

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Sledování výskytu karbamazepinu a jeho metabolitů
v životním prostředí**

Bakalářská práce

Jitka Konvalinková

**Studijní program: Ochrana krajiny a využívání
přírodních zdrojů**

**Vedoucí práce:
prof. Ing. Pavel Tlustoš, CSc., dr. h. c.**

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Sledování výskytu karbamazepinu a jeho metabolitů v životním prostředí" jsem vypracovala samostatně pod vedením prof. Ing. Pavla Tlustoše, CSc., dr. h. c. a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 3.5.2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Pavlu Tlustošovi, CSc., dr. h. c. za vstřícné, odborné vedení práce a důvěryplnou trpělivost.

Sledování výskytu karbamazepinu a jeho metabolitů v životním prostředí

Souhrn

Znečištění životního prostředí farmaceutickými mikropolutanty je dnes dobře známou skutečností. Tato kontaminace, jež je v povědomí již několik desetiletí, je v současné době velkým problémem po celém světě. Představuje skutečnou vědeckou výzvu, pokud jde o ekotoxicitu, znečištění půdy, veřejné zdraví, stejně tak jako s ní související strategie s nakládáním s pitnou vodou či odpadními vodami.

Karbamazepin (CBZ) je neutrální, heterocyklické antiepileptické léčivo. Při terapeutickém užití, je značně metabolizován. Ve vyčištěných odpadních vodách z čistíren odpadních vod je detekován karbamazepin (CBZ) i jeho metabolity v důsledku jejich nízké biologické rozložitelnosti. Tyto vyčištěné odpadní vody se vypouštějí do přírodních vodních útvarů a CBZ se dostává do přírodního vodního systému. Biologicky aktivní CBZ a jeho metabolity se mohou dostat i do půdního prostředí, pokud je půda hnojena upravenými kaly či zavlažované recyklovanou vodou. Následně se může bioakumulovat v organismech.

Karbamazepin je všudypřítomná kontaminace. Je vysoce perzistentní. Vědecké články, zprávy uvádějí hodnoty hmotnostní koncentrace CBZ v různých složkách životního prostředí v rozmezí $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ až $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$.

Cílem této práce bylo popsat environmentální osud znečišťující substance karbamazepinu. Podat komplexní přehled fyzikálně-chemických, farmakologických a toxikologických vlastností karbamazepinu a jeho produktů transformace.

Klíčová slova: Léčiva, Odpadní vody, Čistírenské kaly, Ekosystém, Transformační reakce

Investigation of Carbamazepine and its Metabolites Presence in the Environment

Summary

Today, environmental contamination by pharmaceutical micropollutants is a well-established fact. This contamination, which has been known about for several decades, is currently a major concern across the globe. It represents a real scientific challenge in terms of ecotoxicity, soil pollution, public health, as well as drinking water and wastewater management strategies.

Carbamazepine (CBZ) is a neutral, heterocyclic antiepileptic drug. When this drug is consumed, it is extensively metabolized. The presence of carbamazepine (CBZ) and its metabolites is reported in sewage treatment plant effluents as a result of its low biodegradability. These effluents wastewaters are discharged into natural water bodies and CBZ enter the natural water system. The biological active CBZ and its metabolites can be released into the soil environment when contaminated sewage sludge, sewage effluent is applied to land. CBZ can then bioaccumulate in the body of organisms.

In the latest years CBZ has also is known as a ubiquitous contamination of environments. It is highly persistent substance. Scientific articles, reports presenting values of mass concentration of CBZ in various components of the environment in various $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ to $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$.

The aim of this work was to determine the environmental fate of emerging pollutant, carbamazepine. Provide a comprehensive overview of the physicochemical, pharmacological and toxicological properties of carbamazepine and its transformation products.

Keywords: Pharmaceuticals, Waste water, Sewage sludge, Ecosystem, Transformation reactions

Obsah

1 ÚVOD.....	1
2 CÍL PRÁCE.....	2
3 ANTIEPILEPTIKA.....	3
4 KARBAMAZEPIN JAKO LÉČIVÁ LÁTKA	4
4.1 FYZIKÁLNĚ – CHEMICKÁ CHARAKTERISTIKA.....	5
4.2 VÝROBA A SYNTÉZA.....	8
4.3 SPOTŘEBA	10
4.4 FARMAKOLOGICKÝ PROFIL	12
5 BIOTRANSFORMACE	14
6 DISTRIBUCE LÉČIVA PROSTŘEDÍM	16
6.1 VODNÍ PROSTŘEDÍ.....	20
6.2 PŮDNÍ PROSTŘEDÍ.....	23
6.3 BIOTA.....	27
7 MOŽNOSTI ELIMINACE	28
8 ZÁVĚR.....	29
9 LITERATURA.....	30

1 ÚVOD

Léčiva jsou používána k prevenci, diagnostiku a léčbu onemocnění u lidí a zvířat. Celosvětová průměrná spotřeba všech léčiv za rok se odhaduje na přibližných 15 g na člověka, ve vyspělých zemích se očekává hodnota mezi 50 a 150 g (Zhang et al. 2008). Epilepsie je po mrtvici druhé nejčastější onemocnění centrálního nervového systému. Spotřeba antiepileptik v porovnání s ostatními skupinami léčiv proto není zanedbatelná (Miao and Metcalfe 2003). Antiepileptikum karbamazepin je na farmaceutickém trhu dostupné přes čtyřicet let, zcela nahradilo hojně využívaný fenytoin i fenobarbital. Karbamazepin se stal antikonvulzivem první volby pro řadu typů epileptických, křečových záchvatů jak u dětí, tak u dospělých (López-Muñoz et al. 2018; Moshé et al. 2015). Své uplatnění našel i ve veterinární klinické praxi, především u koní (Newton et al. 2000). Kromě toho se karbamazepin používá pro své analgetické vlastnosti k léčbě trigeminální neuralgie. V klinické psychiatrii je předepisován k léčbě schizofrenie, bipolární poruchy či jako stabilizátor nálady. V kombinaci s jinými léčivy slouží jako podpurná léčba při odvykání na alkoholu (Woods et al. 2017).

Tato léčivá látka společně s ostatními léčivy je po terapeutickém užití vylučována ve formě metabolitů i v nezměněné podobě. Vylučované metabolity (TP) i samotné mateřské chemické struktury mají potenciál k biologické aktivitě. Všechny tyto chemické sloučeniny jsou odváděny stokovou sítí do čistíren odpadních vod (ČOV), kde nejsou degradována nebo zachycena (Ebele et al. 2017). Karbamazepin byl nalezen v odpadních vodách po celém světě: v Evropě, USA, Kanadě, Japonsku či Jižní Koreji. Očekává se, že se tento seznam oblastí v budoucnu rozroste. Koncentrace karbamazepinu v odpadních vodách ČOV se obvykle pohybují v řádu stovek nanogramů na litr, ojediněle je zaznamenána koncentrace i v mikrogramech na litr (Zhang et al. 2008).

Následně se tyto látky dostávají do přírodního vodního či půdního prostředí ve formě vyčištěné odpadní vody nebo upraveného kalu (Zhang et al. 2008). Velký počet studií prokázal přítomnost různých farmak, včetně CBZ, jejich reziduí v různých sekcích životního prostředí, což vyvolává obavy z možných nepříznivých účinků na člověka a volně žijící živočichy. Avšak samotná detekce látek nutně nemusí představovat environmentální hrozbu (Ebele et al. 2017). Potenciál nepříznivého rizika pro životní prostředí u obecně všech biologicky aktivních sloučenin, jejich metabolitů a dalších stopových organických sloučenin je již dlouho znám, ale jejich rozsah ještě není dostatečně prozkoumán a prokázán (Shreffler and Zuniga 2018). Je k dispozici velmi málo informací o tom, jak CBZ interagují s jednotlivými složkami životního prostředí, a také o tom, jak se vzájemně tyto cizorodé látky v životním prostředí ovlivňují (Ebele et al. 2017). Není komplexně pochopeno, jak se sloučeniny v průběhu času mění a jak interagují s jednotlivými složkami ekosystému. Je jisté, že jeho chování je podmíněné jak fyzikálně-chemickými vlastnostmi CBZ a transformačních produktů, tak i fyzikálně-chemickými vlastnostmi všech složek celého ekosystému (Shreffler and Zuniga 2018). Pro pochopení možných interakcí CBZ a jeho TP je důležité si uvést jeho vlastnosti, a to jak fyzikálně-chemické, farmaceutické a toxikologické. Známé poznatky a principy chování CBZ v životním prostředí jsou shrnuty v této práci.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce bylo vypracování uceleného přehledu fyzikálně-chemických, farmakologických a toxikologických vlastností karbamazepinu a jeho transformačních produktů. Byly shrnuty informace o možných zdrojích, výskytu a míře distribuce těchto látek v životním prostředí s důrazem na úlohu čistíren odpadních vod a jejich možností eliminace těchto environmentálních polutantů.

3 ANTIEPILEPTIKA

Antiepileptika (AED) jsou léky používané k symptomatické léčbě¹ epileptických záchvatů a stavu označovaného jako status epilepticus, což je nebezpečný a život ohrožující stav skládající se spojitě z několika jednotek či desítek těžkých epileptických křečovitých záchvatů (Hynie 1999). AED působí protikřečově, proto jsou též označovány jako antikonzulziva (konvulze = křeč, křečový stav) (Debnath et al. 2020). Záchvaty jsou podmíněny patologickou mozkovou epileptickou aktivitou, abnormálními výboji mezi neurony v šedé kůře mozkové (Hampl et al. 2015). Klinické projevy epileptických záchvatů se mohou projevit rozličným způsobem s různou intenzitou a četností. Rozsah manifestace je podmíněn umístěním a velikostí ložiska (tj. epileptogenní zóny) v různých oblastech mozku. Epileptické záchvaty se dělí na záchvaty fokální (parciální) a generalizované (rozsáhlé), které se dělí dále na jednotlivé podtypy (Moshé et al. 2015).

Spontánně opakovanými záchvaty se projevuje epilepsie (Kuba 2006). Nutno upozornit na skutečnost, že jeden epileptický záchvat neznamená epilepsii. Světová zdravotnická organizace (WHO) udává, že až 10 % lidí na celém světě má během svého života jeden epileptický záchvat (WHO 2021). Epilepsie je definována jako dva nebo více nevyprovokovaných epileptických záchvatů (WHO 2021). Epilepsie (EP, zastarale česky padoucnice) je časté neurologické onemocnění s prevalencí asi 5–8 případů na 1 000 obyvatel ve vyspělých státech, v rozvojových zemích s prevalencí 10 a více případů na 1000 obyvatel. Tyto regionální rozdíly pravděpodobně vyplývají z rozdílů v rizikových faktorech pro epilepsii, zejména v nedostatečné předporodní, perinatální a postnatální péči či v úplné absenci vyšetřovacích procedur, tzv. screeningu (Kuba 2006; Moshé et al. 2015). WHO v roce 2014 odhadovala, že epilepsií po celém světě trpí 50 milionů lidí (May 2014). Nyní odhaduje přibližně 65 milionů lidí (WHO 2021). Epilepsie postihuje všechny věkové skupiny, všechny etnické skupiny. Epidemiologické studie avšak ukazují, že EP manifestuje zejména u starší populace (Akamatsu 2017).

Epilepsie není choroba s jedinou příčinou, může být vyvolána během života celým spektrem příčin od infekcí, nadměrného užívání alkoholu či drog, metabolické poruchy až po nádory i úrazy hlavy (Hampl et al. 2015). Příčina často není odhalena (Kuba 2006). V Japonské studii zabývající se kohortou starších pacientů (nad 65 let) dokonce uvádí, že jasná příčina EP nebyla u 53,7 % pacientů nalezena (Akamatsu 2017; Kuba 2006). Toto různorodé onemocnění je velmi těžké jednotně definovat, v historii byla používána řada definic. Mezinárodní liga proti epilepsii (ILAE) definuje epilepsii jako "*trvalou predispozici mozku k vyvolání epileptických záchvatů, s neurobiologickými, kognitivními, psychologickými a sociálními důsledky*" a epileptické záchvaty jako "*přechodný výskyt známek a/nebo příznaků v důsledku abnormální nadměrné nebo synchronní neuronální aktivity v mozku*" (Moshé et al. 2015). Ne všechny formy epilepsie jsou spojeny se sníženou délkou života (Moshé et al. 2015). Avšak WHO uvádí, že je riziko předčasného úmrtí u lidí s epilepsií až třikrát vyšší než u zdravé populace (WHO 2021).

¹ Symptomatické léčba je terapie založená na potlačování příznaků nemoci bez ohledu na příčinu nemoci. Proto antiepileptika epilepsii přímo neléčí, ale pouze potlačují její projevy, zejména epileptické záchvaty (Kuba 2006).

Cílem léčby je potlačení či úplná eliminace silných záchvatů bez nepříjemných nežádoucích účinků a zajištění optimální kvality života pacienta a jeho okolí. Pokud je prokazatelně určena příčina EP, je snaha ji odstranit např. chirurgickým zákrokem. V ostatních případech jsou nutná režimová opatření v podobě dobré životosprávy, vyhnutí se provokačních faktorů, jež jsou spouštěčem záchvatů, a medikace. Přibližně 20 – 30 % pacientů s epilepsií má záchvaty, které jsou refrakterní k léčbě aktuálně dostupnými AED (Moshé et al. 2015). Éra moderní terapie epilepsie byla zahájena v roce 1912, kdy byl do terapie zaveden fenobarbital, následovaný fenytoinem a etosuximidem. Poté se do klinické praxe zavedla tzv. „klasická antiepileptika“, především karbamazepin, valproát a benzodiazepiny (nejznámější diazepam). V posledních letech se registrují tzv. „nová antiepileptika“. V současné době za ně považujeme lamotrigin, levetiracetam, topiramát, lakosamid, zonisamid, oxkarbamazepin (Hampel et al. 2015; Kuba 2006). Dávky se pohybují v širokém rozsahu, od stovek mg do řádu tisíců mg. Léčba je dlouhodobá. Ukončení léčby se doporučuje nejdříve po třech letech bez záchvatů s dobrým klinickým obrazem. Vysazení léčby není nárazové, ale pomalu se klesá s dávkou, protože hrozí tzv. rebound fenomén, tedy efekt zpětného rázu (May 2014; Moshé et al. 2015).

Lze rozlišit tři hlavní skupiny AED dle mechanisme účinku. Pokud působí pouze jedním mechanismem, označuje se léčba jako úzkospektrální. Některá antiepileptika mají cílové struktury vícečetné (tzn. kombinují více mechanismů účinku), označujeme je za širokospektrální. Jednotlivé účinné látky (API) se mohou podávat samostatně, což se označuje jako monoterapie, nebo mohou být společně ve směsi, poté se hovoří o kombinované terapii (Akamatsu 2017; May 2014).

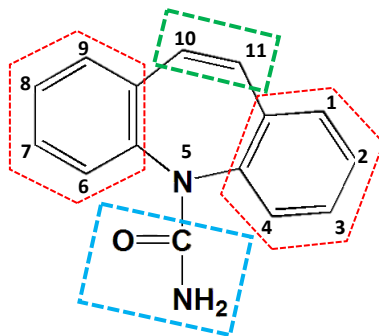
4 KARBAMAZEPIN JAKO LÉČIVÁ LÁTKA

Karbamazepin je terapeuticky účinný nejen v léčbě epilepsie, ale i bolestivé neuralgie trigeminu, bipolární poruchy, mánie a v dalších neurologických onemocnění, a to jak v humánní klinické praxi, tak i veterinární. Od uvedení na trh se CBZ stal nejběžněji předepisovaným lékem a dlouho se označoval jako lék první volby na epilepsii. Jeho terapeutická aplikace je však spojena s řadou závažných idiosynkratických (individuálních) nežádoucích účinků, včetně aplastické anémie či hepatitidy. V dnešní době je překonán novějšími léčivy, avšak stále je hojně předepisován (Bialer 2012; Debnath et al. 2020; Pearce et al. 2008).

Je podezření, že je karbamazepin pro svůj mechanismus účinku zneužíván jako sportovní doping v olympijské sportovní disciplíně freedivingu, tedy ve volném potápění. Jelikož není na seznamu zakázaných látek vytvořeném Světovou antidopingovou agenturou (WADA), dopingové kontroly ho nemonitorují a nelze tedy potvrdit ani vyvrátit toto podezření (Woods et al. 2017).

