAŠANJA IN ODGOVORI O KAKOVOSTI ZDRAVIL RASTLINSKEGA IZVORA

Smernice o kakovosti in specifikacijah ter vprašanja in odgovore o kakovosti zdravil rastlinskega izvora so posodobili istočasno. V teh dokumentih so upoštevani revidirana splošna monografija Evropske farmakopeje »Ekstrakti iz rastlinskih drog« in informativno poglavje »Monografije ekstraktov iz rastlinskih drog« kot tudi izkušnje, pridobljene v letih uporabe navedenih dokumentov. Poleg tega so besedila teh dokumentov izboljšana v smislu jasnosti in razumljivosti (4, 5, 6).

2.2 IZJAVA ZA JAVNOST O PIROLIZIDINSKIH ALKALOIDIH V ZDRAVILIH RASTLINSKEGA IZVORA

Pirolizidinski alkaloidi so snovi, ki jih rastline uporabljajo za obrambo proti žuželkam. Pojavljajo se v več kot 6000 rastlinah, največ v tistih iz družin Boraginaceae, Asteraceae (tribusa Senecioneae in Eupatorieae) in Fabaceae (rod *Crotalaria*). Doslej so opisali več kot 350 različnih pirolizidinskih alkaloidov in predvidevajo, da je več kot polovica hepatotoksičnih. Večinoma se kopičijo v semenih in cvetočih delih rastline, manj pa v listih, steblih in koreninah. Sestava in koncentracija pirolizidinskih alkaloidov v rastlinah je odvisna od dejavnikov, kot so vrsta, starost, del rastline, varieteta (genotip/kemotip), letni čas in mesto rasti (7).

Že dlje časa je znano, da so pirolizidinski alkaloidi z nenasičenim osnovnim heterocikličnim skeletom škodljivi za jetra (povzročajo venookluzivno bolezen jeter, ki posledično lahko vodi v jetrno odpoved), genotoksični in rakotvorni. Zato mora biti njihova vsebnost v zdravilih iz zdravilnih rastlin, ki jih naravno vsebujejo, npr. navadni gabez (*Symphytum officinale*), navadni lapuh (*Tussilago farfara*), navadni repuh (*Petasites hybridus*) in zdravilna boraga (*Borago officinalis*), strogo omejena in redno nadzorovana oz. je odsvetovana (11, 12). V letu 2014 so postavili mejo dovolje-

nega dnevnega vnosa pirolizidinskih alkaloidov v izdelkih iz teh rastlin 0,35 µg/dan (11).

V letu 2016 pa so poročali, da se toksični pirolizidinski alkaloidi pojavljajo tudi v izdelkih iz rastlin, ki teh alkaloidov ne biosintetizirajo. Tako je britanska agencija *Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency* (MHRA) februarja 2016 odpoklicala šest serij tablet z ekstraktom šentjanževke po tem, ko so v njih ugotovili vsebnost toksičnih pirolizidinskih alkaloidov (13). Raziskava je pokazala, da je do onesnaženosti s pirolizidinskimi alkaloidi prišlo med gojenjem oz. žetvijo šentjanževke preko plevela oz. drugih rastlin, kot so vrste grinta (*Senecio* sp.), ki vsebujejo pirolizidinske alkaloidne. Že zelo majhne količine rastlin, ki vsebujejo pirolizidinske alkaloidne, kot je ena rastlina grinta na hektar v posevku šentjanževke, zadoščajo za pomembno onesnaženje rastlinskega materiala (14).

Zato je HMPC v letu 2016 izdal sporočilo za javnost, v katerem je priporočil strategijo za upravljanje z navedenim tveganjem z ukrepi za zmanjševanje možnosti onesnaženja s pirolizidinskimi alkaloidi pri gojenju, žetvi oz. nabiranju zdravilnih rastlin in njihovem shranjevanju. Hkrati je imetnike dovoljenj za promet z zdravili rastlinskega izvora pozval k izvedbi analize tveganja ter uvedbi analiznih metod za preverjanje pirolizidinskih alkaloidov in vključitvi kontrole pirolizidinskih alkaloidov v specifikacije rastlinskih snovi, pripravkov oz. zdravil rastlinskega izvora. Zgornjo mejo dnevnega vnosa pirolizidinskih alkaloidov z zdravilom rastlinskega izvora je HMPC v prehodnem obdobju treh let, pozneje podaljšanim na pet let do 31. maja 2021, postavil pri 1 µg pirolizidinskih alkaloidov na dan (15). Pristojni organi za zdravila smo imetnike dovoljenj za promet z zdravili rastlinskega izvora dodatno pozvali k upoštevanju navedene izjave HMPC za javnost (16).

V letu 2021 so sprejeli revidirano izjavo za javnost, ki temelji na pregledu novih dostopnih podatkov in izboljšanih metodah vrednotenja, in postavili končno mejo dovoljenega vnosa pirolizidinskih alkaloidov z zdravilom 1 µg na dan. Pri otrocih in mladostnikih je treba največji dopustni vnos izračunati glede na telesno maso. Seveda pa je treba sprejeti tudi nadaljnje ukrepe za doseganje tako nizke vsebnosti pirolizidinskih alkaloidov, kot jo je praktično mogoče doseči (pristop ALARA, *as low as reasonably achievable*) (7).

Na podlagi pobude HMPC so v Evropsko farmakopejo uvedli novo splošno monografijo »2.8.26 Pirolizidinski alkaloidi kot kontaminanti« (*Contaminant pyrrolizidine alkaloids*), ki je začela veljati januarja 2022 (14). Imetniki dovoljenj za promet so za svoja zdravila rastlinskega izvora tako uvedli specifikacije in kontrole kakovosti glede pirolizidinskih alkaloidov, ki so jih prijavili z ustreznimi spremembami do-

voljenja za promet. Z navedenim ukrepanjem lahko štejemo, da je bilo tveganje zaradi pirolizidinskih alkaloidov zdravilnih rastlinskega izvora pomembno zmanjšano, je pa treba to problematiko še naprej budno spremljati (14).

2.3 IZJAVA ZA JAVNOST O UPORABI ZDRAVIL RASTLINSKEGA IZVORA, KI VSEBUJEJO ESTRAGOL

Estragol je sestavina, ki se pojavlja v velikem številu zdravilnih rastlin, med katerimi sta na farmacevtskem področju najpomembnejša navadni komarček (*Foeniculum vulgare*) in vrtni janež (*Pimpinella anisum*) (17).

Na podganah so ugotovili, da je estragol genotoksični kancerogen (17). Od leta 2005, ko so izdali prvo izjavo za javnost HMPC o estragolu (18), so bile v znanstveni literaturi objavljene številne pomembne publikacije o tej snovi. Novi toksikološki podatki so HMPC spodbudili k ponovni oceni razpoložljivih podatkov glede varne uporabe zdravil rastlinskega izvora, ki vsebujejo estragol, pri ljudeh in k pripravi posodobljene izjave za javnost (8). V njej je HMPC ocenil relevantnost eksperimentalno določene toksičnosti estragola in zanesljivost dokazov zanj.

Zaradi splošno sprejetih dokazov o genotoksični rakotvornosti estragola je HMPC sprejel stališče, da mora biti vnos estragola z zdravili rastlinskega izvora pri ljudeh tako nizek, kot ga je praktično mogoče doseči (pristop ALARA). Vendar pa ob upoštevanju vseh objavljenih podatkov dokončna ustreza ocena tveganja za zdravila rastlinskega izvora, ki vsebujejo estragol, trenutno ni mogoča. Glede na več negotovosti, kot je izpostavljenost estragola ljudi s hrano, točne meje ni mogoče določiti, dokler ne bodo na voljo dodatni podatki o rakotvornosti estragola. Potrebne so tudi raziskave, ki bodo razjasnile vpliv učinka rastlinskega matriksa na toksičnost estragola. Kljub temu je HMPC ocenil, da so potrebni zgodnji ukrepi za zmanjšanje izpostavljenosti ljudi estragolu z zdravili, in sicer s sprejemljivimi dnevnimi odmerki zdravil rastlinskega izvora in trajanjem njihove uporabe ter tudi z omejitvijo vnosa estragola s pomožnimi snovmi v zdravilih.

V skladu s smernico ICH M7 je HMPC izračunal orientacijsko mejno vrednost estragola, ki za odrasle znaša 0,05 mg/dan, za otroke pa 1,0 µg/kg telesne mase. Priporočil je, naj bo vnos estragola z zdravili rastlinskega izvora v splošni populaciji čim manjši, kar vključuje kratkotrajno uporabo (največ 14 dni) in odločitev o enkratnem oz. dnevnem odmerku za odrasle in mladostnike v skladu z oceno tveganja za posamezno zdravilo rastlinskega izvora



z upoštevanjem izračunane orientacijske mejne vrednosti. Poleg tega priporoča uporabo rastlinskih varietet z nizko vsebnostjo estragola ali da se vsebnost estragola ustrezno omeji v specifikaciji rastlinske snovi. Uporaba zdravil rastlinskega izvora, ki vsebuje estragol, pri nosečnicah in doječih materah ter otrocih do 11 let ni priporočljiva, če dnevni vnos estragola presega navedeni orientacijski mejni vrednosti.

Podatkov o absorpciji estragola skozi kožo ni. Da bi zagotovili čim nižjo izpostavljenost estragolu preko dermalne uporabe, naj se uporaba zdravil z estragolom omeji na največ dva tedna, uporaba pa mora biti omejena na nepoškodovano kožo. Potrebno je tudi izogibanje uporabi pomožnih snovi, ki vsebujejo estragol, ker velja za umetno dodani vir izpostavljenosti. Tudi pri pomožnih snoveh, ki vsebujejo estragol, npr. pri eteričnem olju vrtnega janeža, naj se vsebnost estragola zmanjša pod orientacijsko vrednost 0,05 mg/osebo na dan za odrasle in mladostnike ter 1,0 µg/kg telesne mase za otroke (8).

Skupina za usklajevanje, ki deluje v imenu organov, pristojnih za zdravila v državah članicah EU (CMDh), je v septembru 2023 opomnila imetnike dovoljenj za promet z zdravili, ki vsebujejo estragol kot sestavino učinkovine (pripravka rastlinskega izvora) ali pomožno snov, da preverijo, ali so njihova zdravila v skladu z orientacijsko vrednostjo, ki jo je objavil HMPC. V dveh letih od objave izjave za javnost HMPC, tj. do marca 2024, morajo imetniki dovoljenj za promet z zadevnimi zdravili sprejeti ustrezne ukrepe za zagotovitev skladnosti s to izjavo za javnost (19).

2.4 ZBIR IZRAZOV IN DEFINICIJ ZA ZDRAVILA, KI SO PRIDOBLENA IZ KONOPLJE

Zaradi velikega zanimanja javnosti za terapevtsko uporabo izdelkov, pridobljenih iz konoplje (*Cannabis sativa*), je HMPC na pobudo Evropske komisije pripravil zbir izrazov in definicij za zdravila, ki so pridobljena iz konoplje, da prispeva k harmonizaciji na tem področju. V dokumentu je HMPC povzel obstoječo znanstveno in zakonodajno terminologijo, ki je pomembna v kontekstu vrednotenja zdravil, pridobljenih iz konoplje, ob upoštevanju zakonodaje EU o zdravilih, smernic EU o farmacevtski kakovosti in standardov Evropske farmakopeje.

HMPC je opisal izraze, ki se nanašajo na rastlino konoplje, dele rastline, pripravke iz konoplje (v skladu z izrazi in definicijami Evropske farmakopeje), (izolirane) sestavine konoplje in zdravila, ki so pridobljena iz konoplje. Poleg tega je

HMPC komentiral nekatere izraze o izdelkih iz konoplje, ki se pogosto uporabljajo zunaj farmacevtskega področja, da bi se zmanjšala zmeda pri njihovem razumevanju, in sicer:

»CBD olje« oz. »kanabidiolno olje«

Izraz »CBD olje« oz. »kanabidiolno olje« ni točen izraz, saj se nanaša na več vrst pripravkov, kot so:

a) *Bolj ali manj prečiščen kanabidiol (CBD), raztopljen v rastlinskem olju (npr. v mandljevem olju ali olju iz konopljinih semen)*

Ta pripravek je izolirana učinkovina, raztopljena v rastlinskem maščobnem olju in ne ustreza definiciji pripravka rastlinskega izvora ali katere koli vrste ekstrakta, opisane v Evropski farmakopeji. Pravilen izraz bi bil »kanabidiol (raztopljen) v <določenem maščobnem olju>«.

b) *Ekstrakt (npr. etanolni ekstrakt) toplotno obdelanih* nadzemnih delov konoplje, ki je pomešan z rastlinskim oljem*

Ta pripravek ustreza definiciji pripravka rastlinskega izvora (standardiziranega ali kvantificiranega ekstrakta).

c) *Toplotno obdelani* nadzemni deli konoplje, ekstrahirani z oljem*

Ta pripravek ustreza definiciji pripravka rastlinskega izvora (standardiziranega ali kvantificiranega ekstrakta).

*Toplotna obdelava spremeni naravno prisotno kanabidiolno kislino in $\Delta 9$ -tetrahidrokanabinolno kislino v njuni aktivni obliki kanabidiol (CBD) oz. $\Delta 9$ -tetrahidrokanabinol (THC).

Ker izraza »CBD olje« in »kanabidiolno olje« ne ustrežata znanstveni definiciji in natančnemu opisu, sta lahko zavajajoča in se ju ne sme uporabljati.

»Konopljino olje«

Izraz »konopljino olje« ni točen izraz, saj se lahko nanaša na več vrst pripravkov, lahko pa tudi na končni izdelek. Ugotovili so, da se uporablja za:

a) *Maščobno olje, pridobljeno z ekstrakcijo s topilom (vključno s superkričnim ogljikovim dioksidom), stiskanjem ali drugim primernim postopkom iz semen konoplje*

Pravilen izraz je »olje iz semen konoplje«.

b) *Pripravek rastlinskega izvora, pridobljen z ekstrakcijo nadzemnih delov konoplje z rastlinskim oljem*

Ta pripravek ustreza definiciji pripravka rastlinskega izvora (standardiziranega ali kvantificiranega ekstrakta).

c) *Pripravek, ki je mešanica ekstrakta nadzemnih delov konoplje (npr. etanolni ekstrakt) in rastlinskega olja*

Ta pripravek bi lahko štel za končni izdelek, ki kot učinkovino vsebuje ekstrakt, ki ustreza definiciji pripravka rastlinskega izvora (standardiziranega ali kvantificiranega ekstrakta), raztopljenega v rastlinskem olju (9).

Kako pravilno poimenujemo zdravilne učinkovine v zdravilih rastlinskega izvora glede na obstoječe definicije Evropske farmakopeje, je opisano v smernici HMPC o deklaraciji rastlinskih snovi in pripravkov rastlinskega izvora v (tradicionalnih) zdravilih rastlinskega izvora (20).

2.5 VPRAŠANJA IN ODGOVORI V ZVEZI Z ZDRAVILI, PRIDOBLENIMI IZ KONOPLJE, IN UPORABO MONOGRAFIJ EU ZA ZDRAVILA RASTLINSKEGA IZVORA

Ta vprašanja in odgovori pojasnjujejo regulativne zahteve in postopke za pridobitev dovoljenja za promet z zdravilom, vključno z zdravilom iz konoplje, ter zahteve, ki bi morale biti izpolnjene, da bi HMPC lahko pripravil monografijo o konoplji (10). Objavljena so bila skupaj s pozivom za predložitev znanstvenih podatkov za cvet konoplje (*Cannabis flos*) (21). Poziv za predložitev znanstvenih podatkov se izvede pred nameravano izdelavo katere koli monografije (2).

Za zdravila iz konoplje velja enaka zakonodaja kot za druga zdravila, predpisane pa so posebnosti za zdravila rastlinskega izvora. HMPC pripravlja monografije za rastlinske snovi in pripravke rastlinskega izvora z dobro uveljavljeno medicinsko uporabo (WEU, *well-established use*) in tiste s tradicionalno medicinsko uporabo (TU, *traditional use*). Vzpostavitev monografije dobro uveljavljene medicinske uporabe za snovi ali pripravke, tudi tiste, pridobljene iz konoplje, je mogoča, če so izpolnjene zahteve člena 10a. Direktive 2001/83/ES. Ta člen določa, da je rezultate predkliničnih ali kliničnih preskušanj mogoče nadomestiti s podrobnim sklicevanjem na objavljeno znanstveno literaturo (javno dostopne informacije), če je mogoče dokazati, da so bile učinkovine zdravila v medicinski uporabi v EU vsaj deset let, s priznano učinkovitostjo in sprejemljivo stopnjo varnosti. Pri tem se upošteva dejavnike, kot so:

- obdobje medicinske uporabe rastlinske snovi ali pripravkov iz nje,
- v kakšnem obsegu so se rastlinske snovi ali pripravki iz njih uporabljali,
- stopnjo znanstvenega zanimanja za uporabo rastlinske snovi ali pripravkov iz nje (kot se odraža v objavljeni znanstveni literaturi) in
- skladnost znanstvenih ocen.

Pri ocenjevanju varnosti in učinkovitosti je izjemnega pomena, da je snov oz. pripravek rastlinskega izvora dobro definiran. Objavljene raziskave morajo vsebovati ustrezen

opis kakovosti posamezne raziskane rastlinske snovi ali pripravkov iz nje. Rastlinske snovi ali pripravki iz njih morajo biti opisani z ustreznimi informacijami o sestavi, tako da sta jasna točna jakost in odmerjanje izdelka, ki jih vsebuje (10). Tako morajo biti pri predloženih znanstvenih podatkih o konoplji poleg znanstvenega imena rastline po dvojnem poimenovanju navedeni tudi kultivar (varieteta, kemovar, kemotip) rastline, uporabljeni del rastline, in pri pripravkih, kot so ekstrakti, tudi proizvodni proces, ekstrakcijsko topilo, razmerje med rastlinsko drogo in izvornim ekstraktom (DER_{izvorni}) ter vrsta in fizikalno stanje ekstrakta (21). Nezadostni podatki o kakovosti proučevanih rastlinskih snovi, pripravkov rastlinskega izvora in sestavi izdelkov, opisanih v literaturi, ne omogočajo dokončne ocene njihovih varnosti in učinkovitosti ter vključitve v monografijo EU. Vse te vidike je treba oceniti, preden lahko HMPC sprejme sklep o vključitvi terapevtskih indikacij za določene rastlinske snovi ali pripravke iz njih v monografijo EU, kar velja tudi za konopljo. Pri odločanju, ali je mogoče pripraviti monografijo tradicionalne uporabe za snovi, pridobljene iz konoplje, ali pripravke iz njih, bo poleg dejstva, da je njihova uporaba nadzorovana v skladu z Enotno konvencijo Združenih narodov o mamilih iz leta 1961, posebna pozornost namenjena:

- časovnemu obdobju, ki utemeljuje tradicionalno uporabo (vsaj 30 let uporabe pred oceno podatkov, vključno z najmanj 15 leti znotraj EU);
- vrsti indikacij, za katere se konoplja uporablja (za tradicionalna zdravila rastlinskega izvora so primerne samo indikacije, za katere nista potrebna diagnoza in spremljanje zdravnika, torej tiste, ki so ustrezne za samozdravljenje) (10).

Rok za predložitev znanstvenih podatkov za cvet konoplje se je že iztekel (21) in na podlagi prejetih podatkov bo HMPC ocenil, ali je za to rastlinsko snov in pripravke iz nje mogoče pripraviti monografijo EU (10).

3 SKLEP

Spletna stran Evropske agencije za zdravila o zdravilih rastlinskega izvora in dokumenti HMPC nudijo dober vir regulativnih in znanstvenih podatkov o zdravilih rastlinskega izvora, ki se redno posodabljajo. Njihovo stalno spremljanje pripomore k ohranjanju visoke ravni strokovne usposobljenosti o zdravilih rastlinskega izvora, ki poleg koristi lahko prinašajo tudi tveganja.



4 LITERATURA

- Direktiva 2004/24/ES Evropskega parlamenta in Sveta z dne 31. marca 2004 o spremembi Direktive 2001/83/ES o Kodeksu Skupnosti o zdravilih za uporabo v humani medicini glede tradicionalnih zdravil rastlinskega izvora. Available from: eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32004L024
- European medicines agency. Herbal products. Available from: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000208.jsp&mid=WC0b01ac05800240cf.
- Qu L, Zou W, Wang Y, Wang M. European regulation model for herbal medicine: The assessment of the EU monograph and the safety and efficacy evaluation in marketing authorization or registration in Member States. *Phytomedicine*. 2018;42:219-225.
- Guideline on quality of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products (EMA/HMPC/CHMP/CVMP/201116/20051 Rev. 3). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/final-guideline-quality-herbal-medicinal-products/traditional-herbal-medicinal-products-revision-3_en.pdf
- Guideline on specifications: test procedures and acceptance criteria for herbal substances, herbal preparations and herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products (EMA/HMPC/CHMP/CVMP/162241/20051 Rev. 3). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-specifications-test-procedures-acceptance-criteria-herbal-substances-herbal-preparations/traditional-herbal-medicinal-products-revision-3_en.pdf
- Questions & answers on quality of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products (EMA/HMPC/41500/2010 Rev.6). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/questions-answers-quality-herbal-medicinal-products/traditional-herbal-medicinal-products-revision-6_en.pdf
- Public statement on the use of herbal medicinal products containing toxic, unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs) including recommendations regarding contamination of herbal medicinal products with PAs (EMA/HMPC/893108/2011 Rev. 1). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/public-statement-use-herbal-medicinal-products-containing-toxic-unsaturated-pyrrolizidine-alkaloids_en-0.pdf
- Public statement on the use of herbal medicinal products containing estragole (EMA/HMPC/137212/2005 Rev 1 Corr 1*). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/public-statement-use-herbal-medicinal-products-containing-estragole-revision-1_en.pdf
- Compilation of terms and definitions for Cannabis-derived medicinal products (EMA/HMPC/161753/2020). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/compilation-terms-definitions-cannabis-derived-medicinal-products_en.pdf
- Questions & Answers regarding Cannabis-derived medicinal products and the scope of EU herbal monographs for herbal medicinal products within the EU medicines legislation (EMA/HMPC/176770/2022). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/regulatory-procedural-guideline/questions-answers-regarding-cannabis-derived-medicinal-products-scope-eu-herbal-monographs-herbal_en.pdf
- Public statement on the use of herbal medicinal products containing toxic, unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs) (EMA/HMPC/893108/2011). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/public-statement-use-herbal-medicinal-products-containing-toxic-unsaturated-pyrrolizidine-alkaloids_en.pdf
- CPMP list of herbal drugs with serious risks, dated 1992 - Scientific guideline. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/cpmp-list-herbal-drugs-serious-risks_en.pdf
- Precautionary recall - six batches of St John's Wort Tablets. Available from: <https://www.gov.uk/government/news/precautionary-recall-six-batches-of-st-johns-wort-tablets>
- Wiesner J. Regulatory Perspectives of Pyrrolizidine Alkaloid Contamination in Herbal Medicinal Products. *Planta Med*. 2022;88(2):118-124. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34169489/>
- Public statement on contamination of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products with pyrrolizidine alkaloids (EMA/HMPC/328782/2016). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/public-statement-contamination-herbal-medicinal-products/traditional-herbal-medicinal-products-pyrrolizidine-alkaloids_en.pdf
- Pirolizidinski alkaloidi – poziv imetnikom dovoljenj za promet s (tradicionalnim) zdravilom rastlinskega izvora. Available from: <https://www.jazmp.si/2016/06/16/pirolizidinski-alkaloidi-poziv-imetnikom-dovoljenj-za-promet-s-tradicionalnim-zdravilom-rastlinskega-izvora/>
- Public statement on the use of herbal medicinal products containing estragole (EMA/HMPC/137212/2005 Rev 1). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/public-statement-use-herbal-medicinal-products-containing-estragole_en.pdf
- Public statement on the use of herbal medicinal products containing estragole (EMA/HMPC/137212/2005). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/public-statement-use-herbal-medicinal-products-containing-estragole_en.pdf
- Report from the CMDh meeting held on 12-13 September 2023. Available from: https://www.hma.eu/fileadmin/dateien/Human_Medicines/CMD_h_/CMDh_pressreleases/2023/CMDh_press_release_September_2023.pdf
- Guideline on declaration of herbal substances and herbal preparations in herbal medicinal products /traditional herbal medicinal products (EMA/HMPC/CHMP/CVMP/287539/2005 Rev.1). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-declaration-herbal-substances-herbal-preparations-herbal-medicinal-products/traditional-herbal-medicinal-products-spc_en.pdf
- Call for scientific data for use in HMPC assessment work on Cannabis sativa L., flos (Cannabis sativa flowering tops) (EMA/HMPC/697513/2022). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-call-data/call-scientific-data-use-hmpc-assessment-work-cannabis-sativa-l-flos-cannabis-sativa-flowering-tops_en.pdf

ETERIČNO OLJE PRAVE SIVKE IN LAVANDINA: PRIMERJAVA SESTAVE IN ANTIOKSIDA- TIVNEGA POTENCIALA

ESSENTIAL OIL OF COMMON LAVENDER AND LAVANDIN: A COMPARISON OF COMPOSITION AND ANTIOXIDANT POTENTIAL

AVTORICI / AUTHORS:

Ana Matičič¹

asist. Katja Schoss, mag. ind. farm.²

¹ Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

² Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko biologijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: katja.schoss@ffa.uni-lj.si

POVZETEK

Sivke so rod priljubljenih sredozemskih rastlin, med katerimi najbolj poznamo pravo sivko (*Lavandula angustifolia* Miller) in njen križanec lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric). Eterično olje prave sivke uporabljamo kot tradicionalno zdravilo rastlinskega izvora za lajšanje stresa in izčrpanosti ter za pomoč pri spanju. Na trgu pa se pogosto zamenjuje z eteričnim oljem lavandina, ki je po sestavi precej drugačno. V raziskavi smo proučili na trgu dostopna eterična olja prave sivke in lavandina, ki smo jim z uporabo plinske kromatografije, sklopljene z masno spektrometrijo, določili sestavo ter s testom DPPH ocenili njihovo antioksidativno aktivnost. Ugotovili smo, da za antioksidativno aktivnost niso ključne spojine, ki so v vzorcih prisotne v večjih koncentracijah, temveč α -pinen, β -pinen, δ -3-karen, heksilbutirat, 7-epi-seskvitujen in α -*trans*-bergamoten. Izmed testiranih vzorcev se je eterično olje prave sivke iz Bolgarije izkazalo kot najbolj antioksidativno aktivno, medtem ko je lavandin Grosso pokazal najnižjo aktivnost. Te ugotovitve prispevajo k boljšemu razumevanju uporabe eteričnih olj sivke v terapevtske in kozmetične namene ter spodbujajo nadaljnje raziskave eteričnih olj različnih porekel.

KLJUČNE BESEDE:

eterično olje, *Lavandula angustifolia*, *Lavandula x intermedia*, sivka

ABSTRACT

Lavender is a well-known Mediterranean plant, which includes common lavender (*Lavandula angustifolia*) and hybrid lavender or lavandin (*Lavandula x intermedia*). The essential oil of common lavender is used as a traditional herbal medicinal product for the relief of mental stress and exhaustion, and to aid sleep. On the market, it is often confused with lavandin oil, which differs significantly in its composition. In the present study, commercially available lavender and lavandin essential oils were analysed, their composition was determined using gas chromatography combined with mass spectrometry, and their antioxidant activity was evaluated using the DPPH assay. It was found that the key compounds for antioxidant activity are not the compounds present in higher concentrations in the



samples, but α -pinene, β -pinene, δ -3-carene, hexyl butyrate, 7-epi-sesquithuene and α -*trans*-bergamotene. Among the tested samples, the lavender from Bulgaria proved to be the most antioxidant active, while the lavandin Grosso showed the least activity. These results contribute to a better understanding of the use of these oils for therapeutic and cosmetic purposes and encourage further research on essential oils of different origins.

KEY WORDS:

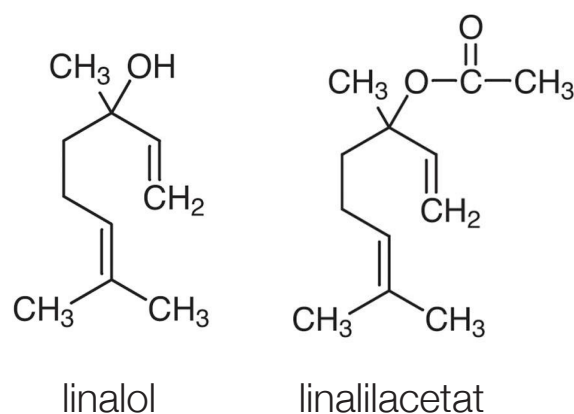
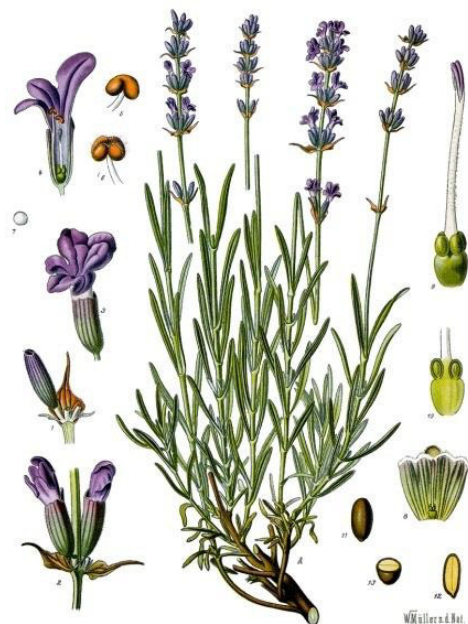
Lavandula angustifolia, *Lavandula x intermedia*, essential oil, lavender

1 UVOD

Uporaba eteričnega olja prave sivke (*Lavandula angustifolia* Mill. syn. *Lavandula officinalis* Chaix) sega v čase Stare Grčije in Starega Rima. Eterično olje je brezbarvno ali svetlo rumeno, v njem pa zaznamo cvetlično-zeliščne arome, poleg katerih sta lahko prisotna lesno-balzamičen

podton in aroma kafe. Navadno ga pridelujemo s parno destilacijo cvetov, njegova vsebnost v rastlinskem materialu pa variira od 1 do 3 %. Eterično olje prave sivke uporabljamo v terapevtske in kozmetične namene ter celo v kulinariki, poseben pomen pa ima tudi v aromaterapiji (1–3). Raziskave so pokazale ugoden učinek pri lajšanju migrene (4) in blage depresije (5). Poleg tega so mu dokazali lokalnoanalgetične (6), protimikrobne (7, 8), antioksidativne (9) in anksiolitične lastnosti (10), zaradi protivnetnega delovanja pa poročajo tudi o koristih uporabe pri negovanju kože po opeklinah in pikih žuželk (11). Odbor za zdravila rastlinskega izvora (HMPC) Evropske agencije za zdravila je zaključil, da eterično olje prave sivke ustreza razvrstitvi med tradicionalna zdravila rastlinskega izvora za lajšanje blagih simptomov stresa in izčrpanosti ter za pomoč pri spanju (12).

Sivka je splošno ime za vijoličasto cvetoče grmičaste rastline iz rodu *Lavandula*, ki zajema 48 vrst ter pripada družini ustnatic (Lamiaceae) (13). Lahko je divja ali gojena kot okrasna rastlina oz. zelišče (3). Grmički v višino zrastejo nad 1 m, pod zemljo pa razvijejo močan koreninski sistem. Stebla so razvejana ali nerazvejana in spodaj olesenela, na njih pa so navzkrižno nameščeni 2 do 6 cm dolgi in nekaj milimetrov široki suličasti, celorobi listi. Listi so na zgornji strani sivozeleni, spodnja stran pa je svetlejša in



Slika 1: Prava sivka – *Lavandula angustifolia* (levo; vir slike: Wikicommons) in strukturni formuli linalola ter linalilacetata (desno).

Figure 1: Common lavender – *Lavandula angustifolia* (left; photo: Wikicommons), and structural formulas of linalool and linalyl acetate (right).

poraščena z dlačicami. Cvetovi so bočno somerni, belih do modrovijoličastih odtenkov (1).

Poleg prave sivke (slika 1) je danes zelo priljubljen tudi lavandin ali hibridna sivka (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. syn. *Lavandula hybrida*), ki je križanec med ozkolistno in širokolistno sivko. Rastlini se razlikujeta po nekaj morfoloških značilnosti, in sicer so grmički lavandina višji (60–150 cm), stebela pa daljša in razvejana. Cvetovi v ohlapnem socvetju so številni, vijoličasti do beli, medtem ko ima prava sivka nerazvejana stebela in kompaktna socvetja z manjšimi, modrikasto vijoličastimi do belimi cvetovi (14).

Na vonj, sestavo in posledično biološko aktivnost eteričnega olja poleg rastlinske vrste vplivajo podnebne razmere, gojenje, način ter čas obiranja, transport, shranjevanje in destilacija. Najbolj cenjeno in najdražje eterično olje sivke je pridelano iz vrste *L. angustifolia*. Vsebnost eteričnega olja v njej je kar štirikrat manjša od vsebnosti v lavandinu. Zaradi velikih potreb po večjih količinah eteričnega olja prave sivke, ki večinoma vsebuje linalol (20–50 %), pride pogosto do zamenjave z eteričnim oljem lavandina, ki večinoma vsebuje linalilacetat (30–50 %), ali do ponarejanj s sintezniimi komponentami, kot sta npr. linalilacetat ali linalol (3).

V raziskavi smo s plinsko kromatografijo, sklopljeno z masno spektrometrijo (GC-MS), analizirali sestavo treh eteričnih olj lavandina in štirih eteričnih olj prave sivke z različnimi porekli ter s testom DPPH ovrednotili njihovo antioksidativno aktivnost. Z GC-MS smo kvalitativno in kvantitativno ovrednotili kemijske spojine, prisotne v eteričnih oljih, in proučevali, katere sestavine ter v kolikšnem deležu prispevajo k njihovem antioksidativnem delovanju.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 ETERIČNA OLJA

Pri raziskavi smo uporabili tržno dostopna olja, in sicer tri eterična olja lavandina, lavandin 'Abrial' (oznaka L Ab) (Baccara Rose Dagmar Köhler, Nemčija), lavandin 'Grosso' BIO (oznaka L Gr) (Baccara Rose Dagmar Köhler, Nemčija), lavandin »istrska sivka« (oznaka L Is) (Histria botanica, Slovenija), in štiri eterična olja prave sivke, *Lavandula* »Barreme extra« (oznaka S Ba) (Baccara Rose Dagmar Köhler, Nemčija), *Lavandula* »Mont Blanc« (oznaka S MB) (Dragonspice Naturwaren, Nemčija), *Lavandula* »Francija« (oznaka S Fr) (Baccara Rose Dagmar Köhler, Nemčija) in *Lavandula* »Bol-

garija« (oznaka S Bg) (Baccara Rose Dagmar Köhler, Nemčija).

2.2 ANTIOKSIDATIVNI TEST

Test DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) je eden izmed načinov vrednotenja antioksidativne aktivnosti komponent v vzorcu *in vitro*. Za merjenje antioksidativnega potenciala eteričnih olj smo 7 mg DPPH (Sigma-Aldrich, ZDA) raztopili v 200 mL 96-odstotnega etanola (Carlo Erba Reagents, Francija). K 5 mL raztopine DPPH smo dodali 0, 25, 50, 75, 100, 125 ali 150 µL posameznega eteričnega olja, da smo dokazali linearnost testa v območju merjenih koncentracij ($R^2 = 0,99$). Raztopinam smo po 30 minutah stresanja na stresalniku izmerili absorbanco s spektrofotometrom UV-VIS (Macherey-Nagel, Nemčija) pri 517 nm. Vsaka meritev je bila izvedena v treh ponovitvah. Za primerjavo antioksidativne aktivnosti eteričnih olj smo izračunali delež inhibicije odstranjevanja radikala DPPH po enačbi:

$$\text{delež inhibicije (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100,$$

kjer je A_0 absorbanca kontrolne raztopine DPPH in A_1 absorbanca vzorca. Razlike v deležu inhibicije med vzorci smo zaradi neizpolnjevanja enakosti Levenove variance ($p > 0,5$) analizirali z neparametričnim Kruskal-Wallisovim testom ($p < 0,05$). Za *post hoc* analizo smo uporabili Dunov test ($p < 0,05$) ter Bonferroni-Holmejevo korekcijo. Izmerili smo tudi antioksidativno aktivnost standardov evkaliptola (1,8-cineol), kafe, linalola in linalilacetata, ki sobili v eteričnih oljih zastopani v koncentracijah, višjih od 30 %. Za določitev statistično značilne korelacije med antioksidativno aktivnostjo in sestavo eteričnih olj smo uporabili Pearsonovo korelacijo ($p \leq 0,05$). Statistično obdelavo podatkov smo izvedli z računalniškim programom JASP 0.17.1 (Univerza v Amsterdamu, Nizozemska).

