

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA
V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA FARMAKOGNOZIE

LENKA DVOŘÁKOVÁ

KVALITA DOPLŇKŮ STRAVY S OBSAHEM ŠIŠÁKU
BAJKALSKÉHO

Vedoucí katedry: Doc. RNDr. Jaroslav Dušek, CSc.

Vedoucí rigorózní práce: PharmDr. Jan Martin, Ph.D.

Oponent:

Datum zadání: 17.6.2010

Datum odevzdání:

Datum obhajoby:

Prohlašuji, že tuto rigorózní práci jsem vypracovala samostatně a pod vedením vedoucího rigorózní práce. Použitá odborná literatura a další informační zdroje jsou citovány a uvedeny v seznamu literatury na konci této práce.

Děkuji celému kolektivu katedry farmakognozie za kolegiální chování, cenné rady a ochotu pomoci při vzniku této rigorózní práce.

Lenka Dvořáková

OBSAH

1. ÚVOD.....	6
2. CÍL PRÁCE.....	7
3. TEORETICKÁ ČÁST.....	8
3.1. Doplnky stravy.....	8
3.1.1. Co jsou doplňky stravy.....	8
3.1.2. Údaje na etiketě.....	9
3.1.3. Seznam alergenních složek.....	10
3.1.4. Uvádění doplňků stravy na trh v ČR.....	10
3.1.5. Novel food.....	11
3.1.6. Rozdíly mezi doplňkem stravy a léčivým přípravkem.....	14
3.2. Flavonoidy.....	15
3.2.1. Chemické vlastnosti.....	15
3.2.2. Terapeutické využití.....	16
3.2.3. Terapeuticky významní zástupci.....	16
3.2.4. Biosyntéza flavonoidů.....	18
3.3. Rod <i>Scutellaria</i>	20
3.3.1. Rod <i>Scutellaria</i>	20
3.3.2. <i>Scutellaria baicalensis</i> - šišák bajkalský.....	20
3.3.3. Fytochemie rodu <i>Scutellaria</i>	22
3.3.4. Využití <i>Scutellaria baicalensis</i>	24
3.3.5. Vědecky potvrzené účinky rodu <i>Scutellaria</i>	25
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	31
4.1. Použité chemikálie a přístroje.....	31
4.1.1. Chemikálie.....	31
4.1.2. Zkoumané materiály a přípravky.....	31
4.1.3. Přístroje.....	32
4.2. Příprava vzorků.....	32
4.3. Ztráta sušením.....	34

4.4.	HPLC analýza.....	34
4.4.1.	HPLC analýza baicalinu a baicaleinu.....	34
4.4.2.	HPLC analýza ostatních flavonoidů.....	35
4.4.3.	Validace HPLC analýzy.....	39
4.5.	Statistické zpracování výsledků.....	40
4.6.	Informace o přípravcích uváděná výrobcem.....	41
4.6.1.	Silymarin Duo.....	41
4.6.2.	Koenzymfit Plus.....	44
4.6.3.	Ferimun.....	46
4.6.4.	Silymar Plus.....	48
4.6.5.	Hepamar.....	50
4.6.6.	Valecaps Plus.....	52
4.6.7.	Arthrorevital Complex.....	54
5.	VÝSLEDKY.....	56
5.1.	Vyhodnocení jednotlivých vzorků.....	57
5.1.1.	Silymarin Duo.....	57
5.1.2.	Koenzymfit Plus.....	58
5.1.3.	Ferimun.....	59
5.1.4.	Silymar Plus.....	60
5.1.5.	Hepamar.....	61
5.1.6.	Valecaps Plus.....	62
5.1.7.	Arthrorevital Complex.....	63
5.2.	Souhrnné vyhodnocení.....	64
6.	DISKUZE.....	66
7.	ZÁVĚR.....	71
8.	LITERATURA.....	73
9.	ABSTRAKT.....	78
10.	OBRAZOVÁ PŘÍLOHA.....	80

1. ÚVOD

Na českém trhu se v současné době vyskytuje stále rostoucí množství doplňků stravy, tedy potravin, které příznivě ovlivňují zdravotní stav lidí. Před uvedením těchto výrobků na trh ČR se posuzuje pouze jejich zdravotní nezávadnost, nikoliv účinnost. Z toho plyne předpoklad, že jejich dlouhodobé užívání by nemělo vést k poškození zdraví.

Na doplňcích bývá uváděno, že účinky byly prokázány v klinických studiích. K tomuto tvrzení je však nutno přistupovat s opatrností. Výrobce se často odkazuje na studie prováděné mimo živý organismus nebo na studie prováděné sice na pacientech, avšak tyto studie jsou obtížně objektivně hodnotitelné, jelikož na ně nejsou kladena taková kritéria jako pro klinická hodnocení léčivých přípravků.⁹⁾

Užívání doplňků stravy se v posledních letech postupně rozšířilo do všech věkových skupin. Nejvýraznějšími důvody jsou potlačení procesu stárnutí, zlepšení regenerace organismu, zvýšení výkonnosti, redukce nepříznivých účinků životního prostředí a prevence mnoha civilizačních nemocí. Výrazným faktorem je i vliv reklamy a v neposlední době se do této problematiky začínají zapojovat i lékaři. Na doplňky stravy jsou kladeny stále přísnější legislativní požadavky. Každý doplněk by měl mít na obalu uvedeny možné alergenů, vhodnost použití v období těhotenství a laktace, dále riziková onemocnění, při nichž není užívání doplňků vhodné.

Doplňky stravy jsou jednoduchým řešením mnoha nedostatků v organismu. Začnou obvykle působit tehdy, je-li v organismu určité látky nedostatek nebo chybí úplně. To se obvykle pozná nejpозději za jeden měsíc od počátku užívání. Vliv na subjektivní posouzení účinnosti má i vlastní osobní zkušenost.⁶⁾

Nelékárenské prodeje doplňků stravy se nikde systematicky neevidují, ale podle odhadů nebudou příliš pod hranicí 10 % z celkového prodeje.¹³⁾ Oproti tomu v lékárnách tento obrat činí asi 35 %.

2. CÍL PRÁCE

Tato rigorózní práce s názvem „Kvalita doplňků stravy s obsahem šišáku bajkalského“ se zabývá tématem zjištění procentuálního zastoupení hlavních flavonoidů ze *Scutellaria baicalensis* a dalších rostlin v hodnocených polykomponentních přípravcích, jež existují na území ČR.

Cílem práce bylo:

- práce měla rozšířit diplomovou práci Lenky Dvořákové s názvem: „Obsah flavonoidů v komerčně dostupných přípravcích s obsahem šišáku bajkalského“, obhájené v roce 2010, o další přípravky obsahující šišák bajkalský
- byl zkoumán obsah vybraných flavonoidů u zvolených doplňků stravy
- vyhodnotit kvalitu přípravků na základě obsahových látek, doporučeného dávkování, indikace a dalších informací dodávaných spolu s přípravkem

3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1. Doplnky stravy

3.1.1. Co jsou doplňky stravy (DS):

Definice jsou uvedeny v zákoně o potravinách¹⁾ a ve směrnici EU.²⁾

a)

„Doplňkem stravy je potravina, jejímž účelem je doplňovat běžnou stravu a která je koncentrovaným zdrojem vitaminů a minerálních látek nebo dalších látek s nutričním nebo fyziologickým účinkem, obsažených v potravine samostatně nebo v kombinaci, určená k přímé spotřebě v malých odměřených množstvích“.¹⁾

b)

„Doplňky stravy jsou potraviny, jejichž účelem je doplňovat běžnou stravu a které jsou koncentrovanými zdroji živin nebo jiných látek s výživovým nebo fyziologickým účinkem, samostatně nebo v kombinaci, jsou uváděny na trh ve formě dávek, a to ve formě tobolek, pastilek, tablet, pilulek a v jiných podobných formách, dále ve formě sypké, jako kapalina v lahvičkách s kapátkem a v jiných podobných formách kapalných nebo sypkých výrobků určených k příjmu v malých odměřených množstvích“.²⁾

Pro výrobu doplňků stravy lze použít pouze složky schválené Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA - The European Food Safety Authority).³⁾

Potravní doplňky jsou nutriční faktory (vitamíny, aminokyseliny, specifické mastné kyseliny, minerální látky) s významným biologickým účinkem. Z toho vyplývá, že doplněk stravy obsahuje jeden nebo více potravních doplňků, tyto složky jsou přítomny i v běžných potravinách.³⁾

Parafarmaceutika je pojem, se kterým se setkáváme hlavně v lékárnách, označuje potraviny pro zvláštní účely, doplňky stravy, léčebnou kosmetiku a čaje. Kritéria zařazení do této databáze nejsou exaktně určena. Základním vodítkem je potenciální sortiment lékárny.³⁻⁵⁾

3.1.2. Údaje na etiketě:

- registrovaný obchodní název a stručná charakteristika doplňku
- označení, že se jedná o doplněk stravy
- léková forma, velikost balení
- název výrobce a základní informace o něm
- obsah hlavních účinných látek v jednotce balení, ve 100 g, v DDD (doporučené denní dávce)
- DDD pro dospělého člověka s průměrnou hmotností
- údaj o obsahu cukru, popřípadě dalších živin včetně energetické hodnoty v kJ nebo kcal
- pokud je uveden obsah bílkovin, je nutno uvést původ
- pokud je při výrobě použito mléko, je nutno uvést obsah laktózy potažmo upozornění o laxativním účinku
- údaje o složení pomocných látek (stabilizátory, barviva, plniva)
- údaje o obsahu případných alergenů
- rizikové skupiny - zda je doplněk také určen dětem a od jakého věku, respektive zda je ho možno užívat v době těhotenství a laktace
- návod na uskladnění
- datum expirace
- čárový kód výrobku, identifikační číslo
- údaj o recyklovatelnosti obalu^{6,7)}

3.1.3. Seznam alergenních složek:

- obiloviny obsahující lepek (tj. pšenice, žito, ječmen, oves, pšenice) a výrobky z nich
- koryši a výrobky z nich
- vejce a výrobky z nich s výjimkou lysozymu (získaného z vajec)
- ryby a výrobky z nich
- jádra podzemnice olejné (arašídý) a výrobky z nich
- sójové boby (sója) a výrobky z nich
- mléko a výrobky z něj (včetně laktózy)
- suché skořápkové plody, tj. mandle, lískové ořechy, vlašské ořechy, kešu ořechy, para ořechy, pistácie a výrobky z nich s výjimkou destilátů z nich vyrobených
- celer a výrobky z něj s výjimkou silice z listů a semen
- hořčice a výrobky z ní s výjimkou oleje a silice
- sezamová semena (sezam) a výrobky z nich
- oxid siřičitý a siřičitany v koncentracích vyšších než 10 mg/kg nebo 10 mg/l ⁸⁾

3.1.4. Uvádění doplňků stravy na trh v ČR:

V devadesátých letech minulého století bylo nutné, aby všechny doplňky stravy uvedené do oběhu v ČR, ať vyráběné nebo dovážené, měly schválení Ministerstva zdravotnictví (MZd). Toto schválení mělo formu tzv. rozhodnutí HEM, které bylo ve většině případů vydáno s neomezenou platností.³⁾

Postupně docházelo ke zjednodušení systému díky zpracování směrnic z EU, mezníkem byla vyhláška č. 446/2004 Sb. (dnes nahrazena č. 352/2009 Sb.), podle níž bylo nutné schválení na MZd jen u těch doplňků, jež nebyly součástí této vyhlášky. Rozhodnutí bylo vydáno na dobu určitou a to nejdéle do 31.12.2009. Ostatní doplňky stravy se MZd pouze oznamovaly formou zaslání etikety. Plnou odpovědnost za to, zda-li je DS bezpečný a správně deklarovaný, nese fyzická nebo právnická osoba, která DS uvádí do oběhu.³⁾

Povinností zůstává každý DS oznamovat (notifikovat) formou zaslání etikety na MZd, odbor ochrany veřejného zdraví (OVZ). Všechna oznámení zaznamenává MZd na webových stránkách „Registr rozhodnutí hlavního hygienika“ (RoHy). Zde se dá ověřit zaregistrování DS, včetně základních parametrů (název DS, výrobce, platnost rozhodnutí).^{3,83)}

MZd prostřednictvím Státního zdravotního ústavu posuzuje, zda-li jsou údaje na etiketě v pořádku, obsažené složky a doporučené dávkování je bezpečné. Pokud je některá ze složek nevhodná či nebezpečná do DS, nebo se jedná dokonce o látku omamnou či psychotropní a v neposlední řadě se jedná o tzv. novel food, je nutno informovat přímo Českou zemědělskou a potravinářskou inspekci, která zajistí kontrolu a stanoví příslušná opatření.^{3,10)}

Od 15.5.1997 platí v EU Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 258/1997, které definitivně stanovuje, co jsou to tzv. potraviny nového typu (novel food). Pro Českou republiku je závazné datum 1.5.2005. Tyto potraviny nesmějí představovat nebezpečí pro spotřebitele, z důvodu bezpečnosti je vypracováván seznam pracovní skupinou CAFAB (Component Authority and Food Assessment Bodies) členských států. Do oběhu lze uvádět jen takové novel food, pro něž bylo vydáno souhlasné rozhodnutí Evropskou komisí.^{3,12)}

Pokud výrobce požaduje, aby jeho DS byl schválen jako vhodný pro určitou skupinu, je nutné k žádosti na MZd ČR přiložit:

- vyjádření znalce - diabetologa, pokud má být DS označen jako „vhodný pro diabetiky“
- vyjádření znalce - pediatra, pokud má být užíván dětmi do 3 let.⁶⁾

3.1.5. Novel food

Potravinami nebo složkami potravin nového typu se rozumí potraviny nebo složky, které se do 15. 5. 1997 ve významné míře nepoužívaly na území EU pro lidskou spotřebu a které patří do těchto skupin:

- potraviny obsahující novou nebo úmyslně modifikovanou základní molekulární strukturu
- potraviny, sestávající se z mikroorganismů, hub nebo řas, nebo jsou z nich izolovány
- potraviny, sestávající se nebo izolované z rostlin nebo živočichů, s výjimkou rostlin nebo živočichů získaných tradičním postupem šlechtění nebo chovu nebo rozmnožování, a které jsou považovány za zdravotně nezávadné
- potraviny vyrobené dosud nepoužívanými technologickými postupy, které vedou k významným změnám ve struktuře potraviny nebo složení, ovlivňující jejich nutriční hodnotu, metabolismus nebo obsah nežádoucích látek.¹¹⁾

Katalog potravin nového typu na stránkách EU¹²⁾ umožňuje rychlou orientaci veřejnosti v položkách, které již byly v EU posuzovány zda jsou či nejsou novel food (potraviny nového typu, PNT). Vhodné pro žadatele uvádějící PNT nebo doplňky stravy na trh v ČR/EU. Tento katalog rozděluje potraviny do čtyř kategorií:

1. kategorie:

Produkty, které se objevily před 15.5. 1997 na trhu a byly konzumovány ve velké míře. Proto jejich povolení na trh nepodléhá novele o regulaci potravin č. 258/97. Avšak jiné specifické zákony mohou omezovat umístění těchto produktů na trhu v některých členských státech. Z těchto důvodů jsou doporučeny ke kontrole národně uznávanými autoritami.

Př.:

- *Acacia senegal* (akácie senegalská, č. *Fabaceae*)
- *Agave tequilana* (agáve tequilana, č. *Asparagaceae*)
- *Carthamus tinctorius* (světlice barvířská, č. *Asteraceae*)

2.kategorie:

Podle informací dostupných uznávanými autoritami členských států byl tento produkt používán před 15.5.1997 jen jako potravní doplněk. Jakákoli potravina obsahující tento produkt musí být schválena v souladu s novelou o regulaci potravin.

Př.:

- *Boswellia serrata* (kadidlovník pilovitý, č. *Burseraceae*)
- *Rosa moschata* (růže mošusová, č. *Rosaceae*)
- *Pinus pinaster* (borovice přímořská, č. *Pinaceae*)

3.kategorie:

Byl dán požadavek, zda-li tento produkt vyžaduje oprávnění podle novele o regulaci potravin. Podle informací vydaných členskými státními autoritami, tento produkt nemohl být používán jako potravina či složka potravin před datem 15.5.1997. Proto před tím, než se povolí uvedení na trh v EU jako potravina či její složka, je požadováno bezpečné hodnocení podle novele o regulaci potravin.

