

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Kateřina Pýchová

Farmakologicky aktivní účinné látky chmele

Pharmacologically active compounds in hops

Bakalářská práce

Školitel:

doc. RNDr. Fatima Cvrčková, Dr.

Praha, 2015

Poděkování: Ráda bych poděkovala své školitelce, paní doc. RNDr. Fatimě Cvrčkové, Dr., za odbornou pomoc a trpělivost, paní doc. RNDr. Heleně Lipavské, Ph.D., a panu doc. RNDr. Martinu Kalousovi, CSc., za poskytnutí zpětné vazby v závěrečné fázi zpracování.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 14. 05. 2015

Podpis

Abstrakt

Chmel otáčivý (*Humulus lupulus*) se využívá mimo pivovarnictví i ve fytofarmakologii a fytoterapii. Mezi látky, které se za účelem léčby izolují nebo i chemicky vyrábějí, patří xanthohumol, 8-prenylnaringenin a α a β -hořké kyseliny. Mnoho pozornosti se věnuje jejich účinkům na lidský organismus – v dnešní době hlavně protirakovinným účinkům –, ale málo se toho ví o jejich významu pro produkující rostlinu. Většina sekundárních metabolitů rostlin je produkována za účelem ochrany rostliny samé proti patogenům a herbivorům, tyto vybrané sekundární metabolity chmele nejsou výjimkou. Cílem této práce bylo shrnout publikované údaje o biologickém významu vybraných chmelových sekundárních metabolitů a jejich účincích na nerostlinné organismy, především člověka.

Klíčová slova: chmel, *Humulus lupulus*, xanthohumol, 8-prenylnaringenin, α -hořké kyseliny, β -hořké kyseliny, humulon, lupulon

Abstract

The hop plant (*Humulus lupulus*) is used not only in brewing but also in phytopharmacology and phytotherapy. Among the isolated or chemically produced substances used for healing are xanthohumol, 8-prenylnaringine and α and β -bitter acids. Nowadays, a lot of attention is paid to their effect on humans – especially to their anticancer activity. But there is a lack of information about the importance of these substances for the hop plant itself. Most of the plant secondary metabolites originally serve for protection of the plant against pathogens and herbivores. The selected metabolites are not an exception. The purpose of this work was to summarize the published data about the biological importance of selected hop secondary metabolites and the effects they have on other organisms than plants, with an emphasis on humans.

Key words: hop, *Humulus lupulus*, xanthohumol, 8-prenylnaringine, α -bitter acids, β -bitter acids, humulone, lupulone

Seznam zkratk:

CAM	kuřecí chorioalantoická membrána
CEE	ekvinní konjugované estrogény (conjugated equine oestrogens)
COX	cyklooxygenáza
DMAPP	dimethylallyldifosfát
ER-α	receptor estrogenu α
ER-β	receptor estrogenu β
GABA	kyselina gama-aminomáselná
HRT	hormonální terapie (hormone replacement therapy)
LDH	laktátdehydrogenáza
LDL	nízkodenzitní lipoprotein (low density lipoprotein)
PIBP	phloroisobutyrophenon
PIVP	phlorisovalerophenon
QR	chinon reduktáza
ROS	reaktivní formy kyslíku
RSV	respirační syncytiální virus
TPA	12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetát
VPS	valerophenonsyntáza
VD3	vitamín D3
XRHE	extrakt bohatý na xanthohumol (xanthohumol rich hop extract)

Obsah

1. Úvod	1
2. Chmel – botanika a historie	1
3. Xanthohumoly.....	2
3.1 Biosyntéza xanthohumolu	3
3.2 Xanthohumol a stres	4
3.3 Vybrané biologické účinky na nerostlinné organismy	4
3.3.1 Antioxidační účinky	4
3.3.2 Protirakovinné účinky	5
3.3.3 Snížení rizika obezity	6
4. 8-prenylnaringenin	6
4.1 Biosyntéza 8-prenylnaringeninu	7
4.2 Možný význam 8-prenylnaringeninu pro chmel	7
4.3 Vybrané účinky 8-prenylnaringeninu na nerostlinné organismy	8
4.3.1 Účinky na reprodukční orgány a procesy živočichů	8
4.3.1.1 Zmírnění komplikací v menopauze a po ovariektomii u žen	8
4.3.3 Protirakovinné účinky	9
5. Hořké kyseliny	10
5.1 Biosyntéza hořkých kyselin	10
5.2 Možný význam hořkých kyselin pro chmel	11
5.3 Vybrané účinky hořkých kyselin na nerostlinné organismy	11
5.3.1 Antibakteriální účinky	11
5.3.2 Sedativní účinky.....	12
5.3.3 Další účinky	12
6. Závěr	13
7. Zdroje.....	14

1. Úvod

Chmel byl od pradávna využíván v bylinkářství pro léčení všelijakých neduhů, mezi ty nejdůležitější patří nespavost, zmírnění příznaků při/po menopauze, ale i rakovina. V této práci se zabývám vybranými látkami vyskytujícími se v lupulinu, sekretu vylučovaném žláznatými trichomy samičího květenství, a jejich významem pro chmel samotný a vybranými účinky na jiné nerostlinné organismy.