2.3 ANALIZA Hlapnih spojin

Sestavo eteričnih olj smo kvantitativno ovrednotili s plinskim kromatografom (GC), sklopljenim z masnim detektorjem GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu Corporation, Japonska). Sistem GC je bil opremljen s kapilarno kolono Rxi-5SilMS (dolžina 30 m, notranji polmer 0,25 mm, debelina filma 0,25 µm, Restek, ZDA). Nosilni plin v koloni je bil helij, s konstantnim pretokom 1 mL/min. Energija ionizacije masnega spektrometra je znašala 70 eV, temperatura ionskega vira 200 °C in napetost detektorja 1 kV. V kolono smo injicirali 1 µL vzorca, razmerje delitve (*split*) pa je bilo 1 : 100. Temperatura injektorja je bila nastavljena na 250 °C, tem-



peratura vmesnika pa je znašala 300 °C. Pri vzorcih heksana smo uporabili 3,5-minutno zakasnitev snemanja. Masni spekter smo posneli v območju relativne molekulske mase (m/z) 40–400 s frekvenco skeniranja 5 Hz. Temperaturni program pečice: 40–220 °C (3 °C/min), 220 °C (15 min). Analiza posameznega vzorca je skupno potekala 75 minut. Obdelavo podatkov analiz GC-MS smo izvedli z uporabo podatkovnih knjižnic NIST22 in FFNSC3 (Shimadzu Corporation, Japonska). Vzorce eteričnih olj smo pred analizo razredčili v heksanu (SupraSolv, Merck, Nemčija) do koncentracije 1 %.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 SESTAVA ETERIČNIH OLJ

Analiza GC-MS je pokazala veliko raznolikost sestave eteričnih olj, kar ni nenavadno za rastlinske pripravke (15). Vzorec lavandina L Is je imel najbolj raznoliko sestavo (26 spojin), najmanj spojin (15) pa je vseboval vzorec prave sivke S Fr. V vzorcih smo odkrili osem spojin, ki so bile vsaj v enem izmed eteričnih olj zastopane v deležu, večjem od 5 % (preglednica 1). To so kafra (46,7–0,4 %), linalol (39,8–3,0 %), linalilacetat (38,9–11,5 %), evkaliptol (31,4–0 %), (*Z*)-(β)-ocimen (10,2–0 %), terpinen-4-ol (9,53–0 %), (*E*)-kariofilen (7,58–0,38 %) in (*E*)-(β)-ocimen (6,73–0 %). Glede na raziskavo Raina in sod. (16) kakovost eteričnega olja prave sivke opredeljujeta visoka vsebnost linalola in linalil acetata, kar po standardu ISO 3515:2002 (17) pomeni od 25 do 38 % linalola in od 25 do 45 % linalilacetata. Meritve GC-MS j so pokazale značilno prevladovanje linalola v vzorcih S Fr (39,8 %) in S Ba (33,5 %), linalilacetat pa se je nahajal v zadostni količini v treh vzorcih, in sicer S MB (32,2 %), S Bg (37,2 %) ter S Fr (38,7 %), v vzorcu S Ba (12,1 %) pa ne. Visoko koncentracijo linalola smo izmerili tudi v vzorcih L Gr (26,58 %) in S Is (33,14 %), vsebnost linalilacetata pa je bila visoka še v vzorcu L Gr (30,96 %).

Glavne komponente eteričnega olja lavandina, ki je z vidika sestave slabše kakovosti v primerjavi z eteričnim oljem prave sivke, so glede na raziskavo Dětár in sod. (18) 1,8-cineol, kafra in izoborneol, od katerih smo v naših vzorcih zasledili kafro, ki je po deležu izstopala predvsem v vzorcu L Ab (46,71 %). Eterično olje prave sivke mora za doseganje standarda ISO, ki definira šest različnih podvrst glede

na izvor, vsebovati manj kot 0,5 % kafre (francoska sivka) oz. 1,5 % (drug izvor), kar za naše vzorce S MB, S Ba in S Fr ne drži (17).

Naši rezultati se delno skladajo tudi z rezultati ostalih treh raziskav, ki so prav tako proučevale sestavo različnih eteričnih olj sivke in lavandina. V raziskavi Kivrak in sod. (17) so eterična olja sivke in lavandina v največjem deležu sestavljali linalilacetat (5–47 %), linalol (28–37 %), β -farnezen (1–7 %), β -kariofilen (0,6–6 %) in lavandulolacetat (0,8–5 %). V raziskavi Pokajewicz in sod. (19), kjer so primerjali sestavo sedmih eteričnih olj prave sivke in osmih eteričnih olj lavandina, sta prevladovala linalol (26–57 %) in linalilacetat (9–24 %). Prvi je variiral v višjem razponu, drugi pa v manjšem kot pri naših rezultatih. Če se osredotočimo na vzorce eteričnih olj lavandina, sta bili prevladujoči komponenti linalol (26–51 %) in linalilacetat (11–22 %), pri čemer glede na naše rezultate izstopa predvsem linalol, ki je bil v naši raziskavi zastopan v izrazito manjšem deležu. Komponente, ki so bile v eteričnih oljih lavandina iz raziskave (19) prisotne v večjih deležih, so še kafra (10–13 %), borneol (5–9 %) in evkaliptol (0,5–7 %). To so spojine, ki razlikujejo eterično olje lavandina od eteričnega olja prave sivke. V naših vzorcih se je kafra pojavila v večjem deležu in z večjo variabilnostjo (15–47 %), borneol je bil prisoten v precej manjšem deležu (1–3 %), evkaliptol pa se je pojavil v precej večjem deležu (10–31 %).

Standard ISO ima posebne zahteve tudi za sorti lavandina 'Grosso' (ISO 8902: 2009) in 'Abrial' (ISO 3054: 2017). Vzorec L Gr je vseboval linalilacetat in linalol znotraj predpisanih vrednosti standarda ISO (kriterij za linalol 24–37 % in za linalilacetat 25–38 %), vzorec L Ab pa je imel vsebnost obeh spojin pod mejo (kriterij ISO za linalol 28–38 %, za linalilacetat 19–29 %).

Rezultati GC-MS kažejo, da je zaradi variacij v sestavi pri uporabi eteričnih olj sivke od proizvajalcev smiselno zahtevati tudi analizni certifikat s sestavo eteričnega olja, saj le na podlagi informacije o vrsti eteričnega olja ne moremo predvideti podrobne sestave oz. jo lahko zgolj grobo ocenimo.

3.2 ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST ETERIČNIH OLJ

Terpeni in terpenoidi, ki večinsko sestavljajo eterična olja, so spojine, ki zaradi dvojnih vezi ali fenolnih skupin izkazujejo antioksidativno aktivnost. Delujejo kot reducenti oz. kot lovci radikalov (20). Radikali so atomi, ioni ali nevtralne spojine, ki imajo v svoji zunanji orbitali vsaj en nesparjen elektron, zaradi česar so zelo reaktivni. Prisotni so vse

Preglednica 1: Sestava hlapnih spojin v eteričnih oljih prave sivke in lavandina glede na njihovo relativno intenzivnost vrhov (RPI). Spojine so bile identificirane z GC-MS na podlagi njihovih masnih spektrov in retencijskih indeksov (RI; RI (Db): zbirka podatkov RI, RI (Ms): izmerjeni RI). Neidentificirane spojine so predstavljene glede na njihove štiri najintenzivnejše masne ionske vrhove. Oznake eteričnih olj: S MB – prava sivka »Mont Blanc«, S Bg – prava sivka »Bolgarija«, S Ba – prava sivka »Barreme extra«, S Fr – prava sivka »Francija«, L Gr – lavandin 'Grosso', L Is – lavandin »istrska sivka«, L Ab – lavandin 'Abrial'.

Table 1: Composition of volatile compounds in the essential oils of lavender and lavandin according to their relative peak intensity (RPI). The compounds were identified by GC-MS based on their mass spectra and retention indices (RI; Db, database RI; Ms, measured RI). Unidentified compounds are presented as numbers according to their four most intensive mass ion peaks. Abbreviations for essential oils: S MB – common lavender "Mont Blanc", S Bg – common lavender "Bulgaria", S Ba – common lavender "Barreme extra", S Fr – common lavender "France", L Gr – lavandin 'Grosso', L Is – lavandin "Istria lavender", L Ab – lavandin 'Abrial'.

Spojina	RI (Ms)	RI (Db)	S MB	S Bg	S Ba	S Fr	L Gr	L Is	L Ab
α -tujen	922	927	-	-	-	-	0,28	0,3	-
α -pinen	929	933	0,94	0,58	0,48	-	1,09	1,57	-
kamfen	945	953	0,68	0,36	0,33	0,49	0,72	0,9	1,05
sabinen	968	972	0,26	-	-	-	-	0,3	-
β -pinen	973	978	0,66	-	0,31	-	0,72	0,82	-
oktan-3-on	982	986	-	1,59	-	2,66	-	0,42	-
mircen	986	991	0,93	1,45	0,94	0,64	0,54	0,68	-
δ -3-karen	1006	1009	-	-	-	-	-	0,32	-
<i>p</i> -cimen	1021	1025	0,36	-	0,54	-	0,54	0,39	0,65
limonen	1026	1030	1,94	0,78	2,24	0,39	1,46	1,99	-
evkaliptol	1028	1032	12,91	0,91	12,67	-	9,95	10,78	31,34
(Z)-(β)-ocimen	1033	1035	1,82	10,16	3,34	1,15	-	1,55	1,33
(E)-(β)-ocimen	1044	1046	1,16	6,73	2,21	0,6	0,53	1,56	-
γ -terpinen	1055	1058	-	0,44	0,38	-	-	0,26	-
<i>cis</i> -linalol oksid	1067	1069	-	-	-	-	-	-	1,5
terpinolen	1082	1086	0,35	-	0,6	-	-	0,58	-
<i>trans</i> -linalol oksid	1083	1086	-	-	-	-	-	-	1,25
linalol	1098	1101	22,87	16,51	33,47	39,76	26,58	33,14	3,03
1-okten-3-il-acetat	1105	1109	-	0,37	-	-	-	-	-
alo-ocim-(4E,6Z)-en	1126	1128	-	0,34	-	-	-	-	-
kafra	1143	1149	13,24	0,4	7,13	1,95	14,73	17,61	46,71
81 (100), 79 (73), 43 (67), 95 (67)	-	-	-	-	-	-	-	-	0,79
borneol	1169	1173	1,38	-	5,04	1,2	1,39	2,78	1,06
terpinen-4-ol	1178	1184	2,39	5,93	9,53	-	3,52	5,41	-
heksilbutirat	1189	1195	-	-	-	-	-	0,54	-
α -terpineol	1193	1195	-	0,89	1,08	0,87	-	0,49	-
izobornilformat	1225	1240	-	-	-	-	-	-	0,58

linalilacetat	1247	1244	32,16	37,15	12,06	38,68	30,96	11,5	6,61
lavandulilacetat	1281	1284	0,3	3,07	0,4	-	0,98	-	1,1
linalool izobutirat	1355	1366	-	0,56	-	0,57	-	-	-
7-epi-seskvitujen	1384	1387	-	-	-	-	0,25	-	-
(E)-kariofilen	1416	1424	3,7	7,58	6,32	7,7	2,89	3,17	0,38
α -trans-bergamoten	1430	1432	-	-	-	-	0,26	0,25	-
(E)-(β)-farnezen	1450	1452	1,12	2,58	0,61	2,71	1,7	1,55	-
germacren D	1478	1480	0,57	1,26	-	-	0,36	1,13	0,84
β -bisabolen	1505	1508	-	0,35	-	-	-	-	-
γ -kadinen	1510	1512	0,26	-	0,31	-	0,54	-	-
kariofilen oksid	1579	1587	-	-	-	0,61	-	-	1,79

okrog nas ter v našem telesu, kjer je njihova vloga bodisi koristna in nenadomestljiva, lahko pa so, predvsem v večjih količinah na nepravem mestu, škodljivi, zato se pred njimi zaščitimo z antioksidanti (21). Vsak antioksidant ima svoje značilnosti in z različno hitrostjo reagira z različnimi reaktivnimi zvrstmi, ter zaščiti različne tarče (22).

Po izvoru antioksidante delimo na sintezne in naravne. Glede na mehanizem delovanja pa jih delimo na reducente oz. prave antioksidante in kelatorje oz. posredne oksidante. Prvi v svoji strukturi nudijo prost vodikov atom ali elektron ter v reakciji z radikali le-te pretvorijo v manj reaktivne radikale ali nereaktivne produkte. Drugi z vezavo kovinskih ionov bakra in železa preprečujejo katalizo radikalskih reakcij (21). Rastlinski antioksidanti, ki so za človeka eksogenega izvora, sodijo med prave antioksidante ter so naravnega izvora (21, 22).

Povprečni deleži inhibicije radikala DPPH (preglednica 2), ki izražajo antioksidativno aktivnost testiranih eteričnih olj, so bili med 7,7 % in 31,0 %. Najvišjo antioksidativno aktivnost je imelo eterično olje prave sivke S Bg, najnižjo pa

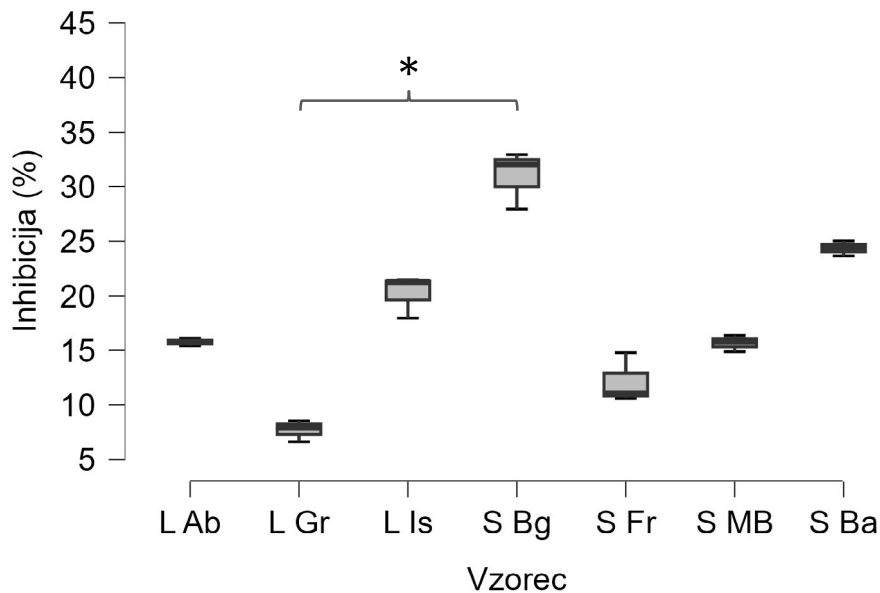
eterično olje lavandina L Gr. Zahteva po enakosti varianc med vzorci ni bila izpolnjena, zato smo izvedli neparametrični Kruskal-Wallisov test median, ki je pokazal značilno razliko med sedmimi pari primerjav vzorcev (Dunnova *post hoc* analiza). Holm-Bonferronijeva korekcija je potrdila statistično značilno razliko le med vzorcema L Gr in S Bg ($p = 0,008$; graf 1).

Korelacija med deležem inhibicije in vsebnostjo spojin v vzorcih je pokazala statistično značilnost, tj. višjo antioksidativno aktivnost pri višji vsebnosti α -pinena (0,795; $p < 0,001$), β -pinena (0,762; $p < 0,001$), δ -3-karena (0,676; $p < 0,001$), heksilbutirata (0,676; $p < 0,001$), 7-epi-seskvitujena (0,614; $p = 0,003$) in α -trans-bergamotena (0,998; $p < 0,001$), ki so bili v vzorcih prisotni v koncentracijah, nižjih od 2 %. Korelacije nismo potrdili za antioksidativno delovanje in spojine v koncentracijah, višjih od 30 %. To so evkaliptol, kafra, linalol in linalilacetat, ki smo jim izmerili antioksidativne aktivnosti pri koncentracijah, v katerih so se pojavili v vzorcih. Njihov delež inhibicije je znašal med 1 % in 3 % (podatki niso prikazani). V prihodnjih raziskavah

Preglednica 2: Povprečni deleži inhibicije antioksidativne aktivnosti vzorcev s podano standardno deviacijo treh ponovitev meritve posameznega vzorca. Oznake eteričnih olj: S MB – prava sivka »Mont Blanc«, S Bg – prava sivka »Bolgarija«, S Ba – prava sivka »Barreme extra«, S Fr – prava sivka »Francija«, L Gr – lavandin 'Grosso', L Is – lavandin »istrska sivka«, L Ab – lavandin 'Abrial'.

Table 2: The mean inhibition of antioxidant activity of the samples with standard deviation. Abbreviations for essential oils: S MB – common lavender "Mont Blanc", S Bg – common lavender "Bulgaria", S Ba – common lavender "Barreme extra", S Fr – common lavender "France", L Gr – lavandin "Grosso", L Is – lavandin "Istra lavender", L Ab – lavandin "Abrial".

	inhibicija antioksidativne aktivnosti (%)						
	L Ab	L Gr	L Is	S Bg	S Fr	S MB	S Ba
Povprečje	15,78	7,70	20,21	30,97	12,14	15,68	24,36
Standardna deviacija	0,34	0,98	1,96	2,66	2,29	0,76	0,69



Graf 1: Delež inhibicije antioksidativne aktivnosti vzorcev s prikazano statistično značilno razliko (**, $p < 0,008$) med vzorci po Holm-Bonferronijevi korekciji. Posamezen boxplot predstavlja razporeditev podatkov meritev posameznega vzorca pri meritvah inhibicije DPPH pri 100 μL eteričnega olja ($n = 3$). Oznake eteričnih olj: S MB – prava sivka »Mont Blanc«, S Bg – prava sivka »Bolgarij«a, S Ba – prava sivka »Barreme extra«, S Fr – prava sivka »Francija«, L Gr – lavandin 'Grosso', L Is – lavandin »istrska sivka«, L Ab – lavandin 'Abrial'.

Graph 1: Inhibition of antioxidant activity of samples with statistically significant difference (**, $p < 0,008$) between samples shown with Holm-Bonferroni correction. Individual boxplot presents the distribution of the data in the inhibition measurements of a single sample with 100 μL of essential oil ($n = 3$). Abbreviations for essential oils: S MB – common lavender "Mont Blanc", S Bg – common lavender "Bulgaria", S Ba – common lavender "Barreme extra", S Fr – common lavender "France", L Gr – lavandin 'Grosso', L Is – lavandin "Istra lavender", L Ab – lavandin 'Abrial'.

bi bilo smiselno podrobneje raziskati antioksidativno aktivnost spojin, ki so glede na korelacijo vsebnosti z antioksidativno aktivnostjo izkazale statistično značilnost, četudi so prisotne v nižjih koncentracijah. Zanimivo, a še bolj kompleksno pa bi bilo proučiti tudi sinergistično delovanje kombinacij različnih spojin.

4 SKLEP

Rezultati raziskave so pokazali pomembne razlike v sestavi in antioksidativni aktivnosti med vzorci eteričnih olj prave sivke in lavandina z različnih geografskih področij, kar je za pripravke rastlinskega izvora pogosto. Glede na to, da je korelacijska analiza pokazala povezavo med specifičnimi spojinami in antioksidativno aktivnostjo, bi bile smiselne nadaljnje analize posameznih spojin in njihovih kombinacij. Prav tako zaključujemo, da je analiza sestave eteričnih olj

pred njihovo uporabo ključna za zagotavljanje kakovosti eteričnih olj pred kakršno koli nadaljnjo uporabo za farmacevtske, kozmetične ali prehranske namene.

5 LITERATURA

1. Kočevar Glavač N, Janeš D, Lumpert M, Stojilkovski K, Kokalj M, Tavčar Benković E, et al. Sodobna kozmetika: Sestavine naravnega izvora. Kočevar Glavač N, Janeš D, editors. Širimo dobro besedo d.o.o.; 2015. 943 p.
2. Cavanagh HMA, Wilkinson JM. Biological activities of lavender essential oil. *Phytother Res*; 2002. 16(4): 301–8.
3. Bialton M, Krzysko-Lupicka T, Nowakowska-Bogdan E, Wiczorek PP. Chemical composition of two different lavender essential oils and their effect on facial skin microbiota. *Molecules*. 2019 Sep 8;24(18).
4. Sasannejad P, Saeedi M, Shoeibi A, Gorji A, Abbasi M, Foroughipour M. Lavender essential oil in the treatment of migraine headache: A placebo-controlled clinical trial. *Eur Neurol*. 2012 May;67(5):288–91.

5. Jafari-Koulaee A, Elyasi F, Taraghi Z, Ilali ES, Moosazadeh M. A Systematic Review of the Effects of Aromatherapy with Lavender Essential Oil on Depression. *Cent Asian J Glob Heal.* 2020 Jul 24;9(1) Mar 31;9(1):e44.
6. Kajjari S, Joshi RS, Hugar SM, Gokhale N, Meharwade P, Uppin C. The Effects of Lavender Essential Oil and its Clinical Implications in Dentistry: A Review. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry.* Jaypee Brothers Medical Publishing (P) Ltd.; 2022; 15(3): p. 385–8.
7. Sienkiewicz M, Denys P, Kowalczyk E. Antibacterial and immunostimulatory effect of essential oils. Vol. 17, *International Review of Allergology and Clinical Immunology.* 2011. p. 40–4.
8. Kreft S, Kočevar Glavač N, Stojilkovski K, Mlinarič A, Injac R, Novak A, et al. Sodobna Fitoterapija: z dokazi podprta uporaba zdravilnih rastlin. Kreft S, Kočevar Glavač N, editors. *Slovensko farmacevtsko društvo;* 2013. 308 p.
9. Marín I, Sayas-Barberá E, Viuda-Martos M, Navarro C, Sendra E. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from organic fennel, parsley, and lavender from Spain. *Foods.* 2016;5(1):1–18.
10. Kasper S, Gastpar M, Müller WE, Volz HP, Möller HJ, Schläfke S, et al. Lavender oil preparation Sillexan is effective in generalized anxiety disorder - A randomized, double-blind comparison to placebo and paroxetine. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2014;17(6):859–69.
11. Koulivand PH, Khaleghi Ghadiri M, Gorji A. Lavender and the nervous system. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2013; 2013:681304.
12. *Lavandulae aetheroleum* | European Medicines Agency [Internet]. [cited 2023 Nov 2]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/lavandulae-aetheroleum>
13. *Lavandula* | Plants of the World Online | Kew Science [Internet]. [cited 2023 Oct 27]. Available from: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:20960-1/general-information#source-FSOM>
14. Pokajewicz K, Czarniecka-Wiera M, Krajewska A, Maciejczyk E, Wieczorek PP. *Lavandula × intermedia*—A Bastard Lavender or a Plant of Many Values? Part I. Biology and Chemical Composition of Lavandin. Vol. 28, *Molecules;* 2023. p. 2943.
15. Kočevar Glavač N. Pridobivanje in vrednotenje rastlinskih izvlečkov. *Farm Vestn.* 2018;69(4):259–63.
16. Raina AP, Negi KS. Comparative essential oil composition of *Lavandula* species from India. *J Herbs, Spices Med Plants.* 2012;18(3):268–73.
17. Kvrak Š. Essential oil composition and antioxidant activities of eight cultivars of Lavender and Lavandin from western Anatolia. *Ind Crops Prod.* 2018;117:88–96.
18. Détár E, Németh ÉZ, Gosztola B, Demján I, Pluhár Z. Effects of variety and growth year on the essential oil properties of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) and lavandin (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.). *Biochem Syst Ecol.* 2020;90.
19. Pokajewicz K, Białoń M, Svydenko L, Hudz N, Balwierz R, Marciniak D, et al. Comparative Evaluation of the Essential Oil of the New Ukrainian *Lavandula angustifolia* and *Lavandula × intermedia* Cultivars Grown on the Same Plots. *Molecules.* 2022;27(7).
20. Marolt A, Mravljak J. Antioksidanti naravnega izvora v kozmetiki = Antioxidants of natural origin in cosmetics. *Farm Vestn.* 2023;74(1):20–7.
21. Schoss K, Mravljak J. Antioksidativni potencial rastlinskih izvlečkov, pridobljenih s subkritično vodo = Antioxidative potential of plant extracts obtained with subcritical water. *Farm Vestn.* 2023;74(1):28–38.
22. Murphy MP, Bayir H, Belousov V, Chang CJ, Davies KJA, Davies MJ, et al. Guidelines for measuring reactive oxygen species and oxidative damage in cells and in vivo. *Nat Metab.* 2022 Jun 27;4(6):651–62.

EKSTRAKCIJE KONOPLJE: Z OPTIMALNO METODO DO KAKOVOSTNIH EKSTRAKTOV

CANNABIS EXTRACTIONS: OPTIMAL METHODS FOR OBTAINING HIGH-QUALITY EXTRACTS

AVTORICA / AUTHOR:

doc. dr. Eva Tavčar, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko biologijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: eva.tavcar@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je rastlina z močnimi farmakološkimi učinki. Vsebuje kanabinoide, ki v človeškem or-

POVZETEK

Članek obravnava različne metode ekstrakcije konoplje in njihovo vlogo pri izkoriščanju terapevtskega potenciala kanabinoidov, predvsem kanabidiola (CBD) in (-)-trans- Δ^9 -tetrahidrokanabinola (Δ^9 -THC) za uporabo v medicini. Konoplja v zadnjih desetletjih vzbuja vedno več znanstvenega zanimanja, saj zaradi svojih zdravilnih učinkovin postaja vedno bolj pomembna za zdravljenje simptomov številnih bolezni, kar se odraža tudi v monografijah za cvet konoplje in kanabidiol, ki se bosta v letu 2024 uvrstili v Evropsko farmakopejo. Za optimizacijo proizvodnje izdelkov iz konoplje je bistveno razumevanje postopkov ekstrakcije, njihovega donosa učinkovin ter vsebnosti in terapevtske učinkovitosti ekstraktov. Ta osnovni pregled področja zato obravnava rastlinsko drogo in njeno pripravo za ekstrakcijo, različne tehnike, kot so ekstrakcijske metode z organskimi topili, olji, plini, vodo ter vročim zrakom ter pristope, ki so posebnost pri predelavi konoplje, kot je npr. dekarboksilacija. Dotaknemo se tudi varnostnih vidikov tako postopkov kot končnih izdelkov.

KLJUČNE BESEDE:

CBD, ekstrakcija, kanabinoidi, konoplja, Δ^9 -THC

ABSTRACT

The review paper discusses different methods of cannabis extraction and their role in harnessing the therapeutic potential of cannabinoids, especially cannabidiol (CBD) and (-)-trans- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) for use in medicine. Cannabis has attracted increasing scientific interest in recent decades, as its active ingredients make it increasingly important for treating the symptoms of many diseases. This is also reflected in the monographs on cannabis flower and cannabidiol, which will be included in the European Pharmacopoeia in 2024. To optimize the production of cannabis products, it is essential to understand the extraction processes, the yield of active ingredients, and the content and therapeutic effectiveness of the extracts. This basic overview covers the herbal drug and its preparation for extraction, and various techniques such as extraction methods with organic solvents, oils, gases, water and hot air, along with the approaches specific to the processing of cannabis, such as decar-



boxylation. We also touch on the safety aspects of both the processes and final products.

KEY WORDS:

cannabis, cannabinoids, CBD, extraction, Δ 9-THC

ganizmu aktivirajo endokanabinoidne receptorje. Prisotni so po vseh tkivih, največ pa sodelujejo pri komunikaciji med sinapsami v živčevju in imunskem sistemu. Kanabinoidi zato vplivajo na številne pomembne funkcije, kot so hranjenje, spanje, uravnavanje temperature in bolečine, vnetni in imunski odzivi, učenje, pomnjenje ter čustva (1). Kanabinoidi so zdravilne učinkovine in slovenski zdravniki nam lahko napišejo recept za magistralno zdravilo z (-)-trans- Δ ⁹-tetrahidrokanabinolom (Δ 9-THC), kanabidiolom (CBD) ali pa s cvetom konoplje. Monografiji iz Formulariuma Slovenicuma Javne agencije RS za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP) »Cvet konoplje« in »Ekstrakt konoplje« predstavljata standard kakovosti, ki mu morata ustrezati cvet konoplje in standardiziran ekstrakt cveta konoplje, kadar se uporabljata za pripravo magistralnih zdravil v RS (2, 3). V letu 2024 bo objavljena nova monografija z naslovom »Cvet konoplje« tudi v novi izdaji Evropske farmakopeje 11.5 (4).

Najbolj raziskan kanabinoid je Δ 9-THC, ki je s svojim agonizmom na receptorje CB1 zaslužen za znan opojni učinek konoplje. Najdemo ga predvsem v varietetah, ki jih po politično-regulativni kategorizaciji na vrste imenujemo indijska konoplja (*Cannabis sativa* L. ssp. *indica* LAM, angl. *cannabis*, pa tudi *marihuana*). V Sloveniji konoplje z vsebnostjo Δ 9-THC nad 0,3 % uvrščamo v II. skupino prepovedanih drog, kar pomeni, da so dovoljene le za raziskovalne in medicinske namene.

CBD je v zadnjih letih najbolj priljubljena snov iz konoplje, saj je antioksidant s protivnetnim delovanjem ter ni opojen. Evropska komisija ga je uvrstila med dovoljene kozmetične sestavine, Evropska agencija za varno hrano (EFSA) pa presoja o njegovi varnosti kot prehranskem dopolnilu. V letu 2024 bo dobil tudi monografijo v Evropski farmakopeji (5). CBD je prevladujoči kanabinoid v večini sort, ki jih v Evropski uniji kategoriziramo med industrijske konoplje (*C. sativa* L. subsp. *sativa*, angl. *hemp*) in jih smemo gojiti za pridobivanje vlaken in semen (6).

Nekoliko šibkeje kot Δ 9-THC, a tudi opojno, učinkuje kanabinol (CBN), ki nastane z oksidativnim razpadom drugih kanabinoidov. Vsebnost CBN je po monografijah FS v cvetu konoplje omejena na 1 % in v ekstraktih konoplje na 2,5 %.

V dovolj veliki meri, da lahko raziskujemo njune farmakološke učinke, iz konoplje pridobivamo tudi CBG in CBC (7). Drugi kanabinoidi so zaradi bistveno manjših vsebnosti v konoplji manj zanimivi (7, 8).

Za konopljo so značilne tudi večje količine terpenov in terpenoidov, ki so hlapne snovi, prisotne tudi v številnih drugih rastlinah, npr. α -pinen, limonen, β -kariofilen, linalool in mircen (7). Pripisujemo jim sinergistične učinke s kanabinoidi, po drugi strani pa so lahko vzrok draženja in alergijskih reakcij, zato med uporabniki in stroko ni enotnega soglasja, ali so v zdravilih s konopljo zaželeni. V literaturi najdemo tudi navajanje konopljinih flavonoidov, klorofilov, alkaloidov, voskov, vlaknin, maščobnih kislin in številnih drugih snovi, ki so za glavno terapevtsko delovanje konoplje manj pomembni in jih navadno iz ekstrakta odstranjujemo (7).

Članek se osredotoča na kanabinoide in predstavlja pregled ekstrakcijskih metod za pridobivanje s kanabinoidi bogatih ekstraktov iz konoplje.

2 PREDPRIPRAVA RASTLINSKEGA MATERIALA

2.1 RASTLINSKA DROGA

Najbolj kakovostna rastlinska droga za pridobivanje kanabinoidov so cvetni vršički neoplojenih ženskih rastlin, saj je na njihovi površini največ žleznihih laskov ali trihomov, ki vsebujejo kanabinoide in terpenske spojine. Kanabinoidi v semenih ali v koreninah niso prisotni. Ovojnico trihomov sestavljajo voski in skupaj s kanabinoidi jih imenujemo konopljinna smola. V količinah, ki so za ekonomičnost ekstrakcije premajhne, trihome najdemo tudi na površini listov in stebel. Čim večje količine kanabinoidov in standardizirane vsebnosti spojin zagotavljamo s hibridnimi varietetami rastlin in razmnoževanjem s potaknjenci ter z ekonomičnimi načini gojenja v enakomernih ter higienskih rastnih pogojih. Rastline morajo biti prostorsko in časovno ustrezno izpostavljene svetlobi, vodi, zraku, hranilom ter stresu in požete, ko dosežejo zrelost (7).

Zelo pomembno je gojenje v skladu z dobro kmetijsko in nabiralno prakso zdravilnih rastlin ter doseganje kakovosti, ki jo določa monografija »Cvet konoplje« Formulariuma Slovenicuma (4). Ta predpisuje, da posušena droga vsebuje najmanj 90,0 % in največ 110,0 % na deklaraciji navedenih kanabinoidov, kot sta Δ 9-THC in CBD, ter kanabinoidnih karboksilnih kislin, kot sta Δ 9-tetrahidrokanabinolna kislina,

izražena kot Δ^9 -THC (C₂₁H₃₀O₂; Mr 314,5), in kanabidiolna kislina, izražena kot CBD (C₂₁H₃₀O₂; Mr 314,5). Poleg ustrezne vsebnosti učinkovin je tudi pri konoplji treba posebno pozornost nameniti prisotnosti mikroorganizmov, pesticidov, kovin, aflatoksinov ter oceniti in s standardnimi operativnimi postopki preprečevati vsa tveganja, ki bi lahko vodila do nekakovostnega končnega izdelka.

Optimalna vlaga za shranjevanje posušenih cvetnih vršičkov, ki so namenjeni inhalaciji, povzeta po ASTM International, je 55–65 %. Dosežemo jo s počasnim sušenjem v temnem, čistem prostoru ob nadziranih zračni vlagi in temperaturi; obrezane cvetove razprostremo na perforirane inertne pladnje, cele rastline pa obesimo s cvetovi navzdol. Z večanjem vlage se povečuje tveganje za razrast plesni in gliv, pri nižji vlagi pa izgubljammo kanabinoide z oksidativnim razpadom in terpenske spojine z izhlapevanjem. Ko drogo uporabimo za ekstrakcijo, je zaželena nižja vlaga, 0–15 %, čeprav je kanabinoide možno ekstrahirati tudi iz svežih rastlin (7). V literaturi za pospeševanje sušenja navajajo uporabo mikrovalov, pečice, vročega zraka, električnih pulzov v kombinaciji z iztiskanjem, razvlažilnikov ter liofilizacije (10). Kadar sušimo pri višjih temperaturah, obenem poteka dekarboksilacija, ki je opisana v naslednjem poglavju.

Mletje rastline za ekstrakcijo kanabinoidov ni nujno, saj so trihomi na površini rastlinskih delov. Pripomore pa k homogenizaciji materiala in z manjšanjem velikosti delcev omogoči hitrejšo difuzijo topila, kar zmanjša potreben čas ekstrakcije in ključno vpliva na ponovljivost serij. Po drugi strani se kanabinoidi in terpenske spojine zaradi nizkih tališč radi zlepljajo med sabo in na površine pribora, ki ga uporabljamo za mletje. Z mletjem v material lahko vnesemo neželjeno vlago in kovine iz pribora. Težavo lahko v določeni meri rešujemo z mletjem ob zamrzovanju (11).

Možno je tudi sejanje delcev, saj so ugotovili, da delci premera 0,063–0,125 mm vsebujejo največ rastlinskih struktur, bogatih s kanabinoidi, a je treba vzeti v zakup morebitne izgube kanabinoidov z delci drugih velikosti. Rastlinsko drogo vedno pripravimo glede na ekstrakcijsko metodo, saj so za različne metode zaželeno različne lastnosti rastlinskega materiala (7).

2.2 DEKARBOKSILACIJA

V konoplji najdemo kanabinoidne molekule, ki imajo na terpenofenolnem skeletu karboksilno skupino: CBGA, Δ^9 -THCA, CBDA in CBCA. Te spojine niso enako farmakološko učinkovite kot nekislinske oblike, zato jih moramo pred uporabo kemijsko pretvoriti, kar dosežemo s segrevanjem. Proces imenujemo dekarboksilacija. Če učinkovine konoplje

apliciramo v pljuča z inhalacijo preko uparjalnika ali cigarete, segrevamo kanabinoide nad njihova vrelišča na temperaturo okrog 180 °C in dekarboksilacija poteče ob sami aplikaciji. Če pa želimo kanabinoide uporabiti v drugi farmacevtski obliki, npr. za oralno, peroralno, rektalno ali dermalno uporabo, je dekarboksilacijo treba izvesti kot del proizvodnje pred ekstrakcijo ali po njej (9).

Predhodna dekarboksilacija rastlinske droge je koristna predvsem pri nadaljnji ekstrakciji z nepolarnimi topili, saj so nekislinske oblike kanabinoidov v njih bolje topne. Zmanjša se tudi možnost oksidacije in izgube spojin v primerjavi z dekarboksilacijo, ki jo izvedemo na končnih ekstraktih. Slabost dekarboksilacije rastlinske droge pa je rokovanje z večjimi volumni materiala; potrebujemo večje naprave za segrevanje in porabimo več energije. Za optimalno dekarboksilacijo rastlinskega materiala v pečici se bolj kot dolgotrajno segrevanje na temperaturi 100 °C priporoča krajše, 30-minutno segrevanje pri 140 °C, homogenizacija rastlinske droge na delce velikosti 1–2 mm, plast droge pa ne sme biti debelejša od 5 mm (8, 13).