Př.:

- *Hoodia gordonii* (hoodia, č. *Asclepiadaceae*)
- *Salvia hispanica* (šalvěj španělská, č. *Lamiaceae*)
- *Bactris major* (moukeň větší, č. *Areaceae*)

4. kategorie:

Byl dán požadavek, zda-li tento produkt vyžaduje oprávnění podle novele o regulaci potravin. Jsou požadovány další, doplňující informace.

Př.:

- *Ferula hermonis* (ločidlo, č. *Apiaceae*)
- *Ilex kudingcha* (cesmína, č. *Aquifoliaceae*)

3.1.6. Rozdíly mezi doplňkem stravy a léčivým přípravkem

Na českém trhu se v současné době vyskytuje stále rostoucí množství doplňků stravy, které se svým složením, vzhledem a charakterem informací uváděných na obalu nebo v příbalové informaci často podobají léčivým přípravkům. Mnohé doplňky stravy totiž mají podobné složení jako léčivé přípravky (multivitaminy, glukosamin aj.) a také často deklarují zlepšení zdravotního stavu, popř. předcházení různým onemocněním. Běžný spotřebitel tak není schopen rozeznat druh nabízeného výrobku a posoudit spolehlivost informací uváděných výrobcem. Nejen v ČR, ale i v celé EU existují pravidla, podle kterých jsou schvalovány léky (v ČR zákon o léčivu) a předpisy, podle kterých jsou uváděny do oběhu potraviny - tedy i doplňky stravy. Léky a léčivé přípravky jsou schvalovány státním ústavem pro kontrolu léčiv (SÚKL), doplňky stravy jako potraviny podléhají předpisům o potravinách. Rozsah požadavků nutných k tomu, aby byl DS uveden do oběhu je výrazně užší než je nutno k registraci léku.^{3,28)}

Níže uvádím základní pravidla pro rozlišení doplňku stravy a léčivého přípravku:

1. Na obalu doplňku stravy musí být podle právních předpisů uvedeno označení **„doplňěk stravy“**.
2. U některých doplňků stravy se lze setkat s tzv. číslem HEM, které někteří výrobci dosud uvádí na obalu těchto výrobků. Jedná se o jednacím číslo rozhodnutí, pod kterým byl pro daný výrobek v minulosti vydán Ministerstvem zdravotnictví ČR souhlas s uváděním výrobku do oběhu jako potraviny.
3. Na obalu a v příbalové informaci léčivého přípravku, kterému byla v rámci registračního řízení udělena registrace, musí být podle právních předpisů uvedeno tzv. **registrační číslo**.

Struktura registračního čísla závisí na tom, zda byl léčivý přípravek zaregistrován pouze v České republice (tzv. národní registrace, vydává SÚKL), nebo zda se jedná o

tzv. centralizovanou registraci s platností ve všech členských státech Evropské unie (přiděluje EMEA - European Medicines Agency - evropská léková agentura).^{3,28)}

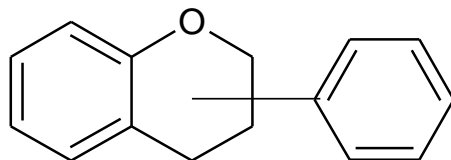
3.2. Flavonoidy

3.2.1. Chemické vlastnosti

Flavonoidní glykosidy (flavonoidy) jsou deriváty fenylochromanu. Základem je chroman, jenž je arylován v poloze:

- 2, jde o flavan
- 3, jde o isoflavan
- 4, jde o neoflavan.

Obrázek č. 1: Základní struktura flavonoidů



Flavonoidy se vyskytují jen v rostlinné říši, kde jsou hojně rozšířeny v květech a v plodech. Nejčastěji se jedná o flavany, naopak neoflavany se objevují výjimečně a v terapii se nepoužívají. Jednotlivé flavonoidy se od sebe liší počtem a polohou hydroxylových a methoxylových skupin.

Deriváty flavanu:

Flavany patří v přírodě k velmi rozšířeným látkám v cévnatých rostlinách, podle stupně oxidace pyranového kruhu se dělí do několika skupin:

- flavony (apigenin, luteolin, diosmetin)
- flavonoly (kempferol, kvercetin, myricetin)
- flavanony (naringenin, hesperetin).

Flavonoidy (často označované jako bioflavonoidy pro všeobecné působení v organismu) se v rostlinách vyskytují většinou glykosidicky vázané a rozpustné v buněčné šťávě vakuol, naopak methoxyderiváty jsou lipofilní a vyskytují se v silicích. V živém organismu jsou pravděpodobně zapojené do oxidačně-redukčních procesů.^{16,17)}

3.2.2. Terapeutické využití

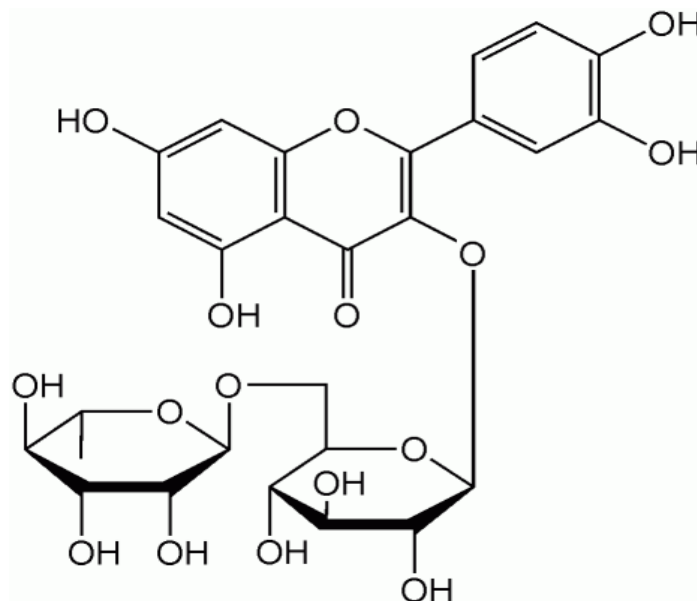
Terapeutické využití je podmíněno schopností normalizovat permeabilitu kapilár, odstraňovat jejich lámavost, působit antihemoragicky a antiedematózně. Dále se jedná o inhibitory hyaluronidázy, čímž brání šíření mikrobiálních toxinů v organismu, čehož se využívá jako podpůrných prostředků při infekčním onemocnění. Některé flavonoidy působí diuretický, vasodilatačně, snižují krevní tlak. S Ca^{2+} ionty tvoří komplexní soli, čímž brání srážení krve. Mají schopnost zadržovat v organismu vápník, potencují účinek vitamínu C a mají vlastnosti spasmolytické, cholagogické a choleretické. Účinné jsou glykosidy i aglykony, užívají se v izolovaném stavu (rutin, hesperidin), častěji ale jako drogy anebo jejich extrakty.¹⁶⁾

3.2.3. Terapeuticky významní zástupci

Rutin (synonymum: kvercetin-3-rhamnoglukosid)

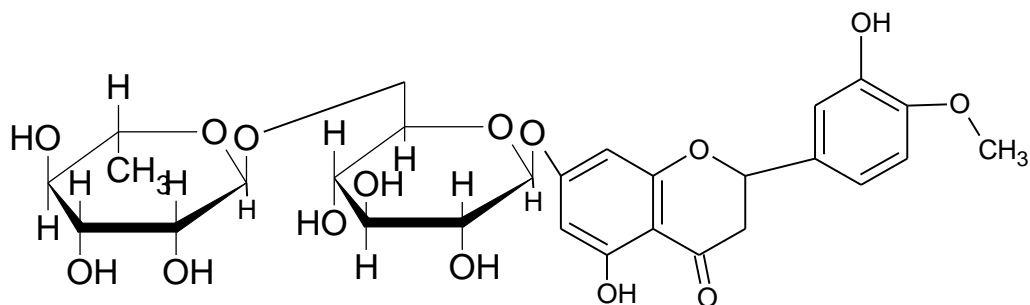
Název pochází od routy vonné, z níž byl poprvé izolován (m.r. *Ruta graveolens*, č. *Rutaceae*). Získáván je však hlavně z pohanky (m.r. *Fagopyrum vulgare*, *Fagopyrum tataricum*, č. *Polygonaceae*) kde se vyskytuje v koncentraci 1-2 %, dalším významným zdrojem je jerlín japonský (m.r. *Sophora japonica*, č. *Fabaceae*), kde je obsažen v koncentraci 2 %. Rutin se však vyskytuje v celé řadě dalších rostlin. Používá se k léčbě hemoragií, alergií, hypertenze, je součástí i popudové terapie infekčních onemocnění. Ve vyšších dávkách vyvolává závratě a zduření jazyka se salivací.^{17,18)}

Obrázek č. 2: Struktura rutinu

**Hesperidin** (synonyma: hesperitin-7-rhamnosid, citrin, vitamín P)

Tato látka má podobné, i když slabší účinky než rutin (asi 10 x). Hesperidin se izoluje z oplodí nezralých citrusových plodů, kde se nachází v koncentraci asi 8¹⁸⁾ -12 % ¹⁷⁾. Spolu s vitamínem C se užívá při lomivosti kapilár, hemoragiích a hypertenzi. Mimoto se používá jako surovina pro výrobu sladidla naringindihydrochalkonu.^{17,18)}

Obrázek č. 3: Struktura hesperidinu



Kvercitrin (synonymum: kvercetin-3-rhamnosid)

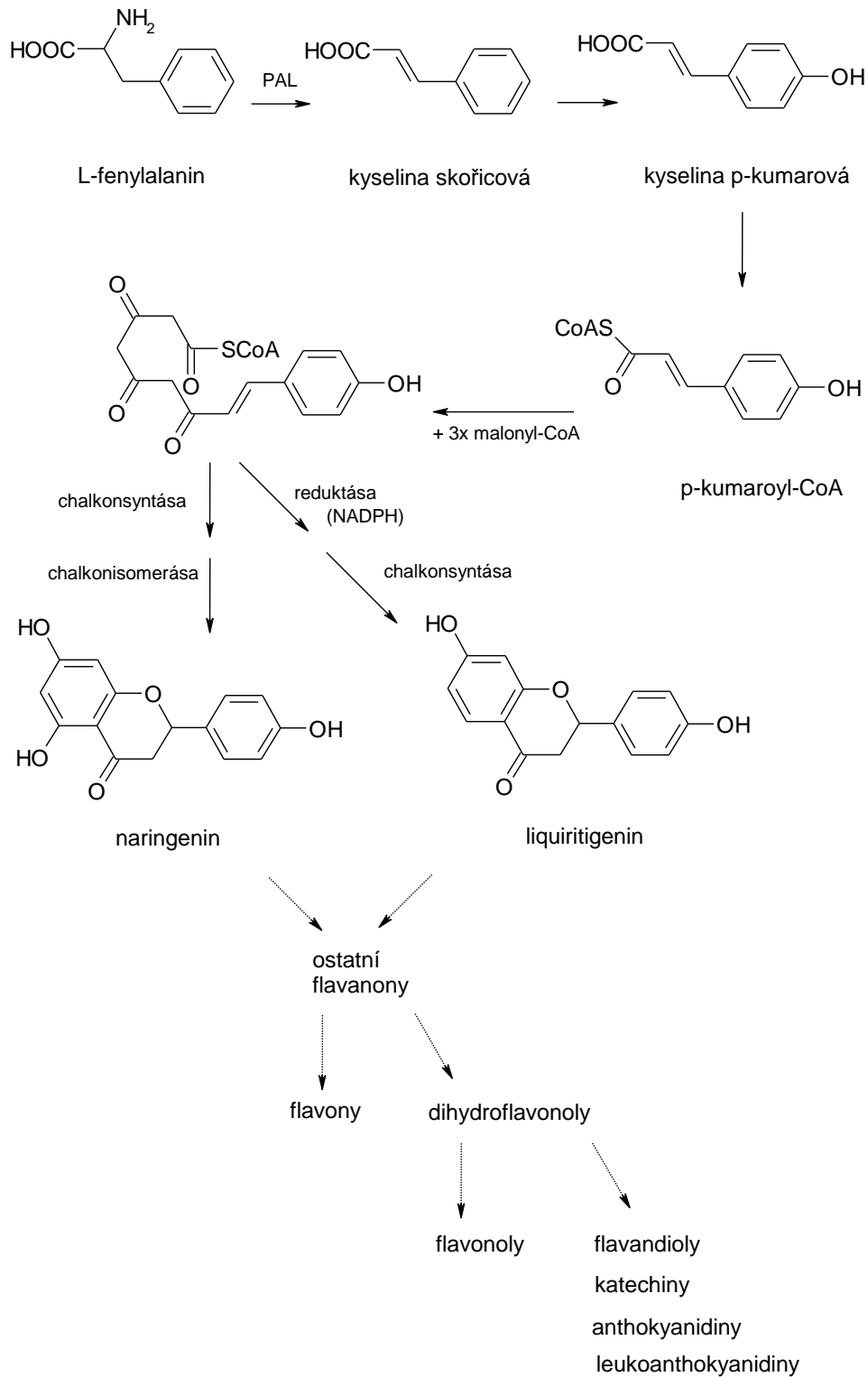
Tento zástupce se nachází ve vřesu obecném (m.r. *Calluna vulgaris*, č. *Ericaceae*) a v medvědicí lékařské (m.r. *Arctostaphylos uva-ursi*, č. *Ericaceae*), tyto zástupci obsahují také fenolový glykosid arbutin. Kvercitrin byl poprvé izolován z druhu *Quercus tinctoria*, č. *Fagaceae*.¹⁸⁾

3.2.4. Biosyntéza flavonoidů:

Základním enzymem v biosyntéze flavonoidů je **chalkon-syntáza**, která je jedním z prvních enzymů této biosyntetické dráhy a zajišťuje postupné spojování tří molekul malonyl-CoA a molekuly 4-kumaryl-CoA. Výsledkem této reakce je vznik molekuly chalkonu a z ní se pak odvozují za pomoci dalších důležitých enzymů (jako je např. chalkon-isomeráza, flavonon-3-hydroxyláza atd.) ostatní skupiny flavonoidů.¹⁹⁾

Aglykony flavonoidních glykosidů jsou produkty vznikající oběma hlavními cestami, jež vedou k syntéze aromatických látek v biologických systémech. Jeden šestiuhlíkový fragment těchto $C_6-C_3-C_6$ sloučenin se odvozuje z acetátového metabolismu a zbývající devítiuhlíková část z kyseliny šikimové. Jednotka C_6-C_3 , pravděpodobně ve formě kyseliny skořicové, se spojuje se třemi molekulami acetátu za vytvoření meziprojektu C_{15} (chalkonu), z něhož dále vzniká flavanon.

