UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA FARMACEUTICKÉ BOTANIKY A EKOLOGIE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

ÚČINKY FLAVONOIDŮ NA KARDIOVASKULÁRNÍ SYSTÉM

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

HRADEC KRÁLOVÉ, 2014 **Pavlína Šramarová**

Poděkování

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování PharmDr. Janě Karlíčkové, Ph.D., za její rady a trpělivost při vedení této bakalářské práce, za vstřícnost a pomoc při získání potřebných informací a podkladů.

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

V Hradci Králové, květen 2014

……..……..……

1. Obsah

1. Obsah 4

2. Úvod 6

3. Zadání – cíl práce 7

4. TEORETICKÁ ČÁST 8

4.1 Antioxidační a prooxidační vlastnosti flavonoidů 8

4.1.1 Úvod 8

4.1.2 Flavonoidy jako antioxidanty 8

4.1.3 Flavonoidy jako prooxidanty 16

4.1.4 Závěry 20

4.2 Čajové flavonoidy a kardiovaskulární zdraví 20

4.2.1 Flavonoidy v čaji 22

4.2.2 Čaj a kardiovaskulární onemocnění: výsledky populačních studií 22

4.2.3 Ateroskleróza: lidské a zvířecí modelové studie 23

4.2.4 Endoteliální funkce 24

4.2.5 Krevní tlak 24

4.2.6 Oxidační stres 25

4.2.7 Redukce cholesterolu 25

4.2.8 Tělesná váha, složení těla a viscerální tuk 25

4.2.9 Závěry 26

4.3 Chemoprotektivní účinky přírodních látek - epigallokatechin – 3-O - gallátu, kvercetinu a kurkuminu – před rakovinou a kardiovaskulárním onemocněním 26

4.4 Nitroděložní vystavení flavonoidům modifikuje antioxidační status v dospělosti a snižuje oxidativní stres, vyvolaný poškozením DNA 27

4.5 Inhibiční účinky černé soji na aktivaci krevních destiček zprostředkovanou jejich aktivní složkou adenosinem 28

4.6 Náhled na flavonoidy v potravě jako na molekuly, které by mohly být předlohou pro koncepci protidestičkové léčby 28

4.7 Tangeretin stimuluje vychytávání glukózy prostřednictvím regulace signalizačních drah AMPK (adenosinmonofosfát-protein kinázy) v C2C12 myotubulech a zlepšuje glukózovou toleranci při podávání potravy s vysokým obsahem tuku, které vyvolává u myší obezitu 29

4.8 Účinky konzumace hořké čokolády na oxidativní stres v lipoproteinech a v krevních destičkách u žen a mužů 29
4.9 Vazoprotektivní účinek extraktu z Achillea millefolium 30
4.10 Fytochemický a farmakologický potenciál Medicago sativa 31
4.11 Anthokyaniny v kardiovaskulárním onemocnění 31
4.12 Rod Pelyněk: Komplexní revue 33
4.13 Flavonoidy - antioxidanty: chemie, metabolismus a vztahy mezi strukturou a aktivitou 34
4.13.1 Úvod 35
4.13.2 Klasifikace a chemická struktura 36
4.13.3 Absorpce a metabolismus 37
4.13.4 Strukturní vlastnosti a antioxidační aktivita 40
4.13.5 Inhibice RNS (reaktivních forem dusíku) flavonoidy 41
4.13.6 Strukturní znaky flavonoidů, chelatujících kovy 41
4.13.7 Prooxidační aktivita 42
4.13.8 Souhrn a závěr 43
4.14 Fenolické sloučeniny z rostlin jako inhibitory produkce oxidu dusnatého 44
4.14.1 Flavonoidy 44
4.15 Suplementace stravy kvercetinem výrazně zvyšuje koncentraci kvercetinu v plazmě bez vlivu na vybrané rizikové faktory srdečních onemocnění u zdravých jedinců 45

5. Diskuse 46

6. Závěr 48

7. Abstrakt 49

8. Abstract 50

9. Použité zkratky 51

10. Použitá literatura 53

2. Úvod

V práci, kterou jsem si vybrala, se budu snažit přiblížit tématiku flavonoidů, jakožto látek, které jsou sice známé, ale některé jejich účinky a mechanismus působení nejsou v některých případech stále blíže objasněny, nebo nejsou v širší veřejnosti vůbec známy. Protože jsem sama neměla o flavonoidech hluboké znalosti a neměla představu o všech možných účincích těchto látek, tak mě samotnou toto téma oslovilo, a proto jsem se rozhodla zvolit si jej jako předmět své bakalářské práce.

Kardiovaskulární onemocnění jsou jednou z nejrozšířenějších příčin úmrtí současné doby. Na jejich vzniku se podílí mnoho faktorů, které mohou být ovlivnitelné, nebo neovlivnitelné. Mezi nejrozšířenější kardiovaskulární onemocnění, při němž jsou postiženy cévy, patří ateroskleróza, která je později příčinou ischemické choroby srdeční. Příznivý vliv na snížení výskytu těchto onemocnění mají právě flavonoidy, které zvyšují pružnost kapilár.

Flavonoidy jsou sloučeniny, které se běžně vyskytují v přírodě a náleží do skupiny rostlinných sekundárních metabolitů. V posledních letech byl zaznamenán zvýšený zájem o jejich studium, jelikož mají blahodárné účinky na lidské zdraví. Flavonoidy jsou často spojovány především s výskytem v červeném víně či kakau, což jsou produkty známé v populaci po dlouhou dobu a jejich konzumace je značně rozšířena. V práci se těmito dvěma komoditami budu také zabývat, ale rovněž i dalšími, méně známými rostlinnými produkty, které obsahují flavonoidy, jelikož se jedná o velice rozšířenou skupinu látek.

V této práci se budu zabývat především účinky flavonoidů na kardiovaskulární systém, mezi které patří např. antioxidační aktivita. U některých flavonoidů byly prokázany i prooxidační vlastnosti, které působí pro organismus negativně. Důležitým faktorem pro účinky flavonoidů je jejich struktura.

Hlavním cílem mé práce je tedy pokus o shromáždění významných dosud probádaných poznatků a výsledků o flavonoidech, o jejich účincích především na kardiovaskulární systém, ale i o jejich dalších příznivých účincích na lidské zdraví.

3. Zadání – cíl práce

Cílem této bakalářské práce bylo shromáždit poznatky ze současné odborné literatury o účincích flavonoidů na kardiovaskulární systém.

4. TEORETICKÁ ČÁST

4.1 Antioxidační a prooxidační vlastnosti flavonoidů

Díky možným pozitivním účinkům flavonoidů na lidské zdraví, jako je vychytávání radikálů a silná antioxidační aktivita *in vitro*, se zájem o jejich výzkum zvýšil. Antioxidanční účinky flavonoidů *in vivo* jsou ale méně zdokumentovány a jejich prooxidační vlastnosti *in vivo* byly teprve popsány. Díky jejich prooxidačním vlastnostem jsou schopny oxidativního poškození tím, že reagují s různými biomolekulami, jako s lipidy, proteiny a DNA. Proto je cílem tohoto revue zhodnotit jak antioxidační, tak prooxidační účinky flavonoidů.

4.1.1 Úvod

Flavonoidy (název pochází z latinského slova „flavus“, což znamená žlutý) jsou všudypřítomné sekundární produkty rostlin, známé pro své charakteristické červené, modré a fialové anthokyanové pigmenty rostlinných pletiv. Flavonoidy jsou důležitou komponentou v lidské stravě, ačkoliv nejsou považovány za živiny.

Anomálie související s příjmem potravy, zvaná Francouzský paradox, byla poprvé objevena ve francouzské populaci a později i u dalších vnitrozemských států. Epidemiologické studie ukázaly, že potrava bohatá na flavonoidy, je u těchto populací spojena s rostoucí dlouhověkostí a s poklesem výskytu kardiovaskulárních onemocnění, navzdory vysokému příjmu tuků. Navíc mají flavonoidy antioxidační vlastnosti a vykazují další biologické účinky, například antivirové, antibakteriální, protizánětlivé, vazodilatační, protirakovinové a protiischemické. Kromě toho jsou schopné potlačit peroxidaci lipidů a agregaci destiček a zlepšovat propustnost a odolnost cév.

V dnešní době zájem o flavonoidy roste. Hlavně díky jejich potenciálním antioxidačním vlastnostem a schopnosti vychytávat volné radikály *in vitro*. Antioxidační vlastnosti *in vivo* byly málo zdokumentovány a jejich prooxidační vlastnosti *in vivo* byly popsány nedávno.

4.1.2 Flavonoidy jako antioxidanty

Vitis vinifera – réva vinná

čeleď: Vitaceae – révovité

původ: Střední Asie, Blízký východ, Středozemí (1)

Pojem antioxidant, je ve vědecké literatuře běžně používán, ale může být definován několika možnými způsoby, podle metod, které byly použity k měření antioxidační aktivity. Halliwell a Gutteridge navrhli definici antioxidantů jako „jakákoliv látka, které oddaluje, brání nebo zmírňuje oxidativní poškození cílové molekuly“. Jak definice napovídá, fyziologickým úkolem těchto látek je chránit buněčné komponenty tak, aby nedošlo k poškození vzniklému v důsledku chemických reakcí dávajících za vznik volným radikálům.

Předmětem zájmu se staly složky flavonoidů obsažené ve víně a červených hroznech, a to díky Francouzskému paradoxu: u obyvatel jižní Francie byl zjištěn malý výskyt ischemické choroby srdeční navzdory tomu, že konzumují vysoké množství tučných potravin, málo cvičí a kouří. Přesný molekulární mechanismus je základem této prevence, ale je stále špatně definován. Jedna z vlastností, které byly zdůrazněny, se vztahuje k vysoké spotřebě červeného vína francouzského obyvatelstva a k otázce, zda polyfenolické antioxidanty z tohoto potravinového zdroje přispívají k ochraně před ischemickou chorobou srdeční spolu s antioxidanty z olivového oleje a s vysokým příjmem antioxidačních živin z čerstvého ovoce a zeleniny, které se nachází v bohaté vnitrozemské stravě. Bylo popsáno, že polyfenolické extrakty z hroznů červeného vína stimulují inhibici receptorů PECAM-1 (= platelet endothelial cell adhesion molecule), a tím inhibují aktivaci krevních destiček. Podobně, Hertog a kolektiv pozoroval v jedné studii vzájemný vliv příjmu flavonolu (zejména kvercetinu) na úmrtnost na ischemickou chorobu srdeční. Bylo prokázáno, že příjem flavonolu snížil výskyt infarktu myokardu u starších mužů.

4.1.2.1 In vitro antioxidační aktivita flavonoidů

Antioxidační kapacita mnoha flavonoidů je mnohem silnější, než například u vitamínu C nebo E. Například jednoelektronový redukční potenciál epigallokatechin gallátu je za standardních podmínek 550 mV – hodnota nižší než hodnota glutathionu (920 mV) a srovnatelná s hodnotou α-tokoferolu (480 mV). Flavonoidy mohou předcházet zraněním způsobenými volnými radikály následujícími mechanismy:

1) přímým vychytáváním reaktivních forem kyslíku
2) aktivací antioxidačních enzymů
3) činností chelátů kovů
4) redukcí α – tokoferolových radikálů
5) inhibicí oxidáz
6) zmírněním oxidačního stresu způsobeného oxidem dusnatým

7) zvýšením hladiny kyseliny močové

8) zvýšením antioxidačních vlastností nízkomolekulárních antioxidantů

4.1.2.1.1 Přímé vychytávání reaktivních forem kyslíku (ROS)

Flavonoidy jsou schopny vychytávat volné radikály přímo, pomocí darování atomu vodíku. Radikály jsou inaktivovány podle rovnice, kde R· je volný radikál a Fl – O· je flavonoidový fenoxylový radikál.

In vitro závisí antioxidační aktivita na uspořádání funkčních skupin v základní struktuře. Konfigurace i celkový počet hydroxylových skupin ovlivňují mechanismus antioxidační aktivity. Hydroxylové skupiny B kruhu jsou významným faktorem vychytávání ROS, zatímco substituce kruhů A a C má malý vliv na vychytávání radikálů superoxidu. Antioxidační aktivita může být *in vitro* zvýšena polymerizací flavonoidových monomerů, např. proanthokyanidiny (známé jako kondenzované tanniny), polymery katechinu jsou vynikající antioxidanty *in vitro* díky vysokému počtu hydroxylových skupin v jejich molekule. Antioxidační kapacita proanthokyanidinů závisí na jejich oligomerech – na jejich délce a typu ROS, se kterým reagují. Glykosylace flavonoidů redukuje jejich antioxidační aktivitu *in vitro* ve srovnání s odpovídajícími aglykony. Porovnáním hodnot TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) kvercetinu (4,42 mM) a rutinu (2,02 mM), kvercetin – 3 – O – rutinosid ukazuje, že glykosylace 3-OH skupiny má silně potlačující účinek na antioxidační aktivitu. Podobné výsledky byly zjištěny u jiných dvojic flavonoidových aglykonů a glykosidů (např. hesperetin – hesperidin, luteolin – luteolin – 4‘ – glukosid, luteolin – luteolin – 7 – glukosid, baicalein – baicalin a kvercetin – kvercitrin). Glykosylace kvercetinu rovněž výrazně snižuje jeho schopnost vychytávat radikály superoxidu, chlornany a sílu redukovat Fe (III) na Fe (II). Hlavní strukturální rysy flavonoidů potřebných pro účinné zachycení radikálů lze shrnout takto:

a) *ortho* – dihydroxy (katechol) struktura v kruhu B

b) 2,3 – dvojná vazba v konjugaci s 4 – oxo funkcí v kruhu C poskytuje delokalizaci elektronů z kruhu B

c) hydroxylové skupiny v pozicích 3 a 5 poskytují vodík vázající se na oxo skupiny

Podle dříve uvedených kritérií, by měly být flavonoly kvercetin a myricetin nejúčinnějšími vychytávači radikálů ve vodné fázi, které byly potvrzeny experimentálně.

4.1.2.1.2 Schopnost aktivovat antioxidační enzymy

Jedná se o další možný mechanismus, prostřednictvím kterého flavonoidy reagují s mnoha antioxidačními enzymy.

Flavonoidy jsou schopny indukovat fázi II detoxikačních enzymů (např. NAD(P)H - chinon oxidoreduktáza, glutathion S – transferáza a UDP – glukuronosyl transferáza), které jsou hlavními obrannými enzymy před elektrofilními toxickými látkami a oxidativním stresem. Regulace exprese tohoto ochranného genu, může být zprostředkována prostřednictvím elementu EpRE (= electrophile responsive element), což je regulační sekvence několika genů kódujících tyto enzymy fáze II. Schopnost flavonoidů aktivovat EpRE – zprostředkovanou odpověď, souvisí s jejich redukčními vlastnostmi. Lee-Hilz a kolektiv objevily aktivaci reporter genu Hepa - 1c1c7 luciferázy světlušek u jaterních buněk myší po indukci s flavonoidy s odlišnou strukturou. Nejefektivnějšími induktory byly flavonoidy obsahující hydroxylovou skupinu v pozici 3 v C kruhu (kvercetin a myricetin), zatímco flavonoidy bez této hydroxylové skupiny (luteolin a galangin) byly slabšími induktory luciferázy. Proto flavonoidy s vyšším vnitřním potenciálem pro vytváření oxidačního stresu a redoxní cyklizace jsou nejúčinnějšími induktory exprese genu zprostředkované EpRE. Je možné dojít k závěru, že prooxidační aktivita flavonoidů může přispívat k jejich zdraví prospěšným účinkům pomocí indukce detoxikačních enzymů. Nagata a kolektiv zkoumal cytoprotektivní účinek kvercetinu a katechinu ve vztahu k cytotoxicitě peroxidu vodíku v kultivovaných krysích hepatocytech BL – 9, což jsou buňky vysoce exprimující cytosolovou glutathion peroxidázu (GPx). Autoři popsali, že protektivní účinek testovaných flavonoidů souvisel s aktivací GPx . Martín a kolegové, popsali aktivaci signálních proteinů (proteinkinázu B a extracelulární regulované kinázy), zvýšení aktivit GPx a glutathion reduktázy (GR) v lidských hepatocytech, způsobené flavonoidy z kakaa. Leung a kol. prokázal, že luteolinem indukovaná apoptóza buňky plicního karcinom CH27 byla doprovázena aktivací antioxidačních enzymů, jako superoxid dismutázou (SOD) a katalázou (CAT) , ale ne vznikem ROS a narušením mitochondriálního potenciálu. Z tohoto důvodu došlo k podezření, že účinky luteolinu na CH27 apoptózu buněk mají spíše antioxidační než prooxidační účinek. Podání složek bohatých na flavonoidy spolu s vysokým obsahem tuku způsobil výrazné zvýšení aktivit SOD, CAT a GPx v potkaních erytrocytech. Podobné výsledky byly pozorovány i po podání narginin dobrovolníkům se zvýšenou hladinou cholesterolu. V této oblasti byla získána některá protichůdná pozorování, např. aktivita glutathion S - transferázy (GST) byla značně snížena apigeninem, genisteinem a tangeretinem v krysím srdci, ale ne v tlustém střevě a játrech. V červených krvinkách chrysin, kvercetin a genistein výrazně snížily aktivitu GR, CAT a GPX, zatímco SOD byl výrazně snížen jen genisteinem.