4.1 FYZIKÁLNĚ – CHEMICKÁ CHARAKTERISTIKA

Syntetická léčivá látka 5H-dibenz[b,f]azepin-5-karboxamid (či 5-karbamoil-5H-dibenz[b,f]azepin) sumárního vzorce $C_{15}H_{12}N_2O$, známá jako karbamazepin (carbamazepinum, CBZ), je v čisté formě bílá až nažloutle bílá krystalická látka neutrální nebo nahořklé chuti, téměř bez zápachu (Debnath et al. 2020).



Obr. 1 Strukturální vzorec molekuly CBZ s číselně označenými uhlíky v cyklech. Vyznačený farmakofor – zeleně dvojná vazba na uhlíku C10, modře skupina – CONH₂ a červeně hydrofobní jednotka. Převzato a zpracováno z citace (Sahu et al. 2017).

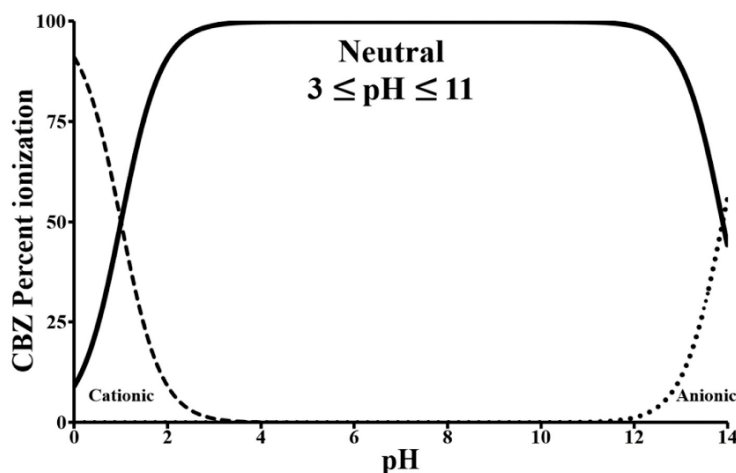
Jak prozrazuje strukturální vzorec (Obr. 1), karbamazepin se skládá ze sedmičlenného dusíkatého heterocyklu, který sdílí atomy uhlíků se dvěma benzenovými kruhy. Postrádá nasycený uhlíkový atom, postrádá střed chiralitu, a proto není chirální. Obsahuje amidovou část, jež není součástí heterocyklického kruhu. Není planární (Bialer 2012).

Za farmakofor (Obr.1), tj. strukturální motiv odpovědný za biologickou aktivitu, jsou považovány 3 části molekuly – dvojná vazba na uhlíku C10 (donor elektronů), lipofilní aromatický kruh (tedy hydrofobní jednotka) a amidová skupina – CONH₂ umožňující tvorbu vazby vodíkové (tj. vodíkový můstek). Při této intermolekulární interakci elektronegativní dusíkový atom způsobuje posun elektronů od atomů vodíku směrem k sobě, tím vzniká na vodíkových atomech částečný kladný náboj, jenž může být přitahován záporným nábojem volného elektronového páru atomu jiné molekuly; a tím dojde ke sdílení vodíkového atomu. Zároveň ale skupina obsahuje i atom kyslíku s volnými el. páry, kterými může kyselé protony (vodíky s částečným kladným nábojem) přitahovat (Deng et al. 2014; Sahu et al. 2017). Právě vodíková vazba je mimořádně důležitá v tzv. molekulárním rozpoznávání partnera ve vzájemném působení molekuly CBZ s enzymem či receptorem, proteinovou strukturou. Rovněž kauzálně souvisí s hydrofilními vlastnostmi, mírou ochoty reagovat s molekulami vody (Kodíček et al. 2018). Za nejreaktivnější místo (chemicky, farmakologicky i metabolicky) se v molekule považuje dvojná vazba mezi uhlíkem C10 a C11 (Bialer 2012).

Aby strukturální motiv vykazoval danou biologickou aktivitu, je důležitá i absolutní vzdálenost těchto částí od sebe (Sahu et al. 2017). Stejný farmakofor vykazují i další zástupci antiepileptik, např. výše zmíněný fenytoin nebo diazepam. CBZ má strukturou velmi blízko k tricyklickým antidepresivům (TCA) (Vardanyan and Hruby 2006).

Tato substance je nepolární (resp. velice slabě polární). Její možné acidobazické chování lze odhadnout z disociačních konstant $pK_{A1}=1,0$ a $pK_{A2}=13,9$ (voda oproti CBZ má

pK_A přibližně 15,7) za normálního tlaku při 25 °C. Tato molekula je neutrální mezi pH 3 a 11 (Bizi 2019). Speciační diagram CBZ v čisté vodě v závislosti na pH je zobrazen na Obr. 2. Míra polaritý úzce souvisí i s rozpustností CBZ (Debnath et al. 2020; Deng et al. 2013; Zhang et al. 2008).



Obr. 2 Speciační diagram CBZ v čisté vodě. Převzato a přeloženo z citace (Bizi 2019).

V různých organických rozpouštědlech (např.: v alkoholu, acetonu, chloroformu) je tato látka dobře rozpustná. Avšak malou rozpustnost jeví v etheru. Ve vodě je prakticky nerozpustná. To, co jej činí nerozpustným ve vodě, je tricyklická struktura (Woods et al. 2017). Ve většině literatury se uvádí maximální hmotnostní koncentrace rovná $17,7 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ při 25 °C (Debnath et al. 2020; Zhang et al. 2008). V některých vědeckých člancích se však uvádí údaj přibližně desetinásobně větší, hodnoty maximální koncentrace okolo $125 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ při 25 °C (Deng et al. 2013). Tento informační rozpor je způsobem neúplným popisem získání této informace, jelikož údaj $17,7 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ je údaj teoretické predikce, tedy hodnota, kterou na základě chemické struktury určila výpočetní technika. Empirie dokazuje větší hodnoty. I přesto jsou tyto hodnoty malé v porovnání s rozpustností ostatních organických substancí, hovoří se o CBZ jako o látce nerozpustné ve vodě. Míru lipofility neboli hydrofobicity nám vyjadřuje rozdělovací koeficient $\log P$ (1-oktanol/voda), jehož hodnoty jsou funkcí podmínek (pH, teplota) a v případě pH 7,4, při teplotě 25 °C pro CBZ činí predikovaná (vypočítaná) hodnota 2,45². V literatuře lze naleznout i empiricky zjištěnou hodnotu 1,51 při pH 7,0 a teplotě 25 °C. Látka má lipofilní charakter (Deng et al. 2013; Scheytt et al. 2005). Henryho konstanta činí $1,09 \cdot 10^{-5} \text{ Pa}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ při 25 °C, což je důležitý údaj zejména pro studium půdních interakcí (Zhang et al. 2008).

Je zde na místě zmínit, že CBZ je polymorfní chemická entita, tedy látka, jež v závislosti na krystalizačních podmínkách může krystalizovat ve více krystalových strukturách, tzv. polymorfech. Pro odlišení jednotlivých krystalických modifikací molekuly se označují obvykle římskými číslicemi, či písmeny, nebo jsou popsány svojí symetrií. Společně

² Hodnoty $\log P$ jsou obvykle mezi -3 (velmi hydrofilní) a +10 (extrémně hydrofobní). Hodnota závisí na okolních podmínkách (např.: pH, teplota, atd...), proto je důležité vždy správně tyto podmínky zaznamenat.

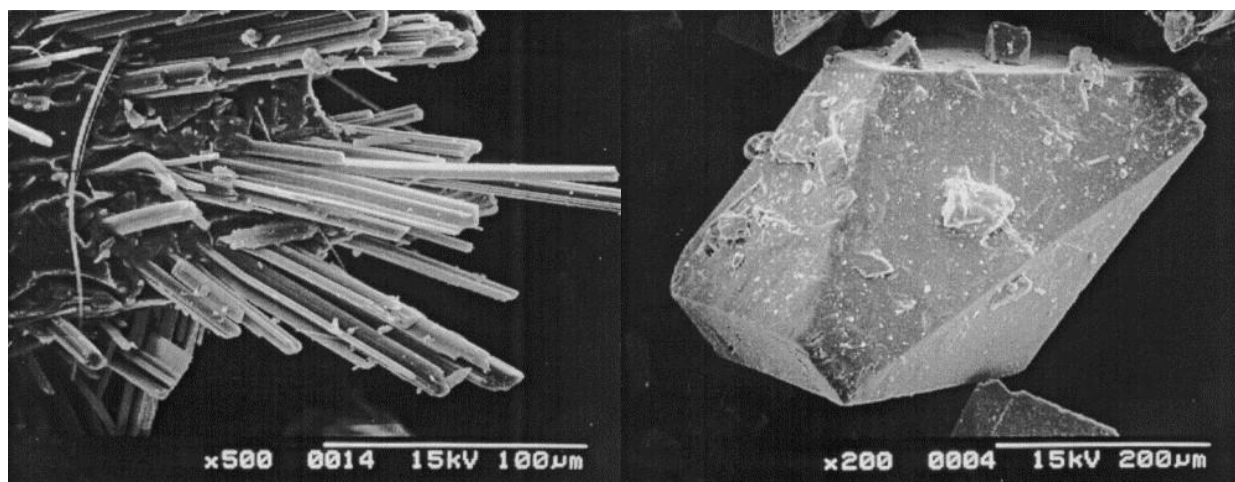
s kokrystaly (molekulární komplexy)³, pseudopolymorfy jsou souhrnně označovány jako pevné formy. Počet pevných forem je konečný, odvislý od struktury, avšak u většiny léčiv je v řádech jednotek. Pevné formy vykazují odlišné fyzikálně-chemické vlastnosti, tj. body tání, chemickou reaktivitu, míru rozpuštění a biologickou dostupnost atd. (Czernicki and Baranska 2013; Kratochvíl 2014).

Při zavádění generického léčivého přípravku karbamazepinu byla v roce 1992 uskutečněna studie, která prokázala, že farmakologické vlastnosti (míra disoluce, absorpce a biologická dostupnost) různých tablet CBZ jsou značně variabilní. Výrobce tablet na ni reagoval bez meškání stažením šarží, poněvadž nebylo jasné, co způsobuje rozdíly. Objasnění tohoto selhání přišlo se zjištěním, že polymorfie CBZ má vliv na biologickou dostupnost API (Meyer et al. 1992). Toto zjištění bylo v té době nečekané, jelikož předchozí studie z roku 1983 a 1989 tvrdily, že bezvodé a dihydrátové formy karbamazepinu mají u lidí velmi podobnou farmakokinetiku či, že neexistují žádné rozdíly v biologické dostupnosti (Censi and Martino 2015). Nyní je CBZ v krystalovém inženýrství ukázkový příklad extrému, jelikož manifestuje ve více než 50 pevných formách (Arlin 2011, Kratochvíl 2014). Podle aktuálních záznamů v Cambridgeské strukturní databázi (CSD) je evidováno nad 141 pevných forem CBZ (CSD 2021).

Základní čtyři bezvodé polymorfy jsou: triklinická forma I; trigonální forma II; a dva monoklinické polymorfy (formy III a IV) (Arlin et al. 2011; Lowes et al. 1987). V nedávné době byla identifikována i pátá základní bezvodá – ortorombická forma V (Arlin 2011). Nicméně pouze polymorf III jako jediný vykazuje chtěné terapeutické účinky. Dle klesající stability při pokojové teplotě se mohou seřadit do řady: III > I > IV > II. K přeměnám mezi polymorfy dochází, přeměny mohou být způsobeny tepelnou změnou, mechanickým namáháním či působením rozpouštědla (Czernicki & Baranska 2013). I složení rozpouštědla je zásadní (Shayanfar et al. 2014).

Jak již bylo zmíněno, díky možnosti tvorby vodíkových vazeb, bezvodé formy CBZ mohou být za přítomnosti vody či vzdušné vlhkosti hydratovány na hydratované krystalové modifikace, jež prokazují horší stabilitu a také jsou terapeuticky méně účinnější. Bezvodé základní formy CBZ ve vodě rychle přecházejí na dihydrát, který je méně rozpustný ve vodě než původní bezvodé formy (Shayanfar 2014). Slabé vodíkové vazby jsou přítomné i mezi CBZ a rozpouštědly, po krystalizaci takových roztoků vznikají pseudopolymorfy, jež mohou mít lepší vlastnosti než „čisté“ polymorfy CBZ. Polymorfy a další pevné formy jsou charakterizovány zejména diferenciatní skenovací kalorimetrií, termogravimetrickou analýzou, infračervenou spektroskopií, rentgenovou práškovou difrakcí či mohou být mikroskopovány (Lowes et al. 1987; Roberts et al. 2000). Výsledkem jsou fázové diagramy, které lze využít jak pro identifikaci polymorfů, tak i k jejich porovnání či použít k předpovídání fázové transformace systému pevná látka-kapalina při různých teplotách, tlacích a dalších parametrech (například pH) (Huang et al. 2020; Roberts et al. 2000). Studium polymorfie CBZ je důležité pro pochopení možnosti fázové transformace této látky za různých podmínek a také pro pochopení a predikci ne vazebných interakcí v pevné formě.

³ Kokrystal – je molekulární komplex složený z léčivé látky (obvykle má nevhodné fyzikálně – chemické vlastnosti, zde špatná rozpustnost) a tzv. kokrystalizačního partnera – sloučeniny, jež má skvělé fyzikálně – chemické vlastnosti.



Obr. 3 Struktury dvou polymorfů CBZ (vlevo α -karbamazepin, tedy trigonální; vpravo β -karbamazepin, tedy monoklinický) zobrazené díky rastrovacímu elektronovému mikroskopu. Na fotografiích vidíme, že změnou polymorfni formy se změni i plocha povrchu jednotlivých krystalků, tedy styčná plocha pro možnou interakci, např. s trávicími šťávami, vodou či půdními částicemi. Převzato z citace (Roberts 2000).

4.2 VÝROBA A SYNTÉZA

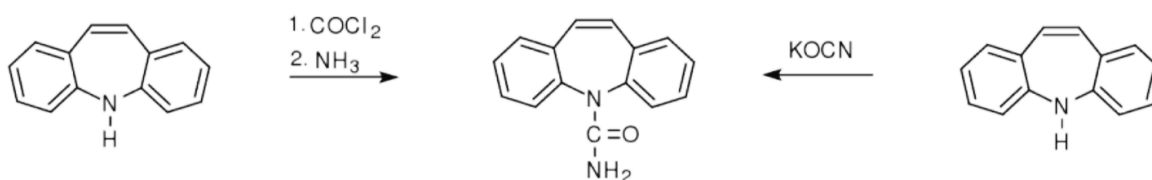
Karbamazepin byl poprvé připraven v roce 1953 švýcarským chemikem Walterem Schindlerem. Svoji chemickou strukturou byl CBZ odlišný od svých předchůdců a ostatních klasických soudobých léčivých látek využívaných k léčbě epilepsie a dalších neurologických onemocnění. Důvodem rozmanité variability těchto struktur bylo, že k jejich objevování se docházelo zcela empiricky bez nástrojů dnešní doby, jako je například technika modelování kvantitativní závislosti biologické aktivity na chemické struktuře (QSAR)⁴ (Bialer 2012).

Roky poté se pracovalo na syntéze a vyvíjel se léčivý přípravek. Během roku 1961 W. Schindler popsal syntézu a W. Theobald spolu s H. A. Kunzem prokázaly antiepileptické vlastnosti CBZ (López-Muñoz et al. 2018). Roku 1962 se na evropský trh dostal pod obchodním názvem Tegretol[®] se schváleným užitím jako lék k terapii neuralgie trigeminu. Později, v roce 1965 byl schválen ve Velké Británii, v USA roku 1967 (Debnath et al. 2020). Jako antiepileptikum byl CBZ schválen až v roce 1974. Údajně se využíval off-label i k léčbě bipolární poruchy a jako stabilizátor nálady. Na začátku 70. let japonští psychiatři Takezaki a Hanaoka (1972) publikovali své studie o antimanických vlastnostech CBZ, které sledovali na svých pacientech trpících bipolární poruchou po podání medikamentu. Důvodem, proč volili k terapii CBZ byla skutečnost, že v tehdejší Japonsku nebylo dostupné lithium, které se běžně využívalo k ovlivňování manických stavů u pacientů, na které neúčinkovaly antipsychotika.

