

# Toxicita barviv používaných v léčivých přípravcích

Jana Kučerová<sup>1,2</sup>, Hana Kotolová<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, Farmakologický ústav, Brno

<sup>2</sup>Masarykova univerzita, CEITEC – Středoevropský technologický institut, Brno

<sup>3</sup>Veterinární a farmaceutická univerzita, Farmaceutická fakulta, Humánní farmakologie a toxikologie, Brno

V současnosti je každý léčivý přípravek složitým systémem léčiv a pomocných látek. Barviva jsou pomocné látky, které slouží nejen k úpravě estetického vzhledu léku, ale pomáhají také identifikovat produkt ve výrobní a distribuční fázi, slouží jako signální nástroj při případném chybném výdeji a umožňují pacientovi lépe se orientovat ve své medikaci. Povolení používání barviv ve farmaceutickém průmyslu podléhá komplexnímu hodnocení toxicity a přísným legislativním opatřením. Článek se věnuje toxikologickému hodnocení syntetických barviv používaných v léčivých přípravcích. Shrnuje, že podle současných animálních a klinických studií je nepravděpodobné, že tyto látky významně ovlivňují zdravotní stav populace.

**Klíčová slova:** pomocná látka, barviva, legislativní opatření, ukazatele toxicity.

## Dyes used in medicinal products

Nowadays, every medicinal product is a complex system of active substances and excipients. Dyes are excipients used to improve the aesthetic appearance of a drug, help identify the product in the production and distribution stages, serve as a signalling tool in the case of dispensing error, or help patients tell their medications apart. The permission to use dyes in the pharmaceutical industry is subject to a number of health tests and legislative measures. The article deals with toxicological assessment of synthetic dyes used in medicinal products permitted by a guideline of the State Institute for Drug Control. Given the multitude of available literature sources and clinical trials performed, it is unlikely that these substances significantly affect the health of the population.

**Key words:** excipient, dyes, legislative measures, toxicity markers.

Prakt. lékař. 2013; 9(2): 83–89

## Definice základních pojmů

V dřívějších dobách se v terapii uplatňovala samotná léčiva nebo jejich směsi bez dalších látek. V současnosti je každý léčivý přípravek složitým systémem léčiv a pomocných látek. Pomocné látky umožňují formování léku a lékové formy, určují jeho vlastnosti, ovlivňují biologickou dostupnost léčiva, mají vliv na stabilitu přípravku a na smyslové vjemy při podání. Vlastní léková forma se má vyznačovat určitým aplikačním komfortem, tento požadavek je důležitý hlavně u léků, které pacient užívá mimo zdravotnické zařízení. Estetická úroveň léku a aplikační komfort přímo souvisí s celkovým účinkem léku (tzv. placebo efekt, viz dále). Pokrok a poznání v oblasti pomocných látek je cenný pro rozvoj farmakoterapie.

Pomocné látky jsou suroviny nutné pro výrobu léku, které se uplatňují v technologickém procesu výroby léku, nebo jsou součástí léku. Takové pomocné látky umožňují svými chemicko-fyzikálními a mechanickými vlastnostmi zpracování léčiv na lék s charakteristickou lékovou formou. Pomocné látky nemají vlastní léčebný účinek a jejich hlavní funkcí je umožnit nebo usnadnit výrobu, přípravu, uchovávání a podávání léků. Pomocné látky mají své specifické názvy podle jejich funkce. Mezi ty základní patří např.:

- plniva – látky, které pomáhají doplnit objem (např. laktóza, sacharóza),

- pojiva – spojují léčivou látku s plnivem (např. želatina, celulóza),
- kluzné látky – zamezují lepení tabletové směsi na tabletovacím lisu a umožňují optimální sypnost směsi (např. mastek, oxid zinečnatý),
- rozvolňovač – umožňují rozpad tablety v organismu obvykle bobtnáním (např. škrob, formaldehydkasein),
- barviva – zajišťují estetický vzhled léku a zároveň tak zajišťují identifikaci léku (např. kurkumin, erythrosin),
- rozpouštědla – umožňují rozpouštění léčivé látky (např. voda, ethanol),
- antimikrobiální látky – zabraňují množení a růst mikroorganismů (např. kyselina boritá, parabeny),
- chuťová a čichová korigencia – „tlumí“ nepříjemnou chuť či vůni léčivé látky (např. ovocné sirupy, sladidla),
- technické pomocné látky – použité v některé fázi přípravy nebo výroby léku (např. éter, ethanol).

## Barviva

### Význam barviv v léčivých přípravcích

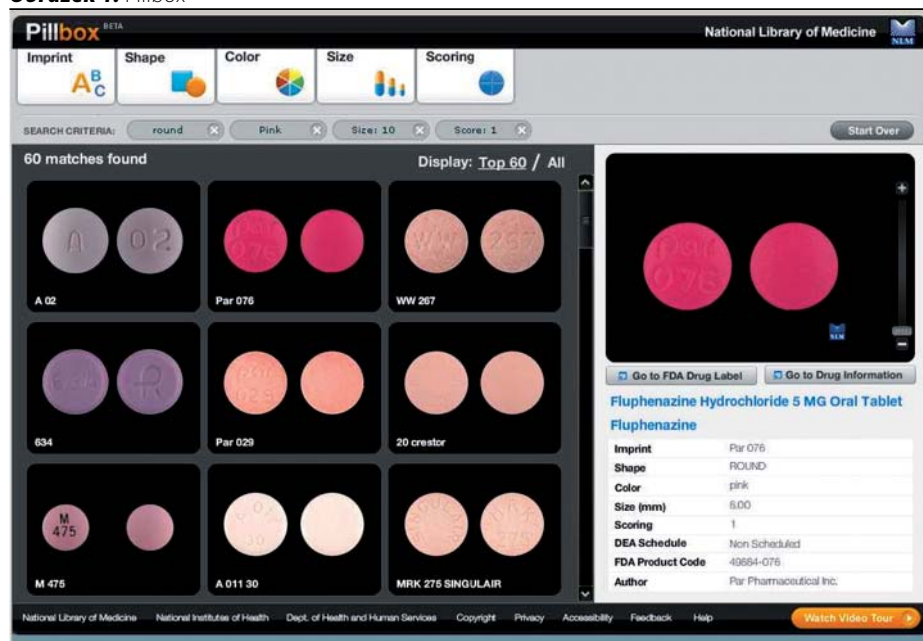
Barviva jsou pomocné látky, které plní v léčivých přípravcích a léčích několik funkcí (1, 2).

Barviva slouží především k úpravě estetického vzhledu léku, který se částečně podílí

i na farmakoterapeutickém úspěchu v rámci **placebového efektu**. Z psychologického hlediska barva léku může ovlivnit účinnost léčby, neboť barva zvyšuje atraktivitu léku. To je typické především u analgeticky působících léčiv, jako jsou nesteroidní antiflogistika, lokální anestetika, analgetika – anodyna (3, 4, 5), ale i v mnoha dermatologických indikacích (6). Přípravky mající nevhodné zabarvení a nepěkně navržený obal mohou i přes značný léčebný potenciál vykazovat horší výsledky, než stejný lék vhodně pro pacienta upravený. Bylo prokázáno, že placebo efekt je skutečný psychobiologický fenomén, se kterým je nutné při farmakoterapii počítat a v současné době probíhá rozsáhlý výzkum s cílem objasnit jeho neuropsychofarmakologické mechanismy (7), jehož výsledky jsou mimo rámec tohoto textu.

