UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA FARMACEUTICKÉ BOTANIKY

DIPLOMOVÁ PRÁCE

FENOLICKÉ KYSELINY V ROSTLINÁCH

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Jana Karlíčková, Ph.D.

Vedoucí katedry: prof. Ing. Lucie Cahlíková, Ph.D.

V Hradci Králové, 2021 **Lucie Klížová**

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce PharmDr. Janě Karlíčkové, Ph.D. za čas, který mi věnovala při sepisování této práce, za odborné konzultace, přátelský přístup, trpělivost a pochopení a za podporu za všech okolností.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové dne 25. 8. 2021 ……

Lucie Klížová

Obsah

1 Abstrakt 6

2 Abstract 7

3 Úvod 8

5 Cíl práce 9

6 Zařazení rostlin do systému 10

7 Fenolické látky 14

7.1 Flavonoidy 15

7.2 Jednoduché fenoly 16

7.3 Fenolické kyseliny 17

8 Biosyntéza fenolických kyselin 20

8.1 Biosyntéza látek s benzenovým jádrem 20

8.2 Metabolismus fenolických kyselin 20

8.2.1 Šikimátová dráha 21

8.2.2 Biosyntéza kyseliny skořicové a jejích derivátů 23

9 Kyselina benzoová 25

10 Kyselina *p*-hydroxybenzoová (4-hydroxybenzoová) 29

11 Kyselina gallová 36

12 Kyselina ellagová 40

13 Kyselina salicylová 41

14 Kyselina protokatechová 43

15 Kyselina vanilová 52

16 Kyselina chinová 57

17 Kyselina syringová 58
18 Kyselina 3-hydroxybenzoová (*m*-hydroxybenzoová) 60
19 Kyselina gentisová 61
20 Kyselina chlorogenová 62
21 Kyselina kávová 80
22 Kyselina rozmarýnová 94
23 Kyselina salvianolová 98
24 Kyselina sinapová 99
25 Kyselina ferulová 105
26 Kyselina *p*-kumarová 109
27 Kyselina skořicová 114
28 4-methylkatechol 115
29 Artepillin C 116
30 Diskuze a závěr 119
31 Seznam použitých zkratek 136
32 Použité zdroje 143

1 Abstrakt

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA FARMACEUTICKÉ BOTANIKY

Název diplomové práce: FENOLICKÉ KYSELINY V ROSTLINÁCH

Kandidát: Lucie Klížová

Školitel: PharmDr. Jana Karlíčková, Ph.D.

Diplomová práce 2020/2021, s. 153

Fenolické kyseliny patří mezi sekundární metabolity, které jsou součástí ovoce, zeleniny, obilnin a dalších rostlin rozličných čeledí. Příkladem mohou být rostliny z čeledi Lamiaceae, Asteraceae a Ericaceae, které obsahují značné množství těchto látek. V rostlinách hrají fenolické kyseliny významnou roli a mají mnoho účinků podporujících lidské zdraví, mezi které patří antioxidační, protizánětlivé, antivirové, antibakteriální, antifungální, antikancerogenní účinky a další. Rostliny obsahující fenolické kyseliny jsou s výhodou používány také jako antidiabetika, expektorancia, insekticidy, hypolipidemika, kardioprotektiva, neurologika atd.

Obsah těchto látek v rostlinách se může lišit v závislosti na sledovaném kultivaru, místu růstu, době sběru a řadě dalších aspektů.

Přítomnost, identifikace a následná kvantifikace jednotlivých fenolických kyselin je obvykle prováděna metodami HPLC a MS a celkový obsah těchto látek je stanovován Folin-Ciocalteuovou metodou.

Diplomová práce je literární rešerší, která sleduje obsah fenolických kyselin v rostlinách s ohledem na jejich farmakologické účinky, jež mohou příznivě působit na lidský organismus.

Klíčová slova: fenolické kyseliny, rostliny, obsah, účinky, identifikace, kvantifikace

2 Abstract

CHARLES UNIVERSITY

PHARMACEUTICAL FACULTY IN HRADEC KRÁLOVÉ

DEPARTMENT OF PHARMACEUTICAL BOTANY

Title of the Diploma thesis: FENOLIC ACIDS IN PLANTS

Candidate: Lucie Klížová

Supervisor: PharmDr. Jana Karlíčková, Ph.D.

Diploma thesis 2020/2021, pp. 153

Phenolic acids belongs between secondary metabolites, which are part of fruits, vegetables, cereals and other plants of different families. For example, it can be plants of family Lamiaceae, Asteraceae and Ericaceae, which contain significant amounts of these substances. In plants phenolic acids play an important role and they have many human health-promoting effects including antioxidant, anti-inflammatory, antiviral, antibacterial, antifungal, anticancer activity and other. Plants containing phenolic acids are preferably also used as antidiabetics, expectorants, insecticides, hypolipidemics, cardioprotective and neurological compounds, etc.

The content of these compounds in plants may be different according to monitored cultivar, the place of growth, the time of harvest and many other aspects.

Presence, identification and subsequent quantification of individual phenolic acids are usually done through the HPLC and MS methods and total content of these compounds is determined through the Folin-Ciocalteu method.

The diploma thesis is a literature review, which follows content of phenolic acids in plants with respect to their pharmacological effects, which may have beneficial effect on the human organism.

Keywords: phenolic acids, plants, content, effects, identification, quantification

3 Úvod

Fenolické kyseliny jsou přítomné v rostlinách jako sekundární metabolity a jsou běžnou součástí lidské stravy. To je pro konzumenta výhodné, neboť je známa jejich antioxidační aktivita, která závisí na jejich struktuře, především na počtu a polohách hydroxylových skupin a povaze substitucí na aromatických kruzích.

Další významné účinky těchto látek jsou zkoumány v rámci studií prováděných na *in vitro* a *in vivo* modelech. Bylo zjištěno, že mohou pomáhat i v léčbě některých neurodegenerativních i kardiovaskulárních onemocnění, kterých v populaci stále přibývá. Objevují se experimenty, kde tyto kyseliny vykazují antikancerogenní účinek, což se jeví jako velmi přínosné, neboť počet lidí s nádory velmi rychle narůstá a bohužel i v mladších věkových skupinách.

Fenolické kyseliny mají rovněž antivirové, antibakteriální a antifungální účinky, kterých lze potencionálně využít při léčbě onemocnění způsobenými těmito patogeny. Rostliny obsahující tyto látky působí také jako insekticidy, expektorancia, antiastmatika, diuretika, anthelmintika, některé mají antimalarické, antipyretické, analgetické či spazmolytické účinky a některé z nich se používají k léčbě zánětů kloubů, průjmu, ekzémů, dyslipidémie nebo hypertenze.

V diplomové práci jsou rostliny řazeny do kapitol odpovídajících fenolických kyselin, jejichž obsah je v dané rostlině nejvyšší. Na konci každé kapitoly jsou uvedeny všechny rostliny, které tuto kyselinu také obsahují, avšak již menším množství.

5 Cíl práce

Cílem této diplomové práce bylo vyhledat potenciálně farmaceuticky a medicínsky zajímavé fenolické kyseliny nacházející se běžně v rostlinách a dohledat k nim jejich izolaci a farmakologické účinky. Náplní této práce nebylo zaznamenat všechny rostlinné fenolické kyseliny, spíše upozornit na jejich význam pro lidské zdraví a jejich možné budoucí využití, což se stále více projevuje v počtech publikací zabývajících se tímto tématem.

6 Zařazení rostlin do systému

Rosopsida		
Ranunculales		
	Ranunculaceae	*Clematis cirrhosa, Nigella sativa*
	Menispermaceae	*Cyclea gracillima*
Saxifragales		
	Paeoniaceae	*Paeonia suffruticosa*
	Grossulariaceae	*Ribes uva-crispa*
Fabales		
	Fabaceae	*Sophora flavescens, Medicago sativa, Trigonella foenum-graecum, Lens culinaris, Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*
Caryophyllales		
	Amaranthaceae	*Artiplex mollis, Amaranthus tricolor, A. lividus*
	Frankeniaceae	*Frankenia pulverulenta*
Vitales		
	Vitaceae	*Vitis vinifera*
Malvales		
	Malvaceae	*Abelmoschus esculentus, Hibiscus sabdarifa*
Myrtales		
	Lythraceae	*Punica granatum*
Lamiales		
	Lamiaceae	*Melissa officinalis, Rosmarinus officinalis, Salvia miltiorrhiza, S. hispanica, S. officinalis, Scutellaria barbata, Leonurus sibiricus, Teucrium flavum, T. arduini, Origanum* spp., *Hedeoma* spp., *Mentha* × *piperita, Thymus vulgaris, Orthosiphon stamineus, Hyssopus cuspidatus*

	Plantaginaceae	*Veronica americana*
	Bignoniaceae	*Catalpa speciosa*
	Verbenaceae	*Verbena officinalis, Lippia* spp.
	Orobanchaceae	*Rehmania glutinosa*
	Oleaceae	*Olea europaea*
Rosales		
	Rosaceae	*Eriobotrya japonica, Prunus amygdalus, P. domestica, Aronia melanocarpa, Rosa canina*
	Moraceae	*Ficus* spp., *Morus alba*
	Elaeagnaceae	*Hippophae rhamnoides*
	Urticaceae	*Boehmeria nivea*
Apiales		
	Apiaceae	*Daucus carota*
	Araliaceae	*Hedera helix, Dendropanax morbifera*
Malpighiales		
	Phyllanthaceae	*Phyllanthus emblica*
	Hypericaceae	*Hypericum perforatum*
	Linaceae	*Linum usitatissimum*
Sapindales		
	Burseraceae	*Boswellia dalzielii*
	Rutaceae	*Melicope lunu-ankenda*
Asterales		
	Asteraceae	*Grindelia robusta, G. squarrosa, Solidago virgaurea, Artemisia absinthium, Smallanthus sonchifolius, Echinacea purpurea, Baccharis dracunculifolia*
Ericales		
	Theaceae	*Camellia sinensis*
	Ericaceae	*Vaccinium myrtilus, V. vitis-idaea, V. uliginosum, V. corymbosum, Arctostaphylos uva-ursi*

	Actinidiaceae	*Actinidium chinensis, A. deliciosa, A. macrosperma, A. polygama, A. arguta*
Caryophyllales		
	Cactaceae	*Mammillaria* spp.
	Polygonaceae	*Fagopyrum tataricum*
Solanales		
	Solanaceae	*Solanum tuberosum*
Gentianales		
	Rubiaceae	*Coffea arabica*
Cucurbitales		
	Cucurbitaceae	*Cucurbita pepo, C. moschata*
Myrtales		
	Onagraceae	*Oenothera biennis*
Brassicales		
	Brassicaceae	*Alyssum montanum*
Fagales		
	Fagaceae	*Quercus robur, Q. alba, Q. petraea*
Magnoliopsida		
Laurales		
	Lauraceae	*Laurus nobilis, Cinnamomum aromaticum*
Austrobaileyales		
	Schisandraceae	*Illicium verum*
Magnoliales		
	Magnoliaceae	*Magnolia acuminata*
	Annonaceae	*Annona muricata*
Liliopsida		
Asparagales		
	Amaryllidaceae	*Allium cepa*
Zingiberales		
	Zingiberaceae	*Alpinia oxyphylla*
Liliales		
	Liliaceae	*Cardiocronium cordatum*
Poales		
	Poaceae	*Oryza* spp., *Panicum miliaceum, Avena sativa*

Pinopsida		
Pinales		
	Taxaceae	*Taxus cuspidata*
	Pinaceae	*Picea abies, Larix decidua, Pinus sylvestris, Pseudotsuga menziesii*
	Cupressaceae	*Juniperus communis*
Ginkgoopsida		
Ginkgoales		
	Ginkgoaceae	*Ginkgo biloba*
Polypodiopsida		
Cyatheales		
	Cibotiaceae	*Cibotium barometz*
Bryopsida		
Hypnales		
	Hypnaceae	*Hypnum cupressiforme*

Tab. 1: Zařazení rostlin do botanického systému [18]

7 Fenolické látky

Fenolické látky jsou organické sloučeniny, které obsahují jeden nebo více aromatických kruhů nesoucí jeden nebo více hydroxylových substituentů. Jedná se rovněž o jejich funkční deriváty, jako jsou estery, methylethery, glykosidy atd. [1]. V důsledku přítomnosti hydroxylové skupiny v molekule fenolu, jsou fenoly kategorizovány jako terciární alkoholy [2]. Mají tedy obdobné vlastnosti jako alifatické alkoholy, ovšem aromatické jádro a atom vodíku fenolické hydroxylové skupiny udává fenolům charakter slabých kyselin [3]. Všechny fenolické látky jsou polycyklické molekuly, které vlivem substituce mění své základní vlastnosti. V případě jednoduchých fenolů jsou základní prvky nahrazeny jedním nebo více atomy vodíku [1].

Rostlinné fenoly tvoří nejrozsáhlejší skupinu sekundárních metabolitů, které jsou tvořeny především šikimátovou cestou z L–fenylalaninu a L–tyrosinu. Produkty sekundárního metabolismu jsou odvozeny od primárních metabolitů, a to od sacharidů, aminokyselin a lipidů [3].

Fenolické látky v rostlinách se řadí mezi látky s významnou biologickou aktivitou, které jsou prospěšné v mnoha ohledech. Jsou důležité při růstu a rozmnožování a mají významný vliv na ochranu proti patogenům [1]. Rostlinným produktům propůjčují jejich charakteristickou vůni, barvu a aroma. Mají hepatoprotektivní účinky, působí jako ochrana proti UV záření, odpuzují hmyz a používají se jako potravinářské přídatné látky [3]. Mezi jejich další vlastnosti patří schopnost příznivě ovlivňovat kardiovaskulární systém, působit proti řadě mutagenů, karcinogenů a mikrobů, jsou antialergenní, protizánětlivé, anti-aterogenní a mají antitrombotické a vazodilatační účinky. Látky fenolické povahy působí antioxidačně, a proto jsou důležité v prevenci poškození buněčných membrán vlivem oxidace tuků. Antioxidační účinek fenolických sloučenin je odvozen od jejich struktury. V závislosti na počtu a poloze hydroxylových substituentů se tato aktivita mění [1].

Vlivem antioxidační aktivity těchto látek dochází k ochraně biologických systémů před škodlivými účinky oxidačních procesů na makromolekuly, jako jsou sacharidy, bílkoviny, lipidy a DNA. Antioxidanty jsou látky, které pomáhají chránit buňky před jejich poškozením. To může být způsobeno reaktivními formami kyslíku (ROS) a volnými radikály, které jsou zodpovědné za vznik mnoha onemocnění [4]. Vysoké hladiny ROS způsobují různá

degenerativní onemocnění, jako jsou kardiovaskulární onemocnění nebo rakovina [2]. Nádorové buňky jsou zvlášť citlivé na oxidační stres, jelikož vykazují vyšší hladiny reaktivních forem kyslíku než ostatní buňky organismu [4].

Fenolické sloučeniny jsou jednou z nejdůležitějších bioaktivních obsahových látek léčivých rostlin a složek lidské výživy. Mezi ty nejvýznamnější patří fenolické kyseliny, flavonoidy, jednoduché fenoly a fenylpropanoidy. V přírodě se vyskytuje řada rostlin, která obsahuje značné množství těchto látek a v lidské stravě tvoří dobrý zdroj přírodních antioxidantů. Chrání organismus před vznikem onemocnění a současně brání předčasnému stárnutí. Extrakty z rostlin bohaté na látky fenolické povahy hrají podstatnou roli v potravinářském průmyslu, jelikož inhibují oxidační degradaci tuků. To se projeví ve zlepšení nutriční hodnoty potravy.

Nejjednoduššími sloučeninami v rámci fenolických látek jsou fenoly. Dále se mezi ně řadí jednoduché monocyklické fenoly, fenylpropanoidy, fenolické chininy a flavonoidy, které tvoří nejpočetnější skupinu. V rostlinách se rovněž nachází další významné polyfenoly, jako melaniny, ligniny a taniny.

Fenolické látky a jednoduché fenoly jsou rozpustné nebo nerozpustné a zpravidla se nacházejí v pletivech rostlin. Rozpustné se soustřeďují v buněčných vakuolách, kdežto ty nerozpustné se koncentrují v buněčných stěnách. Fenoly vykazují schopnost tvořit komplex s bílkovinami [2].

7.1 Flavonoidy

Flavonoidy jsou deriváty 2-fenylchromanu (flavanu) a patří mezi nejvíce zastoupené rostlinné sekundární metabolity. Základní struktura těchto látek je tvořena třemi jednotkami: C_6-C_3-C_6 [5]. Jednotlivé aromatické kruhy (kruh A a B) jsou vzájemně propojeny třemi atomy uhlíku, které ve spojení s atomem kyslíku vytváří heterocyklus (kruh C) [6].

Flavonoidy jsou polyfenolické sloučeniny, které rozdělujeme na flavony, flavonoly, flavan-3-oly, isoflavony, flavanony, anthocyanidiny, chalkony, dihydrochalkony, dihydroflavonoly, flavan-3,4-dioly, kumariny a alkony [7] v závislosti na oxidačním stavu heterocyklu obsahujícím atom kyslíku [8]. Jednotlivé sloučeniny mohou být různě substituované a v přírodě se nejčastěji vyskytují jako glykosidy [7]. Cukernou část tvoří ve většině případů glukosa nebo rhamnosa. Není ovšem vyloučena ani přítomnost kyseliny

glukuronové, galaktosy či jiného sacharidu jako cukerného zbytku. Polyfenolické sloučeniny jsou nejčastěji monosubstituované, ale mohou obsahovat i dva nebo tři navázané glykosyly. Necukerná část se nazývá aglykon a může být, stejně jako sacharidová složka, substituovaná hydroxykyselinou, např. kyselinou gallovou nebo jablečnou [8].

Flavonoidy jsou v různých formách součástí lidské výživy. Hlavními zdroji těchto látek v potravě jsou čaj, červené víno, jablka, rajčata, třešně, cibule, tymián, petržel, sójové boby a další luštěniny, pomeranč, citrón, jinan apod.

Tyto látky disponují mnoha důležitými biologickými vlastnostmi. Působí antimikrobiálně, cytotoxicky, protizánětlivě a protinádorově a podobně jako další fenolické látky mají silné antioxidační vlastnosti. Schopnost chránit organismus před volnými radikály se odvíjí od molekulární struktury. Mechanismus antioxidantu tkví ve způsobilosti zachytit a reagovat s volnými radikály rychleji než substrát.

Flavonoidy udávají barvu květům a listům. Tím se stávají atraktivní pro opylovače a zároveň chrání rostlinu před fungálními patogeny a UV zářením. Mimo jiné se podílí i na fotosenzibilizaci, na přenosu energie, regulují růst, kontrolují dýchací procesy a fotosyntézu a účastní se procesu morfogeneze. Flavonoidy propůjčují rostlinám také chuť, která může přitahovat či odpuzovat opylovače nebo škůdce [4].

7.2 Jednoduché fenoly

Mezi jednoduché fenoly patří látky charakteru dihydroxybenzenů a trihydroxybenzenů. Do skupiny dihydroxybenzenů náleží tři zástupci – hydrochinon, katechol a resorcinol a do skupiny trihydroxybenzenů benzenitrol, pyrogallol a floroglucinol [2]. Tyto látky se v rostlinách nachází ve volné formě nebo častěji ve formě glykosidů, popřípadě methyletherů [9].

Jednoduché fenoly jsou látky, které se v přírodě vyskytují zřídka. Výjimkou je hydrochinon, který je obsažen v několika rostlinných čeledích, například u rostlin z čeledi vřesovcovitých (Ericaceae) a růžovitých (Rosaceae) [10]. Katechol, orcinol, floroglucinol a pyrogallol jsou méně rozšířené [2]. Alkylfenoly se v hojné míře nachází v lišejnících a jsou pro ně typické. Fenolické monoterpeny, z nichž je nejvíce známý thymol, jsou charakteristické pro čeleď Lamiaceae [9]. Melaniny přítomné v rostlinách se řadí mezi přírodní fenolické polymery, které produkují jednoduché fenoly [2].

Hydrochinon se používá k léčbě močových infekcí a pro svou schopnost snižovat tvorbu melaninu v kůži také pro ošetření pigmentových stařeckých skvrn a pih. Eugenol je všestranně účinná látka, která se často používá jako lokální antiseptikum a anestetikum. Oxid zinečnatý eugenolu se používá jako dentální výplň nebo zubní cement v zubním lékařství a vykazuje značné antibakteriální vlastnosti. Thymol je účinné antiseptikum, konzervační látka a používá se jako prostředek ke chlazení. Získává se ze silice obsažené v rostlině *Thymus vulgaris*. Thymol má antifungální a antihelmintické účinky [2].

7.3 Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny jsou sekundární metabolity rostlin s aromatickým kruhem, které se řadí mezi polyfenoly [4]. Nazývají se také jako fenolkarboxylové kyseliny a tvoří jednu z hlavních skupin rostlinných fenolických sloučenin [3]. Můžeme je definovat jako organické sloučeniny, které ve své struktuře obsahují nejméně jednu karboxylovou skupinu a jednu hydroxylovou skupinu vázanou na benzenové jádro (aromatický kruh). Ovšem podle některých autorů jsou fenolické kyseliny pouze ty látky, které mají ve své struktuře $C_6 – C_1$ jednotky a jsou odvozeny od kyseliny skořicové [10].

Fenolické kyseliny patří mezi rostlinné fenolické sloučeniny, které se řadí k významným sekundárním metabolitům [11].

Fenolické kyseliny lze rozdělit na 2 skupiny, a to na fenolické kyseliny odvozené od kyseliny benzoové a fenolické kyseliny odvozené od kyseliny skořicové (viz Obr. 1) [10]. V rostlinách se nachází ve formě volné nebo vázané jako jejich deriváty [5]:

estery s jinými kyselinami

estery se sacharidy

glykosidy dekarboxylovaných kyselin

estery s alkoholy

acylované flavonoidy

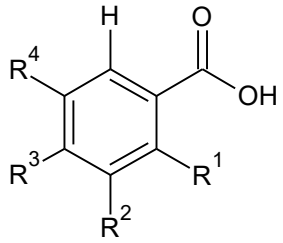
Obvykle jsou v rostlinách přítomny vázané ve formě amidů, esterů nebo glykosidů a volné se příliš nevyskytují [3].

Mezi deriváty kyseliny benzoové patří kyselina vanilová, kyselina *m*-hydroxybenzoová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyselina protokatechová, kyselina syringová [12] a kyselina gallová. Kyselina gallová a její dimerní molekula jsou součástí hydrolyzovatelných taninů [10]. Do skupiny fenolických kyselin odvozených od kyseliny skořicové patří kyselina kávová, kyselina *o*-kumarová, *m*-kumarová, *p*-kumarová, kyselina sinapová, kyselina ferulová (viz Obr. 1) [12].

Kyselina p-hydroxybenzoová, kyselina protokatechová, kyselina vanilová, kyselina gallová a kyselina syringová se v rostlinách nachází ve velkém množství, zatímco volné fenoly jsou relativně vzácné. Mezi významné fenolické kyseliny patří kyselina salicylová. Získává se z vrbové kůry (*Salix alba*) a používá se jako analgetikum a antipyretikum. Salicyláty zvyšují průtok krve a tvorbu potu.

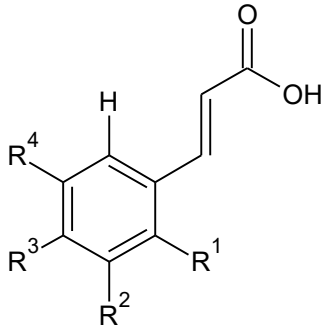
Fenolické kyseliny se nenachází pouze v rostlinách, ale i v mnoha druzích hub. Zástupci, kteří se v houbách nejvíce vyskytují, jsou kyselina protokatechová, pyrokatechol a fenyloctové a fenylpyruvové kyseliny. Fenolické kyseliny obsahují rovněž lišejníky a řasy. Patří mezi ně kyselina *p*-kumarová, kyselina skořicová a kyselina salicylová. Kyselina hypogallová a kyselina kávová byly získány z kapradiny *Salvia molesta.* Kyselina ellagová, gallová a pyrogallová se nachází ve vodních rostlinách a mnoho dalších sloučenin fenolického typu je obsaženo v jednoděložných rostlinách, především v obilovinách. Vyskytují se rovněž v mechorostech, příkladem je kyselina rozmarýnová. Deriváty kyseliny skořicové tvoří jednu z obsahových látek ovoce, zeleniny a obilí. Jejich konzumací se fenoly stanou součástí metabolismu xenobiotik [2]. Tyto látky jsou v nejvyšších koncentracích obsaženy v semenech, ovocných slupkách a listech zeleniny [3]. Během různých fází vývoje rostlina obsahuje různé fenolické kyseliny. Na výsledný obsah kyselin v rostlině mají výrazný vliv podmínky prostředí.

Fenolické kyseliny hrají významnou roli v absorpci živin, syntéze bílkovin, enzymatické aktivitě, fotosyntéze a alelopatii [4].



Hydroxybenzoové kyseliny

Substituce	R_1	R_2	R_3	R_4
Kyselina benzoová	H	H	H	H
Kyselina gallová	H	OH	OH	OH
Kyselina vanilová	H	OCH_3	OH	H
Kyselina isovanilová	H	OH	OCH_3	H
Kyselina salicylová	OH	H	H	H
Kyselina gentisová	OH	H	H	OH
Kyselina protokatechová	H	OH	OH	H
Kyselina 4-hydroxybenzoová	H	H	OH	H
Kyselina syringová	H	OCH_3	OH	OCH_3



Hydroxyskořicové kyseliny

Substituce	R_1	R_2	R_3	R_4
Kyselina skořicová	H	H	H	H
Kyselina ferulová	H	OCH_3	OH	H
Kyselina isoferulová	H	OH	OCH_3	H
Kyselina sinapová	H	OCH_3	OH	OCH_3
Kyselina kávová	H	OH	OH	H
Kyselina *o*-kumarová	OH	H	H	H
Kyselina *p*-kumarová	H	H	OH	H

Obr. 1: Struktura vybraných fenolických kyselin [4, 5]

8 Biosyntéza fenolických kyselin

8.1 Biosyntéza látek s benzenovým jádrem

Rostliny a mikroorganismy vytváří látky s aromatickým jádrem prostřednictvím dvou metabolických cest – dráhou šikimátovou a dráhou polyketidovou. Šikimátová dráha vychází z metabolismu cukrů a vede k aromatickým látkám s hydroxylovou skupinou v polohách *ortho-* a *para-*. Polyketidová dráha, nazývaná též dráha acetogeninová spočívá v lineární kondenzaci kyseliny octové a dává za vznik sloučeninám substituovaným v poloze *meta-*. V některých případech dochází při biosyntéze ke kombinaci obou cest. Příkladem jsou fenylchromonové glykosidy, jež jsou základem mnoha barviv květů, listů a plodů dvouděložných rostlin. Při výstavbě aromatických látek nejprve dochází k vytvoření základního skeletu, který poté podléhá řadě modifikací pomocí specifických enzymů [13].

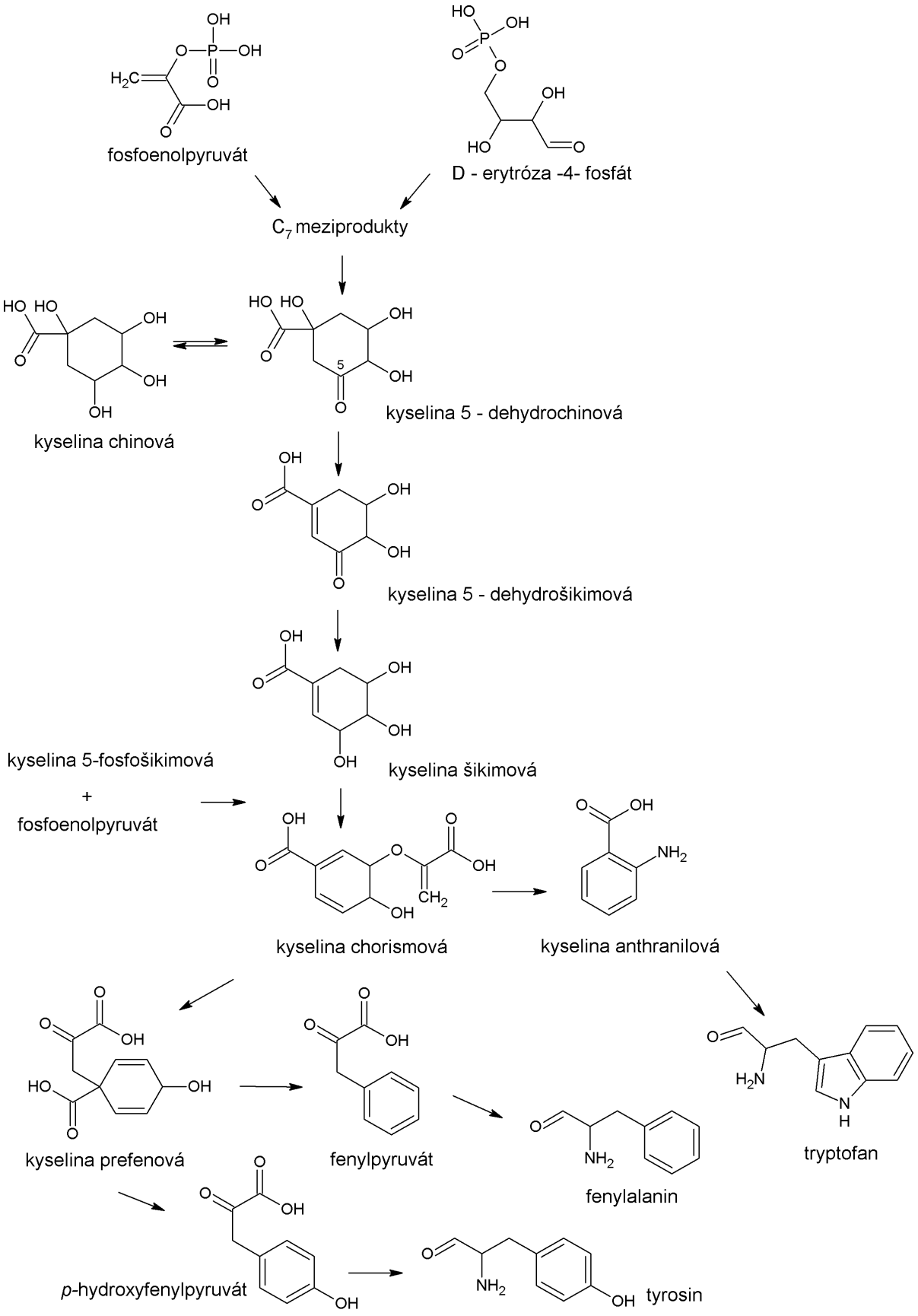
8.2 Metabolismus fenolických kyselin

Fenolické kyseliny jsou odvozeny z šikimátové dráhy a metabolismu fenylpropanoidů. Prostřednictvím šikimátové dráhy vznikají dvě aromatické aminokyseliny, fenylalanin a tyrosin. Mezi základní reaktanty, ze kterých tato cesta vychází, patří fosfoenolpyruvát a erytrosa-4-fosfát. Jedná se o látky, které vznikají neoxidativní glykolýzou glukosy. Sacharidy tvoří prekurzory pro biosyntézu sekundárních metabolitů, jakými jsou acetát, alifatické aminokyseliny a kyselina šikimová.

Fenylalanin je běžným prekurzorem většiny fenolických sloučenin v rostlinách a tvoří základní substrát v metabolismu fenylpropanoidů. Klíčovým enzymem této reakce je fenylalaninamoniaklyasa (PAL). Tento enzym působí jako katalyzátor deaminace fenylalaninu za vzniku kyseliny *trans*-skořicové. Enzym PAL je také zodpovědný za biosyntézu řady fenylpropanoidových sloučenin, např. ligninu a flavonoidních pigmentů. Činnost fenylalaninamoniaklyasy je ovlivněna řadou faktorů, mezi které patří například teplota, poškození rostliny nebo UV záření [14].

8.2.1 Šikimátová dráha

Šikimátová dráha (viz Obr. 2) je biosyntetický mechanismus, který byl objeven u mikroorganismů a uplatňuje se rovněž u vyšších rostlin. Tato cesta získala svůj název podle kyseliny šikimové, která v ní vystupuje jako meziprodukt a jejíž název je odvozen z japonského výrazu šikimi-noki = badyáníku pravého (*Illicium verum*), čeleď Schisandraceae [14, 15]. Biosyntéza začíná sloučením fosfoenolpyruvátu a D-erytrosa-4-fosfátu na sloučeninu obsahující 7 atomů uhlíku. Ta podléhá cyklizaci za vzniku kyseliny 5-dehydrochinové. Jako další meziprodukt vzniká kyselina 5-dehydrošikimová, posléze kyselina šikimová a kyselina 5–fosfošikimová. Proces pokračuje několika kroky až ke vzniku kyseliny chorismové, kde se šikimátová dráha dělí na 2 větve. Obě dávají za vznik aromatickým aminokyselinám – první větev tryptofanu a druhá větev tyrosinu a fenylalaninu. Fenylalanin podléhá deaminační reakci za vzniku kyseliny skořicové a z tyrosinu vzniká kyselina *p*-kumarová (viz dále) [15].

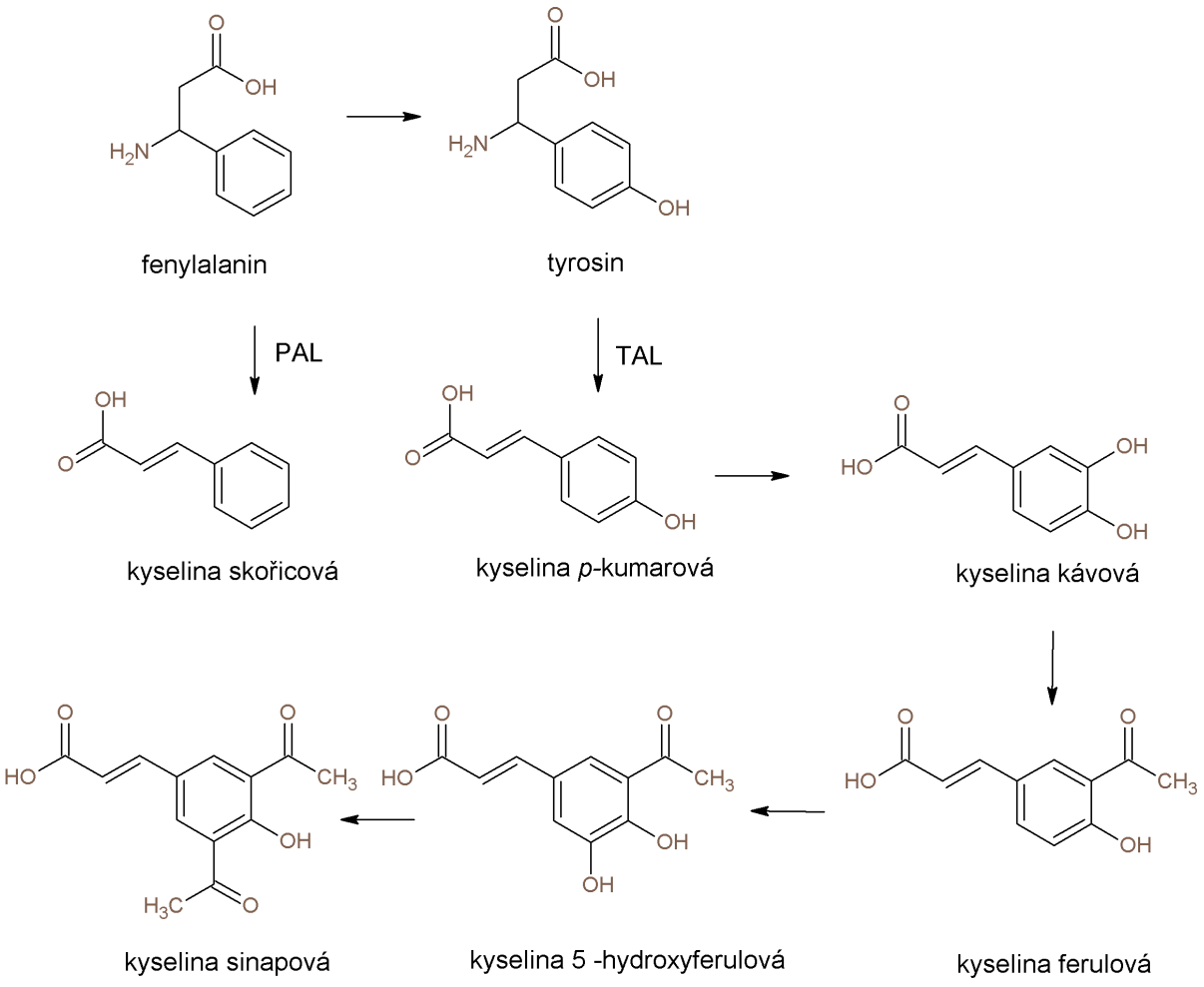


Obr. 2: Šikimátová dráha [15]

8.2.2 Biosyntéza kyseliny skořicové a jejích derivátů

Kyselina skořicová představuje cyklický systém, od kterého je pomocí substitučních reakcí odvozena celá řada derivátů (viz Obr. 3). Jak již bylo řečeno výše, na počátku reakce stojí fenylalanin, jenž podléhá oxidativní deaminaci za vzniku kyseliny skořicové. Výchozí látkou biosyntézy může být i tyrosin, ze kterého vzniká kyselina *p*-kumarová. Dané reakce jsou katalyzovány pomocí enzymů, které se obecně nazývají amoniaklyasy. Svůj název získaly podle vedlejšího produktu, amoniaku, který se v těchto reakcích uvolňuje ve formě NH_4^+ iontů. Podle toho, zdali reaguje fenylalanin nebo tyrosin, rozlišujeme enzym zvaný tyrosinamoniaklyasa (TAL) a fenylalaninamoniaklyasa (PAL). Tyrosinamoniaklyasa hraje významnou roli u trav, kdežto u ostatních rostlin chybí.

Mezi nejdůležitější deriváty kyseliny skořicové patří kyselina *p*-kumarová, která vzniká její hydroxylací, dále kyselina kávová, kyselina ferulová, kyselina 3,4,5-trihydroxyskořicová, kyselina 5-hydroxyferulová a kyselina sinapová. V rostlinách se nejčastěji vyskytují ve vázané formě jako estery nebo glykosidy [15].



Obr. 3: Biosyntéza kyseliny skořicové a jejích derivátů [15]

9 Kyselina benzoová

Kyselina benzoová je ve značném množství obsažena v rostlině *Clematis cirrhosa* L., která patří do čeledi Ranunculaceae (pryskyřníkovité). V lidovém léčitelství se využívá k léčbě bolesti spojené s revmatismem a jako diuretikum. Mezi prokázané biologické aktivity patří antioxidační, antivirové, antibakteriální, antifungální, insekticidní, antimalarické účinky a schopnost inhibice enzymů.

Rostlina byla podrobena testům za účelem stanovení fenolických látek, antioxidačních účinků a enzymové inhibiční aktivity. Celkový obsah polyfenolů byl hodnocen pomocí kolorimetrických metod, antioxidační aktivita pak záchytnými testy volných radikálů (DPPH = 2,2–difenyl-1-pikrylhydrazyl, ABTS = 2,2´-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina) a testy na snížení iontové kapacity (FRAP = Ferric Reducing Antioxidant Power, CUPRAC = Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity). Fenolické profily jednotlivých extraktů byly stanoveny pomocí metody HPLC/DAD (High Performance Liquid Chromatography/Diode Array Detector). K testům na enzymovou aktivitu byly využity tyto enzymy: α-amylasa, α-glukosidasa, cholinesterasy (AChE, BChE) a tyrosinasa.

Pro studii byly připraveny methanolový a vodnomethanolový extrakt rostliny *Clematis cirrhosa* L., která byla sbírána na severovýchodě Alžírska v prosinci roku 2017 v období květu. Extrakty byly získány z nadzemní části rostliny po jejím usušení ve tmě při pokojové teplotě a rozemletí na prášek. Extrakce byla provedena pomocí ultrazvuku s použitím 15 g prášku a dvou různých rozpouštědel – methanolu (100%) a methanolu/H_2O (70%). Suché extrakty vznikly po filtraci a odpaření za sníženého tlaku a při teplotě v rozmezí 40 – 60 °C.

Celkový obsah fenolů v rostlinných extraktech byl hodnocen metodou Folin-Ciocalteu (metoda F-C). Metoda byla ovšem za účelem této studie drobně upravena. Nejprve bylo nutné připravit 3 roztoky obsahující 1,5 ml destilované vody, 500 µl 7 % uhličitanu sodného (Na_2CO_3) a 200 µl roztoku extraktu. Směs se ponechala 3 minuty stát a poté byl přidán 1 ml činidla F-C. Ke stanovení celkového obsahu fenolů byly použity standardy kyseliny gallové v koncentraci 100, 50, 25 a 12,5 µg/ml a slepý vzorek připravený smícháním 1 ml činidla F-C, 500 µl methanolu, 3,8 ml destilované vody a 2 ml Na_2CO_3. Po 2 hodinách nebo po ukončení oxidace fenolických sloučenin, kdy byly roztoky ponechány v temnu a při pokojové teplotě, byla pozorována změna barvy roztoků ze žluté na modrou.

Tato skutečnost byla odečtena pomocí spektrofotometru proti slepému vzorku při vlnové délce 760 nm. Studie prokázaly, že methanolový extrakt *Clematis cirrhosa* L. obsahuje vyšší množství polyfenolů v porovnání s vodnomethanolovým extraktem téže rostliny a methanol je tedy vhodné organické rozpouštědlo pro extrakci polyfenolů z rostlin.

Fenolické profily daných extraktů byly stanoveny prostřednictvím HP-Agilent 1292 infinity HPLC dle Capino et al. (1999), ovšem rovněž s mírnými úpravami. HPLC byla vybavena C18 kolonou a spojena s detektorem diodového pole (DAD). Při této separační metodě byly využity methanolové vzorky o koncentraci 20 mg/ml a vstřikovací objem 20 µl a jako mobilní fáze byla použita směs 3% kyseliny octové ve vodě (A) a methanolu (B).

Eluáty byly detekovány při vlnové délce 278 nm za využití následujících fenolických standardů a jejich porovnáním byla provedena identifikace jednotlivých fenolických sloučenin a jejich kvantitativní analýza. Všechny standardy byly připraveny ve čtyřech různých koncentracích, přičemž prvním standardem byla kyselina gallová, dále katechin, kyselina syringová, kyselina chlorogenová, kyselina kávová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, epikatechin, kyselina ferulová, kyselina *p*-kumarová, kyselina sinapová, kyselina benzoová, kyselina rozmarýnová, kyselina skořicová, hesperidin a kvercetin. Kalibrační křivky, získané při HPLC, byly lineární a jejich regresní faktor činil $r^2 > 0{,}8867$. Na základě vzájemného srovnání UV spektra HPLC/DAD a retenčních časů standardních fenolických sloučenin došlo k identifikaci jednotlivých fenolických látek a posléze k výpočtu jejich koncentrace v příslušných extraktech z kalibrační křivky. Koncentrace byla vyjádřena v µg/g extraktu. V obou extraktech se vyskytovaly stejné kyseliny s výjimkou kyseliny ferulové a kyseliny skořicové, které byly zaznamenány pouze v methanolovém extraktu.

Koncentrace kyseliny benzoové byla vyšší v methanolovém extraktu a činila 8867,73 µg/g. Kvalitativní i kvantitativní analýza extrahovaných polyfenolů je závislá na polaritě použitého extrakčního činidla, což potvrzuje výsledky studie získané Karimi et, al. (2017). Oba extrakty vykázaly znatelné inhibiční účinky vůči enzymům: tyrosinase, AChE, BChE, α-amylase a α-glukosidase. Analýza HPLC/DAD potvrdila, že oba testované extrakty byly bohaté na kyselinu benzoovou, kyselinu *p*-hydroxybenzoovou, katechin, kyselinu kávovou a epikatechin. V rostlině byla dále zjištěna přítomnost kyseliny chlorogenové, kyseliny gallové a kyseliny syringové [16].

Kyselina benzoová je také obsažena v rostlině *Paeonia suffruticosa* Andrews (pivoňka keřovitá), která patří do čeledi Paeoniaceae (pivoňkovité) [17]. Je to vytrvalá

dřevina s velkými, členěnými listy a volnolupennými květy různých barev. Mezi hlavní metabolity patří mimo jiné paeonol, což je látka farmakologicky hodnocena jako antiflogistikum [18].

Fenolické kyseliny jsou nejběžnější sekundární metabolity, které se hromadí v rostlinách a hrají roli při formování a růstu adventivních kořenů. Zvyšují aktivitu auxinu indol-3-octové kyseliny (IAA) během zakořenění pomocí inhibice IAA oxidasy a v konečném důsledku tak brání jejímu zániku. Cílem této studie bylo analyzovat jednotlivé endogenní fenolické kyseliny v *Paeonia suffruticosa* a vyhodnotit jejich účinky na zakořenění sazenic této rostliny *in vitro*. Sledován byl jak účinek endogenních, tak exogenních fenolických kyselin. Nejprve došlo k identifikaci endogenních fenolických kyselin, poté byl sledován jejich vliv na změny probíhající v průběhu procesu zakořenění sazenic *in vitro* a konečně byl sledován účinek exogenních fenolických kyselin na celý proces.

Pro studii byl použit kultivar pivoňky ´Feng Dan Bai´, který byl vypěstován v čínském Luoyangu. Ke sběru došlo v únoru 2015, kdy byly shromážděny axilární pupeny a kořenová kůra. Kmenová kůra, listy a stonky byly sbírány v dubnu 2015. Dané části rostliny byly sušeny při 40 °C po dobu 48 hodin a poté rozemlety na prášek.