2. Chmel – botanika a historie

Chmel otáčivý (*Humulus lupulus*, Obr. 1) je popínavá rostlina patřící do čeledi Cannabaceae. Je trvalkou a každoročně vyrůstá z oddenků. Listy jsou vstřícně postavené, mají hrubý povrch a 3-5 ostře zakončených laloků. Patří mezi dvoudomé rostliny s morfologicky odlišnými samičími a samčími květy. Charakteristické šišťice plodí pouze samičí rostlina. Šišťice jsou tvořeny překrývajícími se listeny. Samčí květenství je hroznovité (Zanoli, Zavatti, 2008). Přírodním habitatem pro chmel jsou mokrá až bažinatá údolí a olšové nebo dubové lesy (Wilson, 1975). Jednotlivé odrůdy jsou rozdělené na základě morfologických charakteristik, např. podle počtu laloků na listech. Evropská varianta je *H. lupulus lupulus*. Kulturní varianty pěstované v Evropě se od sebe moc geneticky neliší, což naznačuje, že došlo v minulosti k rychlé expanzi jedné

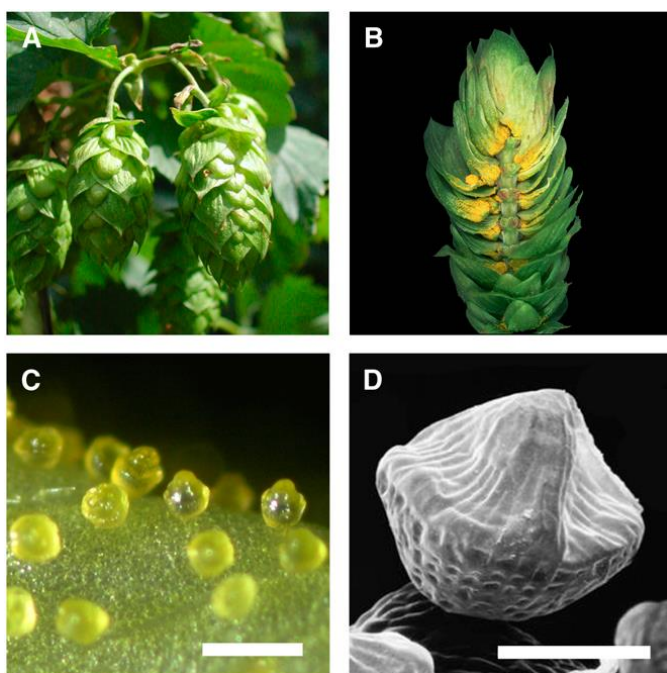


Obrázek 1: Chmel otáčivý, *Humulus lupulus* (Thomé, 1905)

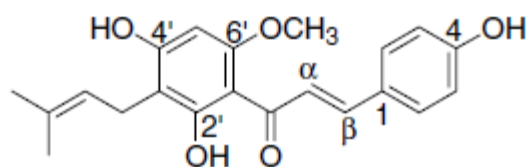
varianty do celé Evropy. Severoamerická odrůda chmelu pravděpodobně migrovala z Asie a asijské odrůdy jsou geneticky velice odlišné. Avšak všechny varianty jsou pravděpodobně odvozené z původních asijských variant divokého chmele (Murakami et al., 2006).

3. Xanthohumoly

Xanthohumol je nejvýznamnější prenylovaný flavonoid, který se vyskytuje v samičím květenství výlučně u druhu *Humulus lupulus*. Je součástí pryskyřice vylučované z lupulinových žláz v trichomech, které jsou lokalizované na adaxiální straně listu chmele (Obr. 2) (Stevens, Page, 2004). Podobné struktury se vyskytují jak ve vyvinutých listech, tak na tyčinkách v samčím květenství (Nagel et al., 2008). V těchto částech rostliny je obsah xanthohumolu nízký, je přibližně stejný jako v trichomech v rané fázi vývoje samičího květenství. S postupným zráním květu se zvyšuje i koncentrace xanthohumolu v pryskyřici, kterou květ produkuje (De Keukeleire et al., 2003, 2007). Tento specifický flavonoid byl poprvé izolován a částečně charakterizován v roce 1913 (Power et al., 1913). Struktura (Obr. 3) byla poprvé navržena Verzelem et al. (1957). Hlavním zdrojem xanthohumolu pro člověka je pivo, kterému dodává charakteristickou hořkou chuť. Ve formě prezentované na obrázku 3 se ale v pivě nevyskytuje. Během vaření



Obrázek 2: Samičí květenství a lokalizace lupulinových žláz
A – samičí květenství, B – příčný řez květem ukazující žlázy žlutě, C – detail trichomu, D – snímek zralého trichomu elektronovým mikroskopem (Naagel et al., 2008)