Deriváty se tvoří odstraněním nebo zavedením hydroxylových skupin. Flavanoly vznikají zavedením OH sk. do polohy 3, flavonoly vznikají dehydrogenací poloh 2 a 3. Teprve v pozdním stádiu tvorby flavonoidu nastává glykosylace.¹⁸⁾

Obrázek č. 4: Biosyntéza flavonoidů²⁰⁾

3.3. Rod *Scutellaria*

3.3.1. Rod *Scutellaria*

Rod *Scutellaria* z čeledi *Lamiaceae* zahrnuje asi 350 druhů obvykle známých jako Skullcap. ³¹⁾ Tento rod je rozšířen od oblastí mírného pásu až po tropy v Evropě, Severní Americe a východní Asii. ³²⁾ Většina zástupců jsou jednoleté nebo víceleté rostliny vysoké od 5 cm do 1 m, ale najdou se i druhy, jež jsou polokeře či dokonce vodní zástupci. Pro tento rod je charakteristický čtyřhranný stonek, vstřícné listy, bohaté modrofialové hroznovité květenství. ³³⁾

Jméno *Scutellaria* neboli „čapka“ popisuje tvar kališních lístků. Skládají se ze dvou pysků, dolní pysk je tvořen dvěma mělkými laloky a horní se skládá z víčka, v celku tak tvar připomíná středověkou miniaturní helmu. ⁵¹⁾

3.3.2. *Scutellaria baicalensis* – šišák bajkalský

Scutellaria baicalensis původně pochází z Korejského poloostrova, planě roste především ve východním Zabajkalí, v oblasti středního toku Amuru, dále se nachází v Číně, Japonsku, Mongolsku a Rusku. V Číně patří ke klasickým léčivým rostlinám. Rozšířen je hlavně na sušších, kamenitých a šterkovitých svazích, méně na písčitých stepích a březích řek, a to na přímém slunci i v polostínu. ⁷⁸⁾

Užívá se ve formě kořene (*Radix scutellariae baicalensis*, Huang quin), ³³⁾ tato droga je uvedena např. v těchto lékopisech. ³⁴⁻³⁵⁾

Kořen je kuželovitý a zkroucený nebo plochý, 5-25 cm dlouhý, jež má 0,5-3 cm v průměru. Zevně je rudohnědý s hrubým a výrazným podélným vrásněním a s rozptýlenými jizvami po postranních drobných kořenech, často se zbytky hnědého peridermu a xylému. Kořen je snadno lomivý, tříštitelný a vláknitý, ve středu je žlutohnědý. Bývá mírně hořký, bez chuti a zápachu. ^{34-36,76)}

Hmotnost dvouletých kořenů je asi 12 g, u tříletých až 23 g. Tříleté kořeny jsou nejvíce sbírané, suší se ve slabé vrstvě při teplotě do 60 °C ^{77,78)}

Stonek je vzpřímený nebo polopoléhavý, rozvětvený, řídce chlupatý a 15 až 50 cm vysoký,⁷⁸⁾ s bohatě větvenou, čtyřhrannou lodyhou, která bývá na bázi purpurově načervenalá a na vrcholu zelená.⁵²⁾

Listy jsou kopinaté, vstřícné, přisedlé a jasně zelené,⁷⁸⁾ mimoto jsou tuhé až kožovité dále křížmostojné, jednoduché a celokrajné.⁵²⁾

Šišák kvete na přelomu léta a podzimu. Květy vyrůstají ve vrcholových hroznovitých květenstvích dlouhých 7-15 cm. Kalich je dvoupyský s dutým štítkovitým šupinovitým výrůstkem (*scutellum*), který je dobře patrný i po odkvětu na plodu. Koruna je též dvoupyská. Na bázi je prohnutá vzhůru, spodní pysk je mělce dvoulaločný, horní přilbový a chlupatý.⁵²⁾ Plodem jsou tvrdky uzavřené v kalichu. Obsahují drobná a černá semena, jež jsou kulovitě až vejcovitě zploštělá.⁷⁸⁾

Obrázek č. 5: Detail rostliny a kořene ³⁷⁾



3.3.3. Fytochemie rodu *Scutellaria*

Chemické složení rodu *Scutellaria* je studováno již od roku 1889. V roce 1910, Goldschmiedt a Lerner izolovali první flavonoid scutellarein ze *Scutellaria altissima* ve Vietnamu.³⁸⁾

Z tohoto rodu bylo izolováno 295 látek zahrnující flavonoidy, iridoidní glykosidy, diterpeny, triterpeny, alkaloidy, fytosteroly, polysacharidy a další složky. U mnoha složek se potvrdila bioaktivní účinnost *in vivo* i *in vitro*.³⁷⁾

Flavonoidy:

Flavonoidy a jejich deriváty jsou hlavní obsahové látky v rodě *Scutellaria*. Bylo izolováno více než 160 složek, jež zahrnují flavony, flavonoly, flavanony, biflavonoidy, flavolignany a chalkony. Většina z nich má methoxylové a hydroxylové skupiny v různých pozicích na aromatických kruzích.³⁷⁾

Flavony a flavonoly

Mezi tyto sloučeniny patří např. baicalin, baicalein, oroxylin A, wogonin, wogonosid, apigenin a scutellarein. U těchto složek byl potvrzen účinek antitumorový, hepatoprotektivní, antioxidační, protizánětlivý, neuroprotektivní a anxiolytický. Vztah mezi strukturou a účinkem byl objasněn například u methoxylové skupiny na C₈ u wogoninu a wogonosidu, čímž dosahuje silnější inhibice vůči histaminu a IgE produkci než 3,5,7,2',6'-pentahydroxyflavanon. Na druhé straně flavanon se dvěma hydroxylovými skupinami v kruhu B dosahuje silnější aktivity než wogonin a wogonosid proti lipidové peroxidaci.³⁹⁾

Biflavonoidy

Biflavonoidy se obvykle nacházejí v nahosemenných rostlinách, ale z rodu *Scutellaria* se již podařilo izolovat dva zástupce. 8,8'-bibaiaclein z *S. discolor* a amentoflavon ze *S. linearis*.^{40,41)}

Diterpeny:

Rod *Scutellaria* je bohatý na neoclerodanové diterpenoidy, jejichž základem je heterocykl (často furan) doplněný epoxidovým můstkem a laktonem. Většina zástupců má významný účinek proti hmyzím škůdcům. Např. jodrellin A, jodrellin B a scutalbin A z *S. rubicunda subsp. rubicunda* působí proti pěti druhům motýla.⁴²⁾

Triterpeny:

V roce 1993 Zhu et al. izoloval oleananový typ triterpenoidní kyseliny, kyselinu scutellaricovou z *S. barbata*⁴⁷⁾ a v roce 2006 Miyaichi et al. izoloval kyselinu ursolicovou z listů *S. strigillosa*.⁴⁸⁾

Alkaloidy:

Zatím bylo izolováno 11 alkaloidů z *S. flavescens*. Mezi zástupce patří sophoranol, anagyrin a oxymetrin, u něhož byla prokázána účinnost proti RSV (respirační syncyriální virus, patřící mezi Paramyxoviry).⁴³⁾

Silice:

Esenciální oleje se vyskytují jen v několika zástupcích rodu *Scutellaria*. Například olej z *S. albida ssp. albida* z Řecka byl charakterizován přítomností vysokých koncentrací linaloolu (52,6 %) a *trans*-nerolidolu (9,0 %).⁴⁴⁾

Olej z *S. lateriflora* z Iránu je složen ze sesquiterpenů (78,3 %), hlavně z β -cadinenu (27,0 %) a calamenenu (15,2 %), dále α -cubebenu (4,1 %) a α -humulenu (4,2 %).⁴⁵⁾

Hlavní složky v oleji z kořenů *S. baicalensis* jsou acetofenon; (E)-4-fenyl-3-buten-2-on; 1-fenyl-1,3-butandion; palmitová a olejová kyselina.⁴⁶⁾

Kvalitativní a kvantitativní analýza

Flavonoidy jsou hlavní a vysoce účinné látky rodu *Scutellaria*. Jeden potažmo více flavonoidů je požadováno pro kvalitativní i kvantitativní analýzu. Baicalin jako hlavní flavonoid byl s nejvyšším obsahem byl monitorován spoustou zemí jako kontrola kvality rostlinných materiálů a preparátů. Například Čínské lékopisy navrhuji, že obsah baicalinu by měl být větší než 9 %. V současné době je všeobecně přijímáno, že kvalita nemůže být hodnocena na základě obsahu jediné látky, a proto bylo v roce 2002 analyzováno 6 flavonoidů ve 25 vzorcích z *S. baicalensis* od jihozápadu Ruska po severovýchod Číny pomocí HPLC s cílem popsat rozdíly mezi přírodními a uměle pěstovanými zástupci. V této studii byly flavonoidy detekovány za využití mobilní fáze methanol : voda : kyselina octová (41-50 : 50-59 : 0,2), $\lambda = 275$ nm. Výsledky ukázaly obsah baicalinu 6-9 %, wogoninu 2-8 %, baicaleinu 0,1 - 1,6%, wogonosidu 0,01 – 0,3 % a viscidulinu I a oroxylinu A jen stopové množství.^{49,37)}

3.3.4. Využití *Scutellaria baicalensis*:

První zmínky o něm nalezneme již v Shen Nongově kánonu léčivých rostlin, který vznikl za vlády dynastie Han (25 - 220 n.l.). V čínském a japonském léčitelství je používán jako základní bylina na alergie. V Americe ho například používali indiáni Cherokee k vyvolání bezbolestné menstruace. Přestože se jedná o bylinu unikátních vlastností, není v Evropě příliš známá.⁵⁰⁾

Scutellaria baicalensis Georgi byla užívána jako léčivá rostlina více než 2000 let v Číně a Japonsku.⁵¹⁾ V Japonsku je známa jako „Wogon“ a v Číně se užívá pod tradičním jménem „Huang qin“.⁵²⁾

Tradiční čínská medicína (TČM) využívala šišáku při hypertenzi, proti krvácení z nosu, kašli, vnitřnímu krvácení, zvracení, při zánětech, silné menstruaci, nebo infekčním onemocnění (např. hepatitida, záškrť, spála).⁵³⁾

Čínští léčitelé připravují lék používáním kořenu *S. baicalensis* jako prostředek s

účinkem proti rakovině prostaty, žaludku a štítné žlázy.⁵¹⁾ *Scutellaria* byla užívána mnoha kulturami při rakovině, hepatitidě, cirhóze, žloutence, úzkosti a nervových poruchách.⁵⁴⁾ Šišák se doporučuje na nespavost, hysterii a úzkost, působí protizánětlivě, snižuje horečku, uklidňuje, v homeopatii se přípravek ze šišáku předepisuje na chronickou únavu.⁵⁵⁾

3.3.5. Vědecky potvrzené účinky rodu *Scutellaria*

Moderní farmakologický výzkum potvrdil, že extrakty nebo jednotlivé obsahové látky rodu *Scutellaria* mají účinky protirakovinné, hepatoprotektivní, antioxidační, protizánětlivé, antikonvulzivní, antibakteriální a antivirové. V následujícím textu budou jednotlivé účinky blíže popsány.

Protirakovinný účinek

Nedávné studie ukázaly, že Huang quin (Chinese skullcap) má schopnost inhibovat růst rakovinných buněk *in vitro*, jedná se zejména o jaterní buňky, pankreatické buňky a buňky kolonu. Antitumorový efekt je pravděpodobně způsoben inhibicí PGE₂ produkce potlačením COX-2 aktivity v některých karcinomech. Zájem je o rostoucí využití této tradiční rostliny pro prevenci i léčbu rakoviny, neboť efektivní koncentrace jsou klinicky proveditelné.⁵⁶⁾

Nedávno bylo zjištěno, že *S.baicalensis* může inhibovat proliferaci několika lidských myeloidních buněčných linií *in vitro* a potlačit růst tumoru *in vivo* v močovém měchýři u myších nádorových modelů. V protikladu neukázala nárůst inhibičního efektu na zdravé buňky ani v pětikrát vyšší koncentraci. Díky nízké toxicitě se *S.baicalensis* jeví jako atraktivní potenciální lék v boji s rakovinou.⁵⁷⁾

Bylo ověřeno, že asi 20 % všech lidských rakovin v dospělosti vzniká jako následek chronického zánětu, jinými slovy chronický zánět může přispívat k rozvoji rakoviny. Wogonin, baicalin a baicalein ukázaly ochranu tkáně před zánětem *in vitro* i *in vivo* u různých zvířecích modelů. Protizánětlivý efekt těchto flavonoidů spočívá

v inhibici NO produkce přes sníženou regulaci několika genů souvisejících se zánětem, jedná se zejména o NO syntházu (iNOS), COX a lipooxygenázu. Tento efekt potvrzuje i zjištění, že PGE₂ zvyšuje navození maligní progresy ve většině solidních tumorů včetně kolonu, dělohy a karcinomu žaludku. Zvýšené hodnoty COX-2 jsou detekovány v mnoha tumorech, proto COX-2 reprezentuje nejlepší cíl pro zásah v terapii. A co je důležité, u těchto flavonoidů se neprokázalo zvýšení morbidit na kardiovaskulární onemocnění jako u COX-2 selektivních léků.⁵⁷⁾

Účinek proti mikroorganismům

V TČM se *Scutellaria* používá k léčení i prevenci infekcí způsobených chřipkovým virem. *S.baicalensis* a hlavní obsahové látky jsou shledány jako inhibitory i dalších virů, včetně karcinogenních (HPV- human papilloma virus, EBV- Epstein-Baar virus, HBV- hepatitis B virus, HCV - hepatitis C virus, HTLV₁-human T cells leukemia virus typ 1 a HIV₁ human immunodeficiency virus typ 1). Účinek baicalinu proti HTLV₁ je vysvětlován jeho schopností inhibovat aktivitu reverzní transkriptázy *in vitro*. Podobně baicalin i baicalein jsou schopni inhibovat aktivitu retrovirové reverzní transkriptázy u HIV₁ infekce *in vitro* (vodný roztok v koncentraci 200 mg/ml), mimoto jsou schopni zabránit vstupu viru do buňky.^{57,37)}

10% vodné roztoky ze *S.baicalensis* mají antimykotické vlastnosti proti patologickým kmenům *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Geotrichum candidum* a *Rhodotorula rubra*.⁵⁸⁾ Naproti tomu ethanolové extrakty ze *S. baicalensis* mohou zvyšovat antimikrobiální aktivitu čtyř antibiotik (penicilinu G, gentamycinu, ciprofloxacinu a ceftriaxonu) na rezistentní *Staphylococcus aureus* *in vitro*.⁵⁹⁾

Antikonvulzivní účinek

Za antikonvulzivní účinek je zodpovědný flavonoid wogonin izolovaný ze *S.baicalensis*. Tento efekt byl pozorován po p.o. aplikaci (7,5 – 30 mg/kg) společně s anxiolytickým účinkem.⁶²⁾ V další fázi výzkumu byl wogonin aplikován

intraperitoneálně (10 mg/kg), což vyvolalo velmi silnou anxiolytickou aktivitu, s minimální sedací a zároveň se nezměnila lokomoční aktivita, z čehož vyplývá, že wogonin téměř není schopen sedace a myorelaxace.^{61,63)}

Efekt wogoninu (5 a 10 mg/kg) byl porovnáván s účinkem diazepamem, jež navodil sedaci i myorelaxaci. Tento rozdíl mezi wogoninem a diazepamem je prospěšný, protože wogonin nepřináší vedlejší sedativní efekt. Zato významný antikonvulzivní, neboť významně snížil odpověď epileptického záchvatu vyvolaného pentylenetetrazolem (70 mg/kg) a elektrošokem, ale nesnížil odpověď na křeče vyvolané strychninem.⁶¹⁾

Pentylenetetrazol je nekompetitivní antagonist na GABA receptoru, zatímco strychnin je antagonistou na glycinovém receptoru.⁶⁴⁾ Ačkoli účinky pentylenetetrazolu založené na zvířecích modelech jsou stále široce užívány pro lékový screening, mechanismus účinku není zatím stále kompletně pochopen. Podle jednoho obecně přijatého mechanismu působí pentylenetetrazol jako antagonist na pikrotoxin citlivé lokaci na GABA_A receptorovém komplexu.⁶⁵⁾

Výsledky inhibice pentylenetetrazolem indukovaných záchvatů naznačují, že účinky wogoninu pravděpodobně souvisejí se zvýšením funkce GABA v mozku.⁶⁴⁾ Antikonvulzivní aktivita wogoninu je zprostředkována na Cl⁻ kanálu GABA-benzodiazepinovém receptorovém komplexu.⁶²⁾

Podání wogoninu (5 a 10 mg/kg) vyvolalo významný antikonvulzivní efekt v krysách. Podání flumazenilu a bicucullinu (antagonisté na GABA receptoru) inhibovalo Cl⁻ influx vyvolaný wogoninem, což potvrzuje antikonvulzivní efekt zprostředkovaný zesílením účinku GABA.^{66,61)} Efekt wogoninu se však nedá vysvětlit jen interakcí s GABA receptorem, kde největší afinita je k GABA_{A/α2} receptorovému subtypu, neboť podle jiných studií antikonvulzivní efekt je způsoben i ovlivněním jiných neurotransmiterů (NA, Ser, Dop).⁶⁷⁾

Přesný mechanismus antikonvulzivní aktivity a vztah mezi záchvatem, GABA_{A/α2} podjednotkou a dalšími neurotransmiterovými systémy, jež vede k antikonvulzivnímu efektu a ne sedativnímu a myorelaxačnímu zatím není znám.⁶¹⁾ Tuto domněnku doplňuje i zjištění z testů na myších, kdy tonické křeče vyvolané

elektrošoky kladně reagovaly na wogonin, ale klonické křeče indukované pentylenetetrazolem reagovaly minimálně, z čehož vyplívá, že antikonvulzivní efekt není vyvolán jen přes benzodiazepinové vazebné místo na GABA receptoru, ale souvisí pravděpodobněji s blokáci šíření křečového záchvatu.⁶⁰⁾

Hepatoprotektivní účinek

Lin et al.⁶⁸⁾ zkoumali hepatoprotektivní efekt různých frakcí (n-hexan, CHCl₃, EtOAc, n-BuOH a H₂O) ze *S. barbata* na třech experimentálních modelech *in vivo*. Výsledky naznačily, že CHCl₃ frakce a n-hexanová frakce působí nejsilněji proti D-galaktosaminem (D-GlanN) indukované intoxikaci a CHCl₃ frakce má největší hepatoprotektivní efekt na acetaminofenem (APAP) indukované hepatotoxicitě. Patologické změny jaterního poškození byly zmírněny ošetřením CHCl₃ frakcí.