4.1.2.1.3 Činnost chelátů kovů

Specifické flavonoidy jsou známy tvorbou chelátů s mědí a železem, čímž se odstraní faktor pro rozvoj volných radikálů. Kvercetin byl schopen zabránit oxidačnímu poškození,

vyvolanému v membráně erytrocytů řadou oxidačních činidel (např. akroleinem a fenylhydrazinem), které způsobují uvolňování železa v jeho volné aktivní redoxní formě. Pietta s kolegy navrhl, že vazebná místa pro stopové kovy v molekule flavonoidů jsou katecholové skupiny v kruhu B, 3 - hydroxylové a 4 - oxo skupiny v heterocyklickém kruhu C a 4 – oxo a 5-hydroxylové skupiny, mezi C a A kruhy.

Ukázalo se, že katecholová skupina v B kruhu je důležitá pro tvorbu chelátu s Cu^{2+}, proto má velký podíl na chelataci kovů. Kvercetin je znám především pro tvorbu chelátů se železem a stabilizaci železa. Ukázalo se, že morin a kvercetin tvoří komplexy s Cd (II) a vykazují silnou antioxidační aktivitu v *in vitro* studiích. Jejich sulfonové, ve vodě rozpustné deriváty, vykazují nízkou toxicitu, a proto by mohly být potenciálními antidoty v intoxikaci kadmiem.

4.1.2.1.4 Redukce α-tokoferolových radikálů

α-tokoferol představuje hlavní antioxidant v buněčných membránách a v lidských LDL lipoproteinech, který chrání části lipoproteinů před oxidativním poškozením. Hirano a kol. navrhl, že flavonoidy mohou působit jako donory vodíků pro α-tokoferolové radikály, které jsou potenciálním prooxidantem. Navíc díky interakci s α-tokoferolovými radikály, mají flavonoidy vysoký potenciál ke zpoždění oxidace LDL. Flavonoidy (kempferol, morin, myricetin a kvercetin) ukázaly různé ochranné účinky proti vyčerpání tokoferolu v LDL, s kempferolem a morinem byly méně účinné než s myricetinem a kvercetinem. Katechiny mohou být při regeneraci α - tokoferolu v micelárním roztoku účinnější než vitamín C. Podobně, přidání extraktů zeleného čaje (epigallokatechin, epigallokatechingallát, epikatechin a epikatechingallát) prokázalo postupnou regeneraci α–tokoferolu v lidském LDL. Tato pozorování jsou podpořena nízkou hodnotou redoxního potenciálu některých flavonoidů (např. kvercetin E_7 = 0,2 V, katechin E_7 = 0,4 V)

4.1.2.1.5 Schopnost inhibovat oxidázy

Flavonoidy inhibují enzymy zodpovědné za produkci superoxidu, jako xantinoxidázu a proteinkinázu C. Kvercetin a silybin inhibované xantinoxidázovou aktivitou snižují oxidativní poškození. Cos a kol. provedl studii strukturně–aktivitních vztahů, kde bylo zjištěno, že luteolin má největší potenciál v inhibici xantinoxidázy. Rovněž se ukázalo, že flavonoidy inhibují i cyklooxygenázu, lipoxygenázu, mikrosomální sukcinoxidázu a NADH oxidázu.

NADPH oxidáza je systém spojený s membránou, který katalyzuje produkci superoxidu v aktivovaných neutrofilech. Mechanismus této aktivace zahrnuje interakci s agonistou se specifickým receptorem na membráně neutrofilu, aktivaci fosfolipázy C s následným vznikem

druhých poslů, které aktivují proteinkinázu C. Tento enzym fosforyluje p47phox podjednotku NADPH oxidázy, klíčovou složku tohoto enzymu, a tím způsobuje aktivaci respiračního vzplanutí. Inhibice proteinkinázy C byla navrhnuta jako mechanismus inhibice NADPH oxidázy kvercetinem. Účinné flavonoidní inhibitory proteinkinázy C (např. kvercetin, fisetin a luteolin) mají v strukturu s volnými hydroxylovými substituenty v pozicích 3‘, 4‘ a 7.

4.1.2.1.6 Zmírnění oxidačního stresu způsobeného oxidem dusnatým

Oxid dusnatý (NO) je důležitý při zachování dilatace cév, ale jeho vysoká koncentrace může vyústit v oxidativní poškození. NO je produkován při oxidaci L – argininu, katalyzované NO syntázou (NOS). Toxicita NO je způsobena hlavně peroxynitritem, který se tvoří při reakci NO se superoxidem.

Jak flavonoidy potlačují indukci NOS a produkci NO není ještě zcela jasně objasněno, ale několik vysvětlení již existuje. První možnost může být odvozena od antioxidačních vlastností flavonoidů, kterými tyto sloučeniny zachycují ROS. Druhou možností je, že se flavonoidy mohou chovat jako inhibitory molekul signalizujících lipopolysacharidy.

Flavonoidy jsou známy pro přímé vychytávání peroxynitritu. Nejvýznamnějším faktorem určujícím jejich aktivitu proti peroxynitritu je 3', 4' - katecholové uspořádání, následované nesubstituovanou 3 - hydroxylovou skupinou. Byla nalezena souvislost mezi počtem hydroxylových skupin a protiradikálovou aktivitou.

4.1.2.1.7 Zvýšení hladiny kyseliny močové

Je zajímavé, že mezi celkovou antioxidační kapacitou plazmy nebo séra a koncentrací flavonoidů v plazmě jsou velké rozdíly. Lotito a Frei předpokládají, že velký nárůst celkové antioxidační kapacity v plazmě, pozorovaný po požití potravin bohatých na flavonoidy, není způsoben samotnými flavonoidy, ale je pravděpodobné, že je důsledkem zvýšení hladin kyseliny močové, což přispívá k celkové antioxidační kapacitě plazmy. Cao a kolegové popsali zvýšení kyseliny močové v plazmě nebo séru po konzumaci jahod, špenátu a červeného vína. Zvýšení kyseliny močové v plazmě nebo séru bylo popsáno i po konzumaci portského vína, francouzského Bordeaux, čaji nebo kávy. Proto několik studií naznačuje, že konzumace potravin bohatých na flavonoidy může zvyšovat plazmatický urát, i když základní mechanismus zůstává stále nejasný. Na druhou stranu, protože zvýšené hodnoty kyseliny močové mohou být rizikovým faktorem pro některé nemoci, nemusí být přínos antioxidantů takový, jaký se zdá.

4.1.2.1.8 Modifikace prooxidačních vlastností nízkomolekulárních antioxidantů

Několik autorů popsalo za určitých podmínek prooxidační aktivitu β-karotenu (např. při UVA záření) a navrhli, že jeho kombinace s antioxidantem může mít preventivní účinek. Yeh a kol. zkoumal interakce betakarotenu s nargininem, rutinem a kvercetinem a vliv těchto reakcí na poškození DNA indukované UVA v myších embryonálních fibroblastech. Když byl každý z flavonoidů během preinkubace skombinován s betakarotenem, poškození buněčné DNA indukované UVA zářením bylo významně potlačeno a výsledné účinky byly v pořadí: narginin ≥ rutin ≥ kvercetin. Výsledky této studie naznačují, že kombinace betakarotenu s nargininem, rutinem a kvercetinem může zvýšit bezpečnost β – karotenu.

4.1.2.2 Metabolismus flavonoidů a antioxidační aktivita jejich metaboilitů in vitro

Ačkoliv flavonoidy vykazují silný antioxidační účinek *in vitro,* bioaktivní formy flavonoidů *in vivo* nejsou ty, které byly nalezeny v rostlinách (např. flavonoidové glykosidy), a to díky jejich extenzivní biotransformaci v tenkém střevě a metabolické absorpci v játrech. Tyto metabolické změny zahrnují rozsáhlou fázi I - deglykosylaci flavonoidových glykosidů a metabolickou fázi II, zahrnující glukuronidaci, sulfataci a *O* - methylaci výsledných aglykonů. Na metabolismu flavonoidů se rovněž podílí mikroflóra tlustého střeva. Enzymy bakterií mohou katalyzovat široké spektrum reakcí, zahrnující hydrolýzu glukuronidů, sulfátů a glykosidů, dehydroxylaci, demethylaci, redukci dvojných vazeb, štěpení kruhů a dekarboxylaci některých fenolových kyselin. Typ štěpení kruhu závisí na typu flavonoidu. Kromě toho, flavonoidy se mohou podrobit třem formám vnitrobuněčného metabolismu, kterými jsou: oxidativní metabolismus, metabolismus související s cytochromem P450 a konjugace s thioly, částečně redukovaná glutathionem (GSH). Například, flavonoid kvercetin je v organismu metabolizován v takovém rozsahu, že množství aglykonu v plazmě je nepatrné až nulové. Místo toho jsou hlavní biologicky dostupné formy u živočichů a lidí reprezentovány konjugáty kvercetinu a to glukuronidy, *O* – methylovanými glukuronidy a sulfatovanými deriváty. Hlavní metabolity tohoto flavonolu prokázané *in vivo* jsou 3‘ - *O* – methyl kvercetin, 4‘ – *O* – methyl kvercetin a kvercetin 7 – glukuronid. Po konzumaci cibule byly u lidí také nalezeny v plazmě metabolity kvercetin 3‘ – sulfát a kvercetin – 3 – glukuronid. Podobně jsou také transformovány flavan – 3 – oly, jako je katechin a epikatechin, ty jsou přeměněny na glukuronidové a sulfátové konjugáty.

Ve srovnání s původními sloučeninami, metabolity flavonoidů (cirkulující i intracelulární) výrazně *in vitro* zredukovaly antioxidační potenciál, díky blokaci vychytávání volných radikálů fenolických hydroxylových skupin. *O* - methylované a glukuronidované deriváty kvercetinu, epikatechinu, katechinu a luteolinu měly menší antioxidační kapacitu než odpovídající aglykony. Glukuronidace a *O* - methylace rovněž způsobily snížení schopnosti kvercetinu a epikatechinu inhibovat tyrosinovou nitraci těchto sloučenin, indukovanou peroxinitritem, ve srovnání s aglykony. Rovněž existují záznamy, že schopnost kvercetinu, katechinu a epikatechinu redukovat Fe (III) na Fe (II) je redukována methylací jak v 3‘, tak 4‘ pozici B kruhu. Tato zjištění naznačila, že metabolická přeměna, vyskytující se *in vivo* může částečně ovlivnit antioxidační aktivitu potravinových flavonoidů. Kessler a spol. popsali prooxidační aktivitu některých metabolitů kvercetinu (s volným katecholovým zbytkem, volnou hydroxylovou skupinou v pozici 3, nebo oba) pomocí stimulace superoxidových radikálů a produkce peroxidu vodíku. Zdá se, že k tomu, aby se zabránilo prooxidačnímu chování metabolitů kvercetinu, je potřeba zablokovat hydroxylovou skupinu v poloze 3, aby se zabránilo autooxidaci.

4.1.2.3 Antioxidační aktivita flavonoidů a jejich metabolitů in vivo

Podávání prokyanidinových doplňků stravy krysám (mladším i starším) bylo pozitivně spojeno se zvýšením antioxidační aktivity v plazmě. Podobně i flavonoidy z *Rosa laevigata* měly příznivé účinky na rozvoj hypolipidemické a hepatoprotektivní činnosti. Při zvažování možných bioaktivních mechanismů působení flavonoidů a jejich metabolitů *in vivo* v buněčných systémech, je důležité vzít v úvahu jejich způsob podání a případně další metabolismus buněk. Příkladem jsou (-) - epikatechin a kvercetin akumulované hlavně jako glukuronidové a sulfátové konjugáty v krevní plazmě po perorálním podání u krys. Nezměněný kvercetin byl nalezen v cirkulaci. Konjugované metabolity se podílejí na obraně proti antioxidantům.

Zajímavé je, že metabolické schéma kvercetinu závisí na způsobu podání. V případě, kdy byly krysy krmeny stravou doplněnou o 0,02 % kvercetinu po dobu 3 týdnů, byly hlavními plazmatickými metabolity 3 ' - *O* - methyl kvercetin (isorhamnetin) glukuronidové a sulfátové konjugáty, nejpravděpodobnější pozice konjugace byly na 3 - , 5 - a 7 – hydroxylových pozicích. Konjugáty isorhamnetinu se methylovaly v 3 ' - OH pozici, což způsobilo pokles antioxidační aktivity kvercetinu a jeho metabolitů a potvrdilo jejich vztah k antioxidačnímu potenciálu v plazmě. Na druhou stranu, po jednorázovém podání vysoké dávky, kde hlavními metabolity byly konjugáty kvercetinu na 5 - a 7 - hydroxylové pozici, byla pozorována významně zvýšená

plazmatická antioxidační aktivita. Justino a kolektiv uvádí, že když o – katecholová skupina nepodléhá konjugační reakci, tak mohou metabolity kvercetinu zachovávat určitou antioxidační aktivitu. Nicméně, popis antioxidačních vlastností flavonoidů a jejich metabolitů *in vivo* je velmi náročný, pokud jde o jejich strukturu. K dispozici jsou pouze omezené údaje o *in vivo* studiích u lidí, kterým byly podávány čisté flavonoidy. Místo čistých flavonoidů byly při studii podávány potraviny bohaté na flavonoidy (např. kakao a/nebo čokoláda, cibule), nebo nápoje (káva, zelený čaj, šťáva z granátového jablka), tyto potraviny obsahovaly i některé další složky, které by mohly ovlivnit oxidační poškození a odhadnout tak skutečný přínos flavonoidů. Navíc, výsledky těchto studií jsou nejednoznačné, některé z nich prokázaly antioxidační účinky, další neprokázaly žádný vliv a jiné prokázaly mírné prooxidační účinky.

4.1.3 Flavonoidy jako prooxidanty

Flavonoidy také mohou za určitých okolností působit jako prooxidanty a tím podporovat oxidaci jiných sloučenin.

4.1.3.1 Přímá prooxidační funkce flavonoidů

Prooxidační funkce flavonoidů se odvíjí od počtu hydroxylových skupin. Mono- a dihydroxyflavonoidy neprokazovaly detekovatelnou prooxidační aktivitu, zatímco větší počet hydroxylových skupin, převážně na kruhu B, znatelně zvýšil produkci hydroxylových radikálů ve Fentonově reakci. Sloučenina baicalein, která obsahuje pyrogalolovou strukturu v kruhu A, rovněž prokázala produkci hydroxidu vodíku, ze kterého mohou ve Fentonově reakci vznikat radikály. Rovněž existují záznamy, že dvojná vazba mezi 2,3 pozicemi a 4 – oxo uspořádání flavonů mohou podporovat tvorbu ROS, indukovanou dvojmocnou mědí, v přítomnosti kyslíku. Je možné, že prooxidační vlastnosti flavonoidů mohou být jejich další přínosnou funkcí, například epigallokatechin gallát podporuje apoptózu a má baktericidní aktivitu, což je spojeno se schopností snižování O_2, čímž vznikne H_2O_2.

Možné prooxidační vlastnosti flavonoidů mohou být důležité *in vivo*, pokud jsou volné ionty přechodných kovů zahrnuty do oxidačního procesu. Flavonoidy jsou schopné redukovat Cu (II) na Cu (I) a tím umožnit zahájení tvorby radikálů. U zdravého člověka se ionty kovů vyskytují do značné míry v izolovaných formách, které nejsou schopny katalyzovat radikálové reakce (např. ferritin nebo caeruloplasmin). Poranění tkání může uvolnit železo nebo měď, v aterosklerotických lézích byly naměřeny katalytické kovové ionty. V těchto případech není možné ignorovat prooxidační chování flavonoidů.