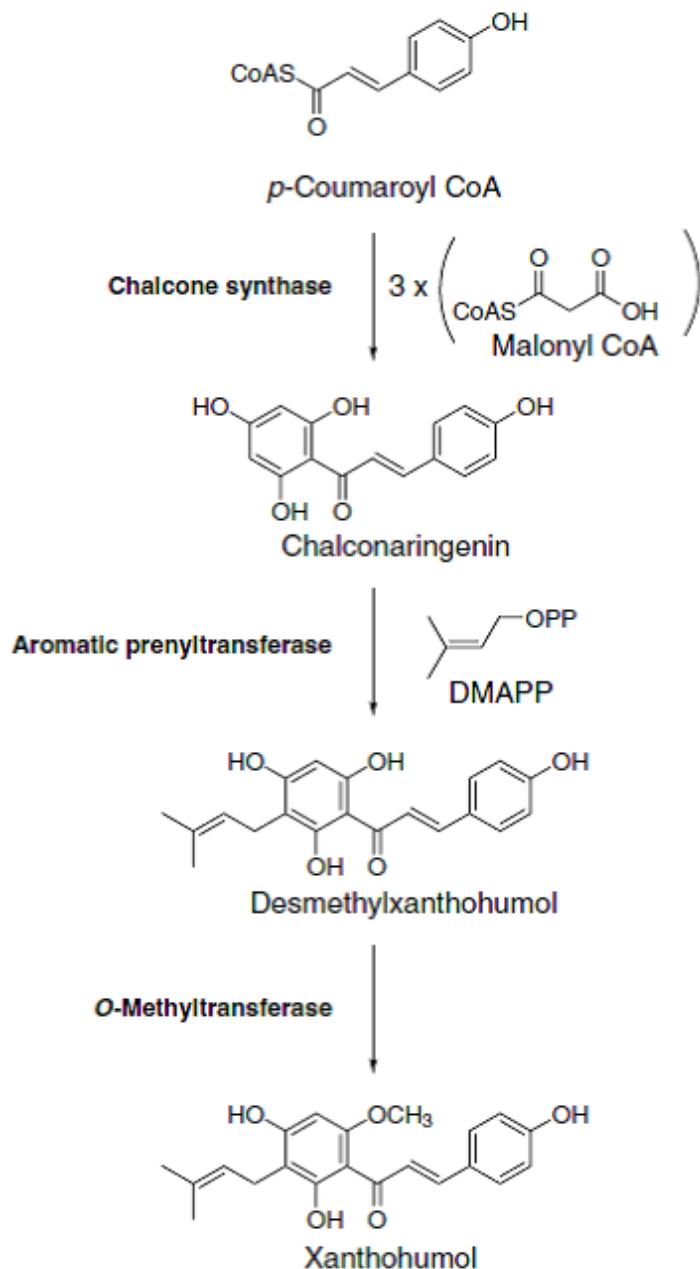


Obrázek 3: Chemická struktura xanthohumolu (Stevens, Page, 2004)

piva dochází díky vysoké teplotě a jeho chemickým vlastnostem k jeho zacyklení prostřednictvím volné hydroxylové skupiny (Stevens et al., 1998). V poslední době je tento flavonoid zkoumán pro své protirakovinné účinky (dále viz 3.3 Vybrané účinky na nerostlinné organismy).

3.1 Biosyntéza xanthohumolu

Xanthohumoly jsou jednoduché prenylované chalcony. Biosyntéza je podobná jako u ostatních flavonoidů. Vše začíná kondenzací *p*-kumaryl-CoA se třemi molekulami malonyl CoA, čímž vzniká chalconaringenin. Tato reakce je katalyzovaná chalconosyntázou. Dalším důležitým enzymem v biosyntéze flavononů je chalconizomeráza, díky které se přeměňují tetrahydroxychalkony na flavanony. U xanthohumolu předchází izomeraci prenylace na desmethylxanthohumol a metylace na finální xanthohumol. Tyto reakce pravděpodobně inhibují konverzi tetrahydroxychalkonu na flavanon, čímž se biosyntetická dráha xanthohumolu odděluje a vznikají specifické metabolické dráhy biosyntézy flavonoidů a xanthohumolu. Prenylací kruhu A dimethylallyldifosfátem (DMAPP) tedy vzniká desmethylxanthohumol, který je následně methylován na 6'-OH skupině a vzniká xanthohumol. Na obrázku 4 je tato dráha schématicky znázorněná (Stevens, Page, 2004).



Obrázek 4: Schéma biosyntézy xanthohumolu (Stevens, Page, 2004)

3.2 Xanthohumol a stres

Xanthohumol je s největší pravděpodobností sekundární metabolit produkovaný za účelem ochrany rostliny. Ve studii výzkumné skupiny De Keukeleire et al. (2007) bylo několik odrůd druhu *Humulus lupulus* vystaveno různým klimatickým podmínkám a byla sledována koncentrace xanthohumolu a dalších molekul. Počasí bylo rovněž monitorováno. První rok byl suchý a teplý, druhý s vysokou koncentrací srážek a poslední rok se pohyboval mezi oběma extrémy. V průběhu každého roku se vyskytoval jiný stres v podobě herbivorů nebo plísní. Suchý rok byly rostliny napadeny mšicemi a sviluškami chmelovými, vlhký rok trpěly napadením jak mšicemi, tak plísní révy vinné a poslední vyrovnaný rok se vyskytovala plíseň i mšice, ale ne v nekontrolovatelné míře. Obsah xanthohumolu se mezi odrůdami lišil, ale průměrně byla nejvyšší během druhého roku, kdy nejvíce pršelo, a chmel byl vystavený největšímu stresu. Naopak nejmenší koncentrace byly zaznamenány první rok. Díky své antioxidační schopnosti by mohl být xanthohumol schopný zhaset ROS (reaktivní formy kyslíku) v rostlinném organismu. Ve studii Agati et al. (2007) byla popsána korelace mezi lokalizací flavonoidů v chloroplastu a vakuole a zhasení singletového kyslíku (antioxidační účinky xanthohumolu viz 3.3.1).

3.3 Vybrané biologické účinky na nerostlinné organismy

Xanthohumol je perspektivní látkou pro využití ve fytoterapii a fytofarmakologii. Mezi jeho účinky patří modulace metabolismu při obezitě, ochrana před oxidativním poškozením, inhibice resorpce kostí nebo protirakovinné účinky.