Fenolické kyseliny byly analyzovány pomocí kapalinové chromatografie – hmotnostní spektrometrie (LC-MS – Liquid Chromatography – Mass Spectrometry) na zařízení Agilent Technologies 1200 ve spojení s API 4400 trojitým kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem a za využití následujících standardů: katechol, kyselina benzoová, 2-methoxyfenol,4-hydroxybenzoová kyselina, kyselina kumarová, kyselina skořicová, kyselina kávová, kyselina 6-hydroxykumarová, paeonol, acetovanilon, kyselina šikimová, kyselina gallová, resveratrol, kyselina chlorogenová, methylgallát, paeonifloril a 2,3-dihydroxy-4-methoxyacetofenon a 4-hydroxybenzhydrazid.

V sazenicích *Paeonia suffruticosa* bylo detekováno 12 fenolických látek, přičemž v největší míře byl zastoupen paeonol, dále acetovanilon, paeoniflorin, kyselina benzoová, methylgallát, kyselina gallová, kyselina šikimová, kyselina 4-hydroxybenzoová, 2,3-dihydroxy-4-methoxyacetofenon, kyselina kávová, kyselina chlorogenová a katechol. Obsah paeonolu, acetovanilonu a 2,3-dihydroxy-4-methoxyacetofenonu byl vyšší v kořenech než ve stoncích a listech a kyselina chlorogenová byla zjištěna pouze v kořenech. Paeoniflorin, kyselina gallová, kyselina šikimová, kyselina 4-hydroxybenzoová a kyselina

kávová byla obsažena ve vysokém množství především ve stoncích a kyselina benzoová a methylgallát se nacházely ve větším množství v listech rostliny.

Studie prokázali, že *in vitro* se v *Paeonia suffruticosa* nenachází paeonol, katechol a 2,3-dihydroxy-4-methoxyacetofenon a během zakořenění obsah kyseliny kávové, methylgallátu a paeoniflorinu zůstal na vysoké úrovni. Obsah acetovanilonu zůstal během procesu nízký. Z uvedeného vyplývá, že změny v obsahu posledních čtyř zmíněných endogenních fenolických kyselin úzce souvisí s procesem zakořenění *in vitro*.

Na celý proces zakořenění mělo největší efekt působení kyselinou benzoovou jako exogenní fenolickou kyselinou. Míra zakořenění vzrostla z 10 % na 64,03 %. Exogenní trifenoly a difenoly hrají významnou roli v procesu zakořenění *in vitro*, stejně jako vysoká hladina IAA, která byla potřebná pro indukci kořenů *in vitro.* Ošetření kyselinou kávovou v množství 1 $mg \cdot L^{-1}$ mělo výrazný vliv na zvýšení hladiny IAA v *Paeonia suffruticosa,* což mělo za následek zvýšení rychlosti zakořenění rostliny [17].

Vzhledem k obsahu sekundárních metabolitů, které jsou příčinou řady biologických účinků, je v tradiční medicíně Východní Asie používán kořen rostliny *Sophora flavescens* Aiton (jerlín žlutavý). Jerlín patří do čeledi Fabaceae (bobovité) a jeho kořen se používá jako antipyretikum, diuretikum, anthelmintikum a k léčbě průjmů, gastrointestinálního krvácení a ekzémů. V korejštině je Sophorae radix znám jako „Kosam“ a v čínštině jako „Kushen“.

Předchozí studie potvrdily výskyt více než 200 různých sloučenin, především alkaloidů a flavonoidů. Obsah těchto látek a přesné složení bylo rozdílné v závislosti na jednotlivých orgánech rostliny (kořeny, stonky, listy, květy a semena).

Cílem této studie bylo analyzovat fenolické sloučeniny v různých orgánech rostliny *Sophora flavescens.* Zároveň byla provedena identifikace klíčových genů zapojených do biosyntézy fenolických kyselin a flavonoidů.

Ve studii byly použity 4 orgány (listy, stonky, kořeny, květy) rostliny *Sophora flavescens*, která pochází z Damyangu (Jeollanam-do, Jižní Korea). Endogenní obsah fenolických látek byl stanoven pomocí analýzy HPLC (Futecs model NS-4000). Pro analýzu byla použita kolona C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 μm, RStech) a jako mobilní fáze směs acetonitrilu a 0,15% kyseliny octové.

Celkem bylo v jerlínu identifikováno 11 fenolických sloučenin, z nichž bylo 6 fenolických kyselin, 4 flavonoly (kempferol, katechin hydrát, epikatechin, rutin) a 1 isoflavon (maackiain) a jejich obsah v jednotlivých rostlinných orgánech se významně lišil. Mezi nalezené fenolické kyseliny patří kyselina *trans*-skořicová, kyselina kávová, **kyselina benzoová**, kyselina *p*-kumarová, kyselina ferulová a kyselina chlorogenová, přičemž kyselina benzoová byla hlavní fenolickou kyselinou v květech s obsahem 29,12 ± 0,48 μg/g sušiny. Kyselina kávová a kyselina ferulová byla detekována ve všech sledovaných orgánech. Kyselina *trans*-skořicová a kyselina *p*-kumarová byla obsažena pouze v nadzemních částech rostliny a 4 fenolické kyseliny (kyselina benzoová, kyselina ferulová, kyselina kávová, kyselina chlorogenová) a všechny výše uvedené flavonoly byly obsaženy ve větším množství v nadzemních částech rostliny než v kořenech. Kyselina *p*-kumarová byla ve větším množství detekována v listech (8,57 ± 0,43 μg/g sušiny – 10,28 ± 0,29 μg/g sušiny) než ve stoncích (2,73 ± 0,03 μg/g sušiny – 5,47 ± 0,10 μg/g sušiny). Kyselina chlorogenová se vyskytovala pouze ve stoncích, stejně tak jako katechin hydrát a kyselina *trans*-skořicová, jejíž obsah ve stoncích byl minimální (0,46 ± 0,01 μg/g sušiny – 0,62 ± 0,01 μg/g sušiny). Z uvedených fenolických kyselin byla nejvíce zastoupena kyselina chlorogenová a kyselina benzoová, a to ve stoncích, respektive v květech. Všech 11 fenolických sloučenin bylo detekováno ve stoncích, kromě rutinu a maackiainu, které byly obsaženy zejména v kořenech.

Bylo zjištěno, že expresní vzorce klíčových genů zapojených do biosyntézy fenolických látek se liší v závislosti na typu rostlinného orgánu a jeho vývojového stádia a v důsledku toho je obsah těchto látek v jednotlivých orgánech a vývojových stádiích různý [19].

Kyselina benzoová je dále obsažena v rostlině *Artiplex mollis*, *Rehmania glutinosa, Solidago virgaurea*, *Dendropanax morbifera*, *Alyssum montanum a Withania somnifera*.

10 Kyselina *p*-hydroxybenzoová (4-hydroxybenzoová)

Rostlina *Laurus nobilis* L. (vavřín vznešený) z čeledi Lauraceae (vavřínovité) se rovněž vyznačuje přítomností řady fenolických kyselin. Běžně je známa pod názvem bobkový list a používá se k léčbě revmatismu, kožních vyrážek, při bolestech uší a jako stomachikum, adstringens, emenagogum, diaforetikum, karminativum, stimulans, emetikum a abortivum.

Vavřín se také přidává do prostředků proti hmyzu a používá se v kosmetickém průmyslu, kde je součástí krémů, parfémů a mýdel pro svůj obsah silic.

Z rostliny byly připraveny různé druhy extraktů, ve kterých bylo stanoveno celkové množství fenolických látek. Výsledek se pohyboval od 2,41 mg GAE/g sušiny (etherový extrakt) do 4,53 mg GAE/g sušiny (ethylacetátový extrakt), přičemž značné množství těchto sloučenin bylo detekováno rovněž v extraktu *n*-butanolu s hodnotou 3,96 mg GAE/g sušiny. V extraktech byl stanoven také celkový obsah flavonoidů, který byl vyšší v ethylacetátovém a *n*-butanolovém extraktu ve srovnání s chloroformovým extraktem. V etherovém a vodném extraktu byl obsah flavonoidů nejnižší.

Pomocí HPLC-DAD analýzy byla prokázána přítomnost fenolických sloučenin v ethylacetátovém a *n*-butanolovém extraktu a ve vodném extraktu pak obsah fenolických kyselin, jako je kyselina kávová a flavonoidů, jako je rutin, kaemferol. V ethylacetátovém extraktu byly detekovány kvercetinové glykosidy a flavonoidy.

Výsledky LC-MS-MS kvantifikace bioaktivních sloučenin v methanolovém extraktu *Laurus nobilis* L. ukazují přítomnost látek kempferol-3-O-glukosidu, kvercetinu a rutinu jako hlavních obsahových látek této rostliny. Rovněž fenolické kyseliny byly ve vzorku stanoveny ve velkém množství a to převážně kyselina kávová a kyselina chlorogenová. V množství 38,46 μg/g sušiny byla stanovena **kyselina *p*-hydroxybenzoová.**

Ze studie vyplývá, že ethylacetát je nejvhodnější rozpouštědlo pro extrakci tohoto materiálu [20].

Velké množství biologicky aktivních sloučenin je obsaženo v mechu *Hypnum cupressiforme* Hedw. (rokyt cypřišovitý) z čeledi Hypnaceae (rokytovité), které mu propůjčují antimikrobiální, antioxidační a antiproliferativní účinky. Rokyt cypřišovitý se používal k dekoračním účelům a k výrobě kostýmů a spolu s dalšími druhy rodu *Hypnum* byl používán jako výplň do polštářů a matrací.

Cílem studie bylo získat podrobnější informace o chemickém složení mechu *Hypnum cupressiforme* a zároveň u něj stanovit antioxidační, antidiabetické, protizánětlivé/antineurodegenerativní a protinádorové účinky.

Za účelem analýzy byl použit mech pocházející z křemičitých skalních výchozů z Vršackých vrchů v Srbsku, který byl sbírán v květnu roku 2019 a který byl usušen a

podroben extrakci v Soxhletově přístroji s využitím čtyř rozpouštědel (E1 – ethanolový extrakt, E2 – vodno-ethanolový extrakt, E3 – ethylacetátový extrakt, E4 – vodný extrakt).

Celkový obsah fenolických látek (TPC) byl stanoven prostřednictvím metody Folin-Ciocalteau a nejvyšší hodnoty byly zjištěny u extraktů E3 a E4 s hodnotami 15,3 a 18,2 mg GAE/g extraktu. Celkový obsah fenolických kyselin (TPAC) byl stanoven pomocí Arnowova činidla dle upraveného postupu a bylo zjištěno, že nejvyšší koncentrace fenolických kyselin se vyskytuje v ethylacetátovém extraktu z rokytu E3 s hodnotou 339,9 mg ekvivalentu kyseliny kávové (CAE)/g extraktu. U extraktů byla dále stanovena hodnota TFC (celkový obsah flavonoidů), hodnota TFlC (celkový obsah flavonolů), hodnota TTC (celkový obsah triterpenoidů) a hodnota TCC (celkový obsah kumarinu). TFC byla nejvyšší v extraktu E3 – 58,9 mg ekvivalentu kvercetinu (QE)/g extraktu, TFlC byla stanoven pouze u ethylacetátového extraktu (E3 – 14, 1 mg QE/g extraktu) a nejvyšší hodnota TTC byla zjištěna rovněž v extraktu E3, která byla 236,0 mg ekvivalentu kyseliny ursolové (SAE).

Separace a identifikace jednotlivých fenolických sloučenin byla provedena pomocí kapalinové chromatografie – hmotnostní spektrometrie (LC-MS) za použití systému Dionex Ultimate 3000 UHPLC ve spojení s detektorem diodového pole (DAD) a TSQ Quantum Access Mass trojitým kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem. Systém byl vybaven vyhřívanou elektrosprejovou ionizační sondou (HESI-II, ThermoFisher Scientific, Brémy, Německo) a metoda byla provedena v negativním režimu. K separaci byla použita kolona Syncronis C18 (100 × 2,1 mm, 1,7 μm) a mobilní fáze sestávala z vody a 0,1% kyseliny mravenčí (mobilní fáze A) a z acetonitrilu (mobilní fáze B). Byl použit lineární gradient. Extrakty z rokytu cypřišovitého byly dále podrobeny biochemickým testům, mezi které patří stanovení DPPH, stanovení schopnosti extraktů redukovat železo, metoda založená na odbarvení β-karotenu, stanovení inhibice α-amylasy, α-glukosidasy, acetylcholinesterasy a tyrosinasy a biologickým testům (stanovení buněčné proliferace/metabolické životaschopnosti – MTT, stanovení radikálu superoxidového aniontu – NBT a stanovení hladiny dusitanů v supernatantech – Griessův test).

Prostřednictvím analýzy LC-MS byla potvrzena přítomnost čtrnácti sloučenin, mezi které patří šest fenolických kyselin (kyselina gallová, kyselina protokatechová, kyselina 5-O-kafeoylchinová, **kyselina p-hydroxybenzoová**, kyselina kávová, kyselina *p*-kumarová) a osm následujících flavonoidů – kvercetin 3-O-rutinosid, kvercetin 3-O-glukosid, isorhamnetin 3-O-glukosid, eriodiktyol, apigenin, naringenin, kempferol a acacetin. Obsah jednotlivých

sloučenin v extraktech se lišil v závislosti na použitém extrakčním rozpouštědle, s výjimkou extraktu E1 a E2, u nichž byl obsah obdobný.

Bylo zjištěno, že zkoumané extrakty vykazovaly vysoké antioxidační účinky a značné inhibiční účinky vůči tyrosinase. Při nízkých testovacích koncentracích byly prokázány rovněž vysoké inhibiční účinky proti α-glukosidase a acetylcholiesterase. Nejvíce účinné byly ethylacetátové a vodné extrakty, ethanolové a ethylacetátové extrakty se vyznačovaly protizánětlivými účinky a všechny extrakty, mimo ethanolový, vykazovaly významné antiproliferativní účinky vůči rakovinným buňkám MDA-MB-231.

Mech *Hypnum cupressiforme* lze považovat za rostlinu, která by mohla být použita k léčbě a prevenci různých patologických stavů, jako je diabetes, Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba či rakovina prsu [21].

Ve srovnání se semeny, mají rostlinné klíčky výrazně vyšší nutriční hodnotu a jejich konzumace je doporučována vzhledem k významnému obsahu řady bioaktivních sloučenin, jako jsou flavonoidy, fenolické kyseliny, vitamíny a minerální látky. Klíčení, mimo zisk řady látek příznivě ovlivňujících lidské zdraví, snižuje obsah antinutričních látek, mezi které patří inhibitory trypsinu a kyselina fytová. Ke zvýšení obsahu sekundárních metabolitů v klíčcích je s výhodou využívána metoda elicitace, která je nástrojem pro obohacení potravin o důležité minerály.

Je známo, že semena luštěnin jsou obtížně stravitelná. Proces klíčení usnadňuje jejich trávení a klíčky některých druhů rostlin jsou navíc využívány k léčbě řady onemocnění. Například klíčky rostliny *Medicago sativa* L. (tolice vojtěška) z čeledi Fabaceae (bobovité) se v tradiční medicíně používají k léčbě artritidy, onemocnění ledvin, diabetu a koronárních onemocnění. Klíčky rostliny *Trigonella foenum-graecum* L. (pískavice řecké seno) z čeledi Fabaceae (bobovité) jsou bohaté na polyfenoly a minerální látky a působí proti rakovině prsu, pankreatu a prostaty. Mezi další rostliny, jejichž semena se s oblibou používají ke klíčení, patří sója, fazole mungo či čočka (*Lens culinaris* Medik. – čočka kuchyňská z čeledi Fabaceae - bobovité). Čočka, která projde procesem klíčení, obsahuje vysoce kvalitní bílkoviny, tuky, polyfenoly, měď a zinek, přičemž na její kvalitu mají významný vliv použité elicitory.

Cílem studie bylo určit účinek růstového stimulátoru Optysil obsahujícího křemičitan sodný a chelát železa (Fe-EDTA) na akumulaci rozpustných flavonoidů a fenolických kyselin

v sedmidenních klíčcích vojtěšky, čočky a pískavice a porovnat ho s účinkem křemičitanu sodného (Na-Sil).

Za účelem studie byly použity klíčky tolice vojtěšky, pískavice řeckého sena a čočky kuchyňské, které byly zakoupeny od společnosti Garden Seed and Nursery Stock Company Torseed Co., Toruň, Polsko. Jako elicitory byly využity roztoky obsahující metakřemičitan sodný (Na_2SiO_3, Na-Sil, POCH, Polsko) a směs metakřemičitanu sodného a chelátu železa (Fe-EDTA), která je označena ochrannou známkou Optysil (Intermag, Olkusz, Polsko).

Obsah fenolických kyselin a flavonoidů v klíčcích byl stanoven prostřednictvím analýzy HPLC-MS/MS podle Płatosz a kol. K analýze byla použita HALO C18 kolona (2,7 µm, 0,5 × 50 mm, Eksigent, Vaughan, Kanada), mobilní fáze A – voda/kyselina mravenčí, 99,05/0,95, v/v a mobilní fáze B – acetonitril/kyselina mravenčí, 99,05/0,95, v/v. Byla použita gradientová eluce. HPLC systém byl vybaven QTRAP 5500 hmotnostním spektrometrem (AB SCIEX, Vaughan, Kanada), přičemž kvalitativní a kvantitativní analýza byla provedena v negativním režimu. Mimo flavonoidy -(–)-epikatechin, luteolin, orientin, vitexin, apigenin, naringenin, kempferol a kvercetin, byly v průběhu testování identifikovány následující fenolické kyseliny: **kyselina 4-hydroxybenzoová**, kyselina kávová, kyselina sinapová, kyselina *p*-kumarová, kyselina ferulová. Obsah jednotlivých fenolických látek se lišil v závislosti na testované rostlině a na použitém elicitoru, kdy bylo zjištěno, že použité elicitory zvýšily celkový obsah fenolických sloučenin u klíčků pískavice řecké seno a vojtěšky a snížily obsah těchto látek u klíčků čočky. Ve všech druzích byl nalezen značný obsah kyseliny *p*-hydroxybenzoové, která tak patří mezi hlavní nalezené fenolické kyseliny.

Bylo zjištěno, že použití samotného křemičitanu sodného jako elicitoru vedlo ke zvýšení celkového obsahu fenolických sloučenin v klíčcích pískavice řecké seno a vojtěšky. Celkový obsah flavonoidů v uvedených luštěninách byl několikanásobně vyšší ve srovnání s celkovým obsahem fenolických kyselin, ovšem obsah fenolických kyselin a jejich derivátů v klíčcích čočky a vojtěšky byl vyšší než obsah flavonoidů v těchto druzích.

Použitím elicitoru Optysil se zvýšil obsah železa v klíčcích, a proto je možné ho doporučit v případě potřeby obohatit klíčky tímto prvkem [22].

Zdrojem řady bioaktivních sloučenin, jako jsou saponiny, glykosidy, flavonoidy, třísloviny, terpenoidy, alkaloidy, bílkoviny, aminokyseliny a alkoholy s dlouhými řetězci, jsou rostliny rodu *Artiplex* z čeledi Amaranthaceae (laskavcovité). Předchozí fytochemické

analýzy potvrdily v těchto rostlinách také přítomnost sloučenin odvozených od síry a minerálních látek.

Tato studie byla zaměřena na stanovení hlavních sekundárních metabolitů v nadzemních částech rostliny *Artiplex mollis* Desf., mezi které patří především fenoly, karotenoidy a chlorofyly. Karotenoidy a chlorofyly zajišťují halofytům udržení buněčné a fyziologické homeostázy, a proto jsou řazeny mezi látky, které v nich hrají důležitou roli. Karotenoidy spolu s pigmenty mají rovněž vliv na normální růst a vývoj rostlin a mají ochrannou funkci. Rostlina obsahuje přírodní polyfenoly, které se vyznačují nutriční hodnotou, a vzhledem k obsahu všech těchto látek je rostlina *Atriplex mollis* považována za významnou v oblasti potravinářství, stejně jako v medicíně. Rostlina se používá pro své antioxidační, antialergenní, protizánětlivé, antitrombotické, kardioprotektivní a vazodilatační účinky.

Ke studii byly použity nadzemní části rostliny *Artiplex mollis*, které byly získány v květnu roku 2016 z regionu Bershka v Alžírsku. Z rostlinného materiálu byly připraveny extrakty pomocí macerace a další frakcionace, superkritické fluidní extrakce (SFE – Supercritical fluid extraction) a mikrovlnné extrakce (MAE – Microwave – Assisted Extraction) a ty byly podrobeny vysokoúčinné kapalinové chromatografii ve spojení s detektorem fotodiodového pole (HPLC-PDA) dle publikované a validované metody. Jednotlivé fenolické sloučeniny byly identifikovány na základě srovnání UV-VIS spekter a retenčních časů příslušných standardů a kvantitativní analýza byla provedena metodou vnějšího standardu. U extraktů byla dále provedena kolorimetrická analýza a stanovení celkového množství karotenoidů a chlorofylů podle Solovčenka a kol. (2001).

Z nadzemních částí rostliny byly připraveny chloroformové, ethylacetátové a *n*-butanolové extrakty, přičemž ethylacetátový extrakt měl ve srovnání se zbývajícími extrakty nejvyšší obsah fenolických sloučenin. Bylo zjištěno, že **kyselina *p*-hydroxybenzoová**, rutin a katechin patří mezi nejvíce zastoupené látky napříč třemi frakcemi ethylacetátového extraktu s hodnotami 115 µg/g sušiny, 65 µg/g sušiny a 34 µg/g sušiny dle výše uvedeného pořadí. V menším rozsahu byly dále identifikovány látky, jako epikatechin, kyselina 3-hydroxy-4-methoxybenzoová a kyselina benzoová.
V chloroformovém extraktu bylo detekováno celkem 16 fenolických sloučenin v čele s epikatechinem (158 µg/g sušiny), kyselinou *p*-kumarovou (24,9 µg/g sušiny) a kyselinou vanilovou (42,2 µg/g sušiny). V *n*-butanolovém extraktu byla zjištěna přítomnost osmi

sloučenin, z nichž lze zmínit rutin (12,3 µg/g sušiny), kyselinu 3-hydroxybenzoovou (1,5 µg/g sušiny), karvakrol (0,15 µg/g sušiny) či kyselinu chlorogenovou (1,0 µg/g sušiny).

Metodou superkritické fluidní extrakce při fixní teplotě 40 °C a dvou tlakových hodnotách (10 a 30 MPa) bylo zjištěno, že rostlina obsahuje následující fenolické kyseliny: kyselinu gallovou, kyselinu vanilovou, kyselinu syringovou, kyselinu *p*-kumarovou, kyselinu sinapovou, kyselinu *t*-ferulovou, kyselinu 2,3-dimethoxybenzoovou a kyselinu benzoovou. Nejvíce zastoupenou kyselinou byla kyselina sinapová s hodnotou 2,39 µg/g sušiny. Mezi další detekované látky patří flavonoidy (katechin, epikatechin, rutin, naringin a naringenin) a iridoidní glykosid harpagosid (0,20 µg/g sušiny), který byl identifikován v extraktu získaném při působení tlaku 30 MPa.

Ke studiu obnovy vybraných metabolitů z nadzemních částí rostliny *Atriplex mollis* byla použita metoda MAE, která potvrdila přítomnost dvanácti fenolických sloučenin. Jejich obsah se lišil v závislosti na teplotě a době extrakce, kdy nejvyšší výtěžky byly získány během extrakce při teplotě 80 °C po dobu 10 minut. Byly identifikovány následující fenolické sloučeniny: kyselina gallová, kyselina chlorogenová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyselina vanilová, kyselina *p*-kumarová, kyselina sinapová, kyselina *t*-ferulová, kyselina benzoová, katechin, 3-hydroxy-4-methoxybenzaldehyd, rutin a naringin. Nejvíce zastoupeným flavonoidem byl rutin (486 µg/g sušiny, 80 °C, 10 min.) a z fenolických kyselin byla v nejvyšším množství nalezena kyselina vanilová (125 µg/g sušiny, 80 °C, 10 min.) a kyselina *t*-ferulová (95,5 µg/g sušiny, 80 °C, 10 min.). Bylo zjištěno, že naringin byl izolován pouze za nízké teploty (40 °C), katechin za teploty 80 °C a kyselina benzoová byla detekována při extrakci za vysoké teploty (120 °C).

Studie prokázala schopnost obnovy velkého množství bioaktivních sloučenin, zejména rutinu, kyseliny gallové a kyseliny *t*-ferulové. *Atriplex mollis* lze proto považovat za rostlinu s fytofarmaceutickým potenciálem [23].

Kyselina *p*-hydroxybenzoová je dále obsažena v následujících rostlinách: *Clematis cirrhosa*, *Paeonia suffruticosa*, *Amaranthus tricolor*, A. *lividus*, *Catalpa speciosa*, *Taxus cuspidata*, *Oryza* spp., *Grindelia robusta*, G. *squarrosa*, *Rehmannia glutinosa*, *Annona muricata*, *Solidago virgaurea*, *Mammillaria* spp., *Leonurus sibiricus*, *Solanum tuberosum*, *Aronia melanocarpa*, *Hippophae rhamnoides*, *Fagopyrum tataricum*, *Cucurbita pepo*, C. *moschata*, *Oenothera biennis*, *Picea abies*, *Larix decidua*, *Pinus sylvestris*, *Pseudotsuga menziesii*, *Juniperus communis*, *Dendropanax morbifera*, *Alyssum montanum*, *Echinacea*

purpurea, *Quercus robur*, *Q. alba*, *Q. petraea*, *Linum usitatissimum*, *Panicum miliaceum* a v Poaceae.

11 Kyselina gallová

Kyselina gallová je obsažena v rostlině *Frankenia pulverulenta* L. patřící do čeledi Frankeniaceae (frankeniovité). Jedná se o léčivý druh, který pochází ze severní Afriky a má karminativní, analgetické a antivirové účinky. Za účelem léčby se z rostliny připravují odvary a kloktadla. Bylo prokázáno, že extrakt z rostliny *Frankenia pulverulenta* je účinný proti viru *Herpes simplex* typu 1.

Rostlina byla sbírána v březnu roku 2014 během vegetativní fáze v Borj-Cedria v Tunisku. Ve studii byly použity stonky a kořeny, které byly usušeny na vzduchu.

Celkový fenolický obsah byl stanoven Folin-Ciocalteuovou kolorimetrickou metodou. Lyofilizované ethylacetátové frakce byly po rozpuštění v 50% methanolu podrobeny HPLC-MS analýze za využití systému Agilent 1200 od Agilent Technologies (Santa Clara, CA) a kolony Prontosil 120-5-C18-AQ s reverzní fází, Bischoff (250 × 4 mm, 5 μm, Leonberg, Německo). Byla provedena gradientová eluce a jako mobilní fáze byla použita voda s 0,1% kyselinou mravenčí (mobilní fáze A) a acetonitril s 0,1% kyselinou mravenčí (mobilní fáze B). LC-ESI-MS analýza byla provedena v režimu negativních iontů s využitím Esquire 3000 hmotnostního spektrometru a zdroje ESI od společnosti Bruker Daltonics (Billerica, MA).

Za účelem získání většího množství čistých sloučenin byla použita Varian HPLC analýza s dvěma pumpami a duálním UV detektorem (model 325) ve spojení s kolonou C_{18} Bischoff Ultrasep Eurobond (250 mm × 20 mm, 5 μm) a ochrannou kolonou C_{18} (50 mm × 20 mm). Jako mobilní fáze byla použita směs acetonitrilu (ACN) a okyselené vody.

Ze stonků a kořenů rostliny *Frankenia pulverulenta* byly získány frakce (surový extrakt, hexan, dichlormethan, ethylacetát, butanol, voda), které byly podrobeny analýze za účelem stanovení celkového fenolického obsahu (TPC). Největší výtěžnost byla zaznamenána při extrakci ethylacetátem pravděpodobně díky své vysoké molekulové hmotnosti (88 g/mol), která umožňuje snadno extrahovat látky s přibližně stejnou molekulovou hmotností. Hodnota TPC z nadzemních částí rostliny byla 383 mg GAE/g a z kořenů 374 mg GAE/g. Bylo

zjištěno, že celkový obsah fenolu klesal v závislosti na polaritě použitého rozpouštědla při extrakci v následujícím pořadí: EtOAc > BuOH > methanol > voda > dichlormethan > hexan.

Konkrétní složení z hlediska obsahu fenolických látek bylo stanoveno pomocí analýzy LC-DAD-ESI-MS v negativním režimu a jednotlivé látky byly charakterizovány pomocí MS. V ethylacetátové frakci ze stonků a kořenů rostliny *Frankenia pulverulenta* byly identifikovány následující látky: kyselina gallová, dimery procyanidinu, katechin, tri-galloyl hexosid, kvercetin galloyl glukosid, kvercetin, kvercetin hexosid a izomery sulfatovaných flavonoidů. Tyto látky byly u tohoto druhu stanoveny poprvé. Studie označila rostlinu *Frankenia pulverulenta* za slibný zdroj antioxidantů a neuroprotektivních molekul pro farmaceutické účely [24].

Důležitým zdrojem fenolických látek je rostlina *Vitis vinifera* L. (réva vinná), která patří do čeledi Vitaceae (révovité). Obsah těchto látek byl prokázán jak v samotné rostlině, tak ve víně a ve vedlejších produktech vinařského průmyslu, kdy její semena obsahují 20 – 55% polyfenolických látek. Ty jsou důležité především při výrobě červených vín. Velké množství cenných látek, jako je vláknina, anthocyaniny, olej ze semen a fenolické sloučeniny jsou obsaženy v pevném odpadu, který je produkován ve vinařském průmyslu ve značném množství (30 % celkové hmotnosti). Tento odpad zahrnuje semena, dužinu, stonky a hroznové slupky. Vzhledem k obsahu bioaktivních polyfenolických sloučenin, představují vedlejší produkty vinařství významný zdroj těchto látek a vykazují tak příležitost k získání produktů s přidanou hodnotou. Toho lze využít v potravinářském, respektive farmaceutickém průmyslu.

Ve studii byla použita semena z různých odrůd révy vinné z České republiky. Mezi tyto odrůdy patří Cerason, Kofranka, Laurot, Tramín červený (Gewürztraminer), Hibernal, Frankovka (Blaufrankish), Zweigeltrebe, Erilon, Pálava a Ryzlink vlašský, které byly sesbírány v letech 2015, 2016 a 2017.

Ke stanovení antioxidační aktivity byly použity 4 odlišné metody, a to metoda ABTS (2,2´-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina), metoda DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl), metoda FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) a metoda CHFR (Chlorophyllin Free Radical). Stanovení celkové koncentrace polyfenolů bylo uskutečněno pomocí metody Folin-Ciocalteu a analýza jednotlivých fenolických látek byla provedena pomocí HPLC ve spojení s UV/VIS spektroskopií. K analýze byla použita kolona Alltech Alltima HP C18 (3 × 150 mm, 3 μm) a jako mobilní fáze A $HClO_4$ a jako mobilní fáze B $HClO_4$ a 80% acetonitril. Byla provedena gradientová eluce.

Průměrný celkový obsah fenolických látek ve všech odrůdách činil 7831 µg/g GAE (2015), 8796 µg/g GAE (2016), 9782 µg/g GAE (2017), přičemž nejvyšší hodnoty byly zjištěny v odrůdě Cerason (8799 µg/g GAE – 2015, 10196 µg/g GAE – 2016, 11272 µg/g GAE – 2017) a nejnižší v odrůdách Pálava a Ryzlink vlašský (8555 µg/g GAE – Pálava 2017, 7236 µg/g GAE – Ryzlink vlašský 2015). Bylo zjištěno, že nejvyšší obsah polyfenolů byl obsažen v semenech z roku 2017, nejnižší z roku 2015 a semena z modrých odrůd obsahovala vyšší hodnoty než semena z bílých odrůd. V semenech révy vinné bylo identifikováno 14 fenolických sloučenin, mezi které patří **kyselina gallová**, kyselina kávová, kyselina *p*-kumarová, kyselina kutarová, kyselina ferulová, kyselina fertarová, *trans*-piceid, *trans*-piceatannol, rutin, kvercetin-3-β-D-glukosid, kvercitrin, myricetin, katechin a epikatechin. V největším množství byla zastoupena kyselina gallová, jejíž obsah byl nejvyšší v odrůdě Cerason (298 µg/g) a nejnižší v odrůdě Pálava (160 µg/g). Množství kyseliny kávové bylo stanoveno v rozmezí 46 µg/g (Tramín červený) až 19 µg/g (Hibernal) a množství kyseliny gallové v rozmezí 67 µg/g až 91 µg/g. Ve všech sledovaných odrůdách (rok 2015) byl průměrný obsah kyseliny gallové 225,4 µg/g, kyseliny kávové 27,92 µg/g, kyseliny *p*-kumarové 1,76 µg/g a kyseliny ferulové 3,10 µg/g.

Bylo prokázáno, že semena z hroznů mají významné antioxidační účinky. Nejvyšší hodnoty byly zjištěny u odrůdy Cerason a nejnižší u odrůdy Ryzlink vlašský napříč všemi metodami stanovení antioxidačních účinků a ve všech sledovaných letech.

Výše zmíněné informace potvrzují a předkládají potencionální nutraceutický a ekonomický užitek z odpadního materiálu při výrobě vína, kterého lze v budoucnu využít v různých odvětvích potravinářského průmyslu [25].

Rostlinné kořenové exsudáty obsahují ionty, volný kyslík, vodu, enzymy, sliz, primární a sekundární metabolity obsahující uhlík a také fenolické látky, které podporují růst rhizosférické půdní mikrobioty a přispívají k mineralizaci půdního fosforu a dusíku a k huminizaci. Fenolické látky také způsobují chelataci kovů a zlepšují pórovitost půdy. Na základě této schopnosti dochází ke zvýšení mobility a biologické dostupnosti základních prvků, mezi které patří například hořčík, draslík, vápník, zinek, měď, mangan, železo, bór a molybden, v kořenech rostlin. Většina fenolických látek v kořenových exsudátech slouží jako chemotaktické signály pro řadu půdních mikroorganismů a hrají tak klíčovou roli v komunikaci mezi rostlinami a mikroby v rhizosféře.

Cílem této studie bylo identifikovat fenolické látky v kořenovém exsudátu rostliny *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. (ibiškovec jedlý) z čeledi Malvaceae (slézovité), které jsou zodpovědné za chemotaktické přitahování endofytické *Alcaligenes faecalis.* Postupně byly popsány změny v obsahu fenolických kyselin v závislosti na působení prospěšných mikrobů následované škodlivými fytopatogeny, mezi které patří *Sclerotium rolfsii*.

Ibiškovec jedlý je víceúčelová plodina, jejíž ovoce je považováno za kulinářskou pochoutku a její sliz může být využit jako obnovitelný zdroj biologicky rozložitelného materiálu. Sliz ibiškovce je totiž plastický a vyznačuje se vysokou rozpustností ve vodě, pružností a viskozitou.

Byla provedena HPLC analýza kořenových exsudátů ibiškovce jedlého podle Singh a kol. (2014) s využitím systému HPLC Shimadzu LC-10A (Japonsko) ve spojení s duální pumpou LC-10A a UV detektorem SPD-10A, Phenomenex (Torrance, USA). K analýze byla použita C18 kolona (RP-Hydro, 4 μm, 250 mm × 4,6 mm) a mobilní fáze obsahovala 1% kyselinu octovou (A) a acetonitril (B). Byla provedena gradientová eluce. Po čtrnácti dnech od naočkování rostlin endofytickými bakteriemi byly odebrány kořenové exsudáty a byla provedena HPLC analýza před a po infekci *S. rolfsii*.

HPLC analýza prokázala přítomnost následujících fenolických kyselin: kyselina šikimová (0,111 mg/ml), **kyselina gallová** (1,6 mg/ml), kyselina vanilová (0,04 mg/ml), kyselina ferulová (0,03 mg/ml) a dále kvercetinu (0,001 mg/ml) a kempferolu (0,035 mg/ml). Bylo zjištěno, že kořenové exsudáty rostliny naočkované prospěšnými bakteriemi, vykazovaly výrazné odlišnosti v obsahu fenolických kyselin v závislosti na daném endofytickém izolátu. Izoláty BHU 12, BHU 16 a BHU M7 způsobily mimořádné zvýšení obsahu kyseliny šikimové a gallové (BHU 12 – 1,85 μg/g FW (fresh weight), respektive 0,17 μg/g FW, BHU 16 – 0,83 μg/g FW, resp. 0,04 μg/g FW, BHU M7 – 1,9 μg/g FW, resp. 0,07 μg/g FW). Dále bylo zjištěno, že kořenové exsudáty po naočkování izolátem BHU 12 vykazovaly, mimo další látky, zvýšené množství kyseliny ferulové a kyseliny salicylové, podobně jako kořenové exsudáty rostlin naočkovaných BHU 16. Ty se vyznačovaly, kromě přítomnosti kyseliny šikimové a gallové, obsahem kyseliny syringové. Naočkováním BHU M7 byla u exsudátu potvrzena přítomnost například kyseliny *p*-kumarové. Sazenice infikované kmenem *S. rolfsii*, které byly naočkované endofytickým izolátem BHU 12, vykazovaly 8,9 násobný, respektive 0,33 násobný vzrůst kyseliny šikimové a gallové ve srovnání s kontrolním vzorkem.

V případě BHU 16 byl vzrůst těchto látek 1,18 násobný, respektive 0,03 násobný, zatímco při naočkování sazenic BHU M7 byl prokázán 0,33 násobný pokles kyseliny gallové.

Bylo prokázáno, že mikroby zlepšily vestavěný obranný mechanismus hostitele. Tento efekt byl spojen se změnou obsahu fenolických kyselin v kořenovém exsudátu rostliny, která vedla k ochraně rostliny proti patogenům. Další zlepšení vykazovaly exsudáty rostliny infikované *S. rolfsii* [26].

Kyselinu gallovou obsahuje také rostlina *Clematis cirrhosa*, *Paeonia suffruticosa*, *Hypnum cupressiforme*, *Artiplex mollis*, *Punica granatum*, *Amaranthus tricolor*, *A. lividus*, *Catalpa speciosa*, *Taxus cuspidata*, *Oryza* spp., *Grindelia robusta*, *G. squarrosa*, *Camellia sinensis*, *Annona muricata*, *Solidago virgaurea, Artemisia absinthium*, *Solanum tuberosum*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Actidinia chinensis*, *A. deliciosa*, *A. polygama*, *Hippophae rhamnoides*, *Fagopyrum tataricum*, *Morus alba*, *Cucurbita pepo*, *C. moschata*, *Oenothera biennis*, *Salvia hispanica*, *Dendropanax morbifera*, *Alyssum montanum*, *Quercus robur*, *Q. alba*, *Q. petraea*, *Cyclea gracillima*, *Linum usitatissimum*, *Panicum miliaceum*, *Boehmeria nivea*, *Withania somnifera*, *Rosa canina* a Poaceae.

12 Kyselina ellagová

Kyselina ellagová byla izolována z rostliny *Punica granatum* L. (marhaník granátový) z čeledi Lythraceae (kyprejovité). Granátové jablko je jedlé ovoce, které pochází ze Středního východu. V tradiční medicíně se používá k léčbě bolesti a zánětlivých stavů, jako je peptický vřed a v Libyi je považován za život přinášející ovoce. Granátové jablko má antilipoperoxidační a antioxidační účinky a tlumí také neurogenní bolest. Toto ovoce by mohlo tlumit změny např. hyperalgezii vůči chladu, teplu a mechanickým podnětům a alodynii způsobenou dynamickým mechanickým podnětem či chladem. Kyselina ellagová významně snižuje tumor nekrotizující faktor α (TNF-α) a má příznivý efekt při léčbě rakoviny.

Cílem této studie bylo vyhodnotit protizánětlivé účinky jednotlivých sloučenin izolovaných z ethylacetátového extraktu *Punica granatum.* Protizánětlivé účinky byly stanoveny na základě inhibiční aktivity těchto látek na lipopolysacharid (LPS), který je

zodpovědný za uvolňování oxidu dusnatého (NO), prostaglandinu E_2 (PGE-2), interleukinu-6 (IL-6) a cyklooxygenasy-2 (COX-2) z buněk RAW264.7.

Ve studii byly použity čerstvé plody granátového jablka, *Punica granatum* z Libye z oblasti Tripolisu. Ovoce bylo sbíráno na podzim roku 2010.

Za účelem izolace a identifikace struktur fenolických látek obsažených v granátovém jablku byl připraven ethylacetátový extrakt a následně byla provedena HPLC a MS analýza se spektrometrií. Ethylacetátový extrakt byl podroben HPLC analýze Shimadzu s UV detektorem za využití kolony Luna Phenyl Hexyl (250 × 4,6 mm, 5 μm). Jako mobilní fáze byla využita 0,1% kyselina mravenčí (A) a 100% methanol (B). V extraktu byla identifikována kyselina ellagová, punikalagin A&B a kyselina gallová. Kyselina ellagová v množství 67 mg/g a punikalagin A&B v množství 52 mg/g byly stanoveny srovnáním se standardy a kyselina gallová odlišnou metodou, kterou zmínil Ben Saad a Kim, 2015. Hromadná detekce byla provedena prostřednictvím analýzy LC-MS Waters. K hodnocení inhibičního účinku kyseliny ellagové, punikalaginu A&B a kyseliny gallové na produkci NO bylo použito Griessovo činidlo, na měření produkce IL-6 a PGE-2 set pro imunotest a konkurenční set PGE-2 ELISA. Měření produkce COX-2 byla provedena pomocí techniky Western blot.

Studie prokázala, že všechny výše uvedené fenolické látky vykazovaly inhibiční účinek na produkci NO, PGE-2 a IL-6 v LPS indukovaných makrofázích buněk RAW264.7 a lze tedy předpokládat odpovědnost těchto látek za protizánětlivý účinek *Punica granatum* [27].

Kyselina ellagová je obsažena také v následujících rostlinách: *Amaranthus tricolor*, *A. lividus*, *Magnolia acuminata*, *Grindelia robusta*, *G. squarrosa*, *Aronia melanocarpa*, *Oenothera biennis*.

13 Kyselina salicylová

Velké množství fenolických kyselin se nachází v rostlinách rodu *Amaranthus* L. (laskavec), který patří do čeledi Amaranthaceae (laskavcovité). Čeleď zahrnuje 70 druhů rostlin, z nichž 20 se používá v potravinářském průmyslu (listy, zrno). Dají se zařadit mezi rychle rostoucí obilniny, zeleninu i okrasné rostliny s vysokým obsahem vlákniny, bílkovin,

karotenoidů, vitamínu C a minerálů, jako je vápník, hořčík, draslík, fosfor, železo, zinek, měď a mangan. *Amaranthus* je široce využíván v tradiční medicíně pro své antivirové, antimalarické, antidiabetické, antibakteriální a anthelmintické účinky. Rostlina rovněž působí jako protijed proti hadímu uštknutí. Listy obsahují značné množství antioxidačních pigmentů, mezi které řadíme betalain, β-xanthin a β-cyanin a další pigmenty, jako karotenoidy, anthocyaniny a chlorofyly. Bylo prokázáno, že červený amarant je na tyto pigmenty bohatší ve srovnání se zeleným amarantem. Rostlina rovněž obsahuje řadu látek s antioxidační aktivitou, např. vitamin C, fenolické kyseliny a flavonoidy a v důsledku toho působí preventivně proti řadě onemocnění, jako je rakovina, katarakta, ateroskleróza, retinopatie, artritida, emfyzém, neurodegenerativní a kardiovaskulární onemocnění.

Amarant obsahuje zelené a červené barvivo, jehož množství rozhoduje o jeho výsledném zařazení. Červený amarant má více pigmentů než zelený amarant a rovněž obsah dalších látek je v obou genotypech rozdílný. Studie stanovuje a srovnává obsahové látky tří genotypů červeného amarantu (*Amaranthus tricolor* – laskavec trojbarevný*)* a zeleného amarantu (*Amaranthus lividus* – laskavec hrubozel*)* jako listové zeleniny pomocí spektrofotometrie, HPLC a LC-MS.

Ke studii byly využity 2 genotypy červeného amarantu (*A. tricolor)* VA13 a VA3 a jeden genotyp zeleného amarantu (*A. lividus)* GRA1, které byly pěstovány v Bangladéši.

Analýza fenolických kyselin v rostlině byla provedena pomocí HPLC (Shimadzu SCL10Avp, Kjóto, Japonsko) s využitím metody Sarker a Oba a ve spojení s UV-VIS detektorem Shimadzu SPD-10Avp na koloně CTO-10AC (STR ODS-II,150 × 4,6 mm I.D. Shinwa Chemical Industries, Ltd, Kjóto, Japonsko). Jako mobilní fáze A byla použita kyselina octová ve vodě (6% v/v) a jako mobilní fáze B acetonitril. Porovnání retenčních časů a UV-VIS spektra vzorků a standardů vedlo k identifikaci jednotlivých sloučenin a hmotnostní spektrometrie tento výsledek potvrdila. Kvantitativní analýza pomocí HPLC stanovila celkový obsah fenolických kyselin a flavonoidů, který byl označen jako celkový fenolický index (TPI). V rámci studie byl použit hmotnostní spektrometr JOEL AccuTOF (JMS-T100LP, JEOL Ltd, Tokio, Japonsko) ve spojení s HPLC systémem a UV-VIS detektorem, který online využívá elektrosprejovou ionizaci jako zdroj (ESI) v režimu negativních iontů.