⁴ Zjednodušeně je QSAR složitý matematický aparát aplikovaný na velký objem dat stávajících poznatků o závislosti chem. struktur, jejich interakce a odezvy ostatních struktur (zejména cílových struktur, receptorů). Metoda náhodných pokusů tak byla díky sběru dat a jeho sofistikovanému zpracování překonána a výsledkem je současná predikce nových chemických molekul s chtěnou aktivitou na cílové struktury. Molekuly takto získané jsou si často velice podobné a mohou vytvářet stejné transformačními produkty jako molekuly již běžně používané. Příkladem může být derivát karbamazepinu oxcarbazepin, který vytváří stejné metabolity jako CBZ (Bialer 2012; Škuta & Svozil 2017).

Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) karbamazepin schválil pro léčbu mánie až v roce 2004, ne však k celkové léčbě bipolární poruchy, jelikož negativně působí na depresivní stavy (López-Muñoz et al. 2018).

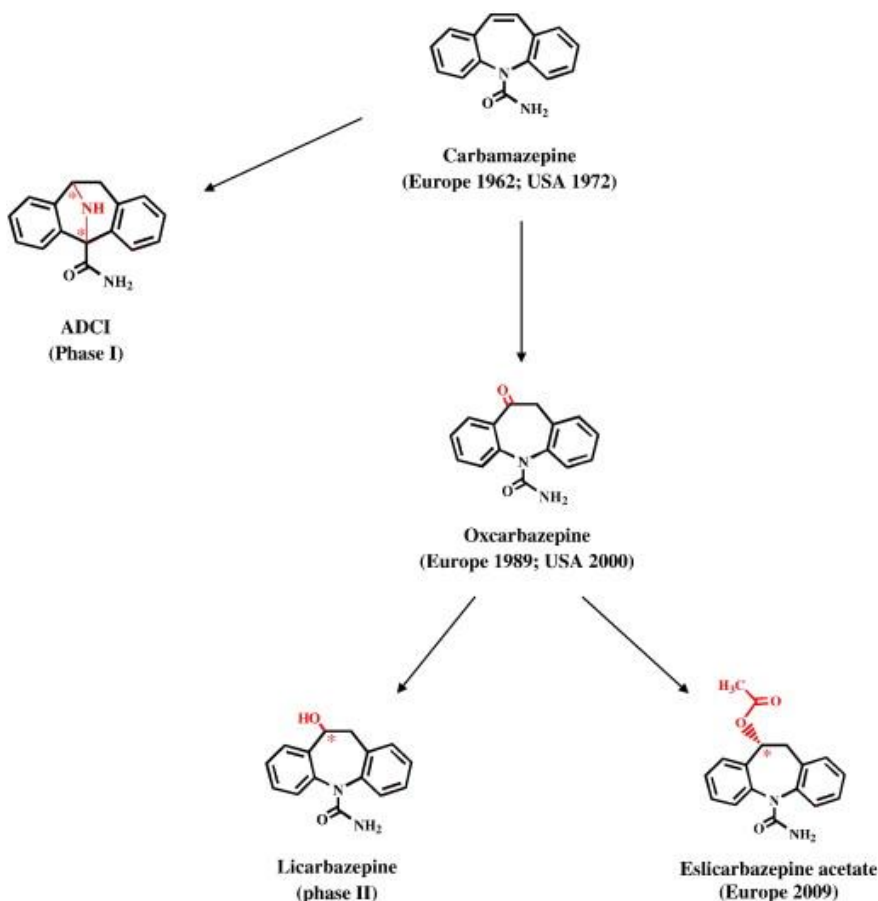
Jedna z cest k syntéze CBZ spočívá v reakci dibenzazepinu (5H-dibenz[b,f]azepinu) s fosgenem za vzniku 5-chlorkarboxy-5H-dibenz-[b,f]azepinu, ten podléhá následné reakci se čpavkem, která poskytuje jako hlavní produkt karbamazepin (Obr.4). Alternativní metodou syntézy je přímá reakce dibenzazepinu s kyanátem draselným (Obr.4) (Vardanyan & Hruby 2006). V literatuře je popsáno nad 10 různých způsobů syntézy a přes 26 různých sloučenin vhodných jako výchozí látky. V průběhu let se u některých těchto reaktantů potvrdila karcinogenita (Debnath et al. 2020). Je potřebné uvažovat s faktem, že coby nečistoty se mohou dostávat společně s CBZ do lidského organismu a poté do životního prostředí (ŽP), a to jak v nezměněné formě, tak především ve formě metabolitů. Za vhodných podmínek se v ŽP může transformovat CBZ zpět na tyto látky.



Obr.4 Příklady syntézy CBZ. Převzato z citace (Vardanyan & Hruby 2006).

V minulosti byly nasyntetizovány tyto čtyři nové chemické struktury léčiv (Obr. 5) s nadějí, že vytvoří tzv. druhou generaci CBZ (Bialer 2012). Struktura nazvaná jako ADCI má díky své struktuře širší spektrum bioaktivity na centrální nervovou soustavu, avšak v roce 1999 byl klinický vývoj zastaven z důvodu jaterní toxicity (+)-enantiomeru. Druhá struktura oxkarbazepin (OXC) je registrované léčivo, tedy v preklinických, klinických testech nebyl zjištěn žádný vážný nepříznivý účinek či toxicita. Jeho výhodou oproti CBZ je, že nepodléhá indukčnímu oxidačnímu metabolismu zprostředkovanému CYP3A4 (bude popsáno níže v kapitole Biotransformace), ale spíše rychle presystémové metabolické redukce 10-keto skupiny na likarbazepin (MHD), který je aktivní entitou v těle. Perorálně aplikovaný OXC humánně se biotransformuje na likarbazepin stereoselektivně, plazmatickou koncentrací čtyřnásobně převažuje (S)-likarbazepin nad (R)-likarbazepinem. Třetí struktura (R,S)-likarbazepin (racemická směs) byla vyvinuta jako nový lék na bipolární poruchu, ale neprojevila se jeho léčebný účinek nad placebem (Bialer 2012). Záměna dvojně vazby na C10 za hydroxyskupinu způsobila, že vodná rozpustnost likarbazepinu je 4200 mg/l, což je mnohokrát více než rozpustnost OXC nebo CBZ. Eslikarbazepin-acetát (ESL) je proléčivo k příznivě biologicky aktivnímu (S)-likarbazepinu. ESL je biotransformován presystémově v játrech na (S)-likarbazepin (Bialer 2012).

V současné době neprobíhají intenzivní vývojové studie o rozšíření indikace, jelikož na dnešním trhu jsou dostupné jeho analogy s lepšími farmakologickými vlastnostmi (López-Muñoz et al. 2018).



Obr. 5 Struktury chemických sloučenin tzv. druhé generace CBZ. Roky v závorkách znamenají roky schválení registrace v příslušných oblastech. Převzato z citace (Bialer 2012).

4.3 SPOTŘEBA

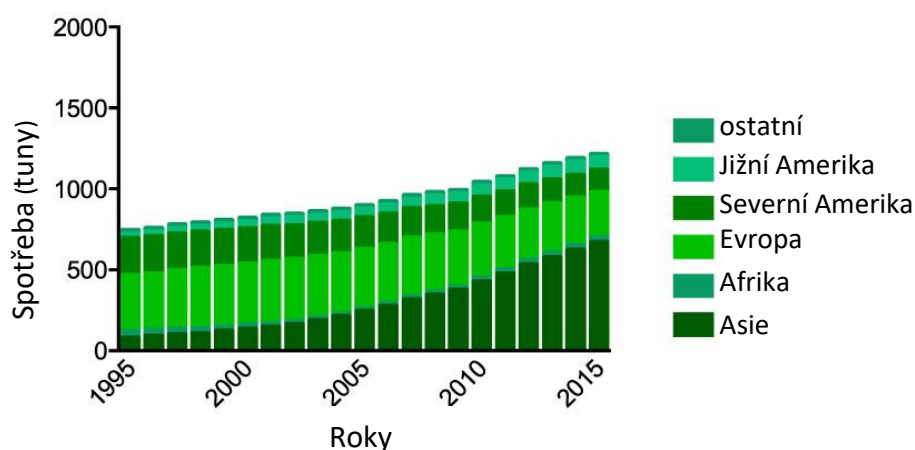
Pro odhad potenciální objemové expozice na životní prostředí, je vhodné uvést spotřebu této substance. Obecně u všech léčiv je vlastní vyjádření spotřeby dosti problematické, jelikož neexistují data skutečné spotřeby. Konzumpce se vyjadřuje nejčastěji v ekonomických ukazatelích a pojem „spotřeba léčiv“ je tak často zaměňován s dodávkou léků nebo s náklady na léky. Hodnoty spotřeby prostřednictvím těchto ukazatelů jsou vždy nadhodnoceny o neznámé množství nepoužitelných léků⁵ (Kořístková and Grundmann 2006).

Data o globální spotřebě v dnešní době nejsou běžně dostupné veřejnosti, výrobci počty vyrobených léčivých přípravků mají, tyto údaje však nezveřejňují. Dokládat národním úřadům počty LP jsou povinni obvykle jen dodavatelé léků. Shromažďování údajů o farmaceutické spotřebě národními autoritami je složité, sčítání hodnot mezistátně také, poněvadž každý stát používá jiné vyjádření a jinou metodiku. Značnou komplikací je i mezinárodní obchodování

⁵ Tzv. nepoužitelná léčiva je pojem definovaný zákonem č. 378/2007 Sb., zákonem o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů). Do této množiny spadají léky nevyhovující jakosti, s prošlou dobou použitelnosti, uchovávaná nebo připravovaná za jiných než předepsaných podmínek, zjevně poškozená nebo nespotebovaná.

a tzv. přebalování⁶ (Zhang et al. 2008). Ve snahách o odhad, jenž by věrně odrážel skutečnost, vznikla v roce 1969 skupina pro sledování spotřeb léků – Drug Utilization Research Group (DURG), jejíž výstupy jsou jen pouhým doporučením (Kořístková & Grundmann 2006). Soukromá společnost Intercontinental Medical Statistics (IMS Health) poskytla informaci, že v roce 2007 bylo prodáno 942 tun karbamazepinu. Údaj zahrnoval informace z 76 zemí, o nichž se předpokládalo, že představovaly 96 % celosvětového soudobého farmaceutického trhu (Zhang et al. 2008). Jiná data nejsou běžně veřejně dostupná.

Ukazuje se, že pro potřeby odhadu expozice léčivé API na ekosystém dobře fungují teoretické predikce spotřeby vytvořené matematickými lineárními modely, které jsou založené na datech populační dynamiky v kombinaci s daty smíšených účinků socioekonomických a demografických prediktorů. Takto vytvořený odhad, avšak nesoučasný, pro demonstraci nárůstu CBZ zachycuje graf 1. Rozšířené modely zahrnují i proměnné, počítající s trendy léčebných návyků a výskytu onemocnění. Pro CBZ však tyto modely nejsou dostupné. Současný obecný trend globální spotřeby CBZ se očekává vzestupný (Oldenkamp et al. 2019).



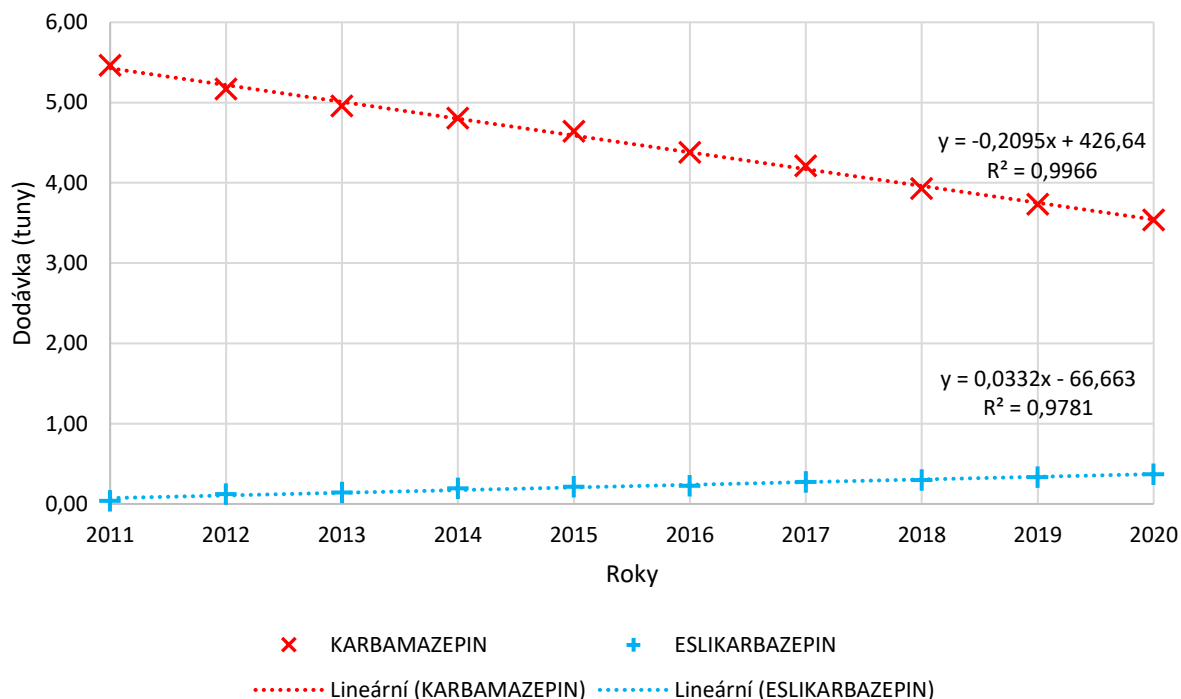
Graf 1 Predikovaná spotřeba CBZ v závislosti na čase. Přeloženo, převzato z citace (Oldenkamp et al. 2019).

Česká autorita, tj. Státní ústav pro kontrolu léčiv (SÚKL), současně eviduje v České republice 11 registrovaných přípravků obsahující aktivní látku carbamazepinum (SÚKL 2021). Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv (ÚSKVBL) v současné době neeviduje v ČR žádný veterinární přípravek s touto účinnou látkou (ÚSKVBL 2021). Spotřeba CBZ v ČR, respektive jeho dodávka do lékáren a jiných zdravotnických zařízení, v posledních letech má mírně sestupný lineární trend (Graf 2) (SÚKL 2021). Možným vysvětlením je postupné nahrazování karbamazepinu novějšími antiepileptickými preparáty (AED), které přinášejí znatelné výhody, jako například příznivější farmakokinetiku, lepší snášenlivost či nižší riziko lékových interakcí (Bialer 2012). V ČR tedy spotřeba mírně klesá.

Problémem je, že se do ekologického systému nedostává jen nezměněná forma CBZ, ale především jeho metabolity. Tyto metabolity, které budou popsány dále, nemají jako jediný prekurzor karbamazepin. Za vhodných podmínek na stejné struktury mohou být přeměněny

⁶ Tzv. přebalování, tímto termínem se rozumí všechny operace v rámci výroby prováděné se souběžně dováženým přípravkem (přebalení do nového vnějšího obalu, přelepení původního vnějšího obalu, výměna příbalového informačního letáku, přelepení blistru...) (SÚKL 2021).

i novější analogové struktury OXC a ESL. Nelze tedy množství metabolitů v životním prostředí přičítat pouze karbamazepinu. Bylo by vhodné uvést i jejich spotřebu, avšak dostupná data chybí. Oxkarbazepin v ČR není registrován, eslikarbazepin acetát se na tuzemském trhu vyskytuje od roku 2011 a má mírný vzestupný trend (Graf 2) (SÚKL 2021).



Graf 2 Dodávky CBZ v ČR v závislosti na čase. Vlastní zpracování, datový zdroj (SÚKL 2021).

4.4 FARMAKOLOGICKÝ PROFIL

Farmakologický profil lze rozdělit na tři fáze, farmaceutickou, farmakokinetickou a farmakodynamickou fázi (Hampl et al. 2015).