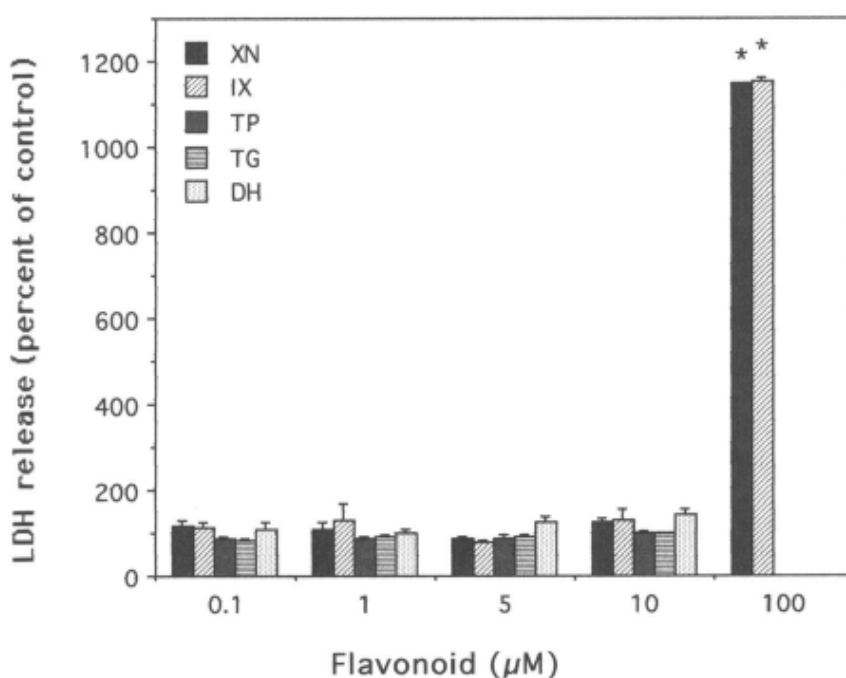
3.3.1 Antioxidační účinky

Xanthohumol a jeho metabolické deriváty působí antioxidačně. Nadměrná konzumace alkoholu může vést k indukci oxidativního stresu a v důsledku i k poškození tkání. Výsledky studie Pinto et al. (2014) ukazují, že u jaterní tkáně potkana vystavené napřed xanthohumolu a až následně etanolu je snižená peroxidace lipidů. Dále jsou xanthohumol a jeho deriváty efektivními inhibitory oxidace LDL (nízkodenzitní lipoprotein), která může vést k rozvoji aterosklerózy (Yilmazer et al., 2001). Xanthohumol indukuje QR (chinon reduktázu), která chrání buňky před toxicitou xenobiotik, protože redukuje vznikající toxické chinony na netoxické hydrochinony a ty jsou následně organismem vylučované. Pravděpodobně jsou schopné zvýšit transkripci

genu kódujícího QR, stabilizovat jeho mRNA, anebo snižovat míru degradace QR (Miranda et al., 2000).

3.3.2 Protirakovinné účinky

Flavonoidy obecně jsou v poslední době zkoumané pro své protirakovinné účinky. Míra schopnosti inhibovat proliferaci rakovinných buněk je závislá na jejich chemické struktuře, na počtu a umístění substitucí hydroxylovou skupinou (Miranda et al., 1999). Xanthohumol brání karcinogenezi během iniciace, promoce i progresu rakoviny. Xanthohumol byl schopný po indukci TPA (12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate, promotor karcinogeneze) inhibovat produkci superoxidových aniontů patřících mezi reaktivní formy kyslíku a zároveň tyto ROS zháší díky své antioxidační schopnosti. Xanthohumol inhibuje aktivitu DNA-polymerázy α , čímž se redukuje množství buněk, a tak blokuje proliferaci (Gerhauser et al., 2002). Je schopný inhibovat metabolickou aktivaci prokarcinogenů, zároveň indukuje enzymy detoxikující karcinogeny (Stevens, Page, 2004). Ze zatím testovaných flavonoidů je xanthohumol ten nejúčinnější, jeho izomer, izoxanthohumol, vyskytující se v pivu, zdaleka není tak všestranný. Ve studii Miranda et al. (1999) byla testovaná reakce rakovinných buněk prsou, vaječníků a tlustého střeva na přidávání živných médií obsahujících 6 flavonoidů (včetně xanthohumolu) v různých koncentracích. Antiproliferační aktivita xanthohumolu byla nejvyšší. Pro potkaní hepatocyty vystavené koncentraci 100 μM a více se však tato látka stávala vysoce toxickou, po jednodenním



Obrázek 5: Efekt flavonoidů z chmele na životaschopnost potkaních hepatocytů, XN – xanthohumol, IX – izoxanthohumol, (Miranda et al., 1999)

ošetření byly hodnoty LDH (laktátdehydrogenázy), enzymu vylučovaného z buněk při jejich poranění, výrazně vyšší než při nižších koncentracích (Obr. 5).