2.3 STABILNOST KANABINOIDOV

Za shranjevanje rastlinske droge in ekstraktov ter določanje oz. načrtovanje roka uporabe je pomembno upoštevanje stabilnosti spojin.

2.3.1 Stabilnost kanabinoidov v rastlinski drogi

Pri štiri leta trajajoči raziskavi zaseženih konopljinih cvetov in hašiša so ugotovili, da je pri sobni temperaturi vsebnost Δ^9 -THC v vzorcih padala za 3–5 % na mesec. Δ^9 -THC se je pri tem deloma in stehiometrično pretvarjal v CBN. V vzorcih konopljinih cvetov, ki so bili v neposrednem stiku z atmosferskim zrakom, so izmerili 65- do 100-odstotno nižje vsebnosti Δ^9 -THC kot ob shranjevanju v zamrzovalniku na –20 °C, kjer so bile izgube kanabinoidov zanemarljive. Opazno manjši je bil tudi razpad kanabinoidov pri 4 °C, pri nekaterih vzorcih le nekaj odstoten, pri nobenem pa ni presegel 50 % (13). V prihajajoči monografiji Evropske farmakopeje je navedeno, da je cvetove treba hraniti v zrakotesnem vsebniku (14).

2.3.2 Stabilnost kanabinoidov v ekstraktih in raztopinah

V raziskavi zaseženih vzorcev konopljine smole so največje zmanjšanje vsebnosti Δ^9 -THC ugotovili pri vzorcih, ki so bili v stiku z zrakom, ne glede na to, ali so jih shranjevali na svetlobi ali v temi. Po štirih letih je vsebnost Δ^9 -THC upadla za 64–74 % glede na začetno vsebnost. Pri shranjevanju v

zrakotesnih plastičnih vrečkah so bile izgube manjše, in sicer 25–42 % glede na začetno vsebnost. Pri vseh omejenih vzorcih so opazili linearno povečanje vsebnosti CBN. Razmere shranjevanja so imele bistveno manjši vpliv na vsebnost CBD. Avtorji so zaključili, da je manj oksidativno občutljiv. Ko so bili vzorci shranjeni pri $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, pa statistično pomembnega razpada $\Delta 9\text{-THC}$, CBN ali CBD niso zaznali (15). $\Delta 9\text{-THC}$ se je ohranil tudi v konopljinih ekstraktih v olivnem olju, ki so bili shranjeni tri tedne v hladilniku (16). V več raziskavah so ugotovili, da je na svetlobo bolj občutljiv CBD, sploh če je raztopljen. Deloma je razpadel v CBN, v komaj zaznavnih količinah pa celo v $\Delta 9\text{-THC}$ (17, 18). CBD, raztopljen v olju, shranjen na svetlobi in v stiku z zrakom je popolnoma razpadel v 270 dneh (18). Analize smole, ki je vsebovala CBD, CBDA, $\Delta 9\text{-THC}$, $\Delta 9\text{-THCA}$, CBN, CBNA, CBG in CBGA in je bila raztopljena v različnih organskih topilih (metanolu, kloroformu in njuni zmesi ter petroletru), so pokazale, da se je vsebnost nekislinskih kanabinoidov pri sobni temperaturi in v temi popolnoma ohranila do 15 dni, pri $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ in $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ pa do 30 dni. Kislinske oblike so pri $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ v kloroformu in petroletru razpadle tako na svetlobi kot tudi v temi tudi za 20 odstotkov, v metanolu pa ne. Največji je bil razpad $\Delta 9\text{-THCA}$ in $\Delta 9\text{-THC}$, še posebej v kloroformu pri $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, kjer sta bila v 30 dneh oba kanabinoida prisotna zgolj še v okrog 10 %

začetnih vsebnosti. Razpad $\Delta 9\text{-THC}$, CBD in njunih kislinskih oblik je bil pri $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ na svetlobi za okrog 50 % večji kot v temi, kjer so avtorji raziskave nižje vsebnosti kislinskih oblik pripisali zgolj dekarboksilaciji (19).

Monografija »Standardiziran ekstrakt cveta konoplje« iz DAB navaja, da ekstrakte shranjujemo tesno zaprte, zaščitene pred svetlobo, pri temperaturi manj kot $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, najbolje pri $2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (3). Ker gre za magistralna zdravila, je njihov rok uporabe 30 dni. Pri zdravilih z dovoljenjem za promet pa je v navodilih za paciente pri zdravilu, ki vsebuje $\Delta 9\text{-THC}$ in CBD navedeno, da je neodprt vsebnik treba shranjevati v hladilniku pri $2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$, odprtega pa pri manj kot $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ in ga porabiti v 42 dneh (20). Pri zdravilu, ki kot zdravilno učinkovino vsebuje CBD, pa je navedeno, da ne zahteva posebnih pogojev shranjevanja, porabiti pa ga je treba v 12 tednih od odprtja (21).

3 METODE EKSTRAKCIJE

Na najoptimalnejše lastnosti ekstrakta ciljamo z ustrežno predpripravo rastlinskega materiala in skrbno razvitimi de-



Slika 1: Glavne faze ekstrakcije kanabinoidov iz konoplje; ustvarjeno z BioRender.com.

Figure 1: The main stages of the extraction of cannabinoids from cannabis; created with BioRender.com.

javniki ekstrakcije, saj nobena ekstrakcijska metoda ne vodi do popolnih izkoristkov zelenih snovi in popolne odsotnosti neželenih. Potek osnovnega ekstrakcijskega postopka kanabinoidov iz konoplje prikazujemo na sliki 1. Vrednotimo izkoristek ekstrakcije (masa pridobljenega ekstrakta glede na maso rastlinske droge), učinkovitost ekstrakcije (ekstrahirano maso zelenih spojin glede na njihovo maso, ki ostane v rastlinskem materialu po ekstrakciji) in kakovost ekstrakta (vsebnost) (22). Dejavniki, ki vplivajo na učinkovitost ekstrakcije kanabinoidov iz konoplje, so prikazani na sliki 2.

V monografiji »Standardiziran ekstrakt cveta konoplje« iz DAB je ekstrakt opisan kot zelenkasta ali rumena do rjava tekočina. Monografija navaja zahtevo po vsebnosti CBD in $\Delta 9$ -THC, ki je med 90 in 110 % deklarirane vsebnosti, vsebnost CBN ne presega 2,5 % in vode 0,5 %. Monografija navaja, da je ekstrakt najbolje pridobiti z ekstrakcijo s superkritičnim ogljikovim dioksidom (CO_2) in da ga po potrebi rafiniramo in prilagodimo določeni vsebnosti z uporabo inertnih pomožnih snovi, najbolje s srednjeveržnimi trigliceridi. Standardiziran ekstrakt cveta konoplje mora ustrezati tudi zahtevam splošne monografije Evropske farmakopeje »Ekstrakti iz rastlinskih drog«. Seveda pa monografija proizvajalcev ne omejuje pri razvoju drugačnih izdelkov, če pri razvoju in proizvodnji upoštevajo zakonodajo in po farmacevtskem sistemu zagotavljanja kakovosti sledijo smernicam dobre proizvodne prakse.

3.2 EKSTRAKCIJE TRDNO-TEKOČE

Ekstrakcija s topili je sestavljena iz maceracije rastlinskega materiala, ki ga potopimo in mešamo v topilu pri različnih pogojih. Po ekstrakciji topilo običajno odstranimo s centrifugiranjem, filtriranjem ali izparevanjem. Dobro topilo je selektivno in hlapno, njegova izbira pa je močno odvisna od zelenih lastnosti ekstrakta. Pomembno je razmerje med rastlinsko drogo in topilom. Za popolno ekstrakcijo lahko izvedemo več stopenj ekstrakcije, s čimer se povečata poraba topila in energije. Pri pridobivanju ekstraktov z namenom farmacevtske, prehranske ali kozmetične uporabe je zelo pomemben vidik toksičnost topila zaradi zaostankov. Področje je regulirano s smernicami Mednarodnega sveta za harmonizacijo (ICH), ki topila kategorizira v razrede ter jim pripisuje največje dopustne preostanke v končnem produktu. V razred I uvrščamo topila, ki so za uporabo preveč toksična, zato kanabinoide ekstrahiramo s topili razreda II, III ali neuvrščeni (22). Od topil s polarnimi lastnostmi je najbolj znan etanol, sledi mu izopropanol, od nepolarnih pa petroleter, propan, butan, heksan in CO_2 , ki jih obravnavamo v nadaljevanju.

3.1.1 Voda

Kanabinoidi v vodi niso topni, saj so zelo lipofilni. Italijansko Ministrstvo za zdravje kljub temu predpisuje postopek priprave magistralnega zdravila v obliki dekokta z zavretjem rastlinske droge in vode v razmerju 1 : 1, ki mu sledi 15-minutno vrenje, ohlajanje in filtriranje. Ugotovili pa so, da je v takšni raztopini več kislinjskih kot aktivnih oblik, da so prisotne v zelo majhni koncentraciji in da bi za terapevtske količine kanabinoidov morali zaužiti velike količine dekokta, ki pa vsebuje tudi številne druge vodotopne spojine (12). Vsebnosti kanabinoidov v teh ekstraktih so bile zelo raznolike. Sklepamo, da se ob vodni ekstrakciji oz. pripravi čaja raztopijo v frakciji eteričnega olja, ki plava na vodi, zaradi lipofilne narave pa se tudi lepijo in obarjajo na površine vsebnika.

3.1.2 Organska topila

Etanol

Glede na stopnjo toksičnosti po ICH je etanol uvrščen v razred III z dovoljenim preostankom v polizdelku ali končnem izdelku 5000 ppm. Je polarno topilo, ki poleg kanabinoidov raztaplja tudi terpene, terpenoide, glikozide, sladkorje, soli alkaloidov, klorofile, lipide in voske. Ekstrakcija z etanolom ne zahteva visokih tlakov, odstranljiv je pri temperaturi nad 70 °C, a tudi vnetljiv in eksploziven. Ekstrakcija kanabinoidov najučinkoviteje poteče pri višjih odstotkih etanola, optimalno nad 70 %. Večja vsebnost vode poveča ekstrakcijo klorofilov. Ker rastlinski material vpije veliko topila, je pomembno temeljito ožemanje trdnih preostankov ali pa ekstrakcija predhodno presejane rastlinske droge z manj rastlinskimi vlakni. Tudi ekstrakcija v mrzlem (-80 do 5 °C) daje ekstrakte z manj klorofili, trigliceridi in voski, ohrani pa terpene in terpenoide. Etanolni ekstrakciji lahko sledi tudi filtracija skozi aktivno oglje, siliko ali bentonit. S temi metodami odstranjujemo neželene snovi, a lahko izgubljamo tudi kanabinoide (22, 23).

Izopropanol

Kot etanol je uvrščen v razred toksičnosti III, a z njim pridobivamo ekstrakte z manjšimi vsebnostmi klorofila in drugih snovi. Wongwailikhit in sod. so pri primerjanju ekstrakcij z etanolom in izopropanolom ugotovili, da je etanol nekoliko bolje ekstrahiralo CBD, izopropanol pa $\Delta 9$ -THC (24).

Heksan

Za razliko od etanola ne raztaplja klorofilov. Po ICH ga uvrščamo v razred II in v končnem materialu lahko zaostane v količini 290 ppm. Vrelišče pri atmosferskem tlaku je 68 °C, zato ga je podobno kot etanol za odstranjevanje treba se-

grevati, vnetljivost in eksplozivnost pa v proces vnašata tveganja. Značilna ekstrakcija mlete konoplje s heksanom traja okrog 10 minut ob mešanju pri temperaturi 10–25 °C pri razmerju med rastlinsko drogo in topilom 1 : 3–5 (22).

Druga organska topila

V patentni literaturi najdemo ekstrakcijo z zmesjo acetona in CO₂ pri temperaturah –25 do –100 °C, s katero naj bi dosegli nad 90-odstotno vsebnost kanabinoidov. Navajajo tudi vnetljivi topili, ki pa sta lahko odstranljivi zaradi hlapnosti: pentan, ki spada v razred III, in petroleter, ki pa ni uvrščen v nobeno od skupin. Sestavljajo ga različne naftne frakcije in lahko vsebuje zdravju škodljive nečistote, zato je treba biti posebej previden pri njegovi kakovosti. Manj primerna z varnostnega in toksikološkega vidika, ampak v patentni literaturi navedena topila so heptan, terc-butilmetileter, dimetileter in diklorometan (22).

3.1.3 Olja

Med priljubljenimi so oljčno, kokosovo (srednjeveržni trigliceridi), sončnično in konopljno olje. Rastlinska olja so netoksična in okolju prijazna. Ekstrakcija z njimi ne zahteva povišanih temperatur in tlakov, navadno poteka pri temperaturah 30–80 °C od nekaj minut do nekaj ur. Njihova slabost je, da jih zaradi visokih vrelišč iz ekstraktov ne moremo zlahka odstraniti in ostanejo njihova neločljiva sestavina, zato so oljni ekstrakti bistveno manj koncentrirani. Kanabinoide lahko od olja oddestiliramo pri temperaturi nad 180 °C, saj imajo nižje vrelišče kot trigliceridi. Olja ekstrahirajo tudi terpene, terpenoide in voske, ne pa klorofilov in flavonoidov (22). V italijanskih lekarnah farmacevti po zdravniškem receptu pripravljajo galenska zdravila v obliki standardiziranih oljnih kapljic (25). Primer učinkovite ekstrakcije v olje zajema dekarboksilacijo konoplje v pečici na 140 °C 30 min, ki ji sledi 60-minutna maceracija na vodni kopeli v razmerju mase droge (mg) na volumen topila (mL) 200 : 1 (26).

3.1.4 Ekstrakcija s superkričnim ali subkričnim CO₂

Najmanj toksično topilo za ekstrakcijo kanabinoidov je CO₂, ki v končnem produktu tudi ne pušča preostankov. Ni vnetljiv, je poceni in se izredno lahko odstrani iz ekstrakta ter reciklira. Plin se segreva pod nadzorovanim tlakom, dokler ne doseže superkričnega stanja. Nato se črpa skozi rastlinsko drogo v ekstrakcijski posodi, od tam pa v separacijsko enoto, kjer se ekstrahirane spojine z različno topnostjo selektivno kondenzirajo pri znižanem tlaku. Ko je CO₂ odstranjen iz ekstrakta, se črpa in reciklira v tlačno napravo.

Uporabimo lahko različne programe tlaka in temperature, s katerimi spreminjamo dielektrično konstanto topila, torej njegovo polarnost in s tem ekstrakcijsko moč za posamezne spojine (27). Superkrično stanje CO₂ pri 31 °C dosežemo že pri tlaku okrog 73,8 bar. Slabosti metode so nevarnost ob delu z visokimi tlaki, zahteva po dragi, specializirani opremi, ekstraktabilnost voskov in dolg čas trajanja (15). Kanabinoide lahko s CO₂ ekstrahiramo tudi v subkričnih pogojih, pri katerih se ohrani več terpenov in ekstrahira manj voskov (28).

Pri razvoju ekstrakcij kanabinoidov iz različnih nedekarboksiliranih rastlinskih drog so v različnih raziskavah uporabljali razpon temperatur od 40 do 70 °C, tlakov od 100 do 340 barov in dodatkov etanola (29). Z dodatkom sotopil, kot je etanol, povečamo polarnost CO₂. Možna je tudi predhodna ekstrakcija voskov in terpenov iz rastlinske droge, ki ji sledi etanolna ekstrakcija kanabinoidov (22).

3.1.5 n-butan in n-propan

Sta vnetljiva in eksplozivna plina, ki se utekočinita pri povišanem tlaku (2–10 barov) in na ta način postaneta podobno učinkoviti ekstrakcijski topili za kanabinoide, kot sta etanol ali heksan. Rastlinsko drogo navadno namestimo v perforirano posodo oz. je ob izhodu ekstrakta nameščen filter, ki zadrži netopne dele. Plina zelo selektivno raztapljata kanabinoide, terpene in terpenoide, zato na ta način pridobimo koncentrirane ekstrakte, ki jih v angleškem jeziku poznamo pod izrazom *shatter*. Ekstrahirata tudi voske, ki jih zlahka odstranimo s postopkom vinterizacije. Kljub temu, da sta pri atmosferskih pogojih hlapna, pa zaradi nevarnosti preostankov iz toksikoloških razlogov njuno uporabo odsvetujemo (29, 30).

3.1.6 1,1,1,2-tetrafluoroetan (HFC 134a)

Je nevnetljiv plin, ki ga največ uporabljamo kot hladilno sredstvo v gospodinjstvih aparatih in avtomobilskih klimatskih napravah. Uporabljamo ga tudi v medicinskih inhalatorjih. Ni strupen ali rakotvoren in mejna vrednost preostalega topila ni navedena v smernicah ICH za zdravila. Kar zadeva vpliv na okolje, HFC-134a velja za močan toplogredni plin s potencialom vpliva na globalno segrevanje. Ekstrakcijska moč HFC-134a se izboljša z uporabo toksičnih sotopil, kot sta butan in dimetileter, ter kombinira z etanolno ekstrakcijo (22).

3.2 EKSTRAKCIJA Z VROČIM ZRAKOM

Temelji na uporabi segrelih plinov, ki jih vodimo skozi rastlinsko drogo pri temperaturah, pri katerih se hlapne spojine

najprej uparijo, nato pa jih zberemo s kondenzacijo. V začetnih frakcijah izoliramo hlapnejše terpene in terpenoide, pri višjih temperaturah nad 175 °C pa kanabinoide, medtem ko imajo voski, klorofili, alkaloidi in flavonoidi za tovrstno izolacijo previsoka vrelišča. Metoda zahteva uporabo specializiranih in dragih aparatov, po drugi strani pa ni težave odstranjevanja topila iz končnega ekstrakta. Dekarboksilacija zaradi segrevanja poteka sočasno z ekstrakcijo. V literaturi zasledimo uporabo segretega zraka ali pare, ki spadata pod oksidirajoče pline in lahko negativno vplivata na stabilnost produkta, pa tudi uporabo žveplovega dioksida, CO₂, dušika, helija ali argona, ki spadajo med redu-

cirajoče pline in preprečujejo oksidacije spojin, zato so za uporabo bolj priporočljivi (22).

3.3 POMOŽNE METODE EKSTRAKCIJE

Pri ekstrakcijah s tekočinami v ekstrakcijsko zmes pogosto vnesemo dodatno energijo za pomoč pri razbitju celičnih struktur, ki zadržujejo učinkovine v rastlinski drogi, ter za večjo difuzijo in raztapljanje v topilu. V ta namen uporabljamo ekstrakcijo z mikrovalovi, ultrazvokom, hidrodinamsko kavitacijo in ekstrakcijo v pulzirajočem električnem polju. Pri mikrovalovih se voda v celicah hitro segreje in raztrga



Slika 2: Dejavniki, ki vplivajo na učinkovitost ekstrakcije kanabinoidov iz konoplje; ustvarjeno z BioRender.com.

Figure 2: Factors affecting the efficiency of extraction of cannabinoids from cannabis; created with BioRender.com.



celične stene. Podoben pojav se dogaja, ko ekstrakcijsko zmes izpostavimo ultrazvoku ali hidrodinamski kavitaciji, kjer nastanejo kavitacijski mehurčki, lokalizirana mesta višjih temperatur, ali s pulzirajočimi električnimi polji. Ker pa so kanabinoidi na površini rastlinskih delov, ki zlahka pridejo v stik s topilom, s pretirano obdelavo ne smemo pretiravati, ker tako povečamo neželjeno ekstrakcijo snovi iz notranjosti tkiv, npr. klorofila (22). Casiraghi in sod. so podrobno proučili sestavo ekstraktov in med sonificiranimi in klasično ekstrahiranimi niso ugotovili razlik v kakovosti z vidika vsebnosti Δ^9 -THC in CBD, tokoferolov in oksidiranih tokoferolov, lipofilnih hlapnih karbonilnih spojin in oksidacijskega stanja sestavin, ki so značilne za starana olja (31).

4 ČIŠČENJE EKSTRAKTOV IN IZOLACIJA KANABINOIDOV

Vinterizacija je postopek hlajenja ekstrakta v organskem topilu z namenom obarjanja olj in voskov, ki jih nato odstranimo s filtracijo (32). V patentni literaturi omenjajo tudi uporabo zeolitnih molekulskih sit ali diatomejske prsti za odstranitev klorofilov, flavonoidov in alkaloidov. Za izolacijo kanabinoidov s čistostjo > 95 % uporabljamo postopke kristalizacije, destilacije, tekočinske kromatografije oz. kolonske ekstrakcije na trdnih nosilcih (SFE) (22). Topila, uporabljana v teh postopkih, je lažje odstraniti iz izolatov kot iz ekstraktov, zato so za izolacijo primerna tudi tista, ki se jim pri ekstrakciji zaradi toksičnosti izogibamo.

5 SKLEP

Metodo ekstrakcije kanabinoidov iz konoplje moramo izbrati glede na zelene lastnosti izdelka, ki pa so raznolike in odvisne od farmacevtske oblike ter načina aplikacije zdravila. Pomemben dejavnik izbire proizvodnih metod je tudi ekonomičnost postopkov, ki je zelo odvisna od velikosti serij in opreme. Te pristope industrija neprestano razvija, pa tudi varuje, zato smo v tem članku lahko obravnavali le javno znane podatke. Poudariti želimo tudi, da smo bili v članku osredotočeni na kanabinoide naravnega izvora, ki jih pridobivamo iz konoplje in se jih v javnosti drži sloves superiornosti nad sintezno pridobljenimi. Zaključujemo pa,

da se pri uporabi toksičnih ekstrakcijskih topil »romantičnost« naravnega izvora kanabinoidov izgubi.

6 LITERATURA

1. IZUM-Institut informacijskih znanosti. *Uporaba kanabinoidov : strokovno izpopolnjevanje s področja farmacije*, [Ljubljana, 11., 12. in 18. junij 2019] :: COBISS+. V [citirano 4. februar 2023]. Dostopno na: <https://plus.cobiss.net/cobiss/si/sl/bib/sikmb/300264192>
2. Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke. *Cvet konoplje*. *Formularium Slovenicum* 5.0; 2020.
3. Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke. *Standardiziran ekstrakt cveta konoplje*. *Formularium Slovenicum* 5.0; 2020.
4. European Pharmacopoeia. *Cannabis flower*. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM); 2023.
5. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare [Internet]. [citirano 9. oktober 2023]. *Outcome of the 176th session of the European Pharmacopoeia Commission, June 2023 - European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare - EDQM*. Dostopno na: <https://www.edqm.eu/en/-/outcome-of-the-176th-session-of-the-european-pharmacopoeia-commission-june-2023-2>
6. Tavčar E. *Kanabidiol (CBD) in koža*. *farm vestn.* 2023;1(74):56–66.
7. Sainz Martinez A. *Extraction techniques for bioactive compounds of cannabis*. *Natural Product Reports*. 1. januar 2023;40(3):676–717.
8. Glivar T, Eržen J, Kreft S, Zagožen M, Čerenak A, Čeh B, idr. *Cannabinoid content in industrial hemp (Cannabis sativa L.) varieties grown in Slovenia*. *Industrial Crops and Products*. 1. marec 2020;145:112082.
9. Fučak T, Kreft S, Svedružič ŽM, Tavčar E. *Mechanism and kinetics of CBDA decarboxylation into CBD in hemp*. *J Plant Biochem Biotechnol*. 1. september 2023;32(3):608–21.
10. Shuja A. *Rapid drying extraction targeting oil resin plant extracts* [Internet]. US9981203B2, 2018 [citirano 12. september 2023]. Dostopno na: <https://patents.google.com/patent/US9981203B2/en>
11. Atkins PL. *Sample Processing and Preparation Considerations for Solid Cannabis Products*. *J AOAC Int*. 1. marec 2019;102(2):427–33.
12. Baratta F, Simiele M, Pignata I, Ravetto Enri L, Torta R, De Luca A, idr. *Development of Standard Operating Protocols for the Optimization of Cannabis-Based Formulations for Medical Purposes*. *Frontiers in Pharmacology* [Internet]. 2019 [citirano 11. september 2023];10. Dostopno na: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2019.00701>
13. Zamengo L, Bettin C, Badocco D, Di Marco V, Miolo G, Frison G. *The role of time and storage conditions on the composition of hashish and marijuana samples: A four-year study*. *Forensic Science International*. 1. maj 2019;298:131–7.
14. Council of Europe S. *European Pharmacopoeia 11.5 monograph: Cannabis flower*. EDQM; 2024.
15. Grafström K, Andersson K, Pettersson N, Dalgaard J, Dunne SJ. *Effects of long term storage on secondary metabolite*

- profiles of cannabis resin. *Forensic Science International*. 1. avgust 2019;301:331–40.
16. Casiraghi A, Roda G, Casagni E, Cristina C, Musazzi UM, Franzè S, idr. Extraction Method and Analysis of Cannabinoids in Cannabis Olive Oil Preparations. *Planta Med.* marec 2018;84(4):242–9.
 17. Franco C, Protti S, Porta A, Pollastro F, Profumo A, Mannucci B, idr. Stability of cannabidiol (CBD) in solvents and formulations: A GC–MS approach. *Results in Chemistry*. 1. januar 2022;4:100465.
 18. Kosović E, Sýkora D, Kuchař M. Stability Study of Cannabidiol in the Form of Solid Powder and Sunflower Oil Solution. *Pharmaceutics*. 19. marec 2021;13(3):412.
 19. Smith RN, Vaughan CG. The decomposition of acidic and neutral cannabinoids in organic solvents. *J Pharm Pharmacol*. maj 1977;29(5):286–90.
 20. GW Pharma Ltd. Package leaflet: Information for the patient Sativex® Oromucosal Spray. GW Pharma Limited; 2022.
 21. GW Pharma (International) B.V. SMPC: Epidyolex 100 mg/ml oral solution. Jazz Pharmaceuticals Ireland Ltd; 2022.
 22. López-Olmos C, García-Valverde MT, Hidalgo J, Ferrerio-Vera C, Sánchez de Medina V. Comprehensive comparison of industrial cannabinoid extraction techniques: Evaluation of the most relevant patents and studies at pilot scale. *Frontiers in Natural Products [Internet]*. 2022 [citirano 12. september 2023];1. Dostopno na: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fntr.2022.1043147>
 23. Armstrong JL, Hill DS, McKee CS, Hernandez-Tiedra S, Lorente M, Lopez-Valero I, idr. Exploiting Cannabinoid-Induced Cytotoxic Autophagy to Drive Melanoma Cell Death. *Journal of Investigative Dermatology*. 1. junij 2015;135(6):1629–37.
 24. Wongwailikhit K, Jiratchaya J. Comparison of the Two Common Solvents for THC and CBD Extractions. V 2021.
 25. Ternelli M, Brighenti V, Anceschi L, Poto M, Bertelli D, Licata M, idr. Innovative methods for the preparation of medical Cannabis oils with a high content of both cannabinoids and terpenes. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 15. julij 2020;186:113296.
 26. Baratta F, Simiele M, Pignata I, Enri LR, D'Avolio A, Torta R, idr. Cannabis-Based Oral Formulations for Medical Purposes: Preparation, Quality and Stability. *Pharmaceutics*. 2021;
 27. Schoss K, Kočevar Glavač N, Dolenc Koce J, Anžlovar S. Supercritical CO2 Plant Extracts Show Antifungal Activities against Crop-Borne Fungi. *Molecules*. januar 2022;27(3):1132.
 28. Schoss K, Kočevar Glavač N. Ekstrakcija s subkrično vodo za pridobivanje rastlinskih ekstraktov. 2021;72(3):167–72.
 29. Moreno T, Montanes F, Tallon SJ, Fenton T, King JW. Extraction of cannabinoids from hemp (*Cannabis sativa* L.) using high pressure solvents: An overview of different processing options. *The Journal of Supercritical Fluids*. 1. julij 2020;161:104850.
 30. Radoiu M, Kaur H, Bakowska-Barczak A, Splinter S. Microwave-Assisted Industrial Scale Cannabis Extraction. *Technologies*. september 2020;8(3):45.
 31. Casiraghi A, Gentile A, Selmin F, Gennari CGM, Casagni E, Roda G, idr. Ultrasound-Assisted Extraction of Cannabinoids from Cannabis Sativa for Medicinal Purpose. *Pharmaceutics*. 5. december 2022;14(12):2718.
 32. Grijó DR, Vieitez Osorio IA, Cardozo-Filho L. Supercritical extraction strategies using CO2 and ethanol to obtain cannabinoid compounds from Cannabis hybrid flowers. *Journal of CO2 Utilization*. december 2018;28:174–80.



PREGLED NAJNOVEJŠIH RAZISKAV DVOKRPEGA GINKA (GINKGO BILOBA): POTENCIAL ZA NOVE INDIKACIJE

REVIEW OF THE LATEST RESEARCH ON GINKGO (GINKGO BILOBA): POTENTIAL FOR NEW INDICATIONS

AVTORJA / AUTHORS:

Sara Papa, dipl. kozmet.¹
izr. prof. dr. Janez Mravljak, mag farm.²

¹ Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

² Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko kemijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: janez.mrvljak@ffa.uni-lj.si

POVZETEK

Dvokrpi ginko (*Ginkgo biloba* L.), ena najboljše raziskanih in najpogosteje uporabljenih zdravilnih rastlin, že dolga desetletja vzbuja zanimanje zaradi svojih potencialnih terapevtskih lastnosti. Izvleček listov dvokrpega ginka je pridobil široko priznanje tudi v sodobni farmakologiji in klinični praksi, kjer se je uveljavil zaradi svoje sposobnosti izboljšanja nevroloških težav, zlasti z dokazanimi učinki na izboljšanje stanja demence. V zadnjem času se pojavljajo obetavne raziskave, ki kažejo na potencialne nove indikacije, ki jih bomo v tem članku podrobneje pregledali.

KLJUČNE BESEDE:

delovanje, *Ginkgo biloba*, raziskave, uporaba

ABSTRACT

Ginkgo (*Ginkgo biloba* L.), one of the best-researched and most commonly used medicinal plants, has been of interest for its potential therapeutic properties for decades. Ginkgo leaf extract has also gained widespread recognition in modern pharmacology and clinical practice, and has gained recognition due to its ability to enhance neurological disorders, particularly with demonstrated effects on improving dementia conditions. Promising research has recently emerged indicating potential new indications, which we will examine in more detail in this article.

KEY WORDS:

effects, *Ginkgo biloba*, research, usage

1 UVOD

Dvokrpi ginko (*Ginkgo biloba* L.) je do 30 m visoko drevo golosemenk, ki izvira iz Kitajske. Ima prepoznavne, na videz pahljačaste liste, ki so globoko razcepljeni do dvokrpi, usnjati, vilasto žilnati in dolgopecljati. Rastlina je dvodomna, z neopaznimi cvetovi, ki na ženskih drevesih dozori v plodove zelo neprijetnega vonja po butanojski kislini. Dvokrpi ginko je edini preživeli predstavnik skupine, ki je bila pred približno 270 milijoni let razširjena po vsem svetu, zato mu pravimo tudi živi fosil (1).

Po pozitivnih rezultatih številnih kliničnih raziskav na odraslih, starih 50 let in več, v katerih so proučevali njegovo učinkovitost pri izboljšanju spomina, je Evropska agencija za zdravila (EMA) priznala izvleček listov dvokrpega ginka kot zdravilo rastlinskega izvora za izboljšanje (s starostjo povezane) kognitivne okvare in kakovosti življenja pri blagi demenci (2). Takšno priznanje s strani EMA na podlagi stroge ocene varnosti in učinkovitosti odpira vrata za širšo uporabo te rastline v izboljšanju kakovosti življenja in obvladovanju različnih zdravstvenih izzivov.

Namen tega članka je predstaviti nove raziskave, v katerih raziskovalci poročajo o novih mehanizmih delovanja oz. novih potencialnih načinih uporabe izvlečkov dvokrpega ginka. V prvem delu članka bomo obravnavali raziskave *in vitro* in *in vivo* ter v drugem delu klinične raziskave. Pri tem moramo poudariti, da učinkov, proučevanih v znanstvenih raziskavah, ki ne izvirajo iz kliničnih raziskav ali raziskav na ljudeh, ne moremo enostavno ekstrapolirati na učinke pri ljudeh.

V raziskavah najpogosteje uporabljajo izvleček EGb 761, standardiziran izvleček iz listov dvokrpega ginka, ki vsebuje 24 % flavonoidov in 6 % terpenskih laktonov. Flavonoidni del skoraj v celoti sestavljajo flavanol-O-glikozidi, kot so kvercetin, kempferol in izoramnetin (preglednica 1), ki so glikozilirani z glukozo ali ramnozo (3). Standardizirani izvleček ima tudi definirano razmerje med rastlinsko drogo in končnim izdelkom ali DER (drug to extract ratio). DER za EGb 761 je 35–67 : 1, kar pomeni, da iz 35 do 67 kg listov pridobijo 1 kg izvlečka. Poleg izvlečkov iz listov v raziskavah uporabljajo tudi izvlečke iz semen in eksokarpa plodov.

2 RAZISKAVE IN VITRO IN IN VIVO

2.1 ANTIDIABETIČNI UČINKI

Raziskave kažejo, da je eden od glavnih mehanizmov, s katerim izvleček listov dvokrpega ginka preprečuje diabetes, povečanje števila β -celic in stimuliranje izločanja inzulina. Poleg učinka na β -celice in inzulini izvleček listov dvokrpega ginka dokazano izboljša antioksidativni status z zmanjšanjem oksidativnega stresa (4–7).

Z novejšimi raziskavami *in vivo* se znanstveniki posvečajo tudi protivnetnemu delovanju izvlečkov dvokrpega ginka, s katerimi so potrdili dobre antidiabetične učinke. Priyanka in sod. so ugotovili, da je bilobalid (preglednica 1) zaščitil adipocite pred inzulinsko odpornostjo, ki jo povzroča pomanj-

kanje kisika, ter zmanjšal vnetje s povečanjem izločanja specifičnega protivnetnega mediatorja adiponektina. Prav tako je blokiral serinsko fosforilacijo receptorjev substrata inzulinskega receptorja 1 v inzulinski signalni kaskadi, zmanjšal vnetno tvorbo adipokinov in zmanjšal aktivacijo jedrnega dejavnika kappa B/c-Jun N-končne kinaze. Z zmanjšanjem teh mediatorjev je bilobalid pokazal protivnetne lastnosti, ki lahko prispevajo k antidiabetičnim učinkom (8).

V raziskavi, objavljeni leta 2021, so Jing in sod. preverili vpliv izvlečka semen dvokrpega ginka na znižanje ravni krvnega sladkorja pri miših s sladkorno boleznijo tipa 2. Semena so pripravili tako, da so po segrevanju v mikrovalovni pečici odstranili zunanjo lupino, šest ur sušili v pečici in jih nato zdrobili v prah ter presejali skozi sito. Tako pripravljen prah so uporabljali v štiritedenskem prehranjevanju miši z mešano prehrano (prehrana je vsebovala 1,35 % semen dvokrpega ginka). Rezultati so pokazali zmanjšane ravni krvnega sladkorja ter znižane ravni inzulina v serumu. Predlagan mehanizem delovanja je posreden ali neposreden vpliv na presnovo lipidov, presnovo krvnega sladkorja in signalne poti presnove inzulina (9).

V drugi raziskavi so proučevali vpliv semen dvokrpega ginka na presnovo lipidov pri debelih miših. Semena so bila pripravljena po podobnem protokolu kot v raziskavi (9). Miši so razdelili v štiri skupine: miši brez hiperlipidemije (NC), miši s hiperlipidemijo (HC), miši s hiperlipidemijo, ki so peroralno prejemale semena dvokrpega ginka (HC/DGP), in miši s hiperlipidemijo, ki so peroralno prejemale pšenično moko (HC/WF). Po 18 tednih so v serumu zabeležili skoraj enake ravni trigliceridov in holesterola z nizko gostoto lipoproteinov v HC/DGP in NC. Ravni trigliceridov in holesterola z nizko gostoto lipoproteinov pa so bile znatno višje v skupini HC/WF in skupini HC. Prav tako so poročali o manjši masi telesne maščobe v primeru skupine HC/DGP, medtem ko se je teža telesne maščobe v primeru HC in HC/WF, povečala (10). Z učinkom na holesterol in trigliceride pripisujemo semenu dvokrpega ginka tudi antilipidemične učinke.

2.2 VAZOAKTIVNI UČINKI

Izvečki dvokrpega ginka kažejo vazoaktivne učinke *in vitro* in *in vivo* preko prilagajanja ravni dušikovega oksida. Dušikov oksid ima več funkcij, odvisno od celičnega okolja, v katerem se sprosti (11). V raziskavah *in vitro* in *in vivo* so opazili, da je izvleček listov dvokrpega ginka v normalnih fizioloških pogojih povečal raven dušikovega oksida, kar je vodilo v vazodilatacijo ter povečan pretok krvi (12). Takšen vazodilatacijski učinek je posledica sposobnosti izvlečka,

da aktivira encim endotelijsko sintazo dušikovega oksida (eNOS) ter uravnava molekularne poti, ki vodijo do sinteze dušikovega oksida. Po aktivaciji ima eNOS povečano afiniteto za kalcijeve ione, kar prav tako vodi v vazodilatacijo (11, 12, 13). Vazodilatacijski učinek so pripisali ginkolidom, bilobalidu ter flavonoidnim glikozidom (12, 14, 15).