**Signální role** je další funkcí barviva. Barva pomáhá identifikovat produkt ve výrobní a distribuční fázi. Může být použita k identifikaci podobně vypadajícího léčiva v rámci produktové řady, nebo odlišení léčiva od různých výrobců. Použití různých barev pro různé síly stejného léku může pomoci odstranit případné chyby u užívání léků např. ve zdravotnickém zařízení, nebo při chybném výdeji konkrétní síly léčivého přípravku pacientovi. Zbarvení léku může pomoci lékařovi identifikovat pacientovu farmakoterapii v případě, kdy pacient nezná svou medikaci názvy. Atraktivní barva ale

Obrázek 1. Pillbox



může být přitažlivá pro děti, toto nebezpečí lze snížit použitím bezpečnostních obalů a možností rychlé identifikace při náhodném požití. Existují digitální identifikátory léčivých přípravků podle vzhledu, jejichž úkolem je zvýšení bezpečnosti užívání léčiv například při omylu v léčbě, náhodném či úmyslném předávkování neznámými tabletami apod. Příkladem tohoto systému je jedna z mnoha dobře fungujících a volně dostupných webových aplikací určených pro trh v USA Pillbox (<http://pillbox.nlm.nih.gov/>), která umožňuje identifikaci neznámých tablet podle mnoha hledisek (obrázek 1). V ČR byla vyvinuta databáze EPL (Elektronická publikace léčiv, více informací zde: <http://www.tablety.zaridi.to/EPL.pdf>) a volně dostupná webová aplikace Tabletovník (<http://www.tablety.zaridi.to/>). Z uvedeného je patrné, že barvení může přinést významný bezpečnostní benefit při léčbě (což se týká především nejčastější lékové formy – tablet).

Zvýšení **stability přípravku** je dalším benefitem, který může barvivo poskytovat. Některá nerozpustná barviva jsou schopna vytvořit neprůsvitnou vrstvu, a tak chránit léčivo před světlem a UV zářením. Týká se to především obalování tobolek, ale i některých druhů tablet s obsahem světlo-labilních léčiv. Příkladem barviv, která lze tímto způsobem využít, jsou oxidy železa, oxid titaničitý a některé aluminiové laky (1, 8).

**Marketing:** Speciálně zabarvené léčivé přípravky se mohou díky své barvě těšit větší oblibě u pacientů, to může pomoci např. při výběru OTC léku v lékárně. Zde je na místě připomenout roli zdravotnických profesionálů, kteří by měli dbát, aby byl pacient léčen vhodným, nikoli pouze esteticky přitažlivým přípravkem.

### Typy barviv

**Barviva** jsou intenzivně zbarvené látky, schopné vybarvovat substrát (9). Barviva lze dělit podle několika hledisek: původ, rozpustnost a krycí schopnost. Tyto kategorie se do značné míry překrývají:

- podle rozpustnosti: rozpustná a nerozpustná,
- podle původu: přírodní, přírodně identická a syntetická nebo anorganická a organická,
- podle krycí schopnosti: transparentní a krycí.

**Barviva v daném prostředí rozpustná** lze dále dělit na barviva přírodní, polosyntetická a syntetická. Barviva přírodního původu jsou získávána z potravinářských surovin nebo jiných přírodních materiálů. Patří sem například riboflavin (E 101), chlorofyly (E 140), karoteny (E 160a), betalainy (E 162), anthokyany (E 163) apod. Organická barviva přírodního původu jsou málo stabilní a mohou se vyznačovat vlastní fyziologickou aktivitou. Přírodně identická barviva jsou po chemické stránce stejná jako přírodní, ale vyrábí se chemickou cestou. Syntetická barviva se vyrábí chemickou syntézou a v přírodních materiálech se nevyskytují. Syntetická barviva se původně vyráběla z uhelného dehtu. Nyní se získávají z vysoce přečištěných ropných produktů. Skupinu syntetických organických barviv tvoří azobarviva, xantanová, chinilínová a antrachinonová barviva, která mají obecně intenzivnější barvu než barviva přírodní, vyznačují se stálým odstínem barvy, nevznášejí do produktu charakteristické vůně a chuti a jsou obecně stabilnější (2).

**Barviva krycí – nerozpustná** se dělí na pigmenty a laky. **Pigmenty** jsou anorganické netoxické barevné látky, nerozpustné v běžných

rozpouštědlech. Jsou stabilní a mají dobrou krycí schopnost. Mohou být anorganického i organického původu. Patří sem například bílý dioxid titaničitý, uhličitán vápenatý, červený oxid železnatý, adsorpční uhlí. **Laky** jsou nerozpustné komplexní soli ve vodě rozpustných aniontových organických barviv, získávají se jejich srážením ionty hliníku, vápníku nebo hořčíku (organické pigmenty) (9). Forma laku je dostupná u mnoha používaných syntetických barviv, která jsou ale v jiné formě rozpustná. Následující text hodnotí vždy rozpustné formy příslušných barviv vzhledem k tomu, že toxicita nerozpustných laků je nepravděpodobná a jejich používání omezuje především přítomnost atomů kovů, např. hliníku.

### Regulační opatření

Barviva používaná ve farmaceutickém průmyslu jsou totožná s barvivy používanými v potravinářském průmyslu. Každá přídatná látka, která má být schválena pro použití do potravin, musí projít přísným hodnocením zdravotní nezávadnosti.

Již v roce 1962 bylo ustanoveno mezinárodní seskupení pro vytváření mezinárodních standardů potravin, tzv. Codex Alimentarius (CA), za jehož vznikem stály Organizace pro potravinu a zemědělství (FAO) a Světová zdravotnická organizace (WHO). V rámci Codex Alimentarius pracuje výbor – Codex Committee on Food Additives and Contaminants (CCFAC), který se speciálně zabývá přídatnými látkami a kontaminanty a vydává doporučení pro používání jednotlivých přídatných látek v potravinách.

Codex Alimentarius a organizace WHO/FAO (Health Organisation a Food and Agriculture Organisation) vypracovaly všeobecnou normu pro potravinářská aditiva, tzv. General Standards on Food Additives (GSFA). Účelem této normy je vypracování a harmonizace mezinárodních pravidel týkajících se aditiv použitelných v rámci světového obchodu s potravinami.

Přídatné látky používané na území EU musí být nejprve přehodnoceny Evropským úřadem pro bezpečnost potravin European Food Safety Authority (EFSA) při Evropské komisi. Stanoviska EFSA vychází z doporučení CCFAC a v podstatě je respektují. EFSA na základě žádosti Evropské komise publikuje ve svém odborném časopise oficiální odborné stanovisko („scientific opinion“) na toxicitu daného barviva a způsob jeho použití, který se vypracovává standardním procesem (detailní informace jsou dostupné na webových stránkách EFSA: <http://www.efsa.europa.eu>).