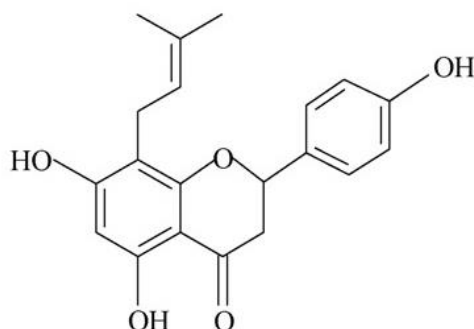
3.3.3 Snížení rizika obezity

Obezita je v dnešní době velkým problémem, je zodpovědná za rozvoj celé řady onemocnění u jinak zdravých jedinců. Jde vlastně o rozdíl mezi množstvím přijímané a vydávané energie. Jedním z důsledků obezity je nesprávně probíhající β -oxidace v mitochondriích. Dochází k začlenění ROS do řetězce mastných kyselin za vzniku dikarboxylových a hydroperoxykyselin. Jsou to markery špatně probíhajícího metabolismu mastných kyselin například při hladovění nebo právě obezitě (Rogge, 2004). Dikarboxylových kyselin je za normálních okolností v krvi málo, ale při nesprávně fungující β -oxidaci nebo vyšším příjmu mastných kyselin z potravy se jejich koncentrace v krvi zvyšuje. Po aplikaci xanthohumolu dochází ke snížení tvorby ROS, a tím i těchto metabolitů (Kirkwood, 2013). Dalšími důsledky obezity jsou diabetes typu 2, dyslipidémie, kardiovaskulární onemocnění a další. Výzkumná skupina Yui et al. (2014) zkoumala vliv extraktu bohatého na xanthohumol (XRHE) na rizikové stavy spojené s obezitou na potkanech. XRHE mělo tendenci snižovat syntézu mastných kyselin v játrech, snižovat nárůst tělesné hmotnosti a hmotnosti jater a koncentraci triacylglycerolu v plazmě potkanů. Naopak se zvýšilo množství adiponektinu (protein tvořený tukovou tkání chránící proti negativním důsledkům obezity a metabolických onemocnění). V použitém extraktu nebyl pouze xanthohumol, ale i další neznámé flavonoidy, takže výše zmíněné efekty nemusely být způsobené pouze xanthohumolem (Yui et al., 2014).

4. 8-prenylnaringenin

8-prenylnaringenin (Obr. 6) patří mezi fytoestrogeny, látky, které se váží na receptory estrogenu, ale jsou rostlinného původu. 8-prenylnaringenin se ve chmelu vyskytuje ještě v izoformě 6-prenylnaringeninu, která nemá tak silné účinky. Obě tyto látky patří do skupiny prenylovaných flavonoidů. 8-prenylnaringenin se ve chmelu vyskytuje v sekretu vylučovaném ze samičího květenství, lupulinu (Stevens a Page, 2004). Chmelové koupele a odvary byly v minulosti používány k léčbě gynekologických problémů nebo ke zmírnění komplikací spojených s menopauzou. Česačky na polích, které se chmelem přicházely do styku delší dobu, mívaly nepravidelnou menstruaci. Historické záznamy o využití chmele v léčitelství i o jeho negativních účincích na menstruační cyklus česaček vedl k sérii výzkumů estrogenní aktivity chmele a objevení

zatím nejpotentnějšího fytoestrogenu, 8-prenylnaringenin (Milligan et al., 1999, 2000). O pivu se říká, že po něm rostou prsa. Nadměrný příjem fytoestrogenů skutečně může ovlivnit začátek puberty a s ním i sekundární pohlavní znaky, ale spíš negativně. Způsobují předčasnou pubertu a opožděný růst prsou i pubického ochlupení (Chakraborty et al., 2012).



Obrázek 6: Chemická struktura 8-prenylnaringenin
(Zanoli, Zavatti, 2008)

4.1 Biosyntéza 8-prenylnaringenin

Jak už bylo naznačeno výše, patří 8-prenylnaringenin mezi prenylované flavonoidy. Jeho biosyntetická dráha je až do posledního kroku totožná s dráhou vzniku xanthohumolu (viz kapitola 4.1 a Obr. 4). Nedochozí tedy k methylaci 6'-OH skupiny desmethylxanthohumolu, pouze k jeho izomeraci na 8-prenylnaringenin (Stevens a Page, 2004). Ohledně biosyntézy a výskytu 8-prenylnaringenin panují stále dohady. Někteří autoři se domnívají, že tento metabolit vzniká až v trávicím traktu herbivora, jiní že při vaření piva a v rostlině se ve formě 8-prenylnaringenin nevyskytuje vůbec. 8-prenylnaringenin může rovněž vznikat konverzí z isoxanthohumolu i xanthohumolu ve střevním epitelu živočichů (Possemiers et al., 2006).

4.2 Možný význam 8-prenylnaringenin pro chmel

Fytoestrogeny jsou látky, které mají podobnou chemickou strukturu jako živočišné estrogény a jsou schopné se vázat na jejich receptory. Dle studie Clauda L. Hughse (1988) jsou tyto látky syntetizované výhradně za účelem obrany rostliny a nemají v ní samotné žádnou fyziologickou funkci. Jejich úkolem je ovlivňovat reprodukční schopnost herbivorů, a to hlavně samic. Nejnovější studie prokázaly, že fytoestrogeny obecně mohou mít i epigenetické účinky. Vystavení

fytoestrogenům může mít dopad na reprodukci nerostlinných organismů, například ovcí, dobytka, ale i lidí. Na druhou stranu má u lidí pozitivní efekt na zvýšení obranyschopnosti proti některým druhům rakoviny. Testy na myších ukazují, že tyto efekty (pozitivní i negativní) se mohou promítat i do dalších generací živočichů (Guerrero-Bosagna, Skinner, 2013).