V rostlinách bylo identifikováno celkem 24 fenolických sloučenin, které zahrnovaly 9 fenolických kyselin odvozených od kyseliny benzoové, 7 fenolických kyselin odvozených

od kyseliny skořicové a 8 flavonoidů. Mezi fenolické kyseliny patří **kyselina salicylová**, kyselina protokatechová, kyselina vanilová, kyselina gallová, kyselina gentisová, kyselina β-resorcylová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyselina syringová, kyselina ferulová, kyselina ellagová, kyselina chlorogenová, kyselina sinapová, kyselina *trans*-skořicová, kyselina *m*-kumarová, kyselina kávová a kyselina *p*-kumarová. Obsah těchto fenolických kyselin byl mnohonásobně vyšší v červeném amarantu ve srovnání se zeleným amarantem. Flavonoidy rutin, hyperosid, kempferol, isokvercetin, kvercetin, myricetin, apigenin a katechin byly rovněž obsaženy ve vyšším množství v obou červených genotypech. Poslední 4 zmiňované flavonoidy byly v listech amarantu identifikovány nově ve srovnání s jinými studiemi.
V rámci obsahu fenolických kyselin měly v rostlinách největší zastoupení kyseliny odvozené od kyseliny benzoové, z nichž nejhojnější byla kyselina salicylová. Z kyselin odvozených od kyseliny skořicové byla nejvíce zastoupena kyselina chlorogenová [28].

Kyselina salicylová je, mimo jiné fenolické kyseliny, obsažena také v rostlině *Abelmoschus esculentus*, *Oryza* spp., *Grindelia robusta*, *G. squarrosa*, *Rehmannia glutinosa*, *Solidago virgaurea*, *Artemissia absinthium*, *Solanum tuberosum*, *Aronia melanocarpa*, *Picea abies*, *Larix decidua*, *Pinus sylvestris*, *Pseudotsuga menziesii*, *Juniperus communis*, *Quercus robur*, *Q. alba*, *Q. petraea* a *Nigella sativa*.

14 Kyselina protokatechová

Kyselina protokatechová (kyselina 3,4-dihydroxybenzoová, PCA) je jednoduchá fenolická kyselina, která se vyskytuje v mnoha rostlinách a je příčinou jejich farmakologických účinků. Vyznačuje se protizánětlivými, antioxidačními, antihyperglykemickými, antibakteriálními, protirakovinnými, spazmolytickými, neurologickými a protinádorovými účinky. Působí proti stárnutí, ateroskleróze, astmatu a vykazuje antivirové, analgetické, kardioprotektivní, hepatoprotektivní a nefroprotektivní účinky. Kyselina protokatechová je sloučenina běžně se vyskytující v lidské stravě, kde je obsažena například v hnědé rýži, v otrubách nebo cibuli (*Allium cepa* L. – cibule kuchyňská). Nachází se také v mnoha druzích ovoce, jako jsou švestky a hrozny, v ořechách a v rostlinách používaných k dochucení pokrmů, mezi které patří badyán (*Illicium verum* Hook f. – badyáník pravý), meduňka (*Melissa officinalis* L. – meduňka lékařská), rozmarýn (*Rosmarinus officinalis* L. – rozmarýna lékařská) a skořice (*Cinnamomum aromaticum* J.

Graham – skořicovník pravý). Kyselina protokatechová je také obsažena v květech rostliny *Hibiscus sabdariffa* L. – ibišek súdánský), v lokvátu japonském (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.), v houbách, v mrkvi (*Daucus carota* L. – mrkev obecná), ve víně, v medu, v sóji a v plodech druhu *Ficus* L. V jednotlivých druzích potravin je obsah PCA rozdílný. PCA je spolu s mnoha dalšími fenolickými kyselinami součástí Danshenu, kořene šalvěje červekořenné (*Salvia miltiorrhiza)*, který se používá k léčbě angíny pectoris a na akutní infarkt myokardu.

Kyselina protokatechová byla izolována z mnoha zdrojů pomocí různých metod. Zpočátku byla získána z pigmentovaných slupek cibule kuchyňské a dále z bakteriální kultury rodu *Vibrio*. Studie prokázaly vznik PCA oxidací kyseliny *p*-hydroxybenzoové pomocí bakterie *Pseudomonas fluorescens*. Další možnost, jakou lze získat tuto kyselinu spolu s kyselinou vanilovou a kyselinou *p*-hydroxybenzoovou, je extrakce z půdy za využití 0,1 M $Na_4P_2O_7$ a acetonu. PCA a dalších 8 fenolických látek bylo izolováno z ethylacetátové a *n*-buthanolové frakce ze slupek mandlí (*Prunus amygdalus* (L.) Batsch – mandloň obecná) a následně identifikováno na základě NMR a MS. Tato fenolická kyselina byla, spolu s dalšími látkami fenolické povahy, izolována také z koncentrované šťávy rakytníku pomocí vysokorychlostní protiproudé chromatografie (HSCCC) za využití dvoufázového systému *n*-hexan – *n*-butanol – voda. Jednotlivé fenolické sloučeniny byly identifikovány pomocí HPLC-ESI-MS-MS, 1D-NMR a 2D-NMR. Dalším zdrojem pro extrakci kyseliny protokatechové je rostlina *Scutellaria barbata* D. Don (šišák vousatý). Extrakce se provádí pomocí superkritického oxidu uhličitého (SC-CO_2) ve spojení s HPLC. Při extrakci s SC-CO_2 se používá jako rozpouštědlo voda, a proto je tato metoda vysoce ekologická. PCA byla extrahována rovněž z rostliny *Veronica americana* (Raf.) Schwein. ex Benth. (rozrazil americký).

Mezi významné zdroje kyseliny protokatechové dále patří *Vitis vinifera* L. (réva vinná), *Cibotium barometz* L. J. Smith (cibot), *Hedera helix* L. (břečťan popínavý), plody rostliny *Phyllanthus emblica* L. (smuteň lékařská), *Salvia miltiorrhiza* Bunge (šalvěj červenokořenná), *Alpinia oxyphylla* Miq. (galgán), *Oryza sativa* L. (rýže setá), *Gingko biloba* L. (jinan dvoulaločný), *Prunus domestica* L. (slivoň švestka), *Boswellia dalzielii* Hutch. (kadidlovník), *Hypericum perforatum* L. (třezalka tečkovaná) a *Ribes uva-crispa* L. (srstka angrešt) [29].

Kůra stromů se široce používá v tradiční medicíně k léčbě onemocnění, jako je například artritida, kapavka, revmatismus, úplavice a malárie. Je bohatá na antioxidačně a protirakovinně působící fenolické látky. Kůra se také používá k ošetření ran, na záněty, k terapii vředů a na zácpu.

Studie byla provedena u druhu *Catalpa speciosa* (Warder) Warder ex Engelm. (katalpa nádherná) z čeledi Bignoniaceae (trubačovité), který je rozšířen po celé Severní Americe a v některých částech Evropy. V mnoha jiných studiích bylo prokázáno, že listy dalších druhů rodu *Catalpa*, tzn. *C. ovata, C. fargesii, C. bignonioides, C. bungei*, obsahují velké množství fenolických látek a vykazují značnou antioxidační aktivitu.

Rod *Magnolia* zahrnuje mnoho druhů, mezi které patří například *Magnolia obovata* Thunb.*, M. biondii* Pamp., *M. officinalis* Rehder & E. H. Wilson a *M. acuminata* (L.) L. patřící do čeledi Magnoliaceae (šácholánovité). Sušené části šácholanu se používají k léčbě průjmu, otoku břicha, zácpy a kašle, kůra a semena druhů *Magnolia obovata*, *M. biondii*, *M. officinalis* mají protirakovinné a antioxidační účinky z hlediska obsahu specifických látek, jako je magnolol, honokiol a obovatol. V této studii byl analyzován druh *Magnolia acuminata* (šácholan zašpičatělý).

Ve studii byl dále zkoumán druh *Taxus cuspidata* Siebold & Zucc. (tis japonský) z čeledi Taxaceae (tisovité). Tato čeleď zahrnuje přibližně 13 dalších druhů tisu, přičemž listy a kůra druhu *Taxus wallichiana* Zucc. jsou používány k léčbě horečky, kašle a nachlazení a působí proti vzniku nádorů a kůra druhu *Taxus baccata* L. je známá farmaceutická surovina pro svůj obsah paclitaxelu, tj. látky s protirakovinnými účinky. Stejná látka byla nalezena i v druhu *Taxus cuspidata.*

Vzorky kůry *Catalpa speciosa*, *Taxus cuspidata* a *Magnolia acuminata* byly extrahovány a podrobeny chromatografické analýze HPLC-DAD (Merck-Hitachi, Tokio, Japonsko) s využitím kolony Purospher® RP-18e (4 × 250 mm, 5 ml, Merck, Berlín, Německo). Byla provedena gradientová eluce. Pro kvantitativní analýzu byla použita UV-DAD spektra a hodnoty t_r následujících standardů od firmy Sigma-Aldrich (Berlín, Německo): kyselina ellagová, kyselina gallová, kyselina 3,4-dihydroxyfenyloctová, kyselina protokatechová, kyselina gentisová, kyselina syringová, kyselina vanilová, kyselina salicylová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyselina skořicová, kyselina kávová, kyselina *p*-kumarová, kyselina ferulová, kyselina *o*-kumarová, kyselina *m*-kumarová, kyselina *p*-hydroxykávová, kyselina isoferulová, kyselina sinapová, případně kyselina rozmarýnová,

kyselina chlorogenová a neochlorogenové kyseliny. Jako další standardy byly použity katechiny a flavonoidy.

V kůře katalpy bylo identifikováno 7 fenolických kyselin: kyselina kávová (3,04 ± 0,45 mg·100 g^{-1} sušiny), kyselina *p*-hydroxybenzoová (6,42 ± 0,03 mg·100 g^{-1} sušiny), kyselina *p*-kumarová (3,28 ± 0,44 mg·100 g^{-1} sušiny), kyselina gallová (1,57 ± 0,04 mg·100 g^{-1} sušiny), **kyselina protokatechová** (3,22 ± 0.02 mg·100 g^{-1} sušiny), kyselina vanilová (5,77 ± 0,22 mg·100 g^{-1} sušiny) a kyselina ferulová, jejíž obsah byl nejvyšší s hodnotou 22,7 ± 0,18 mg·100 g^{-1} sušiny.

V kůře tisu byl zjištěn obsah kyseliny kávové (3,05 ± 0,01 mg 100 g^{-1} sušiny), kyseliny chlorogenové (8,30 ± 0,22 mg·100 g^{-1} sušiny), kyseliny gallové (2,04 ± 0,07 mg·100 g^{-1} sušiny), **kyseliny protokatechové** (20,97 ± 0,56 mg·100 g^{-1} sušiny), kyseliny *p*-hydroxybenzoové (2,42 ± 0,16 mg·100 g^{-1} sušiny) a kyseliny hydroxykávové, která byla v tisu detekována v nejvyšším množství 23,98 ± 1,3 mg·100 g^{-1} sušiny.

Kůra šácholanu obsahovala pouze 2 fenolické kyseliny, a to kyselinu ellagovou (0,43 ± 0,08 mg·100 g^{-1} sušiny) a **kyselinu protokatechovou** (15,31 ± 1,19 mg·100 g^{-1} sušiny).

Všechny testované extrakty v této studii vykazovaly protirakovinné účinky vůči buněčným liniím: MCF-7, HeLa, Jurkat, T24 a HT-29, kdy nejsilnější účinky byly pozorovány u extraktu z kůry *Magnolia acuminata*. Extrakty z kůry všech 3 testovaných druhů rodu *Magnolia* i kyselina protokatechová indukovaly apoptózu rakovinných buněk, z čehož vyplývá souvislost mezi protirakovinnými účinky a jednotlivými fenolickými látkami, která by mohla být předmětem dalšího výzkumu. Výsledky testů antioxidační aktivity prokázaly, že nejsilnější antioxidační aktivitu vykazoval rovněž extrakt z kůry šácholanu [30].

Vzhledem ke svým léčebným účinkům při horečce a bolestech břicha se často používá rostlina *Cardiocrinum cordatum* (Thunb.) Makino z čeledi Liliaceae (liliovité). Tato rostlina, původem z Japonska a z některých ostrovů ruského Dálného východu, je rovněž s oblibou konzumována a využívá se k dekoračním účelům.

Cílem studie bylo izolovat a identifikovat látky obsažené v listech rostliny *Cardiocrinum cordatum*, jejichž analýza je nutná k pochopení jejich potenciálu jako suroviny pro farmaceutické, kosmetické a potravinářské odvětví. K analýze byly použity mladé listy rostlin, které byly sesbírány v prefektuře Koči v Japonsku v květnu roku 2015 a ze kterých byly připraveny methanolové extrakty. Extrakty byly podrobeny opakované sloupcové

chromatografii s využitím MCI gelu CHP20P (75–150 μm, Mitsubishi Chemical Industries Co., Ltd., Tokio, Japonsko), Sephadex LH-20 (Amersham Pharmacia Biotech, Tokio, Japonsko) a Chromatorex ODS (30–50 μm, Fuji Silysia Chemical Co, Ltd., Aiči, Japonsko) a TLC s využitím silikagelu 60 F254 (0,2 mm, hliníková vrstva, Merck KGaA, Darmstadt, Německo).

V rostlině bylo detekováno 19 sloučenin, které byly identifikovány na základě srovnání jejich ^{1}H, ^{13}C- a 2D-NMR spekter s literaturou. Mezi tyto látky patří fenylpropanoidy, jako kyselina kávová (4,7 mg), methylester kyseliny kávové (1,8 mg), β-glukopyranosylester kyseliny kávové (14,2 mg), kyselina kávová 4-O-β-glukopyranosid (14,0 mg), kyselina ferulová (4,1 mg) a kyselina isoferulová (1,1 mg). Jako další látky byly identifikovány jednoduché fenolické sloučeniny (**kyselina protokatechová** – 9,7 mg, kyselina syringová – 5,0 mg, 2,6-dimethoxy-*p*-hydrochinon-1-O-β-glukopyranosid – 6,9 mg), eskuletin (2,4 mg), flavonoidy, deriváty nukleových kyselin a další látky.

Lze předpokládat, že flavonoidy a další fenolické látky patří mezi hlavní sloučeniny v nadzemních částech rostliny *Cardiocrinum cordatum* (listy, stonky a semena). Bylo zjištěno, že tyto látky mohou sloužit také jako chemotaxonomické markery v listech rostlin druhů *Cardiocrinum* (česky zvaný křínovec) [31].

Zdrojem mnoha látek s antioxidačními účinky, včetně fenolických kyselin, je rostlina *Verbena officinalis* L. (sporýš lékařský) z čeledi Verbenaceae (sporýšovité). Kvetoucí nadzemní části rostliny obsahují iridoidy (hlavně aukubin, verbenalin a hastatosid), fenylpropanoidové glykosidy (verbaskosid, isoverbaskosid, eukovosid) a fenolické kyseliny, mezi které patří kyselina ferulová, **kyselina protokatechová**, kyselina rozmarýnová, kyselina chlorogenová a deriváty kyseliny dikafeoylchinové. Sporýš dále obsahuje steroly, sacharidy, četné bioelementy, esenciální oleje, běžně se vyskytující flavonoidy (kempferol, luteolin, apigenin) i vzácné flavonoidy, jako skutellarein a pedalitin.

Rostlina je tradičně využívána pro své antimikrobiální, sekretolytické, expektorační a diuretické účinky a jako prostředek při léčbě deprese, nespavosti a úzkosti. Bylo prokázáno, že sporýš lékařský vykazuje antibakteriální, antioxidační, protiplísňové, protizánětlivé, analgetické, antikonvulzivní, anxiolytické, antidepresivní, sedativní, hypnotické a protirakovinné účinky. Rostlina také urychluje hojení ran, působí gastroprotektivně, má insekticidní účinky a používá se při léčbě onemocnění jater a žlučníku a v kosmetickém průmyslu.

Cílem výzkumu bylo optimalizovat podmínky pro růst agarové kalusové kultury *V. officialis* pro lepší produkci verbaskosidu a isoverbaskosidu a vzhledem k tomu byla hodnocena velikost inokula na růst biomasy a produkce sekundárních metabolitů. Dalším cílem bylo vytvoření suspenzní kultury této rostliny optimalizované pro růst inokula a produkci bioaktivních metabolitů a založení bioreaktorových kultur ve dvou různých typech bioreaktorů – bioreaktor balónového typu (BB – baloon bioreactor) a bioreaktor s míchací nádrží (STB – stirred-tank bioreactor).

Ve studii byly použity nadzemní části rostliny *Verbena officinalis*, které byly sklizeny v červenci roku 2017 v období květu v zahradě léčivých rostlin na Farmaceutické fakultě Jagellonské univerzity v polském Krakově.

Ke stanovení fenylpropanoidových glykosidů (verbaskosid a isoverbaskosid) a iridoidů (verbenalin a hastatosid) byla použita chromatografická metoda HPLC-DAD dle Schönbichlera a kol. (2013) a chromatografická analýza fenolických kyselin byla provedena pomocí HPLC-DAD (Merck-Hitachi) dle Ellnain-Wojtaszek a Zgórka (1999, 2017). Jako analytická kolona byla použita kolona Purospher RP-18e (4 × 250 mm, 5 ml, Merck, Darmstadt, Německo) a jako mobilní fáze byl použit methanol s 0,5% kyselinou octovou (1:4 v/v) a methanol s využitím gradientu.

V extraktech z biomasy agarových kultur byla prokázána přítomnost dvou fenylpropanoidových glykosidů, a to verbaskosidu a isoverbaskosidu a následujících šesti fenolických kyselin: kyselina protokatechová, kyselina chlorogenová, kyselina vanilová, kyselina kávová, kyselina ferulová a kyselina rozmarýnová. Mezi hlavní fenolické kyseliny patřila kyselina protokatechová a kyselina ferulová, jejichž obsah se pohyboval v rozmezí 6,91 až 9,58 mg/100 g sušiny, respektive 4,91 až 7,35 mg/100 g sušiny. Celkový obsah fenolických kyselin se lišil v závislosti na množství použitého inokula. Obsah se pohyboval od 19,42 mg/100 g sušiny (s použitím nejmenšího inokula 0,3 g) přes 26,90 mg/100 g sušiny (0,6 g inokula) po 25,00 mg/100 g sušiny (0,9 g inokula). Bylo zjištěno, že vysokou produkci sekundárních metabolitů zajišťuje množství 0,6 g inokulární biomasy.

Suspenzní kultury obsahovaly identický kvalitativní profil metabolitů jako agarové kultury, avšak celkový obsah fenolických kyselin byl v tomto případě téměř dvojnásobný. V závislosti na množství inokula byl stanoven obsah od 28,09 mg/100 g sušiny (1,5 g inokula) přes 49,46 mg/100 g sušiny (3 g inokula) po 50,72 mg/100 g sušiny (4,5 g inokula). Nejvíce obsaženými metabolity byly následující 3 kyseliny: kyselina protokatechová (2,09–

10,64 mg/100 g sušiny), kyselina ferulová (6,78–10,44 mg/100 g sušiny) a kyselina rozmarýnová (13,39–26,34 mg/100 g sušiny). Bylo zjištěno, že nejlepší podmínky pro růst biomasy a akumulaci sekundárních metabolitů zajišťuje množství 1,5 g inokulární biomasy.

V kulturách bioreaktorů bylo zjištěno stejné kvalitativní složení sekundárních metabolitů jako ve výše uvedených případech, přičemž celkový obsah fenolických látek v případě BB činil 19,88 mg/100 g sušiny a v případě STB byl téměř dvojnásobně vyšší s hodnotou 36,78 mg/100 g sušiny. Nejdominantnějšími metabolity byly tyto kyseliny: kyselina protokatechová (5,07 a 9,68 mg/100 g sušiny v BB, respektive v STB), kyselina ferulová (2,12 a 7,10 mg/100 g sušiny) a kyselina rozmarýnová (10,22 a 14,87 mg/100 g sušiny).

U rostliny bylo dále provedeno stanovení celkového fenolu metodou Folin-Ciocalteu s využitím kalibrační křivky kyseliny gallové jako standardu, určení antioxidační aktivity pomocí metody DPPH, metody založené na schopnosti redukovat železité ionty (Fe^{3+}) a metody stanovující chelatační kapacitu železnatých iontů (Fe^{2+}). V průběhu studie byl sledován účinek proti čtyřem kmenům grampozitivních bakterií (*Staphyloccocus epidermidis*, *S. aureus*, *Bacillus cereus* a *Listeria monocytogenes*) a proti osmi kmenům gramnegativních bakterií (*Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *enteritidis*, *Enterobacter aerogenes* a *Escherichia coli*).

Vzhledem k výsledkům testů této studie bylo prokázáno, že kultury udržované v STB mohou sloužit jako cenný zdroj bioaktivních sloučenin [32].

Jedním z nejpoužívanějších bylinných léků po celém světě je kořen rostliny *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* (Bunge) P. K. Hsiao (česky zvaný kozinec) z čeledi Fabaceae (bobovité), který má imunomodulační, antihyperglykemické, protizánětlivé, antioxidační a antivirové účinky. V tradiční čínské medicíně je používán po tisíce let. Za účelem zvýšení výnosu podzemních kořenů kozince byly odstraňovány květy (AMF) v jejich kvetoucí fázi. To mělo za následek plýtvání rostlinnými zdroji, které by mohly být dále využity. Vzhledem k tomu, že předchozí studie uvádí přítomnost flavonoidů, triterpenových saponinů, fenolických kyselin a těkavých látek v květech některých druhů rodu *Astragalus*, respektive flavonoidů, sacharidů, aminokyselin a triterpenových saponinů v květech druhu *A. membranaceus,* lze považovat AMF za potenciální surovinu ve zdravotnictví.

Cílem studie bylo ověřit antioxidační účinky květů *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* a stanovit obsahové látky, které s nimi souvisí.

Ke studii byly použity květy z dvouletých rostlin pocházejících z okresu Hunyuan (Shanxi, Čína), které byly sesbírány v červenci roku 2016.

K analýze byl připraven vodný extrakt (AE), ethanolový extrakt (EE) a extrakty LE (lyofilizovaný prášek s 10 % eluentu), ME (lyofilizovaný prášek s 50 % eluentu), HE (lyofilizovaný prášek s 90 % eluentu), které vznikly na základě separace ethanolového extraktu s využitím kolony z makroporézní pryskyřice AB-8 (7,0 cm × 80 cm).

Stanovení celkového množství fenolických látek (TPC) bylo provedeno pomocí metody Folin-Ciocalteu a stanovení celkového množství flavonoidů (TFC) bylo provedeno pomocí kolorimetrického testu na bázi dusičnanu hlinitého s použitím rutinu jako standardu. Jednotlivé fenolické sloučeniny byly identifikovány pomocí ultra účinné kapalinové chromatografie na systému Acquity^{TM} UPLC (Waters Corp. Milford, MA, USA) vybaveném diodovým detektorem ve spojení s elektrosprejovým ionizačním hmotnostním detektorem (UPLC-DAD-ESI/MS^{n}). Byla použita kolona Acquity UPLC^{TM} BEH C18 (100 mm × 2,1 mm i.d., 1,7 μm, Waters Corp. Milford, MA, USA) a jako mobilní fáze A byla využita 0,1% kyselina mravenčí ve vodě a jako mobilní fáze B acetonitril. Byla provedena gradientová eluce. Hmotnostní detekce byla provedena v pozitivním i negativním režimu elektrospreje s pomocí Synapt^{TM} Q-TOF MS (Waters, Manchester, Velká Británie). Sloučeniny byly identifikovány na základě porovnání retenčních časů, UV spekter a hmotnostních spekter těchto látek s příslušnými standardy či na podkladě porovnání získaných údajů s dostupnou literaturou. Kvantitativní analýza byla stanovena pomocí systému UPLC-MS/MS (ACQUITY UPLC, Xevo TQ tandemový kvadrupólový hmotnostní spektrometr, Waters Corporation, Milford, MA, USA) s využitím kolony Acquity BEH C18 (2,1 mm × 100 mm, 1,7 μm) a 0,1% kyseliny mravenčí ve vodě (mobilní fáze A) a acetonitrilu (mobilní fáze B) s gradientovou elucí. Detekce byla provedena v pozitivním i v negativním režimu.

U extraktů byly uskutečněny testy na zjištění jejich antioxidačního účinku, mezi které patří záchytné testy volných radikálů (DPPH, ABTS) a metoda FRAP. Bylo zjištěno, že extrakt označený jako ME vykazuje značné antioxidační účinky, a proto vystupuje jako důležitý zdroj antioxidantů pro potravinářský a farmaceutický průmysl.

V případě stanovení TPC a TFC bylo zjištěno, že nejvyšší hodnoty obsahuje extrakt ME. Vzhledem k výsledkům testů na stanovení antioxidačních účinků lze předpokládat jejich vzájemnou pozitivní korelaci.

V extraktu ME bylo identifikováno a charakterizováno 31 sloučenin různých struktur včetně fenolických kyselin, flavonoidů, isoflavonů apod. Kvantitativně bylo vyhodnoceno 16 sloučenin, mezi které patří **kyselina protokatechová**, kyselina kávová, kyselina vanilová, kyselina ferulová, rutin, kalykosin-7-O-β-D-glukosid, hyperosid, astragalin, isorhamnetin-3-O-β-D-glukosid, (–)-methylinissolin-3-O-β-D-glukosid, kvercetin, kalykosin, kempferol, isorhamnetin, formononetin a rhamnocitrin. V různých extraktech bylo obsaženo rozdílné množství jednotlivých látek, přičemž extrakt ME obsahoval mimo formononetin všechny výše uvedené látky, a to ve velkém množství. ME byl bohatý na fenolické kyseliny, jejichž obsah byl 108,42 mg ekvivalentu kyseliny gallové/g extraktu, stejně jako na flavonoidy, které dosáhly hodnoty 265,70 mg ekvivalentu rutinu/g extraktu. Převládající sloučeninou v extraktu ME byl hyperosid, následovaný rutinem, isorhamnetin-3-O-β-D-glukosidem a astragalinem, jejichž obsah činil 16,285 ± 0,195 mg/g, 6,099 ± 0,080 mg/g, 4,970 ± 0,048 mg/g, respektive 4,810 ± 0,028 mg/g. Extrakt HE obsahoval především flavonové aglykony (kalykosin, rhamnocitrin, kvercetin) a u extraktu LE byly detekovány pouze 4 analyty, a to v malém množství. Celkové množství flavonoidů výrazně převážilo celkové množství fenolických kyselin napříč všemi extrakty.

Výsledky studie naznačují, že je užitečné využívat rovněž vedlejší produkty rostliny *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* [33].

Kyselina protokatechová je obsažena rovněž v následujících rostlinách: *Hypnum cupressiforme*, *Amaranthus tricolor*, *A. lividus*, *Oryza* spp., *Grindelia robusta*, *G. squarrosa*, *Rehmannia glutinosa*, *Annona muricata*, *Solidago virgaurea*, *Mammilaria* spp., *Solanum tuberosum*, *Aronia melanocarpa*, *Actidinia chinensis*, *A. polygama*, *Hippophae rhamnoides*, *Cucurbita pepo*, *C. moschata*, *Oenothera biennis*, *Dendropanax morbifera*, *Alyssum montanum, Quercus robus*, *Q. alba*, *Q. petraea*, *Linum usitatissimum* a *Rosa canina*.

15 Kyselina vanilová

Na fenolické kyseliny je bohatá také celozrnná rýže (*Oryza* L. z čeledi Poaceae – lipnicovité). Pro svůj vysoký obsah nutrientů tvoří základ stravy v mnoha zemích světa. Celozrnná rýže se také označuje jako hnědá rýže a oproti bílé rýži obsahuje všechny části zrna, jako jsou otruby, klíčky a endosperm. Celozrnná rýže je dále klasifikována podle pigmentace vnější vrstvy na rýži černou, fialovou, červenou apod., přičemž všechny působí prospěšně na zdraví. Bylo prokázáno, že celozrnná rýže příznivě ovlivňuje kardiovaskulární riziko a při konzumaci předklíčené hnědé rýže dochází k pozitivnímu účinku při léčbě deprese, záchvatů nelibosti a nepřátelství a únavy u kojících matek. Naklíčená hnědá rýže má antidiabetické účinky. Výše uvedené účinky na zdravotní stav pacientů je spojován s přítomností polyfenolických sloučenin v hnědé rýži, mezi které patří fenolické kyseliny, flavonoidy, anthocyaniny a proanthocyanidiny.

Anthocyaniny jsou ve vodě rozpustné pigmenty, které přispívají k barvě ovoce a zeleniny a v případě černé rýže byla zjištěna schopnost těchto látek inhibovat buněčnou motilitu rakovinných buněk mnoha typů. Extrakty s obsahem anthocyaninů rovněž snižují hyperaktivitu krevních destiček, hypertriglyceridémii a nárůst hmotnosti u samců potkanů, kteří trpí dyslipidémií. Mezi tyto látky patří deriváty cyanidinu, peonidinu, malvidinu a pelargonidinu. V červené rýži byly dále identifikovány oligomerní polyfenoly, proanthocyanidiny, které rýži propůjčují významné antioxidační vlastnosti. V celozrnné rýži je obsažena řada fenolických kyselin, mezi které patří například kyselina salicylová, kyselina 4-hydroxybenzoová, kyselina gentisová, kyselina protokatechová, kyselina gallová, kyselina syringová a **kyselina vanilová**. Z hydroxyskořicových kyselin se v rýži nejčastěji nachází následující kyseliny: kyselina *p*-kumarová, kyselina kávová, kyselina ferulová, kyselina isoferulová, kyselina sinapová, kyselina kafeoylchinová, kyselina *p*-kumaroylchinová a kyselina feruloylchinová.

Analytické stanovení kvalitativně-kvantitativního profilu polyfenolických látek obsažených v rýži je nezbytným předpokladem pro hodnocení výživové hodnoty a zdravotních přínosů spojených s konzumací rýže, a proto tato studie věnuje zvláštní pozornost nejnovějším strategiím pro extrakci cílových sloučenin z hnědé rýže spolu s přijatými analytickými postupy pro separaci, identifikaci a kvantifikaci fenolických kyselin, flavonoidů, anthocyaninů a proanthocyanidinů.

Extrakce je klíčovým krokem při stanovení fenolických sloučenin v rýži, přičemž nejpoužívanějším postupem při izolaci těchto látek je macerace. Vzhledem k povaze cílových analytů se používají různé směsi polárních rozpouštědel, jako je například aceton/voda (70/30, v/v) pro extrakci volných fenolů z černé, červené a divoké rýže a anthocyaninů a proanthocyanidinů z červené rýže. Bylo prokázáno, že okyselení směsi polárních rozpouštědel vede k lepší izolaci anthocyaninů z pigmentovaných druhů rýže, a proto se v tomto případě používá směs aceton/voda/kyselina octová (70/29,5/0,5, v/v/v). Extrakci fenolických sloučenin lze zlepšit použitím ultrazvuku, který podporuje difúzi fenolických sloučenin z rostlinných buněk do média rozpouštědla. Jako pokročilejší technika byla ve studii Setyaningsih et. Al (2015) použita tzv. mikrovlnná extrakce (MAE – Microwave Assisted Extraction), která umožnila získání extraktu bohatého na fenolické sloučeniny v krátkém čase.

V rámci stanovení kvali-kvantitativního profilu fenolických sloučenin v rýži představuje nejpoužívanější analytickou metodu HPLC. Pro analýzu fenolických kyselin společně s flavonoidy se používá kolona C18 s reverzní fází. Při gradientové eluci se jako mobilní fáze A používá vodný roztok kyseliny octové, popřípadě kyseliny trifluoroctové nebo kyseliny mravenčí a jako mobilní fáze B acetonitril nebo methanol, přičemž obě rozpouštědla mohou být okyselena kyselinou octovou nebo kyselinou trifluoroctovou. Identifikace fenolických kyselin se provádí nejčastěji hmotnostní spektrometrií v negativním režimu za využití elektrosprejové ionizace (ESI) jako zdroje. Za vhodný zdroj při detekci fenolických kyselin prostřednictvím hmotnostní spektrometrie je rovněž považována chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI – Atmospheric Pressure Chemical Ionization). Kromě kapalinové chromatografie bývá prováděna i plynová chromatografie (GC – Gas Chromatography). Pro stanovení celkového obsahu fenolických látek se používá Folin-Ciocalteuova kolorimetrická metoda. Ta je založena na tvorbě modrých komplexů na bázi molybdenu a wolframu, které lze spektrofotometricky identifikovat.

Ačkoli jsou metody analýzy provedené správně, postrádají jakoukoli informaci o přesnosti a správnosti údajů. A proto je třeba zaměřit další výzkum na vývoj metod zaměřených na komplexní stanovení různých sloučenin obsažených v rýži a na posouzení spolehlivosti kvantitativních údajů [34].

Vytrvalé rostliny *Grindelia robusta* Nutt (grindélie, syn. zaplevanka mohutná) a *Grindelia squarrosa* (Pursh) Dunal (grindélie rozkladitá) patřící do čeledi Asteraceae (hvězdnicovité) se používají v tradiční medicíně jako expektorancia a antiastmatika pro své

protizánětlivé a spasmolytické účinky. Hlavní složkou těchto rostlin jsou bicyklické labdanové diterpenové kyseliny označované jako grindelany. Rostliny dále obsahují methylované flavonoidy, silice, triterpenoidní saponiny, polyacetyleny, taniny a fenolické kyseliny. V předchozích studiích bylo zjištěno, že se v květech daných rostlin nachází **kyselina vanilová**, kyselina ferulová, kyselina *p*-kumarová a kyselina *p*-hydroxybenzoová a v celých rostlinách pak kyselina chlorogenová a kávová.

Cílem této studie bylo identifikovat a stanovit obsah jednotlivých fenolických kyselin v květech a listech dvou druhů rodu *Grindelia*, a to v *G. robusta* a *G. squarrosa*.

Rostliny byly pěstovány v zahradě léčivých rostlin, na Lékařské univerzitě v Lodži a byly sbírány v červenci a v srpnu roku 2008 ze šestiletých rostlin.

Byly připraveny etherové extrakty z květů a listů, které byly podrobeny kvalitativní analýze pomocí 2D-TLC a RP-HPLC. K analýze prostřednictvím 2D-TLC byla použita celulóza (Celulóza DC – Alufolien 20 × 20 cm, tloušťka vrstvy 0,1 mm, Merck, Německo) a systém S1, který se skládal z toluenu, kyseliny octové a vody v poměru 6:7:3 (v/v/v) a systém S2, který byl složen z kyseliny octové a vody v poměru 15:85 (v/v). Následně byla provedena detekce pomocí UV záření. Jako další metoda byla použita RP-HPLC. Tento systém byl složený z chromatografu Hewlett-Packard 1100 s UV-VIS detektorem HP 1314 A a náplňové kolony LichroCART (250 × 4 mm) naplněné Lichrosphere 100 RP-18 (5 µm, Merck, Darmstadt, Německo) s využitím ochranné kolony Hypersil ODS (4 × 4 mm, 5 µm, HP, Německo). Byla provedena gradientová eluce prostřednictvím dvou mobilních fází, a to vody a kyseliny fosforečné v poměru 99,5:0,5 (mobilní fáze A) a acetonitrilu (mobilní fáze B). Kvantitativní analýza fenolických kyselin byla stanovena spektroskopickou metodou popsanou v polském lékopise VIII s využitím Arnovova činidla.

V rostlinách bylo identifikováno celkem 11 fenolických kyselin – kyselina gallová, kyselina protokatechová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyselina *p*-hydroxyfenyloctová, kyselina chlorogenová, kyselina vanilová, kyselina kávová, kyselina *p*-kumarová, kyselina ferulová, kyselina ellagová a kyselina salicylová. Studie prokázala přítomnost všech fenolických kyselin v obou druzích rostlin, mimo kyselinu gallovou, která nebyla přítomna v listech druhu *G. squarrosa* a mimo kyselinu *p*-hydroxyfenyloctovou, která nebyla detekována v listech obou druhů. Obsah volných kyselin nevykazoval významné rozdíly v závislosti na sledovaném druhu, ovšem rozdíly byly patrné z hlediska obsahu fenolických kyselin získaných kyselou nebo zásaditou hydrolýzou. Mezi nejvíce zastoupenou fenolickou

kyselinu patří kyselina vanilová, která byla získána jak kyselou, tak zásaditou hydrolýzou. Mezi další látky, které byly v rostlinách detekovány v nejvyšším množství, patří kyselina *p*-hydroxybenzoová a kyselina protokatechová, avšak pouze po alkalické hydrolýze. Stejně tak převládala kyselina ellagová v listech *G. robusta*.

Nejvyšší celkový obsah fenolických kyselin, vyjádřený ve vztahu ke kyselině kávové, byl stanoven v květech druhu *G. robusta* s hodnotou 7,33 mg/g sušiny [35].

V tradiční čínské medicíně je velmi ceněna vytrvalá bylina *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Steud. (rehmanie lepkavá) z čeledi Orobanchaceae (zárazovité), která se používá k léčbě endokrinního, kardiovaskulárního, nervového a imunitního systému. Největší léčivé účinky mají podzemní hlízy, jejichž kvalita ovšem významně poklesla vlivem rozšiřování monokultur této rostliny, které jsou na polích vysazovány každých 15–20 let. Příčiny problémů spojených s rozšiřováním monokultury *R. glutinosa* byly jedním z hlavních předmětů zájmu v Číně, kdy studie zabývající se problémy po sobě jdoucích monokultur (CMP) byly zaměřeny na nedostatek živin v půdě a autotoxicitu allelochemických látek v kořenových exsudátech.

V předchozích studiích byla prokázána schopnost monokultury rehmanie lepkavé uvolňovat fenolické kyseliny do rhizosféry. Mezi tyto kyseliny patří kyselina 4-hydroxybenzoová, **kyselina vanilová**, kyselina salicylová a kyselina ferulová.

Studie byla zaměřena na sledování vlivu bakterií a hub v rhizosféře v rámci čtyřletého pokusu. Ten byl uskutečněn prostřednictvím metody T-RFLP (polymorfismus délky terminálního restrikčního fragmentu) v kombinaci s kvantitativní technikou PCR.

Bylo zjištěno, že nadzemní i podzemní biomasa sledované rostliny se významně liší v závislosti na délce trvání monokultur. Čtyřletá monokultura vykazuje výrazně nižší nadzemní i podzemní biomasu ve srovnání s monokulturou jednoletou. Postupná monokultura vždy vede k dřívějšímu uvadnutí nadzemních částí rostliny, přičemž tento efekt se zhoršuje se zvyšujícím se stářím monokultury. Stejně tak tomu je v případě vývoje podzemní kořenové hlízy. Kořenová hlíza s postupem let vzniká v menší míře nebo úplně zaniká.

V kořenových exsudátech rehmanie bylo identifikováno devět následujících fenolických kyselin: kyselina *p*-kumarová, kyselina protokatechová, kyselina ftalová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyselina vanilová, kyselina syringová, kyselina benzoová, kyselina ferulová a kyselina salicylová. V kořenech byl dále detekován vanilin. Kvantitativní analýza

těchto látek byla provedena pomocí metody HPLC, na jejímž základě bylo zjištěno, že se v rhizosféře nachází všechny výše zmíněné látky kromě kyseliny kumarové a kyseliny salicylové. Množství fenolických kyselin v rhizosféře se s délkou trvání monokultury nezvyšovalo.

Výzkum kultivaru rostliny *Rehmannia glutinosa* byl proveden v zemědělském institutu Wenxian ve městě Jiaozuo v provincii Henan na nově vysazených rostlinách a na dvouleté, tříleté a čtyřleté po sobě jdoucí monokultuře. Dne 1. srpna roku 2013 byly odebrány vzorky ze všech sledovaných stanovišť a ty byly podrobeny extrakci a následné kvantitativní analýze pomocí systému HPLC (Shimadzu, Japonsko) za použití kolony ODS-C18 (Inertsil ODS-SP, 4,6 × 250 mm, 5 μm, Japonsko) a směsi následujících mobilních fází: 28 % mobilní fáze A (100% methanol) a 72 % mobilní fáze B (2% kyseliny octová).

Ve všech vzorcích byla potvrzena přítomnost bakterie rodu *Pseudomonas*, stejně jako houby *Fusarium oxysporum*, čehož bylo dosaženo s využitím kvantitativní metody PCR.

Byl prokázán vliv fenolických kyselin v kořenových exsudátech na růst bakterie *Pseudomonas* sp. W12 a houby *Fusarium oxysporum*, kdy na růst houby měla významný vliv především kyselina vanilová a ferulová. V průběhu studie bylo zjištěno, že směs fenolických kyselin v rhizosféře inhibovala růst *Pseudomonas* sp. W12, a to především kyselina vanilová a kyselina ferulová. V čtyřleté monokultuře byl prokázán významný pokles bakterií *Pseudomonas*.

Výsledky studie ukazují, že po exogenním dodání antagonisticky působících bakterií rodu *Pseudomonas*, dochází k účinnému snížení infekce rostlin houbou *F. oxysporum* a v důsledku nerovnováhy mezi těmito dvěma kmeny mohou nastat vážné problémy v rozšířených monokulturách, mezi které patří pokles biomasy rostliny. Dále lze předpokládat, že příčinou poklesu biomasy rehmanie u čtyřleté po sobě jdoucí monokultury je pokles prospěšných bakterií s antagonistickými účinky proti patogenům vyskytujícím se v rhizosféře a zvýšená náchylnost rostliny k chorobám, které byly způsobeny špatným růstem rostliny v období dominance patogenů.

Rozšířená monokultura vede k poklesu množství prospěšných a k vzrůstu patogenních a toxiny produkujících mikroorganismů [36].

Mezi další rostliny, které obsahují **kyselinu vanilovou**, patří *Artiplex mollis*, *Abelmoschus esculentus*, *Amaranthus tricolor*, *A. lividus*, *Catalpa speciosa*, *Verbena*

officinalis, *Astragalus membranaceus*, *Solidago virgaurea, Solanum tuberosum*, *Aronia melanocarpa*, *Hippophae rhamnoides*, *Morus alba*, *Teucrium flavum*, *T. arduini*, *Cucurbita pepo*, *C. moschata*, *Dendropanax morbifera*, *Alyssum montanum*, *Echinacea purpurea*, *Quercus robur*, *Q. alba*, *Q. petraea*, *Nigella sativa*, Poaceae, *Linum usitatissimum*, *Panicum miliaceum*, *Avena sativa*, *Withania somnifera* a *Rosa canina*.

16 Kyselina chinová

Kyselina chinová patří mezi 50 fenolických sloučenin, které byly identifikovány v rostlině *Camellia sinensis* (L.). Kuntze (čajovník čínský) z čeledi Theaceae (čajovníkovité). Čaj patří mezi nejoblíbenější nealkoholické nápoje na světě. Je pokládán za nápoj, jehož denní spotřeba přispívá ke zlepšení zdraví a k dlouhověkosti. Studie prokázaly, že čaj obsahuje množství fenolických sloučenin, které vykazují antioxidační, antimutagenní, protirakovinné, antidiabetické, antibakteriální a protizánětlivé účinky. Látky obsažené v čaji dále příznivě působí při léčbě hypertenze, kardiovaskulárních onemocnění a Parkinsonovy choroby, působí jako ochrana proti UV záření, má vliv při kontrole tělesné hmotnosti a snižuje množství tělesného tuku. Konzumace čaje prokazatelně snižuje výskyt rakoviny a zlepšuje homeostázu glukosy.

K analýze byla použita více než 3 roky stará rostlina čajovníku čínského z Experimentální čajové zahrady ze Zemědělské univerzity v Anhui v Číně. Z rostliny byly odebrány mladé výhonky (pupen, první list, druhý list, třetí list, čtvrtý list a mladé stonky) a kořeny, které byly zmrazeny v kapalném dusíku.

Identifikace a kvantifikace fenolických sloučenin byla provedena pomocí LC-TOF-MS (Liquid Chromatography – Time Of Flight – Mass Spectrometry) s detektorem diodového pole (DAD) a UPLC-QQQ-MS/MS (Ultra Performance Liquid Chromatography – Triple quadrupole Mass Spektrometry) metody od společnosti Agilent Technologies (Palo Alto, CA, USA). V případě prvně zmíněné metody byla použita kolona Phenomenex Synergi 4 u Fusion RP-80 (250 mm × 4,6 mm, 5 μm) a jako mobilní fáze 1% kyselina octová ve vodě a 100% acetonitril. Hmotnostní spektrometrie byla provedena v pozitivním i negativním režimu elektrosprejové ionizace. Při analýze UPLC-QQQ-MS/MS byla použita kolona 20RBAX RRHD Eclipse Plus C18 (100 mm × 2,1 mm, 1,8 μm) a jako mobilní fáze 0,4% kyselina octová ve vodě a 100% acetonitril. Hmotnostní spektrometrie byla rovněž provedena

v pozitivním i negativním režimu elektrosprejové ionizace. Jednotlivé fenolické sloučeniny byly identifikovány pomocí LC-MS. Z 50 fenolických sloučenin, identifikovaných v čajovníku čínském, bylo 29 látek kvantifikováno na základě jejich fragmentačního chování.

Na základě srovnání retenčních časů (t_R), vlnové délky při maximální absorbanci (λmax), protonovaných/deprotonovaných molekul ($[M+H]^+$/$[M+H]^-$) a fragmentových iontů s příslušnými standardy a s dostupnou literaturou bylo zjištěno, že se v čaji nachází, mimo jiné látky, deriváty hydroxyskořicových (HCA) a hydroxybenzoových (HBA) kyselin. Mezi HCA deriváty, které byly identifikovány, patří kyselina kafeoylchinová, kyselina *p*-kumaroylchinová a kyselina chinová a z derivátů HBA byly obsaženy následující sloučeniny: kyselina gallová, β-glukogallin a kyselina galloylchinová. Kyselina galloylchinová se ze všech derivátů kyseliny gallové vyskytovala v největším množství.