V drugi raziskavi *in vitro* so poročali o zmanjšani tvorbi dušikovega oksida v stanju, ko niso bili vzpostavljeni normalni fiziološki pogoji. Med stanjem pomanjkanja kisika, kjer dušikov oksid deluje kot prozvetna molekula, je izvleček listov dvokrpega ginka zmanjšal izražanje jedrnega dejavnika kappa B, ta pa je pomemben za regulacijo transkripcije encima inducibilne sintaze dušikovega oksida (iNOS), ki je pomemben za tvorbo dušikovega oksida. Domnevajo, da so za učinke odgovorni terpeni (16).

2.3 ANTIDEPRESIVNI UČINKI

Pri raziskavah na miših so opazili antidepresivne učinke izvlečka dvokrpega ginka. Poročajo, da so se ravni tumorske nekroze α , interleukina 1 in serotoninina v hipokampusu po dajanju izvlečka listov znižale, kar kaže na učinke, podobne antidepresivom. Izvleček listov je tudi zaviral sproščanje serotoninina v periferni krvi in aktiviral antiapoptotične poti, povezane z ob hipoksiji induciranim faktorjem 1 (17).

V drugi raziskavi so zdravili z izvlečkom listov dvokrpega ginka skupino podgan, za kontrolo so uporabili placebo. Skupina podgan, ki je prejela izvleček, je po končani raziskavi kazala manj depresivnih znakov (18). Ti rezultati nakazujejo, da ima izvleček listov dvokrpega ginka potencialne antidepresivne učinke preko regulacije izražanja beljakovin možganskega nevrotrofičnega dejavnika v hipokampalnem jedru (4, 18, 19).

2.4 UČINKI PROTI RAKU

Velika pozornost je namenjena tudi raziskavam, ki proučujejo učinek izvlečkov dvokrpega ginka na rakava stanja. Pri raziskavi učinka izvlečka listov na človeške rakave celice želodca SGC7901 *in vitro* in *in vivo* so opazili, da je izvleček povzročil povečanje števila celic v fazi G1 (prva faza celičnega cikla), medtem ko se je zmanjšalo število celic v fazi S (druga faza celičnega cikla). Raziskovalci so tudi ugotovili, da so celice, ki so bile izpostavljene izvlečku, pokazale zmanjšano raven mRNA in beljakovin, kot sta ciklin D1 in protoonkogen c-Myc. S tem ko izvleček zavira izločanje ciklina D1 in c-Myc, prispeva k zaviranju napredovanja rakavih celic. Podobne učinke so raziskovalci opazili na rakavih celicah želodca. Učinke so povezali z zaviranjem si-

gnalnih poti, kot je z zunajceličnimi signali regulirana kinaza 1/2, posredovana z Ras 1 (4, 20, 21).

Pri raziskavi učinkovitosti izvlečka iz eksokarpa plodov dvokrpega ginka na podganah so v primeru Lewisovega pljučnega raka opazili zmanjšane ravni izražanja p-Akt/Akt, vaskularnega endotelijskega rastnega dejavnika (VEGF), receptorja VEGF (VEGFR) in β -katenina, kar prispeva k zaviranju metastaz pljučnega karcinoma. Ravni mRNA VEGF in VEGFR2 so bile podobno znižane, kar lahko pomeni, da izvleček iz eksokarpa zavira tumorsko angiogenezo in ima posledično protitumorne učinke (22).

3 KLINIČNE RAZISKAVE

3.1 NEVROPROTEKTIVNI UČINKI

Klinične raziskave, v katerih so proučevali dajanje EGb 761 bolnikom z demenco, so pokazale, da EGb 761 stabilizira ali upočasni upad duševne funkcije, še posebej pri posameznikih, ki kažejo nevropsihične simptome. Raziskovalci se predvsem osredotočajo na oblike demence, povezane s postopno izgubo kognicije in spomina, vključno z vaskularno demenco, demenco z Lewyjevim telesci in frontotemporalno demenco (4).

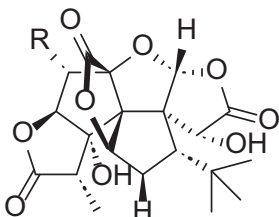
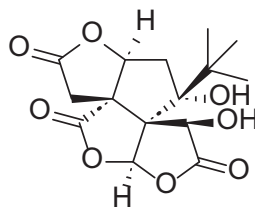
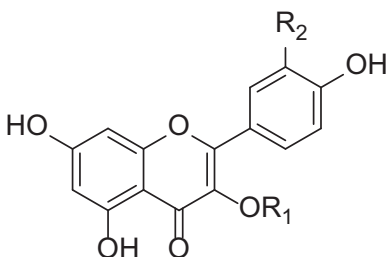
V dveh randomiziranih, dvojno slepih, s placebom nadzorovanih kliničnih raziskavah pri bolnikih z blago kognitivno okvaro je EGb 761 pokazal boljše učinkovitost v primerjavi s placebom v smislu izboljšanja kognitivnih funkcij. Pri uporabi tako placeba kot tudi EGb 761 niso poročali o resnih neželenih učinkih (23, 24). V primeru blage do zmerne demence je EGb 761 pokazal boljše rezultate kot placebo pri izboljšanju kognitivnih funkcij, nevropsihičnih simptomov, vsakodnevne funkcionalnosti in kakovosti življenja (25, 26). V zadnjih nekaj desetletjih so objavili veliko kliničnih preiskovanj s pozitivnimi rezultati v smislu simptomatske učinkovitosti in varnosti, čeprav je bilo najdaljše trajanje spremljanja v teh raziskavah omejeno na 12 do 52 tednov (15).

3.2 ANTIDEPRESIVNI UČINKI

V klinični raziskavi so Dai in sod. potrdili antidepresivne učinke EGb 761. V raziskavi, ki je vključevala 136 starejših bolnikov z depresijo, so dokazali zmanjšane koncentracije serumskega označevalca S100B (označevalec možganske poškodbe, ki je v primeru depresije povišan) ob kombinirani

Preglednica 1: Struktura in delovanje izbranih zdravilnih učinkovin, ki jih vsebuje dvokrpi ginko (4, 7, 13, 32).

Table 1: Structure and function of selected active compounds from ginkgo (4, 7, 13, 32).

Učinkovina	Struktura	Delovanje
Diterpeni		
Ginkolid A R = H		<ul style="list-style-type: none"> - protivnetno - imunomodulatorno - nevroprotektivno pri ishemični možganski kapi
Ginkolid B R = OH		<ul style="list-style-type: none"> - protivnetno - vazoprotektivno - nevroprotektivno pri ishemični možganski kapi - antioksidativno - antiidiabetično - proapoptotsko
Ginkolid K		<ul style="list-style-type: none"> - antioksidativno - imunomodulatorno - nevroprotektivno pri ishemični možganski kapi
Seskviterpeni		
Bilobalid		<ul style="list-style-type: none"> - protivnetno - vazoprotektivno - antioksidativno - antiidiabetično - nevroprotektivno - antiishemično - zaščitni učinek na krvni sistem
Flavonoidi		
Kvercetin R ₁ = H, R ₂ = OH		<ul style="list-style-type: none"> - protivnetno - antioksidativno - protimikrobno - antiidiabetično - protirakavo - nevroprotektivno - zaščitni učinek na krvni sistem
Kempferol R ₁ = H, R ₂ = H		<ul style="list-style-type: none"> - protivnetno - antioksidativno
Izoramnetin R ₁ = H, R ₂ = OCH ₃		<ul style="list-style-type: none"> - protivnetno - nevroprotektivno - antihipertenzivno - protirakavo - hipoglikemično - zaščitni učinek na krvni sistem



terapiji EGb 761 in citaloprama. Rezultati so pokazali dobro sinergistično delovanje, čas nastopa delovanja je bil hitrejši v primeru zgoraj omenjene kombinacije kot pa pri monoterapiji. Tudi v tej raziskavi svetujejo EGb 761 kot dopolnitev k terapiji za izboljšanje kognitivnih funkcij pri starejših bolnikih z depresijo (27).

Herrschaft in sod. so uporabili EGb 761 pri pacientih z generalizirano anksiozno motnjo, razdeljenih v dve skupini. Ena skupina, ki je vključevala 195 ljudi, je prejela EGb 761 v obliki tablet, medtem ko je druga skupina, sestavljena iz 197 ljudi, prejela placebo v obliki tablet. Raziskava je trajala 24 tednov. Rezultati so pokazali izboljšane kognitivne sposobnosti in zmanjšano anksioznost (28).

3.3 TINITUS

Ker dvokrpi ginko deluje preko več mehanizmov hkrati, znanstveniki predpostavljajo, da bi ga lahko uporabili za zdravljenje tinitusa, ki velja za simptom in ne za samostojno bolezen (8, 29). V raziskavi so Procházková in sod. primerjali delovanje EGb 761 in pentoksifilina na izboljšanje stanja tinitusa. Rezultati niso pokazali očitne prednosti ene učinkovine pred drugo v smislu učinkovitosti, prenašanje EGb 761 pa je bilo veliko boljše. V tej dvojno slepi raziskavi, v katero je bilo vključenih 196 bolnikov, so ugotovili, da sta bili učinkovini podobno učinkoviti pri zmanjševanju trpljenja bolnikov s subkroničnim ali kroničnim tinitusom. Med aktivnim zdravljenjem je 19 od 100 (19,0 %) preiskovancev v skupini, ki je prejela EGb 761, doživelo skupno 20 neželenih učinkov. V skupini, ki je prejela pentoksifilin, pa je 27 od 100 (27,0 %) preiskovancev doživelo skupno 36 neželenih učinkov, pri čemer niso poročali o nobenem resnem neželenem učinku. Zaradi narave bolezni, ki zahteva dolgotrajno zdravljenje, so raziskovalci predpostavili, da imajo bolniki s tinitusom pogosto subsindromsko depresijo ali anksioznost. Kot smo že omenili v prejšnjem delu članka, ima EGb 761 dokazane antidepresivne in anksiolitične učinke. Verjetno so tudi zaradi tega dodatnega delovanja EGb 761 pacienti bolje prenašali EGb 761 kot pa pentoksifilin (30). Kot glavni mehanizem delovanja EGb 761 za zdravljenje tinitusa bi lahko opredelili antioksidativno in protivnetno delovanje ter sposobnost povečanja nevronske plastičnosti, kar zmanjša poškodbo tkiva in nevrološke poškodbe (31).

3.4 ISHEMIČNI ŠOK

Izveček dvokrpega ginka se v sodobni kitajski medicini uporablja za zdravljenje akutne ishemične kapi. V raziskavah pogosto uporabljajo injekcijo ginkovih diterpenskih lak-

tonov (GDLI). Gre za zmes ginkolida A (38 %), ginkolida B (60 %) in ginkolida K (2 %) (preglednica 1). Gre za patentirano zdravilo, ki ga je Državna farmacevtska uprava Kitajske certificirala za zdravljenje blage do zmerno hude možganske kapi. Rezultati raziskav kažejo, da lahko GDLI (v kombinaciji z acetilsalicilno kislino) okrepi protitrombotični učinek s preprečevanjem klasične poti aktivacije trombocitov preko arahidonske kisline. Prav tako poročajo o zmanjšanju povprečne prostornine trombocitov (32).

Pri tem igrajo pomembno vlogo ginkolidi A, B in K, ki so v GDLI prisotni v 45-krat večjih količinah kot v klasičnih izvlečkih dvokrpega ginka (33). Ginkolid B izkazuje več nevroprotektivnih mehanizmov delovanja, vključno s protivnetnimi in protiapoptotičnimi mehanizmi ter zaščitnim delovanjem na krvno-možgansko pregrado. Ginkolidu K pa pripisujejo antioksidativno delovanje, zaščito mitohondrijev, povečanje avtofagije ter spodbujanje nevrogeneze (30). Zaradi večjih količin ginkolidov A, B in K GDLI izkazuje superiornost nad EGb 761, kadar ju primerjajo v raziskavah na ljudeh z ishemično kapjo (33).

V raziskavi, izvedeni na Kitajskem med februarjem 2016 in majem 2018, so kot kontrolno skupino uporabili placebo (fiziološka raztopina). Udeleženci raziskave so 48 ur po prvih simptomih možganske kapi prejeli injekcijo GDLI, ki je vsebovala 25 mg učinkovine v 5 mL intravenske infuzije, ali pa placebo enkrat na dan, v obdobju 14 dni. Na 90. dan po zdravljenju so stanje preverili z globalno lestvico za oceno invalidnosti po možganski kapi, kjer se ocene gibljejo od 0 (brez simptomov ali popolno okrevanje) do 6 (smrt). Rezultati so pokazali oceno invalidnosti po možganski kapi med 0 in 1 v 50,8 % pri skupini, ki je prejela GDLI, ter v 44,1 % pri skupini, ki je prejela placebo. Večja razlika pri oceni invalidnosti se pojavi, ko upoštevamo oceno invalidnosti, manjšo od 2; v tem primeru je bila v skupini, ki je prejela GDLI, 83,8 %, medtem ko je bila v skupini, ki je prejela placebo, 69,5 % (34).

Zgoraj opisane raziskave so bile izvedene na Kitajcih, zato je potrebna previdnost pri posploševanju teh ugotovitev na druge etnične skupine.

3.5 STAROSTNA DEGENERACIJA MAKULE

Zaradi sposobnosti izvlečkov dvokrpega ginka, da povečajo pretok krvi in delujejo zaščitno na celične membrane preko antioksidativnega delovanja, raziskovalci domnevajo, da bi lahko imeli ugoden učinek pri zdravljenju starostne degeneracije makule (35). Ta bolezen se z napredovanjem kaže kot slabšanje ostrine vida, zato so v raziskavah sprem-

ljali vpliv peroralne aplikacije EGb 761 na izboljšanje ostrine vida. V raziskavi, ki so jo izvedli Lebuissou in sod., so primerjali delovanje EGb 761 s placebom. EGb 761 so aplicirali dvakrat dnevno, terapija pa je trajala šest mesecev. V skupini pacientov, ki je prejela EGb 761, se je ostrina vida izboljšala pri devetih od desetih ljudi, medtem ko se je v primeru prejemanja placeba izboljšala le pri dveh od desetih ljudi (36).

V drugi raziskavi so Fies in sod. primerjali delovanje dveh različnih odmerkov EGb 761, ki so ga aplicirali dnevno, terapija pa je trajala 24 tednov. Rezultati raziskave niso bili statistično značilni, saj se je ostrina vida izboljšala v obeh primerih skupin pacientov (37). S tem ko so zabeležili izboljšanje v vseh skupinah ljudi, težko potrdimo, da ima EGb 761 zares zdravilni učinek pri stanju starostne degeneracije makule. Čeprav zgoraj opisani raziskavi nakazujeta na pozitivne učinke EGb 761 na stanje starostne degeneracije makule, bi vseeno potrebovali raziskave, ki vključujejo večjo skupino ljudi in ki trajajo dlje od šest mesecev.

4 SKLEP

Pregled raziskav kaže, da je dvokrpi ginko izjemno obetavna zdravilna rastlina, ki s svojimi učinkovinami po številnih signalnih poteh vpliva na fiziološke procese in bolezni. S svojim farmakološkim potencialom, ki zajema npr. antioksidativne in protivnetne lastnosti, je sposoben sočasno delovati na več mehanizmov nastanka bolezni hkrati oz. lajšati različne simptome bolezni. Vendar pa trenutno prevladujejo predvsem raziskave *in vitro* in raziskave na živalih v laboratorijskih razmerah, zato je treba izvesti več kliničnih raziskav na ljudeh za boljše razumevanje celovitega spektra učinkov dvokrpega ginka. Z raziskavami na ljudeh bomo tudi bolj natančno določili njegove varnost, učinkovitost in načine uporabe za različne zdravstvene indikacije.

5 LITERATURA

- Janeš D, Kočevar Glavač N, editors. *Sodobna kozmetika, sestavine naravnega izvora. Velenje: Širimo dobro besedo, d. o. o.; 2015.*
- European Union herbal monograph on *Ginkgo biloba* L., *folium* [Internet]. European Medicines Agency; 2015. Dostopno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-european-union-herbal-monograph-ginkgo-biloba-l-folium_en.pdf
- Christen Y, Maixent JM. What is *Ginkgo biloba* extract EGb 761? An overview – from molecular biology to clinical medicine. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2002 Sep;48(6):601-11
- Noor-E-Tabassum, Das R, Lami MS, Chakraborty AJ, Mitra S, Tallei TE, idr. *Ginkgo biloba: A Treasure of Functional Phytochemicals with Multimedicinal Applications*. Foyet HS. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2022 Feb28;2022:1-30.
- Saleh A, Anwar MM, Zayed AE, Ezz Eldeen MES, Affifi G, Alnashiri HM, idr. *Impact of Ginkgo biloba extract and magnetized water on the survival rate and functional capabilities of pancreatic β -cells in type 2 diabetic rat model. DMSO*. 2019 Aug;Volume 12:1339-47.
- Xu S, Tang L, Qian X, Wang Y, Gong J, Yang H, et al. *Molecular mechanism of Ginkgo biloba in treating type 2 diabetes mellitus combined with non-alcoholic fatty liver disease based on network pharmacology, molecular docking, and experimental evaluations*. *Journal of Food Biochemistry*. 2022 Dec;46(12).
- Eisvand F, Razavi BM, Hosseinzadeh H. *The effects of Ginkgo biloba on metabolic syndrome: A review*. *Phytotherapy Research*. 2020 Aug;34(8):1798-811.
- Priyanka A, Sindhu G, Shyni G, Preetha Rani M, Nisha V, Raghu K. *Bilobalide abates inflammation, insulin resistance and secretion of angiogenic factors induced by hypoxia in 3T3-L1 adipocytes by controlling NF- κ B and JNK activation*. *International Immunopharmacology*. 2017 Jan;42:209-17.
- Jing FY, Zhou YZ, Wang HY, Yin XL, Zhang YQ. *Enhancing antioxidant and anti-hyperglycaemic functions of ginkgo biloba L. seeds using thermal detoxification*. *Journal of Functional Foods*. 2021 Dec;87:104819.
- Liu H, Pei X, Shi K, Wang J, Han F, Li A. *Effects of replacing wheat flour with detoxified ginkgo nut powder on lipid metabolism of obese C57BL/6J male mice*. *Food and Agricultural Immunology*. 2018 Jan 1;29(1):39-55.
- Labkovich M, Jacobs EB, Bhargava S, Pasquale LR, Ritch R. *Ginkgo Biloba Extract in Ophthalmic and Systemic Disease, With a Focus on Normal-Tension Glaucoma*. *Asia-Pacific Journal of Ophthalmology*. 2020 May;9(3):215-25.
- Koltermann A, Hartkorn A, Koch E, Fürst R, Vollmar AM, Zahler S. *Ginkgo biloba extract EGb® 761 increases endothelial nitric oxide production in vitro and in vivo*. *Cell Mol Life Sci*. 2007 Jul;64(13):1715-22.
- Biernacka P, Adamska I, Felisiak K. *The Potential of Ginkgo biloba as a Source of Biologically Active Compounds—A Review of the Recent Literature and Patents*. *Molecules*. 2023 May 9;28(10):3993.
- Morató X, Marquié M, Tartari JP, Lafuente A, Abdelhour C, Alegret M, idr. *A randomized, open-label clinical trial in mild cognitive impairment with EGb 761 examining blood markers of inflammation and oxidative stress*. *Sci Rep*. 2023 Apr 3;13(1):5406.
- Kang JM, Lin S. *Ginkgo biloba and its potential role in glaucoma*. *Current Opinion in Ophthalmology*. 2018 Mar;29(2):116-20.
- Park YM, Won JH, Yun KJ, Ryu JH, Han YN, Choi SK, idr. *Preventive Effect of Ginkgo biloba Extract (GBB) on the Lipopolysaccharide-Induced Expressions of Inducible Nitric Oxide Synthase and Cyclooxygenase-2 via Suppression of Nuclear Factor- κ B in RAW 264.7 Cells*. 2006;29(5).
- Zhang L, Liu J, Ge Y, Liu M. *Ginkgo biloba Extract Reduces Hippocampus Inflammatory Responses, Improves Cardiac*



- Functions And Depressive Behaviors In A Heart Failure Mouse Model. *NDT*. 2019 Oct;Volume 15:3041-50.
18. Phytochemistry Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Ayatollahi SA, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Khoshshirat S, Hearing Disorders Research Center, Loghman Hakim Medical Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Peyvandi AA, idr. Ginkgo biloba modulates hippocampal BDNF expression in a rat model of chronic restraint stress-induced depression. *Physiol Pharmacol*. 2020 Jun 15;24(4):285-97.
 19. Nowak A, Kojder K, Zielonka-Brzezicka J, Wróbel J, Bosiacki M, Fabiańska M, idr. The Use of Ginkgo Biloba L. as a Neuroprotective Agent in the Alzheimer's Disease. *Front Pharmacol*. 2021 Nov 4;12:775034.
 20. Qian Y, Xia L, Shi W, Sun Jj, Sun Yq. The effect of EGB on proliferation of gastric carcinoma SGC7901 cells. *Clin Transl Oncol*. 2016 May;18(5):521-6.
 21. Sereda M, Xia J, Scutt P, Hilton MP, El Refaie A, Hoare DJ. Ginkgo biloba for tinnitus. *Cochrane ENT Group. Cochrane Database of Systematic Reviews*. 16. november 2022
 22. Han D, Cao C, Su Y, Wang J, Sun J, Chen H, idr. Ginkgo biloba exocarp extracts inhibits angiogenesis and its effects on Wnt/ β -catenin-VEGF signaling pathway in Lewis lung cancer. *Journal of Ethnopharmacology*. 2016 November;192:406-12.
 23. Gavrilova SI, Preuss UW, Wong JWM, Hoerr R, Kaschel R, Bachinskaya N, idr. Efficacy and safety of Ginkgo biloba extract EGb 761 © in mild cognitive impairment with neuropsychiatric symptoms: a randomized, placebo-controlled, double-blind, multi-center trial. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2014 Oct;29(10):1087-95.
 24. Grass-Kapanke B, Busmane A, Lasmanis A, Hoerr R, Kaschel R. Effects of Ginkgo Biloba Special Extract EGb 761® in Very Mild Cognitive Impairment (vMCI). *NM*. 2011;02(01):48-56.
 25. Savaskan E, Mueller H, Hoerr R, von Gunten A, Gauthier S. Treatment effects of Ginkgo biloba extract EGb 761© on the spectrum of behavioral and psychological symptoms of dementia: meta-analysis of randomized controlled trials. *Int Psychogeriatr*. 2018 Mar;30(3):285-93.
 26. Hoerr R, Bachinskaya, Ihl R. Alleviating neuropsychiatric symptoms in dementia: the effects of Ginkgo biloba extract EGb 761®. *Findings from a randomized controlled trial. NDT*. 2011 Apr;209.
 27. Dai CX, Hu CC, Shang YS, Xie J. Role of Ginkgo biloba extract as an adjunctive treatment of elderly patients with depression and on the expression of serum S100B. *Medicine*. 2018 Sep;97(39):e12421.
 28. Herrschaft H, Nacu A, Likhachev S, Sholomov I, Hoerr R, Schlaefke S. Ginkgo biloba extract EGb 761© in dementia with neuropsychiatric features: A randomised, placebo-controlled trial to confirm the efficacy and safety of a daily dose of 240 mg. *Journal of Psychiatric Research*. 2012 Jun;46(6):716-23.
 29. Mahmoudian-Sani MR, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Asadi-Samani M, Yang Q. Ginkgo biloba in the treatment of tinnitus: An updated literature review. *The International Tinnitus Journal*. 2017;21(1)
 30. Procházková K, Šejna I, Skutil J, Hahn A. Ginkgo biloba extract EGb 761© versus pentoxifylline in chronic tinnitus: a randomized, double-blind clinical trial. *Int J Clin Pharm*. 2018 Oct;40(5):1335-41.
 31. Radunz CL, Okuyama CE, Branco-Barreiro FCA, Pereira RMS, Diniz SN. Clinical randomized trial study of hearing aids effectiveness in association with Ginkgo biloba extract (EGb 761) on tinnitus improvement. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 2020 Nov;86(6):734-42.
 32. Chen C, Lv H, Shan L, Long X, Guo C, Huo Y, idr. Antiplatelet effect of ginkgo diterpene lactone meglumine injection in acute ischemic stroke: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytotherapy Research*. 2023 May;37(5):1986-96.
 33. Zhang D, Wang Y, Meng Z, Feng L, Cao K, Li T, idr. Efficacy of Diterpene Ginkgolides Meglumine injection in elderly patients with ischemic stroke: A post hoc analysis of a randomized controlled trial. *Phytomedicine*. 2022 Nov;106:154391.
 34. Zhang Q, Wang A, Xu Q, Xia X, Tian X, Zhang Y, idr. Efficacy and Safety of Ginkgo Diterpene Lactone Meglumine in Acute Ischemic Stroke: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Netw Open*. 2023 Aug 14;6(8):e2328828.
 35. Evans JR. Ginkgo biloba extract for age-related macular degeneration. *Cochrane Eyes and Vision Group. Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2013 Jan 31.
 36. Lebuissou DA, Leroy L, Rigal G. Treatment of senile macular degeneration with Ginkgo biloba extract. A preliminary double-blind drug vs. Placebo study; *La Press Medicale*. 1986;15(31):1556-8.
 37. Fies P, Diemel A. Ginkgoextrakt bei eingeschränktem Sehvermögen - Behandlung mit dem Spezialextrakt EGb 761R bei Beeinträchtigung aufgrund seniler trockener Makuladegeneration*. *Wien Med Wochenschr*. 2002 Aug;152(15-16):423-6.

PREBOJ V ZDRAVLJENJU PRESNOVNIH BOLEZNI: INOVATIVNA MOLEKULA TIRZEPATID

BREAKTHROUGH IN THE TREATMENT OF METABOLIC DISORDERS: INNOVATIVE MOLECULE TIRZEPATIDE

AVTORJI / AUTHORS:

Andrijana Koceva, dr. med.¹

dr. Nika Aleksandra Kravos Tramšek, dr. med.¹

doc. dr. Mojca Lunder, dr. med.²

doc. dr. Miodrag Janić, dr. med.²

¹ Univerzitetni klinični center Maribor,
Oddelek za endokrinologijo in diabetologijo,
Ljubljanska ulica 5, 2000 Maribor

² Univerzitetni klinični center Ljubljana,
Klinični oddelek za endokrinologijo, diabetes in
presnovne bolezni, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: andrijana_koceva@yahoo.com

POVZETEK

Razvoj sodobnih antihiperглиkemičnih zdravil, vztrajno posodabljanje priporočil za zdravljenje sladkorne bolezni in razvoj naprednih tehnologij so v zadnjih letih v strmem vzponu. Kljub temu pa sladkorna bolezen in debelost ostajata pomembna javnozdravstvena problema z vztrajno naraščajočo prevalenco. V Sloveniji že nestrno pričakujemo tirzepatid, prvi dvojni agonist receptorjev glukogonu podobnega peptida 1 (GLP-1) in receptorjev inzulinotropnega polipeptida (GIP). Gre za inovativno učinkovino, ki učinkovito zmanjša koncentracijo glukoze v krvi ter dolgoročno uravna glikemijo, obenem pa omogoča pomembno zmanjšanje telesne mase. Spodbuja tudi shranjevanje prehranskih maščob, ugodno vpliva na nealkoholno zamaščenost jeter, krvni tlak in verjetno tudi kostno prenovo. Tirzepatid je dostopen v obliki prednapolnjenega injekcijskega peresnika, aplicira se podkožno, enkrat tedensko. Neželeni učinki (predvsem prebavni) so redki, blagi do zmerni in običajno prehodne narave. Glede na obseg ugodnih učinkov tirzepatida se nam obeta dodatna sprememba paradigem zdravljenja več presnovnih bolezni.

KLJUČNE BESEDE:

agonist receptorjev GIP, agonist receptorjev GLP-1, debelost, sladkorna bolezen, tirzepatid

ABSTRACT

The development of modern antidiabetic drugs, a continuous adaptation of recommendations for treating diabetes and the development of advanced technologies have been on a steep rise in recent years. Nevertheless, diabetes and obesity remain significant public health problems with a steadily increasing prevalence. In Slovenia, we eagerly await for tirzepatide, the first dual agonist of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and insulinotropic polypeptide (GIP) receptors. It is an innovative active ingredient that effectively reduces glucose concentration and provides a long-term regulation of glycemia while at the same time enabling an effective lowering of body weight. It also promotes the storage of dietary fats, has a beneficial effect on non-alcoholic fatty liver disease, blood pressure and possibly a beneficial effect on bone remodelling. Tirzepatide is available



as a pre-filled injection pen, administered subcutaneously once a week. Adverse effects (mainly gastrointestinal) are rare, mild to moderate and usually transient. Considering the extent of the beneficial effects of tirzepatide, an additional change in the treatment paradigms of several metabolic diseases is promising.

KEY WORDS:

diabetes melitus, GIP receptor agonist, GLP-1 receptor agonist, obesity, tirzepatide

1 UVOD

Sladkorna bolezen je napredujoča kronična bolezen, za katero je značilna vztrajna hiperglikemija, ki je posledica nezadostnega izločanja inzulina, njegovega nezadostnega delovanja ali obojega. Kljub pomembnemu razvoju sodobnih zdravil, tehnologij in pristopov k zdravljenju ostaja sladkorna bolezen pomemben javnozdravstveni problem, saj dosega pandemične razsežnosti. S sladkorno boleznijo na svetu živi 537 milijonov ljudi (1), v Sloveniji okoli 145.200 (2). Pomemben dejavnik tveganja za razvoj sladkorne bolezni tipa 2 je debelost (3). Obe bolezni pomembno povečata tveganje za nastanek srčno-žilnih bolezni in vodita v prezgodnjo invalidnost in smrt (4, 5). Vzporedno narašča tudi pojavnost nealkoholne zamaščenosti jeter, po novem imenovane z metaboličnim sindromom povezana zamaščenost jeter, ki do petkrat poveča tveganje za razvoj sladkorne bolezni tipa 2, pri osebah s sladkorno boleznijo tipa 2 tudi poteka hitreje (6); trenutno je ne moremo zdraviti vzročno.

2 POMEN INKRETINOV V PATOFIZIOLOGIJI SLADKORNE BOLEZNI

Inkretini so peptidni hormoni (glukagonu podoben peptid-1 (GLP-1) in od glukoze odvisni inzulinotropni polipeptid (GIP)), ki so odgovorni za inkretinski učinek. Slednji pomeni pomembno povečanje izločanja inzulina po peroralnem vnosu hranil v primerjavi z intravensko aplikacijo glukoze. Proizvajajo jih enteroendokrine celice, razporejene vzdolž

celotne prebavne cevi. Na tešče so koncentracije GLP-1 in GIP v plazmi nizke, do povečanja njune koncentracije pa pride 15 do 30 minut po zaužitju hranil. Spodbujata izločanje inzulina iz beta celic trebušne slinavke v odvisnosti od koncentracije glukoze ter prispevata k približno 70 % fiziološkega izločanja inzulina po obroku. GIP poveča tudi izločanje glukagona iz alfa celic trebušne slinavke v obdobjih hipoglikemije, zmanjša inzulinso odpornost, poveča privzem glukoze v mišice ter vpliva na presnovo maščob. GLP-1 zmanjša izločanje glukagona iz alfa celic trebušne slinavke in upočasni praznjenje želodca, kar poveča občutek sitosti (4, 7). Njuno delovanje je kratko, v 1–5 minutah po izločanju ju razgradi encim dipeptidil peptidaza 4 (7). Oba hormona imata ugodne učinke tudi v drugih organih, kar prikazuje slika 1.

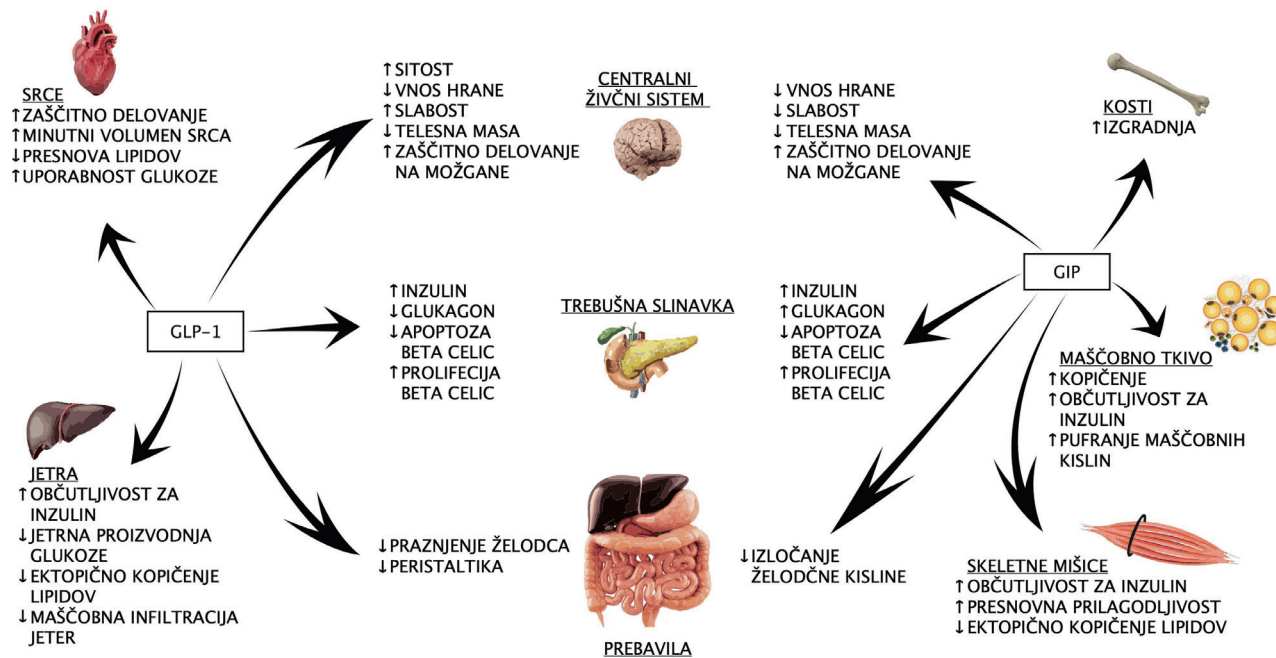
Pri osebah s sladkorno boleznijo je inkretinski učinek zmanjšan ali celo odsoten, kljub temu da je koncentracija izločenih inkretinov primerljiva z zdravimi osebami. Inkretinski učinek je večinoma zmanjšan na račun zmanjšane delovanja GIP, saj z večanjem koncentracije eksogenega GLP-1 njegov inzulinotropni učinek linearno raste, medtem ko pri povečevanju koncentracije eksogenega GIP tega učinka ni (8). Tako je bil razvoj antihiperglikemičnih zdravil do sedaj usmerjen v razvoj in proizvodnjo agonistov receptorjev GLP-1. Po najnovejših dognanjih znižanje koncentracije glukoze v krvi privede tudi do zmanjšanja odpornosti beta celic na GIP, kar je spodbudilo razmišljanje o kombiniranju agonistov receptorjev za GIP z drugimi učinkovinami za uravnavanje koncentracije glukoze v krvi in je privedlo tudi do razvoja tirzepatida (7).

3 TIRZEPATID, PRVI DVOJNI AGONIST RECEPTORJEV ZA GIP IN GLP-1

Tirzepatid je prvi dvojni agonist receptorjev za GIP in GLP-1, ki so ga leta 2022 odobrili za zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2 pri ameriški Upravi za hrano in zdravila ter Evropski agenciji za zdravila (4).

3.1 STRUKTURA

Tirzepatid je sintezni linearni peptid z molekularno maso 4813 Da, sestavljen iz verige 39 aminokisljin, ki temeljijo na nativni sekvenci GIP. Linearni peptid tirzepatida je kovalentno vezan z delom maščobne dikisljne C₂₀ na stranski verigi aminokisljne Lys20. Stranska veriga maščobnih kislin



Slika 1: Učinki inkretinov glukagonu podobnega peptida-1 (GLP-1) in od glukoze odvisnega inzulintropnega peptida (GIP). Povzeto po (5).
 Figure 1: Effects of incretins, glucagon-like polypeptide 1 (GLP-1) and glucose dependent insulinotropic peptide (GIP). Adopted from (5).