Zdá se, že prooxidační aktivita flavonoidů je závislá na koncentraci. Např. Yen a kolektiv sledovali prooxidační vlastnosti kvercetinu, naringeninu, hesperetinu a morinu v lidských lymfocytech. Zatímco koncentrace H_2O_2 nemohla být po přidání flavanonů naringeninu a hesperedinu v koncentraci 0 – 200 µM detekována, flavonoly kvercetin a morin zvýšily koncentraci H_2O_2 na 25 – 200 µM a 125 – 200 µM. Tvorba radikálových aniontů superoxidu a produktů peroxidace lipidů (měřená jako reaktivní substance kyseliny thiobarbiturové) se zvýšila s rostoucí koncentrací každého z flavonoidů. Tyto sloučeniny byly zodpovědné za vyvolání poškození řetězců DNA. Prooxidační aktivita souvisí se strukturálním uspořádáním těchto flavonoidů. Nejvýraznější prooxidační aktvitu vykazoval kvercetin. Hesperetin a naringerin působily menším efektem.

V jaterních mikrosomech krys gossypol, kvercetin a myricetin v nízké koncentraci (IC_{50} < 1,5 µM) inhibovaly peroxidaci lipidů indikovanou železem. Všechny tři látky v koncentraci 100 µM výrazně zvýšily tvorbu radikálů (až osmkrát). Ochrana lidských leukocytů proti oxidativnímu poškození DNA indukovanému superoxidem byla u kvercetinu nejednoznačná. Inkubace koncentrací kvercetinu (1-50 µM) snížilo hladiny oxidativního poškození DNA, zatímco u 100 µM hodnoty bylo poškození zvýšeno. Tyto výsledky byly podpořeny ESR - poznatky o kvercetinu v roztoku, také ukazující prooxidační efekt hodnoty 100 µM.

4.1.3.2 Oxidace pomocí fenoxylových radikálů flavonoidů

Podle „klasické“ definice je antioxidant molekula:

1) která může darovat elektron nebo atom vodíku
2) poskytuje radikál odvozený z antioxidantu
3) tento radikál je účinně rozložen jinými elektrony nebo zdroji vodíku aby se zabránilo buněčnému poškození
4) vlastnosti tohoto radikálu jsou prostorově a časově spojeny s výskytem oxidativního stresu

Konečným produktem vychytávání ROS jsou fenoxylové radikály flavonoidů (Fl – O·) s životností 200 µs. Jsou vysoce reaktivní a podrobují se dalším oxidacím. Chinony flavonoidů jsou reaktivní, ale mohou být stabilizovány konjugací s nukleofily, jako například s GSH, cysteinem, nebo nukleovými kyselinami. Tato reakce zodpovídá za jeden z prooxidačních účinků flavonoidů. Prooxidační vlastnosti flavonoidů apigeninu, naringeninu a naringinu byly

popsány tak, že jejich fenoxylové radikály podstatně oxidovaly NADH, což vedlo ke zvýšenému vychytávání kyslíku a tím ke vzniku kyslíkových radikálů. Jiná reakce, která může být zodpovědná za nežádoucí prooxidační vlastnosti flavonoidů, by mohla být interakce Fl – O· s kyslíkem, v přítomnosti vysokých hladin přechodných kovů, dávající za vznik chinonům a kyslíkovým radikálům.

Zdrojem fenoxylových radikálů by mohla být také autooxidace. Canada a kolektiv zjistili, že míra autooxidace byla jak u kvercetinu, tak u myricetinu vysoce závislá na pH, u fyziologického pH nebyla detekována žádná autooxidace kvercetinu. Rychlost autooxidace kvercetinu byla podstatně zvýšena jak přídavkem železa, tak přídavkem železa a následně SOD (superoxid dismutázy). Rovněž u myricetinu došlo ke zvýšení autooxidace po přidání železa. Na druhou stranu kempferol, monohydroxylovaný flavonol, ani rutin nebo glykosylovaný kvercetin, neprojevily schopnost autooxidace. Autooxidace kvercetinu byla doprovázena rychlou akumulací peroxidu vodíku, to bylo pozorováno i v přítomnosti iontů mědi při neutrálním pH.

4.1.3.3 Inhibice mitochondriálního dýchání

Některé flavonoidy jsou schopné způsobit substrátově nezávislé kyanidové respirační vzplanutí v izolovaných mitochondriích a podléhat autooxidaci, což je spojeno s produkcí ROS. Byla testována schopnost několika flavonoidů (robinetinu, rhamnetinu, eupatorinu, baicaleinu, 7,8 – dihydroxyflavonu a norwogoninu) inhibovat srdeční mitochondriální sukcinoxidázu a NADH – oxidázu u krav. Flavonoidy se sousedními trihydroxylovými (robinetin, baicalein) nebo *para* – dihydroxylovými skupinami (norwogonin) vykazovaly značnou rychlost autooxidace, která byla urychlena přidáním kyanidu. Flavonoidy s katecholovou konfigurací (rhamnetin, 7,8 – dihydroxyflavon) vykazovaly pomalou rychlost autooxidace v pufru, který byl stimulován kyanidem.

Flavonoly s katecholovou skupinou v kruhu B (kvercetin, fisetin) jsou v různých savčích buňkách schopné produkce *o* – semichinonů a oxidace NADH. Kvercetin a fisetin způsobily v mitochondriích pokles poměru NADH a NAD+ v izolovaných jaterních buňkách za určitých podmínek. Změny poměru NADH a NAD+ byly doprovázeny redukcí při ketogenezi, stimulací cyklu kyseliny citronové a separačním účinkem na oxidativní fosforylaci (pravděpodobně způsobenou přímou inhibicí ATP – syntázy, která je způsobena flavonoidy). Nízké koncentrace kvercetinu jsou stimulované kyslíkovým příjmem, zatímco vysoké koncentrace kvercetinu jsou příjmem kyslíku inhibovány a stimulovány cyklem kyseliny citronové. Oba flavonoidy se podílí

na oxidaci NADH (cytosolické i mitochondriální) v buňkách savců tak, že se buňka posouvá do vyššího oxidačního stavu (prooxidační aktivita).

4.1.3.4 Oxidace peroxidázou

Další mechanismus prooxidační toxicity flavonoidů zahrnuje množství peroxidázy, která katalyzuje oxidaci polyfenolů. Intracelulární fenoxylové radikály („redoxně cyklické“ fenoly), tvořené myeloperoxidázou v neutrofilech vyvolávají peroxidaci lipidů, oxidují GSH a tvoří thiolové radikály současně s aktivací kyslíku. Prooxidační vlastnosti apigeninu, naringeninu a naringinu byly popsány tak, že jejich fenoxylové radikály rapidně oxidovaly NADH, což vyústilo v rozsáhlou spotřebu kyslíku a tvorbu kyslíkových radikálů.

4.1.3.5 Oxidace nízkomolekulárních antioxidantů

Bylo zjištěno, že flavonoidy obsahující katecholový kruh (katechol, luteolin, eriodictyol a kvercetin) oxidují vitamín C, NADH nebo GSH. Obecně lze říci, že bylo zjištěno, že jejich účinnost katalyzovat oxidaci se zvýšila a jejich redoxní potenciál se snížil. To znamená, že snadněji oxidovatelné flavonoidy byly nejúčinnější a to pravděpodobně proto, že katecholy s nižším redoxním potenciálem se snadněji oxidují peroxidázou nebo peroxidem. Nicméně, antioxidanty nepůsobí samy *in vivo*, oxidované antioxidanty mohou být recyklovány spolu s dalšími antioxidanty, jako je askorbát (vitamín C) a glutathion, tzv. antioxidantovou sítí. Například askorbát může znovuobnovit oxidovaný vitamín E a GHS může obnovit oxidovaný vitamín C, v závislosti na redoxním potenciálu těchto antioxidantů. Když se flavonoid oxiduje, může být vytvořen *o* - chinon. Tento *o* - chinon může být recyklován GSH nebo askorbátem, který se zoxidoval během této reakce a dává za vznik dehydroaskorbátu. Kvercetin, myricetin a kempferol indukují pokles závislosti koncentrace na obsahu jaderného GSH a činnost GST v modelovém systému izolovaných jader jaterních buněk potkanů. Myricetin, který má největší počet hydroxylových skupin, byl nejvíce aktivním flavonoidem. Poškození jaderné antioxidační obrany GSH a GST polyfenolickými flavonoidy může vést k oxidativnímu poškození DNA, které může být zodpovědné za jejich mutagenitu.

Flavonoidy mohou také negativně ovlivňovat absorpci nízkomolekulárních antioxidantů, například absorpce luteinu může být narušena naringeninem.

4.1.3.6 Přímé poškození DNA

V přítomnosti reaktivních druhů dusíku indukují flavonoidy s A nebo B kruhem s pyrogallolovou konfigurací jednořetězcové zlomy na DNA. Yamashita a kolektiv navrhl mechanismus poškození DNA způsobené kvercetinem. Jeho katecholová skupina v kruhu A nebo B, se oxiduje Cu (II) ionty, vázanými na DNA, což může vést k tvorbě ROS, odpovědných za poškození DNA. Naproti tomu, kempferol a luteolin vyvolávají malé poškození DNA, dokonce i v přítomnosti Cu (II). El Amrani a kolegové studoval oxidační štěpení DNA vyvolané flavonoidovými kompley s Fe (III).

4.1.4 Závěry

Zdá se, že prooxidační, nebo antioxidační vlastnosti určitého flavonoidu závisí především na jeho koncentraci. Nicméně, vnímat jejich prooxidační vlastnosti jen jako toxické vlastnosti je zkreslující. Jejich prooxidační vlastnosti by mohly být spojeny s buněčnou signalizací, kterou flavonoidy přispívají ke koordinaci funkcí buněk.

Kromě toho, flavonoidy jsou typická xenobiotika pro zvířata a lidi, jsou metabolizovány jako takové a rychle odstraněny z oběhu. Spekuluje se, že schopnost flavonoidů indukovat detoxikační enzymy je hlavním mechanismem, kterým flavonoidy chrání organismus před mutageny a karcinogeny, tj. působí jako chemopreventivní činidla.

Flavonoidy tedy nelze považovat jen za antioxidanty, protože za určitých reakčních podmínek mohou vykazovat také prooxidační aktivitu. Toto neočekávané chování může částečně vysvětlit sledovanou toxicitu některých flavonoidů *in vivo*. V praxi mohou být prooxidační účinky výhodné při mírném stupni oxidačního stresu, protože se hladiny antioxidačních obranných mechanismů a biotransformačních enzymů zvyšují a vedou k celkové ochraně buněk. Rozsah, v jakém jsou flavonoidy schopné působit jako anti- nebo prooxidanty *in vivo* je znám jen málo, a toto téma zjevně vyžaduje další studie. (2)

4.2 Čajové flavonoidy a kardiovaskulární zdraví

Camellia sinensis – čajovník čínský

čeleď: Theaceceae – čajovníkovité, keř nebo strom

původ: jihovýchodní Asie (3)

Rozlišujeme dva hlavní typy čajů a to zelený a černý. Oba druhy čajů jsou bohatým zdrojem flavonoidů. Dostupné zdroje tvrdí, že pravidelná konzumace čaje může snižovat vznik kardiovaskulárního onemocnění. Přínos pro zdraví zajišťují z velké části právě flavonoidy. Populační studie dokazují, že příjem čaje a flavonoidů je spojený se sníženým výskytem kardiovaskulárních onemocnění. Flavonoidy izolované z čaje rovněž výrazně inhibují rozvoj aterosklerózy, což bylo prokázáno testováním na zvířatech. Počet možných cest a mechanismů je zkoumán. Data uvádějí, že čaj a čajové flavonoidy mohou zlepšovat hodnoty oxidu dusnatého a zlepšit endoteliální funkce, které mohou být alespoň částečně zodpovědné za pozitivní vliv na kardiovaskulární systém. Rovněž existují důkazy, i když omezené, o výhodách zeleného čaje (flavonoidů v něm), které mají pozitivní vliv na tělesnou hmotnost a množství tuku v těle. Data potvrzují vliv flavonoidů na snížení výskytu oxidativního poškození, zánětů a jejich vliv na krevní tlak, krevní destičky a snižování rizika diabetu druhého typu, jsou ale stále nedostatečná a nelze vyvozovat závěry.

Celosvětově je konzumace čaje na druhém místě, hned za konzumací vody. Proto by zdravotní efekty čaje mohly mít významný dopad na veřejné zdraví. Čaj je konzumován jako nápoj přes více než 2000 let a nyní je běžně konzumován ve většině oblastí světa. Ačkoli již v historii byl čaj konzumován pro jeho významné účinky na zdraví, výzkum jeho možných zdravotních účinků je novější.

Termín „čaj“ se vztahuje k rostlině *Camellia sinensis*, jejím listům a nálevům, které se z nich připravují. Čaj můžeme třídit na čaj černý a zelený. Černé čaje jsou vyráběny podporou enzymatické oxidace čajových flavonoidů, vedoucí k tvorbě kondenzovaných flavonoidů, jako jsou například theaflaviny a thearubiginy. Enzymy, podílející se na oxidaci polyfenolů, se inaktivují při výrobě zeleného čaje. Konzumace černého čaje je celosvětově rozšířenější, než konzumace zeleného čaje. Zelený čaj je populárnější v Číně, Japonsku a dalších asijských zemích, ale jeho populace roste i v západních zemích.

Tato kapitola stručně pojednává o datech ze studií, prováděných v populaci, na modelech zvířat, u kterých se objevuje ateroskleróza a z randomizovaných kontrolovaných studií, aby se prozkoumaly účinky na KVS (kardiovaskulární systém). Musíme stále spoléhat na evidence odvozené z těchto studií, protože k dnešnímu dni neexistují žádné studie primární nebo sekundární prevence proti kardiovaskulárním chorobám.

4.2.1 Flavonoidy v čaji

Nejčastější fenolické sloučeniny nalezené v čaji jsou polyfenoly. Polyfenoly jsou sloučeniny skládající se z více než jednoho benzenového jádra, obsahujících alespoň jednu hydroxylovou skupinu. Hlavní polyfenoly v čaji jsou flavonoidy. Ve stravě je šest hlavních tříd flavonoidů a to flavonoly, flavony, flavanoly, flavanony, anthokyany a isoflavony. Nejběžnější podtřídou flavonoidů v čaji jsou flavanoly (primárně katechiny) a flavanoly (jako je kvercetin). Rovněž se v čaji nachází, i když ve znatelně menších koncentracích, fenolické kyseliny jako je kyselina gallová a skořicová a estery kyseliny chinové.

Zájem o výzkum čaje je primárně díky přítomnosti flavonoidů. Věří se, že za pozitivní vliv na zdraví mohou především flavonoidy. Jak zelený, tak černý čaj jsou bohatým zdrojem flavonoidů. Jeden šálek čaje (2 gramy čajových listů vylouhovaných v horké vodě 1-3 minuty) poskytne 150 – 200 mg flavonoidů. Už pouhé 2-3 šálky čaje denně dodají u většiny jedinců potřebnou dávku flavonoidů. Celkový příjem ze všech zdrojů je obvykle méně než 1000 mg/den. Tudíž čaj pokryje u populace pijící čaj polovinu všech flavonoidů získaných stravou.

V zeleném čaji jsou hlavními flavonoidy flavanoly (katechiny). Katechiny jsou skupinou flavonoidů, která zahrnuje epikatechin, epikatechingallát, epigallokatechin a epigallokatechingallát. Katechiny jsou bezbarvé, ve vodě rozpustné sloučeniny, přispívající k hořkosti a trpkosti zeleného čaje. Typický zelený čaj, který se servíruje, obsahuje přibližně 90-100 mg katechinů. Během produkce černého čaje je většina katechinů oxidována na kondenzované flavnonoidy, jako jsou theaflaviny a thearubiginy.