Obsah fenolických sloučenin v různých orgánech a listech v různých vývojových stádiích se značně lišil. Jednalo se především o deriváty kyseliny gallové, kyselinu chinovou a deriváty HCA, kdy obsah všech tří derivátů kyseliny gallové v listech výrazně poklesl v závislosti na jejich vývoji. Příkladem může být porovnání množství β-glukogallinu a kyseliny galloylchinové ve čtvrtém listu a v pupenu. Ve čtvrtém listu poklesl obsah těchto látek na hodnoty 10,37 % a 11,69 % ve srovnání s pupenem. Nejvyšší množství kyseliny chinové se nacházelo ve stonku. Ve stonku a v kořenu byl stopový obsah derivátů kyseliny gallové a HCA. Deriváty hydroxyskořicových kyselin byly identifikovány v největším množství v prvním listu, následně v pupenu a v dalších listech obsah těchto látek výrazně poklesl. Lze konstatovat, že většina fenolických látek identifikovaných v čajovníku čínském byla obsažena ve vyšším množství ve vývojově mladších listech než ve stonku a v kořenech, zatímco celkové množství proanthocyanidinu bylo vyšší v kořenech [37].

Kyselina chinová je přítomna také v rostlině *Coffea arabica*.

17 Kyselina syringová

Rostlina *Annona muricata* L. (anona ostnitá) je známá rovněž pod názvem láhevník ostnitý a její plody, případně celá rostlina, se lidově nazývá soursop. Anona patří do čeledi Annonaceae (láhevníkovité) a její listy, stonky, kořeny, semena a dužina se používají k léčbě

diabetu, rakoviny, kardiovaskulárních onemocnění, parazitárních infekcí a působí proti zánětu.

Tradičně jsou fenolické sloučeniny extrahovány z rostlin konvenčními extrakčními metodami, které mají ovšem vysoké ztráty z důvodu oxidace, ionizace a hydrolýzy těchto látek. Alternativní technologií k těmto metodám je extrakce podporovaná ultrazvukem, tzv. UAE (Ultrasound-Assisted Extraction), jejíž účinnost závisí na použitém rostlinném materiálu.

Cílem této studie je vyhodnotit vliv podmínek UAE na extrakci fenolických látek ze semene, slupky, columelly a dužiny rostliny *Annona muricata.* K optimalizaci parametrů (doba extrakce, pulzní cyklus, amplituda ultrazvuku) ultrazvukové extrakce byla použita metoda RSM (Response Surface Methodology) s využitím nástroje Box-Behnken design (BBD).

Ve studii byly použity plody z rostlin pocházejících z Compostely, Nayaritu a Mexika. Prostřednictvím ultrazvukového systému UP400S (400 W, frekvence 24 kHz) (Hielscher Ultrasonics, Teltow, Německo) byla provedena extrakce polyfenolických sloučenin z příslušných částí rostliny a pomocí Montreau postupu s mírnými úpravami za využití Folin-Ciocalteuova činidla byl stanoven jejich obsah v extraktech. Fenolické látky byly částečně identifikovány pomocí UAE a konvenční extrakce a dále pomocí HPLC (Agilent Technologies 1260 Infinity, Waldbronn, Německo) vybavené detektorem fotodiodového pole. K analýze byla použita kolona C18 s reverzní fází (5 μm, 4,6 mm × 250 mm, Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, USA) a jako mobilní fáze voda okyselená 2% kyselinou octovou (A) a okyselená voda (0,5% kyselina octová) - methanol v poměru 10:90 (B).

V anoně bylo identifikováno celkem 9 fenolických kyselin, mezi které patří kyselina gallová, kyselina *p*-kumarová, kyselina skořicová, kyselina kávová, kyselina chlorogenová, kyselina protokatechová, kyselina 4-hydroxybenzoová, kyselina syringová a kyselina neochlorogenová. Detekce jednotlivých kyselin a jejich koncentrace závisela na použitém rostlinném materiálu a metodě extrakce. Obsah kyseliny gallové (0,36 – 15,86 μg/g sušiny), kyseliny kumarové (0,07 – 1,37 μg/g sušiny) a kyseliny chlorogenové (9,18 – 32,67 μg/g sušiny) v různých částech rostliny byl vyšší při extrakci pomocí UAE ve srovnání s konvenční extrakční metodou (0,08 – 0,61; 0,05 – 0,08; 3,15 – 13,08 μg/g sušiny v uvedeném pořadí) v důsledku čehož lze označit metodu UAE za účinnou technologii pro extrakci těchto

bioaktivních sloučenin. Kyselina syringová byla nejvíce zastoupenou fenolickou kyselinou a její nejvyšší množství bylo zjištěno ve slupce pomocí UAE (883,71 ± 3,94 μg/g sušiny).

Stanovení optimálních podmínek pro UAE za účelem získání nejvyššího celkového množství polyfenolů ze semen, columelly, dužiny a slupky anony bylo závislé na použitém rostlinném materiálu. Nejvyšší obsah celkového fenolu byl stanoven ve slupce (187,32 mg/g sušiny) a nejnižší v dužině (33,24 mg/g sušiny) [38].

Kyselina syringová je dále přítomna v rostlině *Clematis cirrhosa*, *Artiplex mollis*, *Abelmoschus esculentus*, *Amaranthus tricolor*, *A. lividus*, *Cardiocrinum cordatum*, *Oryza* spp., *Rehmannia glutinosa*, *Solanum tuberosum*, *Aronia melanocarpa*, *Arctostaphylos uva-ursi, Hippophae rhamnoides*, *Fagopyrum tataricum*, *Teucrium flavum*, *T. arduini*, *Oenothera biennis*, *Dendropanax morbifera*, *Echinacea purpurea, Quercus robur*, *Q. alba*, *Q. petraea*, *Cyclea gracillima*, Poaceae, *Panicum miliaceum*, *Avena sativa, Withania somnifera* a *Rosa canina*.

18 Kyselina 3-hydroxybenzoová (*m*-hydroxybenzoová)

Solidago virgaurea L. (zlatobýl obecný) patří do čeledi Asteraceae (hvězdnicovité). Pro své léčebné účinky se používá v tradiční medicíně v mnoha zemích světa, kdy jeho nadzemní části mají protizánětlivé, spasmolytické a diuretické účinky. Z tohoto důvodu se používají k léčbě zánětů ledvin a močového měchýře a urolitiázy. Zlatobýl se dále používá k léčbě onemocnění prostaty, syndromu hyperaktivního močového měchýře, gastrointestinálního traktu, diabetu, alergií a má antiseptické a antibakteriální účinky.

Podle řady zdrojů je *Solidago virgaurea* považován za taxonomickou skupinu nebo komplex skládající se z mnoha druhů vytrvalých bylin. Ty jsou rozšířeny mimo Evropu i do Východní Asie. Do komplexu bylo zahrnuto mnoho úzce příbuzných taxonů na různých úrovních, mezi které patří odrůdy, poddruhy i druhy. S. Slavik (2004) v rámci flóry České republiky identifikoval 17 taxonů patřících do skupiny *Solidago virgaurea* L.

Extrakty zlatobýlu obecného obsahují kromě flavonoidů (nejčastěji glykosidy kvercetinu a kempferolu), triterpenových saponinů, seskviterpenů, diterpenů, esenciálních olejů, polysacharidů, polyacetylenů apod., také C_6-C_1 glykosidy (virgaureosid, leiokarposid) a aglykony (kyselina vanilová, kyselina gallová) a C_6-C_3 polyfenolové kyseliny. Mezi tyto

kyseliny patří kyselina kávová, kyselina chlorogenová, kyselina ferulová, kyselina sinapová, kyselina 3-hydroxyfenyloctová, kyselina 3,4-dihydroxyfenyloctová a kyselina homovanilová. V rostlině jsou dále přítomny následující kyseliny: kyselina salicylová, kyselina benzoová, **kyselina 3-hydroxybenzoová**, kyselina 4-hydroxybenzoová, kyselina protokatechová (kyselina 3,4-dihydroxybenzoová) a kyselina gentisová (kyselina 2,5-dihydroxybenzoová), přičemž deriváty kyseliny benzoové jsou typické pro čeleď Asteraceae. V různých studiích byl prokázán obsah C_6-C_3 a C_6-C_2 sloučenin, mezi které patří kyselina neochlorogenová (kyselina 5-O-kofeoylchinová), kyselina 5-*p*-kumaroylchinová, kyselina 3,5-di-O-kofeoylchinová, kyselina 3,4-di-O-kofeoylchinová, 4,5-di-O-kofeoylchinová, methyl 3,5-di-O-kofeoylchinát, kyselina 3,4,5-tri-O-kofeoylchinová, kyselina *p*-kumarová a kyselina rozmarýnová. Obsah kyseliny chlorogenové a kyseliny rozmarýnové se může značně lišit v závislosti na konkrétní rostlině. Kvalitativní a kvantitativní obsah fenolických látek v tomto druhu je závislý na mnoha faktorech, z nichž lze uvést například fáze ontogenetického vývoje rostliny, analyzovaná část rostliny či okolní podmínky při jejím růstu [39].

Kyselina 3-hydroxybenzoová je obsažena také v rostlině *Artiplex mollis*, *Aronia melanocarpa*, *Hippophae rhamnoides*, *Teucrium flavum*, *T. arduini* a *Nigella sativa*.

19 Kyselina gentisová

Další zdroj fenolických kyselin představují rostliny z rodu mamilárie. Tato studie se zabývá stanovením profilu polyfenolů obsažených ve stoncích sedmi druhů tohoto rodu. Mezi tyto druhy patří *Mammillaria rhodanta* Link. & Otto, *Mammillaria spinosissima* Lem., *Mammillaria hahniana* Werderm., *Mammillaria crucigera* Mart., *Mammillaria candida* Scheidw., *Mammillaria albilanata* Backeb. a *Mammillaria muehlenpfordtii* C. F. Först. z čeledi Cactaceae (kaktusovité).

Pro studii byly použity stonky rostlin pocházejících z Alexandrie v Egyptě. Prostřednictvím vysoce účinné kapalinové chromatografie s detektorem diodového pole (HPLC-DAD) a s využitím Merck-Hitachi kapalinového chromatografu (LaChrom Elite) byla provedena kvalitativní a kvantitativní analýza. K té byla použita kolona Purospher RP-18e (250 × 4 mm; 5 μm, Merck) a jako mobilní fáze A methanol a mobilní fáze B směs methanolu a 0,5% kyseliny octové v poměru 1:4 (v/v). Byla provedena gradientová eluce. V rostlinách byla prokázána přítomnost šesti fenolických kyselin – **kyseliny gentisové**, kyseliny

chlorogenové, kyseliny kávové, kyseliny protokatechové, kyseliny sinapové a kyseliny *p*-hydroxybenzoové. Kyselina gentisová byla nejvíce obsažena v druzích *M. spinosissima* (40,44 mg na 100 g sušiny) a *M. rhodantha* (38,27 mg na 100 g sušiny). Kyselina chlorogenová byla nejdominantněji zastoupena v rostlinách *M. muehlenpfordtii* (30,88 mg na 100 sušiny), *M. crucigera* (14,61 mg na 100 g sušiny), *M. candida* (11,61 mg na 100 g sušiny) a *M. rhodantha* (10,37 mg na 100 g sušiny). V poměrně malém množství byly ve všech druzích zastoupeny následující kyseliny: kyselina protokatechová, kyselina sinapová a kyselina *p*-hydroxybenzoová. Kyselina kávová byla prokázána především v *M. rhodantha* (15,80 mg na 100 g sušiny), v *M. crucigera* (7,17 mg na 100 g sušiny) a v *M. spinosissima* (9,66 mg na 100 g sušiny).

Testované rostliny vykazovaly antiproliferativní účinky proti rakovinným buňkám HELa (buněčná linie cervikálního adenokarcinomu), MCF-7 (buněčná linie adenokarcinomu prsu) a buňkám Jurkat (buněčná linie T-buněčného lymfoblastu) a mírné antibakteriální účinky proti *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* (klinický izolát), *Escherichia coli Micrococcus flavus, Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa.*

Studie se dále zabývala stanovením antioxidační aktivity u jednotlivých druhů mamilárie prostřednictvím metody DPPH, FRAP a metody založené na odbarvení β-karotenu. Nejvyšší antioxidační účinky byly prokázány u následujících druhů: *M. rhodantha*, *M. spinosissima* a *M. muehlenpfordtii* [40].

Kyselinu gentisovou obsahují také následující rostliny: *Amaranthus tricolor*, *A. lividus*, *Oryza* spp., *Solidago virgaurea*, *Artemisia absinthium*, *Aronia melanocarpa*, *Alyssum montanum*, *Quercus robur*, *Q. alba*, *Q. petraea* a *Linum usitatissimum*.

20 Kyselina chlorogenová

Rostlina *Leonurus sibiricus* L. (srdečník sibiřský) patří do čeledi Lamiaceae (hluchavkovité) a je ceněna především pro své léčebné použití. Srdečník sibiřský má antibakteriální, protizánětlivé a antioxidační účinky. Nadzemní části této rostliny v období květu se využívají k léčbě nepravidelnosti menstruačního cyklu, amenorey, malárie, hypertenze a ischemie myokardu. Bylo prokázáno, že srdečník vykazuje schopnost snížit intracelulární reaktivní formu kyslíku (ROS).

Cílem studie bylo vyhodnotit antioxidační účinek vodnomethanolového extraktu srdečníku a jeho schopnost stimulovat reparační procesy v DNA buněk vaječníku čínského křečka (Chinese hamster ovary – CHO), který byl vystaven působení H_2O_2. Hodnocení bylo provedeno pomocí kometového testu s využitím extraktů, které byly připraveny z nadzemních částí a kořenů rostlin. Sběr rostlin byl proveden v období květu. V rámci studie bylo provedeno srovnání výše zmíněných vlastností rostlin pěstovaných *in vitro* s rostlinami rostlými *in vivo* za totožných podmínek. Současně byla hodnocena exprese genů s antioxidačními vlastnostmi kódujícími superoxid dismutasu (SOD2), katalasu (CAT) a gluthathionperoxidasu (GPx) v buňkách CHO pomocí reverzní transkriptázy (RT-PCR).

V rostlině *Leonurus sibiricus* L. bylo identifikováno pomocí analýzy LC-MS/MS (Liquid chromatography with tandem mass spectrometry) a HPLC 9 fenolických sloučenin: katechin, verbaskosid, kvercetin, rutin, kyselina 4-hydroxybenzoová, **kyselina chlorogenová**, kyselina kávová, kyselina *p*-kumarová a kyselina ferulová. Analýza byla provedena prostřednictvím HPLC (Dionex, Sunnyvale, USA) s detektorem fotodiodového pole na koloně s reverzní fází (aQ Hypersil GOLD, 250 × 4,6 mm, 5 μm) spojené s kolonou plnící ochrannou funkci (GOLD Aq Drop-In Guards, 10 × 4 mm, 5 μm, Polygen, Polsko). Jako mobilní fáze byla použita voda (A) a methanol (B), obojí s 0,1% kyselinou mravenčí. Jednalo se o izokratickou eluci (lineární gradient). LC-MS/MS byla prováděna pomocí systému API–LC/MS/MS (Applera, USA) s využitím elektrosprejové ionizace (ESI) jako zdroje a systému HPLC Dionex (Německo) spojeným s kolonou aQ Hypersil GOLD (C18, 2,1 mm × 150 mm, 5 μm).

Jednotlivé kyseliny obsažené v extraktech *Leonurus sibiricus* L. byly stanoveny na základě srovnání jejich retenčních časů, UV spektra a MS spektra s příslušnými standardy. Kvantifikační analýza byla provedena na základě kalibrační křivky standardů v rozmezí 5 – 200 μg/ml a linearita kalibrační křivky byla ověřena pomocí korelačního koeficientu, který činil $r_2 = 0,9994$).

Studie prokázala, že v nadzemních částech rostliny *in vitro* a *in vivo* je značný rozdíl v obsahu fenolických kyselin, flavonoidů, verbaskosidu a katechinu ve srovnání s kořeny. Flavonoidy, s kvercetinem jako hlavní složkou, se významně nacházely v nadzemních částech rostliny (2,8 – 9,7 mg/g sušiny), kdežto fenolické kyseliny byly u *in vitro* i *in vivo* rostlin obsaženy především v kořenech (7,6 – 12 mg/g sušiny). Hlavní sloučeniny, které byly v této oblasti identifikovány, byly kyselina chlorogenová (4,4 a 6,5 mg/g sušiny) a kyselina kávová

(3,2 a 5,5 mg/g sušiny). Taktéž verbaskosid byl obsažen v kořenových extraktech ve vyšším množství než v nadzemních částech rostliny a jeho obsah činil 0,26 – 0,37 mg/g sušiny. Rozdíly byly objeveny i v rámci porovnání rostlin *in vitro* a *in vivo*. Bylo zjištěno, že obsah kvercetinu v extraktu z nadzemní části rostliny *in vitro* (9,7 mg/g sušiny) byl asi 3,5krát vyšší než *in vivo* (2,8 mg/g sušiny) a celkový obsah fenolických kyselin v extraktu z kořenů rostliny *in vitro* (12,1 mg/g sušiny) byl 1,5krát vyšší než obsah v extraktu *in vivo* (7,6 mg/g sušiny).

Všechny testované extrakty *Leonurus sibirus* L. vykazovaly ochranné účinky před oxidačním poškozením DNA buněk vaječníku čínského křečka po vystavení H_2O_2, což mohlo být způsobeno přítomností fenolických kyselin a flavonoidů. Rovněž byly prokázány jejich stimulační účinky na opravu DNA buněk vaječníku CHO. Silnější efekt vykázaly extrakty z nadzemních částí a kořenů rostliny *in vitro* oproti extraktům *in vivo*. Tento fakt lze zdůvodnit dvojnásobně vyšším obsahem fenolických sloučenin v *in vitro* rostlinných extraktech (16 mg/g sušiny v nadzemních částech a 12,6 mg/g sušiny v kořenech) ve srovnání s obsahem těchto sloučenin *in vivo* (7,6 mg/g sušiny v nadzemních částech a 7,7 mg/g sušiny v kořenech). Větší aktivita byla prokázána v extraktech z kořenů, v nichž byl identifikován vyšší obsah fenolických kyselin se značnou antioxidační aktivitou, než v extraktech z nadzemních částí rostliny. Mezi tyto kyseliny patří například kyselina chlorogenová a kyselina kávová, kdy koncentrace kyseliny chlorogenové v kořenech rostliny za podmínek *in vitro* byla 6,53 mg/g sušiny a v nadzemních částech 4,9 mg/g sušiny. Obdobný výsledek byl zjištěn rovněž u kyseliny kávové.

Preinkubace buněk CHO s 0,5 mg/ml extraktů získaných z *Leonurus sibiricus* L. potvrdila zvýšenou expresi antioxidačních genů SOD2, CAT, GPx [41].

Mnoho fenolických kyselin bylo identifikováno v rostlině *Artemisia absinthium* L. (pelyněk pravý) patřící do čeledi Asteraceae (hvězdnicovité) [42].

Pelyněk pravý je vytrvalá bylina se stříbřitě šedými chlupatými listy a stříbrošedou lodyhou s přitisklými dvouklanými chlupy. Rostlina má drobné žluté úbory skládající se pouze z trubkovitých květů do bohaté laty, přičemž vnější květy jsou samičí a vnitřní oboupohlavné [43].

Rostlina je známá především pro svou výraznou aromatickou vůni, která se projeví při odlomení její části. Vyniká obsahem hořkých metabolitů a éterických olejů, a proto se pelyňkové listy a stonky tradičně používají jako hořké tonikum při ztrátě chuti k jídlu.

Pelyněk rovněž působí jako choleretikum při dyspeptických poruchách a má antioxidační, antimikrobiální, protizánětlivé, anthelmintické, antipyretické, antibakteriální a insekticidní účinky. Používá se také při onemocnění jater kvůli jeho hepatoprotektivnímu účinku a při Crohnově chorobě. Byl prokázán vliv extraktů z pelyňku na potlačení tumor nekrotizujícího faktoru α (TNF-α) a schopnost příznivě působit při léčbě rané fáze IgA nefropatie. Kromě hořkých metabolitů a silic, pelyněk obsahuje řadu sekundárních metabolitů, jako flavonoidy (myricetin, kvercetin, rutin, hesperidin), kyseliny hydroxybenzoové (kyselina salicylová, kyselina gallová), kyseliny hydroxyskořicové (kyselina kávová, kyselina *p*-kumarová, kyselina ferulová), resveratrol apod.

Studie sledovala fytochemický profil extraktů z rostliny *Artemisia absinthium* a její biologické účinky, mezi které patří jejich antioxidační aktivita, protimigrační a protizánětlivé účinky. Za jejím účelem byly připraveny ethanolové extrakty z listů a stonků této rostliny, která byla sbírána v červnu roku 2018 ve městě Vâlcea v Rumunsku. Po usušení za pokojové teploty byly rostlinné drogy konzervovány v exsikátoru ve tmě a za teploty 20°C.

Ethanolové extrakty byly podrobeny kapalinové chromatografii – hmotnostní spektrometrii (LC-MS), termické analýze (TG-DSC) a Fourierově transformaci – infračervené spektroskopii (FT-IR).

Celkový obsahu fenolu v obou extraktech byl stanoven pomocí Folin-Ciocalteuovy metody s drobnými úpravami za použití Folin-Ciocalteuova činidla v poměru 1:10, kyseliny gallové 98 % a Na_2CO_3 99 %. K vyhodnocení obsahu byla použita kalibrační křivka kyseliny gallové (R^2 = 0,996) a jednotlivé hodnoty byly uvedeny v miligramech ekvivalentu kyseliny gallové na gram extraktu (GAE/g). Studie prokázala, že celkový obsah fenolu v extraktu z listů pelyňku pravého odpovídal 54,68 ± 1,93 mg GAE/g extraktu. Celkový obsah fenolu v extraktu ze stonků byl ve srovnání s extraktem z listů nižší, a to 44,15 ± 1,12 mg GAE/g extraktu.

U obou vzorků byla provedena LC-MS analýza za účelem identifikace a případné kvantifikace jednotlivých fenolických látek. K analýze byl použit methanol, kyselina octová a následující standardy: kyselina gentisová, kyselina chlorogenová, kyselina kávová, kyselina *p*-kumarová, isokvercetin, rutin, kvercitrin, luteolin a apigenin. Na základě retenčních časů a hodnot *m/z* bylo stanoveno 9 fenolických sloučenin: kyselina gentisová, **kyselina chlorogenová**, kyselina kávová, kyselina *p*-kumarová, isokvercetin, rutin, kvercitrin, luteolin a apigenin. Extrakt ze stonků *Artemissia absinthium* obsahoval vyšší množství kyseliny

chlorogenové, isokvercetinu a rutinu než extrakt z listů. Ethanolový extrakt z listů ve srovnání se vzorkem ze stonků obsahoval vyšší koncentraci kvercetinu. Bylo prokázáno, že v největším množství byla ve vzorcích obsažena kyselina chlorogenová.

Oba rostlinné materiály vykazovaly podobné termogravimetrické vlastnosti a FT-IR fenolický profil a *in vitro* studie prokázaly, že oba extrakty způsobují protimigrační a cytotoxický účinek na 2 linie tumorových buněk. Tento účinek je na dávce závislý. Extrakt z listů i ze stonků působil cytotoxicky na buněčné linie: A375 (lidské melanomové buňky) a MCF7 (lidské buňky adenokarcinomu prsu), méně pak HaCaT (lidské keratinocyty) [42].

Kyselina chlorogenová má antioxidační, antikancerogenní, protizánětlivé, analgetické, antimikrobiální, neuroprotektivní a kardioprotektivní účinky, vyvolává zvýšení citlivosti na inzulín, snižuje vstřebávání glukózy ve střevě, zabraňuje glukoneogenezi a vykazuje antiproliferativní aktivitu v několika rakovinných buňkách. **Kyselina chlorogenová** je ve značném množství obsažena ve stonkových hlízách rostliny lilek brambor (*Solanum tuberosum* L.) z čeledi Solanaceae (lilkovité). Brambor hraje významnou roli ve výživě člověka pro svůj obsah škrobu, vlákniny, esenciálních aminokyselin, vitamínů, minerálních látek a fenolických sloučenin. V lidské stravě vystupuje jako ideální zdroj antioxidantů a vykazuje vysoký index sytosti (skóre SI). Fenolické látky jsou v bramboru syntetizovány jako ochranná reakce na působení bakterií, virů, hub a hmyzu, přičemž až 50 % těchto látek je obsaženo v bramborové slupce a v sousedních pletivech.

Brambor má vyšší celkový obsah fenolů než jiné ovoce nebo zelenina, jako je například mrkev, cibule nebo rajčata. Fenolické sloučeniny jsou v největším množství obsaženy v korové části hlízy. Dále se nachází v bramborové slupce a v jeho dužnině. V bramboru se kromě fenolických kyselin vyskytují také flavonoidy.

Fenolické kyseliny jsou nejvíce obsažené fenolické sloučeniny v bramboru a patří mezi ně substituované deriváty hydroxybenzoových a hydroxyskořicových kyselin. Nejvíce zastoupenou fenolickou kyselinou je kyselina chlorogenová. Jedná se o ester kyseliny kávové a kyseliny chinové, který představuje 90 % fenolických sloučenin v bramborové slupce. Existuje ve formě 3 hlavních izomerů, jako kyselina chlorogenová (kyselina 5-O-kafeoylchinová), kyselina neochlorogenová (kyselina 3-O-kafeoylchinová) a kyselina kryptochlorogenová (kyselina 4-O-kafeoylchinová). V hlízách rostliny *Solanum tuberosum* byla dále identifikována kyselina kávová v množství 25 – 72 mg/100 g sušiny a kyselina ferulová, kyselina gallová a kyselina *p*-kumarová v množství 0 – 5 mg/100 g sušiny. V malém

množství se v bramboru nachází kyselina syringová, kyselina vanilová, kyselina sinapová, kyselina salicylová, kyselina protokatechová a kyselina *p*-hydroxybenzoová.

Množství fenolických sloučenin a jejich stabilita závisí na mnoha faktorech, mezi které patří agrotechnické procesy, klimatické podmínky, podmínky skladování po sklizni, zpracování hlíz a metody jejich tepelné úpravy. Svou roli hraje i stupeň zralosti hlíz při sklizni a následná manipulace s nimi. Z výše uvedeného vyplývá, že podmínky prostředí mohou ovlivňovat fenylpropanoidovou cestu a polyfenolové složení v hlízách během jejich vývoje. Příkladem je vyšší obsah kyseliny chlorogenové v hlízách rostlin pěstovaných v teplých lokalitách s pravidelnými obdobími sucha ve srovnání s vysokohorskými oblastmi nebo v případě produkce ekologického zemědělství ve srovnání s konvenčním.

K extrakci fenolických látek z brambor se nejčastěji používá extrakce pevná látka – kapalina. Ovšem vlivem vyšší časové náročnosti a nízkého výnosu byly vyvinuty moderní technologie, jako je například ultrazvukem asistovaná extrakce (UAE – Ultrasound - Assisted Extraction), mikrovlnná extrakce (MAE – Microwave – Assisted Extraction) a tlaková kapalinová extrakce (PLE – Pressurized – Liquid Extraction).

Analýza fenolických sloučenin se provádí prostřednictvím vysoce účinné kapalinové chromatografie (HPLC) ve spojení s hmotnostní spektrometrií (MS) nebo pomocí UV-VIS (Ultraviolet-Visible Light) či NMR (Nuclear Magnetic Resonance) spektroskopie. Pro stanovení celkového obsahu fenolických sloučenin v hlízách brambor se používá Folin-Ciocalteova metoda a k identifikaci jednotlivých fenolických kyselin HPLC [44].

Zdrojem mnoha bioaktivních sloučenin s širokým spektrem vlastností podporujících zdraví je rostlina *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott (temnoplodec černoplodý) z čeledi Rosaceae (růžovité). Tento keř, který může dorůst do výšky až 3 metrů, původně pochází z východní části Severní Ameriky a používá se v potravinářském průmyslu k výrobě šťáv, nektarů, sirupů, džemů, zavařenin, tinktury, vína či želé. Přidává se také do ovocných dezertů, vyrábí se z ní ovocné čaje a doplňky stravy. Čerstvé nezpracované plody arónie mají svíravou chuť, a proto se v této podobě konzumují jen zřídka. Četné studie prokázaly příznivý vliv konzumace arónie na léčbu hypertenze, dyslipidémie a prozánětlivých stavů. Výsledky ukázaly také vliv na snižování rizikových faktorů metabolického syndromu, prokázaly působení na poruchy metabolismu glukosy a pravděpodobný potenciál k zastavení vývoje některých typů rakoviny. Plody arónie mají vysoký antioxidační potenciál a spolu s květy se používají k podpoře imunity.

V rostlině *Aronia melanocarpa* jsou mimo sacharidy, bílkoviny, mastné kyseliny, aminokyseliny, vitamíny, minerály a další látky, obsaženy anthocyaniny, proanthocyanidiny, flavonoly, flavanoly a fenolické kyseliny. Obsah těchto látek v plodech arónie závisí na mnoha faktorech, mezi které patří například odrůda rostliny, zralost plodů a klimatické a environmentální podmínky.

Studie zahrnovala srovnání obsahu fenolických látek v rostlině *Aronia melanocarpa* od různých autorů, přičemž jejich množství v plodech arónie byl následující: 7849 mg/100 g sušiny, 6351,38 mg/100 g sušiny, 37,600 mg/kg sušiny, 1079 mg ekvivalentu kyseliny gallové (GAE)/100 g čerstvých plodů, 819 – 1330 mg GAE/100 g čerstvých plodů, 778 – 1285 g GAE/kg čerstvých plodů.

Plody temnoplodce obsahují z fenolických kyselin převážně **kyselinu chlorogenovou** a neochlorogenovou, dále v něm byla identifikována kyselina kryptochlorogenová, kyselina *p*-kumarová včetně jejích derivátů, kyselina vanilová, kyselina ferulová, kyselina protokatechová, kyselina kávová a její deriváty, kyselina syringová, kyselina salicylová, kyselina ellagová a kyselina 4-hydroxybenzoová. Sušená šťáva z plodů obsahuje methylestery kyseliny chlorogenové a neochlorogenové, 2,4,6-trihydroxybenzaldehyd, kyselinu 3-hydroxybenzoovou a deriváty kyseliny fenyloctové a v arónovém medu byla zjištěna přítomnost kyseliny gentisové a sinapové [45].

Rostliny *Vaccinium myrtilus* L. (brusnice borůvka), *Vaccinium vitis-idaea* L. (brusnice brusinka), *Vaccinium uliginosum* L. (brusnice vlochyně), *Vaccinium corymbosum* L. (brusnice chocholičnatá) a *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. (medvědice lékařská) patří do čeledi Ericaceae (vřesovcovité). Tato čeleď tvoří početnou skupinu krytosemenných rostlin, která zahrnuje byliny, zakrslé keře, keře běžného vzrůstu i stromy. Pro tyto rostliny je charakteristické, že rostou v kyselých půdách a vyskytují se na stanovištích nepříznivých k růstu jiných rostlin. Čeleď Ericaceae zahrnuje 9 podčeledí, 124 druhů a 4250 druhů rostlin, kdy především bobule podčeledi Vaccinioideae (brusnicové) jsou známy pro své zdraví prospěšné účinky. Ty jsou připisovány antioxidantům v nich obsažených.

Vaccinium spp. obsahuje mnoho přírodních fenolických sloučenin, jako jsou například anthocyaniny, které zajišťují přirozenou pigmentaci bobulí a mají kardioprotektivní, neuroprotektivní, protizánětlivé, protirakovinné účinky a vykazují schopnost integrity genomové DNA. Mezi další látky patří proanthocyanidiny, kvercetin, hydroxyskořicové kyseliny apod. Borůvkové listy se tradičně používají k léčbě onemocnění močových cest

vzhledem ke svým adstringentním a antiseptickým účinkům, k léčbě diabetu a doporučují se pro kosmetické, nutraceutické a farmaceutické účely kvůli svým antioxidačním a antimikrobiálním účinkům. Mezi hlavní fenolické látky, které byly identifikovány v listech následujících druhů rodu *Vaccinium* je **kyselina chlorogenová**, kvercetin a arbutin.

Brusnice borůvka je vytrvalý, divoce rostoucí, opadavý keř menšího vzrůstu, který roste v horských oblastech a lesích Evropy a fenolické látky jsou obsaženy jak v jeho plodech, tak v listech, které se na podzim barví do červena. Tím dochází k významnému ovlivnění obsahu fenolických látek. Tento druh se vyznačuje obsahem proanthocyanidinů, kempferolu, kvercetinu a hydroxyskořicových kyselin (kyselina *p*-kumarová: 6007 μg/g v červených listech/2989 μg/g v zelených listech, kyselina kávová nebo ferulová: 16249 μg/g v červených listech/7808 μg/g v zelených listech), kdy obsah těchto látek je vyšší v listech ve srovnání s plody a zároveň jsou obsaženy ve vyšším množství v červených listech než v listech zelených. Červené listy brusnice borůvky obsahují velké množství anthocyaninů, přičemž zelené listy tyto látky neobsahují.

Fenolický profil listů byl formován prostřednictvím řady studií. Fraisse a kol. (1996) zjistil přítomnost kyseliny chlorogenové a látky kvercetin-3-O-glukuronid jako hlavních sloučenin v listech borůvky, Oszmianskim a kol. (2011) profil doplnil o kyselinu 3-O-*p*-kumaroylchinovou a Hokkanen a kol. (2009) identifikoval v listech 35 fenolických sloučenin prostřednictvím LC/TOF-MS a LC/MS/MS. Mezi hlavní látky patřila kyselina *cis*-chlorogenová a kyselina *trans*-chlorogenová. Jako další fenolické kyseliny byly v listech detekovány: kyselina kafeoylšikimová, izomer kyseliny feruloylchinové, izomer kyseliny kumaroylchinové, stopy kyseliny kávové a kyseliny *p*-kumarové. Martz a kol. (2010) provedl studii za účelem zjištění obsahu fenolických látek v listech během jejich vývoje. Ve vzorcích byly jako hlavní sloučeniny detekovány deriváty kyseliny chlorogenové, přičemž v každém vzorku byly dále přítomny hydroxyskořicové kyseliny. Studie prokázala, že obsah fenolických látek je vyšší v listech rostlin rostoucích na stanovištích, která jsou vystavena slunečnímu záření, než v listech rostlin rostoucích ve stínu. Dále bylo prokázáno, že listy z rostlin, které se nacházely ve vyšších zeměpisných šířkách a vyšších nadmořských výškách, obsahovaly větší množství rozpustných fenolů a flavanolů a menší množství derivátů kyseliny chlorogenové. Listy dosahovaly rovněž vyšší antioxidační kapacity. Komplexní studie identifikovaly v červených listech 21 fenolických sloučenin, kdežto v zelených listech jen 18. Červené listy obsahují větší množství chlorogenových kyselin. Nedávná studie provedená Bujor et al. (2016) prokázala přítomnost 62 fenolických sloučenin v listech borůvky. Listy

byly sesbírané v květnu, v červenci a v září v letech 2013 a 2014 a byla u nich detekována přítomnost dvou typů derivátů kyseliny hydroxyskořicové, a to deriváty kyseliny kávové a deriváty kyseliny *p*-kumarové. Mezi deriváty kyseliny kávové patří estery kyseliny kávové s kyselinou chinovou, s kyselinou šikimovou, s monotropinem a s hexosou, jako je kyselina 5-O-kafeoylchinová a její hexosid, deriváty kyseliny kafeoylchinové, kafeoyl-malonylhexosidy, kafeoyl- monotropein a kyselina kafeoylšikimová. Deriváty kyseliny kávové byly v listech obsaženy ve vyšších koncentracích než deriváty kyseliny *p*-kumarové, mezi které patří kyselina *p*-kumaroylchinová a její hexosidy, *p*-kumaroyl diacetylhexosidy, *p*-kumaroyl triacetylhexosidy, *p*-kumaroyl malonylhexosid, *p*-kumaroyl malonyldihexosid, *p*-kumaroyl monotopein a deriváty dihydromonotropeinu.

Vaccinium vitis-idaea je vysoce odolný, stálezelený, malý keř, který toleruje teplotu až -40 °C a nižší a vyskytuje se na různých stanovištích od nížin po horské oblasti, především v kyselých půdách. Ek a kol. (2006) v listech identifikoval 22 fenolických sloučenin. Hokkanen a kol. (2009) prokázal, pomocí LC/TOF-MS a LC/MS/MS, přítomnost 36 fenolických látek, kdy obsah fenolických kyselin byl následující: **kyselina chlorogenová**, izomery kyseliny kumaroylchinové, kyselina kávová, kyselina *p*-kumarová, kyselina kafeoylšikimová a stopy izomeru kyseliny feruloylchinové. Liu a kol. (2014) identifikoval 25 fenolických sloučenin v brusinkových listech a komplexní studie detekovala 90 fenolických látek, mezi které patří, mimo jiné, 2 hexosidy kyseliny sinapové, *p*-kumaroyl-dihydromonotropein, hexosid kyseliny hydroxymethoxybenzoové, acetylhexosid kyseliny dihydroxybenzoové, acetylhexosid kyseliny hydroxymethoxybenzoové a hexosid kyseliny hydroxymethoxyfenyloctové. Hydroxyskořicové kyseliny, mezi které patří deriváty kyseliny kávové, deriváty kyseliny sinapové a deriváty kyseliny *p*-kumarové, se v listech nacházeli v množství 6 – 14 % celkových fenolických látek a v nejvyšším množství byla nalezena látka arbutin, která představuje 31 – 50 % celkových fenolických látek v brusinkových listech. Vyas a kol. (2013) prokázal, že celkový obsah fenolických sloučenin byl vyšší v listech ve srovnání s plody, stejně jako antioxidační aktivita.

Listy brusnice brusinky mají podobné účinky jako borůvkové listy, kdy působí jako diuretika a mají antiseptické účinky při léčbě močových cest. Ethanolové extrakty se používají ke zmírnění projevů kašle. Extrakty z brusinkových listů mají neuroprotektivní a antioxidační účinky.

Vaccinium uliginosum je keř malého vzrůstu vyskytující se zejména ve vyšších nadmořských výškách a v arktických a boreálních oblastech, kde roste na vlhkých, kyselých půdách.

Stanoeva a kol. (2017) identifikoval v listech brusnice vlochyně 20 fenolických sloučenin, z nichž nejvíce zastoupenou fenolickou kyselinou byla **kyselina chlorogenová** (kyselina 5-kafeoylchinová) tvořící 64 % z celkového obsahu fenolických kyselin. Dále byly detekovány následující fenolické kyseliny a jejich deriváty: kyselina 4-kafeoylchinová, deriváty kyseliny *p*-kumaroylchinové (kyselina 3-*p*-kumaroylchinová, kyselina 4-*p*-kumaroylchinová, kyselina 5-*p*-kumaroylchinová), kyselina feruloylchinová, derivát kyseliny gallové a hexahydroxydifenolyl-galloyl-glukosa (HHDP-galloyl-glukosa).

Nejznámější druh rodu *Vaccinium* spp. je *Vaccinium corymbosum,* který se vyznačuje vyšším obsahem anthocyaninů než jiné druhy. Riihinen a kol. (2008) provedl studii za účelem zjištění obsahu fenolických látek v listech brusnice chocholičnaté a došel k závěru, že červené listy mají vyšší obsah fenolických látek, mimo procyanidiny. Listy dále obsahují flavonoly, jako je kvercetin a kempferol, proanthocyanidiny, jako jsou prodelphinidiny a procyanidiny a hydroxyskořicové kyseliny, mezi které patří kyselina *p*-kumarová (3060 µg/g v červených listech/490 µg/g v zelených listech) a kyselina kávová nebo ferulová (19870 µg/g v červených listech/7537 µg/g v zelených listech). Dle studie Wang a kol. (2014) jsou **chlorogenové kyseliny** (estery kyseliny kávové a chinové) nejvíce zastoupenými fenolickými sloučeninami v listech. Routray a Orsat (2014) se zabývali studiem vlivu období sklizně listů této rostliny na fytochemické složení a antioxidační aktivitu. Ve studii byly použity 2 odrůdy (Nelson a Elliot) *V. corymbosum* a sběr listů byl uskutečněn v květnu, v červenci, v září a v říjnu. V květnu byl celkový obsah fenolických látek vyšší než v červenci a v dalších měsících se obsah těchto látek v listech zvyšoval. Byl učiněn závěr, že nejvyšší hodnoty fenolických látek, monomerních anthocyaninů a antioxidační aktivity byly u listů sklízených v říjnu.

Arctostaphylos uva-ursi je vždyzelený keř s malými, lesklými a tuhými listy, který se vyskytuje v Severní Americe, v Asii a v Evropě ve vysokých nadmořských výškách. Listy medvědice obsahují 3 hlavní skupiny fenolických sloučenin: fenoly, taniny a flavonoidy, přičemž hlavní a nejdůležitější látka obsažená v listech této rostliny je arbutin. Kromě této látky se v listech medvědice nachází také methylarbutin a volné aglykony, kyselina ursolová, kyselina taninová, kyselina gallová, kyselina *p*-kumarová, kyselina syringová, galloylarbutin a

další látky. Prostřednictvím řady studií bylo prokázáno, že se v medvědicových listech nachází kyselina 5-kafeoylchinová, kyselina kávová, kyselina ferulová, kyselina isoferulová, kyselina skořicová a kyselina methoxyskořicová.

Listy medvědice lékařské inhibují 5 buněčných linií lidského karcinomu MCF-7, HT-29, DU-145, SK-MEL-5, MDA-MB-435, příznivě působí na diurézu, ovlivňují elektrolytové složení moči (vylučování K+ a Na+) a působí antimikrobiálně [46].

Fenolické sloučeniny a kyselina askorbová jsou považovány za hlavní bioaktivní látky obsažené v plodech rostliny rodu aktidinie, z čeledi Actinidiaceae (aktinidiovité). Plodem je bobule, známá jako kiwi, která patří mezi nejoblíbenější druhy ovoce na světě pro svou chuť a vliv na lidské zdraví. Kiwi působí jako antioxidant, má antiproliferativní a protizánětlivé účinky a má preventivní účinky na obezitu a diabetes z důvodu inhibice trávicích enzymů pankreatické lipasy a α-glukosidasy. Na světě existuje více než 70 druhů této rostliny a v posledních desetiletích bylo kultivováno mnoho kultivarů. Jednotlivé druhy a kultivary rostliny se liší obsahem fenolických látek a tudíž i biologickou aktivitou.

Ve studii bylo použito 8 různých kultivarů rostliny *Actinidia chinensis* Planch. (aktinidie čínská), 3 kultivary druhu *Actinidia deliciosa* (A. Chev.) C. F. Liang & A. R. Ferguson (aktinidie lahodná), dále druhy *A. macrosperma* C. F. Liang, *A. polygama* (Siebold & Zucc.) Maxim. (aktinidie stříbrná) a *A. arguta* (Siebold & Zuccarini) Planch. Ex Miq. (aktinidie význačná) z čínské provincie S'-čchuan a Šen-si.

Celkový obsah fenolických látek (TPC) byl stanoven pomocí metody Folin-Ciocalteu. Bylo zjištěno, že hodnoty TPC se výrazně lišily v závislosti na druhu a konkrétním kultivaru rostliny a pohybovaly se v rozmezí od 3,75 ± 0,09 mg GAE/g sušiny do 16,52 ± 0,26 mg GAE/g sušiny. Nejvyšší hodnoty byly stanoveny u druhu *Actinidia chinensis*, konkrétně u kultivaru (cv. = cultivated variety) Hongshi (16,52 ± 0,26 mg GAE/g sušiny), *A. chinensis* cv. Jinshi (13,38 ± 0,20 mg GAE/g sušiny) a *A. chinensis* cv. Jinlong (11,02 ± 0,05 mg GAE/g sušiny) a nejnižší hodnoty byly zjištěny u *Actinidia deliciosa* cv. Hayward (3,75 ± 0,09 mg GAE/g sušiny). Obsah fenolických látek je mimo druh a kultivar, ovlivněn také řadou dalších faktorů, jako je například doba sklizně plodů, klimatické podmínky a extrakční procesy. Bylo prokázáno, že významný rozdíl v TPC vykazovaly plody s odlišnou barvou dužiny. Plody s červenou dužinou (*Actinidia chinensis* cv. Hongyang) a se žlutou dužinou (*Actinidia deliciosa* cv. Jinkui) obsahovaly vyšší množství fenolických látek než plody se zelenou dužinou (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward).

Všechny testované extrakty byly podrobeny HPLC analýze za účelem stanovení jednotlivých fenolických sloučenin. K analýze byla použita série Agilent 1260 LC systém (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) vybavená detektorem diodového pole (DAD) s využitím kolony ZORBAX Eclipase XDB-C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 μm). Byla provedena gradientová eluce a jako mobilní fáze A byl použit 0,5% (v/v) roztok kyseliny octové a jako mobilní fáze B acetonitril. Identifikace jednotlivých látek byla provedena na základě porovnání retenčních časů a absorpčních spekter se standardy a s výsledky analýzy stejných vzorků z předchozích studií. Kvantitativní analýza byla provedena pomocí příslušných kalibračních křivek.

V testovaných extraktech bylo identifikováno celkem 12 fenolických sloučenin. Mimo procyanidin B1, procyanidin B2, (–)-epikatechin, (+)-katechin, rutin, kvercetin-3-O-glukosid, kvercetin-3-rhamnosid, byly v plodech kiwi detekovány následující fenolické kyseliny: kyselina gallová, kyselina protokatechová, kyselina neochlorogenová, **kyselina chlorogenová** a kyselina kávová. Celkový obsah fenolických kyselin se pohyboval od 26,58 μg/g sušiny (*A. deliciosa* cv. Cuixiang) do 315,76 μg/g sušiny (*A. chinensis* cv.Hongshi), přičemž nejvíce zastoupenou kyselinou byla kyselina chlorogenová, jejíž obsah byl od 7,70 ± 0,04 μg/g sušiny (*A. arguta*) do 235,75 ± 5,44 μg/g sušiny (*A. chinensis* cv. Hongshi). Nejvyšší obsah kyseliny neochlorogenové byl zjištěn v *A. chinensis* cv. Jinlong (133,72 ± 3,98 μg/g sušiny), avšak v rostlinách *A. deliciosa* cv. Cuixiang, *A. deliciosa* cv. Xuxiang, *A. deliciosa* cv. Hayward, *A. macrosperma* a *A. polygama* nebyla tato kyselina nalezena. Kyselina kávová byla identifikována pouze u druhů *A. macrosperma*, *A. polygama* a *A. arguta* a kyselina protokatechová pouze u rostlin *A. chinensis* cv. Hongshi, *A. chinensis* cv. Jinshi a *A. polygama.* Kyselina protokatechová byla nejvíce zastoupena u *A. chinensis* cv. Hongshi (15,76 ± 0.18 μg/g sušiny). Nejvyšší množství kyseliny gallové bylo detekováno u kultivaru *A. chinensis* cv. Jinshi (53,76 ± 0,43 μg/g sušiny), avšak u rostlin *A. macrosperma* a *A. arguta* tato kyselina nebyla přítomna [47].