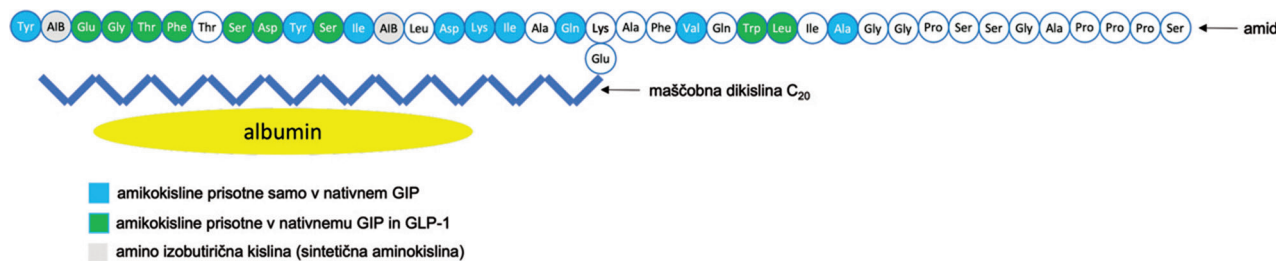
omogoča vezavo na albumin po podkožni aplikaciji zdravila, kar upočasni encimsko razgradnjo in podaljša razpolovni čas učinkovine (4, 7, 9).

3.2 FARMAKODINAMIKA

Tirzepatid je dvojni agonist v obliki ene molekule, ki se lahko veže tako na receptorje za GIP kot tudi na receptorje za GLP-1 ter jih sočasno aktivira. Na receptorje za GIP se veže s podobno afiniteto kot nativni GIP, na receptorje za GLP-1 pa s petkrat manjšo afiniteto. Raziskave *in vitro* so pokazale primerljivo aktivacijo receptorja za GIP kot ob delovanju nativnega GIP, medtem ko je bila aktivacija re-

ceptorja za GLP-1 13-krat manjša v primerjavi z nativnim GLP-1 (4). Receptorji za GLP-1 in GIP se nahajajo na alfa, beta in delta celicah trebušne slinavke, v različnih presnovnih centrih v centralnem živčevju in v kosteh, medtem ko maščobne celice izražajo le receptorje za GIP. Aktivacija receptorjev za GIP in GLP-1 na beta celicah trebušne slinavke poveča izločanje inzulina, zmanjša porabo energije in izboljša občutljivost tkiv za inzulin. Posledično se zniža koncentracija glukoze v krvi, kar dodatno izboljša občutljivost beta celic za GIP (11).

Dodatek agonista receptorjev za GIP k agonistu receptorjev za GLP-1 lahko poveča toleranco agonista receptorjev za GLP-1 in razširi terapevtsko okno. Agonizem za GIP spod-



Slika 2: Struktura tirzepatida. Povzeto po (10). GIP – od glukoze odvisen inzulintropni peptid, GLP-1 – glukagonu podoben peptid-1.
 Figure 2: Structure of tirzepatide. Adopted from (10). GIP – glucose dependent insulinotropic peptide, GLP-1 – glucagon like peptide-1.

buja izgubo telesne mase z zmanjšanjem vnosa kalorij preko neposrednega delovanja na receptorje za GIP v hipotalamusu in preko aktivacije receptorjev za GIP na nevronih zmanjša z agonisti receptorjev GLP-1 povzročeno slabost (11).

3.3 FARMAKOKINETIKA

Farmakokinetika tirzepatida je pri osebah z in brez sladkorne bolezni primerljiva. Mesto podkožne aplikacije ne vpliva na učinek zdravila. Čas največje plazemske koncentracije je dosežen po 24 do 48 urah, dinamično ravnovesje plazemske koncentracije pa po štirih injekcijah, to je po štirih tednih. Biološka uporabnost zdravila je 80 %, razpolovni čas je približno pet dni, kar omogoča podkožno injiciranje zdravila enkrat tedensko. Presnovki se izločajo z urinom in blatom (4, 12).

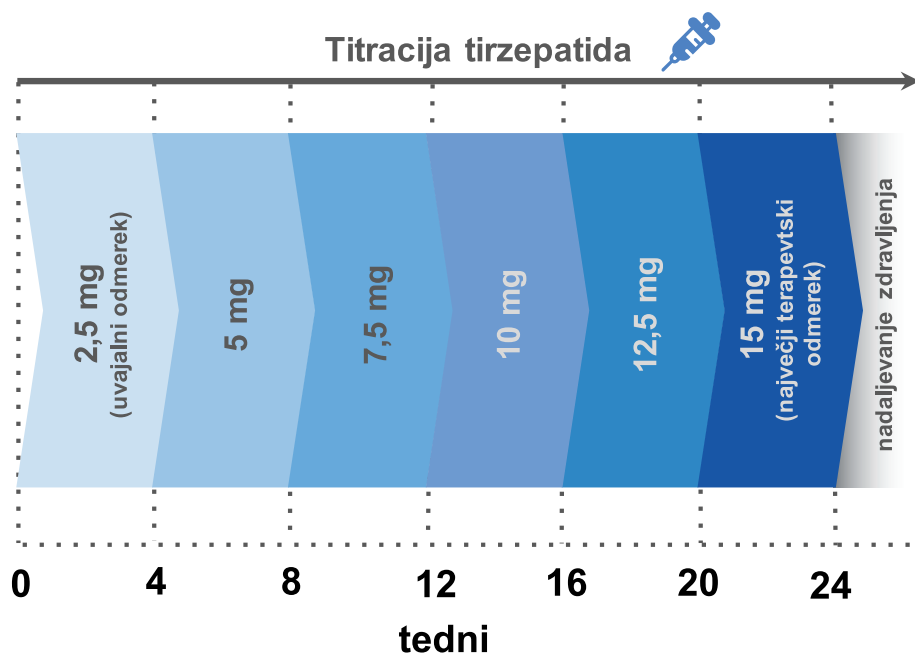
Farmakokinetika se bistveno ne spremeni s starostjo, spolom, raso, telesno maso ali upadom delovanja ledvic ali jeter. Prav tako glede na trenutno razpoložljive podatke tirzepatid ne vpliva na aktivnost citokromov P450. Absorpcija drugih učinkovin je ob začetku zdravljenja s tirzepatidom lahko zmanjšana ali upočasnjena. To je predvsem pomembno pri jemanju peroralnih kontraceptivov, še posebno etinilestradiola in norgestimata (4).

3.4 ODMERJANJE

Tirzepatid je dostopen v obliki prednapolnjenega injekcijskega peresnika za enkratno uporabo, v odmerkih 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 12,5 mg in 15 mg. Priporočeni začetni odmerek je 2,5 mg enkrat tedensko, odmerek se po štirih tednih poviša na 5 mg enkrat tedensko, ki je tudi prvi terapevtski odmerek. Odmerek lahko dodatno povišamo v korakih po 2,5 mg vsake štiri tedne do največjega odmerka 15 mg, kar prikazuje slika 3. Titracija je potrebna v izogib neželenim učinkom oz. zmanjšanju možnosti njihovega pojava. Zdravilo injiciramo v podkožje na trebuhu, stegnu ali nadlakti, enkrat tedensko, na isti dan v tednu, kadar koli v dnevu, neodvisno od hrane. Injekcijska mesta je potrebno redno menjati (10, 12, 13).

4 TIRZEPATID IN SLADKORNA BOLEZEN

Učinkovitost in varnost tirzepatida pri zdravljenju sladkorne bolezni tipa 2 so potrdili v randomiziranih kliničnih raziskavah tretje faze SURPASS 1–5 (preglednica 1), ki so vklju-



Slika 3: Odmerjanje tirzepatida.
Figure 3: Dosing of tirzepatide.

čevalje 6278 preiskovancev z izhodiščnim HbA1c 7,9–8,5 %. Udeležence so sprva zdravili z odmerkom 2,5 mg tedensko in stopnjevanjem po korakih za 2,5 mg vsake štiri tedne. Čas spremljanja je bil med 40 in 52 tednov. Primarni

opazovani dogodek je bila sprememba HbA1c, med sekundarnimi opazovanimi dogodki pa doseganje določene ciljne HbA1c ter znižanje telesne mase za $\geq 5\%$ oz. $\geq 10\%$ (12).

Preglednica 1: Povzetek glavnih rezultatov raziskav SURPASS 1–5. Povzeto po (4, 12).

Table 1: Results of SURPASS 1–5 trials. Adopted from (4, 12).

Raziskava	Učinkovina	Sprememba HbA1c	HbA1c < 7%	HbA1c < 5,7%	Sprememba telesne mase
SURPASS 1: Monoterapija s tirzepatidom vs. placebo (N = 478)	tirzepatid 5 mg	-1,9 %	87 %	34 %	-7 kg
	tirzepatid 10 mg	-1,9 %	92 %	31 %	-7,8 kg
	tirzepatid 15 mg	-2,1 %	88 %	52 %	-9,5 kg
	placebo	0,04 %	20 %	1 %	-0,7 kg
SURPASS 2: Tirzepatid vs. semaglutid ob zdravljenju z metforminom (N = 1879)	tirzepatid 5 mg	-2,0 %	82 %	27 %	-7,6 kg
	tirzepatid 10 mg	-2,2 %	86 %	40 %	-9,3 kg
	tirzepatid 15 mg	-2,3 %	86 %	46 %	-11,2 kg
	semaglutid 1 mg	-1,9 %	79 %	19 %	-5,7 kg
SURPASS 3: Tirzepatid vs. inzulin degludek ob zdravljenju z metforminom z/brez zaviralca SGLT-2 (N = 1947)	tirzepatid 5 mg	-1,99 %	82 %	26 %	-7,5 kg
	tirzepatid 10 mg	-2,29 %	90 %	39 %	-10,7 kg
	tirzepatid 15 mg	-2,4 %	93 %	48 %	-12,9 kg
	degludek	-1,3 %	61 %	5 %	2,3 kg
SURPASS 4: Tirzepatid vs. inzulin glargin ob zdravljenju z metforminom in/ali zaviralcem SGLT-2 in/ali sulfonilsečnino (N = 2002)	tirzepatid 5mg	-2,2 %	81 %	23,0 %	-7,1 kg
	tirzepatid 10mg	-2,4 %	88,2 %	32,7 %	-9,5 kg
	tirzepatid 15mg	-2,6 %	90,7 %	43,1 %	-11,7 kg
	glargin	-1,4 %	50,7 %	3,4 %	-1,9 kg
SURPASS 5: Tirzepatid vs. placebo kot dodatek k inzulinu glarginu in metforminu (N = 475)	tirzepatid 5 mg + glargin	-2,1 %	87,3 %	24,4 %	-5,4 kg
	tirzepatid 10 mg + glargin	-2,4 %	89,6 %	41,6 %	-7,5 kg
	tirzepatid 15 mg + glargin	-2,3 %	84,7 %	49,6 %	-8,8 kg
	placebo + glargin	-0,9 %	34 %	2,7 %	1,6 kg

Legenda: Krepko označene vrednosti so statistično značilne. SGLT-2 – natrijevi glukozni koprenašalci 2, vs. – v primerjavi z.



V podraziskavi SURPASS 3 CGM so manjšo skupino preiskovancev spremljali tudi s pomočjo sensorja za kontinuirano merjenje glukoze v podkožju. Urejenost glikemije so spremljali s pomočjo izračuna odstotka časa v ciljnem območju glikemije, ki je bil definiran z vrednostjo glukoze med 3,9 in 7,8 mmol/L. Ob zdravljenju s tirzepatidom v odmerkih 10 mg in 15 mg je prišlo do statistično značilnega porasta odstotka časa v ciljnem območju ($p < 0,0001$), ki je ob zdravljenju s tirzepatidom znašal 73 %; v kontrolni skupini pa 48 % (14).

Raziskavi SURPASS 1 in 5 sta dokazali, da je 86 % bolnikov, zdravljenih s tirzepatidom v odmerku 15 mg, doseglo HbA1c $< 6,5$ % in 50 % bolnikov HbA1c $< 5,7$ % (15, 16), to je območje normoglikemije in možne remisije sladkorne bolezni tipa 2 (17).

5 TIRZEPATID IN DEBELOST

Temelj vseh ukrepov za zmanjšanje telesne mase je sprememba življenjskega sloga, ki vključuje zmanjšan oz. ome-

jen vnos kalorij, uravnoteženo prehrano in telesno dejavnost. Ena izmed možnosti nadgradnje so zdravila, ki delujejo na inkretinski sistem. Zaenkrat sta registrirana agonista receptorjev GLP-1 liraglutid (3 mg dnevno), in semaglutid (2,4 mg tedensko) (5, 18). Vpliv tirzepatida na telesno maso proučuje raziskovalni program SURMOUNT, ki zajema štiri multicentrične randomizirane raziskave. Zaključeni sta SURMOUNT 1 (2539 oseb z debelostjo brez sladkorne bolezni) in SURMOUNT 2 (938 oseb z debelostjo in sladkorno boleznijo). Titracijsko obdobje je trajalo 20 tednov, nato pa so udeležence spremljali še 52 tednov. Primarna opazovana dogodka sta bila odstotek znižanja telesne mase in znižanje telesne mase za ≥ 5 % (4, 19). Rezultati so podani v preglednicah 2 in 3.

Raziskave SURMOUNT 3–4 še potekajo, rezultate pričakujemo v letu 2023. V raziskavi SURMOUNT 3 proučujejo zdravljenje s tirzepatidom v primerjavi s strukturirano 12-tedensko intenzivirano spremembo življenjskega sloga. Raziskava SURMOUNT 4 proučuje vzdrževanje telesne mase po 36-tedenskem zdravljenju s tirzepatidom (4). Zaradi ugodnih rezultatov raziskave SURMOUNT 1 so ameriški Upravi za hrano in zdravila že podali predlog za hiter postopek odobritve tirzepatida za zdravljenje odraslih z debelostjo ali prekomerno telesno maso in pridruženimi boleznimi.

Preglednica 2: Rezultati raziskave SURMOUNT 1. Povzeto po (20).

Table 2: Results of the SURMOUNT 1 trial. Adopted from (20).

SURMOUNT 1	Znižanje telesne mase	Znižanje telesne mase za ≥ 5 %	Znižanje telesne mase za ≥ 20 %	Sprememba obsega pasu
Tirzepatid 5 mg	-15,0 %	85 %	30 %	-14 cm
Tirzepatid 10 mg	-19,5 %	89 %	50 %	-17,7 cm
Tirzepatid 15 mg	-20,9 %	91 %	57 %	-18,5 cm
Kontrola: placebo	-3,1 %	35 %	3 %	-4 cm

Legenda: Krepko označene vrednosti so statistično značilne.

Preglednica 3: Rezultati raziskave SURMOUNT 2. Povzeto po (21).

Table 3: Results of the SURMOUNT 2 trial. Adopted from (21).

SURMOUNT 2	Znižanje telesne mase	Znižanje telesne mase za ≥ 5 %	Znižanje telesne mase za ≥ 15 %
Tirzepatid 10 mg	-13,4 %	81,6%	41,4 %
Tirzepatid 15 mg	-15,7 %	86,4%	51,8 %
Kontrola: placebo	-3,3 %	30,5%	2,6 %

Legenda: Krepko označene vrednosti so statistično značilne.

6 DRUGI PRESNOVNI UČINKI TIRZEPATIDA

V raziskavah SURPASS 1–5, SURMOUNT 1 in 2 ter v ostalih kliničnih raziskavah je tirzepatid izkazal več ugodnih presnovnih učinkov. Beležili so pomembno znižanje sistoličnega in diastoličnega krvnega tlaka (19). Po 26 tednih zdravljenja s tirzepatidom je prišlo tudi do pomembnega znižanja ravni apoproteinov B in C-III, lipoproteinov nizke gostote (LDL) in od telesne mase neodvisnega znižanja trigliceridov ter povečanja plazemske koncentracije lipo-proteinske lipaze v primerjavi s placebom (7). Večina opisanih učinkov na maščobe je posledica agonizma receptorjev za GIP (11, 22). V podraziskavi SURPASS 3 MRI je prišlo do statistično pomembnega zmanjšanja vsebnosti maščob v jetrih v 52. tednu pri preiskovancih, zdravljenih s tirzepatidom v odmerkih 10 mg in 15 mg (–8,09 %), v primerjavi s skupino zdravljenih z degludekom (–3,38 %) ($p < 0,0001$). Raziskava SYNERGY-NASH pa bo dodatno opredelila učinke tirzepatida na jetra, saj proučuje učinkovitost in varnost tirzepatida pri bolnikih z nealkoholnim steatohepatitisom (NASH, *nonalcoholic steatohepatitis*) (4, 23). Glede na poznani vpliv endogenih GLP-1 in GIP na kostno prenavo pričakujemo, da bo imel tirzepatid ugoden učinek tudi na izgradnjo kostnine (24).

7 SRČNO-ŽILNA VARNOST IN VPLIV NA LEDVIČNO DELOVANJE

V raziskavi SURPASS 4 so spremljali učinkovitost in varnost tirzepatida v primerjavi z inzulinom glarginom pri osebah s sladkorno boleznijo tipa 2 z neustrezno urejeno glikemijo ob sočasnem zdravljenju z metforminom in/ali sulfonilsečnino in/ali zaviralci natrijevih glukočnih koprenašalcev 2 (SGLT-2). Raziskava je vključila bolnike z velikim tveganjem za srčno-žilne dogodke. V obdobju podaljšane spremljanja 52 tednov po potrditvi primarnega opazovanega dogodka ob zdravljenju s tirzepatidom niso dokazali povečanja pojavnosti pomembnih srčno-žilnih dogodkov (4, 25). Trenutno poteka še raziskava SURPASS-CVOT, ki proučuje učinkovitost in varnost tirzepatida v primerjavi z dulaglutidom pri osebah s sladkorno boleznijo tipa 2 in povečano srčno-žilno ogroženostjo. Gre za prvo raziskavo te vrste, ki ima v primerjalni skupini dula-

glutid z že dokazano srčno-žilno koristjo proti placebo, opredeljeno kot zmanjšanje pojavnosti dogodkov MACE (*major adverse cardiovascular events*), torej srčno-žilne smrti, neusodnega miokardnega infarkta ali neusodne možganske kapi (4, 12).

S podanalizo raziskave SURPASS-4 so dokazali zmanjšanje albuminurije in ocenjene glomerulne filtracije (oGF) ter zmanjšanje tveganja za ledvično okvaro (sestavljeno iz zmanjšanja oGF za ≥ 40 %, ledvične smrti, odpovedi ledvic ali novonastale mikroalbuminurije) pri osebah s sladkorno boleznijo tipa 2 in velikim tveganjem za srčno-žilne dogodke. V kombinaciji z zaviralci SGLT-2 je bil učinek še večji, do upočasnitve zmanjšanja oGF pa je prišlo tudi pri bolnikih z oGF > 60 mL/min/1,73 m² in/ali normoalbuminurijo (27).

8 NEŽELENI UČINKI TIRZEPATIDA

Varnostni profil tirzepatida je skladen s profilom agonistov receptorjev GLP-1. Najpogostejši neželeni učinki so prebavne težave (slabost, bruhanje, driska), ki so običajno blagi do zmerni, odvisni od odmerka in prehodni. Običajno se pojavijo med titracijo tirzepatida (4, 12, 19). Tirzepatid ne poveča tveganja za pojav hipoglikemij. Povečano pojavnost hipoglikemij so beležili v primeru sočasnega zdravljenja s sulfonilsečninami oz. z inzulinom, kar je podobno kot pri agonistih receptorjev GLP-1 (4). Uporaba tirzepatida ni raziskana pri preiskovancih z osebno anamnezo pankreatitisa, zato tudi ni podatkov, ali tirzepatid poveča verjetnost za ponovitev bolezni (9). Povzetek neželenih učinkov in njihovo pojavnost glede na odmerke tirzepatida povzema preglednica 4.

9 OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI PRI ZDRAVLJENJU S TIRZEPATIDOM

Tirzepatid je kontraindiciran pri bolnikih z medularnim karcinomom ščitnice oz. bolnikih s sindromom multiple endokrine neoplazije tipa 2 ter pri znani preobčutljivosti za tirzepatid ali katero koli pomožno snov zdravila (4). Prejemanje tirzepatida v času dojenja ni bilo proučeno, prav tako ni znano, ali prehaja v materino mleko. Prejemanje



Preglednica 4: Združeni podatki o pojavu neželenih učinkov pri različnih odmerkih tirzepatida. Povzeto iz metaanalize (26).

Table 4: Pooled data on the occurrence of adverse events depending on tirzepatide dose. Adapted from meta-analysis (26).

Neželeni učinki	Placebo	Tirzepatid 5 mg	Tirzepatid 10 mg	Tirzepatid 15 mg
Vsi prebavni neželeni učinki	15,5 %	39,1%	45,6%	49,3%
Slabost	4,9 %	13,3 %	17,9 %	24,1 %
Driska	8,3 %	13,2%	17,2 %	20,8 %
Bruhanje	2,7 %	5,7 %	8,3 %	14,0 %
Dispepsija	2,2 %	6,0 %	8,5 %	6,8 %
Reakcija na mestu injiciranja	1,1 %	1,9 %	2,4 %	3,1 %
Preobčutljivost	3,9 %	3,2 %	3,0 %	2,4 %
Akutni pankreatitis	0,3 %	0,4 %	0,4 %	0,3 %
Akutni holecistitis	0,6 %	0,1 %	0,6 %	0,2 %
Hipoglikemija pod 3,9 mmol/l	ni podatkov	17,4 %	22,6 %	21,0 %
Hipoglikemija pod 2,8 mmol/l	3,9 %	3,6 %	3,3 %	3,5 %

tirzepatida v času nosečnosti glede na raziskave na živalih lahko škoduje plodu. Ženskam, ki uporabljajo peroralne kontraceptive, svetujemo, da preidejo na neperoralno kontracepcijsko metodo ali dodajo pregradno metodo kontracepcije štiri tedne po začetku zdravljenja s tirzepatidom in štiri tedne po vsakem povečanju odmerka tirzepatida (4, 13).

poleg sladkorne bolezni naslovilo spekter presnovnih bolezni in pomenilo preboj v njihovem vzročnem zdravljenju.

10 SKLEP

Tirzepatid je prvi dvojni agonist receptorjev za GIP in GLP-1, kar povečuje obseg njegovih terapevtskih indikacij in učinkovitosti, od sladkorne bolezni do debelosti in nealkoholne zamaščenosti jeter ter drugih presnovnih sprememb. Apliciramo ga v obliki podkožnih injekcij enkrat tedensko in učinkovito zniža HbA1c ter ugodno vpliva na druge presnovne parametre. Neželeni učinki so redki in prehodni. Glede na trenutno veljavne smernice za zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2, ki svetujejo individualiziran pristop, bi ga lahko postavili ob bok agonistom receptorjev GLP-1, in sicer kot prvo injekcijsko zdravljenje sladkorne bolezni. Glede na potekajoče raziskave pa pričakujemo dodatno potrditev učinkovitosti in odobritev tirzepatida pri zdravljenju debelosti, s čimer bi se oddaljili od presnovne kirurgije in približali učinkovitemu nekirurškemu zdravljenju večje populacije ljudi. Gre torej za obetavno zdravlilo, ki bi lahko

11 LITERATURA

1. Global picture. *IDF Diabetes Atlas. 10 ed: International Diabetes Federation; 2021. p. 30-53.*
2. Eržen I. Obvladovanje sladkorne bolezni - ključni podatki za leto 2021. In: *Zaletel J NP, editor. Ljubljana: Nacionalni inštitut za javno zdravje, Ljubljana; 2022.*
3. Janež A, Epšek M, Klen J, Kunst G, Marušič D, Rotar Pavlič D, et al. *Strokovna priporočila za zdravljenje debelosti z zdravili. Ljubljana: Slovensko osteološko društvo; 2022. p. 15.*
4. Gallwitz B. *Clinical perspectives on the use of the GIP/GLP-1 receptor agonist tirzepatide for the treatment of type-2 diabetes and obesity. Frontiers in Endocrinology: Frontiers Media S.A.; 2022.*
5. Tan Q, Akindehin SE, Orsso CE, Waldner RC, DiMarchi RD, Müller TD, et al. *Recent Advances in Incretin-Based Pharmacotherapies for the Treatment of Obesity and Diabetes. Frontiers in Endocrinology: Frontiers Media S.A.; 2022.*
6. Volčanšek Š, Novak K. 31. Nealkoholna zamaščenost jeter. In: *Pongrac Barlovič D, editor. Slovenske smernice za klinično obravnavo sladkorne bolezni tipa 2: Diabetološko Zdrženje Slovenije; 2022. p. 274-77.*
7. Fisman EZ, Tenenbaum A. *The dual glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonist tirzepatide: a novel cardiometabolic therapeutic prospect. Cardiovascular Diabetology: BioMed Central Ltd; 2021.*
8. Nauck MA, Meier JJ. *The incretin effect in healthy individuals and those with type 2 diabetes: physiology, pathophysiology,*

- and response to therapeutic interventions. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(6):525-36.
9. Ali R, Virendra SA, Chawla PA. Bumps and humps in the success of Tirzepatide as the first GLP1 and GIP receptor agonist. *Health Sciences Review.* 2022;4:100032-.
 10. Nauck MA, D'Alessio DA. Tirzepatide, a dual GIP/GLP-1 receptor co-agonist for the treatment of type 2 diabetes with unmatched effectiveness regarding glycaemic control and body weight reduction. *Cardiovasc Diabetol.* 2022;21(1):169.
 11. Samms RJ, Coghlan MP, Sloop KW. How May GIP Enhance the Therapeutic Efficacy of GLP-1? *Trends in Endocrinology and Metabolism: Elsevier Inc.;* 2020. p. 410-21.
 12. Tall Bull S, Nuffer W, Trujillo JM. Tirzepatide: A novel, first-in-class, dual GIP/GLP-1 receptor agonist. *Journal of Diabetes and its Complications.* 2022;36(12):108332-.
 13. Highlights of prescribing information FDA2022 [Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/215866s000lbl.pdf]
 14. Battelino T, Bergenstal RM, Rodriguez A, Fernandez Lando L, Bray R, Tong Z, et al. Efficacy of once-weekly tirzepatide versus once-daily insulin degludec on glycaemic control measured by continuous glucose monitoring in adults with type 2 diabetes (SURPASS-3 CGM): a substudy of the randomised, open-label, parallel-group, phase 3 SURPASS-3 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2022;10(6):407-17.
 15. Rosenstock J, Wysham C, Frias JP, Kaneko S, Lee CJ, Fernandez Lando L, et al. Efficacy and safety of a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist tirzepatide in patients with type 2 diabetes (SURPASS-1): a double-blind, randomised, phase 3 trial. *Lancet.* 2021;398(10295):143-55.
 16. Dahl D, Onishi Y, Norwood P, Huh R, Bray R, Patel H, et al. Effect of Subcutaneous Tirzepatide vs Placebo Added to Titrated Insulin Glargine on Glycemic Control in Patients With Type 2 Diabetes: The SURPASS-5 Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2022;327(6):534-45.
 17. Ko JH, Kim TN. Type 2 Diabetes Remission with Significant Weight Loss: Definition and Evidence-Based Interventions. *J Obes Metab Syndr.* 2022;31(2):123-33.
 18. Davies M, Færch L, Jeppesen OK, Pakseresht A, Pedersen SD, Perreault L, et al. Semaglutide 2·4 mg once a week in adults with overweight or obesity, and type 2 diabetes (STEP 2): a randomised, double-blind, double-dummy, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet.* 2021;397(10278):971-84.
 19. Forzano I, Varzideh F, Avvisato R, Jankauskas SS, Mone P, Santulli G. Tirzepatide: A Systematic Update. *International Journal of Molecular Sciences: MDPI;* 2022.
 20. Jastreboff AM, Aronne LJ, Ahmad NN, Wharton S, Connery L, Alves B, et al. Tirzepatide Once Weekly for the Treatment of Obesity. *N Engl J Med.* 2022;387(3):205-16.
 21. Lilly's tirzepatide achieved up to 15.7% weight loss in adults with obesity or overweight and type 2 diabetes in SURMOUNT-2 2023 [Available from: <https://investor.lilly.com/node/48776/pdf>].
 22. Nauck MA, Quast DR, Wefers J, Pfeiffer AFH. The evolving story of incretins (GIP and GLP-1) in metabolic and cardiovascular disease: A pathophysiological update. *Diabetes, Obesity and Metabolism: John Wiley and Sons Inc;* 2021. p. 5-29.
 23. Gastaldelli A, Cusi K, Fernandez Lando L, Bray R, Brouwers B, Rodriguez A. Effect of tirzepatide versus insulin degludec on liver fat content and abdominal adipose tissue in people with type 2 diabetes (SURPASS-3 MRI): a substudy of the randomised, open-label, parallel-group, phase 3 SURPASS-3 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2022;10(6):393-406.
 24. Zhao C, Liang J, Yang Y, Yu M, Qu X. The Impact of Glucagon-Like Peptide-1 on Bone Metabolism and Its Possible Mechanisms. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017;8:98.
 25. Del Prato S, Kahn SE, Pavo I, Weerakkody GJ, Yang Z, Doupis J, et al. Tirzepatide versus insulin glargine in type 2 diabetes and increased cardiovascular risk (SURPASS-4): a randomised, open-label, parallel-group, multicentre, phase 3 trial. *Lancet.* 2021;398(10313):1811-24.
 26. Mishra R, Raj R, Elshimy G, Zapata I, Kannan L, Majety P, et al. Adverse Events Related to Tirzepatide. *J Endocr Soc.* 2023;7(4):bvad016.



3D CELIČNI MODELI IN NJIHOVA UPORABA PRI TESTIRANJU PROTIRAKAVIH ZDRAVILNIH UČINKOVIN

3D CELL MODELS AND THEIR USE IN TESTING OF ANTICANCER DRUGS

AVTORICE / AUTHORS:

asist. dr. Alja Zottel, mag. biokem.¹

Vesna Kokondoska Grgič, mag. bioteh.²

doc. dr. Maša Sinreih, mag. farm.³

¹ Center za funkcijsko genomiko in biočipe,
Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko,
Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

² Kemomed Research and Development,
KEMOMED, d. o. o., svetovanje, trgovina in trženje

³ Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko,
Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: masa.sinreih@gmail.com

POVZETEK

Večina protirakavih zdravil, ki preidejo iz predkliničnih v klinična preskušanja, nima dovoljenja za promet z zdravilom, kar nakazuje veliko vrzel med rezultati predkliničnih in kliničnih raziskav. Eden izmed razlogov je pomanjkanje ustreznih predkliničnih modelov za testiranje potencialnih zdravilnih učinkovin, saj večino predkliničnih poskusov opravimo na 2D celičnih modelih, ki pa ne odražajo prave narave tumorja. Zato se v zadnjem času vedno bolj v ospredje postavljajo 3D celični modeli. Ti bolje posnemajo mikrookolje, ki je ključna komponenta tumorja. Poznamo več različnih tipov 3D modelov, t. i. 3D modele brez ogrodja in 3D modele z ogrodjem. 3D celični modeli brez ogrodja so pripravljene npr. z uporabo plošče z ultrazvokom pritrditvijo celic, z metodo viseče kapljice, magnetno levitacijo ali z uporabo bioreaktorja. 3D celični modeli z ogrodjem pa so pripravljene tako, da so celice vgrajene v nosilcu, na nosilcu ali pa so modeli pripravljene s 3D biotiskanjem. V prihodnosti bodo tovrstni modeli vedno bolj uporabljeni pri testiranju protirakavih učinkovin.

KLJUČNE BESEDE:

3D celični modeli, rak, sferoidi, testiranje zdravilnih učinkovin

ABSTRACT

Most anti-cancer drugs that move from the pre-clinical phase to clinical trials are not approved, indicating a large discrepancy between the results of preclinical and clinical studies. One of the reasons for this is the lack of appropriate preclinical models for drug testing. Most experiments are performed on 2D cell culture models which do not accurately reflect the true nature of a tumor. Therefore, 3D cell models are becoming increasingly prominent. They better replicate tumor microenvironment which is an essential component of the tumor. 3D models can be classified into so-called scaffold-free models and scaffold-based models. Scaffold-free models are generated in a variety of ways, such as using an ultra-low cell attachment plate, a hanging droplet, magnetic levitation or a bioreactor, while 3D scaffold-based models are generated by embedding cells into the scaffold,

seeding on the scaffold or by 3D bioprinting. In the future, such models will be increasingly used for testing anti-cancer drugs.

KEY WORDS:

cancer, 3D cell models, drug testing, spheroids

1 UVOD

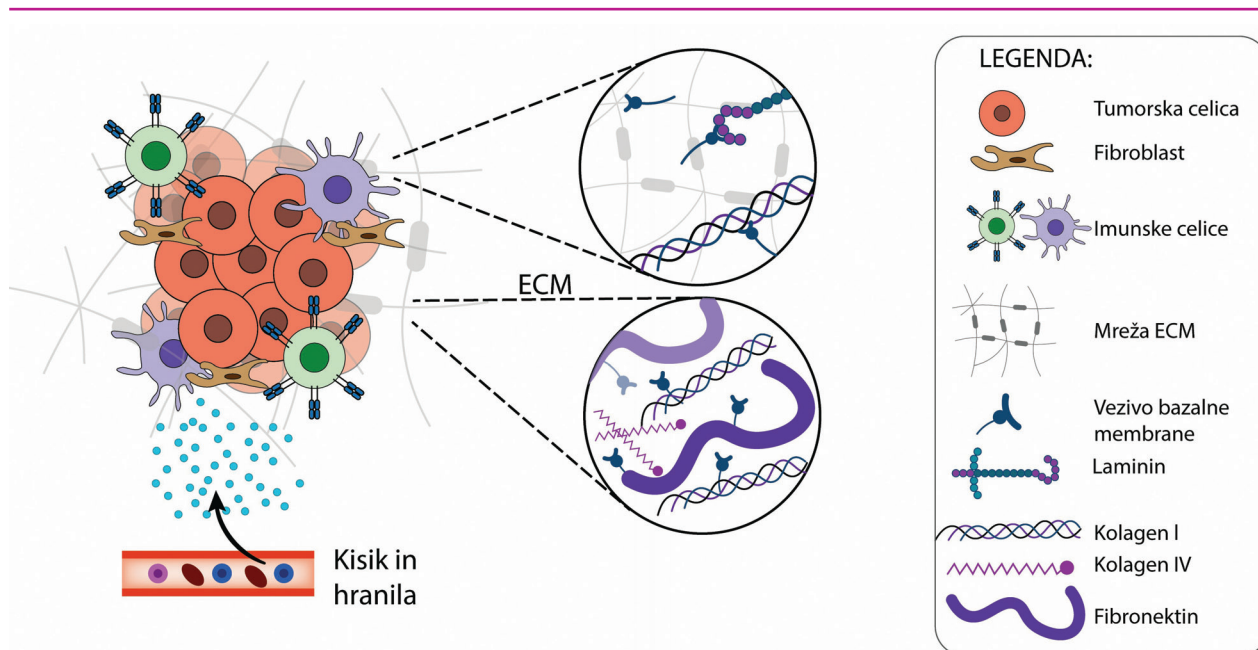
Razvoj novih zdravilnih učinkovin je dolgotrajen in drag proces, ki vodi od razvoja spojin vodnic do kliničnih preskušanj in na koncu klinične rabe. Čeprav je razvoj protirakavih učinkovin že desetletja v ospredju in razmahu, pa je le malo takih, ki uspešno zaključijo klinične raziskave (1, 2). Dve področji, kjer pričakujemo izboljšanje uspešnosti razvoja zdravil, sta iskanje novih bioloških označevalcev in novih tarč za zdravilne učinkovine ter dostopnost novih predkliničnih modelov, ki bodo bolje posnemali biologijo in mikrookoljske dejavnike *in vivo* (3).

Celične linije uporabljamo zaradi njihove nesmrtnosti in dostopnosti pri proučevanju biologije tumorjev, testiranju zdra-

vilnih učinkovin in njihovih učinkov na molekularni ravni. Lahko pa jih vključimo tudi pri iskanju novih potencialnih tarč za zdravljenje in pri visokozmogljivem rešetanju potencialnih spojin z biološko aktivnostjo (3, 4). Raziskave so pokazale, da 3D celične kulture bolje posnemajo okolje *in vivo* kot enostavni 2D modeli, kjer celice rastejo v monoslojih, kar kaže na pomembnost oponašanja arhitekture in mikrookolja *in vivo* (4). Čeprav 2D modele še vedno pogosto uporabljamo pri rešetanju potencialnih zdravilnih učinkovin, pa so znanstveniki že razvili tehnologije, ki omogočajo ponovljive in cenovno dostopne poskuse na 3D modelih.

2 PREDNOSTI 3D CELIČNIH MODELOV

Kar devet od desetih kliničnih preskušanj zdravil trenutno ni uspešnih, kar nakazuje izjemno slab prehod zdravilnih učinkovin iz predkliničnih raziskav v klinična preskušanja. Velik preboj pri kliničnih fazah preskušanja se je zgodil leta 2022, ko je ameriška Agencija za hrano in zdravila (FDA) umaknila zahtevo po testiranju novih zdravil na živalih. To



Slika 1: Tumorske celice in njihovo mikrookolje.
Figure 1: Tumor cells and their microenvironment.



je hkrati izjemno spodbudilo razvoj novih modelov bolezni, ki bi jih uporabljali za testiranje zdravilnih učinkovin (5).