4.2.2 Čaj a kardiovaskulární onemocnění: výsledky populačních studií

Záznamy ze studií v lidské populaci potvrzují, že konzumace čaje a zvýšený příjem flavonoidů mohou redukovat výskyt kardiovaskulárních onemocnění (KVO). V roce 2001 Peters a kolektiv provedl metaanalýzu výskytu KVO v závislosti na konzumaci čaje a odhadl, že výskyt infarktu myokardu je nižší u 11 % případů, kdy je zvýšena konzumace čaje na tři šálky za den. Analýza zahrnovala deset kohortních studií a sedm studií případů a kontrol. Nicméně záleží na interpretaci těchto výsledků z důvodů pro publikační zaujatost a zeměpisnou heterogenitu. Nepřímé, avšak více přesvědčivé spojitosti mezi KVO a konzumací čaje byly nalezeny ve studiích v kontinentální Evropě, oproti studiím v USA. Dvě studie ve Velké Británii potvrzují pozitivní spojitost mezi konzumací čaje a snížením rizika KVO. Pozorování nebylo zaměřené pouze na zelený nebo černý čaj, ale většinou čaj, který byl konzumován v populaci při tomto

výzkumu, byl černý čaj. Populační studie se rovněž zabývaly vlivem zeleného čaje na kardiovaskulární systém. Většina studií byla provedena hlavně mezi populací v Asii a potvrdili kardioprotektivní účinky zeleného čaje. Mimoto, nedávné metaanalýzy prokázaly, že denní konzumace tří šálků za den zeleného nebo černého čaje je spojena se sníženým rizikem výskytu mozkové mrtvice.

Epidemiologické studie rovněž prozkoumaly vliv flavonoidů v potravě na kardiovaskulární onemocnění. Příjem flavonoidů je spojen s nižším výskytem srdečních onemocnění, mrtvice a celkové úmrtnosti. V jiné analýze, kterou se zabýval v roce 2003 Huxley a Neil byl hodnocen příjem potravinových flavonoidů a jeho následný vliv na riziko úmrtí na ischemickou chorobu srdeční (ICHS). Tato studie byla založena na výsledcích studie prováděné mezi rokem 1966 a 2001. Flavonoly jsou podtřídou flavonoidů, vyskytující se v čaji. Čaj je často hlavním zdrojem příjmu flavonolů v populaci.

4.2.3 Ateroskleróza: lidské a zvířecí modelové studie

U několika studií provedených u lidí byl zkoumán vztah mezi příjmem čaje nebo flavonoidů a aterosklerózou. Debette a kolektiv (2008) prokázal, že se zvýšenou konzumací čaje u žen se plak na krkavici vyskytoval méně. Mursu a kolektiv (2007) dokázal, že vysoký příjem flavonoidů je spojený se sníženým výskytem aterosklerózy krkavice u mužů – Finů, středního věku.

Existuje zde i významná dokumentace, popisující studie, používající zvířecí modely tak, aby se prozkoumaly účinky potravin bohatých na flavonoidy a jejich vliv na rozvoj aterosklerózy. Jako zvířecí modely se používají apoE deficientní myši a křečci. U apoE deficientních myší byla inhibice aterosklerotických lézí prokázána u čaje a flavonoidů z čaje, flavonoidů z červeného vína, ze kterého byly izolovány čisté látky kvercetin nebo katechin a dále pomocí derivátů kyseliny fenolové, extrahované z medu. Podobné účinky měly extrakty z červených hroznů u cholesterolem krmených křečků. Bylo dokázáno, že kvercetin i theaflavin, nacházející se v čaji, mohou potlačit rozvoj aterosklerózy u apoE deficientních myší. Celkově tedy můžeme říci, že výsledky těchto studií, s použitím zvířecích modelů, jasně ukazují, že flavonoidy, které se nachází v čaji, mohou bránit rozvoji aterosklerózy.

4.2.4 Endoteliální funkce

Endotel je vnitřní vrstva cév. Jeho funkcí je selektivní propustnost mezi krví a tkáněmi. Normální endoteliální funkcí je regulace vazomotorického napětí, regulace aktivity krevních destiček, přilnavosti leukocytů a množení buněk hladkého svalstva pomocí několika faktorů, zahrnující i oxid dusnatý (NO). Rozvoj dysfunkce endotelu může přispívat k rozvoji kardiovaskulárních onemocnění. Za jednu z nejdůležitějších molekul uvolňovaných endotelem se považuje NO, který je důležitým regulátorem napětí stěny tepen.

Výsledkem několika *in vitro* studií je, že čaj a flavonoidy způsobují u potkanů uvolnění aortálních prstenců, závislých na NO a endotelu. U lidí je jednou z používaných metod ultrasonografie, která měří průtok krve při průtokem-zprostředkované dilataci, například v brachiální tepně. Jedná se o neinvazivní techniku, která měří vasodilataci tepny, závislou na NO, jako reakci na smykové napětí vyvolané zvýšeným průtokem krve.

4.2.5 Krevní tlak

Výsledky studií prováděných na zvířatech zjistily, že účinky čaje a flavonoidů odvozených z čaje na krevní tlak jsou rozporuplné. Výsledky populačních studií prokazují, že dlouhodobý, pravidelný příjem čaje může snižovat krevní tlak. Nicméně jelikož příjem čaje je obvykle spojován s řadou faktorů životního stylu, které jsou spojovány s rizikem kardiovaskulárních onemocnění, jsou kontrolované studie potřebné k odpovědím na otázky.

Čaj může snižovat krevní tlak. Oba výše zmiňované flavonoidy (kvercetin a theaflavin) a kofein, vyskytující se v čaji tvoří v sušině čaje asi 3 %, způsobují přechodné zvýšení krevního tlaku u jedinců, kteří se vyhnuli kofeinu 12 hodin a více.

Při kontrolovaných studiích u krátkodobého až osmitýdenního pravidelného požívání čaje nebyly pozorovány změny krevního tlaku u jedinců s normálními hodnotami krevního tlaku. Nedávná meta-analýza těchto studií neprokázala žádný vliv na systolický ani diastolický tlak, zatímco analýza stejného počtu studií používající hořkou čokoládu bohatou na flavonoidy však prokázala značné snížení krevního tlaku. Je možné, že dlouhodobé účinky na vazodilatační funkce mohou změnit tonus cév a krevní tlak. Nebyly provedeny žádné kontrolované studie, zkoumající dlouhodobější účinky pravidelného příjmu čaje. Proto existuje podpora myšlenky, že čaj a čajové flavonoidy mohou zmírnit vývoj hypertenze. Výsledky populačních studií

prokazují snížené riziko výskytu hypertenze a snížení krevního tlaku. Nicméně, je zapotřebí provést další studie potřebné ke stanovení účinku čaje na krevní tlak.

4.2.6 Oxidační stres

Flavonoidy s antioxidačními účinky nalezené v čaji se zdají být zodpovědné za redukci vzniku KVO. Více než 50 studií přesvědčivě dokazuje, že flavonoidy mají silnou antioxidční aktivitu *in vitro.* I přes mnoho pokusů na zvířatech i lidech – co se této oblasti týče - zde zůstávají důkazy, že flavonoidy mohou skutečně bránit oxidačnímu poškození *in vivo.* Toto je pravděpodobně částečně způsobeno špatnou biologickou dostupnosti některých flavonoidů, stejně jako metabolickými přeměnami, které mohou změnit antioxidační aktivitu těchto sloučenin. Dobrá podpora pro nedostatek systematické antioxidační aktivity flavonoidů *in vivo* pochází ze studií ukazujících, že na zvířecích modelech není inhibice aterosklerózy spojena s výskytem změn v oxidačním poškození. Je tak možné, že antioxidační aktivita není důležitým mechanismem pro účinky flavonoidů v čaji na endoteliální funkci, aterosklerózu a riziko vzniku KVO.

4.2.7 Redukce cholesterolu

Výsledky studií i*n vitro*, prováděné na zvířatech a v populačních studiích naznačují, že flavonoidy by mohly snižovat koncentrace cholesterolu v krvi. Většina intervenčních studií prováděných na lidech, u kterých se zkoumaly účinky černého čaje na koncentraci cholesterolu v krvi, neprokázaly téměř žádný vztah mezi zvýšeným příjmem čaje a sníženým cholesterolem v krvi. U černého čaje bylo provedeno několik studií a u žádné se vliv na cholesterol neprokázal. Přes příznivé výsledky pokusů na zvířatech, výsledky klinických studií, zkoumajících účinky zeleného čaje, nejsou v souladu.

Celkově lze říci, že takové účinky čaje, kdy by byl snižován tělesný tuk u lidí, jsou velmi malé. Rozdíly mezi experimentálními a klinickými daty lze vysvětlit skutečností, že u většiny zvířat byly provedeny studie s vysokými dávkami čaje a čajových flavonoidů.

4.2.8 Tělesná váha, složení těla a viscerální tuk

Existuje myšlenka, že zelený čaj má blahodárný vliv na tělesnou hmotnost a složení těla. Neexistují ovšem data, která by potvrzovala takové účinky černého čaje. Nadměrné množství viscerálního tuku je spojeno s metabolickými poruchami, vedoucími ke špatnému

zdravotnímu stavu a ke zvýšenému riziku výskytu kardiovaskulárních onemocnění. Rozvíjející se údaje naznačují, že pravidelná konzumace zeleného čaje může zvýšit výdej energie a snížení tělesného tuku. Některé studie již prokázaly, že zelený čaj, nebo přípravky obsahující flavonoidy zeleného čaje a kofein výrazně zvyšují 24-hodinový energetický výdej. Dlouhodobé studie naznačují, že katechin obsažený v zeleném čaji pomáhá zvýšit oxidaci tuku během cvičení. To může pomoci při snižování tělesné váhy.

Pokud se zvýšení energetického výdeje (asi o 5 %) udržuje po delší dobu, například po dobu měsíce, může dojít k výraznému snížení tukové hmoty a redukci tělesné hmotnosti. Ze dvou nedávných výsledků meta-analýz z lidských intervenčních studií vyplývá, že zelený čaj (flavonoidy) s kofeinem snižují tělesnou hmotnost cca o 1-1,5 kg za 12 týdnů. Téměř všechny studie prováděné v asijské populaci prokázaly pozitivní výsledky a výsledky několika studií v kavkazské populaci jsou smíšené. Touto studií se zabýval Hursel a kol. (2009) a dospěli k závěru, že se musí provést další studie kavkazské populace. Základní příjem kofeinu může mít vliv na účinnost zeleného čaje a je možné, že zelený čaj/katechiny mohou být účinnější u lidí, kteří konzumují nižší až střední dávky kofeinu. Účinky černého čaje zůstávají nejasné. Vliv zeleného čaje na tělesnou hmotnost a tělesný tuk zřejmě přispívají ke snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění.

4.2.9 Závěry

Dostupné údaje naznačují, že čaj má pravděpodobně takové účinky, které snižují riziko vzniku KVO. Výsledky populačních studií prokazují snížené riziko kardiovaskulárních onemocnění u lidí, kteří více konzumují zelený a černý čaj. Výsledky studií s použitím zvířecích modelů aterosklerózy jsou v souladu s výsledky populačních studií. Účinky flavonoidů v čaji jsou takové, že zvyšují hladinu oxidu dusnatého a zlepšují funkci endotelu, to může být rovněž částečně zodpovědné za snížení rizika vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Navíc jsou zde i určité výsledky, prokazující prospěšný vliv zeleného čaje na tělesnou hmotnost a tělesnou stavbu. (4)

4.3 Chemoprotektivní účinky přírodních látek - epigallokatechin – 3-O - gallátu, kvercetinu a kurkuminu – před rakovinou a kardiovaskulárním onemocněním

Chemoprevence při rakovině či kardiovaskulárních onemocněních (KVO) může být dosaženo pomocí přírodních, syntetických, nebo biologických sloučenin, které zamezí, potlačí

nebo zabrání rozvoji onemocnění. Chemoprevence je potenciální protinádorový přístup, který snižuje vedlejší účinky oproti klasické profylaxi (pozn. = ochrana před určitou nemocí). Přírodní látky, jako jsou flavonoidy, snižují oxidativní stres, což je velmi pravděpodobně mechanismem účinku těchto ochranných látek. I když není mechanismus účinku dobře znám, byl u polyfenolických flavonoidů nalezen další centrální mechanismus a to indukce apoptózy, což bylo prokázáno u několika buněčných systémů. Kromě toho mohou flavonoidy modulovat signální dráhu bílkovinné a lipidové kinázy. Pochopení mechanismu těchto přírodních látek může přispět k rozvoji dalších preventivních strategií proti rakovině a KVO. Velká část výzkumu v této oblasti je zaměřena na epigallokatechin – 3 – O - gallát (EGCG), kvercetin a kurkumin, u kterých byly zjištěny příznivé účinky proti rakovině a KVO. (5)

4.4 Nitroděložní vystavení flavonoidům modifikuje antioxidační status v dospělosti a snižuje oxidativní stres, vyvolaný poškozením DNA

Pokud matka bere při těhotenství flavonoidy, známé pro své antioxidační účinky, může to mít vliv na náchylnost potomstva k rozvoji chronických onemocnění v dospělém věku, především v souvislosti s oxidativním stresem, při vývojovém programování. Proto byly zkoumány myši – samičky, kterým byly při gestaci podány flavonoidy genistein a kvercetin. Studoval se jejich vliv na antioxidační kapacitu plic a jater dospělého potomka.

Mateřský příjem kvercetinu zvýšil expresi *Nrf2* (pozn. = Nuclear factor erythroid 2) a *Sod2* (superoxiddimutáza) v játrech plodu v gestační den 14.5. V dospělosti, při expozici v děloze oběma flavonoidům, je následkem zvýšená exprese několika genů enzymatických a antioxidačních systémů, které byly výraznější v játrech než v plicích dospělého. Navíc, prenatální expozice genisteinem částečně vyvolala tzv. neenzymatickou antioxidační kapacitu plic u dospělých, a to zvýšením hladiny glutathionu.

Prenatální expozice oběma flavonoidům má za následek výrazné snížení hladiny oxidativního stresu, způsobené poškozením DNA pouze v játrech. Pozorování vedla k hypotéze, že preventivní spouštění systému antioxidační ochrany v děloze, mělo trvalý vliv na antioxidační kapacitu a výsledkem je snížení oxidačního stresu vyvolaného poškozením DNA v játrech. (6)

4.5 Inhibiční účinky černé soji na aktivaci krevních destiček zprostředkovanou jejich aktivní složkou adenosinem

Glycine max – soja luštinatá

čeleď: Fabaceae – bobovité, bylina

původ: jihovýchodní Asie (3)

Vzhledem k příznivým účinkům na kardiovaskulární systém, byla soja a sojové produkty podrobeny výzkumu. Sojové isoflavony jsou známy pro své biologické účinky zahrnující antiagregační aktivitu, ale *in vivo* nebyla jejich relevance plně ověřena. Srovnávala se role adenosinu, aktivní složky vyskytující se v extraktu z černé soji, při antiagregačních účincích černé soji. V koncentracích, v kterých existují isoflavony, jako je genistein a daidzein v černé soji, nemohly snížit kolagenem indukovanou agregaci krevních destiček, avšak adenosin významně potlačil shlukování destiček s ekvivalentní účinností jako černá soja, což značí, že adenosin může být hlavní bioaktivní komponentou. Antiagregační účinky soji zmizely po léčbě antagonistou adenostinového receptoru. Účinky černé soji jsou zprostředkovány pomocí intracelulárního cAMP a následným útlumem mobilizace vápníku. Za zmínku stojí to, že adenosin a černá soja značně zredukovaly destičkové fibrinogenní vázání a destičkovou adhezi, což jsou další akce pro aktivaci krevních destiček, které nebyly ovlivněny isoflavony. Celkově za to bylo prokázáno, že adenosin může být hlavní aktivní složkou pro sojou indukovanou antiagregační aktivitu, která přinese nové role adenosinu jako bioaktivní složky v soji a v sojových potravinách. (7)

4.6 Náhled na flavonoidy v potravě jako na molekuly, které by mohly být předlohou pro koncepci protidestičkové léčby

Flavonoidy jsou nízkomolekulární, aromatické sloučeniny, získané z ovoce, zeleniny a jiných rostlinných komponent. Bylo zjištěno, že konzumace těchto rostlinných látek je spojena se snížením rizika kardiovaskulárních onemocnění, s protizánětlivým a protisrážlivým účinkem. Flavonoidy mají tento účinek díky mechanismům, které způsobují inhibici kinázy. Terapie flavonoidy při léčbě kardiovaskulárních onemocnění je poměrně složitá. Užití těchto sloučenin jako molekulárních šablon pro navrhování selektivních a účinných inhibitorů na bázi malých molekul může být jednodušším přístupem v léčbě těchto onemocnění. Flavonoidy jsou však nedostatečně užívány jako šablony pro struktury léčiv, navzdory vývoji podskupin jako jsou flavonoly a isoflavonony. Další využití této skupiny sloučenin je zaručeno strukturní rozmanitostí, které představuje široký prostor pro tvorbu nových inhibitorů kinázy. Současným

přístupem k charakterizování hlavních strukturních vlastností léčiv, je použití výpočetních metod pro definování farmakoforu flavonoidů společně s biologickým vyšetřením jejich dopadu na kinázy ve vhodných buněčných systémech. Tento přehled upozorňuje na potenciál flavonoidů, jako vzor pro klinicky bezpečnější, více selektivní a inhibitory buněčné signalizace na bázi malých molekul, vztahující se k protidestičkové terapii. (8)

4.7 Tangeretin stimuluje vychytávání glukózy prostřednictvím regulace signalizačních drah AMPK (adenosinmonofosfát-protein kinázy) v C2C12 myotubulech a zlepšuje glukózovou toleranci při podávání potravy s vysokým obsahem tuku, které vyvolává u myší obezitu

V tomto článku bylo zkoumáno, že ačkoliv má flavonoid tangeretin (5, 6, 7, 8, 4' – pentamethoxyflavon) blahodárné účinky na zdraví, tak mechanismus jeho antidiabetického účinku nebyl ještě zcela objasněn. Léčba 100 µM tangeretinem značně zvyšuje vychytávání 2-NBDG (= 2 – deoxy – 2 - [(7 – nitro – 2, 1, 3 – benzoxadiazol – 4 – yl) amino] - D – glukóza) v C2C12 myotubulech. Také bylo zjištěno, že AMPK a AS160 byly při léčbě tangeretinem výrazně fosforylovány. Kromě toho, předléčba inhibitorem AMPK významně rušila fosforylaci AS160 stimulovanou tangeretinem, vychytávání glukózy a přemísťování Glut4 (glukózový transportér typu 4) z cytosolu do plazmatické membrány. Navíc, narušení AMPK pomocí siRNA (krátká interferující RNA) transfekce, zabránilo vychytávání glukózy stimulované tangeretinem.