Obsahem Vědeckého názoru EFSA je technická a chemická specifikace daného barviva, popis

výrobního procesu, analytické metody používané pro stanovení obsahu, chemická reaktivita s potravou, souhrnné informace o současné autorizaci použití, rozsah povolených dávek, farmakokineticke informace (absorpce, distribuce, metabolismus a exkrece), toxikologické údaje, jako je akutní perorální toxicita, subchronická a chronická toxicita, kancerogenita, genotoxicita, vývojová a reprodukční toxicita a hypersenzitivita na látku.

Po souhlasu a celkovém zhodnocení bezpečnosti látky vydává Evropská komise směrnice. Aktuální platná směrnice ze dne 30. 6. 1994 – 94/36/ES o barvivech pro použití v potravinách obsahuje jako přílohu č. I Seznam povolených potravinářských barviv, přílohu č. II Seznam potravin které se nesmějí barvit, přílohu č. III Seznam potravin, ke kterým mohou být přidávána pouze určitá povolená barviva a přílohu č. IV Barviva povolená výhradně pro určité účely.

Transpozicí této direktivy 94/36/EC do právních předpisů České republiky je vyhláška MZ ČR č. 298/1997 Sb., kterou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin, podmínky jejich použití, jejich označování na obalech, požadavky na čistotu a identitu přídatných látek a potravních doplňků a mikrobiologické požadavky na potravní doplňky a látky přídatné. Barviva povolená pro použití v léčivých přípravcích upravuje vyhláška č. 228/2008 Sb., o registraci léčivých přípravků.

### Ukazatele toxicity přídatných látek

Povolení používání barviv jak v potravinářském, tak farmaceutickém průmyslu podléhá celé řadě zdravotních zkoušek, jako je zjištění akutní toxicity (LD-50), subchronické a chronické toxicity, kancerogenity, mutagenity, teratogenity, kumulace v organismu, bioenergetické účinky, vliv na imunitu a striktních legislativních opatření (10). Celý proces kontroluje v Evropě Evropská léková agentura (European Medicines Agency, EMA) a ve Spojených státech Úřad pro potraviny a léčiva (Food and Drug Administration, FDA). Na úrovni jednotlivých členských států EU to jsou analogické státní agentury a úřady, v ČR tuto roli zastává Státní ústav kontroly léčiv (SÚKL) a Ústav státní kontroly veterinárních biopreparátů a léčiv (ÚSKVBL).

Dostupná toxikologická data se posoudí a následně se provedou pozorování na živočišných druzích. Toxicita látky se sleduje na šesti modelech, z toho musí být minimálně tři druhy savců. K toxikologickým testům se využívají většinou drobní hlodavci (myš, potkan, králík), ale i speciálně vyšlechtěná prasata, která představují model velmi blízký

lidskému organismu. Za pomoci vícegeneračních studií a studií zaměřených na sledování příjmu potravy během života, se stanoví maximální přípustná hladina aditiva, která nemá změřitelný toxický efekt – tzv. **NOAEL** (No-Observed-Adverse-Effect Level). Je to množství aditiva, které nezpůsobí žádnou zdravotní újmu při dlouhodobém podávání pokusným zvířatům v kronné dávce. Tato hodnota se přepočte na hodnotu relevantní pro člověka. V dalším kroku hodnocení se hodnota NOAEL vydělí bezpečnostním faktorem, který má většinou hodnotu 100 (v případě toxické látky se závažnými účinky je bezpečnostní faktor tisícinásobný). Díky tomuto faktoru se vezmou v úvahu rozdíly při extrapolaci zvířecího modelu na člověka a individuální rozdíly v lidské populaci v reakci na aditivum. Tato hodnota se nazývá Přijatelná denní dávka – **ADI** (Acceptable Daily Intake). Hodnota ADI udává množství potravinového aditiva, které může být denně v průběhu celého života zkonsumováno, aniž by představovalo riziko pro zdraví spotřebitele. Aby se zajistilo, že ADI nebude překročena i když budou lidé konzumovat výrobky obsahující určité aditivum v množství překračujícím průměrnou spotřebu, berou se v úvahu také specifika ve stravovacích zvyklostech určitých skupin spotřebitelů, např. děti, vegetariáni atp.

Hodnota ADI je množství látky (v mg látky na kg tělesné hmotnosti), které můžeme v potravinách konzumovat bez jakéhokoli zdravotního rizika denně a po celý život. To znamená, že ADI nepředstavuje hladinu toxicity, ale hladinu bezpečného příjmu příslušné látky. Hodnoty ADI pro jednotlivé přídatné látky jsou porovnávány s jejich odhadovanou spotřebou. Aby bylo zajištěno, že ADI nebude překročena, i když lidé budou konzumovat výrobky obsahující určité aditivum v množství překračujícím průměrnou spotřebu, legislativa vyžaduje brát v úvahu studie sledující změny a specifika ve stravovacích zvyklostech a pružně reagovat změnou ADI. Hodnoty právem stanovené samozřejmě nemohou riziko možné nepříznivé reakce na určitou látku vyloučit zcela, zejména ve vztahu k zvláště citlivým osobám. Přesto i v takovýchto případech by nemělo docházet k ohrožení života osoby, pouze snad tehdy, kdy je pro výrobu aditiva využito přírodního zdroje, který patří mezi alergeny. Vzhledem k tomu, že schvalování přídatných látek se odvíjí od úrovně dosaženého vědeckého poznání v daném čase, je nutné sledovat vědecký vývoj a zohledňovat nové vědecké informace při hodnocení podmínek používání přídatných látek. Z toho důvodu mj. probíhá v každém členském státě monitoring spotřeby a používání přídatných látek, z jehož zjištění sestavuje Komise souhrnnou zprávu pro EU

a vyvozuje důsledky pro další období zaměření monitoringu. Monitoring spotřeby přídatných látek v ČR zajišťuje Státní zdravotní ústav.

Uvádět do oběhu nebo používat při výrobě potravin lze pouze ty látky, které jsou uvedeny v seznamu, který tvoří přílohu 4 vyhlášky č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin. Zařazení nové přídatné látky do seznamu evropského, a tudíž i národního, předchází přísné hodnocení její zdravotní nezávadnosti, které zastřešuje EFSA.

Na základě opatření, které vydal Codex Alimentarius ke značení potravin, vznikla potřeba identifikovat potravinářská aditiva. CCFA vytvořil mezinárodní systém číslování (International Numbering System, INS), který umožňuje identifikaci potravinářských aditiv na seznamu přísad pomocí čísla, které nahrazuje specifický název aditiva, který je často dlouhý, neboť popisuje komplexní chemickou strukturu. V rámci Evropské unie byl zaveden pro identifikaci potravinářských aditiv systém E-kódů. **Číselný kód E** je kód (číslo), pod kterým je přídatná látka označována mezinárodně. Číselný kód E je složen z písmene E a trojmístného čísla. Barviva obsahující číselný kód E jsou látky, u kterých byla prokázána zdravotní nezávadnost.

FDA dělí barviva na certifikovaná pro použití v potravinách a léčicích (syntetické látky) a barviva osvobozená od nutnosti certifikace (přírodní a přírodně identické látky). Zatímco certifikovaná barviva jsou rozsáhle hodnocena (i z důvodu přísné regulace), osvobozené látky jsou sice přírodního původu, ale jejich toxikologie není v mnoha případech dostatečně prozkoumána a jejich případné toxické účinky jsou do značné míry neznámé. Jejich bezpečnost je nejčastěji prokazována pouze dlouhou historií používání (10).