Farmaceutická fáze je souhrnné označení pro procesy vedoucí k uvolnění molekul CBZ z lékové formy (Hampl et al. 2015; Woods et al. 2017). Dávka CBZ se obvykle pohybuje v rozmezí $150-1600 \text{ g} \cdot \text{den}^{-1}$ a nejčastěji je aplikována perorálně v pevné tabletové formě (Rychlíčková 2015). Léčba je započata nízkými dávkami, jež se postupně zvyšují do dosažení požadovaného terapeutického účinku (SÚKL). Rozpouštění (disoluce) tablety (tj. rozpad tabletové struktury v důsledku pronikání trávicích šťáv, tj. rozpouštědla do krystalové mřížky a uvolnění API do roztoku GIT) je závislé na výběru polymorfu. Absorpce karbamazepinu orálně podávaného je založena na pasivní difúzi bez zapojení aktivních transportérů. Na celkové absorpci léčiva se podílí dva klíčové faktory – rozpustnost ve vodném střevním

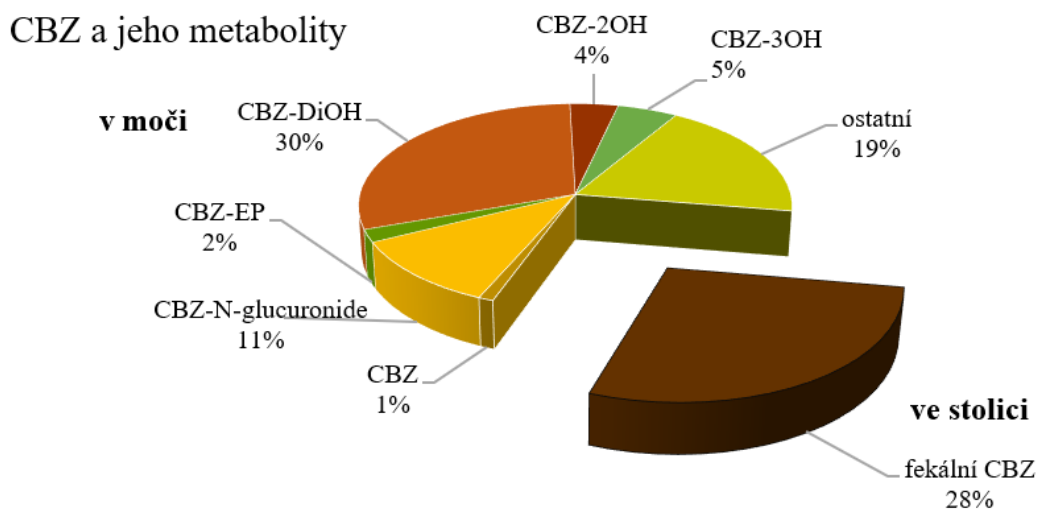
prostředí (v trávicích šťávách) a propustnost v celém gastrointestinálním traktu (GIT)⁷ (Hill et al. 2019; May 2014; Shayanfar et al. 2014).

Dle biofarmaceutického klasifikačního systému je CBZ lék z II. třídy (Shayanfar 2014). To vyjadřuje, jak již bylo ostatně výše zmíněno, že CBZ je velmi málo rozpustný ve vodném prostředí, ale jeho propustnost skrz buněčné membrány v GIT je díky lipofilní povaze velmi dobrá, navíc je molekula z hlediska polarity téměř neutrální (Censi and Martino 2015; Fine-Shamir et al. 2020; Kratochvíl 2014). Nízká rozpustnost a neutrální charakter jsou nevýhodné vlastnosti, jelikož je nutné podávat velmi vysoké dávky pro dosažení terapeuticky účinné koncentrace v krevním oběhu. Proto je farmaceutický průmysl ovlivňuje buď chemickou změnou samotné API (nejčastěji převedením na iontové sloučeniny-soli atd.) či přidáním vhodného excipientu (tj. pomocné látky) (Kratochvíl 2014; Shayanfar et al. 2014). Taková změna ovlivní i míru propustnosti API skrz biologické membrány. Rozpustnost a propustnost vykazují totiž efekt spojených nádob, tj. s nárůstem rozpustnosti klesá míra propustnosti, což prokázali Fine – Shamir a kol. (2020) pomocí třepačky, kdy k různému množství API CBZ přidávali nepřímo úměrně různá množství dobře rozpustného (ve vodě) polyethylenglykolu 400 (PEG-400). Následně svoje výsledky potvrdili i studií *in vivo* na potkanech. Úpravami je zamezeno plýtvání účinnou látkou v podobě vysokých dávek a tím i následná menší expozice životního prostředí (Fine-Shamir et al. 2020). Navíc jsou v dnešní době tendence tyto procesy úprav provádět dle pravidel tzv. zelené chemie, což znamená, že se během procesu neplýtvá přebytečnými materiály (Huang et al. 2020).

Absorpcí léčiva začíná fáze farmakokinetická, kdy organismus působí na léčivo. Distribuce CBZ v organismu je výrazně ovlivňována jeho vazbou na proteiny krevní plazmy. Vazba na plazmatické bílkoviny dosahuje až 75 % -80 % vstřebené dávky (Tolou-Ghamari et al. 2013). Tuto skutečnost nám potvrzuje i hodnota distribučního objemu (V_D), která se pohybuje v rozsahu 0,8-1,2 l·kg⁻¹ (Tolou-Ghamari et al. 2013). Tento rozsah hodnot v porovnání s hodnotami jednotlivých lidských kompartmentů je vyšší, což znamená, že se karbamazepin se distribuuje intracelulárně. Hodnota V_D je opět ovlivněná lipofilitou CBZ (Tolou-Ghamari et al. 2013). Poté následuje metabolismus, jež bude rozebrán podrobně v další kapitole. Očekávaný terapeutický rozsah karbamazepinu u dětí stejně jako u dospělých je 4 až 12 ng·ml⁻¹ (Tolou-Ghamari et al. 2013). Eliminace je vyjádřena clearancí karbamazepinu, jež je u dětí rychlejší než u dospělých. Eliminační poločas je velmi individuální, uvádí se hodnoty od 15–100 h v závislosti na velikosti dávky a době užívání (Kuba 2006; Tolou-Ghamari et al. 2013; Zhang et al. 2008).

Z celkových farmakologických studií, jež se většinou shodují, vyplývá, že po perorálním podání je 72 % požitá dávka CBZ absorbováno, metabolizováno a později vyloučeno močí. Zbývajících 28 % je vyloučeno stolicí v nezměněné podobě (Obr) (Lertratanangkoon and Horning 1982).

⁷ Další nutný parametr je i velikost molekuly, velké molekuly mají výrazně sníženou propustnost, tj. permeabilitu, avšak CBZ je relativně malá organická látka, proto je tento faktor zanedbán.



Obr. 4 Relativní zastoupení identifikovaného CBZ a metabolitů eliminovaných lidským tělem. Léčivo bylo podáno *per os*. Přepřacováno a upraveno z citace (Woods et al. 2017; Zhang et al. 2008).

Farmakodynamická fáze popisuje mechanismus účinku CBZ. Mechanismus však není ještě komplexně dobře pochopen. Předpokládá se, že blokuje iontové kanály, především sodíkové. Má tlumivý vliv na přeměnu katecholaminů, čímž inhibuje trvalou opakující se neuronální excitaci. Tlumí uvolňování glutamátu (Czernicki and Baranska 2013; Kuba 2006).

5 BIOTRANSFORMACE

Biotransformace neboli metabolismus je obecně souhrn reakcí, který vede k přeměně chemické struktury působením živého organismu. Tyto reakce jsou podmíněné katalytickým účinkem enzymů. Enzymy pro biotransformaci xenobiotik, tj. organismu cizích látek, jsou totožné jako pro metabolismus endogenních látek (Kodíček et al. 2018). Při metabolismu CBZ vykazují aktivitu enzymy z enzymatické rodiny cytochromu P450 (CYP450), který se podílí prakticky na biotransformaci všech xenobiotik, tedy léčiv, ale i alkoholu. Cílem biotransformace neboli metabolické přeměny je především detoxikace látek v organismu prostřednictvím zvýšení vodné rozpustnosti sloučenin a usnadnění jejich exkrece. Během transformace může dojít ke snížení či zvýšení biologické aktivity látky, účinek může být zachován v plném rozsahu jako u mateřské sloučeniny (Kodíček et al. 2018; Lertratanangkoon and Horning 1982). Bylo identifikováno přes 33 různých humánních metabolitů, tělem je ale vylučováno pouze několik (Bahlmann et al. 2014; Miao and Metcalfe 2003). Procentuální zastoupení vylučovaných identifikovaných metabolitů je na Obr. 4.

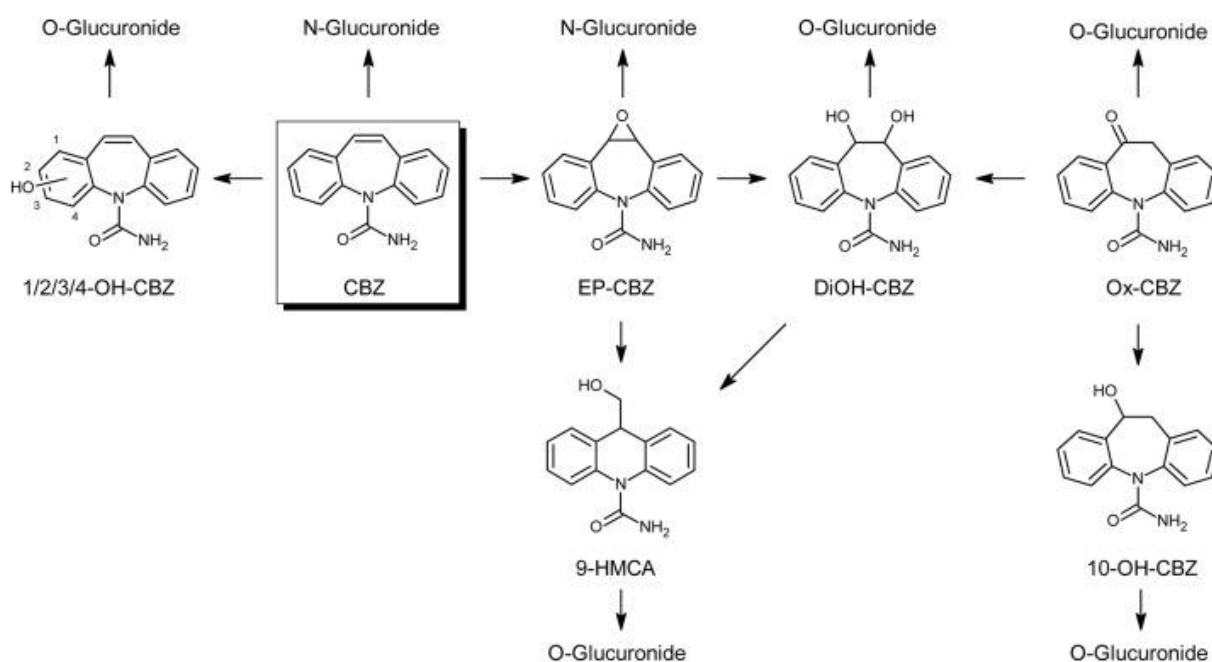
Karbamazepin kvůli své lipofilní povaze podléhá enterohepatálnímu metabolismu s tzv. first pass effectem, jinými slovy je absorbovaná dávka extenzivně metabolizována v játrech a nevstřebaná část dávky je vyloučena stolicí bez biotransformačního působení organismu (Bahlmann et al. 2014; Pearce et al. 2008).

V játrech může být metabolizován několika způsoby ovšem z největší části je oxidován na karbamazepin-10,11-epoxid (CBZ-EP), který je biologicky aktivní a také vykazuje antikonvulzivní účinky. Lidským tělem je vylučováno zhruba 1 % CBZ-EP. I když je za fyziologických podmínek chemicky stabilní, je převážně CBZ-EP hydrolyzován

na karbamazepin-10,11-dihydroxid (CBZ-DiOH) enzymem epoxidhydrolázy. CBZ-DiOH není terapeuticky aktivní (Lertratanangkoon and Horning 1982). Tato epoxid-diolová cesta je indukována během dlouhodobé léčby CBZ. Tento jev je označován jako tzv. autoindukce (May 2014). Následně je CBZ-DiOH částečně konjugován na O-glukuronidy (Lertratanangkoon and Horning 1982).

Mezi další také relevantní metabolity patří 2-hydroxykarbamazepin (CBZ-2OH), 3-hydroxykarbamazepin (CBZ-3OH) a 10,11-dihydro-10-hydroxykarbamazepin (CBZ-10OH) (Zhang et al. 2008). Miao a kol. zjistili, že metabolity CBZ, zejména CBZ-2OH, CBZ-3OH a EP-CBZ, vykazují velmi podobné iontové hmotnostní spektrum a je obtížné rozlišit pomocí hmotnostní spektrometrie. Jejich detekce vyžaduje dostatečné chromatografické rozlišení pro spolehlivou kvantifikaci (Miao and Metcalfe 2003).

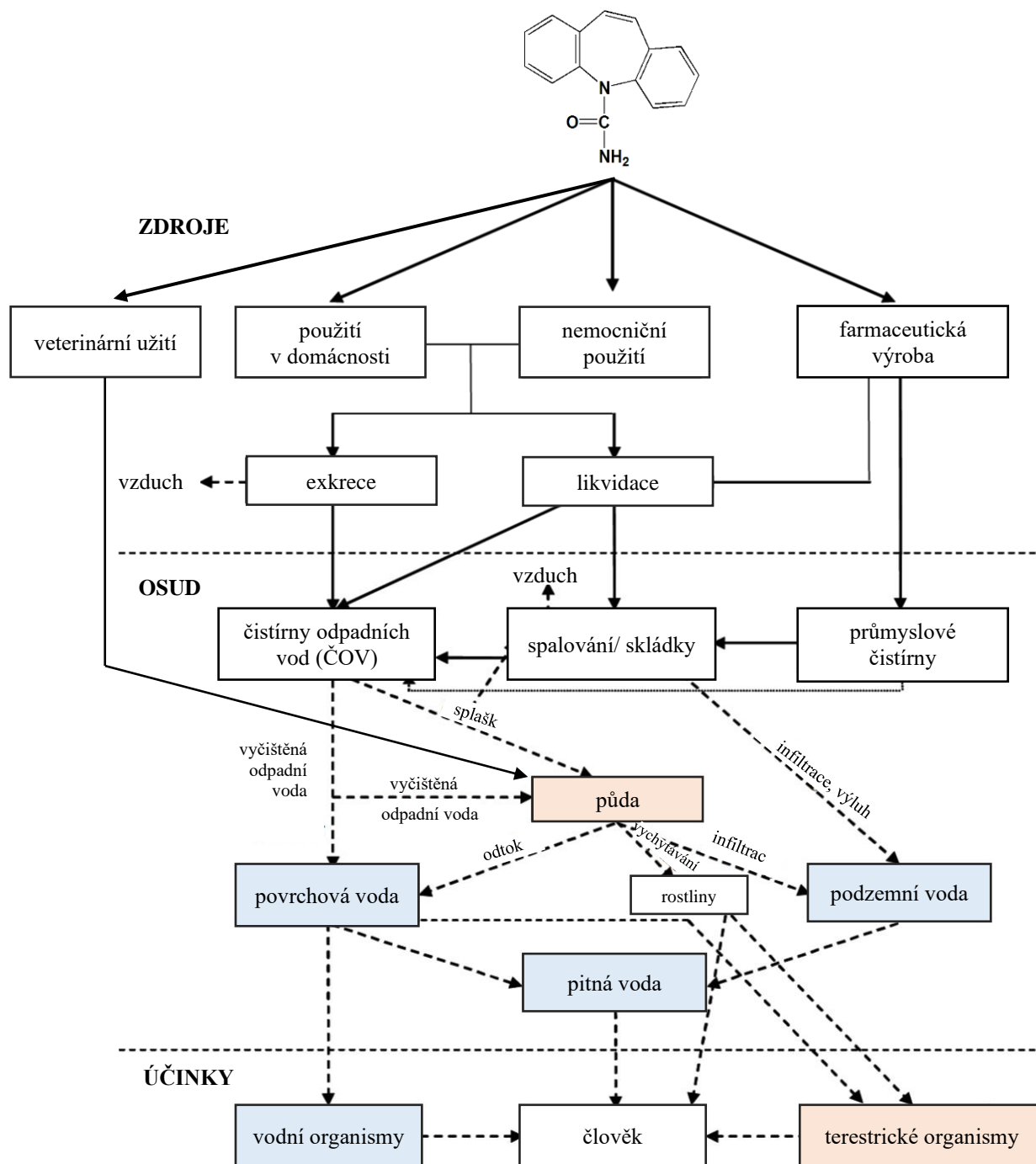
Dále probíhá rozsáhlá metabolizace, konjugace EP-CBZ na složitější N-glukuranidy, zatímco většina hydroxylovaných metabolitů je transformována též na složitější struktury, na O-glukuranidy, výjimečně i sulfátové konjugáty (Lertratanangkoon and Horning 1982). Tyto chemické struktury jsou velmi polární a jsou z těla dobře vylučovány močí.