Rostlina *Hippophae rhamnoides* L. (rakytník řešetlákový) patří do čeledi Elaeagnaceae (hlošinovité). Plodem rakytníku jsou peckovice, které jsou velmi kyselé, mají jasně oranžovou barvu, příjemnou chuť a vůni a obsahují řadu biologicky aktivních látek. Uvedených vlastností lze využít v rámci přípravy různých pokrmů, včetně chleba, u nichž se očekává vzestup bioaktivních látek, zlepšení jejich senzorických vlastností, antioxidačního potenciálu, mikrobiologické stability a zvýšení jejich trvanlivosti.

Cílem této studie bylo sledování účinků prášku z plodů rakytníku řešetlákového (v koncentraci: 1%, 3%, 5%) na senzorické, fyzikálně-chemické a antioxidační vlastnosti a trvanlivost pšeničného chleba, což může být příležitost pro moderní výrobce potravin.

Fenolické kyseliny a flavonoidy se vyskytují hlavně v obalových vrstvách zrn obilí, a proto tyto látky patří mezi nejběžnější fenolické sloučeniny v celozrnné pšenici. Ve studii byla použita bílá pšeničná mouka bez obilných obalových vrstev a vzhledem k tomu byl obsah fenolu v chlebu velmi nízký. Naproti tomu celkový obsah polyfenolů v mouce získané z plodů rakytníku činil 1467 mg GAE/100 g. Obsah těchto látek byl stanoven metodou Folin-Ciocalteu. V případě stanovení s využitím absorbance při 280 nm byla tato hodnota 1311 mg GAE/100 g. Rozdíl v obou hodnotách lze vysvětlit interferencemi, ke kterým dochází při použití metody Folin-Ciocalteu. Celkový obsah flavonoidů byl 555 mg GAE/100 g.

Mezi hlavní fenolické látky, které byly detekovány v mouce z plodů rakytníku, patří **kyselina chlorogenová** (11,1 mg/100 g), kyselina ferulová (10,3 mg/100 g), kyselina protokatechová (7,0 mg/100 g), katechin (35,3 mg/100 g), hyperosid (23,6 mg/100 g), *trans*-resveratrol (10,4 mg/100 g) a *cis*-resveratrol (10,8 mg/100 g). Z fenolických kyselin je dále v plodech obsažena kyselina gallová (2,2 mg/100 g), kyselina *p*-hydroxybenzoová (0,8 mg/100 g), kyselina syringová (0,7 mg/100 g), kyselina *m*-hydroxybenzoová (0,5 mg/100 g), kyselina vanilová (0,5 mg/100 g), kyselina *p*-kumarová (0,3 mg/100 g) a kyselina kávová (0,2 mg/100 g).

Bylo provedeno mnoho studií, u nichž se obsah fenolických sloučenin v plodech rakytníku výrazně lišil. Důvodem je různý geografický původ, podnebí, půda, období sklizně, genetická a kultivační variabilita, konkrétní druh či kultivar rostliny a metoda použitá ke zjištění těchto parametrů.

Pro výzkum byla použita mouka z rakytníkových plodů odrůdy „Clara“, které pochází z Moldavské republiky. Z mouky byl připraven 50% vodnoethanolový extrakt. Stanovení celkového obsahu polyfenolů bylo provedeno podle metody popsané Singletonem a Rossim (1965) s využitím kalibrační křivky a kyseliny gallové (0 – 500 mg/l) a ve druhém případě pomocí metody popsané Ribereau-Gayon a kol. (2006), která využívá absorpci při 280 nm. Celkový obsah flavonoidů byl stanoven prostřednictvím precipitační reakce s formaldehydem a následně Folin-Ciocalteuovou reakcí. Obě reakce byly provedeny v souladu s metodou popsanou Sprangerem a kol. (2008). Celkový obsah kyselin odvozených

od kyseliny skořicové byl stanoven podle Demira a kol. (2014) a obsah jednotlivých kyselin byl detekován pomocí HPLC analýzy Agilent 1100 Series dle metody, kterou popsal Cristea a kol. (2019).

Výsledky senzorické analýzy ukázaly, že přidání 1% koncentrace rakytníku do pšeničného chleba příznivě ovlivnilo jeho organoleptické vlastnosti oproti vyšším koncentracím. Co se týká fyzikálně-chemických vlastností, přidaný rakytník zvýšil obsah vlhkosti v chlebu vzhledem k obsahu látek schopných vázat a zadržovat vodu (celulóza, hemicelulóza, pektin), čímž se zpomalil proces stárnutí chleba. Přidání mouky z plodů rakytníku do pšeničného chleba prodloužilo jeho trvanlivost o 24 – 72 hodin. Prodloužení doby skladování chleba může být spojeno rovněž s obsahem fenolických látek s antimikrobiálními účinky. Rakytníková mouka zlepšuje antioxidační vlastnosti chleba, přičemž tento účinek je přímo úměrný jejímu množství zastoupeném v chlebu.

Vzhledem k výsledkům studie je vhodné přidávat do pšeničného chleba 1% mouku z plodů *Hippophae rhamnoides* za účelem získání produktu, který bude obohacen o bioaktivní látky, bude mít lepší senzorické vlastnosti a zároveň delší trvanlivost [48].

Coffea arabica L. (kávovník arabský) je rostlina patřící do čeledi Rubiaceae (mořenovité), která disponuje mnoha farmakologickými účinky. V řadě studií byly prokázány její antioxidační, antibakteriální, antifungální a antiradikální účinky a vliv na prevenci vzniku diabetu 2. typu a zlepšení citlivosti na inzulín. Káva také snižuje riziko vzniku Parkinsonovy choroby, působí preventivně na vznik rakoviny a má hepatoprotektivní a protizánětlivé účinky.

Cílem této studie bylo charakterizovat bioaktivní sloučeniny v různě zbarvených plodech kávovníku arabského a sledovat role odlišných barev plodů na adipogenezi a stimulaci lipolýzy v 3T3-L1 adipocytech. Dosud byla analyzována pouze kávová zrna, u nichž byl naznačen vliv na zlepšení obezity.

Kávovníkové plody mění svou barvu v závislosti na stupni zrání ze zelené, přes žlutou až do červené. Ve studii byly použity všechny 3 barevné ekvivalenty plodů pocházející z Chiang Mai v Thajsku, které byly rozděleny do dvou skupin s odlišnou následnou úpravou. První část byla sušena v horkovzdušné sušárně při 50 °C, rozemleta a extrahována vroucí destilovanou vodou v poměru 1:10 (káva:voda), kdežto druhá část byla vařena ve vroucí destilované vodě a filtrovaný roztok byl následně lyofilizován na suchý prášek.

Analýza obsahových látek byla provedena prostřednictvím metody LC-ESI-Q-TOF-MS s drobnými úpravami pomocí spektrometru Agilent 6540 Q-TOF-MS (Agilent Technologies, Singapur) ve spojení s HPLC systémem Agilent 1260 infinity series (Agilent, Waldbonn, Německo) a s využitím elektrosprejové ionizace (ESI) jako zdroje. Jako mobilní fáze A byla použita 0,1% kyselina mravenčí ve vodě (v/v) a jako mobilní fáze B 0,1% kyselina mravenčí v acetonitrilu (v/v). Jednalo se o lineární gradient. Vlastní separace byla uskutečněna na koloně phenomenex Luna C-18 s reverzní fází (150 mm × 4,6 mm, 5 μm, Phenomenex Inc., Torrance, CA, USA). MS byla prováděna v negativním režimu. Identifikace jednotlivých látek byla provedena na základě porovnání retenčních časů, hmotnostních spekter a fragmentačních vzorců příslušných standardů.

Studie sledovala obsahové látky v následujících extraktech z kávovníkových plodů: CGD – coffee green dry, CGF – coffee green fresh, CYD – coffee yellow dry, CYF – coffee yellow fresh, CRD – coffee red dry, CRF – coffee red fresh a pro srovnání také v sušených kávových zrnech (CRBD – coffee red bean dry), přičemž pozornost byla zaměřena především na sledování obsahu kyseliny kávové, **kyseliny chlorogenové** a kyseliny kafeoylchinové. Kyselina kafeoylchinová byla vyjádřena jako ekvivalent mg kyseliny chlorogenové a její obsah v CGD (0,433 ± 0,055 mg/100 mg extraktu, % w/w) byl významně vyšší než v CGF (0,169 ± 0,038 mg/100 mg extraktu, % w/w). V extraktu CYF bylo stanoveno větší množství kyseliny chlorogenové (1,093 ± 0,049 mg/100 mg extraktu, % w/w) ve srovnání s jeho suchým ekvivalentem CYD, který obsahoval 0,633 ± 0,023 mg/100 mg extraktu, % w/w. Extrakty CGD a CYD obsahovaly větší množství kyseliny kávové (0,026 ± 0,001 a 0,026 ± 0,003 mg/100 mg extraktu, % w/w) než CGF a CYF (0,008 ± 0,002 a 0,011 ± 0,002 mg/100 mg extraktu, % w/w). Napříč skupinami suchých a čerstvých extraktů bylo stanoveno podobné množství těchto látek jako celku a obsah jednotlivých kyselin ve všech vzorcích byl následující: kyselina chlorogenová > kyselina kafeoylchinová > kyselina kávová. Extrakt CRBD celkově obsahoval nejvyšší množství všech kyselin (1,839 ± 0,074 mg/100 mg extraktu, % w/w).

Předchozí studie dokazují, že káva dále obsahuje kromě kyseliny kávové a kyseliny chlorogenové také kyselinu ferulovou, trigonellin a kofein a že v zelených kávových zrnech je mimo výše uvedené látky obsažena kyselina chinová a kyselina *p*-kumarová. Pražením kávových zrn se obsah kyseliny chlorogenové a kofeinu snižuje. Maki a kol. (2017) zjistil vliv pravidelné konzumace pražené kávy na pokles tělesné hmotnosti, glukózy, volných mastných kyselin, hladiny cholesterolu a inzulínu v krvi a také na snížení hromadění tukové tkáně

v těle. Dále byla prokázána inhibice adipogeneze u 3T3-L1 preadipocytů. Další studie prokázaly, že kyselina chlorogenová, kyselina gallová, kyselina *o*-kumarová a kyselina *m*-kumarová mají antiobezitní účinky z důvodu snížení proliferace preadipocytů a schopnosti zastavit buněčný cyklus v G1 fázi. Alam a kol. (2016) poskytl důkazy o tom, že deriváty hydroxyskořicových kyselin zabraňují diferenciaci adipocytů a mají vliv na snížení obsahu lipidů u zvířecích modelů. Mezi tyto deriváty patří kyselina skořicová, kyselina *p*-kumarová, kyselina ferulová, kyselina kávová, kyselina chlorogenová a kyselina rozmarýnová. Kyselina kávová a kyselina chlorogenová snižují tělesnou hmotnost, množství viscerální tukové hmoty, plazmatické hladiny leptinu a inzulínu a inhibují jaterní enzymy.

Výsledky studie ukazují, že všechny testované extrakty z kávových plodů mají antiadipogenní a lipolytické účinky a jsou proto vhodnými kandidáty ke stimulaci lipolýzy v tukové tkáni, čehož lze využít při léčbě obezity a ke snížení rizika dalších chronických onemocnění [49].

Bohatým zdrojem mnoha polyfenolických látek je rostlina *Fagopyrum tataricum* Gaertn. (pohanka tatarská) z čeledi Polygonaceae (rdesnovité). Ta, mimo rutin, kvercetin, rozpustnou a nerozpustnou vlákninu, vitamíny, mikroživiny, proteiny, esenciální aminokyseliny, katechin, fagopyrin, myricetin, vitexin, isovitexin, kempferol, luteolin a procyanidin B2, obsahuje následující fenolické kyseliny: kyselinu 3,4-dihydroxybenzoovou, kyselinu 2,6-dihydroxybenzoovou, kyselinu 3,5-dihydroxybenzoovou, kyselinu 4-hydroxybenzoovou, kyselinu kávovou, **kyselinu chlorogenovou**, kyselinu ferulovou, kyselinu gallovou, kyselinu isovanilovou, kyselinu *p*-kumarovou a kyselinu syringovou.

Pro studijní účely byly použity listy, květy, stonky a kořeny pohanky tatarské, která byla sklizena v roce 2015 v obci Palikije v Polsku. K analýze byla použita RP-UHPLC-ESI-MS (Reversed Phase Ultra High Performace Liquid Chromatography – Electrospray ionization – Mass Spectrometry) s využitím Dionex UltiMate 3000 UHPLC (Thermo Fisher Scientific, Sunnyvale, CA, USA) a Bruker maxis qTOF. Jako zdroj byl použit ESI v režimu záporných iontů (Bruker Daltonic, Brémy, Německo). Separace proběhla na koloně Kinetex^{TM} 1,7 µm C18 100 A, LC kolona 100_2,1 mm (phenomenex, Torrance, CA, USA) s využitím následujících mobilních fází: mobilní fáze A – voda obsahující 0,1% kyselinu mravenčí a mobilní fáze B – acetonitril.

Ve studii bylo zjištěno, že nejvíce obsaženými látkami byl rutin (methanolový extrakt z listů – 2949,3 µg na 1 g sušiny) a kyselina chlorogenová (methanolový extrakt

z květů – 1013,4 µg na 1 g sušiny). Obsah jednotlivých látek se lišil v závislosti na morfologické části rostliny a na použitém extrakčním rozpouštědle. Methanolové extrakty obsahovaly větší množství fenolických sloučenin než vodné extrakty a největší množství fenolických látek bylo detekováno v pohankových květech [50].

K léčebným účelům se běžně používá rostlina *Morus alba* L. (morušovník bílý) z čeledi Moraceae (morušovníkovité). Listy, plody, kůra a větve této rostliny se používají pří léčbě kloubů, hyperglykémie, dyslipidémie, hypertenze a v čínské medicíně jsou užívány jako prostředek proti horečce, ke zlepšení zraku, k posílení kloubů, k ovlivnění dozrávání dendritických buněk a jako hepatoprotektivum. Listy mají antibakteriální, antioxidační a antidiabetické účinky a působí proti obezitě. Plody mají antiobezitní, antitrombotické a protizánětlivé účinky.

Cílem studie bylo porovnat fenolický profil komerčních vzorků rostliny *Morus alba* a jejich antioxidační účinky a schopnost inhibovat enzym acetylcholinesterasu. Srovnání bylo uskutečněno mezi vodnomethanolovými a vodnými extrakty.

Bylo analyzováno 18 vzorků morušovníku, které byly koupeny v lékárně a místních supermarketech, přičemž většina byla ve formě nálevových sáčků. Drogy z většiny pocházely z Polska. Testované byly listy, jen 2 vzorky obsahovaly plody a jeden obsahoval celé byliny.

Ve studii byly použity vodnomethanolové a vodné extrakty z morušovníku bílého, které byly podrobeny analýze prostřednictvím HPLC za účelem separace a kvantifikace fenolických sloučenin. Zařízení HPLC (Merck-Hitachi LaChrome, Darmstadt, Německo) s UV-VIS detektorem L-7420 bylo vybaveno kolonou Hypersil Gold C18 (250 × 4,6 mm, 5 µm, Thermo Scientific, Runcorn, UK) a jako mobilní fáze A byl použit roztok acetonitrilu a 0,5% kyseliny octové a jako mobilní fáze B vodný roztok s 0,5% kyselinou octovou. Separace byla provedena za podmínek lineárního gradientu a izokratické eluce. Celkový obsah fenolických látek (TPC) byl stanoven za použití Folin-Ciocaulteuova činidla dle Singleton a Rossi (1999) s mírnými úpravami, celkový obsah flavonoidů byl stanoven podle metody uvedené v Evropském lékopise s úpravami a celkový obsah fenolických kyselin (TPAC) byl určen pomocí Arnovova činidla podle postupu popsaném v Polském lékopise VI. Extrakty byly dále podrobeny metodě vyvinuté Abdelmageed (1995) za účelem stanovení kyseliny L(+)-askorbové, testům ke zjištění DPPH, FRAP a testům ke stanovení inhibiční aktivity proti acetylcholinesterase (AChE) prostřednictvím Ellmanovy metody.

Bylo zjištěno, že vodné extrakty vykazovaly vyšší hodnoty TPC, TFC, TPAC a že obsahovaly větší množství kyseliny L(+)-askorbové než vodnomethanolové extrakty. Výtěžek extrakce závisí na mnoha faktorech, např. na složení vzorku, na typu rozpouštědla, na době extrakce či na teplotě, což potvrzuje fakt, že bylo získáno větší množství fenolických sloučenin s využitím horké vody při extrakci. Hodnota TPC ve vodných extraktech činila 4,64 mg ekvivalentu kyseliny gallové (GAE)/g sušiny, hodnota TFC ve vodnomethanolových extraktech se pohybovala od 26,37 μg do 96,38 μg ekvivalentu kvercetinu (QE)/g sušiny a ve vodných extraktech od 0,191 mg do 0,607 mg QE/g sušiny. Hodnoty TPAC byly několikanásobně vyšší ve vodných extraktech (127,82 až 573,04 μg CAE/g sušiny) ve srovnání s vodnomethanolovými extrakty (12,88 až 88,11 μg CAE/g sušiny).

V morušovníku byly identifikovány následující fenolické kyseliny: kyselina gallová, kyselina vanilová, kyselina ferulová, kyselina kávová, **kyselina chlorogenová**, kyselina rozmarýnová a kyselina *p*-kumarová. Dále byl detekován rutin, kvercetin a apigenin. Pro vodnomethanolové extrakty byl obsah jednotlivých látek seřazen následovně: kyselina chlorogenová > rutin > kvercetin > apigenin > kyselina rozmarýnová > kyselina gallová > kyselina ferulová > kyselina kávová > kyselina *p*-kumarová > kyselina vanilová. Vodné extrakty obsahovaly v největším množství rutin a další látky v uvedeném pořadí: kyselina chlorogenová > kvercetin > kyselina gallová > kyselina rozmarýnová > apigenin > kyselina ferulová > kyselina kávová > kyselina *p*-kumarová > kyselina vanilová.

Bylo prokázáno, že hydromethanolové extrakty vykazovaly nižší hodnoty DPPH a vyšší hodnoty FRAP než vodné extrakty. Zároveň bylo zjištěno, že vodné extrakty z listů neměly významné účinky ve vztahu k inhibici acetylcholinesterasy. Testované vzorky byly konzistentní vzhledem ke složení fenolických látek, antioxidačním účinkům a inhibiční aktivitě proti AChE, mimo 2 vzorky obsahující plody a vzorek, který obsahoval listy morušovníku, yerba maté a citrón.

Studie prokázala významné antioxidační účinky morušovníku bílého vzhledem ke značnému obsahu fenolických látek a potvrdila jejich vzájemnou korelaci. Těchto účinků lze využít u konečných spotřebitelů ve formě čajových nálevů nebo prostřednictvím začlenění vodnomethanolových extraktů do antioxidačních bylinných přípravků [51].

Kyselina chlorogenová patří mezi fenolické kyseliny, které se nachází v rostlině *Clematis cirrhosa*, *Paeonia suffruticosa*, *Sophora flavescens*, *Laurus nobilis*, *Artiplex mollis*, *Amaranthus tricolor*, *A. lividus*, *Taxus cuspidata*, *Verbena officinalis*, *Grindelia robusta*, *G.*

squarrosa, *Annona muricata*, *Solidago virgaurea*, *Mammillaria* spp., *Teucrium flavum*, *T. arduini*, *Cucurbita pepo*, *C. moschata*, *Salvia hispanica*, *Picea abies*, *Larix decidua*, *Pinus sylvestris*, *Pseudotsuga menziesii*, *Juniperus communis*, *Dendropanax morbifera*, *Alyssum montanum*, *Smallanthus sonchifolius*, *Echinacea purpurea*, *Linum usitatissimum*, *Panicum miliaceum*, *Boehmeria nivea*, *Rosa canina* a *Baccharis dracunculifolia*.

21 Kyselina kávová

Rostliny *Teucrium flavum* L. a *Teucrium arduini* L. patří spolu s mnoha dalšími zástupci do polymorfního rodu *Teucrium* (ožanka), který se používá ve farmacii a tradiční medicíně k léčebným účelům. Tento rod vytrvalých rostlin se řadí do čeledi Lamiaceae (hluchavkovité) a tvoří nejpočetnější rod této čeledi ve středomořské oblasti. Rostliny mají cholagogní, diuretické, spasmolytické, antidiabetické, revmatické a antiflogistické účinky a používají se rovněž jako antiseptika, anthelmintika, karminativa a aromatika. Obsahují značné množství polyfenolických sloučenin, které jim zajišťují protizánětlivé, protivředové, antimikrobiální, cytotoxické a proapoptotické vlastnosti a schopnost působit jako antioxidanty.

Teucrium arduini L. je endemický keř rostoucí na Balkánském poloostrově, který se používá především na žaludeční obtíže. Druh *Teucrium flavum* L. je vždyzelený keř, jež se v lidovém léčitelství používá jako adstringens, antidiabetikum a jako prostředek k hojení ran na kůži. Studie prokázaly, že tato rostlina vykazuje protizánětlivé a antioxidační účinky a lze ji využít jako antihypertenzivum.

Studie se zabývala stanovením celkového obsahu fenolických sloučenin v rostlinách pomocí spektrofotometrické analýzy a prokázáním jejich genotoxicity a cytotoxicity. Genotoxicita na lidských lymfocytech kultivovaných *in vitro* byla určena na chromozomální úrovni pomocí CBMN testu (Cytokinesis-Block Micronucleus) a na úrovni DNA pomocí kometového testu. Cytotoxicita byla stanovena na základě životaschopnosti 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-difenyltetrazoliumbromidu (MTT) u lidských fetálních fibroblastů (MRC-5) a u buněk karcinomu prsu (MDA-MB-231) pomocí tzv. MTT testu.

K hodnocení byly využity nadzemní části rostliny, tzn. stonky, listy a květy, které byly sebrány v roce 2015 na území Černé Hory. Vzorky byly usušeny při 20 °C, rozdrceny a

extrahovány v nádobě z tmavého skla. Z vysušeného rostlinného materiálu byly pomocí Soxhletova přístroje připraveny methanolové extrakty.

Kvalitativní obsah polyfenolických sloučenin v extraktech byl stanoven pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie Shimadzu (Kjóto, Japonsko) s využitím diodového detektoru SPD-M20A a kolony Luna C18 (250 × 4,6 mm, 5µm). Byla provedena gradientová eluce a jako mobilní fáze A byla použita voda okyselená kyselinou mravenčí (pH 2,8) a jako mobilní fáze B acetonitril.

Celkový obsah fenolických látek byl vyjádřen v ekvivalentech kyseliny gallové (GA) a byl vyšší v methanolovém extraktu druhu *Teucrium arduini* (200,35 ± 0,46 mg GA/g extraktu) ve srovnání s extraktem druhu *Teucrium flavum* (171,08 ± 0,38 mg GA/g extraktu).

Pomocí HPLC bylo v extraktech prokázáno celkem 8 fenolických kyselin, přičemž kvalitativní a kvantitativní obsah byl u obou extraktů podobný. V rostlinách byla identifikována **kyselina kávová** (28,30 ± 0,3 mg/g) jako hlavní fenolická kyselina, dále kyselina *p*-kumarová, kyselina chlorogenová, kyselina vanilová, kyselina syringová, kyselina 3-hydroxybenzoová, kyselina 3,5-dihydroxybenzoová a kyselina ferulová. Nejvíce obsaženým flavonoidem byl kvercetin. Kyselina *p*-kumarová se v téměř 20krát vyšší koncentraci nacházela v extraktu *Teucrium flavum* (27,90 ± 0,9) než v extraktu *Teucrium arduini* (1,50 ± 0,02) a kyselina ferulová byla obsažena v trojnásobně vyšší koncentraci v extraktu *Teucrium arduini* (8,90 ± 0,4) než v extraktu *Teucrium flavum* (2,27 ± 0,01). Celkový obsah fenolických látek a flavonoidů v extraktech druhu *Teucrium* závisí na typu pletiva a rozpouštědla použitého k extrakci a případné odlišnosti v obsahu lze vysvětlit pomocí genetických rozdílů a podmínek prostředí.

Studie prokázala, že methanolové extrakty obou druhů rodu *Teucrium* vykazovaly genotoxické účinky v rozmezí dávek 250 – 1000 µg/ml a jsou cytotoxické pro zdravé lidské fibroblasty MRC-5. Na buňky karcinomu prsu MDA-MB-231 tento efekt prokázán nebyl. Dané účinky jsou přičítány jejich fenolickému a flavonoidnímu složení. Vzhledem k výsledkům studie jsou nutná další hodnocení, aby bylo možné tyto rostlinné extrakty bezpečně použít u lidí [52].

Výzkum prokázal, že se **kyselina kávová** v hojné míře vyskytuje u dýně (*Cucurbita* sp.*),* konkrétně u dvou druhů *Cucurbita pepo* L. a *Cucurbita moschata* Duchesne ex Poir. Oba druhy se řadí do čeledi Cucurbitaceae (tykvovité), která zahrnuje asi 130 divoce rostoucích či

kultivovaných druhů po celém světě. Dýně obsahuje značné množství látek (např. karotenoidy, flavonoly, fenolické kyseliny, tokoferoly, minerály a vitamíny) vykazujících kardioprotektivní, hypoglykemické, antioxidační, protirakovinné, antibakteriální, imunomodulační, neuroprotektivní a protizánětlivé účinky.

Mimo kyselinu kávovou byly v rostlinách izolovány následující fenolické kyseliny: kyselina gallová, kyselina protokatechová, kyselina 4-hydroxybenzoová, kyselina vanilová, kyselina chlorogenová, kyselina *p*-kumarová, kyselina ferulová a kyselina sinapová.

K analýze byla použita dužina obou druhů dýně, jež byly sklizeny v říjnu roku 2016. Obsah fenolických kyselin byl stanoven pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie (Agilent) s detektorem Infinity Pump DAD 1290 a s kolonou C18 Zorbax SB. Jednalo se o koncentrační gradient (nelineární): voda okyselená kyselinou orthofosforečnou (0,05%) na pH 2,7 a acetonitril s vodou (1:1 v/v). Jednotlivé fenolické kyseliny byly identifikovány na základě srovnání jejich UV-VIS spektra a retenčních časů s příslušnými standardy při vlnové délce 260 a 310 nm.

Vzhledem k přítomnosti mnoha sloučenin s antioxidačními vlastnostmi, jejichž účinek je potvrzen a zdokumentován, je dýně doporučována jako významná složka potravy. Podílí se na neutralizaci volných radikálů, které přispívají k vývoji nepřenosných onemocnění. Dýně patří mezi nejznámější druh zeleniny na světě, avšak dosud nebyly testovány všechny aspekty související s jejím zdravotním potenciálem [53].

Širokou škálu léčivých vlastností vykazuje rostlina *Oenothera biennis* L. (pupalka dvouletá), která patří do čeledi Onagraceae (pupalkovité). Rod *Oenothera* v současné době zahrnuje více než 145 druhů, z nichž 70 druhů se vyskytuje v Evropě. Nejvíce se používají extrakty z nadzemních částí rostliny, především mastné oleje získané ze semen, jehož množství v semenech se odvíjí od jejich stáří, podmínek růstu a způsobu kultivace. Nadzemní části rostliny obsahují mimo mastné kyseliny také flavonoidní glykosidy (kempferol-3-O-glukosid, kvercetin-3-O-galaktosid, kvercetin-3-O-rhamnosid, myricetin-3-O-glukosid), třísloviny a fenolické kyseliny (kyselina ellagová, kyselina gallová, **kyselina kávová**, kyselina *p*-kumarová).

Pupalka dvouletá má antioxidační, protizánětlivé, antidiabetické, antibakteriální a antineuropatické účinky. Extrakty z kořenů a ze semen vykazují antiproliferativní, antiangiogenní, antimigrační a antimetastatické účinky proti buněčným liniím prsu, prostaty,

jater a proti leukemickým buňkám. Vzhledem k obsahu kyseliny γ-linolenové a kyseliny linolové má pupalka schopnost snižovat vysoké hladiny cholesterolu a triglyceridů v séru. Rostlina má dále antitrombotické, kariostatické a protivirové účinky a z důvodu obsahu kyseliny gallové v kořenech, také antifungální účinky. Olej či extrakt získaný ze semen působí na bakterii *Helicobacter pylori* a má antiulcerózní a cytoprotektivní účinky na mnohé žaludeční léze. Extrakty z nadzemních částí rostliny inhibují acetylcholinesterasu. Pupalka dvouletá je významná léčivá rostlina poskytující řadu důležitých bioaktivních molekul, která se vzhledem k výše uvedeným účinkům používá k léčbě mnoha onemocnění, jako je například atopická dermatitida, hyperlipidemie, ateroskleróza, endoteliální dysfunkce, peptický vřed, ulcerózní kolitida, Crohnova choroba, zánětlivé střevní onemocnění, roztroušená skleróza, revmatoidní artritida, diabetes mellitus, neurodegenerativní poruchy, premenstruační syndrom, bakteriální a plísňové infekce. S využitím této rostliny se léčí rakovina a také děti s *Molloscum.*

Ve studii byly použity sušené nadzemní části rostliny *Oenothera biennis* z Tuniska (Djerba) a jednotlivé polyfenoly v ní obsažené byly detekovány pomocí Shimadzu Chromatograf (Kjóto, Japonsko) s využitím SPD-10A UV detektoru (použitá vlnová délka: 280 nm a 340 nm) a kolony EC 150/2 NUCLEODUR C18 Gravity SB 150 × 2 mm × 5 µm. Byla provedena gradientová eluce s použitím vody okyselené kyselinou mravenčí na pH 3 (mobilní fáze A) a acetonitrilu okyseleným kyselinou mravenčí na pH 3.

Celkový obsah polyfenolů byl stanoven pomocí UV-VIS spektrofotometrie (Analytic Jena Specord 205, Jena, Německo), přičemž k přípravě alkoholového extraktu bylo použito činidlo Folin-Ciocalteu (Merck KGaA, Darmstadt, Německo).

Provedená kapalinová chromatografie prokázala v rostlině obsah kyseliny gallové (1,064 mg/g), kyseliny kávové (11,525 mg/g), kyseliny *p*-kumarové (0,26 mg/g), kyseliny ferulové (1,250 mg/g) a kyseliny rozmarýnové (1,601 mg/g). Mimo fenolické kyseliny, bylo v pupalce identifikováno značné množství epikatechinu (78,40 mg/g) a rutinu (3,528 mg/g). Celkový obsahu polyfenolů činil 631,496 µg GAE/ml extraktu.

Předchozí studie se zabývaly především stanovením fenolických látek v pupalkových semenech, kdy Ratz-Łyko a kol. (2014) uvedl obsah katechinu, kvercetinu, kyseliny gallové a kyseliny ferulové v extraktech ze semen. Zadernowski a kol. (2002) poukázal na přítomnost flavonoidů a hydroxyskořicových kyselin (kyselina gallová, kyselina ferulová, kyselina syringová, kyselina protokatechová, kyselina *p*-hydroxybenzoová) a Timoszuk a kol. (2018)

provedl komplexní studii za účelem stanovení profilu fenolických látek v nadzemních částech, listech, semenech, kořenech a v oleji získaném z pupalky dvouleté. V rámci této studie bylo zjištěno, že z fenolických kyselin byla zastoupena kyselina gallová, kyselina ellagová, kyselina kávová a jejich esterové deriváty: kyselina 3-*p*-feruloylchinová, kyselina 4-*p*-feruloylchinová, kyselina 3-*p*-kumaroylchinová a kyselina valonová.

Vodnoalkoholový extrakt z pupalky dvouleté vykazoval antioxidační účinky dané hodnotou 7258 µmolTrolox /g extraktu, bakteriostatické účinky na testované bakteriální kmeny, baktericidní účinky na bakterii *Staphylococcus aureus* a fungicidní účinky na *Candida* spp. Extrakt (60 µg/ml) vykazoval významné antiproliferativní a pro-apoptotické účinky vůči buněčné linii lidského melanomu A375 a v závislosti na koncentraci extraktu byl ovlivněn migrační potenciál těchto buněk. Byl prokázán protizánětlivý účinek rostliny, ovlivnění angiogeneze a na dávce závislé poškození mitochondriální funkce [54].

Salvia hispanica L. (šalvěj hispánská) je jednoletá bylina patřící do čeledi Lamiaceae (hluchavkovité). Je vysoce ceněna především pro svá semena, která jsou zdrojem mnoha látek podporujících lidské zdraví. Semena jsou známa jako chia a obsahují omega-3 mastné kyseliny, polynenasycené mastné kyseliny, vlákninu, bílkoviny, vitamíny (A, B_1, B_2, B_3), minerály (vápník, fosfor, draslík, hořčík), polyfenoly a antioxidanty, mezi které patří i fenolické kyseliny. Chia semena obsahují 8,8 % fenolických sloučenin, mezi které patří velké množství **kyseliny kávové**, kyseliny chlorogenové, kyseliny rozmarýnové, kyseliny gallové, kyseliny skořicové a kvercetinu, kempferolu a myricetinu. Obsah jednotlivých látek se může lišit v závislosti na roku kultivace, na kultivačních podmínkách, na použité extrakční metodě a na teplotě, jelikož byl během vývoje semen prokázán snižující se obsah polynenasycených mastných kyselin se vzrůstající teplotou. Některé studie uvedly, že se nutriční hodnoty a množství obsahových látek může lišit vzhledem k rozdílným klimatickým podmínkám, geografické poloze a živinám obsažených v půdě.

Polynenasycené omega-3 mastné kyseliny mají protektivní účinek na vznik zánětu, zlepšují kognitivní funkce, snižují hladinu cholesterolu a obsažené antioxidanty snižují riziko vzniku rakoviny či infarktu a působí preventivně proti diabetu, Alzheimerově a Parkinsonově chorobě. Šalvěj obsahuje velké množství vlákniny, které snižuje riziko vzniku ischemické choroby srdeční a diabetu 2. typu a vzhledem k obsahu kvercetinu, kyseliny chlorogenové a kyseliny kávové mají protirakovinné, antihypertenzní a neuroprotektivní účinky. Chia semena se v různých formách používají v potravinářském i farmaceutickém průmyslu, přičemž chia

olej je jedním z nejcennějších olejů na trhu. Sliz, který vznikne po kontaktu semen s tekutinou, představuje slibnou alternativu k syntetickým polymerům v nanoenkapsulaci. V posledních letech se semena chia stala jednou z nejznámějších potravin na světě pro své nutriční hodnoty a léčivé účinky a používají se jako doplněk výživy pro podporu trávení, k posílení kostí, regeneraci svalů, k zajištění dobrého stavu kůže a na snížení rizika srdečních onemocnění.

Analýza celkového obsahu fenolu a kvalitativní analýza jednotlivých fenolických kyselin a isoflavonů byla provedena pomocí UHPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatography) [55].

Na fenolické kyseliny jsou bohaté rovněž výhonky jehličnanů, mezi které patří *Picea abies* (L.) H. Karst. (smrk ztepilý), *Larix decidua* Mill. (modřín opadavý), *Pinus sylvestris* L. (borovice lesní), *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco (douglaska tisolistá) z čeledi Pinaceae (borovicovité) a *Juniperus communis* L. (jalovec obecný) z čeledi Cupressaceae (cypřišovité).

Kůra, výhonky a pryskyřice jehličnanů se používají k léčbě mnoha onemocnění, jako jsou například onemocnění močových cest, zažívacího traktu, nervového systému a dýchacích cest. Léčí se jimi taktéž mnoho kožních onemocnění. V řadě studií, které v předešlých letech zkoumaly jehličnanové výhonky, byl prokázán značný obsah polyfenolů, jež jim propůjčují antioxidační účinky. Vzhledem k obsahu α-pinenu, mají tyto dřeviny gastroprotektivní, analgetické, protialergenní a antikonvulzivní účinky a působí na některé druhy rakoviny.

Materiál, který byl ve studii použit, sestával ze šesti vzorků výhonků z výše uvedených jehličnatých stromů pocházejících z města Zielonka v Polsku. Výhonky byly shromážděny v srpnu roku 2019.

Z uvedených vzorků výhonků byly připraveny vodné extrakty, které byly podrobeny analýze UPLC třídy Acquity H ve spojení s Acquity PDA detektorem (Waters Corp, Milford, MA, USA) a s využitím kolony Acquity UPLC® BEH C18 (100 mm × 2,1 mm, 1,7 µm, Watery, Dublin, Irsko. Byla provedena gradientová eluce prostřednictvím mobilní fáze A – acetonitril s 0,1% kyselinou mravenčí a mobilní fáze B – 1% vodný roztok kyseliny mravenčí (pH=2).

Ve sledovaných extraktech bylo identifikováno mnoho fenolických kyselin a dalších fenolických látek, přičemž jejich nejvyšší obsah byl stanoven ve výhoncích *Picea abies* s hodnotou 13947,8 µg/g sušiny a nejnižší v *Pinus sylvestris* s hodnotou 6123 µg/g sušiny. Ve

všech vzorcích byly detekovány následující látky: kyselina salicylová, naringenin, vitexin, rutin, kvercetin, apigenin, kempferol a luteolin, ovšem ve velmi malém množství. Naproti tomu **kyselina kávová**, kyselina ferulová, kyselina chlorogenová a kyselina 4-hydroxybenzoová byla v extraktech přítomna ve značném množství, přičemž největší rozdíl v obsahu byl zjištěn u kyseliny ferulové. Obsah této kyseliny činil v extraktu z *Pseudotsuga menziesii* 5002,20 µg/g sušiny a v extraktu z *Picea abies* 1129,85 µg/g sušiny. Ze všech kyselin byla nejvíce zastoupena kyselina kávová, a to ve výhoncích *Juniperus communis* s hodnotou 5999,36 µg/g sušiny.

V současné době jsou znalosti ohledně vlastností a využití látek z jehličnatých stromů neúplné a dosud nebyly provedeny žádné studie, které by sledovaly použití jehličnanů v potravinářském průmyslu. Tyto suroviny představují slibný zdroj pro výrobu léků, doplňků stravy a tzv. funkčních potravin, které aktuálně tvoří nejrychleji rostoucí oblast na trhu s potravinami.

Z výsledků testů provedených *in vitro* vyplývá, že všechny testované extrakty mají antimikrobiální účinky, které byly prokázány na referenčních gramnegativních bakteriích – *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, na grampozitivních bakteriích – *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus fermentum*, *Clostridium butyricum*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus coagulans* a na houbách – *Candida utilis*, *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. Nejvyšší účinky vykazují extrakty z borovice a smrku [56].

V současné době došlo v důsledku nadměrné konzumace alkoholu k významnému nárůstu onemocnění jater, mezi které lze zařadit alkoholovou steatózu, hepatitidu či cirhózu. Tato onemocnění poté často vedou k rozvoji rakoviny jater.

V minulosti byla provedena studie, která potvrdila schopnost potlačení poškození jater v důsledku působení oxidačního stresu u extraktu z rostliny *Dendropanax morbifera* z čeledi Araliaceae (aralkovité). Jedná se o léčivou rostlinu, která se vyznačuje rovněž protizánětlivými, protirakovinnými a antidiabetickými účinky a která působí na imunitní systém.

Cílem studie bylo ověřit, zdali rostlina působí jako prevence proti alkoholovému poškození jater a stanovit její vztah se střevním mikrobiomem.

Analýze byly podrobeny stonky a listy *D. morbifera*, které byly zakoupeny od společnosti Jeju Hwangchil (Jeju, Korea) a z nichž byly připraveny ethanolové a vodné extrakty.

Extrakty byly použity pro stanovení celkového obsahu polyfenolů a flavonoidů prostřednictvím metody Folin-Ciocalteu a metody využívající chlorid hlinitý a dále u nich byly určeny antioxidační účinky pomocí metody DPPH, TEAC a FRAP. Kvantitativní analýza fenolických kyselin a flavonoidů v extraktech byla provedena pomocí HPLC systému, který byl spojen s detektorem SPD-M20A PDA (Agilent infinity 1260 series, Mnichov, Německo) a kolonou Triart C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) z YMC Co., Ltd. (Tokio, Japonsko). Byla provedena gradientová eluce, kdy v případě flavonoidů byla použita mobilní fáze, která se skládala ze směsi vodného roztoku 0,1% kyseliny trifluoroctové (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo) a acetonitrilu obsahujícího 0,1% kyselinu trifluoroctovou. V případě stanovení fenolických kyselin byl použit vodný roztok 0,1% kyseliny mravenčí (Sigma-Aldrich), který byl následně smíchán s methanolem (Sigma-Aldrich) obsahujícím 0,1% kyselinu mravenčí.

Studie potvrdila vyšší celkový obsah polyfenolů a flavonoidů v extraktech z listů oproti extraktům ze stonků, stejně jako u ethanolových extraktů ve srovnání s extrakty vodnými.

V extraktech bylo identifikováno celkem 18 flavonoidů, z nichž byl nejvíce zastoupen rutin. Dále v nich bylo detekováno 12 fenolických kyselin (kyselina benzoová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyselina protokatechová, kyselina vanilová, kyselina syringová, kyselina gallová, kyselina skořicová, kyselina *p*-kumarová, **kyselina kávová**, kyselina ferulová, kyselina sinapová, kyselina chlorogenová), přičemž kyselina kávová, kyselina chlorogenová a glykosid kyseliny kávové byly zjištěny jako hlavní fenolické kyseliny v rostlině. Studie prokázala vyšší přítomnost kyseliny chlorogenové ve vodných extraktech oproti ethanolovým extraktům a nejvyšší obsah byl zjištěn ve vodném extraktu z listů, který činil 5,165 ± 0,004 mg/g. U kyseliny kávové tomu bylo naopak a její nejvyšší obsah byl stanoven v ethanolovém extraktu z listů s hodnotou 21,824 ± 1,356 mg/g.

Studie zkoumala vliv extraktů z listů *Dendropanax morbifera* (DML) na poškození jater v důsledku nadměrné konzumace alkoholu na zvířecích modelech – potkanech, kterým byl extrakt podáván po dobu sedmi dnů. Během studie byla porovnávána aktivita enzymů ALT (alaninaminotransferasa) a AST (aspartátaminotransferasa), které vystupovaly jako

indikátory jaterního poškození a hmotnost jater, která byla odrazem hypertrofie jater v důsledku metabolismu tuků a tvorby tukové tkáně vlivem nepřetržité nadměrné konzumace alkoholu. Ve studii byl prokázán pokles hmotnosti u skupin, kterým byl podáván alkohol, na rozdíl od skupin bez konzumace alkoholu.

Výsledky studie ukazují zvýšené hladiny jaterních enzymů ALT a AST. Vzhledem k tomu, že se enzymy ALT a AST uvolňují z jater do krve při jaterním poškození, bylo prokázáno, že nadměrná konzumace alkoholu poškozuje jaterní tkáň. Bylo také zjištěno, že příjem extraktů z listů *Dendropanax morbifera* měl vliv na snížení aktivity těchto enzymů po konzumaci alkoholu. U skupiny, která konzumovala 500 mg/kg ethanolového extraktu z listů došlo k 40% poklesu aktivity enzymu AST a k 58% poklesu aktivity enzymu ALT, naopak u skupiny, která konzumovala 500 mg/kg vodného extraktu z listů bylo zjištěno, že aktivita enzymu AST poklesla o 53 % a aktivita enzymu ALT o 65 %.

Nadměrná konzumace alkoholu zvyšuje absorpci ethanolu v tenkém střevě a dochází k jeho zvýšené metabolizaci v játrech, která však při poškození jater klesá. Z alkoholu vzniká acetaldehyd pomocí enzymů ADH (alkoholdehydrogenasa) a ALDH (aldehyddehydrogenasa). Koncentrace ethanolu a acetaldehydu tak mohou sloužit jako nepřímé ukazatele poškození jater vlivem konzumace alkoholu, kdy skupina s nadměrným příjmem alkoholu vykazovala 1,8krát vyšší koncentraci ethanolu v séru a 2,1krát vyšší koncentraci acetaldehydu než u skupin konzumující alkohol střídměji. Po příjmu extraktů z listů *Dendropanax morbifera* došlo ke snížení koncentrace alkoholu a acetaldehydu v krvi v závislosti na koncentraci extraktu. Bylo zjištěno, že vodné extrakty měly vyšší účinnost než ethanolové.

Extrakt DML (500 mg/kg) měl vliv na zvýšení účinků antioxidačního enzymu CAT, stejně jako enzymu SOD, přičemž ethanolový extrakt vykazoval vyšší antioxidační účinky ve srovnání s vodným extraktem.

Výzkum naznačil, že konzumace alkoholu a působení extraktem DML může způsobit změnu střevního mikrobiomu. Požitím alkoholu došlo ke snížení množství bakterií *Clostridium*, *Turbibacter* a *Romboutsia* a ke zvýšení množství bakterií *Prevotella*, *Parasutterella* a gramnegativních bakterií Porphyromonadaceae a *Alloprevotella*, jejichž obsah byl následně snížen vlivem působení extraktu DML.

Ze studie vyplývá, že zejména vodné extrakty DML lze použít na prevenci a léčbu jaterní toxicity, která je způsobena konzumací alkoholu [57].