V poslední době je věnována toxicitě aditiv používaných v potravinách a léčivech stále větší pozornost a Evropská komise vydala v roce 2008 nařízení č. 1333, kterým stanovila, že toxicita všech potravinových aditiv hodnocená před 20. 1. 2009 musí být přehodnocena EFSA. Program byl zahájen 25. 3. 2010 nařízením č. 257/2010 a většina syntetických barviv již byla takto přehodnocena.

### Hodnocení toxicity syntetických barviv používaných v léčivých přípravcích

Následující látky patří mezi barviva povolená v ČR pro použití v léčivých přípravcích. Z celého seznamu, který obsahuje asi 70 substancí, jsou vybrána pouze syntetická barviva, tedy jsou vynechána přírodní, přírodně-identická barviva

a anorganické pigmenty (9). Všechna popisovaná barviva jsou dostupná i ve formě nerozpustných aluminiových (hlinitých) laků. U všech těchto látek je nutné vzít v úvahu potenciální toxicitu plynoucí z obsahu hliníku v molekule. Při stanovování limitů je nutno zabezpečit, aby nedošlo k překročení maximální bezpečné dávky hliníku, což odpovídá 1 mg/kg tělesné hmotnosti za týden (11–24).

#### E 102 TARTRAZINUM, Tartrazin

Popis: Žluté aniontové monoazobarvivo rozpustné ve vodě.

Toxicita tartrazinu byla od jeho zavedení v roce 1966 opakovaně hodnocena několika expertními panely, které došly opakovaně k závěru, že tato látka je bezpečná při dávce ADI do 7,5 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Dosud poslední hodnocení toxicity tartrazinu EFSA bylo zveřejněno v roce 2009 a jeho obsahem je mimo jiné analýza do té doby publikovaných dat. Ta naznačují, že barvivo má v experimentálním myším in vivo modelu přímý vliv na migraci jaderné DNA (25). Odborné stanovisko EFSA shrnuje, že ačkoli se při těchto dávkách mohou vyskytovat u citlivých jedinců ojedinělé reakce přecitlivělosti, na základě těchto dat neexistuje důvod pro přehodnocení ADI (16).

V poslední době byly zveřejněny další studie, které upozorňují na rizika spojená s příjmem tartrazinu. Existují data, která potvrzují, že toto barvivo působí jako aktivátor estrogenových receptorů (xenoestrogen). Vzhledem k cholestatickému působení estrogenů tak vzniká podezření, že tartrazin může při chronickém příjmu zvyšovat riziko primární biliární cirhózy u postmenopauzálních žen, u nichž se na pozadí úbytku přirozených hormonů projeví jeho estrogení aktivita (26). Další in vitro studie, která hodnotila genotoxicitu, cytotoxicitu a cytostatický potenciál tartrazinu, zaznamenala poškození lidských lymfocytů a přímou vazbu této látky na DNA (cytotoxický účinek), aniž by zjistila známky genotoxicity (27). Další studie zaznamenala vazbu tartrazinu na humánní i bovinní sérový albumin a formaci komplexu, která může omezovat fyziologické funkce těchto proteinů (28). Tartrazin byl rovněž hodnocen v klinické studii jako součást směsi barviv, viz dále (29).

Vzhledem k rozšiřujícím se poznatkům o toxicitě tartrazinu a jejich mechanismů bude zřejmě nutné v budoucnu přistoupit k dalšímu oficiálnímu přehodnocení a vydání nových limitů pro používání tohoto barviva v potravinách a léčivech.

#### E 104 FLAVUM QUINOLINI, Chinolinová žlut'

Popis: Žluté aniontové chinofthalonové barvivo rozpustné ve vodě.

Toxicita chinolinové žlutí byla opakovaně hodnocena (1975, 1978 a 1984) několika expertními panely, které došly k závěru, že tato látka je bezpečná při dávce ADI do 10 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Později bylo zjištěno, že chinolinová žlut' vykazuje v in vitro experimentu se dvěma různými lidskými buněčnými modely mírné genotoxické vlastnosti (30). Rovněž byla prokázána schopnost tohoto barviva inhibovat cholinesterázu v erythrocytech i plazmatickou pseudocholinesterázu. Vazba na enzym byla odstranitelná dialýzou, což indikuje reverzibilitu vazby (31). Soubor těchto údajů vedl k přehodnocení toxicity a ADI tohoto barviva EFSA v roce 2009. Panel dospěl na základě dostupných dat o semichronické, reprodukční, vývojové a dlouhodobé toxicitě barviva k rozhodnutí doporučit významné snížení ADI na 0,5 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Odborné stanovisko EFSA navíc upozorňuje, že i při těchto snížených dávkách se mohou u citlivých jedinců vyskytovat reakce přecitlivělosti (14). Chinolinová žlut' byla rovněž hodnocena v klinické studii jako součást směsi barviv, viz dále (29).

#### E 110 FLAVUM ORANGEATUM, Oranžová žlut'

Popis: Oranžové aniontové monoazobarvivo rozpustné ve vodě.

Toxicita oranžové žlutí byla hodnocena v letech 1982 a 1984 několika expertními panely, které došly k závěru, že tato látka je bezpečná při dávce ADI do 2,5 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Nedávná experimentální data ukazují, že toto barvivo působí podobně jako tartrazin xenoestrogeně. Vzhledem k cholestatickému působení estrogenů tak vzniká podezření, že tato barviva mohou při chronickém příjmu zvyšovat riziko primární biliární cirhózy u postmenopauzálních žen, u nichž se na pozadí úbytku přirozených hormonů projeví jeho estrogení aktivita (26). Dále byla obdobně jako u chinolinové žlutí prokázána schopnost reverzibilní inhibice cholinesterázy v erythrocytech a plazmatické pseudocholinesterázy (31). V roce 2009 byla toxicita oranžové žlutí hodnocena EFSA. Panel konstatoval nízkou vstřebatelnost ze střeva a pravděpodobnou destrukci molekuly azoredukčními reakcemi na sulfonované aromatické aminy, které nevykazují genotoxickou aktivitu. V experimentu na myších in vivo nebylo zaznamenáno poškození DNA ani při dávkách do 2000 mg/kg (25). V dalších studiích oranžové žlutí na experimentálních hlodavcích bylo zaznamenáno zmenšení velikosti varlat (32) a změnu lipidového profilu (33). Obě tyto studie pracovaly s dávkami nižšími, než byly ty, které byly ve starších hodnoceních použity pro

odvození ADI. Slabinou těchto studií je kvalita použité substance. Oranžová žlut' byla získána na indickém trhu a její čistota nebyla řádně definována. Na základě těchto údajů dospěl panel k rozhodnutí snížit ADI na 1 mg/kg tělesné hmotnosti denně a omezit jeho platnost na dobu dvou let (15).

V době platnosti tohoto dočasného opatření byla provedena studie hodnotící reálnou spotřebu oranžové žlutí jako složky potravin na základě údajů sesbíraných na základě dohody se švýcarským řetězcem supermarketů Migros. Studie zjistila, že 99 % konzumentů má nižší příjem barviva, než 1 mg/kg tělesné hmotnosti denně (34). Tyto údaje byly analyzovány a potvrzeny v rámci přehodnocení expozice populace oranžové žlutí publikovaného EFSA po uplynutí doby platnosti nového limitu v roce 2011 (22).