Obr.5 Základní metabolické humánní dráhy CBZ. Převzato z citace (Bahlmann et al. 2014).

6 DISTRIBUCE LÉČIVA PROSTŘEDÍM

V posledních dvou desetiletích bylo detekováno široké spektrum léčivých látek, jejich reziduí, pesticidů a dalších organických sloučenin ve vodním prostředí. Tyto detekce byly podmíněny pokrokem v analytické technologii, který umožnil detekovat kontaminanty ve stopových množstvích na úrovni nanogramů na litr (KOTYZA et al. 2009; Zhang et al. 2008). Následně byla popsána řada zdrojů a cest, kterými mohou farmaka (tedy i CBZ) vstupovat a být distribuována do různých složek životního prostředí (Obr.6) (Woods et al. 2017).



Obr. 6 Zjednodušené schéma „cesty“ CBZ ekosystémem včetně procesů. Přepřacováno a upraveno z citace (Shreffler and Zuniga 2018; Woods et al. 2017).

Farmaka, především ty procházející trávicím traktem, jsou vzhledem k svému účelu navržena tak, aby zůstala stabilní za relativně drsných podmínek v cílových strukturách, tedy v léčeném lidském či zvířecím organismu a zároveň byla biologicky aktivní (Kratochvíl 2014; Shreffler and Zuniga 2018).

Kvůli této stabilitě je často obtížné jejich odstraňování během klasického čistícího procesu odpadních vod, do kterého se po humánním užití většinou dostávají (Bizi 2019; Shreffler and Zuniga 2018).

Toto vzpurné chování k běžným čistícím postupům splaškových, resp. odpadních vod vykazuje i karbamazepin (Ebele et al. 2017). Neúplné odstraňování CBZ v čistírnách odpadních vod (ČOV) bylo dobře zdokumentováno. V celé řadě monitorovaných ČOV nebyla účinnost odstranění CBZ vyšší než 30 %. Ve většině případů byla nižší než 10 %. Ve studii provedené v Berlíně míra odstranění CBZ činila 8 % bez, tato hodnota účinnosti nebyla ovlivněná ani změnou složení aktivovaného kalu (Clara et al. 2004). Nejvyšší účinnost odstranění CBZ v ČOV byla 53 %, pozorovaná v Evropě výzkumem Paxéusa (2004). Výzkumník předpokládal, že přítomnost neobvykle vysokého obsahu silikonového oleje ve vzorku pravděpodobně zvýšila míru odstranění prostřednictvím extrakce karbamazepinu do silikonového oleje navázaného na kal (Paxéus 2004; Zhang et al. 2008). V roce 2004 Clara a kol. sledovali 275 dní koncentraci CBZ v závislosti na různém složení aktivovaného kalu v ČOV v celém rozsahu jejího čistícího procesu, neshledali žádné odstranění karbamazepinu. Prodloužení výzkumu na 500 dní také nevedlo k odstranění karbamazepinu. Prokázalo se, že je CBZ konstantně odolný vůči degradaci při jakémkoliv složení aktivovaného kalu. Tato skutečnost byla dalšími výzkumy potvrzena. (Clara et al. 2004; Zhang et al. 2008).

Ve studii z roku 2005 vědci Urase a Kikuta provedli řadu tzv. bench scale experimentů (tj. experimentů v malém měřítku, v laboratorním reaktoru s aktivovaným kalem), při kterých CBZ nevykazoval pokles koncentrace v čistících procesech za různých hodnot pH v rozsahu 2,5 – 10. Toto chování je vysvětlováno neutrálním charakterem CBZ, což vyjadřuje jeho hodnota pK_A (Paxéus 2004; Urase and Kikuta 2005; Zhang et al. 2008). Heberer a Feldmann v roce 2005 monitorovali městskou ČOV, do které směřovaly jak odpadní vody z domácností (96 000 obyvatel), tak i pět nemocničních odpadních vod (2339 lůžek dohromady), a zjistili, že 26 % z celkového množství karbamazepinu indikovaného v ČOV pochází z nemocnic (Zhang et al. 2008). Čistírny odpadních vod se považují za největší místa vstupu, tj. bodové zdroje, CBZ do životního prostředí, jelikož zde karbamazepin není ani zachycen, ani degradován (Bizi 2019). Upravené odpadní vody a čistírenské kaly jsou následně odváděny z ČOV a putují do životního prostředí, mohou představovat riziko pro zvláště citlivé recipienty, půdní organismy, biotu a i pro člověka (Shreffler and Zuniga 2018).

Další významný zdroj je užití CBZ ve veterinární klinické praxi. Po užití jsou metabolity i původní látka ve formě exkrementů, moči často bez jakéhokoli čištění použita jako hnojení do polí, tím dochází ke kontaminaci půd (zejména zemědělských) (Woods et al. 2017).

Dalším významným zdrojem je často podceňovaná nesprávná likvidace, tedy splachování nepoužitých léčiv do toalet či vyhazování léčiv do směsného komunálního odpadu. Z toalet se léčiva dostávají v lepším případě do kanalizace, ČOV, v horším případě do septiků, jímek. Tedy pokud by byla vyvinuta dobrá technologie čištění, toto množství nesprávně zlikvidovaného CBZ by se dokázalo zachytit. Komunální odpad převážně končí na skládkách a odtud se dostává odtokem do povrchových vod nebo výluhem do podzemních vod. Alarmující výsledky

průzkumů dokazují, že tato nedbalá likvidace není zanedbatelná. Bound a Voulvoulis v roce 2005 publikovali svůj průzkum veřejného mínění zaměřený na likvidaci léků v domácnostech, ve kterém šetřili členy 400 domácností ve vyspělé Velké Británii. Zjistili, že přibližně polovina respondentů v minulosti nedobrala své léky a 63,2 % z těchto dotazovaných vyhodilo zbytky farmak do směsného odpadu, 21,8 % je odevzdalo lékárníkovi a 11,5 % se jich zbavilo v umyvadle nebo toaletě. V roce 2018 se Michael a kol. v rozvojové zemi Nigérii dotazovali lékárníků, jak likvidují nevyužitelná léčiva. Pouze 23,4 % respondentů tohoto dotazníkového šetření uvedlo, že se nepoužitelných léků zbavuje v úplném souladu se správnou likvidací definovanou vnitrostátními zákony (Michael et al. 2019; Shreffler and Zuniga 2018). Podobné výsledky přinesly i další studie zaměřené na zdravotnický personál v jižní Indii či Ghaně. (Michael et al. 2019). Nutno poznamenat, že rozvojové země spotřebovávají zhruba pouhých 20 % světového objemu vyrobených léčiv, přestože tvoří přibližně 80 % světové populace (Zhang et al. 2008). Tyto statistiky zdůrazňují znepokojivý vzorec systematické nedbalosti jak u nedostatečně informované široké veřejnosti, tak i u odborníků (Shreffler and Zuniga 2018; Zhang et al. 2008). Pro karbamezepin je procentuální proporce potenciálního zdroje nesprávné likvidace (tj. především skládky) snížena skutečností, že se CBZ řadí mezi léčiva vázaná na lékařský předpis (SÚKL 2021). Je tedy omezeno plýtvání, a očekává se, že se celé balení spotřebuje. Důvod nevyužití celého balení CBZ je ale např. náhlá změna léčby, resp. výskyt nežádoucích účinků, nedosažený terapeutický efekt, nadměrné předepisování často do zásoby pacienta, tzv. non-compliance⁸ anebo úmrtí pacienta (May 2014).

Menším zdrojem je jejich vlastní výroba, tedy odpadní vody z farmaceutických výroby (Woods et al. 2017).

Vzhledem k tomu, že CBZ vstupuje do životního prostředí zejména po humánním či veterinárním použití, a je v tělech extenzivně metabolizován, mohou být koncentrace metabolitů významnější než koncentrace mateřských sloučenin (Andreozzi et al. 2002; Ebele et al. 2017). Některé studie to i dokazují (Miao and Metcalfe 2003). Navíc karbamazepin v ekosystému může podléhat nejrůznějším transformačním reakcím (Andreozzi et al. 2002; Ebele et al. 2017). CBZ, resp. TP, podléhá různým biotickým i abiotickým procesům při různých abiotických faktorech. To podmiňuje jeho retence v jednotlivých ekosystémech přepravu, přenos, transformaci (případně až degradaci). Nejdůležitější procesy jsou sorpce, fotodegradace, redoxní reakce, hydrolyza a mineralizace vlivem dekompozitorů. Nutno poznamenat, že tyto procesy probíhají nepřetržitě a současně. Některé z nich si konkurují (příkladem fotolýza a adsorpce do půdy) (Woods et al. 2017).

CBZ má nízkou volatilitu a je vysoce lipofilní, předpokládá se, že jeho distribuce v ŽP je velmi závislá na adsorpci na částice v půdním systému. Jeho metabolity mají též nízkou volatilitu, avšak jsou vysoce polární a hydrofilní povahy; proto k jejich transportu v životním prostředí dochází především prostřednictvím vodního roztoku, který posléze může být čerpán rostlinami a následně CBZ může vstupovat do potravinového řetězce (Miao and Metcalfe 2003).

⁸ Nepochota a malá míra schopnosti pacientů užívat lék v předepsané dávce, vhodným způsobem a ve vhodnou dobu (vzhledem k potravinovým a lékovým interakcím). Tento problém může být způsobem například nevhodnou lékovou formou pro pacienta nebo složitým dávkováním.

V roce 2007 byl karbamazepin navržen na seznam prioritních znečišťujících látek, který vypracovala v roce 2000 Evropská unie (EU) společně s Agenturou pro ochranu životního prostředí (USEPA, United States Environmental Protection Agency) (Ebele et al. 2017).

V životním prostředí může být snižováno jeho množství přirozenou degradací prostřednictvím kontinuálně působících environmentálních procesů. Tato přirozená degradace CBZ je velmi pomalá. Považuje se za perzistentní látku, tj. dlouhodobě setrvávající (Zhang et al. 2008). Společnost Loffler a kol. kategorizovala 10 léčivých přípravků a farmaceutických metabolitů do sloučenin s nízkou, střední a vysokou perzistencí podle poločasu eliminace, tj. čas, za který se rozpadne, degraduje polovina původního množství, resp. koncentrace látky, ve vzorcích vody/sedimentu. Karbamazepin byl vyhodnocen dokonce jako vysoce perzistentní. Poločas eliminace CBZ v ŽP se udává v rozsahu 119-328 dní. Tento rozsah je široký, velmi záleží na vnějších faktorech – na časovém období, míry slunečního svitu, na klimatu, vlastnostech kompartmentu ŽP, v kterém molekula setrvává, a další (Ebele et al. 2017; Zhang et al. 2008).

Jelikož je CBZ stále hojně předepisován, jeho míra a rychlost spotřeby je vyšší než jeho samotná degradace, udržuje se stále udržuje jeho množství v ekosystému. Pro hmotnostní bilanci CBZ v ŽP chybí data (Miao and Metcalfe 2003).

Příčinou je, že metabolity nebyly dlouhou dobu sledovány, a tak není přehled, kde a v jakých koncentracích se v ekosystému vyskytují. Krátká vědecká pozornost je způsobena tím, že ještě do nedávna neměly analytické přístroje vhodné hodnoty potřebných parametrů, tzv. výkonnostní charakteristik. Nebyly dostatečně citlivé a měly poměrně vysoké limity detekce, tzn. nebyly schopny identifikovat látky v tak nízkých koncentracích, v jakých se nacházejí metabolity CBZ v environmentálním prostředí (Miao and Metcalfe 2003). Nutno poznamenat, že tyto techniky musí být validované, tedy spolehlivě musí být prokázáno, že jejich parametry a kvalita výstupních dat je neměnná. Datovým výstupem analytických technik je obvykle spektrum měřené veličiny v závislosti na její intenzitě dopadající na detektor (Crouch et al. 2019). Dalším skutečností je to, že ve většině spektroskopických metodách se využívají izotopicky upravené standardy. Ty pro karbamazepin a jeho metabolity však dlouhá léta nebyly komerčně dostupné (Miao and Metcalfe 2003). Tato situace se v minulosti řešila záměnou standardu za náhradu (např. dihydrokarmazepin, kyselina meklofenamová při stanovování CBZ). Mez detekce (LOD) byla v řádech desítek nanogramů (Clara et al. 2004). Dalším problémem byla samotná identifikace metabolitů, jelikož mohou mít velmi podobné vlastnosti, mohly být ve výsledných spektrech přehlíženy, jelikož jejich charakteristický pík mohl být překryt píkem jiného metabolitu či samotné mateřské sloučeniny, tzv. se mohli píky slít (Miao and Metcalfe 2003).

Za posledních 25 let se zkonstruovalo mnoho nových, vysoce selektivních a robustních analytických zařízení, které umožnily větší rozlišení mezi CBZ a jejich TP. V současných studiích nejčastěji zaměřovaných na karbamazepin a na pět jeho metabolitů (10,11-dihydro-10,11-epoxykarmazepin, 10,11-dihydro-10,11-dihydroxykarmazepin, 2-hydroxykarmazepin, 3-hydroxykarmazepin a 10,11-dihydro-10-hydroxykarmazepin) se využívá řada pokročilých analytických metod a technik, jak pro kvalitativní zjištění (pro identifikaci látek), tak i pro kvantitativní analýzu (pro určení množství sledovaných látek). Používá se např. nejběžnější kapalinová chromatografie (LC) či hmotnostní spektrometrie (MS). Využívá se i tzv. extrakce na pevné fázi (SPE). Jsou možné i tandemy, což znamená, že se připojí více

technik za sebou, nejobvyklejší tandem je LC-MS/MS. Využívají se i speciální tandemové analytické metody, jako např. extrakce kapalinou za zvýšeného tlaku (PLE) spolu s ultravysokotlakou kapalinovou chromatografií spojenou s tandemem hmotnostních spektrometrů (UHPLC / MS / MS). Dnešní limity přístrojové detekce dosahují hodnot v rozmezí 0,8-4,8 pg pro sledované analyty (Miao and Metcalfe 2003).

6.1 VODNÍ PROSTŘEDÍ

Tzv. vodní stres ve světě rychle roste v důsledku rychlého růstu lidské populace, nerovnoměrných srážek a silného sucha. V současné době se celosvětově téměř 70 % dešťové vody používá pro zemědělství. V důsledku toho bude v budoucnu ještě náročnější uspokojit poptávku po zemědělském zavlažování, protože celosvětová lidská populace neustále roste a s ní i nároky na množství potravy, ale i pitné vody (Shahriar et al. 2021). Na základě odhadů mezinárodní Organizace spojených národů (OSN), ve kterých předvídají růst lidské populace a změnu klimatu, se celosvětová poptávka po vodě do roku 2050 zvýší o 30 % (Shahriar et al. 2021). Tato varovná predikce nemusí být naplněna, pokud se bude více zdržovat voda v půdním prostředí, pokud se celosvětově zlepší zemědělské osevňovací postupy či se změní druhy pěstovaných rostlin na zemědělských plochách. Těmito kroky by se mohla částečně snížit vysoká poptávka po vodě. Další současně již využívanou možností minimalizace potřeby vodního zdroje je opětovné použití vyčištěných odpadních vod (někdy nazývaných jako recyklované odpadní vody, VOV). Opětovné využití recyklovaných odpadních vod pro zavlažování v zemědělství se za posledních deset let zvýšilo o 42 % (Shahriar et al. 2021). Ve Spojených státech amerických (USA), zejména v Kalifornii, na Floridě a v Arizoně, se denně používá přibližně 669 milionů galonů VOV pro závlahové zemědělské účely. Toto množství ale představuje méně než 1 % celkové poptávky po zemědělské vodě v USA (Shahriar et al. 2021).