Extrakty z kořenů *S. baicalensis* také inhibovaly mutagenicitu mykotoxinů aflatoxin-B₁ v játrech krysy.⁶⁹⁾

Antioxidační účinek

Methanolové extrakty ze *S. baicalensis* mohou inhibovat lipidovou peroxidaci v krysích jaterních mikrozomech a červených krvinkách a mají schopnost inhibovat aktivitu aminopyrin N-demethylázy a xanthin oxidázy.⁷⁰⁾

V kardiomyocytovém modelu ischemie a reperfuze extrakt ze *S. baicalensis* (1,0 mg/ml) rychle snížil hodnoty oxidantů vytvořených během chvilkové hypoxie a vystavení k mitochondriálnímu místu III inhibitoru antimycinu A. Buněčný zánik po ischemii a reperfuzi se snížil z 47 % u neošetřených buněk na 26% v buňkách, jež byly ošetřeny *S. baicalensis*.⁷¹⁾

Neuronální buňky vystavené oxidačnímu stresu a ošetřené flavonoidy z vodných extraktů ze *S. baicalensis* byly také podrobeny zkoumání. Bylo potvrzeno, že flavonové extrakty (50 µg/ml) ochrání buňky a zvýší životaschopnost na 85 %. Mimoto koncentrace oxidativním stresem indukovaného proteinu s karbonylovou

skupinou byla snížena dvojnásobně v buňkách, jež byly předem ošetřeny flavonovým extraktem.⁷²⁾

Neuroprotektivní efekt a vliv na zlepšení paměti

Na krysách bylo prokázáno, že flavonoidy izolované z nadzemních částí *S. baicalensis* a podané p.o. (v dávce 35 mg/kg, po dobu 19-20 dnů) mohou výrazně redukovat výpadky paměti a zhoršený proces učení, zmírnit neuronální poškození a zlepšit abnormality energetického metabolismu způsobené uměle navozenou komplexní ischemií. Tyto výsledky naznačují, že flavonoidy ze *S. baicalensis* mohou být užitečné v léčbě vaskulární demence.⁷³⁾

Mimoto tyto flavonoidy mají významný protektivní efekt na mozkovou ischemii a ischemii-reperfuzi indukovanou poraněním mozku.⁷⁴⁾

Někteří autoři zjistili, že methanolový extrakt *S. baicalensis* inhibuje mikroglální TNF- α (tumor necrosis factor α) a NO produkci, a ochraňuje PC12 buňky (buněčná linie odvozená z pheochromocytu v krysí nadledvinkové dřeni) před H₂O₂ indukovanou toxicitou in vitro.⁷⁵⁾

Ovlivnění fibrinolytického systému

Baicalin, potažmo i další flavonoidy ze *S. baicalensis* mají vliv na fibrinolytický systém. Mají schopnost inhibovat trypsinem zvýšenou produkci PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) a zastavovat redukci počtu t-PA (tissue-type plasminogen activator). Narozdíl od ostatních látek, baicalin působí, i když produkce PAI-1 a redukce t-PA je způsobena trombinem a peptidovým agonistou trombinových receptorů (TRAP-thrombin receptor agonist peptide). Baicalin mimo jiné snižuje množství intracelulárního Ca²⁺ a zřejmě tímto mechanismem působí proti trombinu a TRAP. Baicalin dále snižuje produkci ICAM-1 (intracellular adhesion molecule-1) a ELAM-1 (endotelian leukocyte adhesion molecule-1), což jsou molekuly hrající zásadní roli ve vzniku trombů. Baicalin je tedy nadějnou molekulou v boji

s arteriosklerózou a trombózou.^{52,79-81)}

Obrázek č. 6 : Detaily rostliny ²⁹⁾



4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1. Použité chemikálie a přístroje

4.1.1. Chemikálie

- methanol p.a., Penta, Praha, ČR
- methanol for HPLC, Merck, Darmstadt, Německo
- baicalin č., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Německo
- baicalein č., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Německo
- rutin č., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Německo
- quercitrin č., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Německo
- apigenin č., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Německo
- vitexin č., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Německo
- vitexin-rhamnosid č., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Německo
- quercetin č., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Německo
- myricetin č., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Německo
- myricitrin č., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Německo
- kyselina kávová č., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Německo
- kyselina chlorogenová č., Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Německo
- hyperosid č., Merck, Darmstadt, Německo

4.1.2. Zkoumané materiály a přípravky

- doplněk stravy Silymarin Duo, výrobce Simply You Pharmaceuticals a.s., Praha, ČR
- doplněk stravy Koenzymfit Plus, výrobce Virde spol. s.r.o., Štěplovec, ČR
- doplněk stravy Ferimun, výrobce Hermeopa s.r.o., Vysoké Mýto, ČR
- doplněk stravy Silymar Plus, výrobce Virde spol. s.r.o., Štěplovec, ČR

- doplněk stravy Hepamar, výrobce Noventis s.r.o., Zlín, ČR
- doplněk stravy Valecaps Plus, výrobce Svus Pharma a.s., Hradec Králové, ČR
- doplněk stravy Arthrovevital Complex, výrobce Herbamedicus GmbH, Zürich, Švýcarsko

4.1.3. Přístroje

- analytické váhy A 200S, Sartorius analytic, Göttingen, Německo
- předvážky EK 1200 A, A&D, Tokyo, Japonsko
- vodní lázeň GFL (DHIM 15750), Laboratorní přístroje, Praha, ČR
- sušárna DHM 3171, Binder, Tuttlingen, Německo
- HPLC chromatograf JASCO (čerpadlo PU-2089, diodový detektor MD-2015, fluorescenční detektor detektor FP-2020, autosampler AS-2055), Jasco International, Tokyo, Japonsko
- Chromatografická kolona LiChrospher RP-18 250 x4 (5 μ) s předklonkou, Merck, Darmstadt, Německo
- Ultrazvuk Sonorex RK 100 H, Bandelin, Berlin, Německo

4.2. Příprava vzorků

Při přípravě vzorků byly použity tři metody:

- A, Extrakce koncentrovaným methanolem za tepla (na vodní lázni)
- B, Extrakce 80 % methanolem za použití ultrazvuku
- C, Extrakce 80 % methanolem za tepla (na vodní lázni)

Metody A,B byly použity k analýze baicalinu a baicaleinu, metoda C k analýze ostatních flavonoidů.

Postup:

A - Extrakce koncentrovaným methanolem za tepla (na vodní lázni)

Bylo naváženo 0,1 g práškového extraktu do malé, varné baňky, přidalo se 15 ml koncentrovaného methanolu, vše se vařilo asi 20 až 25 minut pod zpětným chladičem na vodní lázni, pak se provedla filtrace přes vatu do odměrného válce. Použitá vata i s drogou se vpravila zpět do baňky, přidalo se 15 ml methanolu a znovu se vařilo na vodní lázni pod zpětným chladičem asi 20 až 25 minut. Extrakt se zfiltraval do odměrného válce (ve válci se spojily oba filtráty). Spojené extrakty byly doplněny methanolem ad 30 ml.

Dostatečné množství roztoku (asi 1,8 ml) se před nástřikem na HPLC zfiltravalo přes mikrofiltr (teflon 0,45 μm).

Vizuálně byla hodnocena barva extraktu a případný zákal.

Postup:

B - Extrakce 80 % methanolem za použití ultrazvuku

U každého vzorku byl jako rozpouštědlo použit 80 % methanol. Vzorky byly k HPLC analýze připraveny standardním postupem.

Vždy 0,020 g suchého extraktu se navážilo do odměrné baňky na 25 ml. Doplnilo se použitým rozpouštědlem po rysku a roztokem se občas protřepalo. K podpoře rozpouštění byl použit ultrazvuk (10 min, 160 W, 35 kHz). Dostatečné množství roztoku (asi 1,8 ml) se před nástřikem na HPLC zfiltravalo přes mikrofiltr (teflon 0,45 μm).

Zjistil se vizuálně potenciální zákal a barva.

Postup:

C - Extrakce 80 % methanolem za tepla (na vodní lázni)

Byl navážen 1 g (v orientační zkoušce), u vzorků pak 0,5 g suchého extraktu do malé, varné baňky, přidalo se 10 ml 80 % methanolu, vše se vařilo asi 30 minut pod zpětným chladičem na vodní lázni, pak se provedla filtrace přes vatu do odměrného válce. Použitá vata i s drogou se vpravila zpět do baňky, přidalo se 10 ml methanolu

a znovu se vařilo na vodní lázni pod zpětným chladičem asi 30 minut. Extrakt se zfiltraval do odměrného válce (ve válci se spojily oba filtráty). Spojené extrakty byly doplněny methanolem ad 20 ml.

Dostatečné množství roztoku (asi 1,8 ml) se před nástřikem na HPLC zfiltravalo přes mikrofiltr (teflon 0,45 μm).

Vizuálně byla hodnocena barva extraktu a případný zákal.

4.3. Ztráta sušením

Ztráta sušením je ztráta hmotnosti vyjádřená ve hmotnostních procentech (m/m)

Postup:

Navážilo se 0,5 g extraktu do předem vysušené a zvážené váženky (10 min v exsikátoru). Extrakt se sušil 2 hodiny při 105°C, poté se extrakt nechal zchladnout asi 10 minut v exsikátoru. Ihned po vyjmutí se zvážila váženka s extraktem, z rozdílu hmotností se spočítala ztráta sušením.

Tato metoda byla převzata z Českého lékopisu.⁸²⁾

4.4. HPLC analýza

4.4.1. HPLC analýza baicalinu a baicaleinu

Byla použita HPLC sestava od firmy JASCO (pumpa PU-2089, diodový detektor MD-2015 a fluorescenční detektor FP-2020, autosampler AS-2055), vybavená předkolonovým filtrem a kolonou LiChrospher RP-18 250x4 (5 μm) s ochrannou předklonkou.

Nastřikovaný objem byl 20 μl . Složení mobilní fáze probíhalo v lineárním gradientu z 50 % methanolu s obsahem 0,15 % kyseliny fosforečné (pH= 2,9) v čase $t= 0$ min na 80 % methanol (s 0,15 % kyseliny fosforečné) v čase $t= 15$ min., při konstantním průtoku mobilní fáze 1,2 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$.

Detekce byla provedena pomocí DAD detektoru v rozmezí vlnových délek 190–450 nm. Obsah sledovaných flavonoidů byl vypočten z píků při vlnové délce 277 nm, ve které mají oba flavonoidy své absorpční maximum. Retenční časy u baicalinu byly cca 7 min. 00 sec., u baicaleinu cca 12 min. 20 sec.

Obsah obou látek byl kvantifikován matematickou metodou normalizace a porovnáním s kalibrační křivkou vytvořenou pomocí externě měřeného standardu téže látky.

4.4.2. HPLC analýza ostatních flavonoidů

Byla použita HPLC sestava od firmy JASCO (pumpa PU-2089, diodový detektor MD-2015 a fluorescenční detektor FP-2020, autosampler AS-2055), vybavená předkolonovým filtrem a kolonou LiChrospher RP-18 250x4 (5 μ m) s ochrannou předkolonkou.

Nastříkovaný objem byl 100 μ l. V průběhu analýzy se měnilo složení mobilní fáze při konstantním průtoku 1,0 ml.min⁻¹ takto:

Tabulka č. 1: Tabulka gradientů

čas (min)	roztok A	roztok B
0 – 10 isokratická eluce	100 %	0 %
10 – 30 gradientová eluce	89,1 %	10,9 %
30 – 55 gradientová eluce	43,5 %	56,5 %

Roztok A: 8 % acetonitril ve vodě, s obsahem 0,15 % kyseliny fosforečné

Roztok B: acetonitril s obsahem 0,15 % kyseliny fosforečné

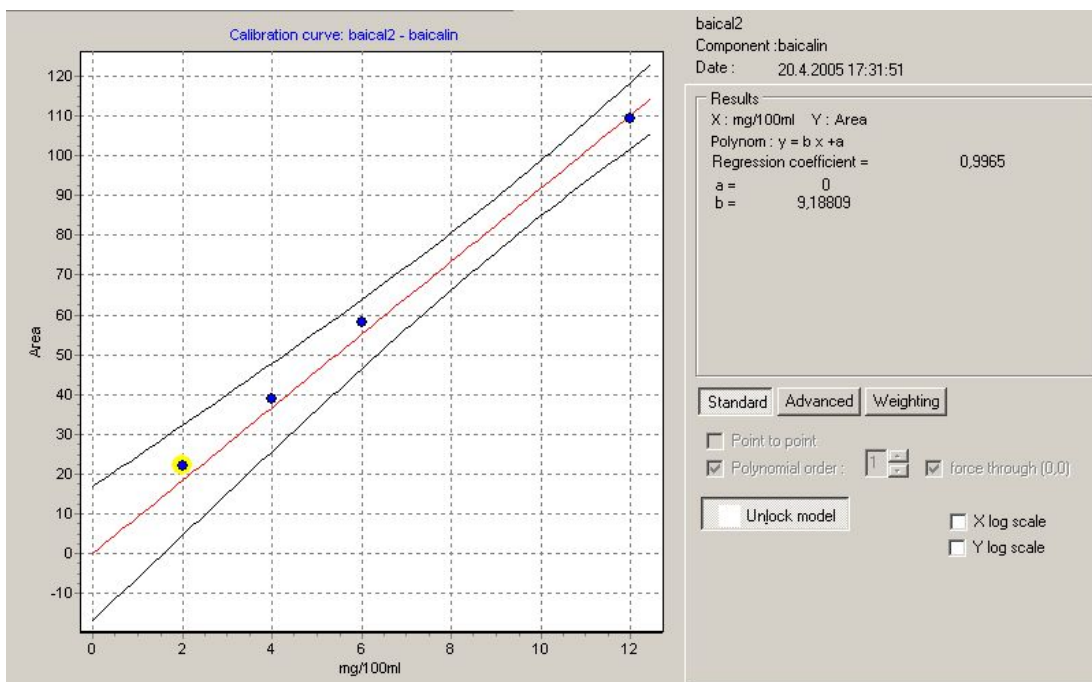
Detekce byla provedena pomocí DAD detektoru v rozmezí vlnových délek 190-600 nm. Jednotlivé složky byly separovány a identifikovány pomocí retenčních časů standardů.

Tabulka č. 2: Standardy flavonoidů

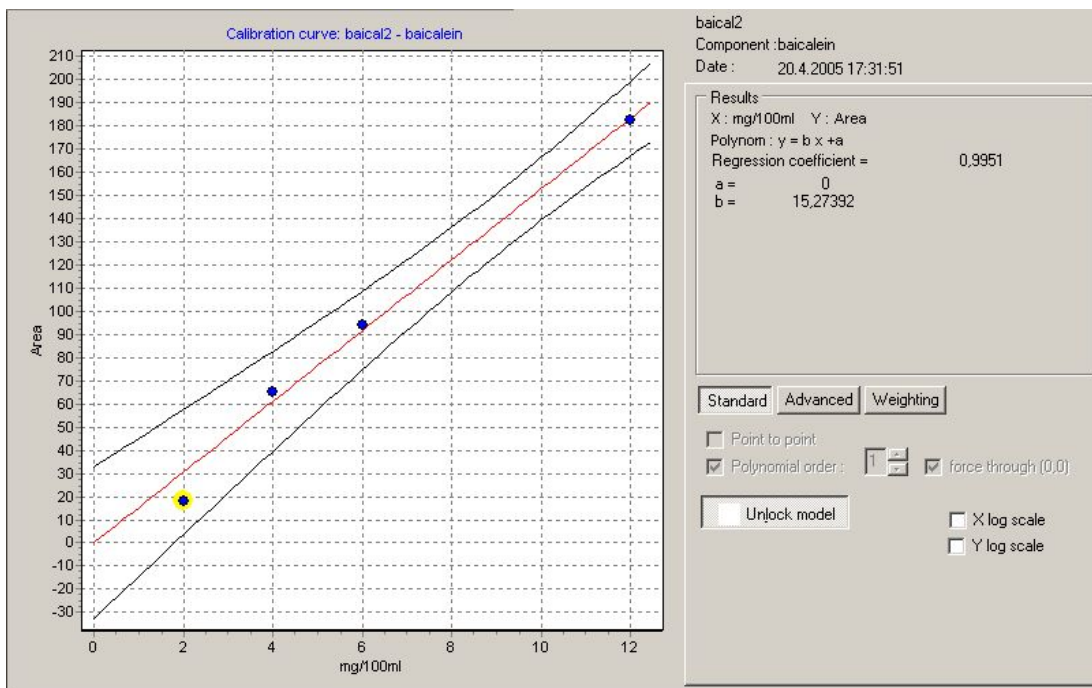
standardy flavonoidů	retenční čas (min)
kyselina kávová	18,0
kyselina chlorogenová	19,1
vitexin-ramnosid	33,2
vitexin	33,9
rutin	34,7
myricitrin	34,8
hyperosid	35,6
quercitrin	38,3
myricetin	40,0
quercetin	43,9
apigenin	46,7

Obsah látek byl kvantifikován matematickou metodou normalizace a porovnáním s kalibrační křivkou vytvořenou pomocí externě měřeného standardu téže látky.