Med najbolj obetavnimi so 3D celični modeli, ki imajo vrsto prednosti pred klasičnimi 2D modeli. Klasični način testiranja zdravilnih učinkovin je uporaba celičnih linij, ki rastejo v monosloju, vendar pa le-te ne ponazarjajo natančno celične rasti. Gojenje tumorskih celičnih linij je sicer precej preprosto, poceni in omogoča visokozmogljivo testiranje, vendar celične kulture nimajo tumorskega mikrookolja, ki je ključna komponenta tumorja in pomembno vpliva na odziv na terapijo (6, 7). Poleg tega celični modeli ne morejo odražati epigenetske, medtumorske in intratumorske kompleksnosti tumorja in ne morejo poustvariti infiltracije celic, nekroze tumorja in mikrovaskularne proliferacije (8, 9). Omejitev celičnih linij je tudi v tem, da lahko serum v celičnem gojišču bistveno spremeni lastnosti celic, dolgotrajnejše gojenje pa selekcionira tiste celice, ki se najhitreje delijo (10, 11). Prednost uporabe 3D modelov je tudi v tem, da lahko z uporabo kokultur poustvarimo različne procese.

Raziskave kažejo, da celice, gojene v nefizioloških 2D pogojih, ne oponašajo ustrezno celic iz kompleksnega mikrookolja tkiva. Celice niso dovolj medsebojno povezane in rastejo v odsotnosti zunajceličnega ogrodja. Molekule zunajceličnega ogrodja vključujejo proteine, kot so kolagen in elastin, glikoproteini, glikozaminoglikani, proteoglikani, rastni dejavniki in drugi (slika 1). Primarno mikrookolje tumorja sestavljajo tudi netumorske celice. Spremembe v teh komponentah uravnavajo celično proliferacijo, diferenciacijo in migracijo, preživetje in adhezijo ter so vključene tudi v odziv celic na zdravilne učinkovine. Poleg tega lahko interakcije med celicami na zunanji strani tumorja in zunajceličnim ogrodjem povzročijo drugačen odziv tumorskih celic na učinkovino kot pri celicah v notranjosti tumorja. Celice v notranjosti tumorja, ki niso v stiku z ogrodjem, namreč propadejo, medtem ko so celice, pritrjene na ogrodje, odpornejše (3, 12).

3 METODE PRIPRAVE 3D CELIČNIH MODELOV

Zaradi razvoja novih tehnologij in napredka raziskav na področju biologije celic danes poznamo veliko različnih načinov gojenja 3D celičnih modelov, ki so jih razvili na podlagi poznavanja celično-tkivne zgradbe (13, 14). Pri vzpostavljanju 3D celičnih modelov nastajajo celični agregati, ki jim zaradi

sferične oblike pravimo sferoidi. V grobem poznamo 3D celične modele brez ogrodja in z ogrodjem (slika 2).

3.1 3D CELIČNI MODELI BREZ OGRODJA

3D celični modeli brez ogrodja (*3D scaffold free models*) za tvorbo 3D strukture ne potrebujejo nosilca, saj se celice zaradi gravitacije posedejo in zaradi naravne sposobnosti agregacije tvorijo skupke (15). Najstarejša metoda za gojenje 3D celičnih kultur, ki spada med tehnike brez ogrodja, je gojenje celic v **viseči kapljici**. Celice se nabirajo na dnu kapljice, na stiku med tekočino in zrakom, ter se v kapljici povežejo in tvorijo sferoid (16).

Na podobnem principu temelji tudi priprava sferoidov na **ploščah z ultranizko pritrditvijo (ULA)**. Vdolbinice plošče so prevlečene z inertnim substratom (npr. polistirenom), ki blokira pritrditev celic in povzroči, da se celice v suspenziji združijo v vidne sferoide (17). Naprednejši sistemi, ki jih uporabljamo za daljše gojenje sferoidov, so **vrteči bioreaktorji**. Z vrtenjem se zmanjša vpliv gravitacije, s čimer preprečimo pritrjevanje sferoidov na površino. Posledično plavajo v gojišču in počasi rastejo; celice iz eksponentne faze rasti preidejo v dinamično fazo (18).

Metoda priprave sferoidov z **magnetno levitacijo** uporablja super paramagnetne nanodelce železovega oksida, ki jih adherentne celice med inkubacijo preko noči prevzamejo. Tako označene celice se nasadijo v plošče; magnet postavimo na vrh pokrova plošče in celice se v nekaj urah združijo v sferoide (19).

Vse naštet metode za pripravo 3D modelov brez ogrodja so primerne za gojenje tumorskih celic, zlasti tistih, ki izločajo proteine zunajceličnega ogrodja in so podvržene samozdruževanju v visoko organizirane 3D strukture, podobne tkivu (20).

3.2 METODE PRIPRAVE SFEROIDOV Z OGRODJEM

3D celične modele, ki za oporo uporabljajo biomateriale, imenujemo 3D modeli z ogrodjem (angl. 3D scaffold-based models). Glavni namen ogrodja je posnemanje naravnega ECM tkiv (21). ECM celicam zagotavlja mehansko podporo, omogoča medcelično komunikacijo ter aktivira ključne celične procese, kot so adhezija, migracija, proliferacija in diferenciacija (22).

Pri takšnem načinu gojenja lahko nadziramo obliko celičnih sferoidov in prehajanje hranil ter raziskujemo interakcije

med celicami in matriksom. Gojenje sferoidov je dolgotrajnejše, saj rastejo veliko počasneje kot v monosloju. Ker rast celic ni eksponentna, lahko celice večji del svoje energije porabijo za ostale celične procese (23).

Ena od tehnik za pripravo 3D modelov z ogrodjem je »**celice na nosilcu**«, kjer se celice v enocelični suspenziji nasadijo na vrh strjenega nosilca, čemur sledi inkubacija pri 37 °C. Celice se spontano združijo in tvorijo sferoide, medtem ko ostanejo pritrjene na nosilcu (24). Druga različica te tehnike je »**celice, vgrajene v nosilcu**«. Pri tej tehniki celice nasadimo v nosilec, tako da se po zamreževanju biomateriala vgradijo v nosilec (25).

Področje **3D biotiska** je v zadnjih petih letih doseglo znaten tehnološki napredek in je postalo najobetavnejši pristop za razvoj 3D modelov tumorskega tkiva, ki jih je mogoče uporabiti kot modele za proučevanje biologije raka in reševanje novih zdravilnih učinkovin (26). Poleg tega lahko s 3D biotiskom razvijamo biološke nosilce z mikrometrsko prostorsko ločljivostjo z nizkimi strižnimi silami, da lahko

ob tiskanju celice preživijo. Glavna prednost biotiskanja je možnost natančnega posnemanja zelene strukture, fizikalnih lastnosti materialov kot tudi celične sestave izvornega tkiva (27).

Spodnja preglednica (preglednica 1) prikazuje primerjavo med 2D celičnimi modeli, 3D celičnimi modeli brez ogrodja in 3D celičnimi modeli z ogrodjem.

4 PRIMERI UPORABE 3D MODELOV ZA TESTIRANJE ZDRAVILNIH UČINKOVIN

3D modele intenzivno uporabljamo za proučevanje delovanja zdravilnih učinkovin. V tem poglavju bomo na kratko predstavili uporabnost 3D modelov pri šestih različnih rakavih boleznih, raku dojke, raku prostate, raku pljuč, raku jajčnikov, raku trebušne slinavke in glioblastomu. Za vse

Preglednica 1: Prednosti in slabosti različnih tipov celičnih modelov.

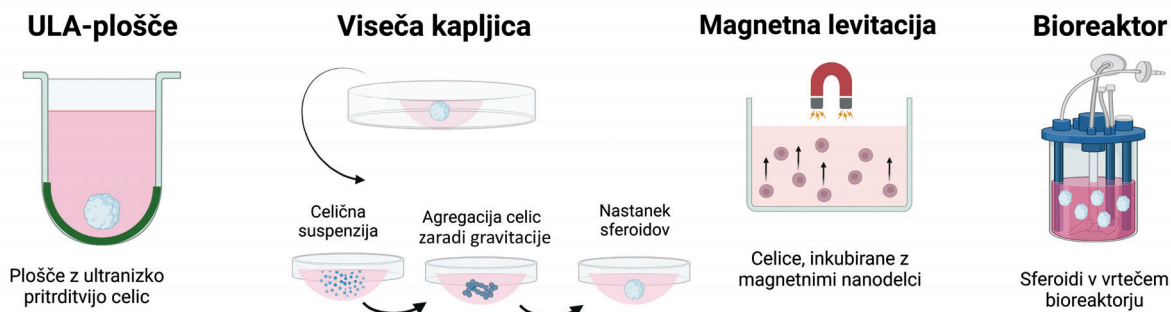
Table 1: Advantages and disadvantages of different types of cellular models.

Celični model	Prednosti	Slabosti
2D celični model	<ul style="list-style-type: none"> • Poceni • Uveljavljen • Veliko primerjalne literature • Enostavna analiza celic 	<ul style="list-style-type: none"> • Ne predstavlja realnega okolja tkiva • Nepredvidljiv • Selekcija celic pri daljšemu gojenju, nefiziološki celični medij • Genetska nestabilnost
3D celični model brez ogrodja	<ul style="list-style-type: none"> • Hitra tvorba sferoidov • Možnost posnemanja nekrotičnega jedra • Poceni in enostavno za rokovanje • Na eni plošči lahko gojimo veliko število sferoidov • Končne analize lahko delamo na isti plošči • Lahko izvajamo več poskusov naenkrat 	<ul style="list-style-type: none"> • Heterogenost sferoidov • Ni interakcij z zunajceličnim ogrodjem • Lahko imamo mešanico pritrjenih celic in sferoidov • Pri magnetni levitaciji morajo biti celice predhodno tretirane z magnetnimi kroglicami. Magnetne kroglice so drage in so lahko pri visoki koncentraciji toksične.
3D celični model z ogrodjem	<ul style="list-style-type: none"> • Bolje posnema mikrookolje <i>in vivo</i> • 3D arhitektura ogrodja lahko pospeši interakcije med celicami ali celico in ogrodjem, ki so nujne za funkcijo in naravo celic • Integracija toka • Ustvarjanje bariere tkiva • Bolj realističen način za gojenje in tretiranje tumorskih celic 	<ul style="list-style-type: none"> • Možnost razgradnje ogrodja in toksičnosti • Potreba po specializirani opremljenosti in znanju • Težavno nadzorovanje mikrookolja celičnega sistema • Počasnejša rast in povečan nastanek nekroze zaradi prostorske omejenosti • Hidrogel zahteva posebno ravnanje

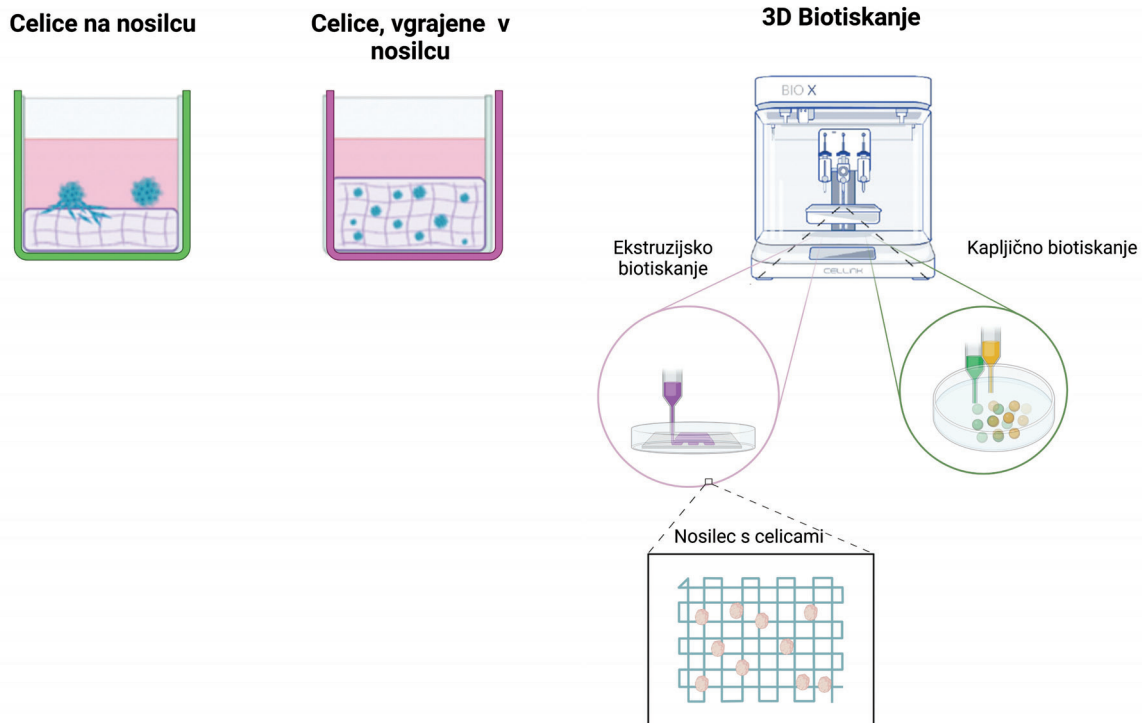


Vrste 3D celičnih modelov

A) 3D celični modeli brez ogrodja



B) 3D celični modeli z ogrodjem



Slika 2: Vrste 3D modelov celičnih kultur; ULA – ultra-low attachment; ustvarjeno z BioRender.com.

Figure 2: Types of 3D cell culture models; ULA – ultra-low attachment, created with BioRender.com.

omenjene rake velja, da imajo visoko smrtnost, zato je odkrivanje novih, učinkovitejših zdravil ključno za boljše obvladovanje bolezni.

4.1 RAK DOJKE

Rak dojke je najpogosteje diagnosticiran rak in najpogostejši vzrok smrti zaradi raka pri ženskah. Rak dojke razdelimo na več podtipov, odvisno od prisotnosti hormonskih receptorjev, povišanega nivoja receptorja za epidermalni rastni dejavnik 2 (HER2) in dodatne kopije gena HER2. Zdravljenje in prognoza bolezni sta odvisna od podtipa (28). Rak dojke je zaradi visoke pogostosti in umrljivosti velik družbeni in zdravstveni problem, zato je razvoj na tem področju izjemnega pomena.

Domingues in sod. so nadgradili osnovni model sferoidov, tako da so ustvarili heterogeni sferoid, sestavljen iz celične linije raka dojke MCF-7, monocitov in fibroblastov. Sferoide so nato tretirali s paklitakselom, gefitinibom in z nanodelci z gefitinibom, rezultate pa so primerjali z rezultati na ustrezni 2D kulturi. Ugotovili so, da je trend preživetja celic v prisotnosti določenega kemoterapevtika v 3D modelih primerljiv z 2D, le da so učinki na 3D kulture šibkejši kot pri 2D (29).

4.2 RAK PROSTATE

Rak prostate je najpogostejši rak pri moških in drugi najpogostejši vzrok smrti zaradi raka pri moških. Zdravljenje v začetni stopnji obsega kirurško odstranitev prostate, radioterapijo, brahiterapijo, krioterapijo in androgeno odtegnitveno terapijo. Pogosto pa rak prostate napreduje v od androgenov neodvisno stanje, ki ima slabo prognozo in visok metastatski potencial (30). Razvoj 3D celičnih modelov je pri tem raku ključen za boljše testiranje novih potencialnih terapij.

Boccellino in sod. so razvili sferoide celičnih linij raka prostate in jih gojili v ogrodju Matrigela. Sferoide so nato tretirali s tremi kemoterapevtiki, cisplatinom, paklitakselom in docetakselom ter s kurkuminom. Preživetje celic so nato določili z reagentom MTT. Ugotovili so, da ima kurkumin podoben učinek na preživetje sferoidov kot kemoterapevtiki (30). Jouberton in sod. so prav tako razvili sferoide iz celične linije raka prostate. Gojili so jih v ogrodju iz metilceluloze. 2D kulturo in sferoide različnih starosti so nato tretirali z docetakselom. Ugotovili so, da je IC_{50} za docetaksel najvišji pri najstarejših sferoidih in najnižji pri 2D kulturi (31).

4.3 PLJUČNI RAK

Rak pljuč je eden izmed najpogostejših vzrokov smrti pri moških in ženskah, saj povzroča več kot 25 % smrti zaradi raka. Najpogostejši rak pljuč je nemajhnocelični karcinom pljuč, ki ima nizko stopnjo preživetja, približno 26 % v petih letih (32). Zdravljenje je odvisno od histologije in genetskega profila tumorja oz. mutacij v genih *EGFR*, *ROS1*, *ALK*, *NTRK1*, *BRAFV600E*, *RET* in *KRAS* (33). Podobno kot pri ostalih vrstah tumorjev je tudi pri pljučnem raku prisotno pomanjkanje klinično relevantnih modelov.

Qi in sod. so razvili modele sferoidov iz celične linije nemajhnoceličnega raka pljuč. Pripravili so sferoide brez ogrodja in z ogrodjem kolagena. Sferoide in 2D celice so nato tretirali s petimi kemoterapevtiki, pemetreksedom, gemcitabinom, paklitakselom, cisplatinom in etopozidom. Pri vseh petih kemoterapevtikih so opazili, da so vrednosti IC_{50} najnižje pri 2D modelu, srednje pri sferoidih brez ogrodja ter najvišje pri sferoidih z ogrodjem (34). Podobno so Luan in sod. razvili sferoide iz treh celičnih linij nemajhnoceličnega raka pljuč. Sferoide so gojili na plošči z 12 vdolbinami, kjer je vsaka vdolbina vsebovala 1000 agaroznih mikroluknjic. Sferoide so nato tretirali z dvema inhibitorjema receptorja za epidermalni rastni dejavnik, ki sta odobrena s strani FDA za zdravljenje pljučnega raka. Preživetje sferoidov so določili kot razmerje med živimi sferoidi (sferoidi brez mrtvih celic, določeno s fluorescenco) in vsemi sferoidi. Rezultate so primerjali z rezultati na 2D kulturi ter ugotovili, da je IC_{50} pri sferoidih višji kot pri 2D kulturi (32).

4.4 RAK JAJČNIKOV

Rak jajčnikov je najbolj smrtonosen od vseh ginekoloških malignih bolezni ter peti vodilni vzrok smrti zaradi raka pri ženskah po vsem svetu (35). Je bolezen s kompleksnim tumorskim mikrookoljem, ki ga je v laboratorijskih raziskavah težko posnemati. Poleg tega je predklinično reševanje novih spojin z uporabo tradicionalnih 2D kultur in živalskih modelov povezano z nizko korelacijo s podatki, pridobljenimi v kliničnih preskušanjih.

Loessner in sod. (36) so opisali 3D sferoidni model z uporabo hidrogelov in pokazali, da celice raka jajčnikov proizvajajo svoje lastno zunajcelično ogrodje, ki omogoča preživetje in proliferacijo večceličnih sferoidov in interakcije med celicami. Njihov hidrogelni 3D sferoidni model je pokazal večjo odpornost na zdravilne učinkovine proti raku kot 2D modeli. Leta 2020 objavljena raziskava pa kaže, da je metoda prisilnega lebdenja celic v ploščah z ultrazviko



pritrditvijo primernejša in enostavnejša za ustvarjanje sferoidov raka jajčnikov za reševanje zdravilnih učinkovin in teste citotoksičnosti kot metoda viseče kapljice (37). Prva velika panelna raziskava, objavljena v *Nature* leta 2013, je vzpostavila in opisala 3D modele *in vitro* iz 31 celičnih linij epitelijskega raka jajčnikov. Njihove biološke in molekularne značilnosti so primerjali z značilnostmi 2D kultur in primarnih tumorjev ter z merjenjem celične viabilnosti testirali njihovo učinkovitost kot modelov za ocenjevanje odzivnosti celic na cisplatin in paklitaksel (38). Ugotovili so, da se odziv v sferoidih razlikuje od odziva 2D kulture.

4.5 RAK TREBUŠNE SLINAVKE

Rak trebušne slinavke je eden izmed najsmrtonosnejših rakov z izjemno nizkim preživetjem, le 2 do 9 % v petih letih (39). Najpogostejše zdravljenje obsega kirurško odstranitev tumorja, kemoterapijo in radioterapijo (40). Driehuis in sod. so razvili 3D celične modele iz tkiva tumorja trebušne slinavke, izoliranega iz bolnikov, in jih gojili v prisotnosti ekstrakta bazalne membrane. Vsakega od teh so tretirali s 76 različnimi zdravilnimi učinkovinami. Z vrednotenjem celične viabilnosti so ugotovili, da se 3D modeli iz različnih bolnikov nanje različno odzivajo. Za štiri bolnike so odziv modela primerjali z odzivom bolnika in ugotovili, da se rezultati ujemajo z rezultati bolnikov na zdravilno učinkovino (41). Podobno so tudi Henning in sod. razvili 3D celične modele iz tkiva tumorja trebušne slinavke in z vrednotenjem celične viabilnosti analizirali vpliv kemoterapije. Pokazali so, da se različni modeli različno odzivajo na kemoterapijo in bi lahko v prihodnosti služili za napovedovanje najučinkovitejšega zdravljenja s čim manj neželenimi učinki (42).

4.6 GLIOBLASTOM

Glioblastom je najpogostejši primarni možganski tumor in spada v skupino gliomov, tumorjev glia celic. Je tudi eden izmed najbolj smrtonosnih rakov, saj je petletno preživetje bolnikov le 5,6-odstotno kljub prejetju standardne terapije (43).

Ratliff in sod. so razvili sferoide iz tkiva ponavljajočega se tumorja glioblastoma in jih testirali s protirakavimi zdravilnimi učinkovinami, odobrenimi s strani FDA. Ugotovili so, da se modeli različnih tumorjev različno odzivajo na učinkovine in da nekateri tumorji ostajajo odporni na vse učinkovine. Prednost te metode, še posebej v kontekstu klinične uporabe, je bila, da je od časa operacije bolnika do pridobitve rezultata o učinkovitosti učinkovin na modelih minilo 15 dni, kar je ustrezno za personalizirano terapijo (44).

5 SKLEP

Raziskave 3D modelov kažejo, da bi lahko v prihodnosti služili kot boljša alternativa 2D celičnim modelom. Postajajo pa tudi vse bolj primerljivi in v nekaterih kontekstih celo boljši modeli kot živalski, predvsem v zahtevnosti in cenovni ugodnosti poskusov. Vseeno pa so trenutno za nekatere primere živalski modeli nepogrešljivi, še posebej na področju farmakokinetike. 3D modele bi lahko v prihodnosti uporabili tudi za razvoj personaliziranega zdravljenja, saj je rak izjemno heterogena skupina boleznih, večina rakov ima tudi več podtipov.

Vendar pa bo za učinkovito klinično preskušanje in klinično uporabo zdravil potrebno preseči določene omejitve. Med najpomembnejšimi je slaba ponovljivost poskusov med posameznimi laboratoriji. Poleg tega je gojenje 3D modelov precej dražje v primerjavi z gojenjem 2D celičnih modelov. Kljub večji podobnosti sferoidov originalnim tumorjem je še vedno velik izziv ohranjanje ali poustvarjanje komponent imunskega sistema in ožilja. Poleg tega je večina raziskav opravljenih izključno na 3D modelih brez primerjave z bolniki, zato še ni popolnoma jasno, v kolikšni meri so rezultati primerljivi z odzivom bolnikov. Rezultati raziskav tudi odpirajo vprašanje, katere metode za gojenje sferoidov so najboljše, saj ne dajejo primerljivih rezultatov.

6 LITERATURA

- Hait WN. *Anticancer drug development: the grand challenges*. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2010;9(4):253-4.
- Breslin S, O'Driscoll L. *Three-dimensional cell culture: the missing link in drug discovery*. *Drug Discov Today*. 2013;18(5-6):240-9.
- Langhans SA. *Three-Dimensional in Vitro Cell Culture Models in Drug Discovery and Drug Repositioning*. *Front Pharmacol*. 2018;9:6.
- Lv D, Hu Z, Lu L, Lu H, Xu X. *Three-dimensional cell culture: A powerful tool in tumor research and drug discovery (Review)*. *Oncol Lett*. 2017;14(6):6999-7010.
- Wadman M. *FDA no longer has to require animal testing for new drugs*. *Science*. 2023;379(6628):127-8.
- Goodspeed A, Heiser LM, Gray JW, Costello JC. *Tumor-Derived Cell Lines as Molecular Models of Cancer Pharmacogenomics*. *Mol Cancer Res*. 2016;14(1):3-13.
- Neal JT, Li X, Zhu J, Giangarra V, Grzeskowiak CL, Ju J, et al. *Organoid Modeling of the Tumor Immune Microenvironment*. *Cell*. 2018;175(7):1972-88 e16.

8. Pernik MN, Bird CE, Traylor JI, Shi DD, Richardson TE, McBrayer SK, et al. Patient-Derived Cancer Organoids for Precision Oncology Treatment. *J Pers Med.* 2021;11(5).
9. Zhang C, Jin M, Zhao J, Chen J, Jin W. Organoid models of glioblastoma: advances, applications and challenges. *Am J Cancer Res.* 2020;10(8):2242-57.
10. Ruiz-Garcia H, Alvarado-Estrada K, Schiapparelli P, Quinones-Hinojosa A, Trifiletti DM. Engineering Three-Dimensional Tumor Models to Study Glioma Cancer Stem Cells and Tumor Microenvironment. *Front Cell Neurosci.* 2020;14:558381.
11. Gomez-Oliva R, Dominguez-Garcia S, Carrascal L, Abalos-Martinez J, Pardillo-Diaz R, Verastegui C, et al. Evolution of Experimental Models in the Study of Glioblastoma: Toward Finding Efficient Treatments. *Front Oncol.* 2020;10:614295.
12. Muranen T, Selfors LM, Worster DT, Iwanicki MP, Song L, Morales FC, et al. Inhibition of PI3K/mTOR leads to adaptive resistance in matrix-attached cancer cells. *Cancer Cell.* 2012;21(2):227-39.
13. Singh A, Tayalia P. Three-dimensional cryogel matrix for spheroid formation and anti-cancer drug screening. *J Biomed Mater Res A.* 2020;108(2):365-76.
14. Antoni D, Burckel H, Jossset E, Noel G. Three-dimensional cell culture: a breakthrough in vivo. *Int J Mol Sci.* 2015;16(3):5517-27.
15. Barbosa MAG, Xavier CPR, Pereira RF, Petrikaitė V, Vasconcelos MH. 3D Cell Culture Models as Recapitulators of the Tumor Microenvironment for the Screening of Anti-Cancer Drugs. *Cancers (Basel).* 2021;14(1).
16. Kelm JM, Timmins NE, Brown CJ, Fussenegger M, Nielsen LK. Method for generation of homogeneous multicellular tumor spheroids applicable to a wide variety of cell types. *Biotechnol Bioeng.* 2003;83(2):173-80.
17. Vinci M, Gowan S, Boxall F, Patterson L, Zimmermann M, Court W, et al. Advances in establishment and analysis of three-dimensional tumor spheroid-based functional assays for target validation and drug evaluation. *BMC Biol.* 2012;10:29.
18. Wrzesinski K, Rogowska-Wrzesinska A, Kanlaya R, Borkowski K, Schwammle V, Dai J, et al. The cultural divide: exponential growth in classical 2D and metabolic equilibrium in 3D environments. *PLoS One.* 2014;9(9):e106973.
19. Tseng H, Gage JA, Shen T, Haisler WL, Neeley SK, Shiao S, et al. A spheroid toxicity assay using magnetic 3D bioprinting and real-time mobile device-based imaging. *Sci Rep.* 2015;5:13987.
20. Alessandri K, Sarangi BR, Gurchenkov VV, Sinha B, Kiessling TR, Fetter L, et al. Cellular capsules as a tool for multicellular spheroid production and for investigating the mechanics of tumor progression in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(37):14843-8.
21. Tibbitt MW, Anseth KS. Hydrogels as extracellular matrix mimics for 3D cell culture. *Biotechnol Bioeng.* 2009;103(4):655-63.
22. Atat OE, Farzaneh Z, Pourhamzeh M, Taki F, Abi-Habib R, Vosough M, et al. 3D modeling in cancer studies. *Hum Cell.* 2022;35(1):23-36.
23. Yee C, Dickson KA, Muntasir MN, Ma Y, Marsh DJ. Three-Dimensional Modelling of Ovarian Cancer: From Cell Lines to Organoids for Discovery and Personalized Medicine. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:836984.
24. Ingeson-Carlsson C, Martinez-Monleon A, Nilsson M. Differential effects of MAPK pathway inhibitors on migration and invasiveness of BRAF(V600E) mutant thyroid cancer cells in 2D and 3D culture. *Exp Cell Res.* 2015;338(2):127-35.
25. Guimaraes CF, Ahmed R, Marques AP, Reis RL, Demirci U. Engineering Hydrogel-Based Biomedical Photonics: Design, Fabrication, and Applications. *Adv Mater.* 2021;33(23):e2006582.
26. Datta P, Dey M, Ataie Z, Unutmaz D, Ozbolat IT. 3D bioprinting for reconstituting the cancer microenvironment. *NPJ Precis Oncol.* 2020;4:18.
27. Zhang B, Gao L, Ma L, Luo Y, Yang H, Cui Z. 3D Bioprinting: A Novel Avenue for Manufacturing Tissues and Organs. *Engineering.* 2019;5(4):777-94.
28. Okuyama NCM, Ribeiro DL, da Rocha CQ, Pereira ER, Colus IMS, Serpeloni JM. Three-dimensional cell cultures as preclinical models to assess the biological activity of phytochemicals in breast cancer. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2023;460:116376.
29. Domingues M, Pereira CL, Sarmento B, Castro F. Mimicking 3D breast tumor-stromal interactions to screen novel cancer therapeutics. *Eur J Pharm Sci.* 2023:106560.
30. Boccellino M, Ambrosio P, Ballini A, De Vito D, Scacco S, Cantore S, et al. The Role of Curcumin in Prostate Cancer Cells and Derived Spheroids. *Cancers (Basel).* 2022;14(14).
31. Jouberton E, Voissiere A, Penault-Llorca F, Cachin F, Miot-Noirault E. Multicellular tumor spheroids of LNCaP-Luc prostate cancer cells as in vitro screening models for cytotoxic drugs. *Am J Cancer Res.* 2022;12(3):1116-28.
32. Luan Q, Becker JH, Macaraniag C, Massad MG, Zhou J, Shimamura T, et al. Non-small cell lung carcinoma spheroid models in agarose microwells for drug response studies. *Lab Chip.* 2022;22(12):2364-75.
33. Rossi R, De Angelis ML, Xhelli E, Sette G, Eramo A, De Maria R, et al. Lung Cancer Organoids: The Rough Path to Personalized Medicine. *Cancers (Basel).* 2022;14(15).
34. Qi X, Prokhorova AV, Mezentsev AV, Shen N, Trofimenko AV, Filkov GI, et al. Comparison of EMT-Related and Multi-Drug Resistant Gene Expression, Extracellular Matrix Production, and Drug Sensitivity in NSCLC Spheroids Generated by Scaffold-Free and Scaffold-Based Methods. *Int J Mol Sci.* 2022;23(21).
35. Aletti GD, Gallenberg MM, Cliby WA, Jatoi A, Hartmann LC. Current management strategies for ovarian cancer. *Mayo Clin Proc.* 2007;82(6):751-70.
36. Loessner D, Stok KS, Lutolf MP, Huttmacher DW, Clements JA, Rizzi SC. Bioengineered 3D platform to explore cell-ECM interactions and drug resistance of epithelial ovarian cancer cells. *Biomaterials.* 2010;31(32):8494-506.
37. Tofani LB, Abriata JP, Luiz MT, Marchetti JM, Swiech K. Establishment and characterization of an in vitro 3D ovarian cancer model for drug screening assays. *Biotechnol Prog.* 2020;36(6):e3034.
38. Lee JM, Mhaweck-Fauceglia P, Lee N, Parsanian LC, Lin YG, Gayther SA, et al. A three-dimensional microenvironment alters protein expression and chemosensitivity of epithelial ovarian cancer cells in vitro. *Lab Invest.* 2013;93(5):528-42.
39. McGuigan A, Kelly P, Turkington RC, Jones C, Coleman HG, McCain RS. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. *World J Gastroenterol.* 2018;24(43):4846-61.
40. Kleeff J, Korc M, Apte M, La Vecchia C, Johnson CD, Biankin AV, et al. Pancreatic cancer. *Nat Rev Dis Primers.* 2016;2:16022.
41. Driehuis E, van Hoeck A, Moore K, Kolders S, Francies HE, Gulersonmez MC, et al. Pancreatic cancer organoids recapitulate disease and allow personalized drug screening. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019;116(52):26580-90.
42. Hennig A, Baenke F, Klimova A, Drukewitz S, Jahnke B, Bruckmann S, et al. Detecting drug resistance in pancreatic



cancer organoids guides optimized chemotherapy treatment. *J Pathol.* 2022;257(5):607-19.

43. Ostrom QT, Gittleman H, Truitt G, Boscia A, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2011-2015. *Neuro Oncol.* 2018;20(suppl_4):iv1-iv86.

44. Ratliff M, Kim H, Qi H, Kim M, Ku B, Azorin DD, et al. Patient-Derived Tumor Organoids for Guidance of Personalized Drug Therapies in Recurrent Glioblastoma. *Int J Mol Sci.* 2022;23(12).

NOVICE IZ SVETA FARMACIJE

NOV KORTIKOSTEROID ZA ZDRAVLJENJE DUCHENNOVE MIŠIČNE DISTROFIJE

Nina Gradišek

FDA je odobrila uporabo peroralne suspenzije kortikosteroida vamolorona v odmerku 40 mg/mL (tržno ime Agamree), za zdravljenje Duchenove mišične distrofije pri posameznikih, starejših od dveh let. Pozitivno mnenje je podal tudi Odbor za zdravila za uporabo v humani medicini pri EMA.

Duchenova mišična distrofija, živčno-mišična bolezen, je najpogostejša oblika mišične distrofije, za katero je značilno hitro napredujoče propadanje mišic. Pacienti postopno izgubijo sposobnost hoje in trpijo za respiratorno odpovedjo, ki je skupaj z kardiomiopatijo najpogostejši vzrok smrti v zgodnji odrasli dobi.

Standardno zdravljenje predstavljajo kortikosteroidi, ki jih uvedejo individualno, ko motorične sposobnosti pacienta dosežejo plato. Tako zdravljenje sicer upočasnjuje propad mišic in podaljša obdobje samostojne gibljivosti za nekaj let, hkrati pa ga spremljajo številni neželeni učinki.

Vamoloron se veže na glukokortikosteroidne receptorje, s čimer sproži protivnetno delovanje, hkrati pa tudi inhibira aktivacijo mineralokortikoidnih receptorjev, ki jih aktivira aldosteron. Natančen mehanizem, kako učinkovina doseže terapevtsko delovanje pri bolnikih z Duchenovo mišično distrofijo, še ni znan, prav to različno delovanje receptorje pa je tisto, ki ga loči od ostalih kortikosteroidov.

Učinkovina vpliva tudi na receptorsko signaliziranje, s čimer doseže tako terapevtski učinek kot tudi ugodnejši profil neželenih učinkov. Najpogostejši med njimi so znaki Cushingovega sindroma, bruhanje, povečanje telesne mase, pomanjkanje vitamina D in razdražljivost.

Zdravilo Agamree skrajša čas, ki ga bolniki potrebujejo, da vstanejo iz ležečega položaja, prav tako pa pri bolnikih, ki še lahko hodijo, to sposobnost izboljša.

Zdravilo podjetja Santhera Pharmaceuticals naj bi na trg prišlo v začetku naslednjega leta, za prvih sedem let pa je FDA zdravilo podelila ekskluzivnost in status zdravila sirote.

Viri:

1. *Pharmacy Times*, <https://www.pharmacytimes.com/view/fda-approves-vamorolone-for-treatment-of-duchenne-muscular-dystrophy-in-patients-aged-2-years-and-older>; dostop: 6. 11. 2023
2. *EMA*, <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/summaries-opinion/agamree>; dostop: 6. 11. 2023

NAPREDEK NA PODROČJU ZDRAVLJENJA NEVRODEGENERATIVNIH BOLEZNI S SELEKTIVNO ELEKTRIČNO STIMULACIJO PRIZADETIH MOŽGANSKIH REGIJ

Antonina Žaberl

Raziskovalci britanskega Inštituta za raziskovanje demence (*UK Dementia Research Institute*) so svetu predstavili novo potencialno obliko zdravljenja kroničnih nevrodegenerativnih bolezni s pomočjo globokotivne stimulacije možganov.

Nevrodegenerativne bolezni so skupina ireverzibilnih bolezenskih stanj, ki se kažejo kot upad kognitivnih funkcij, motnje pomnjenja in okrnjenje motoričnih sposobnosti, ki jih povzroči progresivna atrofija možganskih celic. Zapleten mehanizem nastanka bolezni predstavlja velik izziv za razvoj potencialnih zdravil in metod zdravljenja.

Na novo zasnovana metoda zdravljenja temelji na globokotivni stimulaciji specifičnih regij možganov z uporabo tehnologije temporalne interference, s katero skozi elektrode ciljno usmerjamo različne frekvence električnega polja. Analogno električno stimulacijo možganov je bilo do sedaj mogoče doseči le z invazivnejšimi operativnimi metodami zdravljenja.