#### E 122 AZORUBINUM, Azorubin

Popis: Červené aniontové monoazobarvivo rozpustné ve vodě, rovněž známé jako karmoisin.

Toxicita azorubinu byla hodnocena v letech 1983 a 1984 několika expertními panely, které došly k závěru, že tato látka je bezpečná při dávce ADI do 4 mg/kg tělesné hmotnosti denně. V dalších studiích nebyly prokázány interakce s ostatními barvivy či zvýšení toxicity na úrovni žádného z cílových orgánů (35). Další studie zjistila alterace v morfologii somatických chromozomů buněk žita vyvolané azorubinem in vitro (36). Vzhledem k tomu, že tato metodologie nepatří mezi standardní a žádná další studie tento efekt nepotvrdila, přiklonil se panel EFSA při hodnocení v roce 2009 k názoru, že riziko genotoxicity je zanedbatelné. Dále konstatoval, že přestože se mohou u přecitlivělých jedinců vzácně vyskytovat kožní a dýchací reakce i při schválených dávkách, neexistuje důkaz, který by vyžadoval změnu ADI (13). Azorubin byl rovněž hodnocen v klinické studii jako součást směsi barviv, viz dále (29).

#### E 124 RUBOR PONCEAU, Ponceau 4R

Popis: Červené aniontové monoazobarvivo rozpustné ve vodě, rovněž známé pod názvem červeně ponceau či košenilová červeně A.

Toxicita ponceau 4R byla hodnocena v letech 1983 a 1984 několika expertními panely, které došly k závěru, že tato látka je bezpečná při dávce ADI do 4 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Kromě toho studie hodnotící reprodukční a neurobehaviorální toxicitu ponceau 4R u myší zaznamenala při předpokládané dávce nezpůsobující nežádoucí účinky (ve výši 0,12 % v dietě, odpovídá přibližně 205 mg/kg tělesné hmotnosti denně) deficit v učení u samců v první

generaci. Limitem studie byla nekonzistence zjištění u samic a nízký počet experimentálních zvířat ve skupinách (37).

Další studie hodnotící poškození DNA různými dávkami ponceau 4R metodou „comet assay“ u myši zjistila signifikantní zvýšení poškození jaderné DNA v několika orgánech. Nicméně uzavírá, že tato zjištění patrně nesouvisí s obecnou cytotoxicitou (38). EFSA panel považoval tyto výsledky za závažné a doporučil další výzkum v této oblasti. Na základě souboru všech uvedených údajů a faktu, že skutečný příjem ponceau 4R v populaci je obecně vyšší než ADI, dospěl EFSA panel k závěru, že existuje důkaz pro odvození nové hodnoty ADI ve výši 0,7 mg/kg tělesné hmotnosti denně (17). Ponceau 4R byla rovněž hodnocena v klinické studii jako součást směsi barviv, viz dále (29).

#### **E 127 ERYTHROSINUM NATRICUM, Erythrosin**

Popis: Červené xanthenové barvivo, rozpustné ve vodě.

Toxicita erythrosinu byla hodnocena v letech 1984 a 1989 dvěma expertními panely, které došly k závěru, že tato látka je bezpečná při dávce ADI do 0,1 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Aktuální data hodnotící reálnou spotřebu v evropské populaci uvádějí, že průměrná spotřeba odpovídá 0,0031 mg/kg tělesné hmotnosti denně (95% percentil populace 0,01 mg/kg tělesné hmotnosti denně) a tyto hodnoty jsou řádově menší než limit ADI (erythrosin se v potravinářství používá pouze velice omezeně, a to k barvení kandovaných třešní). Farmakokinetická data potvrzují, že erythrosin se ze zažívacího traktu vstřebává pouze asi z 1 %.

Vzhledem k tomu, že molekula erythrosinu obsahuje čtyři atomy jodu, existuje potenciální riziko negativního vlivu tohoto barviva na funkci štítné žlázy. V experimentu hodnotícím reprodukční toxicitu na potkanech bylo zjištěno, že erythrosin ovlivňuje konverzi T4 na T3, a tak zvyšuje vyplavování TRH z hypofýzy. Tímto mechanismem u potkanů přispívá ke vzniku nádorů štítné žlázy (39). Klinická studie na třiceti zdravých dobrovolnících (mužích) hodnotila funkci štítné žlázy při subchronickém podávání tří dávek erythrosinu (20, 60 a 200 mg/kg po dobu 14 dní). V závislosti na dávce bylo zaznamenáno zvýšení celkové plazmatické hladiny jodidů a zvýšené vylučování jódu. K signifikantnímu zvýšení hladin TSH došlo až u nejvyšší použité dávky. Tyto výsledky ukazují, že zvýšení hladin TSH souvisí spíše s vyšší hladinou jodidů v plazmě než s přímým vlivem erythrosinu na sekreci tyreoidálních hormonů nebo periferní me-

tabolismus (40). Nejnižší dávka použitá v této studii je asi trojnásobek aktuálního limitu ADI.

In vitro byl stejně jako u tartrazinu zaznamenán toxický potenciál erythrosinu poškozuující lidské lymfocyty a přímou vazbu této látky na DNA (cytotoxický účinek) bez známek genotoxicity (27).

Nedávno publikované odborné stanovisko EFSA uvádí, že v animálních modelech zaznamenaná tyreoidální toxicita má pouze limitovanou validitu při přenosu do humánní praxe vzhledem k řádově nižším dávkám, kterým je evropská populace vystavena. Jiná může být situace ve Spojených státech, kde se erythrosin používá v mnohem širším spektru potravin. Panel uzavírá, že neexistují vědecky podložené důvody pro změnu současné hodnoty ADI, a upozorňuje, že i při povolených dávkách se mohou u citlivých jedinců vyskytovat reakce přecitlivělosti (23).

#### **E 129 RUBOR ALLURA, Červeň allura**

Popis: Červené aniontové monoazobarvivo rozpustné ve vodě.

Toxicita červeně allura byla hodnocena v letech 1980, 1984 a 1989 dvěma expertními panely, které došly k závěru, že tato látka je bezpečná při dávce ADI do 7 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Studie hodnotící poškození DNA různými dávkami červeně allura metodou „comet assay“ u myši zjistila signifikantní zvýšení poškození jaderné DNA v několika orgánech (38). EFSA panel považoval tyto výsledky za závažné a doporučil další výzkum v této oblasti. Odborné stanovisko EFSA uvádí, že v souvislosti s příjmem červeně allura byly zaznamenány alergické reakce (kopřivka, astmatické obtíže apod.), a to především v případech, kdy byla podávána směs syntetických barviv. Panel nicméně uzavírá, že v současné době neexistuje důvod pro doporučení změny limitu ADI (12), mimo jiné také proto, že skutečná expozice evropské populace zdaleka nedosahuje oficiálního limitu (0,4 až 0,6 mg denně u 95% percentilu) (41). Červeň allura byla rovněž hodnocena v klinické studii jako součást směsi barviv, viz dále (29).