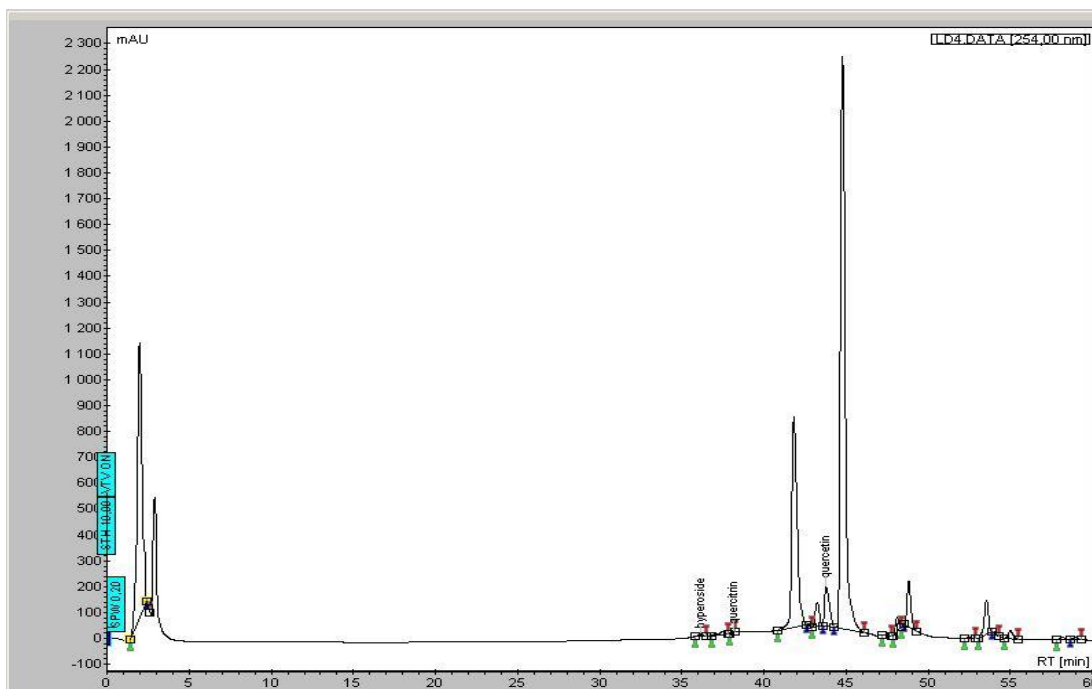
Graf č. 1: Kalibrační křivka baicalinu



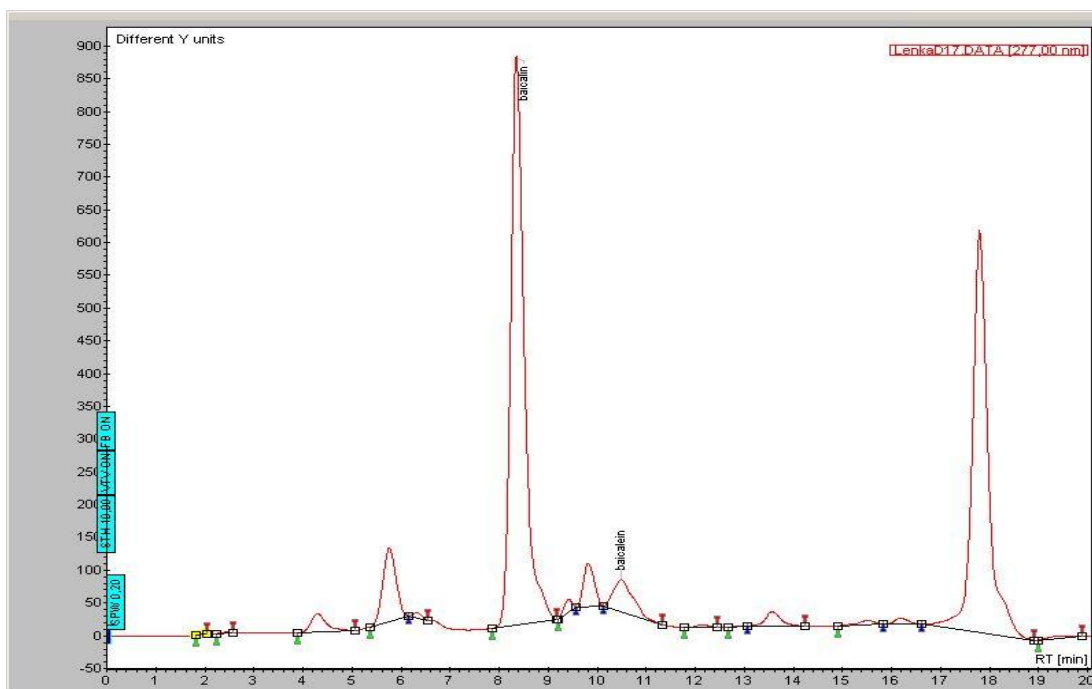
Graf č. 2: Kalibrační křivka baicaleinu



Graf č. 3: Chromatogram flavonoidů (doplněk stravy Koenzymfit Plus- metoda C)



Graf č. 4: Chromatogram baicalinu a baicaleinu (doplněk stravy Hepamar)



4.4.3. Validace HPLC analýzy

Validace je ověření platnosti zvoleného analytického postupu.

Instrumentální validace je zajištěna výrobcem HPLC sestavy (Jasco) a to normou ISO 9001 (International Organisation for Standardiation). Způsobilst chromatografického systému byla navíc ověřena testem opakovaného nástřiku - tzv. test na přesnost (provedeno vždy 6 nástřiků týmž vzorkem, vypočtená relativní směrodatná odchylka byla vždy menší než 1,5 %.) a testem linearity (na základě pěti různých koncentrací standardu se lineární regresní analýzou zjistí hodnota korelačního koeficientu r , která musí být větší než 0,9900). Pro hodnocení analytického měření byly dále převzaty metody z Evropského lékopisu, 3.vydání: Asymetrie píku a Počet teoretických pater. Pro hodnocení celé metody byly použity tyto validační parametry:

Správnost metody: jedná se o statisticky významnou rozdílnost mezi získanou a skutečnou hodnotou (tedy porovnáním ověřovaných hodnot se standardem, porovnáním s jinou již osvědčenou metodou nebo srovnáním s referenčním materiálem).

Kvantitativní limit: jde o nejmenší hodnotu, která je měřitelná s přijatelnou přesností (relativní směrodatná odchylka menší než 15 %).³⁰⁾

4.5. Statistické zpracování výsledků

Statistická významnost naměřených výsledků byla vypočítána pomocí t-testu významnosti dvou průměrů (pro rovnost rozptylů) podle následujících matematických vztahů:

Aritmetický průměr:

$$X = \frac{\sum_{i=1}^a x_i}{a}$$

legenda: x_i = naměřené hodnoty

a = rozsah souboru

Směrodatná odchylka:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^a (x_i - \bar{x})^2}{a - 1}}$$

legenda: \bar{x} = aritmetický průměr

x_i = naměřené hodnoty

a = rozsah souboru ³⁰⁾

4.6. Informace o přípravcích uváděné výrobcem

4.6.1 Silymarin Duo

Informace uváděné výrobcem na etiketě:

Charakteristika:

Silymarin Duo obsahuje extrakt ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*) a šišáku bajkalského (*Scutellaria baicalensis*).

Účinné flavolignany ze semen ostropestřce (silybin, isosilybin a silychristin) a baicalein z kořene šišáku mají blahodárný vliv na játra.

Při výrobě je používána galenická úprava, díky které je pomocí sacharidu cyklodextrinu a dietní vlákniny zvýšena biologická dostupnost a antioxidační účinnost.

Kombinace silymarinu s inulinem podporuje správné fungování trávicího traktu.

Proč užívat Silymarin Duo:

- prokázána násobně vyšší ochrana a regenerace jaterních buněk díky kombinaci silymarinových flavolignanů a baicaleinu
- vhodný jako doplněk stravy při poruše jaterních funkcí a při rekonvalescenci po jaterních obtížích
- pomáhá chránit játra před toxickými látkami včetně léků, při kouření a konzumaci alkoholu

PRO-HEPATO COMPLEX

Směs obsahující silymarinové flavolignany posílené flavony šišáku bajkalského, s cyklodextrinem a dietní vlákninou:

- dvojnásobná ochrana a regenerace jater díky hepatoprotektivnímu silymarinu a šišáku
- cyklodextrin zlepšuje stabilitu silymarinu a udržuje jeho antioxidační účinnost
- dietní vláknina zlepšuje vstřebatelnost silymarinu a podporuje jeho ochranný účinek

Obsah:

30 tobolek

Upozornění:

Ukládat mimo dosah dětí! Výrobek není určen pro děti do 3 let. Výrobek není určen jako náhrada pestré stravy. Nepřekračujte doporučené denní dávkování. Není vhodné pro těhotné a kojící ženy. Vhodné pro diabetiky.

Složení:

Silymarin: silymarinový komplex (směs silymarinových flavolignanů v extraktu z ostropestřce mariánského, *Silybum marianum*), dietní vláknina a hrubá vláknina ze suchého extraktu ostropestřce mariánského, inulin, suchý extrakt šišáku bajkalského (s obsahem flavonu baicaleinu, *Scutellaria baicalensis*), stabilizátor: cyklodextrin, plnidlo: sorbitol, protispěková látka: stearan hořečnatý, tobolka: želatina, barviva: oxid titaničitý.

Dávkování:

Užívejte 1 tobolku denně. V případě potřeby zvýšené ochrany jater je možno prvních 14 dnů užívat 2 tobolky denně.

Číslo šarže:

LM-302

Číslo podnikové normy:

PN SY 02/10

Skladování:

Skladujte v suchu a temnu při teplotě 15-25 °C. Chraňte před přímým slunečním zářením.

Hmotnost obsahu:

14,4 g

Výrobce:

Simply You Pharmaceuticals a.s.

Roháčova 188/37, 130 00 Praha 3, ČR

www.DaVinciAcademia.cz

www.SilymarinDuo.cz ²¹⁾

Tabulka č. 3: Výtah z chemické analýzy doplňku stravy Silymarin Duo, převzato z obalu výrobce

(každá šarže extraktu prochází detailní analytickou kontrolou)

OBSAH:		
1 tobolka obsahuje		% DDD :
Silymarin (suchý extrakt ze semen ostropestřce mariánského standardizovaný na obsah silymarinových flavolignanů)	195 mg	není uvedena
Směs silymarinových flavolignanů (s převahou izomerů silybinu a isosilybinu)	104 mg	není uvedena
Suchý extrakt šišáku bajkalského (s obsahem flavonu baicaleinu)	55 mg	není uvedena
Inulin	149 mg	není uvedena

4.6.2. Koenzymfit Plus

Informace uváděné výrobcem na etiketě:

Charakteristika:

Vyvážená kombinace bylinných extraktů postavena na přírodní látce koenzym Q 10- zdroj energie pro buňky a tím zlepšuje celkový stav organismu. Působí příznivě proti řadě potíží, které přináší stáří. Dodává tělu energii, chrání proti únavě a stresu. Chrání srdeční buňky a proto je vhodný při onemocnění srdce, pomáhá při zánětech dásní a paradentóze, posiluje imunitu. Prodlužuje aktivní život.

Obsah:

30 tobolek

Upozornění:

Není určeno pro děti. Nepřekračujte doporučené dávkování. Ukládejte mimo dosah dětí! Výrobek není určen k používání jako náhrada pestré stravy.

Složení:

Suchý extrakt listů *ginkgo biloba* 30 mg, suchý extrakt kořene žen-šenu 50 mg, suchý extrakt kořene šiřáku bajkalského 100 mg, suchý extrakt kořene eleuterokoku 100 mg, koenzym Q 10 30 mg

Pomocné látky: želatina, glycerol, voda

Dávkování:

1 tobolek denně ráno 15 minut před jídlem

Číslo šarže:

2806121

Schváleno: ÚVZ-SR, Mzd-ČR

Skladování:

Uchovávejte při teplotě do 25°C. Chraňte před vlhkem a přímým slunečním světlem!

Hmotnost obsahu:

12,3 g ($\pm 5\%$)

Výrobce:

VIRDE spol. s.r.o. Štěplovec 10, Holasovice, ČR

Dovozce pro SK: VIRDE SLOVAKIA s.r.o. Čínská 24, 040 13 Košice

www.virde.cz ²²⁾

4.6.3. Ferimun

Informace uváděné výrobcem na etiketě:

Charakteristika:

Doplňuje železo do organismu. Podporuje krevtvorbu. Posiluje obranyschopnost organismu. Vhodný při menstruaci.

Ferimun působí příznivě na krevtvorbu, vhodně doplňuje ztráty železa z těla při menstruaci a v jiných případech úbytku krve. Posiluje obranyschopnost organismu, povzbuzuje při opakujícím se fyzickém vyčerpání a v rekonvalescenci. Zlepšuje celkovou odolnost organismu vůči nepříznivým vlivům prostředí.

Obsah:

60 tobolek

Upozornění:

Nepřekračujte doporučené dávkování. Není určeno pro děti do 10 let. Není určeno jako náhrada pestré stravy.

Složení:

List kopřivy dvoudomé, kořen šišáku bajkalského, kořen třapatky nachové, kyselina askorbová (vitamin C), glukonan železnatý.

Obsah živin:

210 mg vitamínu C ve 3 tobolkách, tj. 35 % nejvyššího přípustného množství v denní dávce; 16 mg železa (jako glukonan železnatý), tj. 80 % nejvyššího přípustného množství v denní dávce.

Dávkování:

Doporučuje se užívat nalačno: dospělí 1 tobolka 2-3 krát za den, děti od 10 let 1 tobolka za den.

Číslo šarže:

DV 04.03.2010

Schváleno: Mzd ČR, HEM-350-17.1.02/1635

Skladování:

Uchovejte při teplotě do 25°C. Nevystavujte přímému slunci. Uchovávejte mimo dosah dětí.

Výrobce:

Hermeopa s.r.o. Vysoké Mýto, Česká republika
RNDr. Ing. Ivan Olejníček-Medinterra
Vaculíkova 11, 638 00 Brno, Česká republika
www.medinterra.cz ²³⁾

4.6.4. Silymar Plus

Informace uváděné výrobcem na etiketě:

Charakteristika:

Směs rostlinných extraktů určených k detoxikaci (čištění) organismu a k ochraně jater. U obou použitých bylin ostropestřce a šišáku, stejně jako u houby housenice čínské, byla prokázána vysoká schopnost podporovat vylučování nežádoucích látek z těla a zároveň účinně chránit jaterní buňky. Přípravek je proto určen pro důkladné pročištění organismu od škodlivých a toxických látek, které se do něj dostávají s nekvalitní a nevhodnou potravou, dlouhodobým užíváním léků apod. U osob se zvýšenou konzumací alkoholu velmi vhodně omezuje působení alkoholu na jaterní tkáň. Díky vysokému obsahu betaglukanů a dalších účinných látek stimuluje obranný systém organismu, má posilující a povzbuzující účinky a pomáhá v těle likvidovat nežádoucí mikroorganismy. Je velmi vhodný i pro osoby středního a vyššího věku.

Obsah:

30 tobolek

Upozornění:

Není určeno pro děti do 3let. Nepřekračujte doporučené dávkování. Výrobek není určen k používání jako náhrada pestré stravy.