V prvem delu raziskave, ki je vključevala 20 zdravih posameznikov, je raziskovalna skupina želela doseči stimulacijo hipokampusa, dela možganov, ki je odgovoren za pomnjenje in učenje. V poskusu so s temporalno interferenco preiskovancem v hipokampus varno dostavili različne fre-



kvence električnega polja. Stimuliranost ciljne regije možganov so spremljali s pomočjo magnetne resonance. Rezultati raziskave so potrdili povečanje stimuliranosti hipokampusa, ki se je pri preiskovancih kazala kot izboljšana funkcija pomnjenja, in s tem dokazali uspešnost nove metode ciljne stimulacije.

V drugem delu raziskave so v sodelovanju z raziskovalci švicarske raziskovalne univerze *École polytechnique fédérale de Lausanne* z uporabo temporalne interference načrtovali ciljno stimuliranje možganskega striatuma, ki je povezan z motoričnim pomnjenjem. Tudi drugi del raziskave se je izkazal za uspešnega in s tem podprl metodo globokotivne stimulacije možganov s pomočjo temporalne interference kot obetajočo terapijo za zdravljenje nevrodegenerativnih bolezni.

Po dokazani uspešni izboljšavi spomina na zdravih posameznikih raziskovalci preizkušanje nove metode ciljne stimulacije možganov nadaljujejo na posameznikih z Alzheimerjevo boleznijo.

Vir:

- 1 *PharmaTimes online*; https://www.pharmatimes.com/news/deep_brain_stimulation_could_improve_memory_loss_in_alzheimers_disease_1502388; dostop: 6. 11. 2023

FDA JE ODOBRILO NOVO MONOKLONSKO PROTITELO ZA ZDRAVLJENJE ULCEROZNEGA KOLITISA

Brina Jakopič

Ulcerozni kolitis je dolgoročno vnetno bolezensko stanje, ki prizadene debelo črevesje in danko. Bolezen se lahko manifestira le v danki in/ali zajame levo polovico črevesa ali pa celotno debelo črevo. Pojavnost bolezni narašča s sodobnim načinom življenja v razvitih državah, vzroki pa so idiopatske narave. Na potek bolezni vplivajo imunološki in dedni dejavniki ter stres, velik vpliv pa ima tudi sprememljena črevesna mikrobiota zaradi neuravnotežene prehrane in nezadostnega vnosa vlaknin. Zdravljenje te bolezni zajema širokospektralno terapijo z zdravili, ki imajo lahko resne neželene učinke, ali pa operativne posege. Cilj pri razvoju novih in učinkovitejših zdravil je ne le izboljšati, temveč tudi podaljšati življenjsko dobo bolnika. V zadnjih

letih v ospredje prihajajo biološka zdravila, ki revolucionirajo področje farmacije.

Eno takšnih je zdravilo Omvoh™ (mirikizumab-mrkz) podjetja Eli Lilly and Company, ki ga je FDA 26. oktobra letos odobrila kot prvo zdravilo oz. učinkovino z novim mehanizmom delovanja (*first-in-class drug*). Omvoh™ je prvo in doslej edino monoklonsko protitelesko, ki deluje kot antagonist interleukina 23 in se selektivno veže na njegovo podenoto p19, ki ima glavno vlogo pri vnetju črevesja. Zdravilo je indicirano za zdravljenje zmerne do hudega ulceroznega kolitisa. Aplicira se v obliki infuzije (300 mg/15 mL) oz. injekcije (100 mg/mL). V terapiji se pri manj kot 2 % bolnikov pojavijo neželene reakcije, ki obsegajo vnetja zgornjega dihalnega trakta, reakcije na mestu vboda, izpuščaje, glavobol in okužbe s herpes virusom med vzdrževanjem terapije. Kontraindikacij, razen alergije na monoklonsko protitelesko mirikizumab-mrkz ali pa na dodane ekscipiente, ni. Raziskave so pokazale statistično značilno remisijo bolezni pri 54,1 % udeležencev v 52. tednu zdravljenja v primerjavi s placebo skupino, pri kateri je prišlo do 19,6-odstotnega zmanjšanja simptomov bolezni.

Zdravilo je v Evropski uniji in na Japonskem že dobilo dovoljenje za promet, v ZDA pa bo na voljo v prihajajočih tednih.

Viri:

1. Zhang T, Zhang B, Tian W, Wang F, Zhang J, Ma X, Wei Y, Tang X. *Research trends in ulcerative colitis: A bibliometric and visualized study from 2011 to 2021. Front Pharmacol. 2022 Sep 9;13:951004.*
1. NHS, <https://www.nhs.uk/conditions/ulcerative-colitis/>; dostop: 6. 11. 2023
3. Eli Lilly and Company, <https://investor.lilly.com/news-releases/news-release-details/fda-approves-lillys-omvohtm-mirikizumab-mrkz-first-class>; dostop: 6. 11. 2023
4. FDA, <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-therapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2023>; dostop: 6. 11. 2023

EMA PRIPOROČA ODOBRITEV PRILAGOJENEGA NUVAXOVID COVID-19 CEPIVA

Lejla Pašić

Odbor za zdravila za uporabo v humani medicini pri EMA je priporočil odobritev prilagojenega cepiva Nuvaxovid, usmerjenega proti podtipu XBB.1.5 virusa SARS-CoV-2, znanemu kot omikron. Cepivo, imenovano Nuvaxovid

XBB.1.5, je namenjeno preprečevanju covid-19 pri odraslih in otrocih, starejših od 12 let.

V skladu z dosedanjimi priporočili EMA in Evropskega centra za preprečevanje in obvladovanje bolezni naj bi odrasli in mladostniki, stari od 12 let, ki potrebujejo cepljenje, prejeli en odmerek, ne glede na njihovo predhodno cepljenje proti covid-19.

Pri sprejemanju svoje odločitve je Odbor temeljito ovrednotil laboratorijske podatke, ki kažejo na sposobnost prilagojenega cepiva, da izzove ustrezno imunsko reakcijo proti podbtipu virusa XBB.1.5. Poleg tega je odbor upošteval podatke iz raziskave, izvedene na že prej cepljenih odraslih, ki so pokazali, da je Nuvaxovid, ko je bil adaptiran za tarčo druge sorodne variante, imikron BA.5, zmožen izzvati močan imunski odziv proti tej varianti. Na podlagi teh podatkov so zaključili, da je mogoče pričakovati, da bo Nuvaxovid XBB.1.5 izzval ustrezno imunsko reakcijo proti podtipu XBB.1.5.

Kako cepivo deluje? Prilagojena cepiva delujejo na enak način kot prvotna cepiva. To prilagojeno cepivo vsebuje različico proteina bodice podtipa omikron XBB.1.5, ki je bila proizvedena v laboratoriju. Prav tako vsebuje adjuvant, snov, ki pomaga okrepiti imunski odziv na cepivo. Ko oseba prejme cepivo, bo njen imunski sistem prepoznal protein v

cepivu kot tujega in proizvedel naravne obrambne mehanizme – protitelesa in celice T – proti njemu. Če se kasneje cepljena oseba sreča s SARS-CoV-2, bo imunski sistem prepoznal protein bodico na njegovi površini in bo pripravljen, da ga napade.

Za varnostni profil Nuvaxovida XBB.1.5 se pričakuje, da bo podoben prvotno odobrenemu Nuvaxovidu, kar je bilo podprto tudi s kliničnimi podatki, ki so na voljo za različico cepiva, usmerjeno proti omikronu BA.5. Najpogostejši neželeni učinki pri uporabi Nuvaxovida XBB.1.5 vključujejo bolečino in občutljivost na mestu injiciranja, utrujenost, glavobol, bolečine v mišicah in splošno slabo počutje.

EMA je poslala priporočilo Odbora Evropski komisiji za sprejetje pravno zavezujoče odločitve na ravni Evropske unije. Nacionalne oblasti v državah članicah bodo nato določile, kako uporabiti to cepivo v nacionalnih programih cepljenja, ob upoštevanju dejavnikov, kot so stopnje okužb in hospitalizacij, tveganje za ranljive skupine in razpoložljivost cepiva.

Vir:

1. EMA, <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-recommends-approval-adapted-nuvaxovid-covid-19-vaccine-targeting-omicron-xbb15>; dostop: 6. 11. 2023



UDELEŽBA ČLANOV SLOVENSKEGA FARMACEVTSKEGA DRUŠTVA NA LETNEM SREČANJU EVROPSKE FEDERACIJE FARMACEVTSKIH ZNANOSTI (EUFEPS)

Alenka Zvonar Pobirk, Mirjam Gosenca Matjaž in Mirjana Gašperlin



Slovenska delegacija na letošnjem srečanju EUFEPS v Lizboni.

Organizator letošnjega srečanja Evropske federacije farmaceutskih znanosti (EUFEPS) z naslovom *Lisbon 2023, at the edge of Europe and Science*, ki je med 31. majem in 2. junijem 2023 potekalo na Portugalskem, je bila Fakulteta za farmacijo Univerze v Lizboni. Že okoli 30 let je član EUFEPS tudi Slovensko farmacevtsko društvo, kar nam odpira številna vrata v evropskem prostoru. Pod pokroviteljstvom EUFEPS tako potekajo tudi mednarodne konference BBBB in Centralno evropski simpoziji s po-

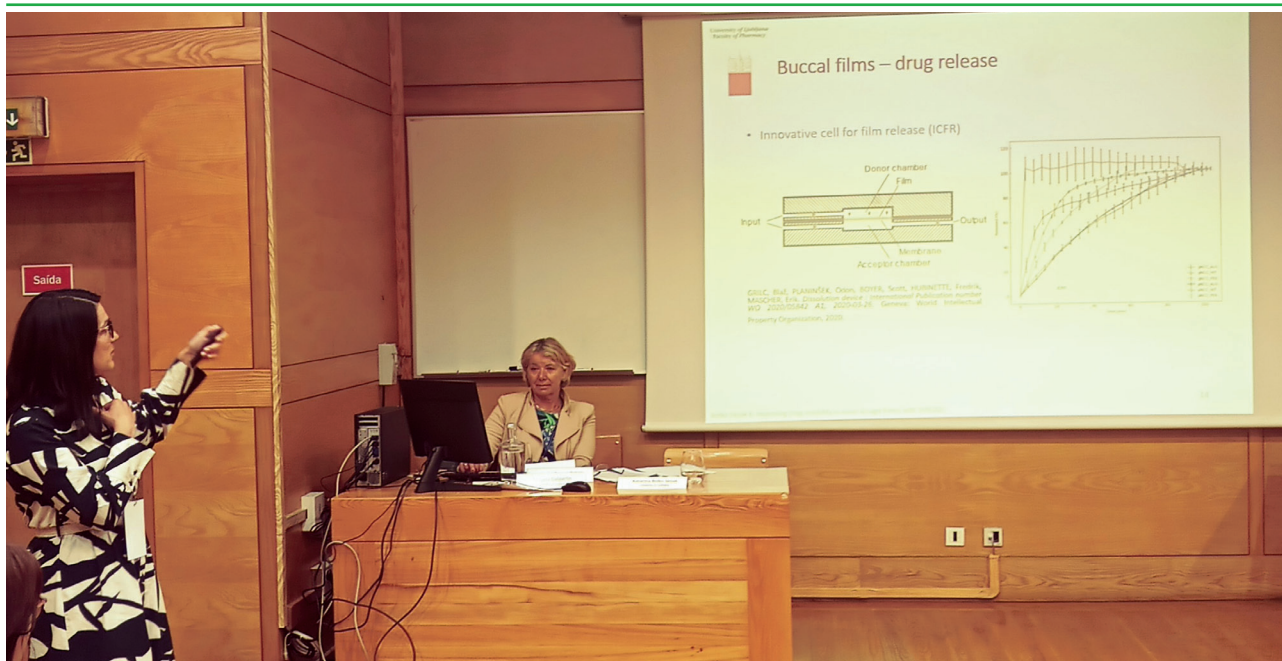
dročja farmacevtske tehnologije (CESPT), ki smo jih že večkrat organizirali v Sloveniji.

Letošnjega letnega srečanja v Lizboni se je udeležilo 258 članov združenja EUFEPS iz 29 držav, kot predstavniki Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani pa smo se srečanja udeležil prof. dr. Mirjana Gašperlin, izr. prof. dr. Alenka Zvonar Pobirk, doc. dr. Mirjam Gosenca Matjaž, doc. dr. Katarina Bolko Seljak in asist. Črt Dragar, vsi s Katedre za farmacevtsko tehnologijo.

V sklopu konference smo prisluhnili šestim plenarnim predavateljem, to so: prof. dr. Anke-Hilse Maitland-van der Zee (Amsterdam UMC, Nizozemska), prof. dr. Patrick Couvreur (Paris-Sud University, Francija), prof. dr. Thomas Sauer (Universität Passau, Nemčija), dr. Staffan Folestad (upokojeni direktor za Science & Innovation, Manufacturing & Materials pri AstraZeneca, Združeno kraljestvo), prof. dr. Laura Lechuga (Spanish National Research Council, Španija) in dr. Rogério Gaspar (direktor oddelka Department of Regulation and Prequalification pri svetovni zdravstveni organizaciji (WHO), Švica). Organizatorji so pripravili tudi okroglo mizo z naslovom *Emerging therapies: regulatory perspectives*, v okviru 15 sekcij, ki so jih organizirala društva posameznih držav članic, pa smo prisluhnili številnim sekcijskim predavanjem ter kratkim in »flash« predstavitev o novostih na področju farmacevtskih znanosti.

Prvič letos je organizacijo ene sekcije prevzelo Slovensko farmacevtsko društvo, kar je rezultat uspešnega dogovaranja predsednice tehnološke sekcije dr. Natalije Zajc Škrbina. Odločili smo se za predstavitev znanstvenih dosežkov na področju lipidnih dostavnih sistemov. Sekcijo z naslovom »*Lipid based drug delivery*« sta organizirali in vodili prof. dr. Mirjana Gašperlin in izr. prof. dr. Alenka Zvonar Pobirk. Svoje raziskovalno delo pa sta predstavili izr. prof. dr. Alenka Zvonar Pobirk (naslov predavanja *Lipid based systems for oral delivery of poorly water soluble*

drugs and approaches for their solidification) in doc. dr. Katarina Bolko Seljak s predavanjem *Improving drug solubility in novel dosage forms with SMEDDS*. Izmed več kot 100 predstavljenih posterjev, je bil med 10 najboljših izbran tudi poster doc. dr. Mirjam Gosenca Matjaž z naslovom *Stability evaluation of betamethasone dipropionate incorporated in flaxseed oil-based lyotropic liquid crystals*. V sklopu letnega srečanja EUFEPS je potekalo tudi tekmovanje evropskih doktorskih študentov, v okviru katerega je v konkurenci študentov iz Grčije, Finske, Švedske, Španije, Madžarske, Portugalske, Italije, Turčije in Nizozemske svoje doktorsko delo z naslovom *Development of nanofibers with magnetic nanoparticles for biomedical applications* predstavil asist. Črt Dragar. Alenka Zvonar Pobirk pa se je udeležila tudi sestanka uredniškega odbora *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. Več o konferenci je dostopno na spletni strani: <https://annualmeeting.eufeps.org/>. Ocenjujemo, da smo na konferenci zelo uspešno zastopali Slovensko farmacevtsko društvo in Fakulteto za farmacijo Univerze v Ljubljani ter predstavili naše znanstveno-raziskovalno delo. Navezali smo tudi nove stike s kolegi iz tujine in še okrepili našo vpetost v EUFEPS. In nenazadnje smo na robu Evrope poleg robov znanosti okusili tudi utrip Lizbone, večerni čas pa izkoristili za utrjevanje vezi tudi med nami – in slednje je preskušeno najboljšo ob dobro obloženi mizi.



Utrinek s predavanja doc. dr. Katarine Bolko Seljak v okviru sekcije *Lipid based delivery systems*, ki sta jo moderirali prof. dr. Mirjana Gašperlin in izr. prof. dr. Alenka Zvonar Pobirk.

UDELEŽILI SMO SE 14. CENTRALNOEVROPSKEGA SIMPOZIJA IZ FARMACEVTSKE TEHNOLOGIJE (CESPT), OHRID, SEVERNA MAKEDONIJA, 28. DO 30. SEPTEMBER 2023

Mirjana Gašperlin

Na Ohridu je v organizaciji Fakultete za farmacijo Univerze Sv. Cirila in Metoda iz Skopja potekal 14. CESPT, ki sta mu predsedovala prof. dr. Katerina Gorecinova in prof. dr. Rok Dreu. Ta simpozij, ki smo ga leta 2005 osnovali na Bledu z močno podporo Evropske federacije farmacevtskih znanosti (EUFEPS), je letos doživel že svojo 14. izvedbo. Eden od pobudnikov in dolgoletni predsednik organizacijskega odbora je bil prof. dr. Aleš Mrhar, ki se je udeležil tudi letošnjega srečanja. Po njegovi upokojitvi pa ga je v tej funkciji nasledil prof. dr. Rok Dreu.

Tako Slovensko farmacevtsko društvo kot Fakulteta za farmacijo sta močno vpeta v organizacijo teh tradicionalnih srečanj strokovnjakov s širšega področja farmacevtske tehnologije, ki potekajo vsaki dve leti in se selijo po srednjeevropskem prostoru. Letos je bil naš gostitelj čudoviti Ohrid, zgodovinsko mesto na obali istoimenskega jezera v Severni Makedoniji.

Gostoljubnim organizatorjem je uspelo pripraviti izvrsten znanstveni program, ki je ponudil platformo za razpravo o novih idejah na področju raziskav dostavnih sistemov in nanozdravil ter izmenjavo idej o tehnoloških napredkih za visokokakovostno proizvodnjo zdravil. Znanstveniki iz akademskega sveta, industrije, regulatornih organov in študenti smo se med tridnevnim druženjem ukvarjali s trenutnimi in prihodnjimi vidiki farmacevtskega razvoja, inovativnimi tehnološkimi rešitvami, proizvodnimi postopki, farmacevtsko kakovostjo in regulativnimi izzivi. Na simpoziju je bilo več kot 200 udeležencev iz več kot 20 držav, prisluhnili smo

devetim vabljenim predavanjem eminentnih profesorjev s področja farmacevtske (nano)tehnologije in analitike, kot so med drugim prof. dr. Maria Alonso, prof. dr. Gert Storm in prof. dr. Stefan de Smedt, ter 35 ustnim predstavitev raziskovalnih rezultatov.

Iz Slovenije smo se simpozija udeležili predstavniki Fakultete za farmacijo, Krke in JAZMP. Predstavili smo se s petimi posterji, pri čemer se lahko pohvalimo z dosežkom asist. Črta Dragarja, ki si je s kolegico Mirno Perkušić s Fakultete za farmacijo in biokemijo Univerze v Zagrebu razdelil nagrado za najboljši poster na simpoziju. Izvedli smo dve vabljeni predavanji, in sicer prof. dr. Rok Dreu predavanje z naslovom *Assessment of pellet mixture segregation during machine capsule filling* in dr. Klemen Korasa predavanje z naslovom *Applicability of process analysers in pharmaceutical technology*. Vodili smo tudi dve sekciji, izr. prof. dr. Petra Kocbek in prof. dr. Aleš Mrhar sekcijo z naslovom *Nanotechnology and advanced drug delivery*, prof. dr. Mirjana Gašperlin in prof. dr. Rok Dreu pa sekcijo *Pharmaceutical development and manufacturing*.

Na konferenci smo utrdili že obstoječe mednarodne povezave in pridobili nova poznanstva za potencialna prihodnja sodelovanja ter uspešno predstavili znanstveno-raziskovalno delo Katedre za farmacevtsko tehnologijo in Krke. Ob koncu simpozija je prof. dr. Rok Dreu kot sopredsedujoči naznanil, da se CESPT vrača v Slovenijo – tako je pred nami organizacija jubilejnega 15. CESPT leta 2025. Želimo si, da bi se po 30 letih ponovno zbrali na Bledu.

POROČILO S SIMPOZIJA HOMEOPATSKE SEKCIJE PRI SLOVENSKEM FARMACEVTSKEM DRUŠTVU

Maruša Hribar

7. oktobra 2023 je potekal simpozij Homeopatske sekcije, ki je privabil številne magistre farmacije. Dogodek je bil namenjen spodbujanju izmenjave znanja, najnovejšim dosegom in izzivom na področju homeopatije. Homeopatija se uvršča med komplementarne in integrativne metode zdravljenja in upošteva holistični pristop k zdravstveni oskrbi ter poudarja sodelovanje med konvencionalno medicino ter komplementarnimi in tradicionalnimi terapijami. Osredotoča se na pacienta s holističnim pristopom k zdravju in dobremu počutju. Integrativna medicina ima celovit pogled na posameznika in vključuje medsebojno povezanost telesnega, mentalnega, čustvenega in duhovnega blagostanja. Ta pristop spodbuja integracijo komplementarnih terapij, ki temeljijo na dokazih, kot so homeopatija, akupunktura, zeliščna medicina, meditacija pozornosti in joga, skupaj s konvencionalnimi medicinskimi posegi. Integrativna medicina želi zagotoviti bolj osebno in učinkovit pristop k oskrbi bolnikov.

Homeopatski simpozij se je začel s pozdravnim govorom predsednice Sekcije za homeopatijo, ki je poudarila pomen kontinuiranega izobraževanja in raziskav na področju homeopatije ter njenega prispevka k celostnemu zdravju posameznika. Glavna predavanja so zajemala širok spekter tematik, z glavno vsebino simpozija: Homeopatija je izziv tudi za imunski in prebavni sistem. Predstavljeni so bili primeri, ki so ponazorili uporabo homeopatije v kliničnem okolju ter njen vpliv na bolnike. Poleg tega smo se udeleženci posvetili razpravam o izzivih in priložnostih, s katerimi se soočamo homeopati v Sloveniji. Med simpozijem smo razpravljali o prihodnosti homeopatije v Sloveniji ter njenem potencialnem vplivu na javno zdravje in dobrobit prebivalstva.

V zadnjem času se pojavlja vse več zanimanja za proučevanje črevesnega mikrobioma v kombinaciji s homeopatskimi zdravili. Raziskave kažejo, da lahko homeopatska zdravila vplivajo na imunski sistem in s tem posredno vplivajo na mikrobiom. Čeprav je potrebno še več raziskav, pa se kažejo obetavni rezultati o potencialni sinergiji med homeopatijo in uravnoteženim mikrobiomom pri ohranjanju zdravja posameznika. Ohranjanje zdrave mikrobiote je ključnega pomena za splošno zdravje in dobro počutje. Pravilna prehrana, redna telesna aktivnost, dovolj spanja in

zmanjševanje stresa so lahko ključni dejavniki pri ohranjanju ravnovesja v mikrobioti.

Schüsslerjeve soli, imenovane tudi tkivne soli ali biokemične soli, so razred homeopatskih zdravil, ki jih je razvil nemški zdravnik Dr. Wilhelm Heinrich Schüssler v 19. stoletju. Te soli so sestavljene iz mineralnih soli, ki so prisotne v človeškem telesu in naj bi bile ključne za ohranjanje zdravja in pravilno delovanje telesnih celic. V naših lekarnah je na voljo obsežna paleta teh soli. Schüsslerjeve soli v homeopatiji pogosto uporabljamo pri različnih stanjih, vključno z izboljšanjem imunskega sistema in lajšanjem prebavnih težav. Nekatere Schüsslerjeve soli se uporabljajo za podporo imunskemu sistemu in povečanje odpornosti telesa, pa tudi za lajšanje prebavnih težav, kot so napihnjenost, krči, slabost in težave s prebavo. Pomembno je upoštevati tudi, da je zdravljenje z Schüsslerjevimi solmi pogosto del celostnega pristopa k zdravju in dobremu počutju ter naj bi ga kombinirali s pravilno prehrano, telesno aktivnostjo in drugimi terapevtskimi praksami za najboljše rezultate.

Miazmi v homeopatiji se nanašajo na koncept dednih predispozicij za bolezni ali kronična stanja, ki jih prenašamo skozi generacije. Te predispozicije lahko vplivajo na občutljivost posameznika za določene bolezni in določene fizične ali čustvene lastnosti. Koncept miazmov so razvili in prvič uporabili začetniki homeopatije, kot je Samuel Hahnemann, in je postal pomemben del homeopatske prakse. Miazme pogosto opisujejo kot globoka, skrita stanja, ki segajo v globine družinske zgodovine in lahko vplivajo na fizično, čustveno in duševno stanje posameznika. V homeopatiji se uporabljajo miazmi za razumevanje bolnikovega celostnega stanja in izbiro ustrezne homeopatske terapije. Pri zdravljenju s homeopatijo posameznika obravnavamo kot celoto, kar vključuje tudi upoštevanje njegovih miazmatskih predispozicij. S pravilnim razumevanjem in identifikacijo miazmov lahko homeopat izbere ustrezno zdravljenje, ki naj bi pomagalo odpraviti osnovne predispozicije za bolezen in spodbudilo notranje zdravilne mehanizme telesa. Pomembno je vedeti, da je homeopatsko zdravljenje individualizirano in se prilagodi potrebam in značilnostim posameznega pacienta kot del personalizirane medicine. Zdravilne rastline so že stoletja ključni del tradicionalne medicine, ki se uporablja za ohranjanje zdravja in spodbu-



janje zdravljenja številnih telesnih težav. Njihova vloga pri spodbujanju delovanja prebavnega sistema in kreptivi imunskega sistema je postala predmet številnih raziskav. Številne zdravilne rastline imajo lastnosti, ki pozitivno vplivajo na prebavni sistem. Nekatere med njimi, kot so ingver, meta in kamilica, so znane po svojih sposobnostih lajšanja prebavnih težav, kot so napihnjenost, krči, slabost in sindrom razdražljivega črevesja. Poleg tega lahko nekatere spodbujajo proizvodnjo prebavnih encimov, kar olajša prebavo in absorpcijo hranil. Številne zdravilne rastline imajo tudi imunomodulatorne lastnosti, ki okrepijo imunski sistem in povečajo odpornost telesa proti boleznim, in številne delujejo kot močni antioksidanti, kar pomaga telesu pri boju proti radikalom in zmanjšanju vnetja. Pomembno je razumeti, da imata zdrav prebavni sistem in močan imunski sistem tesno povezavo. Zdravilne rastline lahko imajo ključno vlogo pri ohranjanju te povezave z uravnoteženjem prebave, absorpcijo hranil ter spodbujanjem delovanja imunskega sistema. Pravilno izbrane zdravilne rastline prispevajo k zdravju črevesne flore, kar posledično vpliva na okrepljen imunski odziv telesa na zunanje grožnje.

Simpozij je bil namenjen tudi predavanju o uporabi homeopatije v veterini. Homeopatija v veterini je postala priljubljena komplementarna terapevtska možnost za zdravljenje številnih bolezni in stanj pri živalih. Veterinarski homeopati se osredotočajo na celostni pregled živali, vključno s fizičnimi, vedenjskimi in zunanjimi dejavniki iz okolja. Zdravljenje se prilagodi posamezni živali, pri čemer se upošteva njena edinstvena fizična in čustvena stanja. Homeopatija v veterini pogosto poudarja uporabo naravnih sestavin, kot so zdravilne rastline, minerali in rastlinski izvlečki, s čimer naj bi se izognili uporabi močnih kemičnih snovi, ki bi lahko povzročile neželene učinke. V tistih državah, kjer je razvito ekološko kmetovanje, ima homeopatija v veterini močno tradicijo. Namen homeopatske terapije je spodbu-

diti notranje zdravilne mehanizme živali, da se sami spopadejo z boleznijo ali stanjem, namesto da bi zgolj odpravljali simptom. Poleg zdravljenja bolezni homeopatija v veterini poudarja tudi preventivne ukrepe, ki naj bi okrepi naravno odpornost živali in zmanjšali tveganje za bolezni. Homeopatska zdravila se lahko uporabljajo tudi za lajšanje simptomov, povezanih z nalezljivimi boleznimi, kot so vročina, kašelj, bolečine in druge težave, ki se lahko pojavijo med epidemijo. Nekatera homeopatska zdravila naj bi spodbujala delovanje imunskega sistema, kar naj bi pomagalo telesu pri boju proti okužbi in zmanjšalo tveganje za resne zaplete. Med pandemijo covid-19 se je pojavilo več razprav o uporabi različnih terapevtskih pristopov, vključno s homeopatijo, pri blaženju simptomov in spodbujanju regeneracije pri bolnikih, ki so preboleli bolezen. Čeprav je vredno opozoriti, da ni zadostnih znanstvenih dokazov, ki bi neposredno podpirali uporabo homeopatije v zvezi s covid-19, obstajajo številne trditve in teorije o uporabnosti homeopatskih pristopov v pomoč bolnikom med okrevanjem in po okrevanju od bolezni. Homeopatska zdravila lahko lajšajo simptome, kot so kašelj, vročina, bolečine in splošna oslabeledost, ki se pojavijo pri nekaterih bolnikih s covid-19, ali pa vzpodbujajo regeneracijo po okrevanju.

Dogodek je bil odlična priložnost za poglobitev znanja in izmenjavo idej med strokovnjaki ter za krepitev mreže med člani farmacevtske skupnosti. Srečanje je predstavljalo pomemben korak v smeri izboljšanja razumevanja in sprejemanja homeopatije v širšem zdravstvenem sistemu. Udeleženci smo izrazili optimizem glede prihodnosti homeopatije, ob upoštevanju nenehnih prizadevanj za razvoj, raziskave in integracijo v sodobno zdravstveno prakso. Sekcija se iskreno zahvaljuje Kemofarmaciji za finančno podporo in Slovenskemu farmacevtskemu društvu za pomoč pri organizaciji simpozija.

21. SIMPOZIJ SEKCIJE FARMACEVTOV JAVNIH LEKARN: DEBELOST – VZROK IN POSLEDICA ZDRAVSTVENIH TEŽAV

Marjetka Korpar

17. oktobra 2023 je v Domus Medica v Ljubljani potekal letošnji simpozij Sekcije farmacevtov javnih lekarn na temo debelosti. V prvem sklopu so predavatelji zdravniki izčrpno predstavili epidemiologijo, etiopatogenezo, dejavnike tveganja za razvoj debelosti ter vpliv debelosti na razvoj številnih bolezni. Predstavili so tudi osnovno zdravljenje debelosti, ki vključuje dietoterapijo, aktivacijsko terapijo in vedenjsko kognitivno terapijo.

V drugem sklopu so sledila predavanja farmacevtov o zdravljenju debelosti z zdravili, vplivu zdravil na pridobivanje telesne mase ter o vlogi lekarniškega farmacevta pri obravnavi debelosti, vključujoč prehranska dopolnila.

Po okusnem kosilu in času za druženje smo se poglobili v povezavo debelosti in hormonskih sprememb ter se se-

znani z motnjami hranjenja (tudi pri moških). Predstavljen je bil klinični primer vpliva debelosti na izbiro in odmerjanje zdravil. Na koncu je predsednica Lekarniške zbornice Slovenije strnila aktualna dogajanja na področju lekarništva. Med odmori je bilo dovolj časa za srečanja, klepet in obisk predstavnikov farmacevtskih podjetij. Glede na odzive in izpolnjene anketne vprašalnike so bili udeleženci zelo zadovoljni s srečanjem, pohvalili so izbiro teme, predavatelje, dobro organizacijo, mnogi tudi dobro hrano.

Letni simpozij je stalnica, ki nadgrajuje naše znanje, nas povezuje ter omogoča izmenjavo mnenj, delovnih izkušenj, težav in dobrih praks med lekarnami po Sloveniji. Veselimo se prihodnjega srečanja, za katerega so letošnji udeleženci predlagali precej zanimivih tem.

KONGRES EVROPSKEGA ZDRUŽENJA ZA KLINIČNO FARMACIJO 2023 (EUROPEAN SOCIETY OF CLINICAL PHARMACY ABERDEEN SYMPOSIUM 2023) – UTRINKI SLOVENSКИH UDELEŽENCEV

Lea Knez, Tomislav Laptoš, Maja Petre in Matej Štuhec

Na Škotskem je med 31. 10. in 2. 11. 2023 potekal letni kongres Evropskega združenja za klinično farmacijo (*European Society of Clinical Pharmacy*, ESCP). Tema letošnjega kongresa je bila osredotočena na inovacije v klinični farmaciji na področju raziskovanja, izobraževanja in farmacevtske prakse. Program kongresa je bil zelo raznolik, saj je obsegal številna področja klinične farmacije (farmakoterapija, farmakogenetika, publiciranje znanstvenih del, raziskovanje, edukacija ter predpisovanje). Največ poudarka je bilo na področju inovacij, predvsem neodvisnega predpisovanja zdravil s strani farmacevtov, ki je v Veliki Britaniji dobro uveljavljeno že 20 let.

Farmacevt neodvisni predpisovalec je magister farmacije s pridobljeno kompetenco farmacevta predpisovalca, ki je odgovoren za predpis zdravila za diagnosticirano in novo odkrito bolezen in lahko bolnika tudi spremlja. Zdravilo

lahko predpiše popolnoma neodvisno in tudi spremeni terapijo, ki jo je predpisal zdravnik. Odvisno predpisovanje na drugi strani pomeni obliko predpisovanja farmacevta, kjer potrebuje klinični farmacevt končno potrditev zdravnika ali zdravnik prenese naloge predpisovanja kliničnemu farmacevtu (npr. predpis ali titracija statina, spremljanje bolnika, prilagajanje odmerkov). Neodvisno predpisovanje je najbolj razvito prav na Škotskem, kjer je kongres v Aberdeenu tudi potekal. Med predavatelji so zato prevladovali predavatelji in raziskovalci z Univerze Roberta Gordona. Kongres ESCP predstavlja najpomembnejši kongres v Evropi na področju klinične farmacije. Na kongresu smo prisostvovali na večini predavanj in delavnic (vezanih predvsem na farmacevta predpisovalca). Najbolj se nam je vtisnilo v spomin neodvisno predpisovanje farmacevtov, saj bodo v Veliki Britaniji leta 2026 vsi magistri farmacije





Udeleženci kongresa ESCP 2023 (z leve): Matej Štuhec, Maja Petre, Lea Knez in Tomislav Laptoš.

pridobili kompetenco neodvisnega predpisovalca zdravil. Tako so kolegi iz Škotske organizirali izjemno delavnico na to temo, kjer so nam predstavili razvoj ter trenutno stanje farmacevta predpisovalca v Veliki Britaniji. Na praktičnih primerih so prikazali, kako poteka neodvisno predpisovanje zdravil s strani farmacevtov na Škotskem.

V večini ustanov imajo farmacevte neodvisne predpisovalce, ki so bili najprej prisotni v ambulantah na primarnem nivoju (kot imamo v Sloveniji ambulante farmacevta svetovalca) in šele nato v bolnišnicah (intenzivno šele v zadnjih desetih letih). Klinični farmacevt predpisovalec ima tako popolnoma enake pravice predpisovanja kot zdravnik, čeprav nekatere bolnišnice omejujejo področja predpisovanja farmacevta predpisovalca (ne more predpisati vseh zdravil, če se vodstvo bolnišnice s tem ne strinja). To se razlikuje med ustanovami. Klinični farmacevti tako pomembno vplivajo na boljši dostop do storitev na vseh nivojih, predvsem pa na primarnem nivoju. Do leta 2026 morajo opraviti šestmesečno izobraževanje, ki ga izvajajo akreditirane univerze. Država tudi intenzivno stimulira zaposlovanje in edukacijo farmacevtov predpisovalcev.

Na plenarnem predavanju je klinični farmacevt iz prakse Paul Forsyth (NHS Greater Glasgow & Clyde) predstavil ambulanto za srčno popuščanje, ki jo vodi klinični farmacevt, ki popolnoma neodvisno predpiše vsa zdravila s tega področja. Predstavil je tudi pozitivne dokaze in vpliv na manjšo umrljivost ter zadovoljstvo zdravnikov s storitvijo ter izkušnje pri implementaciji. Pričetek je bil zahteven, saj so morali prepričati zdravnike kardiologe, da so farmacevti kompetentni za predpisovanje zdravil. Po letih dela to sploh ni več vprašanje.

V nadaljevanju so kolegi iz Velike Britanije predstavili kompetenčni model farmacevta neodvisnega predpisovalca, ki ga razvijajo zadnjih 20 let. Klinične vsebine so dobro zastopane že pri temeljnih predmetih v prvem letniku študija farmacije, še bolj intenzivno v drugem letniku. Študentje se spoznajo z bolniki že na začetku študija, kar je bistveno drugače kot v tem delu Evrope, kjer se s njimi, tako vsebinami in bolniki, po večini srečajo šele ob koncu študija. Natančno so predstavili zakonsko podlago in kompetenčne modele na področju klinične farmacije, ki so nujno potrebni v izobraževalnem procesu. Bistvene so jasno definirane

kompetence in z njimi povezane storitve, kar omogoča ustrezen profesionalni razvoj kliničnih farmacevtov. Za tem je seveda ustrezna zakonska podlaga za predpisovanje s strani kliničnih farmacevtov v Veliki Britaniji. Predstavili so tudi način integracije medprofesionalnega sodelovanja v dodiplomski študij, vključno s sodelovanjem s Centrom za medprofesionalno sodelovanje Univerze v Ženevi.