Těžké kovy patří mezi hlavní abiotické stresové faktory, které v rostlinách způsobují značné biochemické a fyziologické změny. Tyto změny nastávají především v procesu příjmu vody, v distribuci živin, v transpiraci, v metabolismu dusíku nebo může dojít k nepříznivému ovlivnění fotosyntézy. Tohoto efektu je dosaženo vlivem kumulace těžkých kovů v rostlinách, kdy dochází k poškození funkce membrán chloroplastů a komponent elektronového transportního řetězce v reakčním centru fotosystému II a I. Nastává rovněž změna v rychlosti přenosu energie z LHC (light-harvesting complex) tvořeným chlorofylem *a*/*b* k oběma fotosystémům. Bylo zjištěno, že fotosystém II je citlivější na přítomnost těžkých kovů než fotosystém I. Z tohoto důvodu lze předpokládat inhibici fotochemické reakce v závislosti nahrazení iontů hořčíku, vápníků či manganu v LHCII nebo fotosystému II ionty kovu. Vlivem kovů může docházet k dalším jevům, které brání fotosyntéze, a to k poklesu obsahu fotosyntetického pigmentu nebo relativních podílů chlorofylu *a*/*b*, ke snížení počtu průduchů a vodivosti a k předčasnému stárnutí listů a následně pak ke snížení povrchu absorbujícího světelné záření.

Rostliny jsou po vystavení stresovým faktorům bohaté na řadu různých metabolitů, mezi které patří fenolické sloučeniny. Tyto látky mají vysokou tendenci vázat kovové ionty a aktivní formy kyslíku (ROS) přes hydroxylové a karboxylové skupiny. Klíčovou roli při odpovědi na stres hrají fytohormony, jejichž množství se v reakci na různé abiotické faktory snižuje (stimulanty růstu, tj. auxiny, cytokiny, liberiny) nebo zvyšuje (kyselina abscisová, kyselina salicylová, jasmonáty). Posledně zmíněné látky inhibují prodloužení a následné dělení buněk a urychlují stárnutí a dormanci.

V půdách rudonosné oblasti Olkusz na jihu Polska se hojně vyskytují kovy, jako je zinek, olovo a kadmium. Jedná se o jednu z nejdéle používaných průmyslových oblastí, jejíž vegetace a krajina byla lidskou činností drasticky ovlivněna. Dala ovšem za vznik rostlin odolných vůči kovovým iontům, mezi které patří rostlina *Alyssum montanum* L. (tařinka horská) z čeledi Brassicaceae (brukvovité).

Bylo zjištěno, že systém peroxidasa-flavonoid působí jako obranný prvek tařinky horské proti stresové zátěži v podobě kovů nebo oxidačních procesů.

Cílem výzkumu bylo sledování ekotypů tařinky horské s ohledem na schopnost fotosyntézy a fytochemické složení jejích výhonků, které byly vystaveny kovům, jako je zinek, kadmium nebo olovo.

Ke studii byly použity dva kontrastní ekotypy rostliny *Alyssum montanum*, z nichž jeden byl zástupcem populace „bez kovů“ (NM – non-metallicolous) pocházející z Pińczówa poblíž Kielce v Polsku a druhý ekotyp představoval (M – metallicolous) kalamínovou populaci „s kovy“, která pocházela z odpadní kupy obsahující Zn-Pb v rudonosné oblasti v Olkusz v Polsku.

Lokalizace kovů byla provedena pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM) a energiově disperzní rentgenové spektrometrie (EDX) a odhad účinnosti fotosyntetického aparátu byl stanoven prostřednictvím určení obsahu fotosyntetického pigmentu a na základě měření fluorescence chlorofylu. V průběhu studie byla také provedena analýza aktivity enzymů, které se podílejí na biosyntéze fenolických kyselin, stanovení endogenních jasmonátů (JA), kyseliny abscisové (ABA) a kyseliny salicylové (SA) a stanovení fenolických kyselin. Volné fenolické kyseliny byly určeny prostřednictvím modifikované metody, kterou popsal Hura a kol. (2016) s využitím systému Agilent Infinity 1260 ve spojení s fluorescenčním detektorem, FLD (Agilent, Waldbronn, Německo). Separace byla provedena na koloně Zorbax Eclipse Plus Phenyl-Hexyl (3,5 µm, 3,0 mm × 100 mm). Byl použit lineární gradient mobilní fáze 2% vodného roztoku kyseliny mravenčí proti methanolu. JA, ABA a SA byly stanoveny pomocí UHPLC-MS/MS dle Dziurka a kol. (2016), Hury a kol. (2017) a Płażka a kol. (2018).

Výsledky studie ukazují, že kovy byly obsaženy v listech obou ekotypů. Jejich množství a distribuce však byla odlišná. Bylo prokázáno, že u výhonků kultivovaných na médiu obsahujícím těžké kovy došlo ke zvýšení poměru chlorofylu *a*/*b* a u výhonků M došlo při působení těžkými kovy k akumulaci chlorofylu *a* a *b*, k mírnému poklesu obsahu karotenoidů a ke zvýšení poměru obou typů chlorofylu ke karotenoidům. Po aplikaci těžkých kovů došlo ve výhoncích k ovlivnění aktivity enzymů PAL (fenylalaninamoniaklyasa) a TAL (tyrosinamoniaklyasa). Aktivita enzymů PAL a TAL u výhonků NM několikanásobně vzrostla, stejně jako aktivita PAL u výhonků M. Naopak aktivita enzymu TAL u výhonků M poklesla pod detekční úroveň ve srovnání s kontrolním vzorkem.

Obsah většiny analyzovaných fenolických kyselin u výhonků NH po působení kovů pokles o 30 – 40 % s výjimkou kyseliny skořicové (19 – 20 µg/g sušiny), kyseliny benzoové

(0,75 – 0,77 µg/g sušiny) a kyseliny *p*-hydroxybenzoové (0,32 – 0,35 µg/g sušiny), u nichž nedošlo k žádným významným rozdílům ve srovnání s kontrolním vzorkem. Obsah kyseliny rozmarýnové, kyseliny *p*-kumarové a kyseliny homovanilové naopak v přítomnosti kovových iontů vzrostl. U výhonků M po vystavení kovovým iontům nastal opačný efekt, a to významný vzrůst obsahu fenolických kyselin, který byl v případě kyseliny rozmarýnové, kyseliny skořicové a kyseliny protokatechové téměř dvojnásobný. Vzrůst byl prokázán rovněž u kyseliny *p*-kumarové (0,72 µg/g sušiny), kyseliny *p*-hydroxybenzoové (0,8 µg/g sušiny), kyseliny gentisové (110 µg/g sušiny) a kyseliny gallové (206 µg/g sušiny) a naopak u kyseliny ferulové, kyseliny chlorogenové, kyseliny homovanilové a kyseliny vanilové nedošlo po působení kovů k významnému ovlivnění jejich obsahu. Výhonky dále obsahovaly kyselinu sinapovou a **kyselinu kávovou**, jejichž obsah se vlivem kovů snížil [58].

Potenciálně bohatým zdrojem bioaktivních látek, jako jsou fenolické kyseliny a flavonoidy, jsou listy rostliny *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob. (jakon mléčolistý) z čeledi Asteraceae (hvězdnicovité). Jakon je hlíznatá rostlina, jejíž listy mají antioxidační, protiplísňové a pesticidní účinky. Vzhledem k tomu, že listy obsahují látky, jako je katechol, fenolické kyseliny, terpeny a flavonoidy, vyznačují se rovněž antidiabetickými a protinádorovými účinky a čaj z nich připravený se používá k léčbě chronických onemocnění.

Dle výsledků z předchozích studií je patrné, že množství obsahových látek v jakonových listech závisí na původu této drogy, na použité metodě a typu rozpouštědla, který je uplatněn při extrakci.

Cílem této studie bylo vyhodnotit vliv dvou extrakčních metod, mezi které patří OH-DE (ohmic assisted decoction) a DE (decoction), na biologické vlastnosti vodného extraktu z listů jakonu. Studie byla dále zaměřena na určení vlivu kultivaru a stáří jakonových listů na profil obsažených polyfenolů a na jejich antioxidační účinky. Metoda OH-DE je extrakční metoda, která je založena na průchodu střídavého elektrického proudu zpracovávaným materiálem a dochází tak k tvorbě tepelné energie. Ta je využita pro samotný extrakční proces. Ve srovnání s konvenčními metodami extrakce, je ohmická metoda velice výhodná z hlediska nižší energetické náročnosti, méně časově náročnému procesu (z důvodu rychlejší tvorby tepelné energie v rostlinném materiálu) a ekologie, jelikož tato technologie pracuje s elektřinou, kterou lze získávat z obnovitelných zdrojů (solární a větrná energie). Extrakční metoda DE je založena na použití horkého povrchu, ze kterého se tepelná energie přenáší na extrahovaný materiál procesem vedení a proudění.

Analyzovány byly mladé (menší listy z horní části stonku) a staré listy (velké listy z dolní části stonku) dvou odrůd jakonu mléčolistého (bílá a červená), které pocházely z výzkumné stanice Kleinhohenheim Univerzity v Hohenheimu (Stuttgart, Německo). Listy byly sbírány v říjnu roku 2015.

Byla provedena extrakce pomocí metod DE a OH-DE a výsledné extrakty byly podrobeny následujícím metodám: stanovením celkového obsahu fenolických sloučenin (TPC) a flavonoidů (TFC), testům na zjištění antioxidačních účinků (ABTS, DPPH, FRAP) a analýze jednotlivých fenolických kyselin a flavonoidů pomocí HPLC. TPC bylo provedeno s využitím Folin-Ciocalteuova činidla a TFC bylo stanoveno na základě UV/VIS spektrofotometrie (Ultrospec 3100 Pro, Amersham Bioscience). Pro identifikaci fenolických sloučenin ve vodném extraktu jakonu byla použita HPLC analýza s využitím systému Merck-Hitachi (HPLC, Darmstadt, Německo) ve spojení s detektorem DAD L-7450A. K separaci byla použita kolona Kinetex 5 μm 00G-4601 E0 (Phenomenex, Torrance, CA, USA). Byla provedena gradientová eluce pomocí dvou mobilních fází: 2% kyseliny octové (mobilní fáze A) a směsi 0,5% kyseliny octové a acetonitrilu v poměru 50:50, v/v (mobilní fáze B).

Bylo zjištěno, že nejvyššího výtěžku bylo dosaženo při extrakci starých listů červeného kultivaru metodou OH-DE, kdy výtěžek činil 5,33 ± 0,11 %. Mezi výtěžky extrakce stejných druhů listů za použití různých extrakčních metod nebyl žádný významný statistický rozdíl. Výjimku tvoří pouze mladé listy bílého kultivaru, u nichž byla zjištěna nižší výnosnost při extrakci metodou DE ve srovnání s extrakční metodou OH-DE.

Celkové množství fenolických sloučenin bylo nejvyšší u listů červeného kultivaru, kdy se hodnota pohybovala mezi 59,42 ± 2,51 mg GAE/g sušiny a 76,67 ± 21,67 mg GAE/g sušiny. Hodnota TFC byla, podobně jako hodnota TPC, vyšší u listů červeného kultivaru ve srovnání s listy kultivaru bílého. Průměrná hodnota TFC v listech červeného kultivaru byla mezi 134,01 ± 12,99 mg RE – ekvivalent rutinu/g sušiny a 199,29 ± 58,75 mg RE/g sušiny.

V listech jakonu bylo identifikováno a kvantifikováno 6 fenolických sloučenin, mezi které patří kyselina ferulová, **kyselina kávová**, kyselina *p*-kumarová, kyselina chlorogenová, myricetin a rutin. V nejvyšším množství byla v listech obsažena kyselina kávová (28,95 ± 0,21 mg/g sušiny) a naopak v nejnižším množství pak kyselina ferulová (0,44 ± 0,04 mg/g sušiny). Bylo prokázáno, že nejvyšší množství jednotlivých fenolických sloučenin bylo

nalezeno v mladých listech červeného kultivaru, mimo kyselinu ferulovou. Extrakce metodou OH-DE vedla jednoznačně k vyšším hodnotám obsahových látek.

Nejvyšší antioxidační účinky byly stanoveny u starých listů červeného kultivaru s využitím extrakční metody OH-DE.

Vzhledem k výše uvedeným výsledkům studie lze doporučit metodu extrakce OH-DE za účelem získání vyššího množství fytochemických látek za nižší spotřeby energie [59].

Jednou z nejznámějších a nejpoužívanějších léčivých rostlin je vytrvalá bylina *Echinacea purpurea* (L.) Moench (třapatka nachová) z čeledi Asteraceae (hvězdnicovité). Rostlina byla tradičně používána k ošetření hmyzího a hadího kousnutí, k léčbě ekzémů a tuberkulózy a v současné době je s výhodou používána k prevenci a léčbě nachlazení, kašle, bronchitidy či infekcí dýchacích cest. Třapatka vykazuje mimo imunomodulační účinky také účinky antivirové, antibakteriální, antifungální, antioxidační a antikarcinogenní a působí proti zánětům. Rostlina se dále používá k hojení ran. Bylo zjištěno, že imunitní odpověď *E. purpurea* tkví v zesílení aktivity neutrofilů, makrofágů, polymorfonukleárních leukocytů (PMN) a NK buněk.

Třapatka obsahuje řadu látek, mezi které patří fenolické kyseliny, saponiny, flavonoidy, alkaloidy, polysacharidy, glykoproteiny a silice, přičemž jako hlavní účinné látky jsou uváděny fenolické kyseliny. V rostlině byly nalezeny následující fenolické kyseliny: kyselina syringová, kyselina ferulová, **kyselina kávová**, kyselina vanilová, kyselina *p*-kumarová, kyselina 3,4-dihydroxybenzoová, kyselina 4-hydroxybenzoová, kyselina cichorová, kyselina chlorogenová, kyselina chinová a další.

Cílem studie bylo simultánně stanovit koncentraci sedmi fenolických kyselin (výše zmíněné kyseliny mimo kyselinu cichorovou, kyselinu chlorogenovou a kyselinu chinovou) v plazmě potkana po orálním podání extraktu z třapatky nachové.

Studie byla provedena s využitím rostliny zakoupené v říjnu v roce 2016 od společnosti Xi´an Ruibo Biological Technology Co. Ltd. (Xi´an, Čína), ze které byly připraveny vodné extrakty. Ty byly podrobeny analýze prostřednictvím UHPLC-ESI-MS/MS. Systém UHPLC složený ze systému Agilent series 1290 (Agilent, Santa Clara, CA, USA) využíval jako mobilní fázi A 0,1% kyselinu octovou ve vodě a jako mobilní fázi B methanol. Separace byla provedena za použití kolony Agilent Eclipse Plus C18 s reverzní fází (1,8 μm,

2,1 mm × 50 mm). Byla provedena gradientová eluce. UHPLC byl spojen s 6430 s trojitým-kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem s ESI (Agilent, Santa Clara, CA, USA), přičemž ionizace byla provedena v negativním režimu a sedm fenolický kyselin (kyselina cichorová, kyselina chlorogenová a kyselina chinová byla stanovena v jiné studii) bylo shromážděno v MRM modu (multiple reaction monitoring).

Bylo zjištěno, že nejrychleji byla absorbována kyselina vanilová, kyselina *p*-kumarová a kyselina 3,4-dihydroxybenzoová, v nejvyšším množství byla absorbována kyselina kávová a naopak nejméně absorbovanými kyselinami byly: kyselina syringová a kyselina 4-hydroxybenzoová [60].

Kyselina kávová je obsažena také v následujících rostlinách: *Clematis cirrhosa*, *Paeonia suffruticosa*, *Sophora flavescens*, *Laurus nobilis*, *Hypnum cupressiforme*, *Medicago sativa*, *Trigonella foenum-graecum*, *Lens culinaris*, *Vitis vinifera*, *Amaranthus tricolor*, *A. lividus*, *Catalpa speciosa*, *Taxus cuspidata*, *Cardiocronium cordatum*, *Verbena officinalis*, *Astragalus membranaceus*, *Oryza* spp., *Grindelia robusta*, *G. squarrosa*, *Annona muricata*, *Solidago virgaurea*, *Mammillaria* spp., *Leonurus sibiricus*, *Artemisia absinthium*, *Solanum tuberosum*, *Aronia melanocarpa*, *Vaccinium myrtilus*, *V. vitis-idaea*, *V. corymbosum*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Actidinia macrosperma*, *A. polygama*, *A. arguta*, *Hippophae rhamnoides*, *Coffea arabica*, *Fagopyrum tataricum*, *Morus alba*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Mentha × piperita*, *Thymus vulgaris*, *Melissa officinalis*, *Orthosiphon stamineus*, *Hyssopus cuspidatus*, *Quercus robur*, *Q. alba*, *Q. petraea*, *Melicope lunu-ankenda*, Brassicaceae, Poaceae, *Linum usitatissimum*, *Panicum miliaceum*, *Boehmeria nivea* a *Baccharis dracunculifolia*.

22 Kyselina rozmarýnová

Oregano zahrnuje nejméně 60 druhů a 17 rodů rostlin patřících do čeledi Verbenaceae (sporýšovité) a Lamiaceae (hluchavkovité). Název oregano se používá k označení mnoha druhů rostlin, které sdílí určitou chuť a vůni a v lidovém léčitelství se používají ke zmírnění řady onemocnění. V tomto článku byly zkoumány druhy z rodů *Origanum* L., *Lippia* L. a *Hedeoma* Pers. Vlivem obsahu řady fenolických kyselin a flavonoidů, se oregano používá při léčbě astma bronchiale, bronchitidy, bolesti hlavy, revmatismu a ke zmírnění kašle a bolesti břicha. Příznivě působí při léčbě průjmu, poruch

trávení a menstruačního cyklu, diabetu, infekcí a zánětlivých onemocnění.
Z epidemiologických *in vitro* a *in vivo* experimentů vyplývá, že jejich účinek může snižovat riziko vzniku chronických onemocnění v závislosti na dlouhodobé konzumaci potravy s obsahem těchto látek.

Mezi hlavní fenolické látky v oreganu patří **kyselina rozmarýnová**, apigenin, luteolin, kvercetin, skutellarein a jejich deriváty, jejichž obsah a distribuce se může lišit v závislosti na kultivaru a geografických a environmentálních podmínkách. Obsah fenolických látek se rovněž může lišit v závislosti na aktuální vegetativní fázi rostliny a na jejím původu.

Fenolické kyseliny a flavonoidy se hromadí v rostlinných pletivech a částech rostliny, jako jsou listy, květy a stonky a kořeny. Jedná se o reakci na biotický a abiotický stres, mezi který lze zařadit například napadení rostliny patogeny a hmyzem, UV záření či různé poškození rostliny. Deriváty kyseliny hydroxyskořicové tvoří prekurzory pro stilbeny, chalkony, flavonoidy, lignany a antokyany a ve většině pletiv se vyskytují jako konjugáty ve formě esterů karboxylových kyselin nebo sterolů, amidů aminokyselin nebo aminů či glykosidů monosacharidů nebo disacharidů. Často se v rostlinách nachází ve vázané nerozpustné formě, kdy jsou připojeny ke strukturním složkám buněčné stěny rostlin. Ve volné formě jako monomery nebo dimery, se tyto deriváty vyskytují zřídka.

Oregano je bohaté na kyseliny hydroxyskořicové, které vykazují antidiabetické, antioxidační a protirakovinné vlastnosti. Tyto látky rovněž působí protizánětlivě. Studie prokázaly, že oregano je slibným zdrojem látek pro vývoj nových léků v EU k léčbě rakoviny, přesto je zapotřebí dalšího výzkumu k lepšímu porozumění mechanismu účinku těchto sloučenin a případných vedlejších účinků. Bylo stanoveno, že antioxidační kapacita extraktů z různých druhů oregana je závislá na polaritě rozpouštědel použitých při extrakci, kdy může dojít k ovlivnění výtěžku a profilu fenolických sloučenin a tím k ovlivnění antioxidačních kapacity [61].

Kyselina rozmarýnová se nachází ve více jak deseti čeledích dvouděložných rostlin a pěti čeledích jednoděložných rostlin, přičemž poprvé byla izolována v roce 1958 z rostliny *Rosmarinus officinalis* L. (rozmarýn lékařský). Tato kyselina je nejvíce zastoupena v čeledi Lamiaceace (hluchavkovité), z níž je jejím hlavním zdrojem rostlina *Salvia officinalis* L. (šalvěj lékařská), *Mentha* × *piperita* L. (máta peprná), *Thymus vulgaris* L. (tymián obecný), *Melissa officinalis* (meduňka lékařská) a již výše zmíněný *Rosmarinus officinalis* (rozmarýn

lékařský). V mnoha rostlinách, především v šalvěji a rozmarýnu, je kyselina rozmarýnová výsledkem spojení dvou sloučenin pomocí esterové vazby. Jedná se o kyselinu kávovou a kyselinu 3,4-dihydroxyfenylmléčnou (danshensu), které vznikají dvěma odlišnými cestami šikimátové dráhy. Kyselina kávová rovněž existuje ve formě dalších metabolitů, jako jsou estery a glykosidy, přičemž biologicky významnými deriváty jsou fenethylester kyseliny kávové, kyselina chlorogenová a další deriváty kyseliny chinové. Všechny tyto sloučeniny vykazují nepřeberné množství farmakologických účinků, včetně působení proti Alzheimerově chorobě. Kombinací kyseliny kávové a danshensu prostřednictvím esterifikace v jiných pozicích dochází ke vzniku dalších derivátů kyseliny rozmarýnové. Mezi tyto sloučeniny patří kyselina salvianolová-H (SA-H), SA-I a SA-J. Kyselina salvianolová B vzniká kombinací dvou molekul kyseliny rozmarýnové, která dává za vznik mnoha dalším derivátům této kyseliny a kyselin litospermových [62].

Fenolické kyseliny jsou obsaženy rovněž v rostlině *Orthosiphon stamineus* Benth. (trubkovec osinatý) patřící do čeledi Lamiaceae (hluchavkovité), která je známá jako „čaj Java“. V Jihovýchodní Asii a v Číně se tato rostlina používá k léčbě onemocnění ledvin a několik studií potvrdilo její antioxidační účinky, kterých lze využít v rámci ochrany střevních buněk před oxidačním stresem.

Cílem studie bylo porovnat fenolické sloučeniny obsažené v extraktech z *Orthosiphon stamineus*, které mají antioxidační aktivitu a stanovení jejich protektivního účinku na buňky střevního epitelu.

Ve studii byly použity kořeny, stonky a listy trubkovce ostnitého pocházejícího z Číny. Z uvedených rostlinných orgánů byly připraveny vodno-ethanolové extrakty (ORE – *Orthosiphon* root extract – extrakt z kořenů, OSE – *Orthosiphon* stem extract – extrakt ze stonků, OLE - *Orthosiphon* leaf extract – extrakt z listů).

Celkový obsah polyfenolů v extraktech byl stanoven pomocí metody Folin-Ciocalteu s použitím kyseliny gallové jako standardu a celkový obsah flavonoidů pomocí metody uvedené u Rana a kol. (2015), u které byl použit jako standard kvercetin. Ve studii byla provedena HPLC-MS analýza za použití kolony Acquity UPLC BEH C-18 (100 × 2,1 mm, 1,7 μm) a 0,1% kyseliny mravenčí ve vodě jako mobilní fáze A a acetonitrilu (mobilní fáze B). Hmotnostní spektrometrie byla provedena v pozitivním i negativním režimu.

Množství celkového polyfenolu v ORE byl 266,25 ± 25,26 µg GAE, v OSE 82,92 ± 5,42 µg GAE a v OLE 187,08 ± 28,42 µg GAE, přičemž hlavními fenolickými kyselinami detekovanými v extraktech z trubkovce byla kyselina kávová a **kyselina rozmarýnová**. Mezi další látky, které byly v rostlině identifikovány, patří sinensetin, eupatorin, 3´-hydroxy-5,6,7,4´-tetramethoxyflavon a kyselina ursolová. Obsah jednotlivých kyselin v extraktech se významně lišil, přičemž jejich největší množství obsahoval extrakt OLE. Z fenolických kyselin byla v rostlině nejvíce zastoupena kyselina rozmarýnová, a to především v jejích listech s hodnotou 19,861 ± 0,008 mg/g.

U extraktů byla stanovena absorpční kapacita kyslíkových radikálů (ORAC – Oxygen radical absorbance capacity) a byl proveden záchytný test volných radikálů pomocí 1,1-difenyl-2-pikrylhydrazil a DPPH (2,2–difenyl-1-(2,4,6-trinitrofenyl) hydrazyl) za účelem zjištění jejich antioxidačních účinků. Extrakty byly dále podrobeny testu na podporu životaschopnosti buněk IPEC-J2 za podmínek oxidačního stresu vyvolaného H_2O_2, analýze ke stanovení obsahu sérového DAO (diaminooxidasa) a antioxidačního účinku na střevní epitel.

Antioxidační aktivita se u jednotlivých extraktů lišila a DPPH záchytný test volných radikálů prokázal podobné antioxidační účinky u listů a kořenů, zatímco extrakt ze stonků vykazoval nižší účinek. *Orthosiphon stamineus* podporoval životaschopnost buněk IPEC-J2 a je proto vhodný jako ochrana střeva před oxidačním stresem. Trubkovec rovněž snížil koncentraci enzymu DAO, který významně poškozuje střevní sliznici [63].

Hyssopus cuspidatus Boriss je vytrvalá bylina, respektive polokeř, který patří do čeledi Lamiaceae (hluchavkovité). Nadzemní části rostliny se používají v lidovém léčitelství k odstranění hlenu a ke zmírnění kašle. *Hyssopus cuspidatus* má antibakteriální, antioxidační a protinádorové účinky a vykazuje schopnost léčit záněty dýchacích cest a snížit hladinu cukru v krvi. Rostlina obsahuje těkavé oleje, polyfenoly, flavonoidy, triterpeny, alkany a steroidní látky.

Ve studii byly použity rostliny *Hyssopus cuspidatus* z Habahe County v Altaj, které byly sbírány v srpnu v období květu v letech 2017, 2018 a 2019. Celkový obsah fenolických látek (TPC) byl stanoven pomocí kolorimetrické metody za účasti Folin-Ciocalteuova fenolového reakčního činidla s následnou detekcí pomocí UV-VIS spektrofotometru a celkový obsah flavonoidů (TFC) byl stanoven v souladu s postupem uvedeným Melado a kol. (2019). K analýze fenolických kyselin byla použita metoda HPLC-DAD (Agilent RRLC 1200, USA) za použití kolony Wondasil C18 Herb (250 × 4,6 mm, 5 µm). Byla provedena

gradientová eluce pomocí následujících mobilních fází: 0,2% kyselina fosforečná ve vodě (A) a acetonitril (B).

TPC a TFC ve sledovaných vzorcích vykazovaly značné rozdíly, přičemž nejvyšší hodnoty byly stanoveny u rostliny sbírané roku 2019 (TPC: 20588 ± 0,551 mg/g, TFC: 44847 ± 1,013 mg/g). V yzopu byly identifikovány 3 fenolické kyseliny: kyselina kávová, kyselina ferulová a **kyselina rozmarýnová**. Nejvíce obsaženou kyselinou byla kyselina rozmarýnová. Obsah jednotlivých kyselin se lišil v závislosti na roce sběru rostliny, kdy největší množství fenolických kyselin bylo stanoveno v rostlině z roku 2019 (kyselina kávová: 0,634 ± 0,004 mg/g, kyselina ferulová: 0,826 ± 0,003 mg/g a kyselina rozmarýnová: 1,305 ± 0,008 mg/g).

Ve studii byly provedeny následující testy: záchytný test volných radikálů DPPH, ABTS, stanovení hydroxylových volných radikálů, stanovení volných radikálů superoxidového aniontu a test antioxidačních vlastností zvířat. Bylo prokázáno, že ethanolové extrakty z yzopu významně působily na výše uvedené volné radikály a rostlina tak vykazuje antioxidační účinky, které souvisí s celkovým obsahem polyfenolů a flavonoidů.

Vzhledem k výše uvedeným informacím, lze *H. cuspidatus* použít jako přírodní antioxidant v potravinářském průmyslu a jako prostředek k léčbě řady onemocnění [64].

Kyselina rozmarýnová je přítomna rovněž v rostlině *Verbena officinalis*, *Solidago virgaurea*, *Morus alba*, *Salvia hispanica*, *Alyssum montanum* a *Rosa canina*.

23 Kyselina salvianolová

Od kyseliny rozmarýnové je odvozena celá řada derivátů, které se nachází v mnoha rostlinách, jako například v rostlině *Salvia miltiorrhiza* Bunge (šalvěj červenokořenná) z čeledi Lamiaceae (hluchavkovité). Jedním z nich je dimer kyseliny rozmarýnové, **kyselina salvianolová**-B (SA-B), od které jsou odvozeny deriváty kyseliny salvianolové. Studie, zabývající se interkonverzí těchto sloučenin, označily kyselinu salvianolovou-A (SA-A) mimo jiné jako produkt degradace SA-B. Další studie poukázaly na možné důvody této transformace, a to vlivem vysoké teploty, vysokého tlaku a prostředí s vysokým obsahem vlhkosti ve vodných mediích. V současné době se provádí osmistupňová syntéza SA-A ve výtěžku 10,6 %.

Kyselina salvianolová A a kyselina salvianolová B byly extrahovány z kořene šalvěje červenokořenné, která se v Číně označuje jako „Danshen“ a je známá rovněž jako čínská šalvěj. Rostlina se často používá v tradiční čínské medicíně a je součástí tzv. kapek z danshenu spolu s *Panax notoginseng* a borneolem.

Studie se zabývá sledováním potencionálního účinku derivátů kyseliny rozmarýnové na Alzheimerovu chorobu a vaskulární demenci. Tyto látky působí antioxidačně a protizánětlivě a vykazují specifické účinky na patologii amyloidu β a τ proteinu. To může mít za následek příznivý vliv na obnovení ztráty neuronů. SA-B zapříčinil růst a diferenciaci neuronálních buněk z oligodendrocytů a prostřednictvím indukce produkce mozkového neurotrofního faktoru (BDNF) hraje významnou roli při terapii demence. Dochází ke zpomalení smrti neuronálních buněk a zároveň k jejich obnově z kmenových buněk. Studie prokázala, že kyseliny salvianolové potlačují klíčový enzym amyloidogenní dráhy β-sekretasu a zvyšují aktivitu enzymu neamyloidogenní dráhy α-sekretasu a v konečném důsledku tak zlepšují demenci u zvířat. Hrají roli jak u demence způsobené Alzheimerovou chorobou, tak u demence vzniklé vlivem cerebrovaskulárního onemocnění. Výše zmíněná tvrzení vyžadují další výzkum, zejména klinické studie, které by dále potvrdily potenciál těchto látek k léčbě demence [62].

Přítomnost **kyseliny salvianolové** byla potvrzena také u rostliny *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Mentha × piperita*, *Thymus vulgaris* a *Melissa officinalis*.

24 Kyselina sinapová

Rod *Quercus* (dub) je strom patřící mezi krytosemenné rostliny, který se řadí do čeledi Fagaceae (bukovité) a vyznačuje se obsahem mnoha látek fenolické povahy. Po celém světě se nachází přibližně 600 druhů dubu. Dřevo z tohoto stromu je široce využíváno k výrobě sudů ke skladování vína a mezi vinaři je žádáno především pro svůj obsah fenolických látek, kterými víno obohacují. Tyto látky rovněž hrají zásadní roli během vývoje vína při jeho stárnutí, jelikož mu propůjčují jedinečný vzhled, barvu, vůni a chuť a dubové sudy se proto staly nepostradatelnou součástí výroby vysoce kvalitních vín. Stárnutí vín v dubových sudech neslouží pouze ke zlepšení senzorických vlastností vín, ale vystupuje také jako kritický krok k získání účinků působících prospěšně na lidské zdraví, jakými jsou vysoká antioxidační aktivita a protirakovinné účinky. Fenolické látky obsažené v dubu vykazují dále

významné antidiabetické, antihypertenzní a antimikrobiální účinky. Při výrobě sudů se nejčastěji používá dřevo ze tří druhů dubu, a to z dubu bílého (*Quercus alba* L.) pocházejícího z Ameriky a z dubu zimního (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) a dubu letního (*Quercus robur* L.) z Francie. Studie prokázaly, že vína zrající ve španělských dubových sudech měla obdobné vlastnosti jako ta, která zrála v dubových sudech z Francie. Rozdíl v obsahu látek vykazovala vína zrající v amerických dubových sudech oproti těm, která byla skladována v sudech španělských. Lze předpokládat, že obsah fenolických látek v dubu se mění v závislosti na oblasti jeho růstu, jelikož bylo prokázáno, že dub pocházející z východní Evropy obsahuje vyšší množství aromatických látek, jako jsou těkavé fenoly a fenolické aldehydy, než francouzský dub téhož druhu.

V dubovém dřevě se vyskytuje velké množství hydroxybenzoových kyselin, z nichž nejběžnější je kyselina gallová, kyselina gentisová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyselina protokatechová, kyselina syringová, kyselina salicylová a kyselina vanilová.
Z hydroxyskořicových kyselin byla v dubu identifikována kyselina *p*-kumarová, kyselina kávová, kyselina ferulová a **kyselina sinapová**. *Quercus robur* se vyznačuje vyšším obsahem kyseliny gallové, kyseliny protokatechové, kyseliny kávové a kyseliny sinapové ve srovnání s *Quercus alba*. Stejně tomu je v případě srovnání celkového obsahu fenolických látek.

Studie prokázaly vliv některých fenolických kyselin na výslednou barvu červených vín, kdy zejména hydroxyskořicové kyseliny poskytovaly 60% až 70% vylepšení barvy při 520 nm v rámci intra- a intermolekulárních kopigmentačních reakcí. Tyto reakce vedou ke zvýšení a stabilizaci červeného pigmentu v červených odrůdách vín.

Obsah fenolických látek v dubu závisí na mnoha faktorech, například na konkrétním druhu dubu, na jeho zeměpisném původu, na ošetření lesního porostu a s přihlédnutím k vinařství také na stupni sušení dřeva a na jeho „vypálení“. V surovém dřevě byla jako hlavní látka identifikována kyselina ellagová. Ta byla následovaná kyselinou gallovou a ve vztahu k obecnému složení z hlediska fenolických kyselin bylo zjištěno, že kyseliny odvozené od kyseliny skořicové se vyskytovaly ve větší míře než deriváty kyseliny benzoové. Výjimku tvoří pouze kyselina ferulová, která byla v dubu přítomna ve velmi nízké koncentraci.

Jak již bylo řečeno výše, v průběhu skladování vína v dubových sudech a během jeho stárnutí dochází k obohacování vína fenolickými kyselinami, přičemž v průběhu stárnutí byl ve vínech detekován vyšší obsah kyseliny *p*-kumarové, kyseliny ferulové, kyseliny gallové, kyseliny protokatechové a kyseliny kávové.

Množství fenolických látek extrahovaných z rostlinných materiálů je ovlivněno celou řadou faktorů. Roli zde hraje chemická podstata použitých sloučenin, metoda extrakce a doba, za kterou je extrakce provedena, dále podmínky tohoto procesu a přítomnost interagujících látek. K extrakci fenolických látek se používá methanol, ethanol, aceton, voda, ethylacetát a v menší míře také propanol a dimethylformamid, přičemž rozpustné fenolické sloučeniny jsou extrahovány methanolem, nebo methanolem okyseleným 0,1% kyselinou chlorovodíkovou (v/v) a fenolové kyseliny s nízkou molekulovou hmotností (kyseliny hydroxyskořicové a kyseliny hydroxybenzoové) směsí methanolu a vodu v poměru 1:1.

Separace fenolických látek se provádí především chromatografickými metodami. Mezi tyto metody patří, dnes již méně využívaná papírová chromatografie (PC), dále tenkovrstevná chromatografie (TLC), sloupcová chromatografie (CC), protiproudá chromatografie (CCC) a další. Nejvíce využívaná separační technika je v současné době vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) s reverzní fází, která slouží k identifikaci a charakterizaci monomerních fenolů s využitím alespoň jednoho kyselého rozpouštědla. Jedná se o gradientovou eluci.

Identifikace fenolických látek v dubu se provádí pomocí NMR nebo UV-VIS spektroskopie a v největší míře prostřednictvím HPLC s detektorem diodového pole (DAD) nebo hmotnostní spektrometrie (MS) [65].

Fenolické kyseliny byly identifikovány rovněž v rostlině *Cyclea gracillima* Diels z čeledi Menispermaceae (chebulovité), která se spolu s dalšími rostlinami této čeledi používá v lidovém léčitelství k léčbě kašle, horečky, lumbaga, diabetu, bolesti hlavy, astmatu či otoků. Tato rostlina pochází původně z Tchaj-wanu, kde se používá k léčbě zánětů, otoků a křečí.

Studie se zabývala stanovením obsahových látek této rostliny, jako jsou fenolické kyseliny, flavonoidy a kondenzovaný tanin prostřednictvím metody HPLC a určením její antioxidační aktivity. Celkový obsah fenolů byl stanoven podle postupu popsaného Julkunen-Tito (1985) s využitím činidla Folin-Ciocalteu, celkový obsah flavonoidů byl stanoven pomocí 5% $NaNO_2$, 10% $AlCl_3$ a 1M NaOH dle metody Zhishen a kol. (1999) a obsah kondenzovaného taninu pomocí 4% vanilinu a HCl podle Liu a kol. (2009). Antioxidační aktivita byla hodnocena záchytnými testy volných radikálů DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl), TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), metodou založenou na redukci železitých iontů (Fe^{3+}) a metodou stanovující chelatační kapacitu železnatých iontů (Fe^{2+}). Dále byly testovány biochemické modely, mezi které patří inhibice

oxidace lidských lipoproteinů s nízkou hustotou (LDL), inhibice hemolýzy vyvolané peroxidovými radikály a vychytávání kyslíkových radikálů v lidské krvi. K analýze byly použity rostliny z Tchaj-wanu.

Obsahové látky byly stanoveny pomocí HPLC se systémem pump Shimadzu LC-10AT a kontrolním modulem Shimadzu SCL-10A (Kjóto, Japonsko) s detektorem fotodiodových polí S-3210 a za využití ESI-MS (Electrospray Ionization Mass Spektrometers). Byla použita Inspire C18 kolona (250 ×4,6 mm, 5 μm, Dikma Technologies Inc. Lake Forest, CA, USA) a jako mobilní fáze A acetonitril a mobilní fáze B voda s 2% kyselinou octovou.

Celkový obsah polyfenolu s hodnotou 118,67 mg GAE/g v ethanolovém extraktu byl vyšší než obsah v extraktu z horké vody, který činil 105,07 mg GAE/g extraktu. Stejně tomu bylo u stanovení celkového obsahu flavonoidů (60,83 mg CE/g extraktu – katechin ekvivalent, respektive 51,53 mg CE/g) a kondenzovaného taninu (14,55 mg CE/g extraktu, resp. 10,50 mg CE/g). Prostřednictvím HPLC bylo v rostlině detekováno 6 fenolických kyselin a 12 flavonoidů, mezi které řadíme katechin, epikatechin, rutin, naringin, myricetin, hesperidin, diosmin, narigenin, luteolin, hesperetin, kempferol a apigenin. Naringin, myricetin, narigenin a apigenin byly stanoveny jako hlavní flavonoidní látky v testovaných extraktech. Mezi fenolické kyseliny patří kyselina *p*-kumarová, kyselina ferulová, **kyselina sinapová**, kyselina syringová, kyselina gallová a kyselina *p*-anisová, přičemž nejvíce zastoupené kyseliny byly kyselina ferulová (11,12 mg/g ethanolového extraktu, 10,23 mg/g extraktu z horké vody), kyselina sinapová (18,62 mg/g, resp. 16,24 mg/g) a kyselina syringová (11,84 mg/g, resp. 8,24 mg/g). Mimo kyselinu gallovou, byl obsah jednotlivých kyselin vyšší v ethanolovém extraktu než v extraktu z horké vody.

Testované extrakty vykazovaly značné antioxidační účinky. Výsledky studie ukazují na potenciální přínos rostliny *C. gracillima* pro podporu zdraví [66].

Historicky známá jako zázračná bylina je léčivá rostlina *Nigella sativa* L. (černucha setá) z čeledi Ranunculaceae (pryskyřníkovité), která se používá jako diuretikum, diaforetikum, žaludeční a jaterní tonikum a jako koření. Extrakt ze semen této jednoleté rostliny vykazuje značné množství léčebných účinků, mezi které patří antidiabetické, protirakovinné, imunomodulační, analgetické, antimikrobiální, protizánětlivé a spazmolytické účinky. Extrakty ze semen dále působí hepatoprotektivně, antioxidačně a slouží k ochraně ledvin. Studie prokázaly, že biologická aktivita semen černuchy je spojena především

s obsahem silic a thymochinonu, ovšem semena rovněž obsahují i jiné látky, jako je nažloutlý olej, bílkoviny, aminokyseliny, redukující cukry, alkaloidy, organické kyseliny, tuky, třísloviny, vláknina, vitamíny a minerály. Z polyfenolů jsou v rostlině obsaženy ve vysoké koncentraci fenolické kyseliny v čele s kyselinou vanilovou.

Cílem studie byla identifikace a určení obsahu fenolických látek v methanolových extraktech ze semen černuchy seté a stanovení inhibiční aktivity proti butyrylcholinesterase (BChE) a katalase (CAT) a antimikrobiální aktivity proti bakteriím a kvasinkám methanolových, vodných a *n*-hexanových extraktů ze semen téže rostliny.

Ve studii byla použita semena rostliny *Nigella sativa*, která byla zakoupena v obchodě s bylinami v Sarajevu v Bosně a Hercegovině a která byla podrobena analýzám ke zjištění jejich obsahových látek a biologických účinků.

Fenolické látky byly identifikovány a kvantifikovány pomocí ultra účinné kapalinové chromatografie tandemové hmotnostní spektrometrie (UHPLC-MS/MS) za použití systému Shimadzu Ultra Performance LCMS 8050 (Japonsko) s trojitým kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem vybaveným elektrosprejovou ionizací (ESI) pracující v negativním režimu. K separaci byla použita kolona s reverzní fází (BEH C8, 1,7 µm, 2,1 × 150 mm, Waters, Milford, MA, USA) ve spojení s předkolonami a jako mobilní fáze byla použita směs vodných roztoků 10 mM kyseliny mravenčí (mobilní fáze A) a acetonitrilu (mobilní fáze B). Byla provedena izokratická eluce s lineárním gradientem.

Stanovení inhibiční aktivity proti BChE bylo provedeno Ellmanovou metodou s drobnými úpravami a inhibiční aktivita proti CAT byla stanovena na základě měření spotřeby peroxidu vodíku jako snížení absorbance při 240 nm podle metody, kterou popsal Aebi. Dále byly testovány antimikrobiální účinky proti dvěma gramnegativním bakteriím (*Salmonella enterica* subsp. *serovar abony*, *Escherichia coli*), proti dvěma grampozitivním bakteriím (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) a proti houbovému kmenu *Candida albicans* a bylo zjištěno, že extrakty černuchy seté nevykazují antimikrobiální aktivitu proti *B. subtilis* a *C. albicans.*

V extraktech ze semen bylo identifikováno a kvantifikováno 5 fenolických kyselin (kyselina 5-hydroxyferulová – 0,308 ± 0,004 µg/mg, kyselina 3-hydroxybenzoová – 0,451 ± 0,007 µg/mg, kyselina ferulová – 3,883 ± 0,373 µg/mg, **kyselina sinapová** – 7,222 ± 0,729 µg/mg, kyselina salicylová – 0,755 ± 0,029 µg/mg) a 2 flavonoidy (kvercetin – 1,373 ±

0,087 µg/mg, kempferol – 11,745 ± 0,919 µg/mg), kdy většina fenolických kyselin byla estericky vázána na buněčnou stěnu nebo byla ve formě esteru či glykosidu.

Byla prokázána slabá inhibiční aktivita extraktů proti BChE, která se lišila v závislosti na použitém extrakčním rozpouštědle. Stejně tak byla zjištěna inhibiční aktivita extraktů proti CAT, která byla silnější u extraktů získaných polárními rozpouštědly, než nepolárními.

Z výsledků studie vyplývá, že extrakty ze semen černuchy seté lze potenciálně využít jako inhibitory CAT [67].

V tradiční medicíně je široce používána rostlina *Melicope lunu-ankenda* (Gaertn.) T. G. Hartley z čeledi Rutaceae (routovité), která má antioxidační a protizánětlivé účinky a je proto používána k léčbě řady neurodegenerativních onemocnění. Rostlina se rovněž používá jako tonikum, k léčbě hypertenze, diabetu, horečky a menstruačních potíží a je konzumována obvykle ve formě salátu nebo se používá jako koření. Melikopa obsahuje mnoho sekundárních metabolitů, mezi které patří deriváty kyseliny skořicové a benzoové, flavonoidy (kvercetin, isorhamnetin, katechin), kumariny (skopoletin, aurapten, eskuletin) a alkaloidy (skimmianin, evolitrin).

Z listů této dřeviny byly izolovány deriváty kyseliny skořicové (kyselina kávová, kyselina kafeoylchinová, kyselina *p*-kumarová, kyselina ferulová a **kyselina sinapová**), které vykazují schopnost inhibovat acetylcholinesterasu a butyrylcholinesterasu a jsou proto používány na léčbu Alzheimerovy choroby (AD). Tohoto zjištění bylo dosaženo Ellmanovou metodou.

Studie potvrdila, že hydroxyskořicové kyseliny vykazují vyšší antioxidační účinky ve srovnání s deriváty kyseliny hydroxybenzoové s důvodu přítomnosti vinylové skupiny v molekule. Dále bylo prokázáno, že kyselina ferulová má vyšší antioxidační účinky než kyselina vanilová, kyselina *p*-kumarová a kyselina skořicová.