Složení:

Ostropestřec mariánský (*Silybum marianum*) suchý extrakt 150 mg, housenice čínská (*Cordyceps sinensis*) suchý extrakt 50 mg, šišák bajkalský (*Scutellaria baicalensis*) suchý extrakt 50 mg

Pomocné látky: želatina

Dávkování:

1 tobolka denně

Číslo šarže:

L1001142

Schváleno: ÚVZ-SR, Mzd-ČR

Skladování:

Ukládejte mimo dosah dětí. Uchovávejte při teplotě 5-25°C. Chraňte před vlhkem, chladem a přímým slunečním světlem!

Hmotnost obsahu:

10,5 g ($\pm 5\%$)

Výrobce:

VIRDE spol. s.r.o. Štěplovec 10, Holasovice, ČR

Dovozce pro SK: VIRDE SLOVAKIA s.r.o. Čínská 24, 040 13 Košice

www.virde.cz ²⁴⁾

4.6.5. Hepamar

Informace uváděné výrobcem na etiketě:

Charakteristika:

V přípravku Hepamar je obsažena směs standardizovaných rostlinných extraktů, které příznivě ovlivňují jaterní funkce a povzbuzují trávení. Extrakty obsažené v této směsi odporují přirozené detoxikační procesy v organismu a jejich antioxidační vlastnosti působí pozitivně na organismus při jeho obraně proti vlivu volných radikálů.

Obsah:

60 ks měkkých želatinových kapslí

Upozornění:

Není určeno pro děti a mladistvé do 18 let. Není určeno pro těhotné ženy a kojící matky. Přípravek nesmí užívat osoby s onemocněním žlučníku a žlučových cest nebo žlučovými kameny. Užíváte-li jakékoliv léky nebo doplňky stravy, poraďte se o vhodnosti užívání tohoto přípravku se svým lékařem. Barvivo E124 může mít nepříznivý vliv na aktivitu a pozornost dětí. Neužívat dlouhodobě a nepřetržitě. Není určeno jako náhrada pestré stravy. Ukládat mimo dosah dětí.

Složení:

Náplň kapsle: 1 kapsle obsahuje 57 mg extraktu z kurkumy (*Curcuma longa*), 44,5 mg extraktu z ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*), 30 mg extraktu z šišáku bajkalského (*Scutellaria baicalensis*), 30 mg extraktu z kadidlovníku pilovitého (*Boswellia serrata*), 0,4 mg extraktu pepře černého (*Piper niger*), sójový olej, sójový lecitin.

Obal kapsle: želatina, změkčovadla glycerol a sorbitol, barviva E124, E172, E171, voda čištěná.

Dávkování:

Dospělí užívají 2 krát denně 1 kapsli. Kapsle se užívají celé, po jídle a zapíjí dostatečným množstvím tekutin. Doporučené dávkování se nesmí překračovat.

Číslo šarže:

2831109

Skladování:

Uchovávejte při teplotě od 15°C do 25 °C, původním obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem a vlhkostí.

Hmotnost obsahu:

41 g ($\pm 5\%$)

Výrobce:

Noventis s.r.o.

Filmová 174, 761 79 Zlín, Česká republika

www.noventis.cz ²⁵⁾

4.6.6. Valecaps Plus

Informace uváděné výrobcem na etiketě:

Charakteristika:

Valecaps Plus pomáhá navodit příjemné usínání, nerušený spánek a svěží pocit po probuzení. Působí jako přirozený prostředek regulace nadměrné předrážděnosti. Poskytuje pocit relaxace. Valecaps Plus je přírodní přípravek z rostlinných výtažků kořenů *Scutellaria baicalensis* a *Valeriana officinalis* ve formě práškových standardizovaných extraktů. Je vyroben z rostlinných látek a neobsahuje žádné konzervační látky.

Obsah:

30 tobolek

Upozornění:

Není určeno pro děti do 3 let. Ukládat mimo dosah dětí! Nepřekračujte doporučené denní dávkování. Doplněk stravy není určen k používání jako náhrada pestré stravy.

Složení:

25 mg extraktu kořene šišáku bajkalského (*Extr. rad. scutellariae baicalensis*) a 100 mg extraktu kořene kozlíku lékařského (*Extr. rad. valerianae officinalis*).

Přídavné látky: mikrokrytalická celulóza, oxid křemičitý, maltodextrin, oxid titaničitý a E141(měďnatý komplex chlorofylu).

Dávkování:

1-2 tobolky cca ½ hod. před spaním nebo 1 tobolku v průběhu dne cca 1 hod. před očekávanou stresovou situací.

Číslo šarže:

93401

Schváleno: HEM-350-14.1.03/1117

Skladování:

Chraňte před teplem a světlem.

Hmotnost obsahu:

9,18 g

Výrobce:

Farmax (www.farmax.cz)

SVUS Pharma a.s., Smetanovo nábřeží 1238/20a, 500 02 Hradec Králové, ČR

www.svus.cz ²⁶⁾

4.6.7. Arthrorevital Complex

Informace uváděné výrobcem na etiketě:

Charakteristika:

Arthrorevital je unikátní směs látek z 11 druhů bylin. Originální receptura tohoto preparátu byla vyvinuta na základě poznatků současné vědy. Receptura je rozšířena o glukosamin a chondroitin-základní složky kloubního preparátu. Obsahuje vyvážený komplex bylinných extraktů a kombinaci tělu vlastních substancí.

Charakteristika účinných látek:

Glukosamin a chondroitin jsou látky, které přirozeně tvoří strukturu kloubní chrupavky, vazů a šlach, proto jsou jejich základním stavebním kamenem.

Želatina je bohatým zdrojem aminokyselin, které jsou základem pro obnovu pojivových tkání (chrupavka, vazy, kůže).

Bylinný komplex obsahuje velké množství účinných aktivních látek, které pomáhají zvyšovat jejich vstřebatelnost:

Přeslička rolní - pozitivně ovlivňuje regenerační procesy v cévní stěně.

Rdesno ptačí nať - pomáhá udržovat látkovou výměnu.

Šišák bajkalský - příznivě působí na pohybové ústrojí.

Echinacea purpurea - podporuje přirozenou obranyschopnost.

Ženšen kořen - podporuje přirozenou obranyschopnost.

Jinan dvoulaločný list - přispívá k duševní a poznávací činnosti.

Ostropestřec mariánský semeno - příznivě působí na činnost jater.

Vrbovka nať - příznivě působí na močové ústrojí.

Unikátní součástí komplexu jsou byliny schopné rozpouštět uráty (krystalky kyseliny močové), jejichž zvýšený obsah vyvolává vznik revmatismu a dny. V některých bylinách tohoto komplexu jsou obsaženy také látky, které přispívají k regeneraci svalů, šlach a vazivových tkání.

Obsah:

90 kapslí

Upozornění:

Doplněk stravy. Ukládat mimo dosah dětí. Není určeno dětem, kojícím a těhotným ženám. Výrobek není určen jako náhrada pestré stravy. Nepřekračujte denní doporučené dávkování.

V doporučené denní dávce je obsaženo 1600 mg glukosamin sulfátu a 40 mg chondroitin sulfátu.

Energetická hodnota: 1709 kJ/410 kcal ve 100 g

Složení:

Tmavá kapsle-ranní: glukosamin sulfát (783 mg), jedlá želatina hydrolyzát (5 mg), přeslička rolní, konopice sp., rdesno ptačí, bršlice kozí noha, šišák bajkalský, Echinacea, jinan dvoulaločný, ženšen kořen, borůvka plod, ostropestřec mariánský, vrbovka sp., (celkem 37 mg), kapsle jedlá želatina.

Světlá kapsle-večerní: glukosamin sulfát (817 mg), chondroitin sulfát (40 mg), jedlá želatina hydrolyzát (5 mg), kapsle jedlá želatina.

Dávkování:

2 x denně 1 kapsle (tmavá-ráno, světlá-večer)

Číslo šarže: L10-040-04.01.

Podniková norma: PN HM 01/2007

Skladování:

Skladujte v suchém prostředí. Chraňte před přímým slunečním zářením a mrazem!

Hmotnost obsahu:

76,0 g

Výrobce:

Herbamedicus GmbH, 8027 Zürich, Switzerland ²⁷⁾

5. VÝSLEDKY

Výsledky chemické analýzy obsahových látek ve zkoumaných komerčních extraktech jsou uvedeny ve formě grafů a tabulek. Průměrné hodnoty jsou v tabulkách zvýrazněny.

Veškeré výsledky naměřených hodnot jsou průměrem ze tří samostatných stanovení.

5.1. Vyhodnocení jednotlivých vzorků

5.1.1. Silymarin Duo

Tabulka č. 4: METODA A

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,1003 g	Velmi mírný zákal, světle žlutá barva	2,26	0,00
2	0,1020 g	Bez zákalu, světle žlutá barva	2,25	0,00
3	0,1042 g	Bez zákalu, světle žlutá barva	2,23	0,00
		Průměr:	2,246	0,000

Tabulka č. 5: METODA B

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,0226 g	Světle žlutá barva, bez zákalu	1,76	0,00
2	0,0250 g	Světle žlutá barva, bez zákalu	1,82	0,02
3	0,0221 g	Světle žlutá barva, bez zákalu	1,79	0,01
		Průměr:	1,790	0,015

Tabulka č. 6: METODA C

navážka: 1,0056 g	
zjištěný flavonoid	obsah
vitexin	stopová množství
quercitrin	stopová množství
quercetin	stopová množství

ZTRÁTA SUŠENÍM:

5,31 %

5.1.2. Koenzymfit Plus

Tabulka č. 7: METODA A

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,0974 g	sytě žlutá barva, bez zákalu	0,45	0,00
2	0,1017 g	sytě žlutá barva, bez zákalu	0,57	0,00
3	0,1023 g	sytě žlutá barva, mírný zákal	0,58	0,00
		Průměr:	0,533	0,000

Tabulka č. 8: METODA B

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,0172 g	světle žlutý roztok, bez zákalu	0,15	0,02
2	0,0207 g	světle žlutý roztok, bez zákalu	0,10	0,01
3	0,0199 g	světle žlutý roztok, bez zákalu	0,12	0,01
		Průměr:	0,123	0,013

Tabulka č. 9: METODA C

navážka: 1,0016 g	
zjištěný flavonoid	obsah
hyperosid	stopové množství
quercitrin	stopové množství
quercetin	1,62 %

ZTRÁTA SUŠENÍM:

7,41 %

5.1.3. Ferimun

Tabulka č. 10: METODA A

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,1017 g	světle fialová barva, bez zákalu	0,01	0,00
2	0,1035 g	světle fialová barva, mírný zákal	0,01	0,00
3	0,1024 g	světle fialová barva, bez zákalu	0,01	0,00
		Průměr:	0,010	0,000

Tabulka č. 11: METODA B

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,0299 g	velmi slabě fialová barva, bez zákalu	0,02	0,03
2	0,0222 g	velmi slabě fialová barva, bez zákalu	0,01	0,01
3	0,0227 g	velmi slabě fialová barva, bez zákalu	0,02	0,02
		Průměr:	0,016	0,020

METODA C

Zjištěné obsahové látky byly pod hranicí citlivosti detektoru.

ZTRÁTA SUŠENÍM:

3,58 %

5.1.4. Silymar Plus

Tabulka č. 12: METODA A

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,1017 g	světle žlutá barva, bez zákalu	0,02	0,00
2	0,1011 g	světle žlutá barva, bez zákalu	0,01	0,00
3	0,0986 g	světle žlutá barva, bez zákalu	0,01	0,00
		Průměr:	0,013	0,000

Tabulka č. 13: METODA B

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,0226 g	světle žlutá barva, bez zákalu	0,01	0,00
2	0,0202 g	světle žlutá barva, bez zákalu	0,02	0,10
3	0,0215 g	světle žlutá barva, bez zákalu	0,02	0,10
		Průměr:	0,016	0,066

Tabulka č. 14: METODA C

navážka: 1,0002 g	
zjištěný flavonoid	obsah
vitexin	stopové množství
myricitrin	stopové množství
myricetin	stopové množství

ZTRÁTA SUŠENÍM:

6,68 %

5.1.5. Hepamar

Tabulka č. 15: METODA A

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,2777 g	sytě žlutý roztok	2,99	0,14
2	0,2704 g	sytě žlutý roztok	2,37	0,12
3	0,3009 g	sytě žlutý roztok	2,53	0,12
		Průměr:	2,630	0,126

Tabulka č. 16: METODA B

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,0566 g	sytě žlutý roztok, bez zákalu	0,27	0,01
2	0,0244 g	sytě žlutý roztok, bez zákalu	0,44	0,00
3	0,0223 g	sytě žlutý roztok, bez zákalu	0,45	0,00
		Průměr:	0,386	0,003

Tabulka č. 17: METODA C

navážka: 0,4009 g	
zjištěný flavonoid	obsah
quercetin	stopové množství
apigenin	stopové množství

5.1.6. Valecaps Plus

Tabulka č. 18: METODA A

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,1067 g	velmi světle žlutá barva, bez zákalu	0,20	0,00
2	0,1059 g	velmi světle žlutá barva, bez zákalu	0,22	0,04
3	0,1033 g	velmi světle žlutá barva, bez zákalu	0,18	0,00
		Průměr:	0,200	0,013

Tabulka č. 19: METODA B

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,0207 g	světle bílý až čirý roztok, bez zákalu	0,25	0,00
2	0,0199 g	světle bílý až čirý roztok, bez zákalu	0,26	0,00
3	0,0217 g	světle bílý až čirý roztok, bez zákalu	0,25	0,00
		Průměr:	0,253	0,000

Tabulka č. 20: METODA C

Navážka: 1,0003 g	
zjištěný flavonoid	obsah
quercetin	stopové množství

ZTRÁTA SUŠENÍM:

5,25 %

5.1.7. Arthrorevital Complex

Tabulka č. 21: METODA A

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,1020 g	světle žlutý roztok, bez zákalu	0,52	0,01
2	0,1147 g	světle žlutý roztok, bez zákalu	0,58	0,04
3	0,1043 g	světle žlutý roztok, bez zákalu	0,50	0,07
		Průměr:	0,533	0,040

Tabulka č. 22: METODA B

	Navážka	Vzhled roztoku	Obsah v %	
			Baicalin	Baicalein
1	0,0241 g	velmi světle žlutý roztok, bez zákalu	0,65	0,00
2	0,0210 g	velmi světle žlutý roztok, bez zákalu	0,62	0,00
3	0,0273 g	velmi světle žlutý roztok, bez zákalu	0,75	0,01
		Průměr:	0,673	0,003

Tabulka č. 23: METODA C

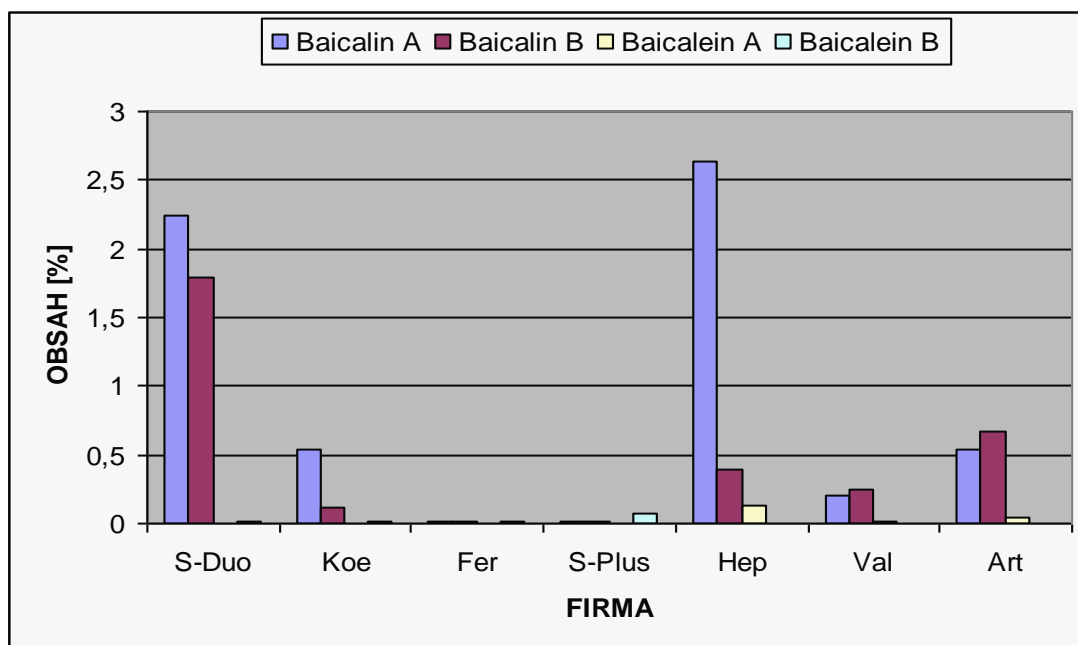
navážka: 1,0035 g	
zjištěný flavonoid	obsah
quercetin	stopové množství
apigenin	stopové množství

ZTRÁTA SUŠENÍM:

0,59 %

5.2. Souhrnné vyhodnocení

Graf č. 5: Souhrnné vyhodnocení vzorků



Tabulka č. 24: Detailní hodnoty ke grafu

	S-Duo	Koe	Fer	S-Plus	Hep	Val	Art
Baicalin A	2,246	0,533	0,010	0,013	2,630	0,200	0,533
Baicalin B	1,790	0,123	0,016	0,016	0,386	0,253	0,673
Baicalein A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,126	0,013	0,040
Baicalein B	0,015	0,013	0,020	0,066	0,003	0,000	0,003

Zjištěné hodnoty v %

A... hodnoty získané při metodě A (na vodní lázni)

B...hodnoty získané při metodě B (ultrazvuk)

Tabulka č. 25: Hmotnosti tablet

navážka (g)	FIRMA						
	S-Duo	Koe	Fer	S-Plus	Hep	Val	Art
1	0,4431	0,3123	0,4900	0,3584	0,5364	0,3865	0,7677
2	0,4313	0,3525	0,5203	0,3434	0,5032	0,3713	0,8682
3	0,4374	0,2747	0,5033	0,3389	0,5471	0,3872	0,6712
průměr	0,4373	0,3132	0,5045	0,3469	0,5289	0,3817	0,7690

S-Duo...Silymarin Duo

Koe...Koenzymfit Plus

Fer...Ferimun

S-Plus...Silymar Plus

Hep...Hepamar

Val...Valecaps Plus

Art...Arthrorevital Complex

6. DISKUZE

Tato práce tématicky i obsahově navazuje na moji diplomovou práci, jež se zabývala monokomponentními doplňky stravy s obsahem *Scutellaria baicalensis*. Základní linií této práce je stanovení flavonoidů u polykomponentních doplňků stravy, jejichž součástí je šišák bajkalský doplněný o další drogy. Využití šišáku bajkalského pokrývá širokou paletu účinků, doplňky stravy vyskytující se na území ČR však zahrnují jen dvě základní indikace a to účinek ovlivňující jaterní funkce (spolu se *Silybum marianum*) a sedativní účinek (podpořený dalšími sedativními drogami).