4.3 Vybrané účinky 8-prenylnaringeninů na nerostlinné organismy

Ohledně estrogenicity 8-prenylnaringeninů byly dlouhou dobu debaty. Někteří autoři připisovali této látce vysoké estrogení účinky, jiní žádné. Rozdílné výsledky těchto skupin byly pravděpodobně dané různou povahou použitého extraktu z chmele. Dnes už o estrogenicitě 8-prenylnaringeninů není pochyb a je považován za nejpotentnější fytoestrogen vůbec. Účinky tohoto sekundárního metabolitu jsou pozorovatelné převážně u žen. V testech na potkanech bylo dokázáno, že se 8-prenylnaringenin váže na receptory estrogenu ER α (ovlivňuje hlavně kostní metabolismus) a ER β (důležitý pro stimulaci folikulů a udržování stálé koncentrace luteinizačního hormonu v krvi), na ER α s vyšší afinitou (Schaefer et al., 2003; Húmpel et al., 2005), a je kompetitorem nejběžnější formy savčího estrogenu, 17 β -estradiolu (Húmpel et al., 2005).

4.3.1 Účinky na reprodukční orgány a procesy živočichů

Estrogeny ovlivňují funkci a vývoj spermií a to nejen v rozmnožovací soustavě samce ale i samice. Výzkumná skupina Adeoya-Osiguwa et al. (2003) zkoumala efekt 8-prenylnaringeninů a dalších environmentálních estrogenů na maturaci potkaních a lidských spermií. Spermie vystavené nízkým koncentracím 8-prenylnaringeninů vykazovaly lepší životaschopnost, maturaci, kapacitaci i rychlejší průběh akrozomální reakce než spermie kultivované bez přítomnosti estrogenů. Fytoestrogeny tedy na jedné straně způsobují reprodukční problémy u samic (česačky chmele s nepravidelnou menstruací, Zanolini, Zavatti, 2008) a na straně druhé vitálnější spermie u samců.

4.3.1.1 Zmírnění komplikací v menopauze a po ovariektomii u žen

Symptomy menopauzy a stavy po ovariektomii jsou léčeny hlavně hormonálními substituty, jako jsou CEE (conjugated equine oestrogens – koňské estrogeny s napojenou postranní hydrofilní skupinou, např. sulfátem) a medroxyprogesteron acetát. *Women's Health Initiative*, organizace zaměřující se na prevenci vzniku chorob v souvislosti s menopauzou, dlouhodobě

testuje účinnost a nežádoucí účinky hormonální terapie (HRT). Podle jejich výsledků užívání HRT může zvyšovat risk vzniku rakoviny prsu (Garton, 2003; McTiernan, 2009). Nová substituční léčba fytohormony je přijatelným východiskem pro mnoho žen trpících komplikacemi spojenými s menopauzou a ovariectomií (Rad et al., 2006). Mezi nejúčinnější preparáty patří ty, obsahující výtažky z jetele lučního nebo právě z chmele (Liu et al., 2001). Výzkumná skupina Heyerick et al. v roce 2005 provedla první prospektivní dvojité slepý test s výtažkem z chmele se standardizovaným obsahem 8-prenylnaringeninu. Během 12 týdnů testovali 67 žen v menopauze, kterým podávali denně 100 µg, nebo 250 µg 8-prenylnaringeninu či placebo. Nejvýznamnější ústup návalů horka a dalších komplikací vykazovala skupina dostávající dávky 100 µg 8-prenylnaringeninu denně. Chmelový extrakt tedy je atraktivní náhradou za hormonální substituci (Heyerick et al., 2005). Podobný test provedla skupina Rad et al. (2006) a zjistila, že čistý 8-prenylnaringenin nemá v koncentracích 50-750 mg významné vedlejší účinky (Rad et al., 2006). 8-prenylnaringenin má pozitivní vliv i na resorpci kostí. Mnoho žen trpí po ovariectomii ztrátou kostní hmoty a tento fytoestrogen je schopný kompletně chránit kosti před degradací kostní tkáně s minimálním vlivem na velikost a váhu děložní sliznice a endometria (Hümpel et al., 2005).

4.3.3 Protirakovinné účinky

Tím, že je 8-prenylnaringenin schopný se vázat na receptory estrogenu a ovlivňovat genovou expresi v buňce, může ve velkých koncentracích ovlivňovat expresi v rakovinných buňkách prsu. Skrze snižování exprese cyklinů D1 tlumí buněčnou proliferaci a stimuluje apoptózu rakovinných buněk (Brunelli et al., 2007). Dále snižuje angiogenezi v nádorech *in vivo*, zmírňuje růst velkých cév (na vlásečnice nemají skoro žádný účinek) v CAM (kuřecí chorioalantoická membrána), ale v menší míře než genistein, fytoestrogen izolovaný ze sóji (Pepper et al., 2004). Na druhou stranu 8-prenylnaringenin stimuluje agregaci a růst rakovinných buněk invazivní formy linie MCF-7 skrze E-kadherin/katenin komplex (Rong, Boterberg et al., 2001). Absence E-kadherin/katenin komplexu je jednou z charakteristik nádorových buněk prsu, žaludku, štítné žlázy, ovaria aj. (Klener a Klener, 2013). Proliferace určitých typů rakoviny prsu může být i indukovaná estrogény nebo fytoestrogény. Na takovýto typ rakoviny se indikuje léčba kompetitory estrogenních receptorů, které potom estrogény nemohou vázat. Tím mo-