Rovněž byly studovány antidiabetické účinky tangeretinu u myší, kterým je podávána strava s vysokým obsahem tuku. Při podání 200 mg/kg na den tangeretinu došlo k výraznému ovlivnění hmotnosti, glukózové tolerance, celkového cholesterolu a sekreci adipocytokinů, jako jsou adiponektin, leptin, resistin, IL-6 a MCP-1 (monocytový chemotaktický protein). Kromě toho se při podání stejné dávky tangeretinu aktivuje AMPK ve svalech myší, což se očekávalo z buněčného systému.

Tyto výsledky naznačují, že tangeretin působí antidiabeticky v buněčné kultuře i na myších modelech a tyto účinky jsou nezbytné pro aktivaci AMPK. (9)

4.8 Účinky konzumace hořké čokolády na oxidativní stres v lipoproteinech a v krevních destičkách u žen a mužů

Cílem tohoto výzkumu bylo zjistit, jaký vliv má třítýdenní konzumace 50 g hořké čokolády za den, bohaté na flavonoidy, na oxidační stres u lipoproteinů *in vitro* a *in vivo* u 25

mužů a 25 žen. Byly stanoveny hladiny reaktivních forem kyseliny thiobarbiturové (TBARS = thiobarbituric acid reactive substances), konjugovaných dienů a úroveň peroxidu vodíku v HDL a LDL před i po konzumaci hořké čokolády. Kromě těchto látek byly u krevních destiček stanovovány ještě oxid dusnatý a peroxynitrit. Koncentrace TBARS u HDL žen se snížila o 26,7%, zatímco u HDL mužů se snížila o 23,4 %; hydroxyperoxidáza se u ženského HDL snížila o 62,8 % a u mužského HDL o 21,1 %. Rovněž došlo k poklesu tvorby konjugovaných dienů. U HDL žen o 55,9 % a u HDL mužů o 49,2 %. Navíc také došlo k poklesu LDL žen o 26,7 % a u mužů o 21,6 %. Lipidová hydroxyperoxidáza se snížila u LDL žen o 83,6 %, zatímco u mužů se snížila o 64,7 %. Dále došlo k poklesu tvorby konjugovaných dienů u LDL žen o 48,2 % a o 21,6 % u mužů. Hodnoty peroxynitritu se po podání čokolády snížily u žen o 24 % a u mužů o 18,6 %, naopak u oxidu dusnatého došlo ke zvýšení jeho koncentrace o 15,7 % u žen a o 32,2 % u mužů. Tato studie ukázala, že krátkodobá konzumace tmavé hořké čokolády může zlepšit lipoproteinový profil u zdravých lidí, a to ještě více u žen než u mužů, což by mohlo mít ochranný účinek na kardiovaskulární systém. (10)

4.9 Vazoprotektivní účinek extraktu z Achillea millefolium

Achillea millefolium - řebříček obecný
Čeleď: Asteraceae – hvězdnicovité, podčeleď – Asteroideae, bylina
původ: Evropa, severní Asie, Severní Amerika (3)

V tomto článku se vědci zabývali zkoumáním vlivu extraktu získaného z rostliny *Achillea millefolium* na růst primárních buněk hladké svaloviny cév potkanů v *in vitro* pokusu, stejně tak bylo studováno potenciální zapojení estrogenních receptorů v tomto procesu. Kromě toho byla sledována schopnost extraktu z této rostliny modulovat NF – κB dráhy v lidských buňkách endotelu pupeční žíly. Analýza extraktu byla provedena metodou HPLC – DAD (High-Performance Liquid Chromatography with Diode - Array Detection = vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detektorem diodového pole) a LC – MSn (Liquid chromatography – mass spectrometry = kapalinová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií). Hlavními složkami extraktu jsou flavonoidy (10 %) a deriváty kyseliny dicaffeoylchinové (12 %). Extrakt zvyšuje růst primárních buněk hladké svaloviny tím, že ho aktivuje prostřednictvím estrogenních receptorů, ale zhoršuje signalizaci NF – κB v lidských buňkách endotelu pupeční žíly. Různé sloučeniny mohou působit na různé druhy činností, což přispívá ke konečnému účinku extraktu. Zjištění z tohoto experimentu podporují některá z tradičních použití *Achillea*

millefolium a navrhují taková využití, vztahující se k jeho účinkům na zánětlivá onemocnění cév. Z tohoto důvodu je *Achillea millefolium* důležitým potencionálním opatřením před vznikem kardiovaskulárních onemocnění. (11)

4.10 Fytochemický a farmakologický potenciál Medicago sativa

Medicago sativa – tolice vojtěška (tolice setá)

čeleď: Fabaceae – bobovité, bylina

původ: Asie (12)

Od počátků civilizace bylo použito pro léčbu a zvládání různých onemocnění mnoho přírodních léčiv. *Medicago* (tolice) je rozsáhlý rod, zahrnující asi 83 různých druhů. *Medicago sativa* je rostlina, která byla dlouho využívána v tradiční medicíně v Číně, Iráku, Turecku, Indii a Americe k léčbě různých onemocnění.

Cílem tohoto revue bylo shromáždit všechny dostupné vědecké publikace a zkombinovat je s tímto souhrnem. Autoři se zabývali etnofarmakologickými, fytochemickými a terapeutickými možnostmi *Medicago sativa.* Tento přehled zahrnuje 117 odkazů sestavených z velkých databází.

Posouzením literatury bylo zjištěno, že hlavní chemické složky v této rostlině jsou: saponiny, flavonoidy, fytoestrogeny, kumariny, alkaloidy, aminokyseliny, fytosteroly, vitamíny, trávící enzymy a terpeny. Farmakologické účinky této rostliny jsou neuroprotektivní, hypocholesterolemické, antioxidační, antiulcerózní, antimikrobiální, hypolipidemické, dále se využívá při léčbě aterosklerózy, onemocněních srdce, při léčbě mrtvice, rakoviny, cukrovky a klimakterických příznaků u žen.

Zdá se, že *Medicago sativa* má velký potenciál u různých biologických aktivit, významné jsou zejména jeho účinky na centrální nervový systém a na KVS (kardiovaskulární systém). Autoři tohoto revue doufají, že díky němu upoutají pozornost výzkumníků po celém světě, tak, aby se zaměřili na neprozkoumané možnosti *Medicago sativa,* což může být užitečné při vývoji nových přípravků s vyšší terapeutickou hodnotou. (13)

4.11 Anthokyaniny v kardiovaskulárním onemocnění

Tato práce pojednává o účincích anthokyaninů na kardiovaskulární systém. Anthokyaniny jsou skupinou bohatých a široce konzumovaných flavonoidních složek, které se

vyskytují všude v rostlinné říši. Poskytují světle oranžové až modrofialové zbarvení u mnoha druhů ovoce a zeleniny a mají význam v potravinářské výrobě. Jejich příjem je asi devětkrát vyšší, než příjem jiných flavonoidů v potravě. Anthokyaniny jsou čím dál tím více důležitější pro potravinářský průmysl, neboť jejich uplatnění jako přírodní alternativa umělých barviv je stále rozšířenější a znalost jejich zdraví prospěšných účinků je stále zjevnější. Epidemiologické studie naznačují, že zvýšená konzumace anthokyaninů snižuje riziko výskytu kardiovaskulárních chorob, nejčastější příčinu úmrtí u mužů a žen. Anthokyaniny často interagují s dalšími obsahovými látkami rostlin, vykazující synergické biologické účinky, ale je obtížné zjistit míru působení jednotlivých komponent v rámci synergismu. Během posledních 2 let mnoho recenzovaných publikací prokázalo, že kromě jejich antioxidační aktivity *in vitro*, mohou anthokyaniny regulovat různé signální dráhy, spojené s vývojem kardiovaskulárního onemocnění. Tento přehled shrnuje nejnovější vývoj biologických schopností, biologické aktivity a kardioprotektivní aktivity anthokyaninů, včetně výsledků v buněčné kultuře *in vitro* a na zvířecích modelech *in vivo*. Rovněž jsou uvedeny epidemiologické studie a klinické zkoušky na lidech.

Šest anthokyanidinů – kyanidin, delfinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin a petunidin se vyskytují všude v přírodě, představují více než 90 % anthokyaninů, které byly do současné doby identifikovány.

Hodnota denního příjmu polyfenolů se odhaduje asi na 1000 mg/den, což je významné množství v porovnání například s jinými nutričně významnými složkami rostlinného původu, jako jsou například karotenoidy, vitamín E a vitamín C (příjem se odhaduje na 5, 12 a 90 mg/den). Denní příjem anthokyaninů je vysoký (asi 180 a 215 mg/den) ve srovnání s příjmem dalších potravin s flavonoidy, jako je například genistein a kvercetin (odhaduje se na 20 až 25 mg/den). Anthokyaniny jsou jedny z mála rostlinných polyfenolů, které mohou být detekovány v plazmě ve své nativní formě (glykosidy). Až donedávna se myslelo, že mají anthokyaniny velmi nízkou biologickou dostupnost, s méně než jednoprocentní plazmatickou koncentrací. Avšak některé studie odhalují, že biologická dostupnost těchto sloučenin může být podceňována, zejména proto, že metabolity a produkty rozkladu anthokyaninů nebyly dosud identifikovány.

Biologické aktivity anthokyaninů jsou úzce spojeny s jejich vstřebáváním a metabolismem. Nedávná studie znovu opakuje, že anthokynaniny se rychle vstřebávají v žaludku a střevech krys.

Změna lidské střevní mikroflóry může rovněž hrát významnou roli v biologické dostupnosti anthokyaninů.

Anthokyaninové izolované látky a směsi flavonoidů bohaté na anthokyaniny mohou poskytnout ochranu před štěpením DNA, mají estrogenní aktivitu (pozměňující rozvoj příznaků nemocí závislých na hormonech), způsobují enzymovou inhibici, zvyšují produkci cytokinů (tedy regulují imunitní odpověď), protizánětlivý účinek, peroxidaci lipidů, snižují kapilární propustnost a křehkost a zesilují membrány.

Bylo dokázáno, že komerční hroznové šťávy (10 ml/kg), významně inhibují aktivitu krevních destiček a experimentální koronární trombózu *in vivo.*

Budoucí studie, zaměřené na zlepšení vstřebávání anthokyanů a charakteristika jejich metabolických a/nebo rozkladných produktů, je nezbytná k vyhodnocení jejich využití pro ochranu a prevenci před kardiovaskulárním onemocněním. (14)

4.12 Rod Pelyněk: Komplexní revue

rod*: Artemisia* – pelyněk
čeleď: Asteraceae – hvězdnicovité, podčeleď – Asteroideae, bylina
původ: Evropa, Asie (3)

Léčivé rostliny jsou pro člověka darem přírody, zajišťují mu zdravý život a hrají klíčovou roli v ochraně našeho zdraví. Věří se, že jsou mnohem bezpečnějšími a osvědčenými elixíry při léčbě různých onemocnění. Rod *Artemisia* čítá asi 500 druhů vyskytujících se po celém světě. Tento přehled obsahuje etnofarmakologické, fytochemické a terapeutické možnosti využití různých druhů *Artemisia*.

Cílem tohoto článku bylo dát dohromady většinu dostupných vědeckých výzkumů, prováděných na rodu *Artemisia*, které jsou v současnosti široce publikovány. Autoři doufají, že prostřednictvím tohoto revue upoutají pozornost výzkumníků po celém světě tak, aby se zaměřili na neprobádaný potenciál rodu *Artemisia*.

Důkladným studiem dostupné literatury bylo zjištěno, že různé druhy *Artemisia* mají širokou škálu biologických účinků, zahrnující antimalarickou, cytotoxickou, hepatoprotektivní, antibakteriální, antimykotickou a antioxidační aktivitu. Rod *Artemisia* poskytl velmi významné léky, například artemisinin, dobře známý lék proti malárii, izolovaný z čínské byliny *Artemisia*

annua. Hlavními obsahovými látkami, zastoupené v rodu *Artemisia*, jsou terpenoidy, flavonoidy, kumariny, caffeoylchinové kyseliny, steroly a acetyleny.

Vodný extrakt sušené *A. verlotiorum* přechodně snížil tlak krve u uspaných myší a potkanů a *in vitro* na izolovanou myší aortu. Tento účinek byl zprostředkován silným vazodilatačním působením, úzce souvisejícím s uvolňováním endoteliálního oxidu dusnatého a se signální drahou oxid dusnatý – cyklický guanosin-3', 5'-monofosfát, které je způsobené agonistickým působením muskarinových receptorů.

Bylo prokázáno, že vodný extrakt z listů *A. vulgaris* má ochranný účinek na tkáň postiženou ischemicko – reperfúzním poškozením v mezenteriu potkanů.

A. capillaries, *A. scoparia* a *A. vulgaris* vykazují významný efekt na vychytávání reaktivních forem kyslíku a ochranný účinek proti radikálům DPPH radikálům, superoxidu a proti hydroxylovým radikálům.

Zkoumání biologických účinků různých druhů rodu *Artemisia* má velkou budoucnost, díky jejich rozsáhlé biologické aktivitě. Speciálně díky účinkům na centrální nervový a kardiovaskulární systém. (15)

4.13 Flavonoidy - antioxidanty: chemie, metabolismus a vztahy mezi strukturou a aktivitou

Flavonoidy jsou třídou sekundárních rostlinných fenolů s antioxidačními a chelatačními vlastnostmi. V potravinách jsou obsaženy nejvíce v ovoci, zelenině, víně, čaji a v kakau. Jejich kardioprotektivní účinky vychází ze schopnosti potlačit peroxidaci lipidů, chelatovat redoxně aktivní kovy a zmírňovat jiné postupy obsahující radioaktivní kyslík. Flavonoidy se vyskytují v potravinách primárně jako glykosidy a polymery, které jsou postupně v trávicím traktu degradovány. Schopnost flavonoidů inhibovat volné radikály vyplývá z jejich chemické struktury. Vzhledem k tomu, že základem těchto sloučenin je flavanové jádro, tak počet, pozice a typy substituentů výrazně ovlivňují způsoby vychytávání radikálů a chelatační aktivitu. Rozmanitost a množství mechanismů účinků flavonoidů spolu s četnými způsoby zahájení, detekce a měření oxidativních procesů *in vitro* a *in vivo* nabízejí věrohodné vysvětlení pro existující nesrovnalosti u vztahů mezi strukturou a aktivitou. Více hydroxylových skupin dává molekule podstatné antioxidační, chelatační, ale i možné prooxidační vlastnosti. Methoxy skupiny představují nepříznivé sterické účinky a zvyšují lipofilitu a membránové dělení. Dvojná vazba a karbonylová funkční skupina v heterocyklu, nebo polymerizace jaderné struktury

zvyšuje aktivitu tím, že poskytne stabilnější radikál konjugací a delokalizací elektronů. Další studium metabolismu těchto obsahových látek u člověka je důvodem k rozšíření informací o strukturně–aktivitních vztazích (SAR = structure-activity relationships), kvůli možným preventivním a terapeutickým využitím.