V delavnicah in predstavitev raziskav so se dotaknili tudi uporabe informacijske tehnologije pri razvoju sistema za podporo kliničnemu odločanju (*clinical decision support system*). Poudarili so, da samo kombinacija kliničnega znanja, ki ga ima usposobljen farmacevtski kader, in standardiziranih ter strukturiranih podatkov in parametrov daje rešitve, ki prepoznajo bolnike z visokim tveganjem (ki zaradi tega dobijo višjo stopnjo obravnave kliničnega farmacevta), hkrati pa ne dajejo pretiranega števila lažnih opozoril.

Zadnji dan kongresa so predstavljali storitve klinične farmacije v drugih državah v obliki plenarnih predavanj. Najprej je prof. Martin Schulz (Berlin, Nemčija) predstavil kognitivne storitve v zunanjih lekarnah v Nemčiji, kjer so uvedli pregled uporabe zdravil, do katerega so upravičeni vsi državljani enkrat letno. Prav tako farmacevti na primarnem nivoju lahko identificirajo bolnike s hipertenzijo, jih usmerijo do zdravnika in po uvedbi terapije tudi ustrezno spremljajo. Iz podatkov je razvidno, da lahko ta pristop v tudi navidezno zdravi populaciji odkrije visok (tudi 50-odstoten) delež bolnikov z neodkrito hipertenzijo in posledično prepreči pozne zaplete.

Nato je Matej Štuhec predstavil storitve klinične farmacije na področju duševnega zdravja v Sloveniji, pri čemer so

bili predstavljeni tudi rezultati raziskav in praktična implementacija. Odziv je bil dober, predvsem s strani kolegov, kjer klinična farmacija še ni razvita do te mere kot v Sloveniji. Glede na naše delo smo v Sloveniji naredili na področju storitev klinične farmacije izredno veliko, saj smo morda trenutno celo vodilni v Evropski uniji v uspešnem uvajanju novih kognitivnih storitev klinične farmacije v zdravstveni sistem (npr. ambulante farmacevta svetovalca, brezšivna skrb, klinični farmacevt v timu psihogeriatrije). Za nami v tem pogledu zaostajajo tudi nekatere bolj razvite države, kot so Avstrija, Italija, Nemčija in Francija. Zahvala gre prav vsem, ki so prispevali svoj čas, energijo in voljo k napredku klinične farmacije v Sloveniji. V času, ko se v Sloveniji spogledujemo s farmacevtom predpisovalcem, smo dobili številne ideje, kako implementirati to storitev v Sloveniji.

Kongres je bil uspešen tudi zaradi druženja s številnimi farmacevti iz različnih držav, tako smo pridobili nove povezave ter ideje za sodelovanje. Ob kongresu smo imeli celo nekaj časa za ogled Aberdeena, ki je lepo mesto, ter pokušino škotskega viskija, ki je zaščitni znak Škotske.

Farmacevt predpisovalec je prihodnost tudi v Sloveniji, saj bo to še dodatno povečalo ugled farmacevta v družbi, povečalo dostop do zdravstvenih storitev, razbremenilo zdravnike in prispevalo k optimizaciji farmakoterapije. Glede na izkušnje iz Velike Britanije ter naše dolgoletno delo v ambulantah farmacevta svetovalca, le-te predstavljajo najboljšo mesto za začetek dela farmacevta predpisovalca v Sloveniji.

EVROPSKA NOČ RAZISKOVALCEV 2023 NA FAKULTETI ZA FARMACIJO

Alenka Zvonar Pobirk, Janez Mravljak

Evropska noč raziskovalcev je vseevropski javni dogodek, ki na zabaven in navdihujoč način širši javnosti predstavlja raznolikost znanosti in njen vpliv na vsakdanje življenje vseh nas. Z vsakoletno izvedbo Evropske noči raziskovalcev na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani želimo v skladu z vizijo projekta in Fakultete za farmacijo, ki je zavezana delovanju v dobrobit slovenskih državljanov z ustvarjanjem in širjenjem znanstvenih spoznanj, približati raziskovalce in njihovo raziskovalno delo javnosti in povečati zanimanje mladih za znanstvene in raziskovalne poklice.

Letos je Evropska noč raziskovalcev sočasno potekala v 26 državah, in sicer že tradicionalno na zadnji petek v septembru. Različne članice Univerze v Ljubljani od leta 2017 sodelujemo s projektom »*Humanistika, to si ti!*«, ki v letih 2022 in 2023 nosi naslov »*Človek živali in žival človeku*«.

29. septembra 2023 je bilo na Fakulteti za farmacijo res pestro, saj nas je že dopoldan obiskalo 90 srednješolcev s Šolskega centra Novo mesto, popoldan smo najprej gostili 34 osnovnošolcev iz Tržiča, zvečer pa je v naše la-





boratorije pokukalo okoli 160 otrok – številni v spremstvu staršev. Za okoli 400 vedoželjnih obiskovalcev je skrbela 28-članska ekipa zaposlenih in študentov, ki si res zasluži vse pohvale. Na Fakulteti za farmacijo smo skupno pripravili 12 raznolikih aktivnosti, skozi katere so udeleženci spoznavali znanstveno delo raziskovalk in raziskovalcev s strokovnih področij farmacije, kozmetologije in laboratorijske biomedicine.

Pri tem so lahko pokukali v svet kresničk in dobili odgovor na vprašanje, zakaj le-te svetijo. Spoznali so postopek izolacije DNA – molekule življenja iz različnih bioloških materialov, se preskusili v izdelavi leščila za ustnice na osnovi čebeljega voska, mazila z lanolinom ter slončkovne zobne paste. Izvedli so tudi, katera števila so živalim prijazna in kako zdravimo simptome pasje demence, med obiskom v lekarni Mirje pa so podrobneje spoznali delo lekarniškega farmacevta in njegovo vlogo pri varni in učinkoviti uporabi (veterinarskih) zdravil ter namembnost različnih lekarniških prostorov. Naši profesorji so obiskovalcem predstavili tudi računalniške metode, ki jih razvijajo kot alternativo testiranju na živalih in v sodelovanju s kolegi z Veterinarske fakultete v Ljubljani izvedli okroglo mizo z naslovom Etika uporabe živalskih modelov v raziskavah v farmaciji in medicini. Na kanalu YouTube je vsem zainteresiranim na voljo tudi videoposnetek s prikazom laboratorijskega dela z živalskimi celičnimi linijami, ki je bil ustvarjen v sklopu tega projekta. Številne kemijske eksperimente smo podkrepili z znanstveno razlago odvijajočih se kemijskih reakcij, obiskovalcem pa prikazali tudi aparaturo za elektrostatsko sukanje, za to noč preimenovano v »nanopajka« in sodoben postopek 3D-tiskanja in s tem pogled v prihodnost farmacije. Že med letom pa smo v okviru projekta obiskali tudi več skupin vrtčevskih otrok in jim skozi praktično aktivnost predstavili poklic farmacevta, otroci pa so se z navdušenjem preskusili tudi v izdelavi enostavne farma-

cevske oblike. Vse delavnice, ki jih v okviru tega projekta izvajamo na Fakulteti za farmacijo, so prilagojene različnim skupinam obiskovalcev, še zlasti pa želimo skozi njih približati raziskovalno delo najmlajšim, ki se šele spoznavajo s celotnim spektrom poklicev in možnostmi, ki jih slednji ponujajo.

Preko vseh delavnic se je ponovno potrdila velika interdisciplinarnost znanj, ki jih pokriva Fakulteta za farmacijo. Vsi sodelujoči ocenjujemo, da so tovrstni dogodki izjemnega pomena tudi za farmacevtsko stroko in predstavljajo dragoceno priložnost seznanitve širše javnosti z našim delom in njihovim vplivom na vsakdanje življenje. Angažirano delo in odličen prispevek s ciljem približati znanost in raziskovanje najširši javnosti, predvsem pa mladim, je letos prepoznala tudi Slovenska znanstvena fundacija, ki je partnerjem projekta Evropska noč raziskovalcev – »Humanistika, to si ti!« za odličnost v komuniciranju za leto 2022 podelila priznanje Prometej znanosti.

Člani fakultetne ekipe Evropske noči raziskovalcev ocenjujemo, da je slednja tudi letos odlično uspela in upamo, da se srečamo spet prihodnje leto!



DELOVANJE JZ KOROŠKA LEKARNA MED POPLAVAMI

Andraž Počič



Poplave 2023

Koroška lekarna 

DRUŠTVENE VESTI

Avgustovske poplave, ki so hudo prizadele tudi Koroško, veljajo za največjo naravno katastrofo v zgodovini naše države. Po uradnih podatkih so poplave prizadele kar dve tretjini površine Slovenije, največ škode pa so povzročile na cestni, energijski ter bivanjski infrastrukturi. Poplave so okrnile ali skoraj popolnoma onemogočile delo različnim javnim službam, vključno z lekarnami.

Med poplavami in zlasti v dneh takoj po njih smo bili zaposleni v JZ Koroška lekarna soočeni z mnogimi izzivi in nepredvidenimi situacijami. Največjo težavo je predstavljala uničena, poplavljena ali z zemeljskimi plazovi zasuta cestna infrastruktura, ki nam je onemogočala dostop do delovnih mest ter tudi dostavo zdravil. Poleg tega je imelo kar nekaj zaposlenih poplavljene hiše in so morali reševati osebno premoženje. Zaradi prekinjenih telefonskih ter internetnih povezav zlasti na začetku nismo vedeli, kaj se dogaja v drugih krajih in v kakšnem stanju so naše lekarne. Soočali smo se tudi s pomanjkanjem pitne vode, saj so bile mnoge vodovodne povezave na Koroškem prekinjene. Velika težava so bili izpadi električne energije, ki so nam oteževali zagotavljanje hladne verige.

Hiter in koordiniran odziv na nastalo situacijo je bil ključnega pomena. Čeprav so nas poplave zadele sredi počitnic in je bilo kar nekaj zaposlenih na letnem dopustu, med njimi tudi nova direktorica Dragica Nabernik, mag. farm., je dolgoletna direktorica Irena Pušnik, mag. farm., spec., strokovno, uspešno in hitro koordinirala naše delo.

Prvi ukrep je bil, da smo zaposlene napotili na delo v lekarno, do katerih so lahko dostopali. Lekarne so bile odprte tudi med vikendom. Zagotavljali smo oskrbo prebivalcev z zdravili in nismo opravljali le dežurne službe. Marsikdo je namreč v poplavih izgubil vse, tudi celotno zalogo zdravil.

Med vikendom se je sanirala škoda v poplavljeni lekarni Prevalje, ki je lahko tako v nekaj dneh ponovno odprla svoja vrata ter pričela z oskrbo prebivalcev na poplavljenem območju.

Zelo hitro smo uredili tudi dostavo zdravil do lekarn, ki sta bili »odrezani«, tj. Mežica in Črna na Koroškem, da sta lahko takoj, ko je bilo mogoče, ponovno pričeli z delom. Zdravila za obe lekarni so pripeljali do lekarne Ravne na Koroškem, kjer jih je prevzela vojska in jih dostavila na končne lokacije. Ključno vlogo pri koordinaciji s civilno zaščito je odigrala vodja naše lekarne Ravne na Koroškem, Polona Reiter, mag. farm., s svojo ekipo. Vse to je predstavljalo velik dodaten logistični zalogaj, ki ga je bilo treba opraviti ob vsem rednem delu v lekarni.

Javnost smo redno obveščali o spremembah v našem delu in pomembnih informacijah. Za to smo uporabljali družbena omrežja, v pomoč pa so bile tudi lokalne radijske postaje. Tesno smo sodelovali s policijo, civilno zaščito, gasilci ter reševalci, ki so nam sproti javljali težave in podajali informacije o materialu, ki so ga potrebovali na terenu.

V času poplav se je potrdilo, da smo v kritičnih situacijah odzivni in pripravljeni delati na način, da smo v vsaki situaciji dostopni svojim pacientom. Ponovno se je izkazalo, da je dobro, da imamo v lekarnah večje zaloge zdravil, saj kljub začasnim nedostopnostim nobena lekarna ni ostala brez njih. Kljub velikim stroškom in nastali škodi smo se hitro organizirali, se lotili sanacije ter lekarne ponovno odprli za naše obiskovalce.

V veliko pomoč in oporo ste nam bili vsi, ki ste se v tem času odločili za nesebično pomoč, tako v obliki donacij kot tudi prostovoljnega dela ali spodbudnih besed, ki ste nam jih namenili. Vsem se še enkrat iskreno ter iz srca zahvaljujemo.

FARMAJESEN V BELI KRAJINI

Iztok Dovnik



V soboto 21. oktobra 2023 se je v idilični Beli krajini po več letih prekinitev, tudi zaradi ukrepov pri preprečevanju širjenja okužb s covid-19, ponovno odvil tradicionalni strokovno-družabni dogodek Slovenskega farmacevtskega društva (SFD) v znamenju praznika Sv. Martina – FarmaJesen 2023.

Organizacija dogodka je potekala v sodelovanju treh podružnic SFD, in sicer Dolenjske, Pomurske in Posavske. Sobota se je za ene začela bolj, za druge manj zgodaj, saj se je dogodka FarmaJesen 2023 udeležilo 118 članov iz vseh podružnic SFD. Vse nas je že zjutraj pozdravilo krásno vreme in sončni žarki, ki so pregnali še zadnje misli na deževne kaplje izpred predhodnega dne. Za dodatno napolnitev naših baterij in razvajanje brbončic na avtobusih so poskrbeli naši člani s pripravljenimi sladkimi dobrotami. Hvala vam!

Bela Krajina, pokrajina belih brez, zelenega Jurija, belokranjskega vina, bele platnene narodne noše in gostoljubnih ljudi. Po sprehodu skozi staro mestno jedro Metlike do metliškega gradu je v Belokranjskem muzeju sledil ogled arheološke zbirke (npr. kamnita sekira iz 5. tisočletja pr. n. št., najdena v Dragovanji vasi), kulturnozgodovinske zbirke (npr. vrč s srebrniki iz 16. stoletja, najden v Grabrovcu), zbirke umetnostne zgodovine, zbirke etnologije (razstava belokranjskih pisanic, rovaši) in zbirke novejšje zgodovine (prikazuje čas narodnoosvobodilne vojne) ter filma o Beli Krajini.

Ali veste kaj je rovaš? Rovaš je lesena palica, pogosto sestavljena iz dveh delov, na katero so z zarezi označevali npr. količinske pravice in obveznosti članov skupnosti. V Beli krajini poznamo rovaše predvsem v povezavi s soseskinimi zidanicami. Razširjeni so bili po vsej Evropi. Zaradi preprostosti so bili primerni tudi za nepismene. Še danes poznamo zvezo »na rovaš«; primer: »Pri njem ima še nekaj na rovašu«, kar pomeni, da mu je še nekaj dolžan.

V vinski kleti Prus je sledilo pokušanje odličnih belokranjskih vin, h katerim se je prilegel domač narezek iz suhih mesnin. V vinski kleti Prus pridelujejo vse kategorije vin: od penine, oranžnih vin do mirnih vin rednih trgategv pa tja do predikatov, kot so pozna trgategv, izbor, jagodni izbor, ledeno vino, suhi jagodni izbor in tudi našo posebnost, slamnato vino – vino iz sušenega grozdja. Poleg vin pridelujejo tudi med in žganje. Po degustaciji je sledil še ogled kleti. Hvala Jožefu Prusu za vse znanje, energijo, smeh, ki ga je delil z nami med degustacijo in ogledom! Ali ste vedeli, da so Prusovi petkratni vinar leta Slovenije?

Okrepčani in polni znanja o belokranjskih vinih smo pot nadaljevali ob hrvaški meji ob reki Kolpi do naselja Adlešiči, kjer so nam v etnografskem muzeju na prostem, Šokčev dvor, predstavili umetnost predenja in tkanja iz lanu, prav tako pa smo se lahko posladkali s sveže pečenimi kostanji, moštom in značilno belokranjsko pogačo, brez katere izlet v Belo Krajino nikakor ne sme miniti. Hvala Borisu in Tončki,





Degustacija v vinski kleti Prus.

ki sta z nami delila tudi pregovorne resnice, kot so: »Ovce se strižejo dvakrat na leto, ko hruške cvetijo in ko hruške medijo!«, »Lan je lan, z njim je dela leto in dan!« in »Deca rastejo kot konoplja!«.

Dan se je že prevesil v pozno popoldne. Odpravili smo se v Gostilno Kapušin, kjer nas je pričakala odlična večerja. Pred večerjo smo prisluhnili strokovnemu predavanju prof. dr. Mojce Kerec Kos, ki nam je osvežila znanje o interakcijah etanola z zdravili. Predavanje je potekalo interaktivno, saj smo vsi udeleženci sproti preko mobilnih telefonov odgovarjali na vprašanja, zastavljena s strani prof. dr. Mojce Kerec Kos. Mojca, iskrena hvala!

Za dobro voljo in razpoloženje med večerjo in po njej je poskrbela glasbena skupina Calypso. Plesali so vsi, stari in mladi, kar kaže na dobro medgeneracijsko sodelovanje in povezanost članov SFD.

Vožnja proti domu je minila v znamenju zbiranja in obujanja vtisov celotnega dne ter proti koncu že kovanju načrtov oz. zbiranju idej za izvedbo dogodka FarmaJesen 2024.



Šokčev dvor, Boris in Tončka.

Seveda dogodek ne bi uspel brez vas, spoštovani člani in članice SFD. Hvala vam za tako številno udeležbo in pozitivne odzive po dogodku. Zahvaljujemo se vodstvu SFD, predsedniku Marku Anderluhu, generalni sekretarki Andriani Tivadar in Nataliji Gerbič za vso vzpodbudo in pomoč pri organizaciji dogodka ter vsem sponzorjem in donatorjem, brez katerih dogodek ne bi bil mogoč.

Vse člane Slovenskega farmacevtskega društva vabimo tudi v prihodnje, da se udeležijo strokovnih in strokovnodružabnih dogodkov, ki jih organiziramo na društvu z namenom, da se izobražujemo in povezujemo ter tako uresničujemo naše poslanstvo.

Organizatorski odbor:

Iztok Dovnik, Dolenjska podružnica

Saša Zaviršek Mikolič, Pomurska podružnica

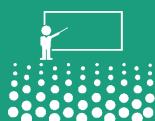
Simona Jalovec Pavlovič, Posavska podružnica



Slovensko farmacevtsko društvo

FARMAJESEN MARTINOVANJE 2023

Bela Krajina, 21. oktober 2023



Strokovno predavanje POŽIREK MODROSTI O ZDRAVILIH IN ALKOHOLU

prof. dr. Mojca Kerec Kos, mag. farm.

Zahvaljujemo se donatorjem in sponzorjem:



član skupine Sandoz



Zahvala

S pogledom na pet letošnjih odličnih, vsebinsko raznolikih in aktualnega znanja polnih številčk Farmacevtskega vestnika se mi najprej utrne misel ponosa.

Kot stroka delujemo aktivno in kakovostno in smo v koraku s časom na hitro razvijajočih se področjih farmacije in kozmetologije.

Pa vendar naš Farmacevtski vestnik ni samoumeven.

Vsaka številka stoji na dolgih urah raziskovanja in pisanja, popravljanja in nadgrajevanja ter natančnega oblikovanja in pregledovanja. Vsaka številka je delo predane ekipe.

Za uspešno sodelovanje se iskreno zahvaljujem prav vsem, posebno zahvalo pa namenjam dr. Andrijani Tivadar in g. Sebastjanu Jenku, ki sta v zadnjih korakih nastajanja Farmacevtskega vestnika nepogrešljiva že vrsto let.

Dragi bralci, Farmacevtski vestnik seveda nastaja tudi zaradi vas.

Hvala za vašo pozornost in srečno v novem letu!

izr. prof. dr. Nina Kočevar Glavač, glavna urednica Farmacevtskega vestnika

Članke, objavljene v letu 2023, so recenzirali:

*Alenka Kovačič • Aleš Berlec • Ana Banović Koščak • Andreja Čufar • Anja Plemenitaš Ilješ
Barbara Koder • Barbara Tašker • Borut Štrukelj • Boštjan Martinc • Cvetka Bačar Bole
Danijel Kikelj • Danila Hriberšek • Darja Gramec Skledar • Dea Baričević • Eva Gorup Cedilnik
Hojka Gregorič Kumperščak • Jana Makuc • Janez Mravljak • Janja Kelc • Janja Zupan
Jasna Dolenc Koce • Jasna Klen • Katarina Bolko Seljak • Katarina Čeranić Ninič • Katja Schoss
Lea Knez • Lovro Žiberna • Maja Jošt • Maja Petre • Maja Tršinar • Manca Bolčina • Marija Pfeifer
Marija Sollner Dolenc • Marjeta Rak Namestnik • Marjetka Korpar • Martina Bergant Marušič
Matej Dobravc Verbič • Mateja Lumpert • Matjaž Jeras • Metoda Lipnik Štangelj • Mirjam Gosenca Matjaž
Mitja Krajnc • Mojca Kerec Kos • Mojca Kržan • Mojca Muršec • Nejc Horvat • Nina Jurinec
Nina Kočevar Glavač • Pegi Ahlin Grabnar • Petra Kotnik • Polonca Drogenik • Samo Zver
Sara Cimprič • Sara Kenda • Simon Rajh • Stanko Srčič • Tanja Potrč • Tihomir Tomašič
Tijana Markovič • Tina Ferlinc • Tina Maver • Tina Morgan • Tomaž Vovk • Vanja Božič*

IZVIRNI ZNANSTVENI ČLANKI – ORIGINAL SCIENTIFIC ARTICLES

Katja Schoss, Nina Kočever Glavač Izveček brazilske kreše (<i>Acmella oleracea</i>) v pomlajevalni kozmetiki: senzorično vrednotenje testne in placebo emulzije <i>Extract of Brazilian cress (Acmella oleracea) in rejuvenating cosmetics: sensory evaluation of test and placebo emulsion</i>	3
Ajda Doler, Mirjana Gašperlin Personalizirana kozmetika na slovenskem trgu <i>Personalised cosmetics on the slovenian market</i>	10
Ana Kodrič, Anja Kreslin, Nejc Horvat Ugovor vesti v slovenskih javnih lekarnah: seznanjenost, odnos in uporaba <i>Conscientious objection in Slovenian community pharmacies: Awareness, attitudes and practices</i>	171
Ana Kodrič, Anja Rožič, Nejc Horvat Sistem farmacevtov predpisovalcev: izkušnje iz tujine in pogledi splošne populacije, farmacevtov in zdravnikov v Sloveniji <i>Pharmacist prescribing: experiences from abroad and perspectives of the general population, pharmacists, and physicians in Slovenia</i>	179
Ana Matičič, Katja Schoss Eterično olje prave sivke in lavandina: primerjava sestave in antioksidativnega potenciala <i>Essential oil of common lavender and lavandin: Comparison of composition and antioxidant potential</i>	329

PREGLEDNI ZNANSTVENI ČLANKI – REVIEW SCIENTIFIC ARTICLES

Ana Marolt, Janez Mravljak Antioksidanti naravnega izvora v kozmetiki <i>Antioxidants of natural origin in cosmetics</i>	20
Katja Schoss, Janez Mravljak Antioksidativni potencial rastlinskih izvlečkov, pridobljenih s subkritično vodo <i>Antioxidative potential of plant extracts obtained with subcritical water</i>	28
Katarina Bolko Seljak, Mirjana Gašperlin Resveratrol v kozmetiki in dermatologiji <i>Resveratrol in skincare and dermatology</i>	39
Alenka Zvonar Pobirk, Mirjam Gosenca Matjaž Kozmetični izdelki za zaščito kože pred okoljskimi onesnaževali <i>Anti-pollution cosmetic products</i>	46
Eva Tavčar Kanabidiol (CBD) in koža <i>Cannabidiol (CBD) and the skin</i>	56
Damjan Avsec, Helena Podgornik, Matevž Škerget, Irena Mlinarič-Raščan Tarčno zdravljenje kronične limfocitne levkemije z zaviralci fosfatidilinozitol 3-kinaze <i>Targeting phosphatidylinositol 3-kinase in chronic lymphocytic leukemia</i>	67
Andreja Čelofiga, Laura Ojsteršek Obrazi depresije: nekaj osnovnih dejstev <i>Faces of depression: some basic facts</i>	83



Anja Plemenitaš Ilješ Depresija pri ženskah <i>Depression in women</i>	90
Matej Štuhec Izzivi v zdravljenju depresije pri starostnikih: od izbire antidepresiva do rezistentne depresije <i>Treatment challenges in the depression in the elderly: from antidepressant selection to resistant depression</i>	95
Janez Rifel, Marija Petek Šter Depresija kot spremljevalka telesnih bolezni <i>Depression as a frequent companion of physical illnesses</i>	103
Maja Petre Odtegnitveni simptomi ob prenehanju jemanja antidepresivov <i>Withdrawal symptoms following discontinuation of antidepressants</i>	108
Mateja Kadilnik Protokol za obravnavo bolnika z depresijo v zunanji lekarni <i>Protocol for the management of a patient with depression in a public pharmacy</i>	115
Irena Preložnik Zupan, Karla Reiner Novosti v zdravljenju hemofilije <i>New developments in haemophilia treatment</i>	125
Nina Ravbar, Mojca Kerec Kos, Mitja Kos Kaskade predpisovanja zdravil <i>Prescribing cascades</i>	189
Ana Dolšak, Matej Sova Triptofan in njegova vloga v človeškem organizmu <i>Tryptophan and its role in the human body</i>	197
Anja Srpčič, Nika Lovšin Sistem CRISPR/Cas9 in njegova uporaba v genetskem inženirstvu <i>The CRISPR/Cas9 system and its applications in genetic engineering</i>	205
Tinkara Srnovršnik, Lucija Peterlin Mašič, Bojana Pinter Kemični motilci endokrinega sistema in reproduktivno zdravje žensk <i>Endocrine disrupting chemicals and female reproductive health</i>	215
Rok Herman, Andrijana Koceva, Andrej Janež, Mojca Jensterle Pandemija debelosti – epidemiologija, etiopatogeneza, dejavniki tveganja in posledice <i>Obesity pandemic – epidemiology, etiopathogenesis, risk factors and consequences</i>	251
Matija Cevc Debelost kot dejavnik tveganja <i>Obesity as a risk factor</i>	260
Barbara Tašker Zdravljenje debelosti z zdravili <i>Pharmacologic treatment of obesity</i>	268
Nina Pisk Vpliv zdravil na pridobivanje telesne mase <i>Effect of drugs on weight gain</i>	276
Mojca Jensterle Sever Debelost in hormonske spremembe <i>Obesity and hormonal changes</i>	282
Eva Tavčar Ekstrakcije konoplje: z optimalno metodo do kakovostnih ekstraktov <i>Cannabis extractions: Optimal methods for obtaining high-quality extracts</i>	337

Sara Papa, Janez Mravljak Pregled najnovejših raziskav dvokrpega ginka (<i>Ginkgo biloba</i>): potencial za nove indikacije <i>Review of the latest research on ginkgo (Ginkgo biloba): Potential for new indications</i>	346
Andrijana Koceva, Nika Aleksandra Kravos Tramšek, Mojca Lunder, Miodrag Janić Preboj v zdravljenju presnovnih bolezni: inovativna molekula tirzepatid <i>Breakthrough in the treatment of metabolic disorders: Innovative molecule tirzepatide</i>	353
Alja Zottel, Vesna Kokondoska Grgič, Maša Sinreih 3D celični modeli in njihova uporaba pri testiranju protirakavih zdravilnih učinkovin <i>3D cell models and their use in testing of anticancer drugs</i>	362

KRATKI STROKOVNI ČLANKI – SHORT PROFESSIONAL ARTICLES

Cvetka Bačar Bole Individualna izbira antidepresivov pri bolnikih s postcovidnim sindromom – prikaz dveh kliničnih primerov <i>Individual choice of antidepressants in patients with post-COVID Syndrome - two clinical cases</i>	131
Maja Tršinar Spolna motnja ob terapiji z antidepresivi – klinični primer <i>Antidepressant-induced sexual dysfunction – Clinical case</i>	136
Andreja Detiček, Maja Tršinar Serotoninski sindrom pri zdravljenju z antidepresivi – klinična primera <i>Antidepressants-induced serotonin syndrome – Two clinical cases</i>	141

STROKOVNI ČLANKI – PROFESSIONAL ARTICLES

Jerneja Maček, Marjetka Švigelj Depresija pri otrocih in mladostnikih <i>Depression in children and adolescents</i>	151
Sandra Pehan Brezšivna skrb pri bolnikih z depresijo <i>Seamless care in patients suffering from depression</i>	155
Vesna Švab Celostna obravnava depresije <i>Depression – The holistic treatment approach</i>	160
Tina Sentočnik Osnovno zdravljenje debelosti <i>Basic treatment of obesity</i>	290
Bojan Madjar Vloga lekarniškega farmacevta pri obravnavi debelosti <i>Community pharmacist's contribution to obesity management</i>	299
Petra Majcen Vpliv debelosti na izbiro in odmerjanje zdravil – klinični primer <i>Influence of obesity on the selection and dosing – clinical case</i>	307
Barbara Razingar Novosti na področju zdravil rastlinskega izvora <i>Novelties in the field of herbal medicinal products</i>	323



NOVICE IZ SVETA FARMACIJE IN DRUŠTVENE VESTI

Depo injekcija na osnovi liotropnih tekočih kristalov za subkutano dostavo zdravilnih učinkovin (Vitek M, Gosenca Matjaž M)	75
Kemijska karakterizacija in ocena bioaktivnosti eteričnega olja in hidrolata timijana (<i>T. mastichina</i>) in brškina (<i>Cistus ladanifer</i>) (Ratajc P)	75
Transdermalni obliži na osnovi nanostrukturiranih lipidnih nosilcev za zdravljenje nevropatske bolečine (Vitek M, Gosenca Matjaž M)	76
Nove genetske raziskave kamilice: rastlina izvira z balkanskega polotoka (Ratajc P)	313
Vpliv dentalnih bolezni in ustne higijene na pojav srčnega popuščanja pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa II (Gržin L)	313
FDA je odobrila prodajo prve kontracepcijske tablete brez recepta (Jozić M)	314
Zdravilo za zdravljenje ponovljenega ali neodzivnega multiplega mieloma (Mlinar E)	314
Farmahribi – Ratitovec (16. september 2023) (Dolinar P)	317
19. dan slovenskih lekarn – o pravilni in varni uporabi zdravil: prehrana in zdravila (Dolinar P)	318
Udeležba članov Slovenskega farmacevtskega društva na letnem srečanju Evropske federacije farmacevtskih znanosti (EUFEPS) (Zvonar Pobirk A, Gosenca Matjaž M, Gašperlin M)	374
Udeležili smo se 14. Centralno evropskega simpozija iz Farmacevtske tehnologije (CESPT) (Gašperlin M)	376
Poročilo s simpozija Homeopatske sekcije pri Slovenskem farmacevtskem društvu (Hribar M)	377
Kongres Evropskega združenja za klinično farmacijo 2023 (ESCP Aberdeen Symposium 2023) – utrinki slovenskih udeležencev (Knez L, Laptoš T, Petre M, Štuhec M)	379
21. simpozij Sekcije farmacevtov javnih lekarn: Debelost – vzrok in posledica zdravstvenih težav (Korpar M)	379
Evropska noč raziskovalcev 2023 na Fakulteti za farmacijo (Zvonar Pobirk A, Mravljak J)	381
Delovanje JZ Koroška lekarna med poplavami (Počič A)	383
Martinovanje (Dovnik I, Zaviršek Mikolič S, Jalovec Pavlovič S)	385
Zahvala avtorjem in recenzentom	388
Letno kazalo vsebine	389
Indeks avtorjev	393

INDEKS AVTORJEV /
INDEX OF AUTHORS

Avsec D	67	Papa S	346
Bačar Bole C	131	Pehan S	155
Bolko Seljak K	39	Petek Šter M	103
Cevc M	260	Peterlin Mašič L	215
Čelofiga A	83	Petre M	108, 379
Detiček A	141	Pinter B	215
Doler A	10	Pisk N	276
Dolinar P	317, 318	Plemenitaš Ilješ A	90
Dolšak A	197	Počič A	383
Dovnik I	385	Podgornik H	67
Gašperlin M	10, 39, 374, 376	Preložnik Zupan I	125
Gosenca Matjaž M	46, 75, 76, 374	Ratajc P	75, 313
Gržin L	313	Ravbar N	189
Herman R	251	Razinger B	323
Horvat N	171, 179	Reiner K	125
Hribar M	377	Rifel J	103
Janež A	251	Rožič A	179
Janič M	353	Schoss K	3, 28, 329
Jensterle M	251	Sentočnik T	290
Jensterle Sever M	282	Sinreih M	362
Jožič M	314	Sova M	197
Kadilnik M	115	Srnovršnik T	215
Kerec Kos M	189	Srpčič A	205
Knez L	379	Škerget M	67
Koцева A	251, 353	Štuhec M	95, 379
Kočevar Glavač N	3	Švab V	160
Kodrič A	171, 179	Švigelj M	151
Kokondoska Grgič V	362	Tašker B	268
Korpar M	379	Tavčar E	56, 337
Kos M	189	Tršinar M	136, 141
Kravos Tramšek N A	353	Vitek M	75, 76
Kreslin A	171	Zottel A	362
Laptoš T	379	Zvonar Pobirk A	46, 374, 381
Lovšin N	205		
Lunder M	353		
Maček J	151		
Madjar B	299		
Majcen P	307		
Marolt A	20		
Matičič A	329		
Mlinar E	314		
Mlinarič-Raščan I	67		
Mravljak J	20, 28, 346, 381		
Ojsteršek L	83		





Odkrivamo za prihodnost.

Pri svojem delu se posvečamo zdravstvenim težavam, ki danes predstavljajo največje izzive znanosti - kot so rakava obolenja, nalezljive bolezni in virusne okužbe, protimikrobna odpornost, kot tudi sladkorna bolezen ter kardiometabolična obolenja. Aktivno vlagamo v raziskave in razvoj, zaradi česar se uvrščamo med vodilne razvojno-raziskovalne družbe na svetu.

Odkrivamo za bolj zdravo prihodnost.

Rešujemo
največje svetovne
zdravstvene izzive.
Skupaj smo
močnejši.

abbvie

NAPREDNA ZNANOST,
INOVACIJE, ZNANJE IN
IZKUŠNJE TER PREDANI
ZAPOSLENI NAM OMOGOČAJO
CELOVIT PRISTOP PRI
ZAGOTAVLJANJU BOLJŠE
KAKOVOSTI ŽIVLJENJA LJUDI.

**People. Passion.
Possibilities.***

www.abbvie.si

*Predani ljudje – nove priložnosti.

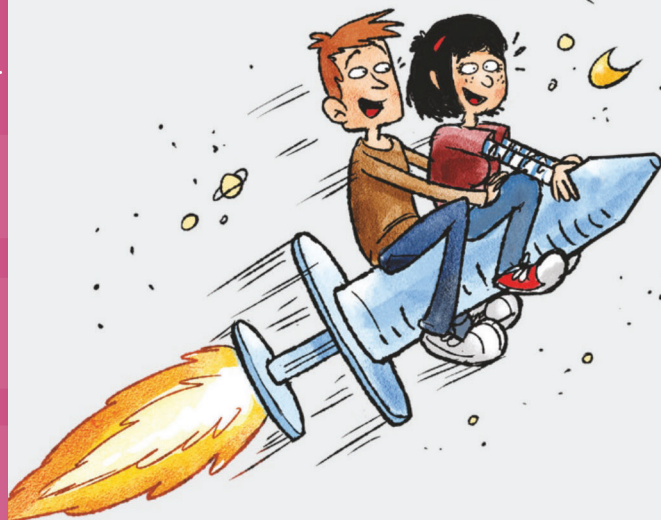


ZVEZA SLOVENSkih DRUŠTEV
ZA BOJ PROTI RAKU

Desa Muck

Ilustriral Matej de Cecco

BLAZNO RESNO O HPV



**Zveza slovenskih društev za boj proti raku
bo vsaki lekarni poslala en izvod brošure
Blazno resno o HPV.**



Pot do zdravja

Naš cilj so zdravi in srečni ljudje. Smo veletrgovca za prodajo zdravil z najširšo ponudbo izdelkov za humano in veterinarsko medicino v Sloveniji. Odlikujejo nas hitrost, varnost in zanesljivost. Svoje delo opravljamo srčno in predano. Prav zaradi tega nam zaupajo številne lekarne in bolnišnice ter druge zdravstvene in veterinarske ustanove.

Zavedamo se, da nam prihodnost ponuja nešteto izzivov. Premagamo jih lahko z nenehnim izpopolnjevanjem. S kakovostnimi storitvami in s široko izbiro zdravil ter drugih izdelkov bomo zaupanje svojih kupcev opravičevali tudi v prihodnje!

01 470 98 00 | www.kemofarmacija.si



KEMOFARMACIJA
a PHOENIX company