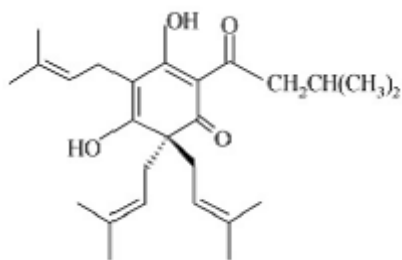
hou vzniknout podobné příznaky jako u menopauzy a ženy to často řeší preparáty s fytoestrogeny, čímž mohou naopak indukovat proliferaci tohoto druhu nádoru (van Duursen et al., 2013).

5. Hořké kyseliny

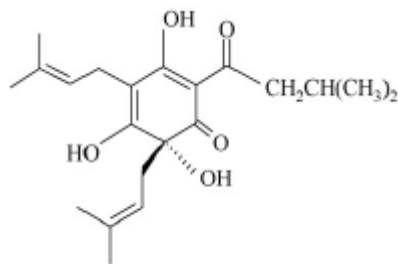
Hořké kyseliny byly identifikovány jako látky esenciální pro hořkou chuť piva a jeho antibakteriální účinky. Rozdělují se na dvě hlavní skupiny – α a β -hořké kyseliny. Tyto dvě skupiny se liší hlavně chemickou strukturou a s ní spojenými vlastnostmi. Mezi α -hořké kyseliny patří humulon, kohumulon a adhumulon. Do skupiny β -hořkých kyselin byly zařazeny lupulon, kolupulon a adlupulon. Těchto 6 látek je nejdůležitějších a vyskytují se v největších koncentracích. Pro účely této práce se budu věnovat hlavně lupulonu a humulonu. Hořké kyseliny se stejně jako všechny ostatní sekundární metabolity chmele uváděné v této práci vyskytují v lupulinu, sekretu vylučovaném ze žlaznatých trichomů na listenech samičích šištic (Cattoor et al., 2013). Prekurzory hořkých kyselin a v malém množství i hořké kyseliny samotné se vyskytují už v poupatech. Jejich koncentrace se s vývojem květu zvyšuje (Zuurbier et al., 1995).

5.1 Biosyntéza hořkých kyselin

Hořké kyseliny jsou prenylované deriváty floroglucionolu. β -hořké kyseliny (Obr. 7) mají na rozdíl od α -hořkých kyselin (Obr. 8) navázanou další prenylovou skupinou na pozici 6, kde mají α -hořké kyseliny hydroxy skupinu (Zanoli, Zavatti, 2008). Prekurzory obou kyselin, phloroisovalerophenon (PIVP) a phloroisobutyrophenon (PIBP), vznikají v reakci velmi podobné prvním fázím vzniku flavonoidů. Enzym, který tuto reakci katalyzuje, je valerofenonsyntáza (VPS), strukturou i funkcí podobná chalkonsyntáze. Exprese genu tohoto enzymu je lokalizovaná v malé míře v listech chmele a více v šišticích v rané fázi jejich vývoje. Míra exprese genu VPS koreluje s finální koncentrací enzymu VPS (Castro et al., 2008). VPS katalyzuje kondenzační reakci malonyl-CoA s isovalenyl-CoA za vzniku aromatických intermediátů hořkých kyselin. Za prenylaci hořkých kyselin je zodpovědný enzym prenyltransefráza HIPT-1 (Tsurumaru et al., 2010).



Obrázek 7: Chemická struktura lupulonu
(Zanoli, Zavatti, 2008)



Obrázek 8: Chemická struktura humulonu
(Zanoli, Zavatti, 2008)

5.2 Možný význam hořkých kyselin pro chmel

Hořké kyseliny by měly mít bakteriocidní a fungicidní účinky, pro které jsou v pivovarnictví užívané mimo jiné jako konzervant. Hořké kyseliny, jak už jejich název napovídá, jsou hořké, tudíž není chmel pro většinu herbivorů lákavou potravou. Například octomilka má chuťové receptory rozpoznávající hořkou chuť, které jí pomáhají hořkou potravu rozpoznat a ona se jí může vyhnout (Lee et al., 2009). Antimikrobiální účinky chmelových hořkých kyselin jsou významnější u Gram-pozitivních bakterií. Vnější membrána Gram-negativních bakterií je vůči proniknutí hydrofobních látek odolnější. Hořké kyseliny jsou známé i pro své fungicidní účinky, ale skupina Huszcza et al. (2008) testovala schopnost 9 houbových kmenů degradovat extrahované hořké kyseliny chmele. *Trametes versicolor* byl nejúspěšnější kmen a po 4 dnech degradoval veškeré hořké kyseliny v médiu. Z dostupných informací je zřejmé, že hořké kyseliny jsou látky fungující v ochraně rostlin proti herbivorii a napadení bakteriálními a některými houbovými patogeny.

5.3 Vybrané účinky hořkých kyselin na nerostlinné organismy

Mezi nejvýznamnější účinky hořkých kyselin patří antibakteriální, protirakovinné a účinky proti nespavosti. Nové poznatky ukazují, že jsou hořké kyseliny i mírná antivirotika. Fuchimoto et al. (2013) dokázali na lidských buňkách nosního epitelu, že humulon zabraňuje skládání, replikaci a uvolnění chemokinů v hostitelském organismu viru RSV (respirační syncytiální virus).