Cílem této práce bylo stanovit obsah baicalinu, baicaleinu potažmo i dalších flavonoidů vyskytujících se v komerčně dostupných doplňcích stravy na území České republiky. Analyzováno bylo šest DS od výrobců z ČR a jeden zástupce ze Švýcarska. Zkoumané přípravky byly ve dvou typech lékových forem (měkké tobolky - *Capsulae molles* a tvrdé tobolky - *Capsulae durae*).

Každý vzorek byl extrahován pomocí tří odlišných metod. První využívala klasickou extrakci methanolem za tepla, druhá extrakci osmdesátiprocentním methanolem pomocí ultrazvuku. Třetí metoda sloužila k extrakci a analýzám ostatních flavonoidů (tedy mimo baicalin a baicalein). U vzorků se hodnotila i legislativa, údaje byly získány z etikety jednotlivých doplňků a byly zároveň doplněny i o údaje získané z webových stránek výrobců. U jednotlivých vzorků byly provedeny lékopisné zkoušky na ztrátu sušením a vizuální kontrolu roztoku (potenciální zákal a barva). V závěru byly informace o účincích přípravků dodávaných výrobcem konfrontovány se skutečnou, vědecky podloženou biologickou aktivitou.

Experiment č.1: Doplněk stravy Silymarin Duo

Procentuální zastoupení baicalinu bylo 2,246 % (A) a 1,790 (B). Obsah baicaleinu byl velmi nízký a to 0,000 % (A) a 0,015 % (B). Flavonoidy zjištěné pomocí metody C byly jen ve stopovém množství. Připravené extrakty byly ve většině případů bez zákalu a světle žluté barvy.

Údaje uváděné výrobcem na etiketě byly velmi rozsáhlé, dalo by se říci, že do jisté míry nahrazovaly příbalovou informaci. Výrobce zde uvádí informace o složení přípravku, užití jednotlivých složek a vše detailně popisuje. Jako jediný výrobce má na etiketě uveden i výtah z chemické analýzy. Popisované účinky se shodují s vědecky ověřenými.

Po přepočítání obsahu flavonoidů v jedné tabletě vychází hodnoty baicalinu na 9,82 mg a baicaleinu na 0,067 mg. Výrobcem je deklarován obsah 55 mg suchého extraktu *S. baicalensis*, což by při použití kvalitního extraktu a dobré technologie výroby znamenalo obsah baicalinu minimálně 30 až 40 mg. Podle zjištěných hodnot patří tento doplněk stravy ke kvalitnějším zástupcům, i když dle doporučení užívat jednu tobolku denně se jeví obsah jako nedostatečný.

Experiment č.2: Doplněk stravy Koenzymfit Plus

Procentuální zastoupení baicalinu bylo 0,533 % (A) a 0,123 % (B) a baicaleinu 0,000 % (A) a 0,013 % (B). Flavonoidy zjištěné pomocí metody C byly jen ve stopovém množství, jediný quercetin dosahoval 1,62 %. Analyzované extrakty byly žluté barvy, bez zákalu.

Uváděné informace byly spíše základního charakteru, popisované účinky se týkaly směsi jako celku a ne jednotlivých složek.

Výrobcem udávané množství extraktu v jedné tabletě (100 mg) je nadhodnocené, neboť podle výsledků byl použit méně kvalitní suchý extrakt. Množství flavonoidů po přepočítání na jednu tabletu vychází obsah baicalinu na 1,66 mg a baicaleinu na

0,04 mg. Dle doporučení výrobce užívat jednu tobolku denně je obsah flavonoidů nedostatečný.

Experiment č.3: Doplněk stravy Ferimun

Procentuální zastoupení baicalinu bylo 0,010 % (A) a 0,016 % (B) a baicaleinu 0,000 % (A) a 0,020 % (B). Další flavonoidy přítomné v extraktu nemohly být analyzovány, neboť jejich koncentrace byly pod hranicí citlivosti detektoru. Připravené extrakty měly fialovou barvu a byly bez zákalu .

Uváděné informace byly již rozsáhlejší oproti předcházející firmě, byly uvedeny % DDD některých složek a vyzdvižena jedna riziková skupina, pro kterou přípravek není vhodný a to děti do 10 let.

Výrobce ve složení neudává množství použitého extraktu v jedné tobolce. Po přepočítání množství flavonoidů v jedné kapsli vychází obsah flavonoidů na 0,08 mg baicalinu a 0,1 mg baicaleinu. I vzhledem k doporučení užívat 2 až 3 tobolky za den je obsah flavonoidů nedostatečný.

Experiment č.4: Doplněk stravy Silymar Plus

Procentuální zastoupení baicalinu bylo 0,013 % (A) a 0,016 % (B) a baicaleinu 0,00 % (A) a 0,066 % (B). Flavonoidy zjištěné pomocí metody C byly jen ve stopovém množství. Analyzované extrakty byly světle žluté barvy a bez zákalu.

Detoxikační účinek je dle výrobce přisuzován všem komponentám přípravku, dle studií má však šišák účinky jen hepatoprotektivní. Ostatní užití drog ze směsi se shoduje s ověřenými účinky.

Obsah flavonoidů neodpovídá udávanému množství extraktu (50 mg) v jednotce lékové formy. Po přepočítání obsahu flavonoidů v jedné tobolce vychází hodnoty baicalinu na 0,06 mg a baicaleinu na 0,23 mg. Dle doporučení užívat jednu tobolku denně se jeví obsah jako nedostatečný.

Experiment č.5: Doplněk stravy Hepamar

Procentuální zastoupení baicalinu bylo 2,630 % (A) a 0,386 % (B) a baicaleinu 0,126 % (A) a 0,003 % (B). Flavonoidy zjištěné pomocí metody C byly jen ve stopovém množství. Analyzované extrakty byly sytě žluté barvy a bez zákalu.

Tento doplněk stravy má uváděné informace opět rozsáhlejšího charakteru. Detailněji jsou popsány rizikové skupiny, pro něž přípravek není vhodný a je zdůrazněno, že přípravek není vhodný pro dlouhodobější užívání, mimoto je detailněji také popsáno složení měkké želatinové kapsle. Uváděné účinky se shodují s vědecky potvrzenými.

Dle výrobce je v jedné kapsli obsaženo 30 mg extraktu, dle výsledků analýzy byl použit kvalitnější extrakt v porovnání s ostatními firmami. Po přepočítání množství flavonoidů na jednotku lékové formy vychází množství baicalinu na 13,9 mg a baicaleinu na 0,67 mg. Vzhledem k doporučení užívat jednu kapsli denně je obsah flavonoidů dostatečný.

Experiment č.6: Doplněk stravy Valecaps Plus

Procentuální zastoupení baicalinu bylo 0,200 % (A) a 0,253 % (B) a baicaleinu 0,013 % (A) a 0,00 % (B). Flavonoidy zjištěné pomocí metody C byly jen ve stopovém množství. Analyzované extrakty byly velmi světle žluté až bílé barvy, bez zákalu.

Uváděné údaje jsou běžného charakteru a rozsahu. Charakteristika účinků odpovídá deklarovaným a všeobecně známým pro drogy, jež jsou součástí tohoto doplňku.

Obsah flavonoidů neodpovídá udávanému množství extraktu (25 mg) v jednotce lékové formy. Po přepočítání obsahu flavonoidů v jedné tobolce vychází hodnoty baicalinu na 0,97 mg a baicaleinu na 0,05 mg. Dle doporučení užívat jednu až dvě tobolky denně se jeví obsah jako nedostatečný.

Experiment č.7: Doplněk stravy Arthreovital Complex

Procentuální zastoupení baicalinu bylo 0,533 % (A) a 0,673 % (B) a baicaleinu 0,040 % (A) a 0,003 % (B). Flavonoidy zjištěné pomocí metody C byly jen ve stopovém množství. Analyzované extrakty byly světle žluté barvy, bez zákalu.

Informace uváděné na etiketě jsou detailního charakteru. Pro každou složku jsou uvedeny účinky, které se ve většině případů shodují s vědecky ověřenými. Jen údaj, že šišák příznivě působí na pohybové ústrojí, se mi nezdá vhodně zvolený. Jediný účinek z vědecky ověřených, který by mohl mít vliv na pohybový aparát je protizánětlivý účinek, potažmo ovlivnění tvorby kyseliny močové.

Výrobce ve složení neudává množství použitého extraktu v jedné kapsli. Po přepočítání množství flavonoidů v jedné tobolce vychází obsah flavonoidů na 5,17 mg baicalinu a 0,31 mg baicaleinu. Vzhledem k doporučení užívat 1 tobolku za den je obsah flavonoidů nedostatečný.

7. ZÁVĚR

V průběhu vypracování rigorózní práce byla zvládnuta technika přípravy extraktů s obsahem *Scutellaria baicalensis* a dalších doplňkových drog s různým farmakologickým účinkem. Ze sedmi polykomponentních doplňků stravy, které byly dostupné na území ČR v roce 2010, byly vytvořeny extrakty pomocí tří metod. Tyto extrakty byly hodnoceny podle obsahu baicalinu, baicaleinu a dalších, často se vyskytujících flavonoidů.

Při analýze extraktů pomocí HPLC se potvrdila domněnka, že metoda využívající ultrazvuk je pro extrakci sledovaných flavonoidů vhodnější.

Porovnáním výše zmíněných doplňků stravy s obsahem šišáku bajkalského bylo zjištěno, že kvalita těchto doplňků je značně rozdílná. Rovněž množství a kvalita informací uvedených na obalu se značně lišila, ve většině případů byly tyto informace komplexnější než u dříve analyzovaných monokomponentních doplňků stravy.

Experiment č. 1: Silymarin Duo

Údaje na etiketě byly nejkompexnějšího charakteru. Výrobce uvedl rizikové skupiny, pro něž není užívání doplňku vhodné. Informace o obsažených drogách byly velmi detailní v porovnání s ostatními firmami. Jako jediná firma zde uvedla výtah z chemické analýzy. Po obsahové i legislativní stránce byl tento doplněk stravy kvalitní.

Experiment č. 2: Koenzymfit Plus

Údaje na etiketě byly základního charakteru. Popisované účinky se týkaly směsi drog jako celku a ne jednotlivých složek. Na etiketě chyběly údaje o vhodnosti v době těhotenství a laktace. Po obsahové a legislativní stránce byl tento doplněk stravy průměrný.

Experiment č. 3: Ferimun

Údaje na etiketě byly opět základního charakteru. Ve složení tobolky chyběl údaj o množství suchého extraktu. Výrobce neuvedl vhodnost užívání v období těhotenství a laktace. Nebyly zde uvedeny ani informace o alergenech. Po obsahové i legislativní stránce byl tento doplněk stravy průměrný.

Experiment č. 4: Silymar Plus

Údaje o účincích směsi byly již komplexnější, nebyly však popsány jednotlivé drogy. Chybělo zde uvedení vhodnosti pro rizikové skupiny nebo obsah případných alergenů. Po legislativní i obsahové stránce byl tento doplněk stravy spíše průměrný.

Experiment č.5: Hepamar

Údaje uváděné výrobcem byly komplexnějšího charakteru. Tato firma detailně uvedla rizikové skupiny a složení kapsle. Po legislativní a obsahové stránce patřil tento doplněk stravy k nadprůměrným.

Experiment č. 6: Valecaps Plus

Údaje o účincích byly základního charakteru. Složení tobolky bylo detailněji popsáno. I tento výrobce neuvedl vhodnost užívání v období těhotenství a laktace. Nebyly zde uvedeny ani informace o alergenech. Po obsahové i legislativní stránce byl tento doplněk stravy průměrný.

Experiment č.7 : Arthrorevital Complex

Údaje na etiketě byly komplexnějšího charakteru. Výrobce uvedl rizikové skupiny, pro něž není užívání doplňku vhodné. Informace o obsažených drogách byly velmi detailní v porovnání s ostatními firmami. Výrobce neuvedl množství extraktů pro jednotlivé drogy. Z legislativního i obsahového hlediska byl tento doplněk stravy mírně nadprůměrný.