4.13.1 Úvod

Příjem ovoce a zeleniny je spojen se snížením rizika vzniku rakoviny či kardiovaskulárního onemocnění. I když byly tyto účinky přisuzovány beta-karotenu a vitamínu C, mohou fenolické složky rovněž hrát důležitou roli. Flavonoidy jsou širokou třídou nízkomolekulárních, sekundárních rostlinných fenolů, charakterizovaných flavanovým jádrem. Vyskytují se v listech, semenech, větvičkách a květech rostlin, k dnešnímu datu bylo identifikováno více než 4000 flavonoidů. V rostlinách poskytují tyto sloučeniny ochranu proti ultrafialovému záření, patogenům a býložravcům. Anthokyany v květech přitahují hmyz, který je opyluje a jsou zodpovědné za charakteristické modré a červené barvy bobulí, vína a některé zeleniny – hlavního zdroje flavonoidů v lidské potravě.

Většina zdraví prospěšných účinků flavonoidů je přisuzována jejich antioxidační a chelatační schopnosti. Na základě jejich schopnosti inhibovat oxidaci LDL, projevily unikátní kardioprotektivní účinky. Bylo prokázáno, že potraviny bohaté na flavonoidy snižují postischemické myokardiální poškození u potkanů. Protektivní účinky byly zveřejněny v několika studiích. Například vysoký příjem flavonoidů předpověděl nižší úmrtnost na ischemickou chorobu srdeční a nižší výskyt infarktu myokardu u starších mužů a snížení rizika ischemické choroby srdeční o 38 % u žen po menopauze.

Reaktivní formy kyslíku jsou schopny oxidovat buněčné proteiny, nukleové kyseliny a lipidy. Lipidová peroxidace je proces oxidačního poškození membrán, který vzniká za podmínek oxidačního stresu a může poškodit strukturu a funkci biologických membrán. Reaktivní formy kyslíku přispívají k buněčnému stárnutí, mutagenezi, karcinogenezi a ischemické chorobě srdeční; pravděpodobně díky destabilizaci membrán, poškození DNA a oxidaci LDL. Reaktivní formy dusíku se rovněž vyskytují u patologických nálezů při kardiovaskulárních onemocněních. Peroxynitrit, silné oxidační činidlo, vzniklé reakcí oxidu dusnatého se superoxidem v endotelu cév, vyvolává oxidaci LDL a prozánětlivé, cytokiny zprostředkované, dysfunkce myokardu. Nitrotyrosin, produkt nitrace proteinů, se vyskytuje v lidských aterosklerotických lézích. Význam antioxidantů ve stravě se v posledních letech dostal díky jejich účinku na kardiovaskulární systém do popředí zájmu.

Protektivní účinek flavonoidů v biologických systémech je přiřazen jejich schopnosti přenášet elektrony volných radikálů, chelatovat katalýzu kovů, aktivovat antioxidační enzymy, snižovat radikály alfa–tokoferolu a inhibovat oxidázy. Ačkoliv tento mnohorozměrný efekt může pravděpodobně za celkovou efektivitu těchto látek v rozličných experimentálních systémech, způsobuje komplikace při vymezování strukturně aktivitních vztahů. Mnoho studií, zaměřených na strukturně aktivitní vztahy, používá oxidázy a přechodné kovy jako generátory reaktivních forem kyslíku. Obě tyto látky vysvětlují vztah mezi chemickou strukturou a likvidací volných radikálů. Během posledních patnácti let se mnoho studií, které se zabývají *in vitro* výzkumem, snažilo vysvětlit zařazení flavonoidů v problémech substituce a antioxidačních aktivit. Tyto poznatky umožňují lepší pochopení antioxidativních a prooxidativních účinků flavonoidů. Dále předpovídají vliv strukturních změn, vyplývajících z metabolismu. Další rozvoj tohoto výzkumu může vést k rozvoji nutričních produktů a polosyntetických náhrad, které mají výrazný antioxidační potenciál, zatímco mají minimální vedlejší účinky. Ve shrnutí se dá říci, že ve srovnání s dříve prováděnými studiemi se tato studie snaží najít hmatatelnou evidenci specifických strukturních prvků, které napomáhají likvidaci volných radikálů a prooxidační aktivitě.

4.13.2 Klasifikace a chemická struktura

Flavonoidy jsou deriváty benzo – γ - pyronu, skládající se ze z fenolického a pyranového kruhu. Jsou klasifikovány na základě substituentů, obsažených ve vzorci. Flavonoidy z potravy se liší v uspořádání hydroxylových, mehoxy a glykosidických vedlejších skupin a ve spojení mezi kruhem A a B. Během metabolické přeměny jsou hydoxylové skupiny přidávány, methylovány, sulfatovány nebo glukuronidovány. V potravinách existují flavonoidy převážně ve formě 3 – O - glykosidů a polymerů. Existuje několik typů vyšších struktur a polymerů, které tvoří podstatnou část příjmu flavonoidů z potravy. Enzymatická oxidace lístků zeleného čaje (*Camellia sinensis*) během fermentace na černý čaj ústí v polymerizaci flavanolů na taniny a na další komplexní sloučeniny. Kondenzované třísloviny (taniny), nebo proanthokyanidiny, se skládají z flavanolových jednotek. Z těchto sloučenin jsou pro lidskou stravu nejdůležitější prokyanidiny; skládají se z (+)-katechinových a (-)-epikatechinových monomerů. Prokyanidinové dimery (4→6) (4→8), trimery a oligomery se vyskytují v červeném víně, v jadérkách hroznů, jablkách a kakau. Proanthokyanidiny mohou dosahovat vysokých molekulových hmotností, jelikož se skládá až ze sedmnácti flavanolových jednotek. Estery kyseliny gallové jsou známé pro svou schopnost hydrolyzovat taniny a gallotaniny. Galloylové

zbytky těchto tříslovin a monomerních katechinů v zeleném čaji jsou částečně zodpovědné za jeho chelatační schopnosti a za schopnost vychytávat radikály.

4.13.3 Absorpce a metabolismus

Pochopení biodynamiky flavonoidů po orálním podání je zásadní k pochopení informací o specifické míře absorpce. Kromě strukturních a fyzikálně-chemických vlastností vznikajících sloučenin je rovněž důležitým znakem biologických efektů na organismus i absorpce, farmakokinetika, biotransformace a aktivita metabolitů. Údaje z testů *in vitro* prokazují různorodou antioxidační účinnost u různých druhů flavonoidů. Aktuální porozumění absorpci a metabolismu v lidském organismu je však limitováno malým počtem potravinových flavonoidů. Chceme – li integrovat nové poznatky o SAR do oblasti výživy a medicíny, musí budoucí výzkum objasnit rozsah absorpce ve vztahu ke struktuře, farmakokinetice v lidském organismu, charakteristice metabolitů flavonoidů a objasnit zdravotní účinky těchto metabolitů.

Většina potravinových flavonoidů se v potravinách vyskytuje ve formě *O*-glykosidů. Nejběžnější glykosidová jednotka je glukóza, dále pak glukorhamnóza, galaktóza, arabinóza a rhamnóza. Beta propojení těchto cukrů odolává hydrolýze pankreatickými enzymy, dlouho se tedy předpokládalo, že za beta-hydrolýzu cukerných skupin byla zodpovědná střevní mikroflóra. Nicméně, v lidském tenkém střevě byly od té doby charakterizovány dvě β-endoglykosidázy, schopné hydrolyticky štěpit glykosidické vazby flavonoidů. Patří sem laktáza-phlorizin hydroláza a nespecifický cytosolický enzym, ty deglykolizují flavonoidy a tím vytváří místo pro konjugaci. Spencer a kolektiv uvádí, že luteolin – 7 – glukosid, kempferol – 3 – glukosid a kvercetin – 3 – glukosid jsou hydrolyzovány a absorbovány v tenkém střevě, což je podporováno β-glukosidázovou aktivitou. Při průchodu přes tenké střevo podstupuje také luteolin – 3 – glukosid kompletní hydrolýzu, při které vzniká luteolin aglykon, hydrolýze ale nepodléhají jeho methylové a sulfátové konjugáty. U různých typů glykosidů je biologická dostupnost v tenkém střevě různá. I když některé záznamy naznačují, že anthokyanové glykosidy jsou absorbovány neporušené, je zdokumentováno hydrolytické štěpení glukózy a rutinózy z kvercetinu. Ačkoliv kvercetin představuje jeden z mnoha potravinových flavonoidů, patří mezi nejhojnější a široce studované polyfenoly a poskytuje možnost studia absorpce a metabolismu těchto látek. Není překvapivé, že kinetika absorpce jednotlivých potravin se liší. Je to způsobeno různorodostí cukrů a dalších funkčních skupin flavanového jádra. Absorpce může rovněž záviset na dávce, způsobu podání, předchozí potravě, na pohlaví a na mikrobiální populaci tlustého střeva.

Pro hydrolýzu a absorpci některých flavonoidových glykosidů jsou střevní bakterie nepostradatelné. Ve studiích na lidech bylo zjištěno, že potřeba střevní mikroflóry pro hydrolýzu rutinosidů může vysvětlovat nízkou biologickou dostupnost rutinu (kvercetin – 3 – rutinosid) v porovnání s kvercetinem – 3 - glukosidem. Po perorálním podání rutinu se u pacientů s nepoškozeným tenkým střevem postupně zvyšuje plazmatický kvercetin, množství nelze zjistit v plazmě pacientů s ileostomií. V dalším vyšetřování glukózové skupiny zvýšily absorpci kvercetinu v tenkém střevě na 52 %, ve srovnání s 24 % aglykonu a 17 % rutinu. Bylo zjištěno, že kvercetin glukosid (ne rutin) interaguje s epitelovými transportéry glukózy, což je možné vysvětlení rychlého příjmu a dostupnosti glukosidů.

Vzhledem k velikosti molekuly, je potřeba polymerické flavonoidy před průchodem střevním epitelem nejprve degradovat na menší sloučeniny s nižší molekulovou hmotností. Prokyanidinové dimery a trimery (ale ne oligomery), průměrně se 7 jednotkami, jsou schopny translokace přes epitel tenkého střeva. U antioxidačního účinku *in vivo* je stupeň polymerizace nižší v porovnání s účinkem *in vitro.* Vzhledem k tomu, že se tyto molekuly skládají z (+)-katechinových a (-)-katechinových podjednotek, je možné, že katechiny jsou převládajícími degradačními produkty. Bakterie slepého střeva a nízké žaludeční pH tomuto procesu přispívá. Z dalšího šetření vyplynulo, že po 3,5 hodinách v prostředí žaludku se 3 až 6 jednotek proanthokyanidinových oligomerů hydrolyzovalo na dimery katechinu a na volné katechiny. Náchylnost k degradaci se u katechinových jednotek zvyšuje se stupněm polymerizace. Ačkoliv tato pozorování naznačují, že katechiny jsou zodpovědné za zdravotní účinky vysokomolekulárních proanthokyanidinů, 3,5 hodiny překračuje hranici doby normálního vyprázdnění lidského žaludku o 30 až 90 minut, vliv kyselé hydrolýzy je pravděpodobně méně významný než následné metabolické události. Kromě hydrolýzy flavonoidů se mikroflóra slepého střeva účastní i degradace polymerů tím, že štěpí monomery flavonoidů na monofenolické kyseliny. Metabolismus kvercetinu střevními bakteriemi produkuje 3, 4 – dihydroxyfenyloctovou kyselinu a floroglucinol prostřednictvím štěpení vazby mezi uhlíkem C3 a C4, jestliže je to heterocykl. Po perorálním podání rutinu potkanům se v moči objevila fenyloctová kyselina; 3, 4 – dihydroxytoluen a 3 – (*m* - hydroxyfenyl) propionová kyselina. Taniny jsou degradovány kulturami mikroflóry tlustého střeva na podobné aromatické sloučeniny. Deprez a kolegové inkubovali kultury bakterií lidského střeva s proanthokyanidiny značenými ^{14}C, za anaerobních podmínek připomínající střevní prostředí. Po 48 hodinách inkubace byly téměř všechny substráty degradovány na monohydroxylované fenyloctové, fenylpropionové a fenylvalerové kyseliny detekované plynovou chromatografií spojenou s hmotnostní spektrometrií. Tyto metabolity jsou podobné fenolickým kyselinám, degradačním

produktům katechinu a dimerů prokyanidinu. Rice – Evans a spolupracovníci navrhli metabolický systém pro kvercetin, ve kterém je heterocyklus flavonu štěpen na fenolické kyseliny, které následně podléhají dehydroxylaci, *O* - methylaci nebo β-oxidaci na deriváty kyseliny benzoové. Miyake a kolegové prezentovali metabolické schéma u perorálně podávaného eriocitrinu, flavonového diglykosidu z citrónů, po perorálním podání potkanům. Původní eriocitrin nebylo možné v plazmě detekovat, metabolity byly ale charakterizovány jako eriocitrinové aglykony, 4‘-methoxy eriodiktyol (hesperetin), 3‘-methoxy eriodiktyol (homoeriodiktyol) a 3, 4 – dihydroxyhydroskořicová kyselina. I když nebyla antioxidační aktivita těchto sloučenin hodnocena přímo, náchylnost plazmy k oxidativnímu poškození se v jejich přítomnosti výrazně snížila.

Použitím Troloxu (ve vodě rozpustný analog α-tokoferolu) – test na ekvivalentní množství Troloxu (TEAC = trolox equivalent antioxidant capacity), Rice-Evans a spolupracovníci srovnávali aktivitu vychytávání radikálů fenolických kyselin, vyskytujících se u vyšších rostlin. Tato metoda hodnotí schopnost flavonoidů darovat vodík ve vodné fázi hodnocením vychytávání kationtu kyseliny 2,2 '- azinobis - (3 – ethylbenzothiazolin – 6 – sulfonové) (= $ABTS^{+}$), aktivita je hodnocena jako milimolární koncentrace Troloxu (TEAC = 1), což odpovídá aktivitě 1mM roztoku experimentální sloučeniny. Všechny fenolové kyseliny prokázaly nižší hodnoty TEAC než flavonoidy, deriváty kyseliny skořicové byly obecně aktivnější než většina hydroxyfenylacetátů a hydroxybenzoanů. Metabolit kvercetinu 3,4 - kyselina dihydroxyfenyloctová (TEAC = 2, 19) byla podstatně slabší než kvercetin (TEAC = 4, 7), ale stále více než dvakrát tak efektivní jako vitamín E. 4-dehydroxy metabolity kvercetinu (TEAC = 0, 90) byly mnohem méně účinné než kvercetin a 3,4 – kyselina hydroxyfenyloctová. I když tyto důkazy podporují, že štěpením flavonoidů vznikají sloučeniny s nižší aktivitou, je schopnost těchto metabolitů vychytávat radikály srovnatelná s vitamínem E. Antioxidační účinek fenolických kyselin závisí na počtu a orientaci hydroxylových skupin.

Interakce mezi flavonoidy a cytochromy P450 jsou komplexní. Hydroxylací flavonoidů isoenzymem CYP1A vznikají 3', 4'-dihydroxylované deriváty, které si zachovávají flavanovou jadernou strukturu. Nicméně, je známo, že flavonoidy inhibují různé isoenzymy P450, včetně CYP1A. Selektivita pro isoformy P450 se řídí substitucí hydroxylovou a methoxy substitucí na 3‘ a 4‘ pozici B kruhu. Předpokladem pro hydroxylaci je maximálně jedna hydroxylová skupiny B-kruhu. Je možné, že zvýšení hydroxylových skupin po první fázi metabolismu může vést ke vzniku přechodných sloučenin s vyšší antioxidační aktivitou. Methylace katechol – O - methyltransferázy vyžaduje volnou OH skupinu na B - kruhu, která snižuje jak antioxidační, tak prooxidační aktivitu flavonoidů.