Opětovné využití VOV v zemědělském zavlažování šetří omezené sladkovodní zdroje. Recyklovaná odpadní voda může navíc sloužit jako hnojivo, tedy doplňovat živiny, minerály a organickou hmotu do zemědělských půd. Kromě toho několik studií zjistilo, že takové zavlažování může zlepšit celkové půdní enzymatické činnosti (Shahriar et al. 2021).

Jak již bylo zmíněno, v současné době se ve VOV analytickými přístroji detekuje řada potenciálně škodlivých organických polutantů, souhrnně označovaných jako PPCP, ČOV nejsou schopny všechny polutanty zadržet a nějakým způsobem zlikvidovat, degradovat. Tato voda je využita pro zemědělské účely nebo je vypouštěna do přírodních vodních těles, kde se koncentrace polutantů snižuje, dochází ke zředění. K dnešnímu dni existuje jen velmi málo systematických zhodnocení environmentálního rizika těchto látek, případně možné lidské expozice, při využívání VOV pro zavlažování v agrosystému (Ebele et al. 2017).

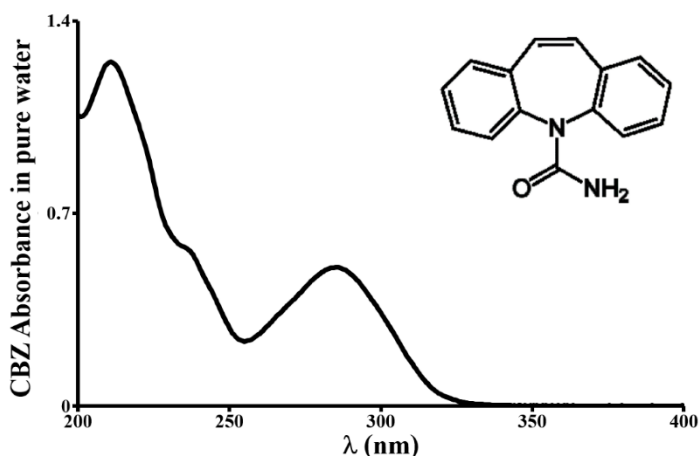
CBZ je jedním z nejčastěji detekovaných syntetických organických látek ve vodním prostředí, ať už se jedná o vyčištěné odpadní vody, řeky a jiné povrchové vody, podzemní vody nebo dokonce oceány (Shreffler and Zuniga 2018). Osenbruck a kol. určili lokální infiltraci vody z řek, exfiltraci kanalizace jako hlavní zdroj CBZ v podzemních vodách pod německým městem Halle (Ebele et al. 2017).

Pozoruhodné výsledky přinesla studie, kterou vedly Miao a Metcalfe (2003) , v rámci, které byl detekován 10,11-dihydro-10,11-dihydroxykarbamazepin přibližně třikrát vyšší koncentrace než mateřský lék, karbamazepin, ve všech vodných vzorcích (Miao and Metcalfe 2003). Vysvětlením může být, že tento metabolit netvoří pouze CBZ.

Tabulka 1 uvádí souhrn údajů dostupných v literatuře o výskytu CBZ v různých druzích vodních těles, v ČOV a vzorcích kalů.

Tab. 1 Výskyt CBZ ve vodním prostředí. Převzato a upraveno (Miao and Metcalfe 2003; Woods et al. 2017).

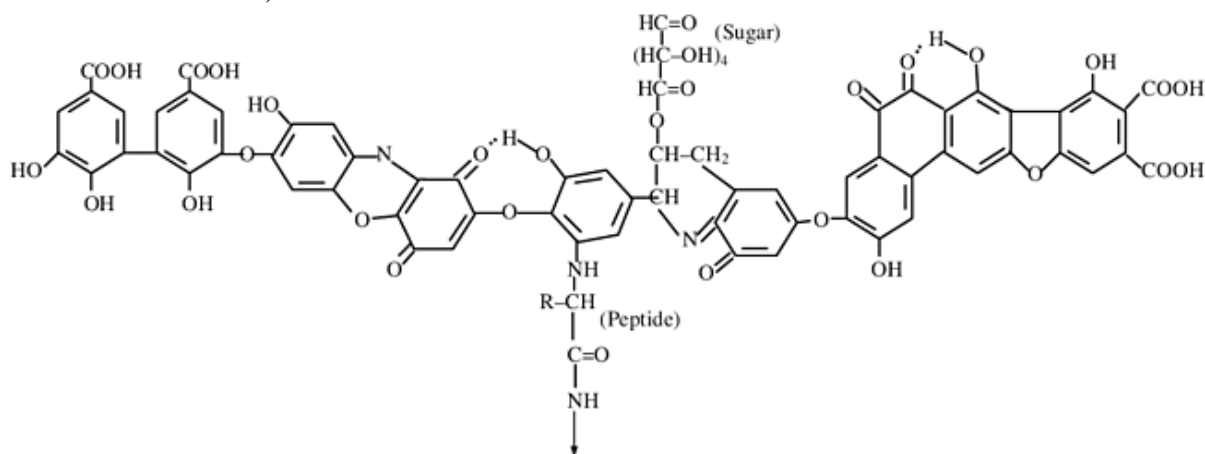
Povrchová voda (ng · l ⁻¹)	Podzemní voda (ng · l ⁻¹)	Pitná voda (ng · l ⁻¹)	Vyčištěná odpadní voda (ng · l ⁻¹)	Kal (ng · g ⁻¹ sušiny)	Rok detekce
250	-	-	2100	-	1998
7	-	-	426,2	-	2003
0–1500	-	258	-	-	2004
< 8	< 6	< 6	420	-	2005
-	-	-	-	69,6	2005
-	-	-	410	-	2005
24,56	14–43	-	160–290	-	2006
-	-	-	< 70–300	-	2007
4,5–61	-	-	73–729	-	2007
-	-	-	13–110	-	2007
-	-	-	-	0–215	2007
-	-	-	290–2440	-	2007
-	-	-	-	34,5	2008
0–36	-	-	0–195	-	2008
102–1194	-	-	-	-	2008
0,5–647	-	-	-	-	2009
-	-	-	150–2300	-	2009
-	-	-	-	79,8	2009
-	-	-	0–1,55	-	2009
-	-	-	69–2377	-	2010
-	-	-	-	12–42	2010
-	-	-	40–74	-	2011
749	-	601	-	-	2011



Obr.7 Absorpční spektrum CBZ v oblasti vlnových délek 200–400 nm, při pH 3 - 11(Bizi 2019).

Absorpční spektrum CBZ (Obr.7) ukazuje, že tato molekula absorbuje sluneční UV záření. V povrchových vodách by tak mohla svévolně fotochemicky transformovat. Tato tendence byla kontrolována pomocí řady spektrofotometrických experimentů v oblasti UV-VIS (tzn. využívá se záření s vlnovými délkami v oblasti ultrafialového až viditelného spektra záření), při nichž vodný roztok obsahující CBZ při počáteční koncentraci $8,0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ byl v kyvetě ozařován, sledovala se jeho absorbance. Absorbance je veličina, která udává, jaká část spektra a do jaké míry byla pohlcena měřeným vzorkem. Její hodnota je závislá na koncentraci měřené látky ve vzorku, tloušťce kyvety (Andreozzi et al. 2002; Bizi 2019; Ebele et al. 2017).

Andreozzi a kol. (2002) zkoumali ovlivnění absorpce UV záření, fotodegradaci CBZ v říční vodě v přítomnosti rozpuštěné kyseliny huminové ($5,0 \times 10^{-3} \text{ g dm}^{-3}$) (Obr.8), kyselina huminová způsobovala zvýšení biologického poločasu CBZ na 233,7 h. Ukazuje se, že přidání podobných sloučenin kyselině huminové do vodných roztoků karbamazepinu brání spontánní fotochemické degradaci. Možné vysvětlení tohoto chování lze nalézt s ohledem na to, že pro sledovanou kyselinu huminovou je charakteristická silná absorpce UV záření ve stejném rozmezí vlnových délek jako CBZ. Pro fotodegradaci CBZ při jarním slunečním svitu a při průměrném jarním italském počasí se vyhodnotil eliminační poločas CBZ na 907 hodin (Andreozzi et al. 2002).



Obr.8 Strukturální vzorec kyseliny huminové bez peptidové a cukernaté složky. Převzato z citace (Wang and Mulligan 2006).

Také bylo zjištěno, že přítomnost dusičnanů a dusitanů naopak podporují fotodegradaci CBZ. Podobné chování pozorovali i jiní při rozkladu pesticidů (Andreozzi et al. 2002).

Rozsáhlé výzkumy prokázaly, fotodegradace závisí na intenzitě slunečního ozáření, hloubce vody, složení organické hmoty, eutrofických podmínkách, zeměpisné šířce a sezónnosti (Ebele et al. 2017).

Fotodegradace se dlouho jevila jako slibná možnost pro odstraňování CBZ, do doby, než se začaly studovat produkty této transformace. Studie provedená v roce 2006 odhalila, že jedním fotodegradačním produktem karbamazepinu je akridin (sloučenina příbuzná antracenu). Tento transformační produkt se prokázal jako toxický, mutagenní a karcinogenní. Je tedy nebezpečnější než mateřská látka CBZ (Ebele et al. 2017). Několik studií potvrdilo, že karbamazepin je perzistentní k biologické a fotodegradaci ve vodním prostředí a vzhledem k jeho odolnému charakteru a četnému výskytu v relativně vysokých koncentracích byl navržen jako možný antropogenní marker ve vodním prostředí (Clara et al. 2004).

6.2 PŮDNÍ PROSTŘEDÍ

V kanadské provincii Ontario se přibližně 40 % biosolidů (tj. ošetřených upravených kalů), přibližně 16 000 tun sušiny, vyprodukovaných v ČOV aplikuje ročně na přibližně 2000 ha zemědělské půdy. Přes 50 % tohoto množství je aplikované na zemědělské plochy jako kejda (Topp et al. 2008). V německém dolnosaském městě Braunschweig dochází k zavlažování vyčištěnou odpadní vodou a k hnojení upraveným čistírenským kalem zemědělských polí nepřetržitě po více než 45 let, publikovaná studie uvádí, že pole bylo zavlažováno vodou o obsahu sledovaných 52 léčiv v koncentracích kolem $1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. Při analýze průsakové vody z pole bylo zjištěno, že z 52 monitorovaných léčiv obsahovala pouze 4, jedním z nich byl CBZ (KOTYZA et al. 2009). Na těchto příkladech je zřejmé, že je půda primárním ekologickým oddělením, jenž přijímá CBZ prostřednictvím zavlažování odpadních vod a aplikací biosolidů, hnojiv (Li et al. 2013).

Půda je jedna z primárních složek životního prostředí. Všeobecně uznávaná definice půdy chybí od vzniku půdní vědy. Koncem 80. let 19. století byl navržen naturalistický koncept půdy. V podstatě odkazoval na půdu jako na tridimenzionální entitu umístěnou na zemském povrchu s morfologií a jedinečnými fyzikálními, chemickými a biologickými vlastnostmi získanými interakcí mezi živými a mrtvými organismy, horninou a klimatem v dané topografické poloze. Z fyzikálně-chemického hlediska lze půdu definovat jako velmi heterogenní, otevřené, biogeochemické systémy sestávající z pevné, kapalné a plynné fáze. Obsahuje i mikroorganismy (Sanchez-Hernandez 2020; Thelusmond et al. 2018).

Jakmile je CBZ zaveden do půdy, na základě jeho a půdních chemicko – fyzikálních vlastností může docházet buď k sorpci na částice půdy, akumulaci anebo k průchodu do dalších kompartmentů ŽP, např. ve formě závlahové vodě z přírodních zdrojů (KOTYZA et al. 2009). Hlavními parametry půdy jsou její minerální složení, distribuce velikosti částic, pórovitost, obsah a kvalita organické hmoty, typ struktury a jednotnost profilu. Rychlost infiltrace vody závisí mimo jiné na hydraulické vodivosti půdy a stupni nasycení, jejíž dynamika souvisí také s obsahem povrchových vod (Bizi 2019). Také ale může projít jak biotickou (biologickým rozkladem), tak abiotickou transformací (chemické reakce, jako je hydrolýza). Přesné

mechanismy nebyly dosud pochopeny (KOTYZA et al. 2009). Procesy rozkladů vedou ke snížení koncentrací látek z půdního ekosystému nebo v dlouhodobém horizontu k jejich úplnému odstranění, ačkoli některé vyrobené transformační produkty mohou být v půdě jedovatější či perzistentní než mateřské (Biel-Maeso et al. 2021).

Schopnost CBZ a jeho translačních produktů v půdním prostředí dosáhnout až k podzemním vodám závisí významně na jejich sorpčních vlastnostech (Fenet et al. 2012). Pochopení sorpčního a pohyblivého chování organických kontaminantů v půdách je klíčem k předpovídání rizika kontaminace půdy a podzemních vod. Mnohé dřívější studie zakládaly sorpční koeficienty příslušných sloučenin na hodnotách rozdělovacích koeficientů oktanol / voda. Předpokládalo se, že pokud se látka vykazuje afinitu k 1-oktanolu, bude vykazovat i afinitu k rozpuštěnému organickému uhlíku (DOC) nebo lipidům (Scheytt et al. 2005). Navíc vědecká práce s koeficienty 1-oktanol / voda byla pohodlnější, neboť tyto konstanty jsou relativně snadno dostupné, dají se dobře teoreticky predikovat pomocí různých softwarů na základě chemické struktury. Rozdělovací koeficient byl dokonce navržen jako klíčový parametr pro předpovídání sorpční afinity organických sloučenin k půdním částicím. Avšak posléze studie provádějící laboratorní půdní experimenty přicházely s výsledky s významnými odchylkami od literatury, využívající zmíněný předpoklad rozdělovacího koeficientu 1-oktanol / voda (Scheytt et al. 2005).

V roce 2009 Gielen a kol. publikovali své poznatky, že sorpce CBZ ze zavlažování závisí především na typu půdy. Predikovali, že by taková sorpce byla nejrychlejší na hlinito – písčito- jílové půdě, zatímco při zavlažování na čistě písčité půdě by tato rychlost byla přibližně nulová, jinými slovy by v písčité půdě nedošlo k žádné sorpci CBZ a mohl by o to rychleji prosakovat do nižších vrstev ke zvodni (Fenet et al. 2012). V roce 2016 Paz a kol. velmi podrobně zkoumali půdní sorpci nejen samotného CBZ, ale i jeho dvou hlavních humánních metabolitů, tedy EP-CBZ a DiOH-CBZ. Jejich dvouletý experiment byl realizován laboratorní „batch“ technikou a zároveň i lyzimetrickým sledováním v exteriéru. Tzv. „batch“ technika je uzavřený, kontrolovaný, statický laboratorní systém obsahující půdu jako adsorbent a vodní roztok sledovaného CBZ. Jako půdní vzorky byly zvoleny sprašové hlíny s různým obsahem složek, zejména jílu a organické hmoty. Vzorky těchto půd, pojmenované jako Nir Oz, Ein hashlosa, Sa'ad, spolu se svojí charakterizací jsou uvedeny v tabulce 2. Touto rozsáhlou studií byly vyjádřené sorpční afinity prostřednictvím Freundlichových koeficientů, které jsou zaznamenány v tabulce 3 (Paz et al. 2016).

Tabulka 2 Vlastností zkoumaných půd. Převzato z citace (Paz et al. 2016).

Půda	Nir Oz	Ein hashlosa	Sa'ad
Jíl (%)	12,5	15,0	40,0
Hlína (%)	0,0	12,5	12,5
Písek (%)	87,5	72,5	47,5
Organická hmota (%)	0,41 ± 0,03	1,3 ± 0,04	0,48 ± 0,02
Caco₃ (%)	3,07 ± 0,35	7,64 ± 0,12	17,04 ± 0,36
pH	7,67 ± 0,07	7,80 ± 0,19	7,81 ± 0,02
EK (dS m⁻¹)	1,26 ± 0,02	2,02 ± 0,09	0,79 ± 0,02

Tabulka 3 Sorpční parametry pro zmiňované látky na půdní částice. K_F je Freundlichův koeficient ($\text{mg}^{1-N} \cdot \text{L} \cdot \text{N} \cdot \text{kg}^{-1}$) a N je bezrozměrný parametr linearity. Převzato z citace (Paz et al. 2016).