Kyselina kávová [kyselina 3-(3,4-dihydroxyfenyl)-2-propenová] má antioxidační a protizánětlivé účinky a v důsledku jejích neuroprotektivních účinků se používá k léčbě AD. Lze také předpokládat, že by tato kyselina mohla být využita v léčbě Parkinsonovy choroby. Jako vhodná kyselina pro léčbu AD byla určena také kyselina sinapová (3,5-dimethoxy-4-hydroxyskořicová kyselina), která je jednou z nejrozšířenějších hydroxyskořicových kyselin v rostlinách. Kyselina kafeoylchinová inhibuje apoptózu a

vykazuje schopnost snižovat poškození neuronových buněk, kyselina *p*-kumarová má neuroprotektivní účinky a u kyseliny ferulové byly prokázány cytoprotektivní účinky. Nejsilnějším antioxidantem mezi deriváty kyseliny benzoové je kyselina gallová (kyselina 3,4,5-trihydroxybenzoová), jejíž neuroprotektivní účinky jsou závislé na antioxidační kapacitě a polaritě molekuly.

Vzhledem k výše uvedeným informacím je rostlina *Melicope lunu-ankenda* považována za slibnou rostlinu pro prevenci a léčbu neurologických onemocnění [68].

Kyselina sinapová je dále přítomna v rostlině *Medicago sativa*, *Trigonella foenum-graecum*, *Lens culinaris*, *Artiplex mollis*, *Amaranthus tricolor*, *A. lividus*, *Oryza* spp., *Solidago virgaurea*, *Mammillaria* spp., *Solanum tuberosum*, *Aronia melanocarpa*, *Cucurbita pepo*, *C. moschata*, *Dendropanax morbifera*, *Alyssum montanum*, Brassicaceae, *Linum usitatissimum*, *Panicum miliaceum* a *Rosa canina*.

25 Kyselina ferulová

Na fenolické sloučeniny je bohatá rovněž zelenina patřící do čeledi Brassicaceae (brukvovité). Ve studii bylo analyzováno celkem 12 druhů brukvovité zeleniny, jmenovitě brukev čínská, čínské zelí, pekingské zelí, kailan (čínská brokolice), růžičková kapusta, zelí, květák, rukola, brokolice, ředkvička, ředkev daikon a řeřicha. Prostřednictvím analýzy UHPLC-Q-TOF-MS/MS a UHPLC-QqQ-MS/MS bylo u jednotlivých druhů detekováno a kvantifikováno 74 fenolických látek. Celkem bylo ve sledovaných vzorcích identifikováno16 hydroxyskořicových kyselin a jejich derivátů, mezi které patří především **kyselina ferulová**, kyselina sinapová, kyselina kávová a kyselina *p*-kumarová. Studie prokázala přítomnost 58 flavonoidů včetně derivátů, jejichž hlavními zástupci jsou glykosylovaný kvercetin, kempferol a isorhamnetin.

Celkové množství fenolu bylo nejvyšší u rukoly, řeřichy a růžičkové kapusty stejně tak, jako jejich antioxidační aktivita. Celkové množství fenolických látek a flavonoidů pozitivně koreluje s antioxidační aktivitou, a proto lze z daných hodnot odhadnout možnou antioxidační aktivitu zeleniny [69].

„Obilná zrna“ jsou vedlejším produktem při fermentaci a destilaci obilnin (rýže, kukuřice, pšenice, prosa a čiroku) a nejčastěji pocházejí z průmyslové výroby lihovin nebo

z průmyslové výroby palivového ethanolu. Tato zrna, vedle škrobu, bílkovin, celulózy, aminokyselin, organických kyselin, vitamínů, minerálů, sloučenin dusíku, aromatických látek, heterocyklických sloučenin a tuku, obsahují řadu fenolických sloučenin.

V extraktech z „obilných zrn“ byly identifikovány, mimo epikatechin a katechin, následující fenolické kyseliny: kyselina *p*-hydroxybenzoová (417,7 µg/g extraktu), kyselina vanilová (66,5 µg/g), kyselina gallová (41,4 µg/g), kyselina kávová (217,1 µg/g), kyselina syringová (158.0 µg/g) a v největším množství **kyselina ferulová** (518,2 µg/g).

Analýza fenolických látek byla provedena pomocí ultra účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UPLC-MS/MS) v negativním režimu prostřednictvím systému ACQUITY Ultra Performance LCTM (1290 UPLCTM, Agilent Technologies Co., Ltd., Peking, Čína). Byla použita kolona Zorbax Eclipse Plus C18 (2,1 × 50 mm i.d., 1,8 µm) a v rámci gradientové eluce byla jako mobilní fáze A použita směs, která obsahovala 65 % methanolu a 34,5 % vody okyselené kyselinou octovou v množství 0,5 % a jako mobilní fáze B voda s 0,5 % kyseliny octové. Kvantitativní analýza byla provedena pomocí UPLC-MS s využitím příslušných standardů.

Obsah fenolických látek v extraktech z „obilných zrn“, respektive v jednotlivých obilovinách, se může lišit v závislosti na jejich zpracování v potravinářském průmyslu, kdy například mletí rostlinných pletiv vede k oxidační degradaci obsažených polyfenolů.

Fenolické látky byly z „obilných zrn“ extrahovány pomocí ultrazvuku a následně byly čištěny pomocí makroporézní pryskyřice. Bylo prokázáno, že v případě vyčištění fenolických látek pryskyřicí, byly antioxidační účinky těchto látek dvakrát až čtyřikrát vyšší než u nevyčištěných látek. Výsledky této studie lze uplatnit v rámci problematiky sekundárního využití „obilných zrn“, jelikož vzrůstající produkce ethanolových biopaliv a alkoholu způsobují stále větší škody na životním prostředí [70].

Látky fenolické povahy jsou obsaženy v semenech rostliny *Linum usitatissimum* L. (len setý) patřící do čeledi Linaceae (lnovité). Len je bohatým zdrojem látek s nutričními účinky a látek, které příznivě ovlivňují zdraví. Mezi tyto látky patří především omega-3 mastné kyseliny a fenolické sloučeniny. Len se dále používá k výrobě oleje, barev a dalších průmyslových produktů. Odtučněná lněná moučka, která vzniká jako vedlejší produkt při extrakčním procesu lněného oleje, je zdrojem velkého množství vlákniny, lignanů (hlavně

SGD – secoisolariciresinoldiglukosid) a bílkovin. Lignany snižují kardiovaskulární riziko, zpomalují rozvoj některých typů diabetu a působí jako látky s antioxidačními účinky.

Fenolické kyseliny jsou ve lněném semínku zastoupeny ve velkém množství, které činí 800 – 1000 mg na 100 g osiva, esterifikované fenolické kyseliny 300 – 500 mg/100 g osiva. Jako hlavní fenolické kyseliny jsou ve lněných semínkách zastoupeny: kyselina *trans*-skořicová a **kyselina ferulová**. Následující kyseliny jsou obsaženy v menším množství: kyselina *trans*-kávová, kyselina *p*-kumarová, kyselina chlorogenová, kyselina gallová, kyselina sinapová, kyselina protokatechová a kyselina *p*-hydroxybenzoová. Mezi další látky, které lze v semínkách detekovat, patří kyselina gentisová, kyselina vanilová a flavonoidy.

Pro analýzu fenolických sloučenin byla zvolena jako nejvhodnější metoda HPLC s různými detektory (např. UV, fluorescenční či coulometrická elektrodová detekce) a kapilární elektroforéza s plynovou chromatografií (CE) ve spojení s hmotnostní spektrometrií (MS) [71].

Zdrojem více než padesáti fenolických sloučenin, mezi které patří fenolické kyseliny (deriváty kyseliny hydroxybenzoové včetně kyseliny syringové, kyseliny vanilové, kyseliny gallové, kyseliny 4-hydroxybenzoové a deriváty kyseliny hydroxyskořicové zahrnující kyselinu kávovou, **kyselinu ferulovou**, kyselinu sinapovou, kyselinu chlorogenovou a kyselinu *p*-kumarovou) a jejich deriváty, flavonoly, flavony a flavanonoly, je obilnina *Panicum miliaceum* L. (proso seté) z čeledi Poaceae (lipnicovité). Polyfenoly jsou v prosu obsaženy ve volné (rozpustné) či vázané formě, přičemž rozpustné polyfenoly jsou většinou součástí vnější vrstvy obilného zrna a vázáné polyfenoly jsou součástí buněčné stěny.

Bylo zjištěno, že dostupnost živin a fenolických látek pravděpodobně souvisí se způsobem jejich zpracování a že různé technologie úpravy obilovin vedou k usnadnění uvolňování a ke zvýšení dostupnosti fenolických látek z obilných zrn. Například pražení v potravinářském průmyslu, mimo další změny ve fyzikálních a chemických vlastnostech a nutričních hodnotách, vede ke zlepšení biologické dostupnosti sekundárních sloučenin.

Studie se zabývala vlivem čtyř různých metod zpracování prosa na zvýšení obsahu sekundárních metabolitů. Mezi tyto metody bylo zařazeno pražení, spařování, pufování a extruze.

Proso, které bylo použito k výzkumu, bylo zakoupeno v okrese Samčchok v Koreji a podrobeno mechanickému zpracování prostřednictvím čtyř výše zmíněných metod.

Celkový obsah fenolických látek v mouce připravené z prosa byl stanoven metodou Folin-Ciocalteu a celkový obsah flavonoidů byl určen pomocí metody popsané Ghimeray a kol. (2014) s mírnými úpravami. Analýza fenolických sloučenin a katechinu byla provedena pomocí HPLC za podmínek popsaných u Chadrasekary a Shahidi (2010) a Xiang a kol. (2019) a za použití systému HPLC (CBM 20A, Shimadzu Co, Ltd., Kjóto, Japonsko). Jako chromatografická kolona byla použita kolona C18 (Kinetex, 100 × 4,6 mm, 2,6 µm, Phenomenex, Torrance, CA, USA), jako mobilní fáze A byla použita voda obsahující 0,1% kyselinu mravenčí a jako mobilní fáze B byl použit methanol obsahující 0,1% kyseliny mravenčí. Detekce byla provedena UV detektorem (SPD-10A, Shimadzu). Ve studii byly dále provedeny následující testy za účelem stanovení antioxidační kapacity: stanovení DPPH dle Braca a kol. (2003), stanovení redukčních schopností extraktu z prosa dle Pulido a kol. (2000), metoda založená na fosfomolybdenu dle Prieto a kol. (1999) a test na určení schopnosti zachycovat hydroxylové radikály (HRSC) dle postupu od Haliwell a kol. (1987).

V prosu byly detekovány a kvantifikovány následující fenolické kyseliny: kyselina syringová, kyselina gallová, kyselina 4-hydroxybenzoová, kyselina ferulová a kyselina sinapová, jejichž obsah byl nejvyšší při zpracování prosa pražením (obsah jednotlivých kyselin ve výše uvedeném pořadí: 53,71 µg/100 g sušiny, 62,34 µg/100 g sušiny, 54,19 µg/100 g sušiny, 118,79 µg/100 g sušiny, 73,25 µg/100 g sušiny). Stejně tak pražené proso vykazovalo vyšší antioxidační účinky, než kontrolní vzorek a obsahovalo nejvyšší hodnoty celkového obsahu fenolických látek (670 mg/100 g ekvivalentu kyseliny ferulové) a flavonoidů (391 mg/100 g ekvivalentu rutinu). Vlivem pražení se celkový obsah flavonoidů, ve srovnání s kontrolním vzorkem, zvýšil téměř dvojnásobně. Bylo prokázáno, že existuje významná lineární korelace mezi celkovým obsahem fenolických látek a antioxidačními účinky. Obsah jednotlivých fenolických kyselin byl vyšší v praženém celém zrnu ve srovnání s obsahem těchto látek v zrnu loupaném a stejně tak pražené celé proso vykazovalo vyšší antioxidační účinky.

Ve studii byl potvrzen vliv pražení prosa na výrazné zvýšení obsahu sekundárních sloučenin a antioxidačních účinků, a proto byl tento způsob úpravy obilnin zvolen za nejvhodnější metodu ke zlepšení jejich nutričních funkcí [72].

Obsah **kyseliny ferulové** byl prokázán také v následujících rostlinách: *Sophora flavescens, Medicago sativa*, *Trigonella foenum-graecum*, *Lens culinaris*, *Artiplex mollis*, *Vitis vinifera*, *Abelmoschus esculentus*, *Amaranthus tricolor*, *A. lividus*, *Catalpa speciosa*,

Cardiocronium cordatum, *Verbena officinalis*, *Astragalus membranaceus*, *Oryza* spp., *Grindelia robusta*, *G. squarrosa*, *Rehmannia glutinosa*, *Solidago virgaurea*, *Leonurus sibiricus*, *Artemisia absinthium*, *Solanum tuberosum*, *Aronia melanocarpa*, *Vaccinium myrtilus*, *V. corymbosum*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Hippophae rhamnoides*, *Coffea arabica*, *Fagopyrum tataricum*, *Morus alba*, *Teucrium flavum*, *T. arduini*, *Cucurbita pepo*, *C. moschata*, *Oenothera biennis*, *Picea abies*, *Larix decidua*, *Pinus sylvestris*, *Pseudotsuga menziesii*, *Juniperus communis*, *Dendropanax morbifera*, *Alyssum montanum*, *Smallanthus sonchifolius*, *Echinacea purpurea*, *Hyssopus cuspidatus*, *Quercus robur*, *Q. alba*, *Q. petraea*, *Cyclea gracillima*, *Nigella sativa*, *Melicope lunu-ankenda*, *Boehmeria nivea*, *Avena sativa* a *Rosa canina*.

26 Kyselina *p*-kumarová

Nedávné studie prokázaly rozmanité léčebné účinky vytrvalé rostliny *Boehmeria nivea* L. Gaudich. (ramie sněhobílá) z čeledi Urticaceae (kopřivovité). Ramie pochází z východní Asie a je známá pod názvem „čínská tráva“. Listy ramie jsou uvedeny v čínském lékopise, působí jako antiobezitikum a mají antioxidační, protizánětlivé, protirakovinné, antibakteriální, hypolipidemické a hypoglykemické účinky. Tato rostlina se používá jako krmivo a hraje významnou roli v textilním průmyslu, jelikož poskytuje přírodní vlákna s vysokou pružností, pevností, se schopností absorbovat vlhkost a s antibakteriálními účinky. V seznamech čínského lékopisu jsou mimo listy uvedeny také kořeny ramie, které vykazují antipyretický účinek, způsobují hemostázu a předchází potratu.

Ve studii byly použity vegetativní orgány – kořen, xylém, floém, řapík, list, pupen z rostliny *Boehmeria nivea* pocházející z Kuang-čou v Číně. Sběr rostliny byl uskutečněn v srpnu roku 2008. Celkový obsah fenolu byl stanoven pomocí metody Folin-Ciocalteu a analýza jednotlivých fenolických sloučenin byla provedena pomocí HPLC systému Waters series (Waters Co., Milford, MA, USA) s detektorem fotodiodového pole (model 2998). K analýze byla použita kolona Watres XSelect® HSS T3 (5 μm, 4,6 × 150 mm) a jako mobilní fáze směs 0,1% roztoku kyseliny trifluoroctové (A) a acetonitrilu (B). Identifikace a kvantifikace jednotlivých fenolických látek byla provedena na základě porovnání retenčních časů UV spekter s příslušnými standardy.

Různé vegetativní orgány ramie obsahují rozdílné množství fenolických látek a vykazují rovněž rozdíly v obsahu těchto látek ve volné a vázané formě. Ve floému, xylému a v kořenu ramie byl zjištěn vyšší obsah vázaných fenolických látek (450,3 ± 3,8 mg GAE/100 g sušiny až 539,7 ± 22,3 mg GAE/100 g sušiny), naproti tomu v listu, řapíku a pupenu se tyto látky nacházely v nízkém množství (76,30 ± 0,16 mg GAE/100 g sušiny až 292,5 ± 19,3 mg GAE/100 g sušiny). Nejvyšší obsah fenolických látek ve volné formě byl prokázán v pupenu (4292 ± 339 mg GAE/100 g sušiny), stejně jako jejich celkové množství (4585 ± 320 mg GAE/100 g sušiny). Kořen a řapík obsahoval nejnižší množství těchto látek, konkrétně 442,8 ± 9,8 mg GAE/100 g sušiny (kořen) a 630,9 ± 27,0 mg GAE/100 g sušiny (řapík). Bylo prokázáno, že obsah volných fenolických látek ve vegetativních orgánech ramie tvořil 80 % z celkového obsahu fenolu, mimo kořeny (obsah 50 %). Celkový obsah fenolu v listech činil 413,3 mg GAE/100 g sušiny.

Studie v rostlině prokázala přítomnost šesti fenolických kyselin a čtyř flavonoidů. Obsah těchto látek se značně lišil v závislosti na jednotlivých vegetativních orgánech. Rostlina *Boehmeria nivea* obsahuje kyselinu chlorogenovou, kyselinu kávovou, kyselinu ferulovou, kyselinu gallovou a **kyselinu *p*-kumarovou**. Kyselina *p*-kumarová byla v rostlině detekována v největším množství (344,1 ± 3,7 μg/g sušiny až 4155 ± 52 μg/g sušiny) zejména v kořenu, v listu, v řapíku a v xylému. Kyselina gallová a kyselina benzoová nebyla detekována v řapíku a v listu. Ve floému, xylému a v pupenu byl obsah kyseliny gallové malý (1,92 až 5,41 μg/g sušiny). V rostlině byly identifikovány následující flavonoidy: epikatechin, rutin, isokvercetin a hyperosid.

Bylo zjištěno, že xylém a pupen vykazuje pozoruhodné antioxidační a antiproliferativní účinky. Rostlina *Boehmeria nivea*, zejména pro svůj obsah kyseliny chlorogenové, kyseliny *p*-kumarové a epikatechinu, vystupuje jako potencionální zdroj bioaktivních látek, který může být využit v potravinářském i farmaceutickém průmyslu [73].

Mnoho fenolických kyselin je ve volné i vázané formě obsaženo v rostlině *Avena sativa* L. (oves setý) z čeledi Poaceae (lipnicovité). Oves patří mezi velmi oblíbenou obilninu vzhledem ke svým účinkům podporujícím zdraví, které jsou zajištěny přítomností mnoha makroživin, jako tuků obsahujících nenasycené mastné kyseliny (např. kyselina linolová, kyselina olejová), bílkovin obsahujících esenciální aminokyseliny, vlákniny s vysokým obsahem β-glukanu a dalších látek. Mezi tyto látky patří fenolické sloučeniny, které působí zejména s vlákninou synergicky a hrají významnou roli v ochraně organismu před rozvojem

tzv. nepřenosných onemocnění (NCD – noncommunicable diseases) zahrnující kardiovaskulární onemocnění či diabetes. Fenolické látky se v celozrnných obilovinách vyskytují v proměnlivém množství, které se odvíjí od typu zrna, konkrétní odrůdy či části zrna, která je analyzována. Bylo prokázáno, že fenolické kyseliny patří mezi nejvíce zastoupené obsahové látky v ovsu, a to především ve vázané formě s polysacharidy nebo proteiny. V ovsu se dále vyskytují látky, jejichž přítomnost je pro oves typická, a to „fenolické (hydroxyskořicoanthranilové)“ alkaloidy zvané avenanthramidy (AVNs). Jedná se o látky, které mají protizánětlivé účinky a schopnost zlepšovat kožní onemocnění. Mezi ty nejběžnější patří estery 5-hydroxyanthranilové kyseliny s kyselinou kávovou, ferulovou a *p*-kumarovou.

Vzhledem k tomu, že je Finsko jedním z hlavních producentů ovsa setého, a dosud nebyl proveden žádný výzkum sledující obsah fenolických látek v těchto rostlinách pocházejících právě z Finska, bylo cílem studie zjistit koncentrace volných i vázaných forem fenolických kyselin a aventhramidů v osmi finských kultivarech loupaného ovsa setého. Dalším cílem bylo stanovení tuků a vlákniny v jednotlivých kultivarech.

K výzkumu bylo použito 8 kultivarů rostliny *Avena sativa* – „Akseli“, „Avetron“, „Peppi“, „Ivory“, „Marika“, „Riina“, „Rocky“ a „Viviana“ pochazející z Institutu přírodních zdrojů ve Finsku (Luke), přičemž jednotlivé vzorky byly pěstovány a sklizeny v roce 2016.

Celkový tuk byl určen dle upraveného Folchova postupu, aventhramidy byly extrahovány pomocí methanolu za využití přizpůsobené metody od Bryngelssona a kol. (2002) a poté byla provedena HPLC-DAD analýza (Agilent,Santa Clara, CA, USA). Fenolické kyseliny byly stanoveny pomocí kapalinové chromatografie dle upravené metody, kterou popsal Multari a kol (2016) a Neacsu a kol. (2015) s využitím systému UPLC-PDA-ESI-MS ve spojení s kolonou Kinetex C18 (100 × 4,6 mm, 2,6 µm i.d., 100 Å) od společnosti Phenomenex (Torrance, USA). Jako mobilní fáze pro gradientovou eluci byla použita voda obsahující 0,1% kyselinu octovou (A) a acetonitril obsahující 0,1% kyselinu octovou (B).

Nejvyšší množství tuku bylo stanoveno v kultivaru „Avetron“ a nejvyšší množství vlákniny bylo zjištěno v kultivaru „Akseli“. Celkový obsah fenolických kyselin se lišil v závislosti na jednotlivých kultivarech, kdy nejnižší množství těchto látek bylo zjištěno v kultivaru „Viviana“ (1202 ± 52,9 $mg \cdot kg^{-1}$) a nejvyšší v kultivaru „Akseli“ (1687 ± 80,2 $mg \cdot kg^{-1}$). Nejvyšší obsah aventhramidů byl stanoven v kultivaru „Viviana“. V ovsu bylo

identifikováno a kvantifikováno 7 fenolických kyselin: kyselina 2,4-dihydroxybenzoová, kyselina vanilová, kyselina syringová, kyselina skořicová, kyselina ferulová, kyselina *o*-kumarová a kyselina *p*-kumarová. Dále byl v rostlině stanoven fenolický aldehyd, a to syringaldehyd. V největším množství byla stanovena kyselina ferulová a kyselina *p*-kumarová, které se vyskytovaly především ve vázané formě a které tvořili 45 % celkového obsahu fenolických kyselin v rostlině. Zjištěné množství jednotlivých fenolických kyselin se výrazně lišilo vzhledem k testovanému kultivaru, mimo kyselinu vanilovou [74].

Za významnou léčivou rostlinu je považována rostlina *Withania somnifera* (L.) Dunal (withanie snodárná) z čeledi Solanaceae (lilkovité), která je ceněna především v Indii, ale i v jiných částech světa. Používá se jako bylinné tonikum a jako prostředek s imunomodulačními, protinádorovými, antiserotogenními, anabolickými a protirakovinnými účinky. Withanie se dále používá k léčbě artrózy, ke zvládnutí stresu, v geriatrii a s výhodami je podávána ženám po porodu a při kojení. Četné farmakologické účinky této rostliny jsou připisovány aktivním látkám – withanolidům, které v ní jsou obsaženy.

Účelem studie bylo stanovit obsah fenolických sloučenin v rostlině a určit její antioxidační účinky.

Ke studii byly použity plody, kořeny a listy rostlin *Withania somnifera*, které byly po 6 měsíců pěstovány v botanické zahradě na univerzitě v Rajšahí v Bangladéši a z nichž byly připraveny methanolové extrakty. Celkový obsah fenolů byl stanoven na základě spektrofotometrické analýzy s využitím Folin-Ciocalteuovy metody dle Singletona a kol. (1999) s drobnými úpravami a celkový obsah flavonoidů byl zjištěn pomocí kolorimetrické metody, která byla vyvinuta Zhishenem a kol. (1999). Antioxidační účinky rostliny byly určeny pomocí metody DPPH. Za účelem zjištění konkrétních fenolických sloučenin v rostlině byla provedena HPLC analýza pomocí HPLC systému (Waters 2695, Milford, MA, USA) dle Kaškonienė a kol. (2009). Systém byl vybaven detektorem fotodiodového pole (Waters 2996, Milford, MA, USA) a jako kolona byla využita kolona Merck Purospher Star, RP-18e (125 × 4 mm, 5 μm) ve spojení s ochrannou kolonou se stejnou stacionární fází. Jako mobilní fáze A byla použita voda s 0,1% kyselinou fosforečnou a jako mobilní fáze B byl použit čistý methanol s 0,1% kyselinou fosforečnou. Byla provedena gradientová eluce.

Testování ke zjištění celkového obsahu fenolických látek prokázalo, že nejnižší množství polyfenolů se nachází v kořenech rostliny (17,80 ± 5,80 mg GAE/g sušiny) a naopak nejvyšší obsah těchto látek je v listech (32,58 ± 3,16 mg GAE/g sušiny). Celkové

množství flavonoidů se pohybovalo od 15,49 ± 1,02 mg CEQ/g sušiny (kořeny) po 31,58 ± 5,07 mg CEQ/g sušiny (listy). Bylo zjištěno, že jednotlivé rostlinné drogy vykazovaly rozdíly v antioxidačních účincích, přičemž nejvyšší účinky vykazovaly extrakty z listů (91,85 ± 0,84 % z inhibice DPPH). Prostřednictvím HPLC analýzy bylo v rostlině identifikováno 8 fenolických sloučenin, z toho 5 fenolických kyselin (kyselina gallová, kyselina syringová, kyselina benzoová, **kyselina *p*-kumarová**, kyselina vanilová) a 3 flavonoidy (katechin, kempferol, naringenin). Nejvíce látek bylo obsaženo v extraktech z listů (katechin, kyselina gallová, kyselina syringová, kyselina vanilová, kyselina *p*-kumarová, kyselina benzoová), v kořenových extraktech byl detekován pouze katechin a kyselina benzoová a v extraktech z plodů byly identifikovány pouze flavonoidy (katechin, naringenin a kempferol). Bylo prokázáno, že ve withanii je v největším množství přítomný katechin, a to zejména v listech.

Výsledky studie ukazují, že rostlina *Withania somnifera* má pro své antioxidační účinky potenciální přínos pro lidské zdraví [75].

Kyselina *p*-kumarová je obsažena rovněž v rostlině *Sophora flavescens*, *Hypnum cupressiforme*, *Medicago sativa*, *Trigonella foenum-graecum*, *Lens culinaris*, *Artiplex mollis*, *Vitis vinifera*, *Abelmoschus esculentus*, *Amaranthus tricolor*, *A. lividus*, *Catalpa speciosa*, *Oryza* spp., *Grindelia robusta*, *G. squarrosa*, *Rehmannia glutinosa*, *Annona muricata*, *Solidago virgaurea*, *Leonurus sibiricus*, *Artemisia absinthium*, *Solanum tuberosum*, *Aronia melanocarpa*, *Vaccinium myrtilus*, *V. vitis-idaea*, *V. corymbosum*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Hippophae rhamnoides*, *Coffea arabica*, *Fagopyrum tataricum*, *Morus alba*, *Teucrium flavum*, *T. arduini*, *Cucurbita pepo*, *C. moschata*, *Oenothera biennis*, *Dendropanax morbifera*, *Alyssum montanum*, *Smallanthus sonchifolius*, *Echinacea purpurea*, *Quercus robur, Q. alba*, *Q. petraea*, *Cyclea gracillima*, *Melicope lunu-ankenda*, Brassicaceae, *Linum usitatissimum*, *Panicum miliaceum* a *Rosa canina*.

27 Kyselina skořicová

Velmi nadějnou rostlinou v oblasti prevence chronických onemocnění je *Rosa canina* L. (růže šípková) z čeledi Rosaceae (růžovité). Vzhledem k vysokému obsahu fenolických látek lze listy a plody této rostliny s výhodou využít v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu.

Druh *Rosa canina* L. je ceněný pro své chemoprotektivní, antioxidační, antimutagenní a antikarcinogenní účinky. Plody (šípky) se používají k léčbě nachlazení, gastrointestinálních poruch, infekcí, zánětlivých stavů i chronických bolestí a vykazují antidiabetické, antinociceptivní, antiulcerózní a antiproliferativní účinky. Působí také jako antiobezitikum. Listy se, pro své antioxidační a protizánětlivé účinky, používají k léčbě chřipky, nachlazení, kašle a edémů a k potlačení svědění.

Cílem této studie bylo srovnání obsahu fenolických látek a biologických účinků vodných a vodnomethanolových extraktů z plodů a listů komerční a divoce rostoucí růže šípkové.

Bylo analyzováno 6 vzorků plodů růže, které byly koupeny v lékárně a místních supermarketech, přičemž většina z nich byla ve formě nálevových sáčků, jeden byl v sypané formě a 2 vzorky obsahovaly i další byliny. Dále bylo testováno 9 vzorků plodů a 5 vzorků listů, které byly sklizeny v období od října do listopadu roku 2018 v severní části Polska.

Celkový obsah fenolických látek (TPC) byl stanoven za použití Folin-Ciocalteuova činidla dle Singleton a kol. (1999), celkový obsah flavonoidů (TFC) byl stanoven pomocí lékopisné metody a celkový obsah fenolických kyselin (TPAC) byl určen pomocí Arnovova činidla. U extraktů byla dále stanovena kyselina L(+)-askorbová metodou vyvinutou Abdelmaggedem a kol. (1995). Kvalitativní a kvantitativní analýza jednotlivých fenolických sloučenin byla provedena kapalinovou chromatografií spojenou s detekcí diodového pole ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií za využití ionizace elektrosprejem (LC-DAD/ESI/MS, Shimadzu, Kjóto, Japonsko). Byla použita kolona Hypersil Gold C18 (250 × 4,6 mm, 5 μm), která byla vybavena kolonou (4 × 4,6 mm) plnící ochrannou funkci (obě od společnosti Thermo Scientific, Mohuč, Německo). Byla provedena gradientová eluce prostřednictvím následujících mobilních fází: mobilní fáze A – 0,5% kyselina octová ve vodě a mobilní fáze B – 0,5% kyselina octová ve směsi acetonitrilu a vody (v poměru 50:50, v/v).

Výsledky studie ukázaly, že vodné extrakty vykazovaly vyšší hodnoty TPC, TFC a TPAC než vodnomethanolové extrakty, stejně tak jako extrakty z listů ve srovnání s extrakty z plodů. V růži bylo identifikováno a kvantifikováno 12 fenolických sloučenin, z nichž bylo 10 fenolických kyselin – kyselina gallová, kyselina protokatechová, kyselina vanilová, kyselina chlorogenová, kyselina syringová, kyselina *p*-kumarová, kyselina ferulová, kyselina sinapová, kyselina rozmarýnová a **kyselina skořicová**. V rostlině byl dále detekován rutin a kvercetin. Obsah fenolických látek se v plodech komerčních a divoce rostoucích rostlin významně nelišil. Ve vodných extraktech byl nejvíce zastoupen kvercetin a rutin. Ve vodnomethanolových extraktech byly v největším množství detekovány následující kyseliny: kyselina chlorogenová, kyselina gallová a kyselina skořicová. Nejvyšší obsah fenolických látek byl stanoven u extraktů z listů. Kyselina skořicová a kvercetin byly vysoce obsaženy ve vodných extraktech z plodů planně rostoucích růží (11,87 a 7,31 μg/g sušiny), ale i komerčních růží (10,71 a 6,21 μg/g sušiny). Kyselina skořicová dále převládala ve vodných extraktech z listů (14,77 μg/g sušiny). V listech byla dominantní také kyselina chlorogenová s obsahem 10,36 μg/g sušiny.

Největší antioxidační aktivita byla zjištěna u extraktů z listů. U nich byly rovněž prokázány antibakteriální účinky proti *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *E. coli* a *Pseudomonas aeruginosa*.

Studie potvrdila korelaci mezi obsahem fenolických látek, flavonoidů a antioxidačními účinky a prokázala významnost listů jako potenciálního zdroje antioxidantů ovlivňujících lidské zdraví [76].

Přítomnost **kyseliny skořicové** byla potvrzena rovněžv rostlině *Sophora flavescens*, *Amaranthus tricolor*, *A. lividus*, *Annona muricata*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Salvia hispanica*, *Dendropanax morbifera*, *Alyssum montanum*, *Linum usitatissimum* a *Avena sativa*.

28 4-methylkatechol

Voda, která je použita při lisování olivového oleje z plodů rostliny *Olea europaea* L. (olivovník evropský) z čeledi Oleaceae (olivovníkovité) obsahuje jako hlavní fenolické látky katechol, 4-methylkatechol, tyrosol a hydroxytyrosol, které byly izolovány a identifikovány z ethylacetátové extraktu VW pomocí chromatografie za nízkého tlaku s využitím C8 kolony

s reverzní fází. Katechol, 4-methylkatechol a hydroxytyrosol byly separovány jako chromatograficky čisté látky. Tyrosol byl krystalizován z chloroformu. Za účelem srovnání biologického účinku fenolických látek s jejich acetáty, byly připraveny octové deriváty příslušných látek a všechny sloučeniny byly identifikovány a charakterizovány prostřednictvím ^{1}H a ^{13}C NMR, EI- a FAB-MS, UV a IR spektroskopie.

Izolované fenolické látky byly podrobeny testům na fytotoxicitu, které byly prováděny na rostlinách *Lycopersicon esculentum* Mill. *(Solanum lycopersicum* L., lilek rajče) z čeledi Solanaceae (lilkovité) a na rostlinách *Cucurbita pepo* L. (tykev obecná) z čeledi Cucurbitaceae (tykvovité).

Bylo zjištěno, že 4-methylkatechol a jeho odpovídající diacetát vykazovaly nejvyšší fytotoxicitu a nespecifitu, hydroxytyrosol a jeho triacetát měly škodlivé účinky pouze na tykev a katechol, tyrosol a jejich diacetáty naopak vykazovaly toxický účinek pouze na rostliny lilku rajčete. Nejvíce toxickými účinky se vyznačovaly následující látky: katechol, 4-methylkatechol a jejich diacetáty, přičemž nespecifické škodlivé účinky 4-methylkatecholu a jeho diacetátů lze vysvětlit jejich vyšší lipofilitou ve srovnání s ostatními sledovanými látkami. Došlo ke zjištění, že acetáty jednotlivých látek mají stejné fytotoxické účinky jako původní látky, a proto lze předpokládat, že dochází k enzymatické hydrolýze acetátu na prvotní látky, jež se v tomto případě označuje jako letální metabolismus.

Vzhledem k tomu, že opakovaná extrakce ethylacetátem a *n*-butanolem odstranila z vody všechny polyfosfáty a voda byla stále fytotoxická, je nutné přihlížet k tomu, že fytotoxicita této vody nezávisí pouze na přítomnosti fenolických látek, ale i na jiných organických a/nebo anorganických látkách [77].

29 Artepillin C

Propolis je vonná substance gelové konzistence, která vzniká smísením pupenových sekretů a pryskyřice borovic, topolů a dalších rostlin se včelím voskem a sekrety ze slinných žláz včel. Bylo prokázáno, že propolis vykazuje řadu biologických účinků, které mají blahodárný vliv na lidské zdraví v důsledku jeho antibakteriálních, antivirových, protizánětlivých, protinádorových a antioxidačních účinků a schopnosti snižovat krevní lipidy a cukr v krvi.

Propolis pocházející z jihovýchodní Brazílie se nazývá zelený propolis a dle dostupné literatury ho existuje až 300 druhů. Jeho nejdůležitějším zdrojem je rostlina *Baccharis dracunculifolia* DC z čeledi Asteraceae (hvězdnicovité).

Studie se zabývá identifikací a kvantifikací fenolických kyselin v brazilském zeleném propolisu pomocí pozitivních a negativních režimů ultra účinné kapalinové chromatografie (UPLC – Ultra Performance Liquid Chromatography) ve spojení s kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem založeném na stanovení doby letu a s využitím elektrosprejové ionizace (UPLC-ESI-QTOF-MS = Ultra Performace Liquid Chromatography – Electrospray ionization – Quadrupole Time Of Flight – Mass Spectrometry). Poté byla provedena analýza HPLC.

K měření bylo použito celkem 14 vzorků brazilského zeleného propolisu od různých výrobců, které byly shromážděny v létě roku 2017. Vzorky byly nejprve analyzovány pomocí metody Agilent 1290 ESI-QTOF-MS a systému UPLC Agilent 6545 Series (Agilent Technologies, Waldbronn, Německo) s využitím ESI jako zdroje a duálního Agilent jet stream nebulizátoru. Při analýze UPLC byla použita kolona s reverzní fází C18 Agilent SB (RP-18 100 mm × 2,1 mm, 1,8 µm, Waldbronn, Německo) a jako mobilní fáze A 0,1 % kyselina mravenčí a mobilní fáze B methanol. Hmotnostní spektrometrie byla provedena v pozitivním i negativním režimu elektrosprejové ionizace pomocí technologie Agilent při kapilárním napětí 3500 V, teplotě sušení 320 °C a teplotě plášťového plynu 350 °C. Kvantitativní analýza brazilského zeleného propolisu byla provedena pomocí HPLC, konkrétně Shimadzu HPLC-20AT (Shimadzi, Japonsko) na koloně s reverzní fází Kromasil C18 (RP-18, 250 mm × 4,6 mm, 5µm, AKZONOBEL, Švédsko) při 310 nm. Jako mobilní fáze byla použita směs vody a kyseliny mravenčí v poměru 999:1 objemových dílů (A) a methanol (B).

V rámci studie bylo v brazilském zeleném propolisu identifikováno 7 fenolických kyselin: kyselina chlorogenová, kyselina kávová, kyselina isochlorogenová A, kyselina isochlorogenová B, kyselina isochlorogenová C, fenethylester kyseliny kávové (CAPE) a **artepillin C** (3,5-diprenyl-4.hydroxyskořicová kyselina). Prostřednictvím HPLC byla provedena kvantitativní analýza jednotlivých fenolických kyselin, přičemž nejvyšší obsah v zeleném propolisu měl artepillin C (2,48 ± 0,94) a nejméně zastoupená byla kyselina isochlorogenová B (0,08 ± 0,04). Součástí studie bylo srovnání 14 různých vzorků brazilského zeleného propolisu, které prokázalo pouze nepatrné rozdíly v obsahu každé výše

zmíněné fenolické kyseliny. Důvodem je pravděpodobně to, že vzorky pochází ze stejných zdrojů rostlinné pryskyřice.

Vzhledem k identifikaci tří izomerů kyseliny chlorogenové bylo prokázáno, že analýza UPLC-ESI-QTOF-MS je, vzhledem k její přesnosti, vhodnou metodou pro stanovení složení brazilského zeleného propolisu a tudíž ke zhodnocení jeho kvality. Především kvantitativní analýza artepillinu C hraje důležitou roli při určování indexu kvality brazilského zeleného propolisu [78].

30 Diskuze a závěr

Fenolické kyseliny se nacházejí v běžné potravě jako je ovoce, zelenina nebo obilniny. Jejich zdrojem jsou především krytosemenné rostliny (viz tabulka č. 2 na str. 122-135, kde jsou přehledně vypsány ke každé rostlině příslušné fenolické kyseliny, které v ní byly nalezeny), ale i např. mechy, kapradiny a houby. Z tabulky je patrné, že každá rostlina většinou obsahuje několik fenolických kyselin.

Fenolické kyseliny vznikají v rostlinách jako sekundární metabolity, kde zastávají mnoho funkcí, např. v příjmu živin, podílejí se na syntéze bílkovin, ale i na fotosyntéze či alelopatii. Tyto látky jsou nedílnou součástí naší každodenní stravy a tím, že mají mnoho pozitivních farmakologických účinků, jim je věnována velká pozornost v mnoha prováděných *in vitro* a *in vivo* studiích, jak je patrné z této diplomové práce. Příkladem mohou být antioxidační, antivirové, antibakteriální, antifungální nebo antikancerogenní účinky a další.

V rámci diplomové práce (DP) bylo zpracováno 19 fenolických kyselin, odvozených od kyseliny benzoové a kyseliny skořicové, a jejich dva deriváty (artepillin C a 4-methylkatechol). Na začátku DP (viz tabulka č. 1 na str. 10-13) je umístěna tabulka se zařazením rostlin, které jsou v práci zpracovány, do botanického systému.

Fenolické kyseliny v rostlinách vznikají šikimátovou dráhou a prostřednictvím metabolismu fenylpropanoidů. Tyto látky vznikají rovněž při metabolizaci některých flavonoidů (např. kvercetinu) v lidském těle. Jedná se např. o kyselinu 3-hydroxyfenyloctovou a 3,4-dihydroxyfenyloctovou, která byla nalezena ve zlatobýlu obecném (str. 61). Dále je to 4-methylkatechol, který byl objeven v olivovém oleji (str. 115).

Na naší fakultě byl prokázán během *ex vivo* a *in vivo* studií vliv 3,4-dihydroxyfenyloctové kyseliny a 4-methylkatecholu na snížení arteriálního tlaku krve u myší [79, 80]. Prostřednictvím testování 29 metabolitů flavonoidů na antiagregační aktivitu vykázal 4-methylkatechol velmi vysokou účinnost a tento účinek byl potvrzen testem *ex vivo* [81].

Jednou z nejběžnějších fenolických kyselin je kyselina benzoová, kterou lze nalézt v rostlině *Clematis cirrhosa*, *Paeonia suffruticosa*, *Sophora flavescens*, *Artiplex mollis*, *Rehmania glutinosa*, *Solidago virgaurea*, *Dendropanax morbifera*, *Allysum montanum* a *Withania somnifera* (str. 25-29).

Další významnou kyselinou je kyselina kávová (str. 80-94), která je významná pro svou širokou škálu léčebných vlastností a vysoký obsah v rostlinách. Ve značném množství se nachází také v rostlině *Echinacea purpurea*, která je v současné době velmi oblíbená a s výhodou je používána k prevenci a léčbě nachlazení, kašle, bronchitidy či infekcí dýchacích cest.

Mezi další rozšířené fenolické kyseliny patří např. kyselina gallová, jejímž významným zdrojem je rostlina *Vitis vinifera*. Je známo, že se jedná o velmi žádanou rostlinu, která konzumenta obohatí nejen o nevšední gastronomický zážitek, ale také o látky prospívající lidskému zdraví. Navíc bylo zjištěno, že odpadní materiál při výrobě vína lze v budoucnu využít v různých odvětvích potravinářského průmyslu.

Kyselina protokatechová představuje fenolickou kyselinu, která vykazuje velké množství farmakologických účinků, přičemž je obsažena v řadě druhů ovoce, v ořechách či v koření a představuje proto nedílnou součást každodenní stravy.

Dalšími významnými fenolickými kyselinami jsou například kyselina vanilová, kyselina *p*-kumarová či kyselina chlorogenová, jež je obsažena např. v bramboru, který vzhledem k tomu tvoří nutričně bohatou součást potravy. Lilek brambor navíc vystupuje jako zdroj antioxidantů a vykazuje vysoký index sytosti.

Na kyselinu sinapovou je bohatá např. rostlina *Melicope lunu-ankenda*, která se používá na léčbu Alzheimerovy choroby.

Fenolické kyseliny (kyselina kávová a kyselina chlorogenová) a další fenolické látky, jako je thymol a eugenol, zvyšují aktivitu glutathion-S-transferasy, která je klíčová k detoxikaci metabolicky aktivovaných karcinogenních epoxidů AFB1 (Guengerich a kol., 1996) [82].

Fenolické kyseliny jsou uvedeny také v Českém lékopise 2017 [83] – list a kořen proskurníku lékařského, který patří mezi léčiva k utlumení kašle. Dalším zástupcem může být květ bezu černého a lípy srdčité (l. velkolisté), jenž patří k podpůrným léčivům při nachlazení nebo již výše zmíněný kořen třapatky nachové, bledé, úzkolisté či pelargonie ledvinité se stejným použitím.

V současné době jsou velmi rozšířené doplňky stravy. Jedním z přípravků, kde je uvedena přítomnost fenolických kyselin, je např. potravinový doplněk Rhodiola Essence BIO cps. 60 [84], nebo MycoMedica Acerola 90 cps [85].

Z přehledu vybraných fenolických kyselin zpracovaných v této DP vyplývá jejich široký potenciál, který je stále ještě dostatečně neprobádán.

Závěrem lze konstatovat, že fenolické kyseliny jsou zdrojem mnoha významných farmakologických účinků, které by mohly být využity k prevenci či léčbě mnoha onemocnění, např. i metabolického syndromu.