#### **E 131 CERULEUM PROTECTUM, Patentní modř**

Popis: Modré aniontové trifenylmethanové barvivo rozpustné ve vodě.

Hodnocení toxicity patentní modři proběhla v letech 1970, 1975, 1983 a 1987 odpovídajícími expertními panely, hodnota ADI byla stanovena až v roce 1970 na 0–1 mg/kg tělesné hmotnosti denně, ale toto stanovisko bylo odvoláno při přehodnocení o pět let později. Od té doby ne-

byla hodnota znovu stanovena konsenzuálně, některé panely uváděly hodnotu do 15 mg/kg. EFSA v březnu 2013 publikovala odborné stanovisko založené na čerstvých vědeckých údajích, kde dospěla k závěru, že existují vědecké podklady pro novou definici ADI – do 5 mg/kg tělesné hmotnosti denně. K tomuto rozhodnutí přispěl i fakt, že největší pravděpodobnost vyššího příjmu tohoto barviva je možné očekávat u batolat a dětí díky obsahu tohoto barviva v kysaných mléčných produktech, pečivu a šťávách (24).

#### **E 132 INDIGOCARMINUM, Indigokarmin**

Popis: Modré aniontové pyrrolové (indigo-idní) barvivo rozpustné ve vodě.

Poslední hodnocení toxicity indigokarminu proběhlo v roce 1974 expertním panelem WHO a hodnota ADI byla stanovena na 5 mg/kg tělesné hmotnosti denně. EFSA se v současné době zabývá sběrem dat o toxicitě tohoto barviva a 26. ledna 2011 publikovala na svých webových stránkách výzvu k zasílání vědeckých údajů o toxicitě modři (<http://www.efsa.europa.eu/en/dataclosed/call/ans110126.htm>). Sběr byl ukončen 30. září 2011, oficiální stanovisko však nebylo dosud zveřejněno.

#### **E 133 CERULEUM NITENS, Brilantní modř**

Popis: Modré aniontové trifenylmethanové barvivo rozpustné ve vodě.

Toxicita brilantní modři byla hodnocena v letech 1970 a 1975 dvěma expertními panely, které došly k závěru, že tato látka je bezpečná při dávce ADI do 12,5 mg/kg tělesné hmotnosti denně. V roce 1984 byla revidována dostupná data z dlouhodobých studií a hodnota ADI upravena na 10 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Farmakokinetická data potvrzují, že brilantní modř se špatně vstřebává ze zažívacího traktu a většina se jí vylučuje v nezměněné formě stolicí. Nejnižší bezpečná dávka modři byla zjištěna ve studii chronické a reprodukční toxicity na laboratorních potkanech. Tato dávka odpovídala 631 mg/kg tělesné hmotnosti denně (42). Na tomto základě odvodil EFSA panel nový limit ADI ve výši 6 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Tato hodnota přibližně odpovídá zaznamenanému skutečnému příjmu v evropské populaci. Odborné stanovisko EFSA upozorňuje, že i při těchto snížených dávkách se mohou u citlivých jedinců vyskytovat reakce přecitlivělosti (20).

#### **E 142 VIRIDE S, Brilantní zeleň**

Popis: Zelené aniontové triarylmethanové barvivo rozpustné ve vodě.

Toxicita brilantní zeleni byla hodnocena v letech 1970 expertním panelem, který došel

k závěru, že tato látka je bezpečná při dávce ADI do 25 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Již v roce 1975 ale rozhodnutí odvolal a zeleň neměla stanovenou hodnotu ADI až do roku 1984, kdy byla revidována dostupná data a hodnota ADI stanovena na 5 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Farmakokinetická data ukazují, že brilantní zeleň se špatně vstřebává ze zažívacího traktu a většina se jí vylučuje v nezměněné formě stolici. Dosud nebyla hlášena alergická reakce nebo přecitlivělost na toto barvivo. Kancerogenita nebyla zaznamenána, ale chybějí adekvátní údaje hodnotící genotoxicitu. Odborné stanovisko EFSA uvádí, že nedostatek informací o genotoxicitě vyvažuje rozsáhlá evidence ze studií kancerogenity a uzavírá, že neexistují vědecky podložené důvody pro změnu současné hodnoty ADI. Panel dále upozorňuje, že i při povolených dávkách se mohou u citlivých jedinců vyskytovat reakce přecitlivělosti (ačkoli nebyly dosud zaznamenány) (21).

#### E 155 FUSCUM HT, Hněď HT

Popis: Hnědé aniontové diazobarvivo rozpustné ve vodě.

Toxicita hnědi HT byla opakovaně hodnocena různými expertními panely (1975, 1977 a 1984), které definovaly dvě možné hodnoty ADI: 1,5 a 3 mg/kg tělesné hmotnosti denně, přičemž v EU platí nižší hodnota. Přestože byly publikovány další studie hodnotící toxicitu tohoto barviva, žádná neposkytla údaje, které by vyžadovaly úpravu povolených limitů. Rovněž nebyla dosud hlášena alergická reakce nebo přecitlivělost na hněď HT. Aktuální odborné stanovisko EFSA potvrzuje, že neexistují vědecky podložené důvody pro změnu ADI. Panel dále upozorňuje, že i při povolených dávkách se mohou u citlivých jedinců vyskytovat reakce přecitlivělosti (ačkoli nebyly dosud zaznamenány) (18).

#### E 151 NIGRUM NITENS, Brilantní čern

Popis: Černé aniontové diazobarvivo rozpustné ve vodě.

Toxicita brilantní černi byla postupně hodnocena několika expertními panely, a to v roce 1975, kdy byla stanovena hodnota ADI 1 mg/kg tělesné hmotnosti denně, dále v letech 1978 a nakonec 1984, kdy byla stanovena hodnota ADI 5 mg/kg tělesné hmotnosti denně. V relativně nedávné studii bylo zjištěno, že brilantní čern vykazuje v podmínkách in vitro se dvěma různými lidskými buněčnými modely mírné genotoxické vlastnosti (30). Panel EFSA, který přehodnotil dostupná data v roce 2010, však dospěl k závěru, že neexistují vědecké důkazy, které by vyžadovaly změnu současné hodnoty ADI, i vzhledem k to-

mu, že skutečná konzumace v populaci tohoto limitu nedosahuje. Panel opět upozorňuje, že i při povolených dávkách se mohou u citlivých jedinců vyskytovat reakce přecitlivělosti (19).

#### Směsi syntetických barviv

V roce 2007 byly publikovány výsledky rozsáhlé dvojité zaslepené placebem kontrolované klinické studie používající směsné nápoje obsahující syntetická barviva. Studie používala u tříletých dětí dva směsné nápoje: nápoj A obsahoval: 5 mg oranžové žluti, 7,5 mg tartrazinu, 2,5 mg azorubinu a 5 mg ponceau 4R, nápoj B obsahoval: 7,5 mg oranžové žluti, 7,5 mg chinolinové žluti, 7,5 mg azorubinu a 7,5 mg červeně allura. U skupiny osmi až devítiletých dětí byly dávky barviv v nápoji A zvýšeny na 1,25 násobek v souladu s vyšším příjmem potravy u starších dětí. Dávky barviv v nápoji B byly u starších dětí zvýšeny na 15,6 mg oranžové žluti, 15,6 mg chinolinové žluti, 15,6 mg azorubinu a 15,6 mg červeně allura. Všechny nápoje byly stabilizovány 45 mg benzoátu sodného. Dávky použité u tříletých dětí odpovídaly přibližně dávce barviv ve dvou 56 g sáčcích cukrovinek denně, u starších dětí pak nápoj A odpovídal dvěma a nápoj B čtyřem balíčkům denně. V rámci studie děti konzumovaly tyto nápoje, případně placebo po dobu několika týdnů (v různých kombinacích).