Navzdory nedostatku dat o metabolismu a farmakokinetice flavonoidů, existují důkazy, které podporují tvrzení, že flavonoidy jsou *in vivo* strukturálně změněny. Není jasné, zda převládají isoformy flavonoidů nebo fenolových kyselin. Kvercetin lze po perorálním podání detekovat v plazmě, naopak z moči je detekován minimálně. Walle a jeho spolupracovníci prokázali, že po perorálním podání 100 mg kvercetinu se vstřebá asi 36 – 53 % aglykonů kvercetinu. Warden a kolegové prohlásili, že v plazmě, moči a stolici bylo objeveno pouze 1,68% ze 400 mg perorálně podaných čajových katechinů. Dohromady tato pozorování informují o rozsáhlé biotransformaci tkáněmi a/nebo střevní mikroflórou. Druhá fáze konjugace v játrech a enterocytech dává za vznik glukuronidům, sulfátům, konjugátům a malým množstvím volných aglykonů. Redukční potenciál B - kruhu je nižší než A - kruhu. Ačkoliv k maximální koncentraci flavonoidů dochází obvykle 2 hodiny po požití testované potraviny, v jedné studii bylo maximum prokázáno po 24 hodinách po perorálním podání epikatechinu. U zdravých dobrovolníků se poločas kvercetinu pohybuje v rozmezí od 20 do 72 hodin. Chronický příjem vysokých hladin může mít za následek snížení vyrovnávací absorpce a kumulaci v plazmě. Například Manach a kol. uvádí, že u krys, krmených stravou s vysokým počtem flavanolů před léčbou farmakologickými dávkami kvercetinu, se absorpce výrazně snížila ve srovnání se zvířaty dříve udržovanými na dietě s nízkým obsahem kvercetinu. Další složky potravy, bílkoviny a železo, mohou teoreticky ovlivnit vstřebávání tím, že tvoří komplexy s polyfenoly. Vzhledem k afinitě hydroxylových flavonoidů na prolinové zbytky, je antioxidační aktivita katechin galátů *in vitro* zmírněna přítomností proteinů, jako je například β-kasein. Proteiny v samotných potravinách, v zažívacím prostředí a krevním řečišti tedy mohou potencionálně maskovat biologickou aktivitu polyhydroxylovaných flavonoidů. U skupiny zdravých jedinců bylo zjištěno, že přidání mléka do černého čaje nemá žádný vliv na absorpci kvercetinu nebo kempferolu. Přesný mechanismus absorpce flavonoidů není přesně znám, ale závisí na typu flavonoidů a dalších faktorech. Spotřeba těchto sloučenin v plazmě snižuje oxidační stav v závislosti na dávce. Reaktivní substance kyseliny thiobarbiturové a další plazmatické indikátory oxidačního stresu použité v těchto studiích ne vždy vyloučily možnost, že flavonoidy pracují nepřímo (interakce s enzymy, chelatace kovů) oproti přímému působení (zachycovače radikálů), potvrdilo se ovšem to, že flavonoidy jsou u lidí biologicky dostupné a mají antioxidační vlastnosti.

4.13.4 Strukturní vlastnosti a antioxidační aktivita

Antioxidační aktivita flavonoidů a jejich metabolitů *in vitro* závisí na uspořádání funkčních skupin kolem struktury jádra. V posledních 15 letech strukturně-aktivitních studií se

přišlo s několika důkazy o tom, že má struktura vliv na vychytávání radikálů a na chelatační a oxidační aktivitu. Nutriční využití těchto informací vyžaduje rozsáhlé prozkoumání metabolismu flavonoidů, systematickou analýzu potravin a flavonoidů v nich obsažených a srovnání antioxidační aktivity strukturních isoforem *in vivo.* SAR testy mohou vylepšit stávající doporučení dietní stravy, jakožto ovoce, zeleniny a jiných potravin rostlinného původu.

4.13.5 Inhibice RNS (reaktivních forem dusíku) flavonoidy

Inhibici reaktivních forem dusíku pomocí flavonoidů ovlivňují základní strukturně-aktivitní vztahy, stejně jako inhibici reaktivních forem kyslíku. Flavonoidy jsou známy pro svou schopnost přímo vychytávat peroxynitrit a jeho progenitor superoxid. Haenen a kolegové uvádí, že největším determinantem aktivity peroxynitritu je uspořádání 3‘, 4‘ – katecholu, následované nesubstuituovanou 3-OH skupinou. V této studii byl prokázán pozitivní vztah mezi počtem hydroxylových skupin, zejména na B-kruhu a antiradikálovou činností. Methylace a/nebo glykosylace podstatně snižuje aktivitu proti RNS. Tetramerní prokyanidiny jsou silnějšími inhibitory peroxynitritem - zprostředkované oxidace a nitrace *in vitro*, než monomery, dimery, trimery a další oligomery epikatechinu. Příspěvek inhibice RNS na ovlivnění kardioprotektivní funkce potravinových flavonoidů si zaslouží další prozkoumání.

4.13.6 Strukturní znaky flavonoidů, chelatujících kovy

Chelatační vlastnosti flavonoidů a tříslovin přispívají k jejich antioxidační aktivitě. Odstraněním a neutralizací iontů železa z hepatocytů flavonoidy inhibují oxidativní poškození. Chelatace dvojmocného kationtu nemusí nutně znamenat inaktivaci flavonoidů, protože si komplex zachovává svou vlastnost vychytávání reaktivních forem kyslíku. Klinické využití znalostí v případech oxidačního stresu, spojené s nadbytkem železa, bylo prokázáno u potkanů. U těchto zvířat bylo prokázáno, že po podávání rutinu se výrazně snížila peroxidace jaterních mikrosomů a produkce kyslíkových radikálů u fagocytů, naopak u zvířat s normálním stavem železa byly účinky pouze minimální.

Hydroxylové radikály jsou jedny z nejreaktivnějších a nejškodlivějších ROS (reaktivní formy kyslíku) v biologických systémech. Volné dvojmocné železo je velmi citlivé na kyslík a reakce s ním vede ke vzniku oxidu železitého a superoxidu, což vede ke vzniku peroxidu. Reakcí dvojmocného železa s peroxidem vodíků vzniká hydroxylový radikál, který může následně oxidovat okolní biomolekuly. V tomto procesu, zvaném Fentonova reakce, je produkce hydroxylových radikálů přímo úměrná koncentraci mědi nebo železa. Za patologických stavů

zahrnujících přetížení železem, nebo poruchu izolace železa při přepravě nebo skladování proteinů, je Fentonova reakce důležitým generátorem ROS *in vivo.* Jak kvercetin, tak rutin, jsou vysoce účinné cheláty přechodných kovů, což ukazuje jen na malý rozdíl mezi aglykony a glykosidy ve schopnosti tvořit komplexy kovů. Fentonovou reakcí indukovaná oxidace je silně inhibována flavonoidy s 3‘, 4‘ – katecholem, 4 – oxo a 5 - OH uspořádáním. Chelatační komplexy s dvojmocnými kationty se mohou tvořit mezi skupinami 5 - OH a 4 - oxo, nebo mezi 3‘ a 4‘ – OH. Podle chelatačních vlastností obou kovů a jejich schopnosti vychytávat radikály se mohou polyhydroxylované flavonoidy využít jako inhibitory Fentonovy reakce *in vivo*. Polyfenoly jsou často účinnějšími inhibitory kovy-indukované oxidace ve srovnání s oxidací vyvolanou nekovy. To vede k podpoře role chelátů kovů v inhibici poškození volnými radikály.

Sklon polyhydoxyflavonoidů k tvorbě redoxně – aktivních komplexů kovů představuje jisté pochybnosti, kvůli složitým vztahům mezi strukturou a vychytávající aktivitou v testech peroxidace lipidů. Jestliže chceme vyloučit chelataci, použijeme nekovový iniciátor, kterým je například CCl_4, nebo může být posouzena kontaminace flavonoidů železem. Peroxidace vyvolaná azoradikály omezuje antioxidační chování – vychytávání peroxylu, a tím přispívá k eliminaci chelatace. Z fyziologického hlediska, chelatace a vychytávání radikálů snižují oxidační status. Nicméně, vzhledem k vysoké redukční síle taninů a afinitě polyhydroxyflavonoidů k železu, mohou jejich dlouhodobé farmakologické dávky způsobit nedostatek železa. V dalších studiích je potřeba vymezit strukturně aktivnitní vztahy u flavonoidových chelátů a vyhodnotit nepříznivé účinky u jedinců, trpících nedostatkem železa.

4.13.7 Prooxidační aktivita

Zatímco antioxidační vlastnosti flavonoidů hrají pozitivní roli v lidské výživě a prevenci před nemocemi, některé flavonoidy se podílí na *in vitro* prooxidační aktivitě. Extrakty z rostlin, bohatých na flavonoidy, jako je propolis, borová kůra, zelený čaj, sojové isoflavony a hroznová jádra, jsou běžně uváděny na trh jako doplňky stravy, určené především stárnoucí populaci a osobám s kardiovaskulárními chorobami, rakovinou a chronickými zánětlivými stavy. A tak zprávy, týkající se mutagenity flavonoidů, zprostředkované oxidačním poškozením, vyvolávají určité obavy.

Prooxidační aktivita je přímo úměrná celkovému počtu hydroxylových skupin. Hanasaki a kolegové provedli pokus, kde v sérii mono- a dihydroxy flavonoidů nebyla prokázána žádná detekovatelná prooxidační aktivita, zatímco u většího počtu hydroxylových skupin – především v B - kruhu, se produkce hydroxylových radikálů ve Fentonově systému výrazně zvýšila.

Sloučeniny zahrnující myricetin a baicalein, které mají strukturu pyrogallolu v A – kruhu, rovněž prokazovaly prooxidační produkci peroxidu vodíku, ze které mohou Fentonovou reakcí vznikat vysoce reaktivní hydroxylové radikály. Tento prooxidační efekt je zodpovědný za cytotoxicitu a proapoptózový efekt flavonoidů, izolovaných z mnoha přírodních přípravků. V přítomnosti RNS indukují flavonoidy s A- nebo B- pyrogallolovou konfigurací poškození jednořetězcové DNA. Rovněž existují důkazy, že nenasycené 2,3 – vazby a 4 - oxo uspořádání flavonů, mohou v přítomnosti kyslíku a dvojmocné mědi indukovat tvorbu ROS. Celkově tyto informace naznačují, že některé stejné strukturální vlastnosti, které optimalizují antioxidační kapacitu, mohou také zhoršovat oxidační stres a poškozovat funkční a strukturální buněčné molekuly. Stabilita flavonoidů zvyšuje antioxidační aktivitu. Například 3‘, 4‘ katechol, 3 – OH a konjugace mezi A a B kruhy, mohou modulovat nežádoucí oxidační účinky flavonoidů.

Glykosylace a methylace OH skupin zmírňují prooxidační chování flavonoidů. Nežádoucí oxidační účinky flavonoidů jsou *in vivo* zmírněny katechol - O - methyltransferázou (COMT) a jinými jaterními methyltransferázami, důkaz, že flavonoidy přímo inhibují COMT prostřednictvím vazby ligandu tak komplikuje tuto hypotézu. Dvojmocné kationty železa nebo mědi zvyšují produkci volných radikálů v závislosti na koncentraci. Data získaná z *in vitro* studií za použití dvojmocné mědi jsou méně reprezentativní ve fyziologickém prostředí, protože je v něm měď poměrně méně zastoupená. Zatímco přítomnost železa může urychlit prooxidační účinky *in vivo*, chelatace železa pomocí flavonoidů může tento proces upravit. Kromě toho, vysoká koncentrace vitamínu C snižuje množství ROS pomocí flavonoidů *in vitro*, a předpokládá se, že hladina vitaminu C moduluje prooxidační tendenci těchto sloučenin *in vivo*. Je potřeba se dále věnovat přínosu železa a jeho chelatačním vlastnostem a dále také vitamínu C a jeho vlivu na oxidační stres *in vivo*. Navzdory tendenci flavonoidů s více hydroxylovými skupinami podporovat poškození buněk pomocí ROS, použití kvercetinu a podobných polyfenolů působí kontraindikačně ve farmakologických dávkách. Metabolické struktury mohou *in vivo* zmírnit reaktivitu kvercetinu a podobných sloučenin.

4.13.8 Souhrn a závěr

Více než desetiletým výzkumem SAR se získaly základní znalosti o farmakokinetice, absorpci a metabolismu flavonoidů ve vztahu k jejich chemické struktuře. Důkazy o tom, že metabolity flavonoidů mohou být více nebo méně aktivní, než původní sloučenina má význam při preventivním a terapeutickém využití těchto sloučenin. Přesto, že stávající znalosti absorpce a metabolismu jsou omezeny jen na vybrané skupiny potravinových flavonoidů,

existují dostatečné důkazy podporující teorii, že většina z těchto látek je dostatečně absorbována při výrazném poklesu různých parametrů oxidačního stresu.

Strukturní heterogenita flavonoidů, jejich rozmanité mechanismy účinku a různé experimentální metody používané k hodnocení jejich antioxidační aktivity, představují problémy při sestavení celkové hierarchie SAR. Ačkoli pro srovnání strukturně aktivitních vztahů metabolitů flavonoidů je potřeba další zkoumání, jsou již známy úpravy, vyplývající z metabolismu. Patří sem hydroxylace, *O* - methylace, štěpení heterocyklů, deglykosylace a sestřih polymerů na monomery. Strukturně aktivitní vztahy flavonoidů nabízejí pohled na dopad těchto metabolických změn při různých mechanismech antioxidačního účinku. (16)

4.14 Fenolické sloučeniny z rostlin jako inhibitory produkce oxidu dusnatého

V tomto článku se vědci zabývají rostlinnými inhibitory oxidu dusnatého. Oxid dusnatý je dvouatomový volný radikál, vznikající z L-argininu pomocí konstitutivní a inducibilní syntázy oxidu dusnatého (cNOS a iNOS) v mnoha savčích buňkách a tkáních. Oxid dusnatý (NO), superoxid a jejich reakční produkt peroxynitrit mohou být v přebytku tvořeny během odpovědi hostitele proti virovým a bakteriálním infekcím a přispívat tak k některým patogenezím za podpory oxidativního stresu, poškozením tkáně a dokonce vznikem rakoviny. Oxidativní poškození způsobené působením volných radikálů může zahájit a podporovat rozvoj řady chronických onemocnění, Alzheimerovu chorobu, diabetes a zánět. Mechanismu zánětu je z části přičítáno uvolnění kyslíkových radikálů z aktivovaných neutrofilů a makrofágů. Reaktivní formy kyslíku podporují rozšíření zánětu tak, že stimulují uvolňování mediátorů, jako jsou NO a cytokiny. Zájem o výzkum je motivován současnou potřebou nalézt nové látky přírodního původu, které vykazují účinnost v popsaných oblastech a mají pro člověka nízký stupeň toxicity. Přírodní produkty poskytují obrovské zásoby inhibitorů oxidu dusnatého, které mohou být případně použity ve vývoji klinických produktů. Toto review se zabývá vybranými fenolickými sekundárními metabolity rostlin, které mají tu vlastnost, že inhibují NO a dále se zabývá studiem vztahu mezi jejich strukturou a aktivitou.