8. LITERATURA

1. Zákon č. 120/2008 Sb. Parlamentu České republiky o potravinách a tabákových výrobcích, ve Sbírce zákonů, Česká republika 2008, 38, s. 1512
2. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2002/46/ES o sblížení právních předpisů členských států týkajících se doplňků stravy
3. Michalová I.: Doplňky stravy (Potraviny k doplnění jídelníčku), Sdružení českých spotřebitelů, Praha 2007, s.7,12-16
4. Seminář č.1 z předmětu Farmaceutická péče- samoléčení, Doseděl M.,Tlustá E. (24.3.2009)
5. internet:
<http://www.aislp.cz/cs/pfapzt> (18.7.2010)
6. Mach I.: Doplňky stravy vyd. 1., Svoboda servis, Praha 2004, s.8-9, 23-24, 27
7. Vyhláška č. 113/2005 Sb. Ministerstva zemědělství o způsobu označování potravin a tabákových výrobků, ve Sbírce zákonů, Česká republika 2005, 37, s.1163-1170
8. příloha č. 1 k vyhlášce č. 113/2005 Sb. (368/2005) Ministerstva zemědělství o způsobu označování potravin a tabákových výrobků, ve Sbírce zákonů, Česká republika 2005, 127, s.6247
9. internet:
<http://www.sukl.cz/rozlisenidoplнкуstravyodlecivychpripravku?highlightWords=dopl%C5%88k%C5%AF+stravy> (27.11.10)
10. internet:
<http://www.sukl.cz/kdo-a-jakym-zpusobem-v-cr-schvaluje-dopluky-stravy?highlightWords=pr%C3%A1vn%C3%AD+regulace+dopl%C5%88k%C5%AF+stravy+31.12.2009> (26.7.2010)
11. Vědecký výbor pro potraviny Státního zdravotního ústavu v Brně (VVP: INFO/2006/6/deklas/DS-PNT add1), s.6

12. internet:

http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/novelfood/nfnetweb/mod_search/index.cfm (26.7.2010)

13. internet:

http://eregal.ihned.cz/c4-10030060-19992710-10A000_d-doplanky-stravy-a-leky-kupuje-informovany-spotrebitei (2.12.2010)

14. internet:

<http://www.lfl.bayern.de/ipz/heilpflanzen/36823/> (18.8.2010)

15. internet:

<http://www.eol.org/pages/2894226> (18.8.2010)

16. Tomko J.: Farmakognózia, Osveta, Martin 1999, s.181-183

17. Moravcová J.: Biologicky aktivní přírodní látky - VŠCHT, interní studijní pomůcka, Praha 2006, s. 38-41

18. Hubík J. et al.: Obecná farmakognozie II., SPN, Praha 1989, s. 34

19. Winkel-Shirley B.: Plant Physiol. 126, 485-493 (2001)

20. Martin J.: Disertační práce, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova 2006, s. 29

21. internet:

<http://www.davinciacademia.cz/silymarin-duo/> (18.8.2010)

22. internet:

http://www.virde.cz/eshop/select_det.php?id_vyrobek=140&str=1&sada=1&skupina_back=91&klic=&kod=&od=0&do=100000&razeni=Kat_cislo&rozsah=&parents=-1,91 (18.8.2010)

23. internet:

<http://www.lekarna.cz/ferimun-tob-60-s-obsahem-prirodniho-zeleza/> (18.8.2010)

24. internet:

http://www.virde.cz/eshop/select_det.php?id_vyrobek=257&oddil=1 (18.8.2010)

25. internet:

<http://www.noventis.cz/1073-hepamar/> (18.8.2010)

26. internet:

<http://eshop.farmax.cz/produkt/valecaps-plus> (18.8.2010)

27. internet:

<http://www.herbamedicus.cz/produkty.php?id=5> (18.8.2010)

28. internet:

<http://www.sukl.cz/rozliseni-dopluku-stravy-od-lecivych-pripravku> (3.8.2010)

29. internet:

<http://www.itmonline.org/arts/coxsackie.htm> (18.8.2010)

30. Chládeková L.: Diplomová práce, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova 2009, 10 a 30-40

31. Willis J.C.: A dictionary of the flowering plants and ferns, 7th ed., Cambridge University press UK 1966

32. Bruno M., Piozzi F. et al.: Biochemical systematics and ecology 30,793-799 (2002)

33. Jiangsu new medical college.: Dictionary of chinese materia medica, Science and technology press of Shanghai, 1977

34. Ministry of Health and Welfare of Japan, The Japanese Pharmacopoeia 13th ed., Tokyo 1996

35. Ministry of Public health, Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China, Beijing 2000

36. Ministry of Health and Welfare of Korea, Pharmacopoeia of the Republic of Korea, 7th ed., Taechan yakjon 1998

37. Xiaofrei S., Xirui H. et al.: J. Ethnopharmacol. 128, 279-313 (2010)

38. Zeng G.F., Chen Z.L.: Yao Xue Xue Bao 1, 47 (1957)

39. Lim B.O.: J. Ethnopharmacol. 84, 23-29 (2003)

40. Tomimori T., Miyaichi Y. et al.: Chem. Pharm. Bull. 33, 4457 - 4463 (1985)

41. Hussain H., Ahmad V.U. et al.: Biochemical systematics and ecology 36, 490-492 (2008)

42. Bruno M., Vassallo N. et al.: Phytochem. 50, 973 - 976 (1999)

43. Ma S.C., Du J. et al.: J. Ethnopharmacol. 79, 205 - 211 (2002)

44. Skaltsa H.D., Lazari D.M. et al.: *Planta Med.* 66, 672 - 674 (2000)
45. Yaghmai M.S.: *Flavour and Fragrance J.* 3, 27 (1988)
46. Katsuya F., Takane F. et al.: *Agricultural Biol. Chem.* 51, 1449 (1987)
47. Zhu P.Y., Liu G.Q.: *J. Plant Res. Environ.* 2, 63 - 64 (1993)
48. Miyaichi Y., Morimoto T. et al.: *J. Nat. Med.* 60, 157 - 158 (2006)
49. Yang L.X., Liu D. et al.: *China J. Chinese Materia Medica* 27, 166 - 170 (2002)
50. Cole I.B., Farooq F.T. et al.: *Methods. Mol. Biol.* 547, 155 - 165 (2009)
51. Tascan A.: A Thesis Presented to the Graduate School of Clemson University 2007, s. 16 - 20
52. Dušek J., Martin J.: *Čes. Slov. Farm.* 51, 277 - 283 (2002)
53. Grinevitch I., Brekhman I. et al.: *Chin. Med.* 9, 134 (1981)
54. Cole I.B., Murch S.J. et al.: *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 43, 318 - 327 (2007)
55. Arcimovičová J.: *Regenerace* 13, 43 (2005)
56. Kumagai T. et al.: *Leukemia Research* 31, 523 - 530 (2007)
57. Li-Weber M.: *Cancer Treat. Rev.* 35, 57 - 68 (2009)
58. Blaszczyk T., Krzyzanowska J et al.: *Nordic J. Bot.* 5, 421 - 439 (2000)
59. Yang Z.C., Wang B.C. et al.: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 41, 79 - 81 (2005)
60. Wang H.H., Chen C.F. et al.: *J. Ethnopharm.* 73, 185 (2000)
61. Park H.G., Yoon S.Y. et al.: *Eur. J. Pharmacol.* 574, 112 - 119 (2007)
62. Hui K.M., Michael S.Y. et al.: *Biochem. Pharmacol.* 64, 1415 - 1424 (2002)
63. Park H.G., Choi J.Y. et al.: *J. Appl. Pharmacol.* 14, 83 - 89 (2006)
64. Takeuchi A., Takeuchi N.: *J. Physiol.* 205, 377 - 391 (1969)
65. Ramanjaneyulu R., Ticku M.K.: *Eur. J. Pharmacol.* 98, 337 - 345 (1984)
66. Wang Q., Han Y. et al.: *CNS Drug. Rev.* 5, 125 - 144 (1999)
67. Weinshenker D., Szot P.: *Pharmacol. Ther.* 94, 213 - 233 (2002)
68. Lin C.C., Shied D.E. et al.: *J. Ethnopharm.* 56, 193 - 200 (1997)
69. Johan G., Quiney B. et al.: *Mutation research* 578, 15 - 22 (2005)
70. Schinella G.R., Tournier H.A. et al.: *Life Sciences* 70, 1023 - 1033 (2002)
71. Shao Z.H., Li C.Q. et al.: *J. Mol. Cell. Cardiology* 31, 1885 - 1895 (1999)

72. Choi J., Conrad C.C. et al.: *Biochem. et Biophys. Act. Gen. Subj.* 1571, 201 - 210 (2002)
73. Shang Y.Z., Cheng J.J. et al.: *Pharmacol. Biochem. and Behavior* 82, 67 - 73 (2005)
74. Zhang Y.Y., Wang X.Y. et al.: *J. Ethnopharm.* 108, 355 - 360 (2006)
75. Kim Y.O., Leem K. et al.: *J. Ethnopharm.* 77, 183 - 188 (2001)
76. *The Japanese Pharmacopoeia XIV 2. vol.*, Ministry of Health and Welfare, Tokyo 2001, s. 1042-1043
77. Valíček P.: *Flora a pěstitel* 10, 22 (1994)
78. Valíček P. et al.: *Léčivé rostliny tradiční čínské medicíny*, Svítání, Hradec Králové 1998, s. 244
79. Kimura Y., Okuda H. et al.: *J. Nat. Prod.* 60, 598 (1997)
80. Kimura Y., Yokoi K. et al.: *J. Pharm. Pharmacol.* 49, 816 (1997)
81. Kimura Y., Matsushita N. et al.: *Planta Med.* 67, 331 (2001)
82. *Český lékopis 2002 1. díl*, Grada Publishing, Praha 2002, s. 154, 415
83. internet:
<http://public.ksrzis.cz/snzt/rrh/index.html> (18.12.2010)

9. ABSTRAKT

Název práce:

Kvalita doplňků stravy s obsahem šiřáku bajkalského

Autor:

Lenka Dvořáková

Práce byla zaměřena na stanovení hlavních flavonoidů ze *Scutellaria baicalensis* a nejčastěji se vyskytujících flavonoidech v dalších drogách, jež byly součástí polykomponentních doplňků stravy analyzovaných v této práci. Ze zkoumaných preparátů byly vždy připraveny tři extrakty, které se lišily koncentrací použitého methanolu a teplotou při přípravě. Z výsledků vyplývá, že vyšší obsah sledovaných látek byl ve většině případů u extraktů připravených pomocí ultrazvuku za nižší teploty. Tyto extrakty byly připraveny z tvrdých tobolek - *capsulae durae*. Naopak u extraktu získaného z měkkých tobolek - *capsulae moles*, byly naměřené hodnoty vyšší u extraktu připraveného za pomoci lázně. Mezi firmami byly značné rozdíly v naměřených hodnotách a také informace uváděné na etiketě byly rozdílně obsáhlé.

ABSTRACTName of the work:

The quality of the dietary supplements with content skullcap

Author:

Lenka Dvořáková

The work was targeted on the determination of main flavonoids from skullcap and most often incident flavonoids in the other herbs, which have been by part of polykomponents dietary supmements analyzed in this work. Three extracts from each preparation were prepared under different conditions. The highest amount of flavonoids was achieved in most of cases by extraction in ultrasonic bath and for using lower temperature. These extracts were prepared from *capsulae durae*. By contraries by extract prepared from *capsulae moles*, were measured levels (values) higher by extract prepared by using of water bath. Between companies were large differences in measured values and so informations featured on covers were too differently large.

10. OBRAZOVÁ PŘÍLOHA

Obrázek č. 7: Detail květu ¹⁵⁾



Obrázek č. 8: Detail drogy ¹⁴⁾



Obrázek č. 9: Doplněk stravy Valecaps Plus



Obrázek č. 10: Valecaps Plus - detail tobolek



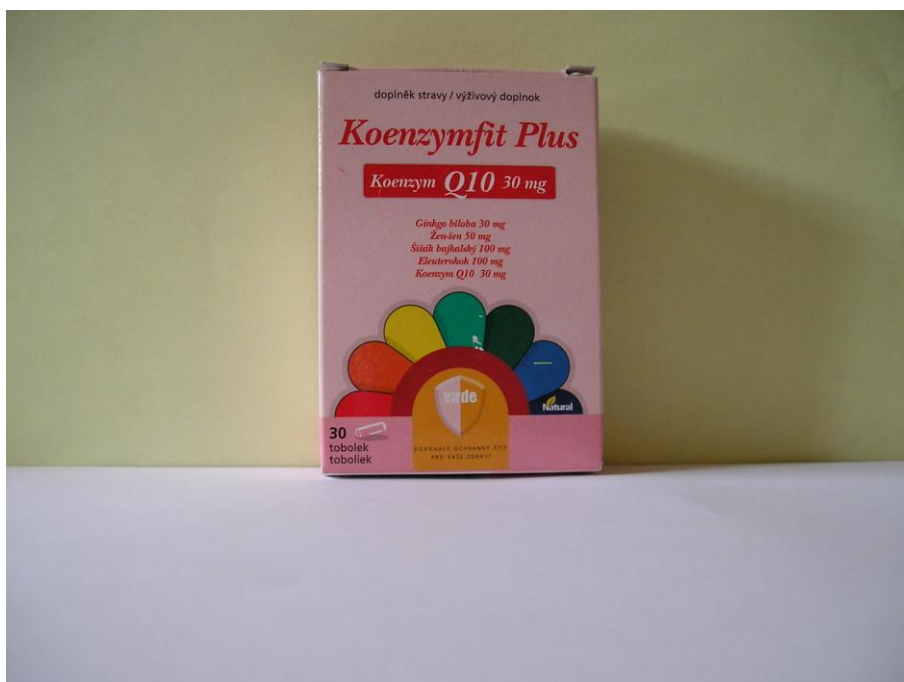
Obrázek č. 11: Doplněk stravy Ferimun



Obrázek č. 12: Ferimun - detail tobolek



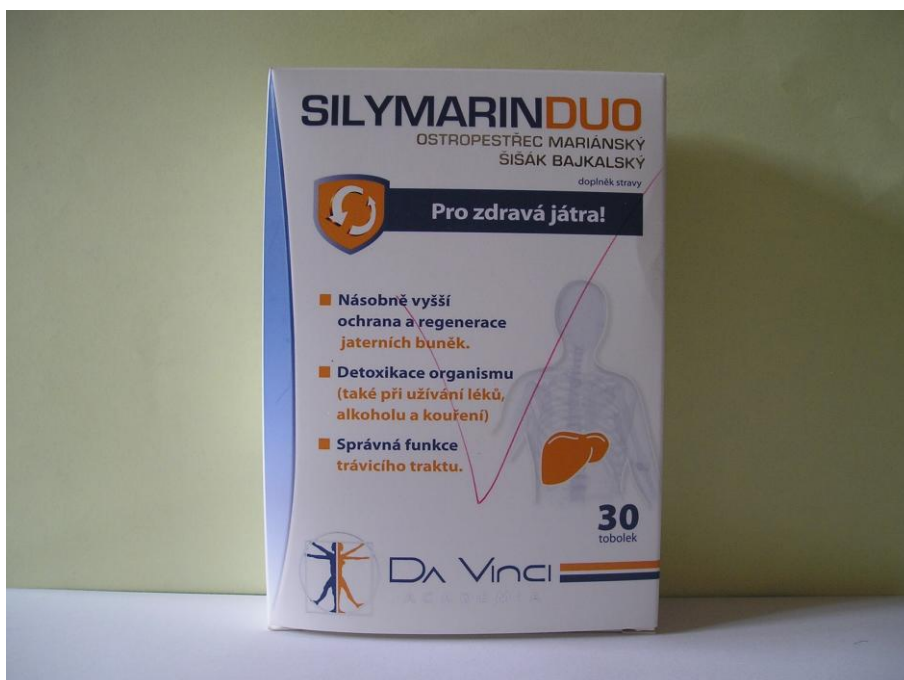
Obrázek č. 13: Doplněk stravy Koenzymfit Plus



Obrázek č. 14: Koenzymfit Plus - detail tobolek



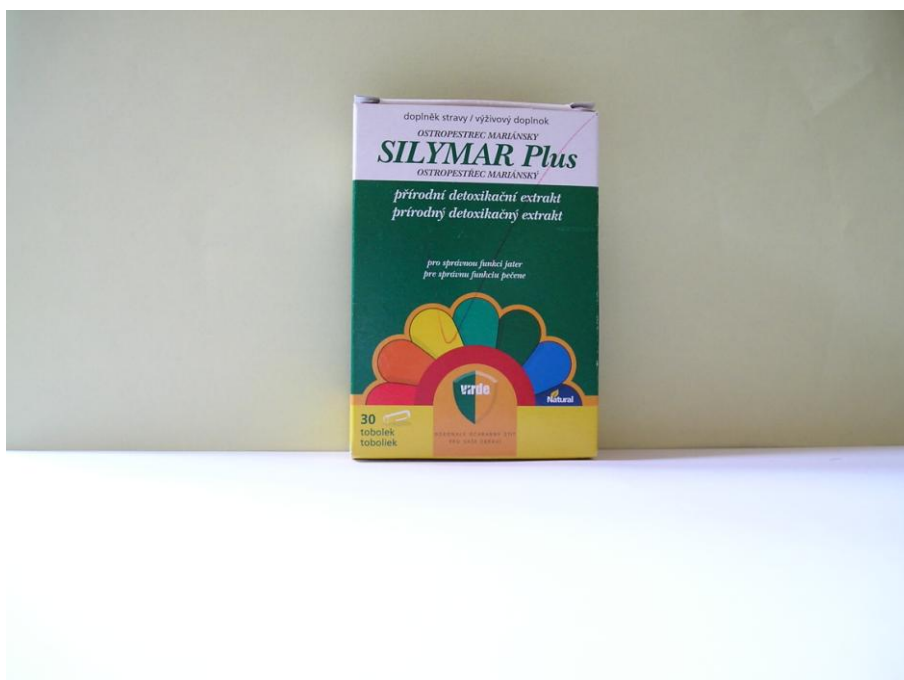
Obrázek č. 15: Doplněk stravy Silymarin Duo



Obrázek č. 16: Silymarin Duo - detail tobolek



Obrázek č. 17: Doplněk stravy Silymarin Plus



Obrázek č. 18: Silymar Plus - detail tabletek



Obrázek č. 19: Doplněk stravy Hepamar



Obrázek č. 20: Hepamar - detail tobolek



Obrázek č. 21: Doplněk stravy Arthrorevital Complex



Obrázek č. 22: Arthrorevital Complex - detail tobolek