Bylo zjištěno, že příjem obou směsí ve stanoveném dávkování vedly u sledovaných skupin tříletých (137 účastníků) a osmi až devítiletých dětí (130 účastníků) ke zvýšení ukazatelů hyperaktivity ve srovnání s výsledky v běžné věkové odpovídající populaci. Autoři přiznávají četná omezení této studie, kterou lze považovat spíše za pilotní a EFSA hodnocení sice berou její výsledky v úvahu, ale vzhledem k nedostatku údajů zatím používání těchto barviv dále neomezuje. Studie je významná především unikátním hodnocením směsí spíše, než jednotlivých barviv, což lépe odpovídá skutečné situaci (29). EFSA zpracovala rozsáhlou analýzu této práce a dospěla k závěru, že na základě těchto dat nelze přistoupit k revizi současných ADI. Mezi hlavní omezení studie Panel EFSA uvádí: studie sledovala směsi, nikoli samostatná barviva; dosud neověřená validita použitého inovativního behaviorálního skórování; malá velikost vzorku; absence informací o vztahu dávky a účinku a absence navržení možného biologického mechanismu indukce behaviorálních změn v důsledku konzumace barviv (11).

#### Závěr: jsou barviva toxická?

Toxicita potravinových barviv je nejčastěji uváděna v souvislosti s poruchami chování u dětí a respiračními onemocněními.

#### Potravinová barviva a jejich vliv na chování dětí

V poslední době se objevuje obava, že potravinová barviva mohou přispívat k rozvoji hyperkinetické poruchy (ADHD, attention deficit hyperactivity disorder) u dětí. V roce 2004 byla zpracována metaanalýza dosud publikovaných studií zkoumajících vztah ADHD a barviv, která rovněž neposkytla jasné důkazy a uzavírá, že problém se může týkat pouze určité skupiny respondérů a v současné době není možné vydat jasné klinické doporučení (43). V roce 2007 byla publikována rozsáhlá klinická studie hodnotící vliv dvou směsí syntetických barviv na rozvoj ADHD u dětí ve věku tří a osmi až devíti let, která prokázala statisticky významnou souvislost mezi příjmem barviv a rozvojem ADHD (29). Možnosti interpretace výsledků této studie jsou ale závažně limitovány. Aktuální literatura se zabývá metodologickými problémy a pokouší se stanovit standardní testování ADHD (44). Zcela nová metaanalýza dochází ale k analogickým závěrům jako práce z roku 2004: studie neposkytují dostatečně silné důkazy z důvodu velké variability výsledků nedostatečného počtu zkoumaných subjektů, nicméně zaznamenává, že přibližně u 8 % dětí s ADHD se při omezení množství barviv ve stravě zaznamená zlepšení klinického stavu (45). Na základě všech těchto údajů zvažuje EFSA panel a nezávisle i FDA (46) zpracování příslušných studií a podrobné analýzy tohoto fenoménu.

#### Potravinová barviva a jejich vliv na respirační systém

V posledních dekáдах byl zaznamenán nárůst výskytu alergií a astmatu. Tento fenomén dosud nebyl uspokojivě vysvětlen. Kromě známé hygienické teorie (příliš čisté prostředí vede ke snížení obranyschopnosti organismu) byly zkoumány i faktory užívání antioxidačních doplňků stravy, potravinových konzervantů a barviv. Přehledová práce analyzující současné vědecké poznatky uzavírá, že situace je dosud nejasná a epidemiologické studie samy o sobě nedostatečné pro zhodnocení této problematiky (47).

#### Shrnutí

Toxicita barviv používaných v malých množstvích je velmi obtížně hodnotitelná. Vzhledem k množství dostupných literárních zdrojů a provedených klinických studií je nepravděpodobné, že tyto látky významně ovlivňují zdravotní stav populace. Je však nutno zmínit, že většina dobře interpretovatelných a validních studií hodnotí příjem jednotlivých barviv a ne jejich směsí, což je v praxi častější případ. Obecně lze říci, že zdra-

vý životní styl je spojen se střídavým příjmem potravin s větším obsahem konzervantů a barviv a s upřednostňováním čerstvých surovin. Máme-li hodnotit možný klinický vliv barviv obsažených v léčivých přípravcích, lze shrnout, že příjem barviv z tohoto zdroje je ve srovnání s potravinami zanedbatelný.