4.14.1 Flavonoidy

Fenolické sloučeniny jsou jednou z nejdůležitějších skupin sekundárních metabolitů v rostlinách používaných jako potraviny. Epidemiologické studie ukázaly, že přirozeně se vyskytující fenolické sloučeniny mohou hrát významnou roli na lidské zdraví a chránit před

závažnými onemocněními. Věří se, že mají vztah k antioxidačním vlastnostem fenolických látek. Flavonoidy mají široké spektrum biologických účinků, například protizánětlivé. Přítomnost hydroxylových skupin na flavonoidovém jádře a jejich nahrazení methoxy skupinami, či cukry, ovlivňuje potlačení zánětu. (17)

4.15 Suplementace stravy kvercetinem výrazně zvyšuje koncentraci kvercetinu v plazmě bez vlivu na vybrané rizikové faktory srdečních onemocnění u zdravých jedinců

Účelem této studie bylo prozkoumat vliv doplňků stravy obsahujících kvercetin na jeho hodnoty v plazmě, na hladinu v séru, na hodnoty mastných kyselin v destičkách a vliv na rizikové faktory srdečních onemocnění. Zdraví muži a ženy s hladinou cholesterolu 4.0 -7.2 mmol/l konzumovali čtyři kapsle denně – byly jim podávány buď doplňky stravy s kvercetinem (obsah 1g kvercetinu denně), nebo rýžová mouka jako placebo – po dobu 28 dní. Příjem kvercetinu byl přibližně 50 - krát vyšší než příjem stravou a byl spojen s nižší úmrtností na koronární srdeční onemocnění, což bylo stanoveno na základě epidemiologických studií. Jedinci, konzumující doplňky s kvercetinem měli koncentraci kvercetinu v plazmě asi 23 – krát vyšší než jedinci, konzumující kontrolní kapsle. Kvercetinové doplňky nijak hodnoty celkového, LDL nebo HDL cholesterolu neovlivňují, neupravují ani hodnoty triglyceridů. Nedošlo také ke změnám u ostatních kardiovaskulárních onemocnění, nebo trombogenních rizikových faktorů, včetně agregace krevních destiček, produkce tromboxanu B_2 destičkami, dále ani u krevního tlaku nebo u klidové tepové frekvence. Navíc nebyl nalezen žádný účinek na hladiny (n-6) nebo (n-3) polynenasycených mastných kyselin v séru nebo v destičkových fosfolipidech. Příjem kapslí s kvercetinem výrazně zvýšil koncentraci kvercetinu v plazmě, ale neměl žádný účinek na další rizikové kardiovaskulární nebo trombogenní faktory. (18)

5. Diskuse

Z poznatků získaných z čerpané literatury můžeme říci, že flavonoidy jsou přírodní látky, které jsou pro organismus prospěšné. Jedná se o polyfenoly vyskytující se v rostlinné říši. Mají protizánětlivé účinky, snižují riziko výskytu kardiovaskulárních onemocnění, mají protirakovinové a antioxidační účinky. Některé studie ovšem potvrzují, že mohou mít i některá negativa. Nelze o flavonoidech obecně říci, že působí za všech okolností jako antioxidanty, jelikož za určitých specifických podmínek mohou vykazovat také prooxidační aktivitu.

Flavonoidy nejsou látky, které by byly pro tělo nepostradatelné, ale pro lidské zdraví jsou prospěšné. Mezi hlavní skupiny flavonoidů, které člověk potravou přijímá, jsou flavony (apigenin), flavanoly (katechin, epikatechin), flavanony (hesperidin, naringin), flavonoly (rutin, kvercetin), proanthokyanidiny (theaflaviny a thearubiginy), anthokyanidiny (delfinidin, malvidin) a isoflavonoidy (daidzein, genistein). Vyskytují se především v ovoci, zelenině, čaji, kakau, červeném víně, kávě, soji. Jak bylo popsáno v práci, mají antioxidační účinky, jelikož dokáží vychytávat volné radikály, a tím zabránit oxidativnímu poškození organismu, či potlačují peroxidaci lipidů a agregaci destiček, čímž zlepšují propustnost a odolnost cév (19). Kromě antioxidačních účinků mohou mít některé flavonoidy i prooxidační aktivitu, která je předmětem současných studií (viz str. 42).

Testování těchto látek na zvířatech rovněž potvrdilo jejich inhibiční účinky na rozvoj aterosklerózy (po suplementaci flavonoidy v čaji). Zájem o výzkum flavonoidů přítomných v čaji se zvýšil díky faktu, že čaj je hned po vodě nejvíce konzumovaným nápojem. Bylo prokázáno, že zvýšení konzumace zeleného nebo černého čaje na tři šálky denně, snížilo výskyt infarktu myokardu u 11 % případů. Rovněž bylo zjištěno, že konzumace černého čaje přispěla ke snížení krevního tlaku.

Důležitou vlastností flavonoidů je také snižování rizika výskytu rakoviny, jelikož flavonoidy zabraňují oxidativnímu stresu a tím i potencionálním vedlejším účinkům, této vlastnosti se říká chemoprevence. U soji se stala předmětem výzkumu schopnost zabránit vzniku agregátů destiček a snížit tak možnost vzniku trombu, což je způsobeno inhibicí kinázy. Tato schopnost, společně se schopností snížit hladiny LDL byla pozorována i u hořké čokolády.

Dále jsou v práci zmíněny účinky látek z rostlin *Achillea millefolium, Medicago sativa* či rod *Artemisia,* kde jsou zastoupeny velkou mírou i flavonoidy, které vykazují antioxidační, antimikrobiální, antimalarickou, hepatoprotektivní či antimykotickou aktivitu, což má velký farmakologický potenciál.

Podařilo se tedy naplnit cíl a získat přehled významných a přínosných dosud publikovaných informací o flavonoidech, o mechanismech některých jejich účinků, o jejich terapeutických možnostech a využití.

6. Závěr

Hlavním cílem mé práce bylo shromáždit poznatky ze současné odborné literatury o účincích flavonoidů na kardiovaskulární systém. V tomto směru shledávám výsledek své práce za úspěšný, jelikož se podařilo spojit široké množství informací o flavonoidech z různých přírodních zdrojů, o jejich mechanismu působení a o jejich účincích nejen na kardiovaskulární systém. Rovněž se podařilo získat a do práce začlenit i nežádoucí účinky, které mohou flavonoidy mít, a to je jejich prooxidační aktivita.

Jelikož kardiovaskulární onemocnění patří mezi ta, která jsou zčásti ovlivnitelná – například fyzickou aktivitou, správnou životosprávou, jsou flavonoidy stále více diskutovanými látkami, které by mohly napomoci s předcházením tomuto, ale i dalším onemocněním. Staly se tak předmětem zájmu mnoha výzkumů, a proto nebylo možno zachytit všechny studie, které na toto téma probíhají.

Flavonoidy vykazují především antioxidační, protizánětlivé, antikancerogenní a antiagregační účinky, ale i antimykotickou či antimalarickou aktivitu.

Podařilo se tedy splnit vytyčené cíle a zmapovat problematiku flavonoidů, shromáždit informace především ve vztahu ke KVS o jejich možných příznivých účincích na lidské zdraví, ale rovněž i o možných negativních účincích (prooxidační aktivita).

Závěrem lze ze získaných výsledků mé práce konstatovat, že flavonoidy jsou perspektivními látkami k podpůrné terapii různých typů onemocnění, ale je nutné provést další studie, které budou více specifické a poskytnou další potvrzení i rozšíření dosud získaných výsledků.

7. Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické botaniky a ekologie

Kandidát: Pavlína Šramarová

Školitel: PharmDr. Jana Karlíčková, Ph.D.

Bakalářská práce 2013/2014: Účinky flavonoidů na kardiovaskulární systém, s. 54

Flavonoidy jsou rostlinné sekundární metabolity. Mají pozitivní vliv na lidské zdraví a vykazují antioxidační aktivitu. Vychytávají volné radikály a snižují riziko výskytu kardiovaskulárních onemocnění, zánětlivých onemocnění i rakoviny. Tato bakalářská práce se zabývá mechanismy jejich působení, vztahem mezi strukturou flavonoidů a jejich antioxidační aktivitou a jejich potencionálním přínosem při předcházení a léčbě kardiovaskulárních onemocnění. V práci lze nalézt přehled významných účinků některých rostlin, obsahujících flavonoidy, jako jsou např. *Camellia sinensis, Vitis vinifera, Achillea millefolium,* rod *Artemisia* aj.

Klíčová slova: flavonoidy, kardiovaskulární systém, účinky, antioxidanty

8. Abstract

Charles University in Prague

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmaceutical Botany and Ecology

Candidate: Pavlína Šramarová

Supervisor: PharmDr. Jana Karlíčková, Ph.D

Bachelor thesis 2013/2014: Effects of flavonoids on cardiovascular system, pp. 54

Flavonoids are plant secondary metabolities. Flavonoids have a positive influence on human health and show antioxidant activity. They scavenge free radicals and reduce the risk of cardiovascular diseases, inflammatory diseases and cancer. This bachelor thesis explores mechanisms of their action, relationships between structure of flavonoids and antioxidant activity as well as their potential benefit in the prevention and treatment of cardiovascular diseases. In addition, this work provides an overview of the significant effects of certain plants containing flavonoids such as *Camellia sinensis, Vitis vinifera, Achillea millefolium,* genus *Artemisia* etc.

Key words: flavonoids, the cardiovascular system, effects, antioxidants

9. Použité zkratky

Zkratka	anglický význam	český význam
2 - NBDG	2 – deoxy – 2 - [(7 – nitro - 2, 1, 3 – benzoxadiazol – 4 - yl)amino] - D – glucose	2 – deoxy – 2 - [(7 – nitro – 2, 1, 3 – benzoxadiazol – 4 – yl) amino] - D – glukóza
ABTS	2, 2'- azinobis - (3 – ethylbenzothiazoline – 6 - sulfonic acid)	2, 2'- azinobis - (3 – ethylbenzothiazoline – 6 - sulfonová kyselina)
AMPK	adenosine monophosphate-activated protein kinase	AMP aktivovaná proteinkináza
apoE	apolipoprotein E	apolipoprotein E
AS 160		GTPáza aktivující protein
CAMP	Cyclic adenosine monophosphate	cyklický adenosin monofosfát
CAT	catalase	kataláza
COMT	catechol - O - methyltransferase	katechol - O - methyltransferáza
CYP1A	cytochrome P450	cytochrom P450, člen A1 z rodiny 1
DPPH radikál	diphenylpicrylhydrazyl	difenylpikrylhydrazyl
EGCG	epigallocatechin gallate	epigallokatechingallát
EpRE	electrophile responsive element	elektrofilní reponsní element
ESR	electron spin resonance	elektronová spinová rezonance
FMD	flow mediated dilation	dilatace zprostředkovaná průtokem
Glut4	glucose transporter type 4	glukózový transportér typu 4
GPx	glutathione peroxidase	glutathionperoxidáza
GR	glutathion reductase	glutathionreduktáza
GSH	glutathion	glutathion
GST	glutathion - S - transferase	glutathion - S - transferáza
HDL	high density lipoprotein	lipoproteiny o vysoké hustotě
HPLC - DAD	high-performance liquid chromatography with diode-array detection	vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detektorem diodového pole
ICHS		ischemická choroba srdeční
KVO		kardiovaskulární onemocnění
KVS		kardiovaskulární systém
LC - MS	liquid chromatography – mass spektrometry	kapalinová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií
LDL	low density lipoprotein	lipoproteiny o nízké hustotě
MCP - 1	monocyte chemotactic protein-1	monocytový chemotaktický protein
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	nikotinamidadenindinukleotidfosfá
NF-κB	nuclear factor kappa B	jaderný faktor kappa B
NO	nitric oxide	oxid dusnatý
NOS	nitric oxide synthase	NO syntáza
Nrf2	nuclear factor erythroid 2	
P450	cytochrome P450	cytochrom P450

PECAM-1	platelet endothelial cell adhesion molecule	adhezní molekula přítomná zejména na endotelu
RNS	reactive nitrogen species	reaktivní druhy dusíku
ROS	reactive oxygen species	reaktivní druhy kyslíku
SAR	structure - activity relationships	strukturně-aktivitní vztahy
siRNA	small interfering RNA	krátká interferující RNA
SOD	superoxid dismutase	superoxid dismutáza
TAC	total antioxidant capacity	celková antioxidační kapacita
TBARS	thiobarbituric acid reactive substances	reaktivní substance kyseliny thiobarbiturové
TEAC	trolox equivalent antioxidant capacity	ekvivalentní antioxidační kapacita troloxu

10. Použitá literatura

(1) KOVÁŘ, L. VITIS VINIFERA L.: réva vinná / vinič hroznorodý. *BOTANY.cz* [online]. 2008 [cit. 2014-04-11]. Dostupné z:http://botany.cz/cs/vitis-vinifera/

(2) PROCHÁZKOVÁ, D., BOUŠOVÁ I. a WILHELMOVÁ N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*. 2011, 82 (4), s. 513-523.

(3) JAHODÁŘ, L. *Farmakobotanika: semenné rostliny*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2006, 258 s. ISBN 80-246-1225-9.

(4) HODGSON, J. M. a CROFT K. D. Tea flavonoids and cardiovascular health. *Molecular Aspects of Medicine*. 2010, 31 (6), s. 495-502.

(5) JAGTAP, S., MEGANATHAN K., WAGH V., WINKLER J., HESCHELER J. a SACHINIDIS A. Chemoprotective Mechanism of the Natural Compounds, Epigallocatechin- 3-O-Gallate, Quercetin and Curcumin Against Cancer and Cardiovascular Diseases. *Current Medicinal Chemistry*. 2009, 16, 1451 - 1462.

(6) VANHEES, K., VAN SCHOOTEN F. J., VAN WAALWIJK VAN DOORN - KHOSROVANI S. B., VAN HELDEN S., MUNNIA A., PELUSO M., BRIEDÉ J. J., HAENEN G. R. M. M. a GODSCHALK R. W. L., Intrauterine exposure to flavonoids modifies antioxidant status at adulthood and decreases oxidative stress-induced DNA damage. *Free Radical Biology and Medicine*. 2013, 57 (April 2013), s. 154-161.

(7) KIM, K., LIM K., SHIN H., SEO D., NOH J., KANG S., CHUNG H. Y., SHIN S., CHUNG J. a BAE O. Inhibitory effects of black soybean on platelet activation mediated through its active component of adenosine.*Thrombosis Research*. 2013, 131 (3), s. 254-261.

(8) WRIGHT, B., SPENCER J. P. E., LOVEGROVE J. A. a GIBBINS J. M. Insights into dietary flavonoids as molecular templates for the design of anti-platelet drugs. *Cardiovascular Research*. 2012, 97 (1), s. 13-22.

(9) KIM, M. S., HUR H. J., KWON D.Y. a HWANG J. Tangeretin stimulates glucose uptake via regulation of AMPK signaling pathways in C2C12 myotubes and improves glucose tolerance in high-fat diet-induced obese mice. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2012, 358 (1), s. 127-134.

(10) NANETTI, L., RAFFAELLI F., TRANQUILLI A. L., FIORINI R., MAZZANTI L. a VIGNINI A. Effect of consumption of dark chocolate on oxidative stress in lipoproteins and platelets in women and in men. *Appetite*. 2012, 58 (1), s. 400-405.

(11) DALL'ACQUA, S., BOLEGO C., CIGNARELLA A., GAION R. M. a INNOCENTI G. Vasoprotective activity of standardized Achillea millefolium extract. *Phytomedicine*. 2011, 18 (12), s. 1031-1036.

(12) CIBULKA, R. MEDICAGO SATIVA L.: tolice vojtěška. *BOTANY.cz* [online]. 2007 [cit. 2014-03-27]. Dostupné z: http://botany.cz/cs/medicago-sativa/

(13) BORA, K. S. a SHARMA A. Phytochemical and pharmacological potential of Medicago sativa: A review.*Pharmaceutical Biology*. 2011, 49 (2), s. 211-220.

(14) WALLACE, T. C. Anthocyanins in Cardiovascular Disease. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*. 2011, 2 (1), s. 1-7.

(15) BORA, K. S. a SHARMA A. The Genus Artemisia: A Comprehensive Review. *Pharmaceutical Biology*. 2011, 49 (1), s. 101-109.

(16) HEIM, K. E., TAGLIAFERRO A. R. a BOBILYA D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2002, 13 (10), s. 572-584.

(17) CONFORTI, F. a MENICHINI F. Phenolic Compounds from Plants as Nitric Oxide Production Inhibitors. *Current Medicinal Chemistry*. 2011, 18 (8), s. 1137-1145.

(18) CONQUER, J. A., MAIANI G., RAGUZZINI A. a HOLUB B. J. Supplementation with Quercetin Markedly Increases Plasma Quercetin Concentration without Effect on Selected Risk Factors for Heart Disease in Healthy Subjects. *Journal of Nutrition*. 1998, 128 (3), s. 593-597.

(19) MLADĚNKA, P., ZATLOUKALOVÁ L., FILIPSKÝ T. a HRDINA R. Cardiovascular effects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. *Free Radical Biology and Medicine*. 2010, 49 (6), s. 963-975.