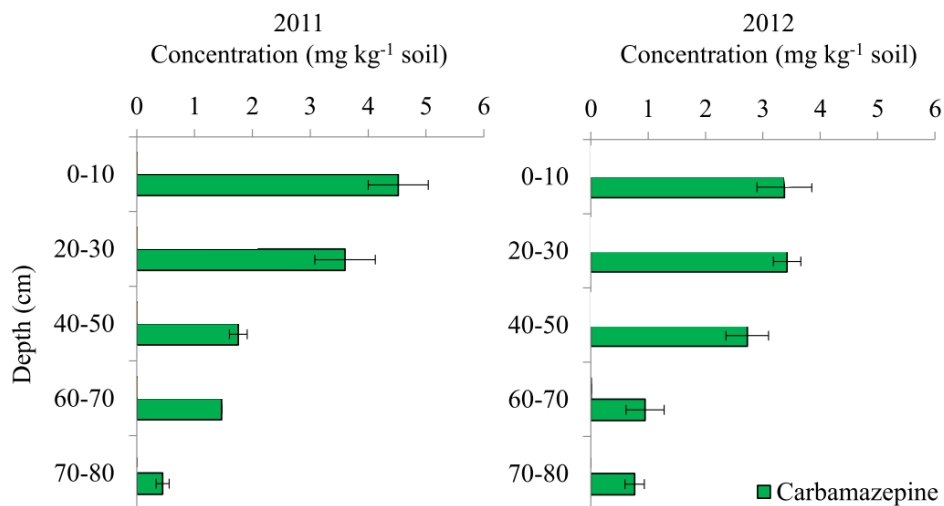
půda	Nir Oz		Ein Hashlosa		Sa'ad	
	K_F	N	K_F	N	K_F	N
CBZ	$0,66 \pm 0,01$	$0,84 \pm 0,02$	$1,56 \pm 0,04$	$0,91 \pm 0,02$	$0,60 \pm 0,02$	$0,86 \pm 0,02$
EP-CBZ	$0,29 \pm 0,02$	$1,05 \pm 0,05$	$0,79 \pm 0,02$	$0,92 \pm 0,03$	$0,44 \pm 0,01$	$0,92 \pm 0,02$
DiOH-CBZ	-	-	$0,31 \pm 0,01$	$0,90 \pm 0,01$	$0,27 \pm 0,01$	$0,85 \pm 0,03$

Zjistilo se, že sorpce všech studovaných sloučenin na půdní částice je reverzibilní. Sorpční afinita k půdním částicím klesala v pořadí $\text{CBZ} > \text{EP-CBZ} > \text{DiOH-CBZ}$; čímž se potvrdila studie Steina a kol. z roku 2008, v které tato vědecká skupina vyvádala, že DiOH-CBZ má nižší sorpční potenciál než CBZ. Toto chování je odrazem vyšší hydrofilicity tohoto metabolitu ve srovnání s CBZ (Fenet et al. 2012). Tyto informace jsou v souladu i s předchozími studiemi (Fenet et al. 2012; Paz et al. 2016).

Sorpce CBZ není ovlivněna přítomností jeho dvou hlavních metabolitů a naopak, navzájem si tedy sorpčně nekonkurují (Paz et al. 2016). Možným vysvětlením tohoto jevu může být dostatek sorpčních míst (tj. dostatek vhodných půdních částic) ve sledovaném půdním systému při měřených koncentracích kontaminantů. Další možnou hypotézou je, že tyto sloučeniny mohou zaujímat různá sorpční místa (Paz et al. 2016). Avšak studie, jež by prokazatelně podaly vysvětlení, dosud nebyly provedeny.

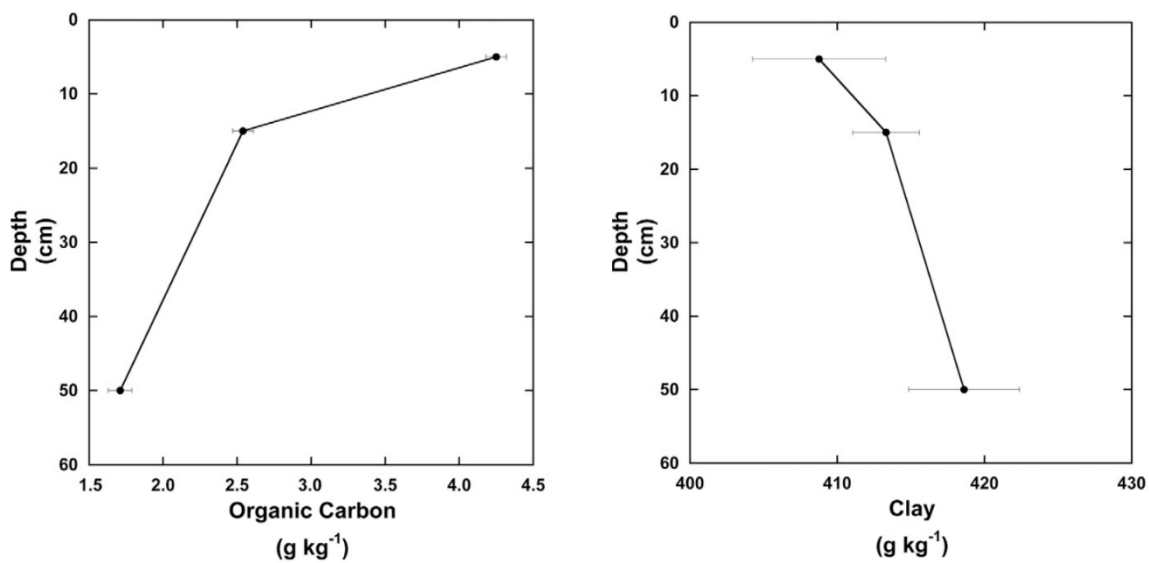
CBZ je detekován ve všech hloubkách půdních profilů, avšak v různých koncentracích, což je v souladu i s veškerou literaturou (Biel-Maeso et al. 2021; Paz et al. 2016).

Bylo zjištěno, že CBZ má tendenci se hromadit v horní vrstvě půdy (Obr.9). To je v souladu s poznatkem, že sorpce CBZ v půdě se řídí především hladinou organické půdní hmoty (Obr.). Právě horních vstvy půdy jsou nejbohatší na organickou hmotu (Obr.10). Lyzimetrickým experimentem se zjistilo, že opakované zavlažování recyklovanou, resp. vyčištěnou odpadní vodou vedlo k migraci karbamazepinu do hlubších půdních pater, což je zvláště patrné pro půdu s nízkým obsahem organické hmoty (Paz et al. 2016). Stejný závěr přinesl i dávkovací laboratorní experiment pod vedením Biel-Maesa, v kterém byla pozorována menší pohyblivost ve vertikálním půdním profilu CBZ ve srovnání s ostatními léčivy při pH půdy (7,90 a 7,25) (Biel-Maeso et al. 2021). Odlišné výsledky přinesla studie z roku 2012, kdy měl CBZ nejnižší koncentraci 0 až 5 cm ($0,18 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ půdy) než v dalších nižších vrstvách. Ve vrstvě 10–15 cm ($0,29 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ půdy) nebo ve vrstvě 25–50 cm ($0,24 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ půdy), poté hmotnostní koncentrace klesala. (Williams and McLain 2012). Tento jev byl vysvětlován možným odbouráváním CBZ v povrchových půdách, zejména fotodegradací a mikrobiální degradací. Karbamazepin také vykazoval významnou akumulaci v půdě, což tato skutečnost je v souladu s ostatní literaturou (Biel-Maeso et al. 2021; Williams and McLain 2012).



Obr.9 Vertikální půdní profily CBZ . Převzato a přeloženo z citace (Paz et al. 2016; Williams and McLain 2012)

Metabolity karbamazepinu (EP-CBZ a DiOH-CBZ) byly detekovány v půdních profilech při velmi nízkých koncentracích (0,1–0,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ půdy); v hodnotách detekovaných množství nebyly pozorovány žádné významné rozdíly s hloubkou. To dokazuje vyšší mobilitu v půdách ve srovnání s CBZ, a proto mohou být snadno přepravovány z půdních povrchů do zvodně. Jsou hydrofilnější než CBZ. Lze předpokládat riziko kontaminace podzemních či povrchových vod prostřednictvím mobilnějších translačních metabolitů (Paz et al. 2016). Mobilita všech těchto sloučenin může být ovlivněna obsahem jílu (Obr.10), ve směru snížení mobility (Biel-Maeso et al. 2021; Williams and Adamsen 2006; Williams and McLain 2012).



Obr.10 Vertikální půdní profily organické hmoty (vlevo) a obsahu jílu (vpravo). Jejich hmotnostní koncentrace jsou znázorněny v závislosti na hloubce. Převzato a přeloženo z citace (Williams and McLain 2012).

Důležitou skutečností je, že se studie provádí a prováděly s mnohem vyššími koncentracemi, než jaké jsou detekovány v životním prostředí. Očekává se, že sorpční afinita studovaných sloučenin k půdám vzroste při koncentracích relevantních pro životní prostředí, které jsou nižší než laboratorně testované. Toto chování lze vysvětlit specifickými interakcemi mezi molekulami sorbatu, tj. CBZ a funkčními skupinami půdní organické hmoty, které jsou dominantní při nízkých koncentracích sorbatu (Paz et al. 2016).

6.3 BIOTA

Reverzibilní půdní sorpce může vést k uvolňování (někdy označovanému jako vyplavování) CBZ a jeho TP, z pevné složky půdního systému do půdního roztoku, který čerpají rostliny (Paz et al. 2016).

Přítomnost živin, jako je dusík či fosfor, ve vyčištěných odpadních vodách je ideální k využívání zavlažování zemědělských či zahrádkářských ploch, protože snižuje požadavku zemědělců a zahrádkářů na hnojiva. Zároveň představuje riziko ve formě kontaminace nejruznějších organických polutantů či hrozbu přítomností patogenů, jako jsou bakterie, viry, prvoci a hlísty (Shenker et al. 2011).

Studie posledních let prokazují, že CBZ je vycytáván plodinami z půdního roztoku a bioakumuluje se v nich (Shenker et al. 2011). Neutrální chemická povaha předurčuje, že CBZ bude účinně setrvávat v rostlinách. V důsledku neiontové povahy totiž snadno prochází kořenovými membránami rostlin (ve srovnání s iontovými sloučeninami). K transportu sloučeniny membránou není nutná žádná energie (Knight et al. 2018). V rostlině se může bioakumulovat v jedlé části rostlin, a tak vstoupit do potravinového řetězce. (Riemenschneider et al. 2017). Výzkumy jsou často prováděny s koncentracemi CBZ nereálně vysokými, tedy přesně nemodelují současnou situaci v životním prostředí a mohou vést k chybným závěrům, jelikož neudávají žádnou informaci o chování stopových množství této látky a jeho vlivům na celý ekosystém (Shenker et al. 2011).

Metabolismus rostlin je srovnatelný s metabolismem lidských jater, avšak namísto dvou fází ho je rozdělován do tří fází. V první fázi v biotransformačních reakcích CBZ prochází transformačními procesy, jako je oxidace, redukce a hydrolýza. Sloučeniny takto vzniklé jsou obvykle reaktivnější než mateřská sloučenina v důsledku zavedení funkčních skupin, jako jsou –OH, –NH₂ nebo –SH. Ve druhé fázi aktivované sloučeniny dále konjugují s endogenními molekulami rostliny za přítomnosti enzymů. Je zvýšena hydrofilita modifikované struktury původního CBZ, což vede k detoxikaci. Zde nastává rozdíl od živočichů, protože rostliny vylučují moč, tedy ani konjugační metabolity CBZ. Nastává fáze třetí. Transformační produkty putují do vakuol a do apoplastů, kde jsou ukládány. Stopová množství metabolitů, jež jsou hydrofobní⁹ jsou zabudovávány do buněčné rostlinné stěny (Riemenschneider et al. 2017).

V minulých letech Shenker a kol. (2011) prokázali vycytávání CBZ okurkovými rostlinami (*Cucumis sativus L.*) v hydroponické kultuře a experimentech se skleníky. Bioakumulace CBZ byla výrazně vyšší v listech (76–84 % celkového příjmu) než ve stonku a kořenech, což naznačuje, že CBZ je převážně translokován transpiračním proudem. Nedávno

⁹ Žádná reakce není kvantitativně 100%.

bylo zkoumáno vychytávání CBZ kořenem (sladkých brambor a mrkve *Daucus carota*), ovocné zeleniny (rajčat a okurek). Listnaté rostliny (salát, celer, květák a brokolice) zavlažované VOV měly lepší růst než rostliny zavlažované podzemními vodami (Knight et al. 2018).

Německá studie na hydroponických rajčatech *Solanum lycopersicum* zjišťovala možné mechanismy biodegradace CBZ. Hydroponická rajčata vystavovala vysokých hladinách CBZ a sledovala nejen akumulaci samostatné struktury CBZ (Riemenschneider et al. 2017).

Organismy, které byly chronicky vystaveny kontaminujícím látkám, si mohou ve srovnání s neexponovanými jedinci vytvořit zvýšenou toleranci nebo odolnost, ale s přidruženými náklady, jako je oxidační poškození. (Ebele et al. 2017). Samotnou existenci vodních druhů ve svém prostředí jsou vystavovány expozici nízkých koncentrací CBZ. V roce 2010 byla prokázána bioakumulace CBZ řasami *Pseudokirchneriella subcapitata* a korýšem – *Thamnocephalus platyurus* (Ebele et al. 2017).

Studie provedená Hampelem a kol. v roce 2013 naznačil, že při vystavení koncentracím CBZ blízkým se $7,85 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (relativně nízké koncentrace) v průběhu 5 dnů se na sledované kohortě atlantického lososa *Salmo salar* exprese sekvence mRNA posunuly, přičemž nejvyšší změny byly v expresi funkcí kódujících hormony hypofýzy, jako je somatolaktin, prolaktin a somatropin. Výsledky ukázaly, že CBZ i těchto malých koncentracích má vliv na fyziologii mozku. (Shreffler and Zuniga 2018)

7 MOŽNOSTI ELIMINACE

Čistírny odpadních vod představují nejdůležitější bodový zdroj kontaminace povrchových vod karbamazepinem. Je to zároveň antropogenně nejovlivnitelnější zdroj, co se týče možné eliminace léčiv (Bizi 2019). CBZ je velmi rezistentní vůči současné eliminaci a není dosud objevena spolehlivá eliminační technologie na účinné odstranění (Topp et al. 2008). Stojí za to zdůraznit, že literatura v současné době nenabízí žádné údaje o čištění či úpravě CBZ, jež by byla spolehlivá a využitelná ve velkém měřítku (Bizi 2019).

Je důležité mít na paměti, že rozpad nebo odstranění mateřských sloučenin během ČOV nemusí nutně znamenat odstranění toxicity, velký počet transformačních produktů lidstvu není znám. neznámou toxicitou a perzistentností může být stále přítomen v konečné odtokové vodě i v přijímacích vodních útvarech (Ebele et al. 2017).

Zdá se, že ozonace je pro tento účel vhodným nástrojem. První zkušenosti s touto technologií byly hlášeny týmem Andreozzi a kol. (2002). V rámci projektu POSEIDON budou provedena další šetření o potenciálu různých technologií k odstranění. Tento projekt zkoumá různé technologie pro odstraňování léčiv a výrobků pro osobní péči v zařízeních na kanalizaci a pitnou vodu s cílem zlepšit nepřímé opětovné použití pitné vody (Andreozzi et al. 2002; Ebele et al. 2017).

V posledních letech se vkládají naděje do hydroponických rostlin, které mohou být použity jako metoda čištění odpadních vod, a tím i snížení zatížení životního prostředí znečišťujícími látkami (Cifuentes-Torres et al. 2021). Další naděje jsou založené na sorpčních vlastnostech CBZ a TP (Paxéus 2004; Zhang et al. 2008).

8 ZÁVĚR

Antiepileptikum CBZ je na farmaceutickém trhu od roku 1962, i dnes je stále využíváno v klinické praxi. Jeho spotřeba do budoucna poroste, i přestože už byl překonán novějšími chemickými strukturami.