## Literatura

- Allam KV, Kumar GP. Colorants – the cosmetics for the pharmaceutical dosage forms. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2011; 3(Suppl 3): 9.
- Chalabala M. Technologie léků. Edice ed.: Galén, 2001: 408.
- Dobřila-Dintinjana R, Nacinovic-Duletic A. Placebo in the treatment of pain. *Coll Antropol*, Sep 2011; 35(Suppl 2): 319–323.
- Herman E, Praško J, Seiertová D. Konziliární psychiatrie. Edice ed. Praha: Medical Tribune CZ, s.r.o., 2007: 604.
- Meissner K, Bingle U, Colloca L, Wager TD, Watson A, Flaten MA. The placebo effect: advances from different methodological approaches. *J Neurosci*, 2011; 31(45): 16117–16124.
- Shenefelt PD. Psychodermatological disorders: recognition and treatment. *Int J Dermatol*, Nov 2011; 50(11): 1309–1322.
- Benedetti F, Carlino E, Pollo A. How placebos change the patient's brain. *Neuropsychopharmacology*, Jan 2011; 36(1): 339–354.
- Rowe RC. The opacity of tablet film coatings. *J Pharm Pharmacol*, Sep 1984; 36(9): 569–572.
- SÚKL. REG-40 Barviva povolena pro použití v léčivých přípravcích. Pokyn Státního ústavu pro kontrolu léčiv [Type of Work]. 2000, pp. 15. Available from Internet: <http://www.sukl.cz/leciva/reg-40>.
- Hallagan JB, Allen DC, Borzelleca JF. The safety and regulatory status of food, drug and cosmetics colour additives exempt from certification. *Food Chem Toxicol*, Jun 1995; 33(6): 515–528.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC) on a request from the Commission on the results of the study by McCann et al. (2007) on the effect of some colours and sodium benzoate on children's behaviour. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2008: 54.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion on the re-evaluation of Allura Red AC (E 129) as a food additive on request from the European Commission. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2009a; 7(11): 39.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion on the re-evaluation of Azorubine/Carmoisine (E 122) as a food additive on request from the European Commission. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2009b; 7(11): 40.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion on the re-evaluation of Quinoline Yellow (E 104) as a food additive. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2009c; 7(11): 40.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion on the re-evaluation of Sunset Yellow FCF (E 110) as a food additive on request from the European Commission. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2009d; 7(11): 44.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion on the re-evaluation of Tartrazine (E 102). *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2009e; 7(11): 52.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion on the re-evaluation of Ponceau 4R (E 124) as a food additive on request from the European Commission. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2009f; 7(11): 39.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion on the re-evaluation of Brown HT (E 155) as a food additive. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2010a; 8(4): 32.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion on the re-evaluation of Brilliant Black BN (E 151) as a food additive on request from the European Commission. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2010b; 8(4): 30.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion on the re-evaluation of Brilliant Blue FCF (E 133) as a food additive. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2010c; 8(11): 36.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion on the re-evaluation of Green S (E 142) as a food additive. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2010d; 8(11): 32.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Revised exposure assessment for Sunset Yellow FCF based on the proposed revised maximum permitted levels of use as a food additive. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2011a; 9(9): 10.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion on the re-evaluation of Erythrosine (E 127) as a food additive. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2011b; 9(1): 46.
- Efsa panel on food additives and nutrient sources added to food, E. Scientific Opinion on the re-evaluation of Patent Blue V (E 131) as a food additive. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal*, 2013; 3(11): 35.
- Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K, Tsuda S. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat Res*, Aug 26 2002; 519(1–2): 103–119.
- Axon A, May FE, Gaughan LE, Williams FM, Blain PG, Wright MC. Tartrazine and sunset yellow are xenoestrogens in a new screening assay to identify modulators of human oestrogen receptor transcriptional activity. *Toxicology*, Aug 16 2012; 298(1–3): 40–51.
- Mpountoukas P, Pantazaki A, Kostareli E, Christodoulou P, Karel D, Polliou S, Mourelatos C, Lambropoulou V, Lialiaris T. Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. *Food Chem Toxicol*, Oct 2010; 48(10): 2934–2944.
- Pan X, Qin P, Liu R, Wang J. Characterizing the Interaction between tartrazine and two serum albumins by a hybrid spectroscopic approach. *J Agric Food Chem*, 2011; 59(12): 6650–6656.
- McCann D, Barrett A, Cooper A, Crumpler D, Dalen L, Grimshaw K, Kitchin E, Lok K, Porteous L, Prince E, Sonuga-Barke E, Warner JO, Stevenson J. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, Nov 3 2007; 370(9598): 1560–1567.
- Macioszek VK, Kononowicz AK. The evaluation of the genotoxicity of two commonly used food colors: Quinoline Yellow (E 104) and Brilliant Black BN (E 151). *Cell Mol Biol Lett*, 2004; 9(1): 107–122.
- Osman MY, Sharaf IA, El-Rehim WM, El-Sharkawi AM. Synthetic organic hard capsule colouring agents: in vitro effect on human true and pseudo-cholinesterases. *Br J Biomed Sci*, 2002; 59(4): 212–217.
- Mathur N, Chaudhary V, Mehta M, Krishnatre R. Effect of Sunset Yellow on testis in rats. *J. Ecophysiol. Occup. Hlth.*, 2005b; 5: 1–3.
- Mathur N, Chaudhary V, Mehta M, Gupta S. Sunset Yellow Induced Changes in the Lipid Profile in Male Albino Rat Biochem. Cell. Arch., 2005a; 5(2): 3.
- Sardi M, Haldemann Y, Nordmann H, Bottex B, Safford B, Smith B, Tennant D, Howlett J, Jasti PR. Use of retailer fidelity card schemes in the assessment of food additive intake: Sunset Yellow a case study. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, Nov 2010; 27(11): 1507–1515.
- Groten JP, Butler W, Feron VJ, Kozianowski G, Renwick AG, Walker R. An analysis of the possibility for health implications of joint actions and interactions between food additives. *Regul Toxicol Pharmacol*, Feb 2000; 31(1): 77–91.
- Zaharia D, Pavel A. The influence of certain food additives on mitosis. In 4-th European Cytogenesis Conference. Iași: Dept Bioactive Substances and Medical Biotechnology, Faculty of Medical Bioengineering of medicine and Pharmacy, 2003.
- Tanaka T. Reproductive and neurobehavioural toxicity study of Ponceau 4R administered to mice in the diet. *Food Chem Toxicol*, Oct 2006; 44(10): 1651–1658.
- Tsuda S, Murakami M, Matsusaka N, Kano K, Taniguchi K, Sasaki YF. DNA damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice. *Toxicol Sci*, May 2001; 61(1): 92–99.
- Jennings AS, Schwartz SL, Balter NJ, Gardner D, Witorsch RJ. Effects of oral erythrosine (2', 4', 5', 7'-tetraiodofluorescein) on the pituitary-thyroid axis in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, May 1990; 103(3): 549–556.
- Gardner DF, Utiger RD, Schwartz SL, Witorsch P, Meyers B, Braverman LE, Witorsch RJ. Effects of oral erythrosine (2', 4', 5', 7'-tetraiodofluorescein) on thyroid function in normal men. *Toxicol Appl Pharmacol*, Dec 1987; 91(3): 299–304.
- Fallico B, Chiappara E, Arena E, Ballistreri G. Assessment of the exposure to Allura Red colour from the consumption of red juice-based and red soft drinks in Italy. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, Nov 2011; 28(11): 1501–1515.
- Borzelleca JF, Depukat K, Hallagan JB. Lifetime toxicity/carcinogenicity studies of FD & C Blue No. 1 (brilliant blue FCF) in rats and mice. *Food Chem Toxicol*, Apr 1990; 28(4): 221–234.
- Schab DW, Trinh NH. Do artificial food colors promote hyperactivity in children with hyperactive syndromes? A meta-analysis of double-blind placebo-controlled trials. *J Dev Behav Pediatr*, Dec 2004; 25(6): 423–434.
- Kleinman RE, Brown RT, Cutter GR, Dupaul GJ, Clydesdale FM. A research model for investigating the effects of artificial food colorings on children with ADHD. *Pediatrics*, Jun 2012; 127(6): e1575–1584.
- Nigg JT, Lewis K, Edinger T, Falk M. Meta-analysis of attention-deficit/hyperactivity disorder or attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms, restriction diet, and synthetic food color additives. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, Jan 2012; 51(1): 86–97 e88.
- Cheeseman MA. Artificial food color additives and child behavior. *Environ Health Perspect*, Jan 2012; 120 (1): A15–16; author reply A17.
- Zaknun D, Schroecksnadel S, Kurz K, Fuchs D. Potential role of antioxidant food supplements, preservatives and colorants in the pathogenesis of allergy and asthma. *Int Arch Allergy Immunol*, 2011; 157(2): 113–124.

Převzato z *Klin Farmakol Farm* 2013; 27(1): v tisku

Článek přijat redakcí: 27. 2. 2013

Článek přijat k publikaci: 18. 3. 2013

**PharmDr. Jana Kučerová, Ph.D.**

Masarykova univerzita, Lékařská fakulta,  
Farmakologický ústav, Brno  
Masarykova univerzita, CEITEC –  
Středoevropský technologický institut, Brno  
jkucer@med.muni.cz

**PharmDr. Bc. Hana Kotolová, Ph.D.**

Veterinární a farmaceutická univerzita,  
Farmaceutická fakulta,  
Humánní farmakologie a toxikologie, Brno  
KotolovaH@VFU.cz