Název rostliny	Fenolické kyseliny	Číslo strany
Clematis cirrhosa	kyselina benzoová	25
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	26
	kyselina chlorogenová	26
	kyselina kávová	26
	kyselina gallová	26
	kyselina syringová	26
Paeonia suffruticosa	kyselina benzoová	26
	kyselina kávová	27
	kyselina chlorogenová	27
	kyselina gallová	27
	kyselina šikimová	27
	kyselina 4-hydroxybenzoová	27
Sophora flavescens	kyselina benzoová	29
	kyselina *trans*-skořicová	29
	kyselina kávová	29
	kyselina *p*-kumarová	29
	kyselina ferulová	29
	kyselina chlorogenová	29
Laurus nobilis	kyselina kávová	30
	kyselina chlorogenová	30
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	30
Hypnum cupressiforme	kyselina *p*-hydroxybenzoová	31
	kyselina gallová	31
	kyselina protokatechová	31
	kyselina 5-O-kafeoylchinová	31
	kyselina kávová	31
	kyselina *p*-kumarová	31
Medicago sativa	kyselina 4-hydroxybenzoová	33
	kyselina kávová	33
	kyselina sinapová	33
	kyselina *p*-kumarová	33
	kyselina ferulová	33
Trigonella foenum-graecum	kyselina 4-hydroxybenzoová	33
	kyselina kávová	33
	kyselina sinapová	33
	kyselina *p*-kumarová	33
	kyselina ferulová	33
Lens culinaris	kyselina 4-hydroxybenzoová	33
	kyselina kávová	33
	kyselina sinapová	33
	kyselina *p*-kumarová	33

	kyselina ferulová	33
Artiplex mollis	kyselina *p*-hydroxybenzoová	34
	kyselina 3-hydroxy-4-methoxybenzoová	34
	kyselina benzoová	29
	kyselina *p*-kumarová	34
	kyselina vanilová	34
	kyselina 3-hydroxybenzoová	34
	kyselina chlorogenová	35
	kyselina gallová	35
	kyselina sinapová	35
	kyselina ferulová	35
	kyselina 2,3-dimethoxybenzoová	35
	kyselina syringová	35
Frankenia pulverulenta	kyselina gallová	36
Vitis vinifera	kyselina gallová	38
	kyselina kávová	38
	kyselina kutarová	38
	kyselina ferulová	38
	kyselina *p*-kumarová	38
	kyselina protokatechová	44
	kyselina fertarová	38
Abelmoschus esculentus	kyselina šikimová	39
	kyselina gallová	39
	kyselina vanilová	39
	kyselina ferulová	39
	kyselina salicylová	39
	kyselina syringová	39
	kyselina *p*-kumarová	39
Punica granatum	kyselina ellagová	40
	kyselina gallová	40
Amaranthus tricolor, A. lividus	kyselina salicylová	43
	kyselina protokatechová	43
	kyselina vanilová	43
	kyselina gallová	40
	kyselina gentisová	43
	kyselina β-resorcylová	43
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	35
	kyselina syringová	43
	kyselina ellagová	41
	kyselina chlorogenová	43
	kyselina sinapová	43
	kyselina *trans*-skořicová	43
	kyselina *m*-kumarová	43

	kyselina *p*-kumarová	43
	kyselina kávová	43
	kyselina ferulová	43
Allium cepa	kyselina protokatechová	43
Illicium verum		43
Cinnamomum aromaticum		43
Hibiscus sabdarifa		44
Eriobotrya japonica		44
Daucus carota		44
Ficus spp.		44
Prunus amygdalus		44
Scutellaria barbata		44
Veronica americana		44
Cibotium barometz		44
Hedera helix		44
Phyllanthus emblica		44
Alpinia oxyphylla		44
Ginkgo biloba		44
Prunus domestica		44
Boswellia dalzielii		44
Hypericum perforatum		44
Ribes uva-crispa		44
Catalpa speciosa	kyselina kávová	46
	kyselina gallová	40
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	35
	kyselina *p*-kumarová	46
	kyselina protokatechová	46
	kyselina vanilová	46
	kyselina ferulová	46
Magnolia acuminata	kyselina ellagová	41
	kyselina protokatechová	46
Taxus cuspidata	kyselina kávová	46
	kyselina chlorogenová	46
	kyselina gallová	40
	kyselina protokatechová	46
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	35
	kyselina hydroxykávová	46
Cardiocronium cordatum	kyselina kávová	47
	kyselina ferulová	47
	kyselina isoferulová	47
	lyselina protokatechová	47
	kyselina syringová	47

Verbena officinalis	kyselina ferulová	47
	kyselina protokatechová	47
	kyselina rozmarýnová	47
	kyselina chlorogenová	47
	kyselina vanilová	48
	kyselina kávová	48
Astragalus membranaceus var. *mongholicus*	kyselina protokatechová	51
	kyselina kávová	51
	kyselina vanilová	51
	kyselina ferulová	51
Oryza spp.	kyselina salicylová	43
	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
	kyselina gentisová	52
	kyselina protokatechová	51
	kyselina gallová	40
	kyselina syringová	52
	kyselina vanilová	52
	kyselina *p*-kumarová	52
	kyselina kávová	52
	kyselina ferulová	52
	kyselina isoferulová	52
	kyselina sinapová	52
	kyselina kafeoylchinová	52
	kyselina *p*-kumaroylchinová	52
	kyselina feruloylchinová	52
Grindelia robusta, G. squarrosa	kyselina vanilová	54
	kyselina ferulová	54
	kyselina *p*-kumarová	54
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	35
	kyselina chlorogenová	54
	kyselina kávová	54
	kyselina gallová	40
	kyselina protokatechová	51
	kyselina *p*-hydroxyfenyloctová	54
	kyselina ellagová	41
	kyselina salicylová	43
Rehmannia glutinosa	kyselina *p*-kumarová	55
	kyslina protokatechová	51
	kyselina ftalová	55
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	35
	kyselina vanilová	55
	kyselina syringová	55

	kyselina benzoová	29
	kyselina ferulová	55
	kyselina salicylová	43
Camellia sinensis	kyselina kafeoylchinová	58
	kyselina *p*-kumaroylchinová	58
	kyselina chinová	57
	kyselina gallová	40
	kyselina galloylchinová	58
Annona muricata	kyselina gallová	40
	kyselina *p*-kumarová	59
	kyselina skořicová	59
	kyselina kávová	59
	kyselina chlorogenová	59
	kyselina protokatechová	51
	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
	kyselina syringová	59
	kyselina neochlorogenová	59
Solidago virgaurea	kyselina kávová	61
	kyselina chlorogenová	61
	kyselina ferulová	61
	kyselina sinapová	61
	kyselina 3-hydroxyfenyloctová	61
	kyselina 3,4-dihydroxyfenyloctová	61
	kyselina homovanilová	61
	kyselina salicylová	43
	kyselina benzoová	29
	kyselina 3-hydroxybenzoová	61
	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
	kyselina protokatechová	51
	kyselina gentisová	61
	kyselina 3,5-di-O-kafeoylchinová	61
	kyselina 3,4-di-O-kafeoylchinová	61
	kyselina 4,5-di-O-kafeoylchinová	61
	kyselina 3,4,5-tri-O-kafeoylchinová	61
	kyselina *p*-kumarová	61
	kyselina 5-*p*-kumaroylchinová	61
	kyselina neochlorogenová	61
	Kyselina gallová	40
	Kyselina vanilová	57
	kyselina rozmarýnová	61
Mammillaria spp.	kyselina gentisová	61
	kyselina chlorogenová	61
	kyselina kávová	62

	kyselina protokatechová	51
	kyselina sinapová	63
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	35
Leonurus sibiricus	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
	kyselina chlorogenová	63
	kyselina kávová	63
	kyselina *p*-kumarová	63
	kyselina ferulová	63
Artemisia absinthium	kyselina gentisová	62
	kyselina chlorogenová	65
	kyselina *p*-kumarová	65
	kyselina gallová	40
	kyselina salicylová	43
	kyselina kávová	65
	kyselina ferulová	65
Solanum tuberosum	kyselina chlorogenová	66
	kyselina neochlorogenová	66
	kyselina kryptochlorogenová	66
	kyselina kávová	66
	kyselina ferulová	66
	kyselina gallová	40
	kyselina *p*-kumarová	66
	kyselina syringová	60
	kyselina vanilová	57
	kyselina sinapová	67
	kyselina protokatechová	51
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	35
	kyselina salicylová	43
Aronia melanocarpa	kyselina chlorogenová	68
	kyselina neochlorogenová	68
	kyselina kryptochlorogenová	68
	kyselina *p*-kumarová	68
	kyselina vanilová	57
	kyselina ferulová	68
	kyselina protokatechová	51
	kyselina kávová	68
	kyselina syringová	60
	kyselina salicylová	43
	kyselina ellagová	41
	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
	kyselina gentisová	62

	kyselina sinapová	68
	kyselina 3-hydroxybenzoová	61
Vaccinium myrtilus	kyselina ferulová	69
	kyselina chlorogenová	69
	kyselina 3-O-*p*-kumaroylchinová	69
	kyselina kafeoylšikimová	69
	kyselina kávová	69
	kyselina *p*-kumarová	69
	kyselina feruloylchinová	69
	kyselina kumaroylchinová	69
Vaccinium vitis-idaea	kyselina chlorogenová	70
	kyselina kávová	70
	kyselina *p*-kumarová	70
	kyselina kumaroylchinová	70
	kyselina feruloylchinová	70
	kyselina kafeoylšikimová	70
Vaccinium uliginosum	kyselina chlorogenová	71
	kyselina 4-kafeoylchinová	71
	kyselina 3-*p*-kumaroylchinová	71
	kyselina 5-*p*-kumaroylchinová	71
	kyselina feruloylchinová	71
	kyselina 4-*p*-kumaroylchinová	71
Vaccinium corymbosum	kyselina *p*-kumarová	71
	kyselina kávová	71
	kyselina chlorogenová	71
	kyselina ferulová	71
Arctostaphylos uva-ursi	kyselina taninová	71
	kyselina gallová	40
	kyselina *p*-kumarová	71
	kyselina syringová	60
	kyselina 5-kafeoylchinová	72
	kyselina kávová	72
	kyselina ferulová	72
	kyselina isoferulová	72
	kyselina skořicová	72
	kyselina methoxyskořicová	72
Actidinia chinensis	kyselina gallová	40
	kyselina protokatechová	51
	kyselina neochlorogenová	73
	kyselina chlorogenová	73
Actidinia deliciosa	kyselina gallová	40
	kyselina chlorogenová	73

Actidinia macrosperma	kyselina kávová	73
	kyselina chlorogenová	73
Actidinia polygama	kyselina gallová	40
	kyselina kávová	73
	Kyselina protokatechová	51
	kyselina chlorogenová	73
Actidinia arguta	kyselina chlorogenová	73
	kyselina neochlorogenová	73
	kyselina kávová	73
Hippophae rhamnoides	kyselina chlorogenová	74
	kyselina ferulová	74
	kyselina protokatechová	51
	kyselina gallová	40
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	35
	kyselina syringová	60
	kyselina *m*-hydroxybenzoová	74
	kyselina vanilová	57
	kyselina *p*-kumarová	74
	kyselina kávová	74
Coffea arabica	kyselina kávová	76
	kyselina kafeoylchinová	76
	kyselina chlorogenová	76
	kyselina ferulová	76
	kyselina chinová	58
	kyselina *p*-kumarová	76
Fagopyrum tataricum	kyselina 3,4-dihydroxybenzoová	77
	kyselina 2,6-dihydrixybenzoová	77
	kyselina 3,5-dihydroxybenzoová	77
	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
	kyselina kávová	77
	kyselina chlorogenová	77
	kyselina ferulová	77
	kyselina gallová	40
	kyselina isovanilová	77
	kyselina *p*-kumarová	77
	kyselina syringová	60
Morus alba	kyselina gallová	40
	kyselina vanilová	57
	kyselina ferulová	79
	kyselina kávová	79
	kyselina chlorogenová	79
	kyselina rozmarýnová	79
	kyselina *p*-kumarová	79

Teucrium flavum, T. arduini	kyselina kávová	81
	kyselina *p*-kumarová	81
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina vanilová	57
	kyselina syringová	60
	kyselina 3-hydroxybenzoová	61
	kyselina 3,5-dihydroxybenzoová	81
	kyselina ferulová	81
Cucurbita pepo, C. moschata	kyselina kávová	81
	kyselina gallová	40
	kyselina protokatechová	51
	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
	kyselina vanilová	57
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina *p*-kumarová	82
	kyselina ferulová	82
	kyselina sinapová	82
Oenothera biennis	kyselina ellagová	41
	kyselina gallová	40
	kyselina kávová	82
	kyselina *p*-kumarová	82
	kyselina 3-*p*-feruloylchinová	84
	kyselina 4-*p*-feruloylchinová	84
	kyselina 3-*p*-kumaroylchinová	84
	kyselina valonová	84
	kyselina ferulová	83
	kyselina syringová	60
	kyselina protokatechová	51
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	35
Salvia hispanica	kyselina kávová	84
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina rozmarýnová	84
	kyselina gallová	40
	kyselina skořicová	84
Picea abies	kyselina salicylová	43
	kyselina kávová	86
	kyselina ferulová	86
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
Larix decidua	kyselina salicylová	43
	kyselina kávová	86
	kyselina ferulová	86
	kyselina chlorogenová	80

	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
Pinus sylvestris	kyselina salicylová	43
	kyselina kávová	86
	kyselina ferulová	86
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
Pseudotsuga menziesii	kyselina salicylová	43
	kyselina kávová	86
	kyselina ferulová	86
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
Juniperus communis	kyselina salicylová	43
	kyselina kávová	86
	kyselina ferulová	86
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
Dendropanax morbifera	kyselina benzoová	29
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	35
	kyselina protokatechová	51
	kyselina vanilová	57
	kyselina syringová	60
	kyselina gallová	40
	kyselina skořicová	87
	kyselina *p*-kumarová	87
	kyselina kávová	87
	kyselina ferulová	87
	kyselina sinapová	87
	kyselina chlorogenová	80
Alyssum montanum	kyselina skořicová	90
	kyselina benzoová	29
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	35
	kyselina rozmarýnová	91
	kyselina *p*-kumarová	91
	kyselina salicylová	91
	kyselina homovanilová	91
	kyselina protokatechová	51
	kyselina gentisová	62
	kyselina gallová	40
	kyselina ferulová	91
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina vanilová	57
	kyselina sinapová	91
	kyselina kávová	91

Smallanthus sonchifolius	kyselina ferulová	92
	kyselina kávová	92
	kyselina *p*-kumarová	92
	kyselina chlorogenová	80
Echinacea purpurea	kyselina syringová	60
	kyselina ferulová	93
	kyselina kávová	93
	kyselina vanilová	57
	kyselina *p*-kumarová	93
	kyselina 3,4-dihydroxybenzoová	93
	kyselina 4-hydroxybenzoová	35
	kyselina cichorová	93
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina chinová	93
Origanum spp.	kyselina rozmarýnová	95
Lippia spp.		95
Hedeoma spp.		95
Rosmarinus officinalis	kyselina protokatechová	43
	kyselina rozmarýnová	95
	kyselina kávová	94
	kyselina 3,4-dihydroxymléčná	96
	kyselina salvianolová H	96
	kyselina salvianolová I	96
	kyselina salvianolová J	96
	kyselina salvianolová B	96
Melissa officinalis	kyselina protokatechová	43
	kyselina rozmarýnová	95
	kyselina kávová	94
	kyselina 3,4-dihydroxymléčná	96
	kyselina salvianolová H	96
	kyselina salvianolová I	96
	kyselina salvianolová J	96
	kyselina salvianolová B	96
Salvia officinalis	kyselina rozmarýnová	95
	kyselina kávová	94
	kyselina 3,4-dihydroxymléčná	96
	kyselina salvianolová H	96
	kyselina salvianolová I	96
	kyselina salvianolová J	96
	kyselina salvianolová B	96
Mentha × piperita	kyselina rozmarýnová	95
	kyselina kávová	94
	kyselina 3,4-dihydroxymléčná	96

	kyselina salvianolová H	96
	kyselina salvianolová I	96
	kyselina salvianolová J	96
	kyselina salvianolová B	96
Thymus vulgaris	kyselina rozmarýnová	95
	kyselina kávová	94
	kyselina 3,4-dihydroxymléčná	96
	kyselina salvianolová H	96
	kyselina salvianolová I	96
	kyselina salvianolová J	96
	kyselina salvianolová B	96
Orthosiphon stamineus	kyselina kávová	94
	kyselina rozmarýnová	97
Hyssopus cuspidatus	kyselina kávová	94
	kyselina ferulová	98
	kyselina rozmarýnová	98
Salvia miltiorrhiza	kyselina salvianolová A	98
	kyselina salvianolová B	98
	kyselina protokatechová	44
Quercus robur, Q. alba, Q. petraea	kyselina gallová	40
	kyselina protokatechová	51
	kyselina kávová	94
	kyselina sinapová	100
	kyselina gentisová	62
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	36
	kyselina syringová	60
	kyselina salicylová	43
	kyselina vanilová	57
	kyselina *p*-kumarová	100
	kyselina ferulová	100
Cyclea gracillima	kyselina *p*-kumarová	102
	kyselina ferulová	102
	kyselina sinapová	102
	kysleina syringová	60
	kyselina gallová	40
	kyselina *p*-anisová	102
Nigella sativa	kyselina 5-hydroxyferulová	103
	kyselina 3-hydroxybenzoová	61
	kyselina ferulová	103
	kyselina sinapová	103
	kyselina salicylová	43
	kyselina vanilová	57
Melicope lunu-ankenda	kyselina kávová	94

	kyselina kafeoylchinová	104
	kyselina *p*-kumarová	104
	kyselina ferulová	104
	kyselina sinapová	104
čeleď Brassicaceae	kyselina ferulová	105
	kyselina sinapová	105
	kyselina kávová	94
	kyselina *p*-kumarová	105
čeleď Poaceae	kyselina *p*-hydroxybenzoová	36
	kyselina vanilová	57
	kyselina gallová	40
	kyselina kávová	94
	kyselina syringová	60
	kyselina ferulová	106
Linum usitatissimum	kyselina *trans*-skořicová	107
	kyselina *trans*-kávová	94
	kyselina *p*-kumarová	107
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina gallová	40
	kyselina sinapová	105
	kyselina protokatechová	51
	kyselina *p*-hydroxybenzoová	36
	kyselina gentisová	62
	kyselina vanilová	57
	kyselina ferulová	107
Panicum miliaceum	kyselina syringová	60
	kyselina vanilová	57
	kysleina gallová	40
	kyselina 4-hydroxybenzoová	36
	kyselina kávová	94
	kyselina ferulová	107
	kyselina sinapová	105
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina *p*-kumarová	107
Boehmeria nivea	kyselina chlorogenová	80
	kyselina kávová	94
	kyselina ferulová	109
	kyselina gallová	40
	kyselina *p*-kumarová	110
Avena sativa	kyselina 2,4-dihydroxybenzoová	112
	kyselina vanilová	57
	kyselina syringová	60

	kyselina skořicová	112
	kyselina ferulová	109
	kyselina *o*-kumarová	112
	kyselina *p*-kumarová	112
Withania somnifera	kyselina gallová	40
	kyselina syringová	60
	kyselina *p*-kumarová	113
	kyselina vanilová	57
	kyselina benzoová	29
Rosa canina	kyselina gallová	40
	kyselina protokatechová	51
	kyselina vanilová	57
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina syringová	60
	kyselina *p*-kumarová	113
	kyselin ferulová	109
	kyselina sinapová	105
	kyselina rozmarýnová	98
	kyselina skořicová	115
Baccharis dracunculifolia	artepilin C	117
	kyselina chlorogenová	80
	kyselina kávová	94
	kyselina isochlorogenová A	117
	kyselina isochlorogenová B	117
	kyselina isochlorogenová C	117

Tab. 2: Obsah fenolických kyselin v jednotlivých rostlinách

31 Seznam použitých zkratek

A375 = lidské melanomové buňky

ABA = kyselina abscisová

ABTS = 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)

ACN = acetonitril

AD = Alzheimerova choroba

ADH = alkoholdehydrogenasa

AE = vodný extrakt

AChE = acetylcholinesterasa

ALDH = aldehyddehydrogenasa

ALT = alaninaminotransferasa

AMF = květy rostliny *Astragalus membranaceus*

APCI = chemická ionizace za atmosférického tlaku
API = ionizace za atmosférického tlaku

API-LC/MS/MS = kapalinová chromatografie/tandemová hmotnostní spektrometrie ve spojení s ionizací za atmosférického tlaku

AST = aspartátaminotransferasa

AVNs = aventhramidy

BB = bioreaktor balónového typu

BBD = vzor Box-Behnken

BDNF = mozkový neurotrofní faktor

BHU 12, **BHU 16**, **BHU M7 =** endofytické izoláty

BChE = butyrylcholinesterasa

CAE = ekvivalent kyseliny kávové

CAPE = fenylester kyseliny kávové

CAT = katalasa

CBMN = test na blokování cytokineze u mikrojader

CC = sloupcová chromatografie

CCC = protiproudá chromatografie

CE, **CEQ** = ekvivalent katechinu

CE = kapilární eletroforéza s plynovou chromatografií

CGD = extrakt ze sušených zelených kávovníkových plodů

CGF = extrakt z čerstvých zelených kávovníkových plodů

CHO = vaječníky čínského křečka

CMP = po sobě jdoucí monokultury

COX-2 = cyklooxygenasa-2

CRBD = sušená kávová zrna

CRD = extrakt ze sušených červených kávovníkových plodů

CRF = extrakt z čerstvých červených kávovníkových plodů

CUPRAC = test na zjištění antioxidační kapacity redukcí měďnatých iontů

CYD = extrakt ze sušených žlutých kávovníkových plodů

CYF = extrakt z čerstvých žlutých kávovníkových plodů

DAO = diaminooxidasa

DE = extrakční metoda založená na použití horkého povrchu

DML = *Dendropanax morbifera*

DNA = deoxyribonukleotid

EDX = energiově disperzní rentgenová spektrometrie

EE = ethanolový extrakt

EI-MS = hmotnostní spektrometrie s elektronovou ionizací

ELISA = enzymová imunoanalýza na pevné fázi

ESI = elektrosprejová ionizace

EU = Evropská unie

FAB-MS = hmotnostní spektrometrie s ionizací způsobenou ostřelováním rychlými atomy

F-C = Folin-Ciocalteuova metoda, činidlo

FRAP = test na zjištění antioxidační kapacity redukcí železitých iontů

FT-IR = Fourierova transformace–infračervená spektroskopie

FW = čerstvá hmotnost

GA = kyselina gallová

GAE = ekvivalent kyseliny gallové

GC = plynová chromatografie

GPx = glutathionperoxidasa

GRA1 = genotyp zeleného amarantu

HaCaT = lidské keratinocyty

HBA = hydroxybenzoové kyseliny

HCA = hydroxyskořicové kyseliny

HE = lyofilizovaný prášek s 90 % eluentu

HELa = buněčná linie cervikálního adenokarcinomu

HHDP = hexahydroxydifenyl

HP = vysoká účinnost

HPLC = vysokoúčinná kapalinová chromatografie

HPLC/DAD = vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detektorem diodového pole

HPLC-ESI-MS-MS = vysokoúčinná kapalinová chromatografie spojená s ionizací eletrosprejem a tandemovou hmotnostní spektrometrií

HPLC-MS/MS = vysokoúčinná kapalinová chrmatografie/tandemová hmotnostní spektrometrie

HPLC-PDA = vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detektorem fotodiodového pole

HRSC = test na určení schopnosti zachycovat volné radikály

HT-29, **DU-145**, **SK-MEL-5**, **MDA-MB-435** = buněčné linie lidského karcinomu

CHFR = volný radikál chlorofylu

IAA = indol-3-octová kyselina

IgA = imunoglobulin A

IL-6 = interleukin-6

IPEC-J2 = enterocyty prasete

IR = infračervená oblast

JA = jasmonáty

LC-DAD-ESI-MS = kapalinová chromatografie s detektorem diodového pole spojená s ionizací elektrosprejem a hmotnostní spektrometrií

LC-MS = kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií

LC-MS-MS = kapalinová chormatografie–tandemová hmotnostní spektrometrie

LC-ESI-MS = kapalinová chromatografie spojená s ionizací elektrosprejem a hmotnostní spektrometrií

LC-ESI-Q-TOF-MS = kapalinová chromatografie spojená s ionizací elektrosprejem s kvadrupólovým analyzátorem doby letu a hmotnostním spektrometrem

LC-TOF-MS = kapalinová chromatografie s analyzátorem doby letu a hmotnostním spektrometrem

LDL = lipoprotein o nízké hustotě

LE = lyofilizovaný prášek s 10 % eluentu

LHC = fotosystém

LPS = lipopolysacharid

M = kovový

MAE = mikrovlnná extrakce

MCF7 = lidské buňky adenokarcinomu prsu

MDA-MB-231 = buňky karcinomu prsu

ME = lyofilizovaný prášek s 50 % eluentu

MRC-5 = lidské fibroblasty

MRM = monitorování vícenásobných reakcí

MS = hmotnostní spektrometrie

MTT = 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-difenyltetrazoliumbromid

NBT = nitro blue tetrazolium

NCD = nepřenosná onemocnění

NM = nekovový

NMR = nukleární magnetická rezonance

OH-DE = extrakční metoda založená na průchodu střídavého elektrického proudu zpracovávaným materiálem

OLE = extrakt z listů rostliny *Orthosiphon stamineus*

ORE = extrakt z kořenů rostliny *Orthosiphon stamineus*

ORAC = absorpční kapacita kyslíkových radikálů

OSE = extrakt ze stonků rostliny *Orthosiphon stamineus*

PAL = fenylalaninamoniaklyasa

PCA = kyselina protokatechová

PCR = polymerasová řetězová reakce

PGE-2 = prostaglandin E_2

PLE = tlaková kapalinová extrakce

PMN = polymorfonukleární leukocyty

RT-PCR = polymerasová řetězová reakce v reálném čase

QE = ekvivalent kvercetinu

r^2 = korelační koeficient

RE = ekvivalent rutinu

RP = reverzní fáze

RP-HPLC = vysokoúčinná kapalinová chromatografie na reverzní fázi

ROS = reaktivní formy kyslíku

RSM = metodika odezvy povrchu

SA = kyselina salicylová

SA-A, **SA-B**, **SA-H, SA-I**, **SA-J** = kyselina salvianolová

SAE = ekvivalent kyseliny salvianolové

SC-CO_2 = superkritický oxid uhličitý

SEM = skenovací elektronová mikroskopie

SFE = superkritická fluidní extrakce

SGD = secoisolariciresinoldiglukosid

SI = index sytosti

SOD2 = superoxiddismutasa

STB = bioreaktor s míchací nádrží

T24 = buněčná linie karcinomu močového měchýře

TAL = tyrosinamoniaklyasa

TCC = celkový obsah kumarýnů

TEAC = stanovení antioxidační kapacity ekvivalentu Troloxu

TFC = celkový obsah flavonoidů

TFIC = celkový obsah flavonolů

TG-DSC = termická analýza

TLC = tenkovrstevná chromatografie

TNF-α = tumor nekrotizující faktor α

TPC = celkový obsah fenolických látek

TPAC = celkový obsah fenolických kyselin

TPI = celkový fenolický index

$\mathbf{t_R}$= retenční čas

T–RFLP = polymorfismus délky terminálního restrikčního fragmentu

TTC = celkový obsah triterpenoidů

UHPLC = ultraúčinná kapalinová chromatografie

UPLC-QQQ-MS/MS = ultraúčinná kapalinová chromatografie ve spojení s trojitým kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem

UAE = extrakce podporovaná ultrazvukem

UV = ultrafialová oblast

UV/VIS = ultrafialová/viditelná oblast

VA13, **VA3 =** genotypy červeného amarantu

32 Použité zdroje

1. Bílková, A.: *Metodika stanovení hlavních fenolických sloučenin v genotypech jabloní s ohledem na různé podmínky skladování*. Holovousy: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský, Holovousy 2018. ISBN 978-80-87030-68-4.

2. Husain N., Gupta S.: A critical study on chemistry and distribution of phenolic compounds in plants, and their role in human health, *IOSR* . Env. Sci., Tox. Food Tech. *3*, 57 (2015).

3. Kumar N., Goel N.: Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications, Biotech. Rep. *2019*, 24.

4. Saxena M., Saxena J., Pradhan A.: Flavonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health, Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. *16(2)*, 130 (2012).

5. Opletal L.: *Přírodní látky a jejich biologická aktivita*, *svazek 3. Nutraceutika. Sekundární metabolity rostlin*, Karolinum, Praha 2016. ISBN 978-80-246-2084-8.

6. Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L.: Polyphenols: food sources and bioavailability, Am. J. Clin. Nutr. *79*, 727 (2004).

7. Del Rio D., Rodriguez-Mateos A., Spencer J. P. E., Tognolini M., Borges G., Crozier A.: Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases, Ant. Red. Sign. *18(14)*, 1818 (2013).

8. Slanina J., Táborská E.: Příjem, biologická dostupnost a metabolismus rostlinných polyfenolů u člověka, Chem. Listy *98*, 239 (2004).

9. https://apps.faf.cuni.cz/daidalea/docs/Compound/2-1-1_Fenoly_fenolicke_kyseliny.pdf [cit. 8. 12. 2020].

10. Bruneton J.: *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*, 2nd edition. Intercept, 1999. ISBN 9781898298632.

11. Klejdus B., Kubáň V.: Rostlinné fenoly v allelopatii, Chem. Listy *93*, 243 (1999).

12. Li L., Harflett C., Beale M. H., Ward J. L.: Phenolic acid, chapter in book: Shewry P. R., Ward J. L.: Analysis of Bioactive Components in Small Grain Cereals (Healthgrain Methods), Spi edition, 2010. ISBN-10:1891127705.

13. Macholán L.: *Sekundární metabolity*, Masarykova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, Brno 2003. ISBN 80-210-3068-2.

14. Ryan D., Antolovich M., Prenzler P., Robards K., Lavee S.: Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea* L., Sci. Hort. *1678* (2001).

15. Hess D.: *Fyziologie rostlin*, Academia, Praha 1983.

16. Chohra D., Ferchichi L., Cakmak Y. S., Zengin Z., Alsheikh S. M.: Phenolic profiles, antioxidant activities and enzyme inhibitory effects of an Algerian medicinal plant (*Clematis cirrhosa* L.), S. Afr. J. Bot. *132*, 164 (2020).

17. Shang, W., Wang Z., He S., He D., Liu Y., Fu Z.: Research on the relationship between phenolic acids and rooting of tree peony (*Paeonia suffruticosa*) plantlets *in vitro*, Sci. Hort. *224*, 53 (2017).

18. Jahodář L.: *Farmakobotanika. Semenné rostliny*, Karolinum, Praha 2009. ISBN 978-80-246-1791-6.

19. Lee J., Jung J., Son S. H., Kim H. B., Noh Y. H., Min S. R., Park K. H., Kim D. S., Park S. U., Lee H. S., Kim C. Y., Kim H. S., Lee H. K., Kim H.: Profiling of the major phenolic compounds and their biosynthesis genes in *Sophora flavescens* Aiton, The Sci. W. J. *2018.*

20. Shalaby E. (ed.): *Antioxidants*, *Open acces peer-reviewed chapter Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism* by Santos-Sánchez N. F., Salas-Coronado R., Villanueva-Cañongo C., Hernández-Carlos B., IntechOpen 2019. ISBN 978-1-78923-920-1.

21. Lunić T. M., Oalđe M. M., Mandić M. R., Sabovljević A. D., Sabovljević M. S., Gašić U. M., Duletić-Laušević S. N., Božić B. D., Božić Nedeljković B. D.: Extracts characterization and *in vitro* evaluation of potential immunomodulatory activities of the moss *Hypnum cupressiforme* Hedw., Molecules *25*, 3343 (2020).

22. Dębski H., Wiczkowski W., Horbowicz M.: Effect of elicitation with iron chelate and sodium metasilicate on phenolic compounds in legume sprouts, Molecules *26*, 1345 (2021).

23. Boutaoui N., Zaiter L., Benayache F., Benayache S., Cacciagrano F., Cesa S., Secci D., Carradori S., Giusti A. M., Campestre C., Menghini L., Locatelli M.: *Artiplex mollis* Desf. aerial parts: extraction procedures secondary metabolites and color analysis, Molecules *23*, 1962 (2018).

24. Mansour R. B., Wided M. K., Cluzet S., Krisa S., Richard T., Ksouri R.: LC-MS identification and preparative HPLC isolation of *Frankenia pulverulenta* phenolics with antioxidant and neuroprotective capacities in PC12 cell line, Pharm. Bio. *55(1)*, 880 (2017).

25. Sochorova L., Prusova B., Jurikova T., Mlcek J., Adamkova A., Baron M., Sochor J.: The study of antioxidant components in grape seeds, Molecules *25*, 3736 (2020).

26. Ray S., Mishra S., Bisen K., Singh S., Sarma B. K., Singh H. B.: Modulation in phenolic root exudate profile of *Abelmoschus esculentus* expressing activation of defense pathway, Micr. Res. *207*, 100 (2018).

27. BenSaad L. A., Kim K. H., Quah Ch. Ch., Kim W. R., Shahimi M.: Anti-inflammatory potential of ellagic acid, gallic acid and punicalagin A&B isolated from *Punica granatum*, BMC Comp. Altr. Med. *17*, 47 (2017).

28. Sarker U., Oba S.: Antioxidant constituents of three selected red and green color *Amaranthus* leafy vegetable, Sci. Rep. *9*, 18233 (2019).

29. Khan A. K., Rashid R., Fatima N., Mahmood S., Mir S., Khan S., Jabeen N., Murtaza G.: Pharmacological activities of protocatechuic acid, Act. Pol. Pharm. – Drug Res. *72(4)*, 643 (2015).

30. Elansary H. O., Szopa A., Kubica P., Al-Mana F. A, Mahmoud E. A., Ali Zin El-Abedin T. K., Mattar M. A., Ekiert H.: Phenolic compounds of *Catalpa speciosa*, *Taxus cuspidata*, and *Magnolia acuminata* have antioxidant and anticancer aktivity, Molecules *24*, 412 (2019).

31. Hori K., Watanabe T., Devkota H. P.: Phenolic acid derivates, flavonoids and other bioactive compounds from the leaves of *Cardiocrinum cordatum* (Thumb.) Makino (Liliaceae), Plants *10*, 320 (2021).

32. Kubica P., Szopa A., Kokotkiewicz A., a kol.: Production of verbascoside, isoverbascoside and phenolic acids in callus, suspension, and bioreactor cultures of *Verbena officinalis* and biological properties of biomass extracts, Molecules *25*, 5609 (2020).

33. Li Y., Guo S., Zhu Y., Yan H., Qian D., Wang H., Yu J., Duan J.: Flowers of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* as a novel high potential by-product: Phytochemical characterization and antioxidant activity, Molecules *24*, 434 (2019).

34. Ciulu M., Cádiz-Gurrea M. de la L., Segura-Carretero A.: Extraction and analysis of phenolic compounds in rice: a review, Molecules *23*, 2890 (2018).

35. Nowak S., Rychlińska I.: Phenolic acids in the flowers and leaves of *Grindelia robusta* Nutt. and *Grindelia squarrosa* Dun. (Asteraceae), Act. Pol. Pharm. – Drug Res. *69(4)*, 693 (2012).

36. Wu L., Wang J., Huang W., Wu H., Chen J., Yang Y., Zhang Z., Lin W.: Plant-microbe rhizosphere interactions mediated by *Rehmannia glutinosa* root exudates under consecutive monoculture, Sci. Rep. *5*, 15871 (2015).

37. Jiang X., Liu Y., Li W., a kol.: Tissue-specific, development-dependent phenolic compounds accumulation profile and gene expression pattern in tea plant [*Camellia sinensis]*, PLoS ONE *8(4)* (2013).

38. Aguilar-Hernández G., García-Magaña M. de L., Vivar-Vera M. de los Á., a kol.: Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Annona muricata* by-products nad pulp, Molecules *24*, 904 (2019).

39. Fursenco C., Calalb T., Uncu L., Dinu M., Ancuceanu R.: *Solidago virgaurea* L.: A review of its ethnomedicinal uses, phytochemistry, and pharmacological activities, Biomolecules *10*, 1619 (2020).

40. Elansary H. O., Szopa A., Klimek-Szczykutowicz M., Jafernik K., Ekiert H., Mahmoud E. A., Abdelmoneim Barakat A., El-Ansary D. O.: Mammillaria species–polyphenols studies and anti-cancer, anti-oxidant, and anti-bacterial activities, Molecules *25*, 131 (2020).

41. Sitarek P., Skała E, Wysokińska H., Wielanek M., Szemraj J., Toma M., Śliwiński T.: The effect of *Leonurus sibiricus* plant extracts on stimulating repair and protective activity against oxidative DNA damage in CHO cells and content of phenolic compounds, Oxid. Med. Cell. Long., *2016*.

42. Moacă E. A., Pavel I. Z., Danciu C., a kol.: Romanian wormwood (*Artemisia absinthium* L.): physicochemical and nutraceutical screening, Molecules *24*, 3087 (2019).

43. Jahodář L.: *Léčivé rostliny v současné medicíně (co Mattioli ještě nevěděl)*, Havlíček Brain Team, Praha 2010. ISBN 978-80-87109-22-9.

44. Akyol H., Riciputi Y., Capanoglu E., Caboni M. F., Verardo V.: Phenolic compounds in the potato and its byproducts: an overview, Int. J. Mol. Sci. *17*, 835 (2016).

45. Sidor A., Gramza-Michałowska A.: Black chokeberry *Aronia melanocarpa* L. – a qualitative composition, phenolic profile and antioxidant potential, Molecules *24*, 3710 (2019).

46. Ștefănescu B. E., Szabo K., Mocan A., Crişan G.: Phenolic compounds from five Ericaceae species leaves and their related bioavailability and health benefits, Molecules *24*, 2046 (2019).

47. Li H. Y., Yuan Q., Yang Y. L., Han Q. H., He J. L., Zhao L., Zhang Q., Liu S. X., Lin D. R., Wu D. T., Qin W.: Phenolic profiles, antioxidant capacities, and inhibitory effects on digestive enzymes of different kiwifruits, Molecules *23*, 2957 (2018).

48. Ghendov-Mosanu A., Cristea E., Patras A., a kol.: Potential application of *Hippophae rhamnoides* in wheat bread production, Molecules *25*, 1272 (2020).

49. Duangjai A., Nuengchamnong N., Suphrom N., Trisat K., Limpeanchob N., Saokaew S.: Potential of coffee fruit extract and quinic acid on adipogenesis and lipolysis in 3T3-L1 adipocytes, Kobe J. Med. Sci. *64(3)*, 84 (2018).

50. Dziedzic K., Górecka D., Szwengiel A., Sulewska H., Kreft I., Gujska E., Walkowiak J.: The content of dietary fibre and polyphenols in morphological parts of buckwheat (*Fagopyrum tataricum*), Pl. F. Hum. Nutr. *73*, 82 (2018).

51. Polumackanycz M., Sledzinski T., Goyke E., Wesolowski M., Viapiana A.: A comparative study on the phenolic composition and biological activities of *Morus alba* L. commercial samples, Molecules *24*, 3082 (2019).

52. Grujičić D., Marković A., Tubić Vukajlović J., a kol.: Genotoxic and cytotoxic properties of two medical plants (*Teucrium arduini* L. and *Teucrium flavum* L.) in relation to their polyphenolic contents, Mutat. Res. Gen. Tox. En. *852* (2020).

53. Kulczyński B., Gramza-Michałowska A.: The profile of secondary metabolites and other bioactive compounds in *Cucurbita pepo* L. and *Cucurbita moschata* pumpkin cultivars, Molecules *24*, 2945 (2019).

54. Fecker R., Buda V., Alexa E., a kol.: Phytochemical and biological screening of *Oenothera biennis* L. hydroalcoholic extract, Biomolecules *10*, 818 (2020).

55. Knez Hrnčič M., Ivanovski M., Cör D., Knez Ž.: Chia seeds (*Salvia hispanica* L.): an overview – phytochemical profile, isolation methods, and application, Molecules *25*, 11 (2020).

56. Dziedzinski M., Kobus-Cisowska J., Szymanowska D., Stuper-Szablewska K., Baranowska M.: Identification of polyphenols from coniferous shoots as natural antioxidants and antimicrobial compounds, Molecules *25*, 3527 (2020).

57. Eom T., Ko G., Kim C. K., Kim J., Unno T.: *Dendropanax morbifera* leaf extracts improved alcohol liver injury in association with changes in the gut microbiota of fats, Antioxidants *9*, 911 (2020).

58. Muszińska E., Tokarz K. M., Dziurka M., Labudda M., Dziurka K., Tokarz B.: Photosynthetic apparatus efficiency, phenolic acid profiling and pattern of chosen phytohormones in pseudometallophyte *Allysum montanum*, Sci. Rep. *11*, 4135 (2021).

59. Khajehei F., Niakousari M., Damyeh M. S., Merkt N., Claupein W., Graeff-Hoenninger S.: Impact of ohmic-assisted decoction on bioactive components extracted from Yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp.) leaves: comparison with conventional decoction, Molecules *22*, 2043 (2017).

60. Du Y., Wang Z., Wang L., Gao M., Wang L., Gan Ch., Yang C.: Simultaneous determination of seven phenolic acids in rat plasma using UHPLC-ESI-MS/MS after oral administration of *Echinacea purpurea* extract, Molecules *22*, 1494 (2017).

61. Gutiérrez-Grijalva E. P., Picos-Salas M. A., Leyva-López N., Criollo-Mendoza M. S., Vazquez-Olivo G., Heredia J. B.: Flavonoids and phenolic acids from oregano: occurrence, biological activity and health benefits, Plants *7*, 2 (2018).

62. Habtemariam Solomon: Molecular pharmacology of rosmarinic and salvianolic acids: potential seeds for Alzheimer´s and vascular dementia drugs, Int. J. Mol. Sci. *19*, 458 (2018).

63. Cai X., Xiao C., Xue H., Xiong H., Hang Y., Xu J., Lu Y.: A comparative study of the antioxidant and intestinal protective effects of extracts from different parts of Java tea (*Orthosiphon stamineus*), Food Sci. Nutr. *6*, 579 (2018).

64. Zhao L., Ji Z., Li K., Wang B., Zeng Y., Tian S.: HPLC-DAD analysis of *Hyssopus cuspidatus* Borris extract and mensuration of its antioxygenation property, BMC Comp. Med. Ther. *20*, 228 (2020).

65. Zhang B., Cai J., Duan C. Q., Reeves M. J., He F.: A review of polyphenolics in oak woods, Int. J. Mol. Sci. *16*, 6978 (2015).

66. Lin J. T., Liu S. C., Kuo L. C., Yang D. J.: Composition of phenolic compounds and antioxidant attributes of *Cyclea gracillima* Diels extracts, J. F. Dr. An. *26*, 193 (2018).

67. Topcagic A., Zeljkovic S. C., Karalija E., Galijasevic S., Sofic E.: Evaluation of phenolic profile, enzyme inhibitory and antimicrobial activities of *Nigella sativa* L. seed extracts, Bosn J. Bas. Med. Sci. *17(4)*, 286 (2017).

68. Mohamed Z. A., Eliaser E. M., Mazzon E., Rollin P., Ee G. C. L., Razis A. F. A.: Neuroprotective potential of secondary metabolites from *Melicope lunu-ankenda* (Rutaceae), Molecules *24*, 3109 (2019).

69. Li Z., Lee H. W., Liang X., Liang D., Wang Q., Huang D., Ong C. N.: Profiling of phenolic compounds and antioxidant aktivity of 12 cruciferous vegetables, Molecules 23, 1139 (2018).

70. Wang X., Wang S., Huang S., Zhang L., Ge Z., Sun L., Zong W.: Purification of polyphenols from distiller´s grains by macroporous resin and analysis of the polyphenolic components, Molecules *24*, 1284 (2019).

71. Herchi W., Arráez-Román D., Trabelsi H., Bouali I., Boukhchina S., Kallel H., Segura-Carretero A., Fernández-Gutierrez A.: Phenolic compounds in flaxseed: a review of their properties and analytical methods. An overview of the last decade, J. Oleo Sci. *63(1)*, 7 (2014).

72. Azad M. O. K., Jeong D. I., Adnan M., a kol.: Effect of different processing methods on the accumulation of the phenolic compounds and antioxidant profile of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) flour, Foods *8*, 230 (2019).

73. Wang H., Qiu C., Chen L., Abbasi A. M., Guo X., Liu R. H.: Comparative study of phenolic profiles, antioxidant and antiproliferative activities in different vegetative parts of ramie (*Boehmeria nivea* L.), Molecules *24*, 1551 (2019).

74. Multari S., Pihlava J. M., Ollennu-Chuasam P., Hietaniemi V., Yang B., Suomela J. P.: Identification and quantification of avenanthramides and free and bound phenolic acids in eight cultivars of husked oat (*Avena sativa* L.) from Finland, J. Agr. Food Chem. *66*, 2900 (2018).

75. Alam N., Hossain M., Khalil M. I., Moniruzzaman M., Sulaiman S. A., Gan S. H.: High catechin concentrations detected in *Withania somnifera* (ashwagandha) by high performance liquid chromatography analysis, BMC Comp. Alt. Med. *11*, 65 (2011).

76. Polumackanycz M., Kaszuba M., Konopacka A., Marzec-Wróblewska U., Wesolowski M., Waleron K., Buciński A., Viapiana A.: Phenolic composition and biological properties of wild and commercial dog rose fruits and leaves, Molecules *25*, 5272 (2020).

77. Capasso R., Cristinzio G., Evidente A., Scognamiglio F.: Isolation, spectroscopy and selective phytotoxic effects of polyphenols from vegetable waste waters, Phytochemistry *31(12)*, 4125 (1992).

78. Sun S., Liu M., He J., Li K., Zhang X., Yin G.: Identification and determination of seven phenolic acids in brazilian green propolis by UPLC-ESI-QTOF-MS and HPLC, Molecules *24*, 1791 (2019).

79. Pourová J., Najmanová I., Vopršalová M. a kol.: Two flavonoid metabolites, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid and 4-methylcatechol, relax arteries *ex vivo* and decrease blood pressure *in vivo*, Vasc. Pharm. *111*, 36 (2018).

80. Najmanová I., Pourová J., Mladěnka P.: A mixture of phenolic metabolites of quercetin can decrease elevated blood pressure of spontaneously hypertensive rats even in low doses, Nutrients *12*, 213 (2020).

81. Applová L., Karlíčková J., Warncke P. a kol.: 4-methylcatechol, a flavonoid metabolite with potent antiplatelet effects, Mol. Nutr. F. Res. *63(20)* (2019).

82. https://vuzv.cz/wp-content/uploads/2018/03/Mykotoxiny-studie-2012-1.pdf [cit. 11. 8. 2021].

83. *Český lékopis 2017,* 4. díl, MZ ČR, Grada Publishing a. s., 2017. ISBN 8027105005.

84. https://www.lekynadosah.cz/rhodiola-essense-bio-cps-60~z2682954.html [cit. 11. 8. 2021].

85. https://www.profidoplnkystravy.cz/doplnky-stravy/mycomedica-acerola-90-cps [cit. 11. 8. 2021].

Všechny vzorce jsem nakreslila v programu ChemSketch.