Po aplikaci v lékové formě, nejčastěji tableť, je v cílovém organismu CBZ rozsáhle metabolizován v játrech. Biotransformace se účastní enzymy ze skupiny CYP 450. Je identifikováno nad 33 lidských metabolitů. Nevstřebaný CBZ společně s metabolity putuje stokovou sítí do čistírny odpadních vod.

Současné ČOV nedokážou CBZ zachycovat ani degradovat, což znamená jeho přímé uvolňování do životního prostředí. CBZ se běžně vyskytuje ve všech složkách životního prostředí. Několik studií ukázalo, že metabolity mohou vykazovat vyšší toxicitu než příslušný CBZ.

Ve vodním prostředí je frekventovaně detekován v odpadních vodách, v povrchových, podzemních vodách, dokonce i v pitné vodě. Hmotnostní koncentrace se pohybují v řádech nanogramů na litr, výjimečně v řádech miligramů na litr vodného vzorku. CBZ představuje riziko pro zvláště citlivé recipienty, prokazatelně představuje riziko pro vodní organismy. Je to antropogenní marker.

Zavlažováním vyčištěnými odpadními vodami či hnojením upravovaným kalem se většinou metabolity společně s CBZ dostávají do půdy. Půda může sloužit jako rezervoár CBZ. Míra akumulace CBZ v půdě je závislá na typu půdy, velikosti půdních zrn či obsahu organické hmoty. Sorpce na půdní částice jsou reverzibilní. Ukázalo se, že sorpce CBZ se řídí především hladinou organické hmoty v půdě. Hlavní metabolity tento trend neprokázaly. Sorpce metabolitů a CBZ není vzájemně konkurenční.

Kromě toho se CBZ prokazatelně hromadí v některých rostlinách (pšenice, rajčata).

Není známa žádná technologie, která by efektivně uměla zachytávat či odstraňovat CBZ a jeho metabolity z odpadní vody.

9 LITERATURA

- AKAMATSU, N. Epilepsy. *Journal of the Neurological Sciences*, 2017/10/15/ 2017, 381, 9.
- ANDREOZZI, R., R. MAROTTA, G. PINTO AND A. POLLIO Carbamazepine in water: persistence in the environment, ozonation treatment and preliminary assessment on algal toxicity. *Water Research*, 2002/06/01/ 2002, 36(11), 2869-2877.
- ARLIN, J.-B., L. S. PRICE, S. L. PRICE AND A. J. FLORENCE A strategy for producing predicted polymorphs: catemeric carbamazepine form V. *Chemical Communications*, 2011, 47(25), 7074-7076.
- BAHLMANN, A., W. BRACK, R. J. SCHNEIDER AND M. KRAUSS Carbamazepine and its metabolites in wastewater: Analytical pitfalls and occurrence in Germany and Portugal. *Water Research*, 2014/06/15/ 2014, 57, 104-114.
- BIALER, M. Chemical properties of antiepileptic drugs (AEDs). *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012/07/01/ 2012, 64(10), 887-895.
- BIEL-MAESO, M., V. BURKE, J. GRESKOWIAK, G. MASSMANN, et al. Mobility of contaminants of emerging concern in soil column experiments. *Science of The Total Environment*, 2021/03/25/ 2021, 762, 144102.
- BIZI, M. Activated Carbon and the Principal Mineral Constituents of a Natural Soil in the Presence of Carbamazepine. *Water*, 2019, 11(11), 2290-2307.
- CENSI, R. AND P. D. MARTINO Polymorph Impact on the Bioavailability and Stability of Poorly Soluble Drugs. *Molecules*, 2015 2015, 20(10), 18759-18776.
- CIFUENTES-TORRES, L., L. G. MENDOZA-ESPINOSA, G. CORREA-REYES AND L. W. DAESSLÉ Hydroponics with wastewater: a review of trends and opportunities 2021, 35(1), 166-180.
- CSD 2021 Available from <https://www.ccdc.cam.ac.uk/structures/Search?Ccdcid=185919> (accessed May 2021).
- CLARA, M., B. STRENN AND N. KREUZINGER Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water Research*, 2004/02/01/ 2004, 38(4), 947-954.
- CROUCH, S. R., F. J. HOLLER, D. M. WEST AND D. A. SKOOG *Analytická chemie*. Edtion ed. Praha: VŠCHT, 2019. 984 p. ISBN 978-80-7592-043-0.
- CZERNICKI, W. AND M. BARANSKA Carbamazepine polymorphs: Theoretical and experimental vibrational spectroscopy studies. *Vibrational Spectroscopy*, 2013/03/01/ 2013, 65, 12-23.

DEBNATH, S., J. RAJU AND R. CHENNAPRAGADA Carbamazepine and its Synthesis Related Impurities Profile Compilation and its Monograph Dispute for the Best Regulatory Practice: A Review. *Journal of Young Pharmacists*, 12/14 2020, 12, 294-298.

DENG, J., Y. SHAO, N. GAO, S. XIA, et al. Degradation of the antiepileptic drug carbamazepine upon different UV-based advanced oxidation processes in water. *Chemical Engineering Journal*, 2013/04/15/ 2013, 222, 150-158.

DENG, X., M.-X. SONG, G.-H. GONG, S.-B. WANG, et al. Synthesis and Anticonvulsant Evaluation of some New 6-(Substituted-phenyl)thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole Derivatives in Mice. *Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR*, 09/19 2014, 13, 459-469.

EBELE, A. J., M. ABOU-ELWAFI ABDALLAH AND S. HARRAD Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants*, 2017/03/01/ 2017, 3(1), 1-16.

FENET, H., O. MATHIEU, O. MAHJOUR, Z. LI, et al. Carbamazepine, carbamazepine epoxide and dihydroxycarbamazepine sorption to soil and occurrence in a wastewater reuse site in Tunisia. *Chemosphere*, 2012/06/01/ 2012, 88(1), 49-54.

FINE-SHAMIR, N., A. BEIG, J. M. MILLER AND A. DAHAN The solubility, permeability and the dose as key factors in formulation development for oral lipophilic drugs: Maximizing the bioavailability of carbamazepine with a cosolvent-based formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 2020/05/30/ 2020, 582, 119307.

HAMPL, F., S. RÁDL AND J. PALEČEK *Farmakochemie*. Edition ed. Praha: VŠCHT, 2015. 640 p. ISBN 978-80-7080-875-7.

HILL, A. C., J. E. ROWER AND H. S. WHITE The pharmacokinetics of oral carbamazepine in rats dosed using an automated drug delivery system. *Epilepsia*, 2019/09/01 2019, 60(9), 1829-1837.

HUANG, Y., X. SUN, L. ZHOU, Z. ZHANG, et al. Investigation of Ternary Phase Diagrams of Carbamazepine–Nicotinamide Cocrystal in Ethanol and Ethanol/Ethyl Acetate Mixtures at 298.15 K and 313.15 K. *Journal of Solution Chemistry*, 2020/01/01 2020, 49(1), 117-132.

HYNIE, S. *Farmakologie v kostce*. Edition ed. Praha: Triton, 1999. ISBN 80-85875-96-9.

KNIGHT, E. R., L. J. CARTER AND M. J. MCLAUGHLIN Bioaccumulation, uptake, and toxicity of carbamazepine in soil–plant systems 2018, 37(4), 1122-1130.

KODÍČEK, M., R. HYNEK AND O. VALENTOVÁ *Biochemie - chemický pohled na biologický svět*. Edition ed. Praha: VŠCHT, 2018. 408 p. ISBN 978-80-7592-013-3.

KOŘÍSTKOVÁ, B. AND M. GRUNDMANN METODIKA STUDIA SPOTŘEB LÉKŮ. *Klinická Farmakologie a Farmacie*, 2006, 20, 219–222.

KOTYZA, KAFKA, VANĚK AND SOUDEK LÉČIVA – „NOVÝ“ ENVIROMENTÁLNÍ POLUTANT. *Chemické Listy*, 2009, 103, 540– 547

KRATOCHVÍL, B. *Chemie a fyzika pevných léčiv*. Edition ed. Praha: VŠCHT, 2014. 158 p. ISBN 978-80-7080-917-4.

KUBA, R. Nová antiepileptika v klinické praxi. *Journal Neurology for practice*, 2006, 7(1), 36-42.

LERTRATANANGKOON, K. AND M. G. HORNING Metabolism of carbamazepine. *Drug Metab Dispos*, Jan-Feb 1982, 10(1), 1-10.

LI, J., L. DODGEN, Q. YE AND J. GAN Degradation Kinetics and Metabolites of Carbamazepine in Soil. *Environmental Science & Technology*, 2013/04/16 2013, 47(8), 3678-3684.

LÓPEZ-MUÑOZ, F., W. W. SHEN, P. D'OCÓN, A. ROMERO, et al. A history of the pharmacological treatment of bipolar disorder. *International journal of molecular sciences*, 2018, 19(7), 2143.

LOWES, M. M. J., M. R. CAIRA, A. P. LÖTTER AND J. G. VAN DER WATT Physicochemical Properties and X-ray Structural Studies of the Trigonal Polymorph of Carbamazepine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1987/09/01/ 1987, 76(9), 744-752.

MAY, M. Epilepsy. *Nature*, 2014/07/01 2014, 511(7508), S1-S1.

MIAO, X.-S. AND C. D. METCALFE Determination of Carbamazepine and Its Metabolites in Aqueous Samples Using Liquid Chromatography–Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 2003/08/01 2003, 75(15), 3731-3738.

MICHAEL, I., B. OGBONNA, N. SUNDAY, M. ANETOH, et al. Assessment of disposal practices of expired and unused medications among community pharmacies in Anambra State southeast Nigeria: a mixed study design. *Journal of Pharmaceutical Policy and Practice*, 2019/04/16 2019, 12(1), 12.

MOSHÉ, S. L., E. PERUCCA, P. RYVLIN AND T. TOMSON Epilepsy: new advances. *The Lancet*, 2015 Mar 07 2015, 385(9971), 884-898.

NEWTON, S. A., D. C. KNOTTENBELT AND P. R. ELDRIDGE Headshaking in horses: possible aetiopathogenesis suggested by the results of diagnostic tests and several treatment regimes used in 20 cases. *Equine Vet J*, May 2000, 32(3), 208-216.

OLDENKAMP, R., A. BEUSEN AND M. HUIJBREGTS Aquatic risks from human pharmaceuticals—modelling temporal trends of carbamazepine and ciprofloxacin at the global scale. *Environmental Research Letters*, 02/21 2019, 14, 034003.

PAXÉUS, N. Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, b-blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment. *Water Science and Technology*, 2004, 50(5), 253-260.

PAZ, A., G. TADMOR, T. MALCHI, J. BLOTEVOGEL, et al. Fate of carbamazepine, its metabolites, and lamotrigine in soils irrigated with reclaimed wastewater: Sorption, leaching and plant uptake. *Chemosphere*, Oct 2016, 160, 22-29.

PEARCE, R., W. Y. LU, Y. WANG, J. UETRECHT, et al. Pathways of Carbamazepine Bioactivation in Vitro. III. The Role of Human Cytochrome P450 Enzymes in the Formation of 2,3-Dihydroxycarbamazepine 2008, 36, 1637 - 1649.

RIEMENSCHNEIDER, C., B. SEIWERT, M. MOEDER, D. SCHWARZ, et al. Extensive Transformation of the Pharmaceutical Carbamazepine Following Uptake into Intact Tomato Plants. *Environmental Science & Technology*, 2017/06/06 2017, 51(11), 6100-6109.

ROBERTS, R. J., R. S. PAYNE AND R. C. ROWE Mechanical property predictions for polymorphs of sulphathiazole and carbamazepine. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2000/01/01/ 2000, 9(3), 277-283.

RYCHLÍČKOVÁ, J. Koanalgetika – správná volba a indikace 2015.

SAHU, M., N. SIDDIQUI, M. NAIM, O. ALAM, et al. Design, Synthesis, and Docking Study of Pyrimidine-Triazine Hybrids for GABA Estimation in Animal Epilepsy Models: Pyrimidine-Triazine Hybrids as Anticonvulsants. *Archiv der Pharmazie*, 07/31 2017, 350, 1700146.

SANCHEZ-HERNANDEZ, J. Vermiremediation of Pharmaceutical-Contaminated Soils and Organic Amendments. In., 2020.

SHAHRIAR, A., J. TAN, P. SHARMA, D. HANIGAN, et al. Modeling the fate and human health impacts of pharmaceuticals and personal care products in reclaimed wastewater irrigation for agriculture. *Environmental Pollution*, 2021/05/01/ 2021, 276, 116532.

SHAYANFAR, A., S. VELAGA AND A. JOUYBAN Solubility of carbamazepine, nicotinamide and carbamazepine–nicotinamide cocrystal in ethanol–water mixtures. *Fluid Phase Equilibria*, 2014/02/15/ 2014, 363, 97-105.

SHENKER, M., D. HARUSH, J. BEN-ARI AND B. CHEFETZ Uptake of carbamazepine by cucumber plants – A case study related to irrigation with reclaimed wastewater. *Chemosphere*, 2011/02/01/ 2011, 82(6), 905-910.

SHREFFLER, C. AND T. ZUNIGA Transformation and Fate of the Pharmaceutical Carbamazepine as a Model For Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPS) in Agricultural and Aquatic Environments. *El Rio: A Student Research Journal.*, 2018, 1, 50-58.

SCHEYTT, T., P. MERSMANN, R. LINDSTÄDT AND T. HEBERER 1-Octanol/Water Partition Coefficients of 5 Pharmaceuticals from Human Medical Care: Carbamazepine, Clofibric Acid, Diclofenac, Ibuprofen, and Propyphenazone. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2005/07/01 2005, 165(1), 3-11.

SÚKL 2021 Available from <https://www.sukl.cz/> (accessed May 2021).

ŠKUTA, C. AND D. SVOZIL Qsar – modelování kvantitativních vztahů mezi strukturou a aktivitou chemických látek. *Chemické Listy*, 2017, 111, 747-753

THELUSMOND, J. R., E. KAWKA, T. J. STRATHMANN AND A. M. CUPPLES Diclofenac, carbamazepine and triclocarban biodegradation in agricultural soils and the microorganisms and metabolic pathways affected. *Sci Total Environ*, Nov 1 2018, 640-641, 1393-1410.

TOLOU-GHAMARI, Z., M. ZARE, J. M. HABIBABADI AND M. R. NAJAFI A quick review of carbamazepine pharmacokinetics in epilepsy from 1953 to 2012. *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 2013, 18(Suppl 1), S81-S85.

TOPP, E., S. C. MONTEIRO, A. BECK, B. B. COELHO, et al. Runoff of pharmaceuticals and personal care products following application of biosolids to an agricultural field. *Science of The Total Environment*, 2008/06/15/ 2008, 396(1), 52-59.

URASE, T. AND T. KIKUTA Separate estimation of adsorption and degradation of pharmaceutical substances and estrogens in the activated sludge process. *Water Research*, 2005/04/01/ 2005, 39(7), 1289-1300.

ÚSKVBL 2021 Available from <http://www.uskvbl.cz/> (accessed May 2021).

VARDANYAN, R. S. AND V. J. HRUBY. Antiepileptic Drugs. In R.S. VARDANYAN AND V.J. HRUBY eds. *Synthesis of Essential Drugs*. Amsterdam: Elsevier, 2006, p. 125-133.

WANG, S. AND C. MULLIGAN Effect of Natural Organic Matter on Arsenic Release from Soils and Sediments into Groundwater. *Environmental geochemistry and health*, 07/01 2006, 28, 197-214.

WHO 2021 Available from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy> (accessed May 2021).

WILLIAMS, C. F. AND F. J. ADAMSEN Sorption-Desorption of Carbamazepine from Irrigated Soils. *Journal of Environmental Quality*, Sep/Oct Sep/Oct 2006 2006, 35(5), 1779-1783.

WILLIAMS, C. F. AND J. E. T. MCLAIN Soil Persistence and Fate of Carbamazepine, Lincomycin, Caffeine, and Ibuprofen from Wastewater Reuse. *Journal of Environmental Quality*, Sep 2012 2012, 41(5), 1473-1480.

WOODS, B. A. D., SILVA AND CARVALHO *Carbamazepine*. Edition ed. Hauppauge: Nova Science Publishers, Incorporated, 2017. ISBN 9781536119541;1536119547;.

ZHANG, Y., S.-U. GEIßEN AND C. GAL Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*, 2008/11/01/ 2008, 73(8), 1151-1161.