5.3.1 Antibakteriální účinky

Chmel je znám také pro své antibakteriální účinky, za které jsou zodpovědné právě hořké kyseliny. Jak už bylo zmíněno výše, silněji působí β -hořké kyseliny zejména na Gram-pozitivní bakterie. Izomery α -kyselin jsou mírně acidické a díky tomu jsou schopné narušovat membránu bakterií a tím jejich homeostázu. Díky své hydrofobicitě jsou schopné proniknout

do membrány bakterie, a tím zapříčinit únik protonů z bakteriální buňky a snížení pH uvnitř buňky. Buňka potom ztrácí schopnost provádět esenciální enzymatické reakce a vede to k jejich zastavení, anebo buněčné smrti. Podobným mechanismem působí i β -hořké kyseliny (Teuber, Schmalreck, 1973;1975). Mezi rody bakterií, na které působí převážně β -kyseliny, patří *Clostridium* (Siragusa et al., 2008), *Listeria monocytogenes* (Larson et al., 1996), *Corynebacterium xerosis* anebo *Staphylococcus epidermis* (Dumas et al., 2009). Antibakteriální účinky hořkých kyselin se dají využít v mnoha případech. Například bakterie *Clostridium* je velkým problémem v chovech kura domácího, kde způsobuje infekce a úhyn zvířat. Hořké kyseliny se jeví jako dobrou alternativou antibiotikům, která jsou jedním z důvodů, proč nejsou kuřata z velkých chovů příliš populární komoditou na trhu (Siragusa et al., 2008). Odlišný způsob využití antibakteriálních účinků jsou například deodoranty (Dumas et al., 2009) nebo různé kosmetické přípravky proti akné (Yamaguchi et al., 2009), i když kosmetické přípravky obsahující chmelové výtažky mohou vyvolávat nežádoucí alergické reakce.

5.3.2 Sedativní účinky

Chmel se v minulosti užíval i pro své sedativní účinky proti nespavosti. Výzkumná skupina Zanolini et al. (2005) testovala, zda a do jaké míry je chmel sedativní. Zjistili, že chmelový extrakt obsahující β -hořké kyseliny měl pozitivní účinek na délku spánku potkanů i mírné antidepresivní účinky. Potkani se během behaviorálního testu ve vodě začali pohybovat rychleji než kontrola bez podaných β -hořkých kyselin. Jejich výsledky byly potvrzeny studií prováděnou následující rok skupinou Schiller et al. (2006). Další podobná studie Zanolini et al. (2007) potvrdila, že za sedativní účinky mohou α -hořké kyseliny. β -hořké kyseliny neměly na délku spánku významný vliv. Na druhou stranu vykazovaly mírné antidepresivní účinky a ovlivňují funkci GABAergního systému – působí jako antagonistu neurotransmiteru GABA. Potkani vystavení β -hořkým kyselinám před podáním pikrotoxinu vykazovaly zvýšenou frekvenci křečí až po křeče smrtelné. Pikrotoxin obsazuje místa receptorů GABA a zabraňuje tím inhibiční aktivitě GABA neurotransmiteru.

5.3.3 Další účinky

Všechny výše zmíněné látky vyskytující se v lupulinu mají protirakovinné účinky. Hořké kyseliny nejsou výjimkou. Jsou schopné indukovat apoptózu v HL-60 lidských buňkách leukémie, a to skrze fragmentaci DNA, porušení mitochondriální membrány, a tím exkreci cytochromu c nebo

receptorem indukovanou apoptózu (Chen, Lin, 2004). Podobné účinky měl lupulon (β -hořké kyseliny) na rakovinné buňky SW620 odvozené od lidských rakovinných buněk tlustého střeva – zvýšená exprese proteinů fungujících v receptorem indukované apoptóze a narušení mitochondriální membrány (Lamy et al., 2007). Následující studie Lamy et al. (2011) objevila, že lupulon je schopný aktivovat protein p53 fungující ve zvýšení exprese proteinů důležitých právě pro receptorem indukovanou apoptózu. Ve studii z roku 1997 byl humulon (α -hořké kyseliny) pro své účinky proti osteoporóze označený za perspektivní náhradu za HRT (hormone replacement therapy) pro ženy v menopauze (Tobe et al., 1997) a bylo doporučeno podávat humulon současně s VD3 (vitamín D3, chemopreventivní látka užívaná v léčbě leukemie, která má vedlejší účinek resorpci kostí) (Honma et al., 1998). Kromě inhibice resorpce kostí je humulon schopný inhibovat i angiogenezi skrze inhibici funkce i transkripce enzymu cyklooxygenázy (COX) a to hlavně COX-2 (Shimamura et al., 2001). Podobné účinky má i lupulon. Ve studii z roku 2008 inhiboval angiogenezi u endoteliálních buněk, *in vitro* jejich migraci a podávaný v pitné vodě myším *in vivo* snížil počet nově vznikajících cév (Siegel et al., 2008).

6. Závěr

O tom, že chmel patří do skupiny léčivých rostlin, není pochyb. V některých případech mu ale zásluhy nepatří úplně právem. Některé farmakologické účinky nejsou způsobeny přímo sloučeninami přirozeně přítomnými v chmelu, ale závisí na jejich zpracování (vaření piva) nebo přítomnosti jiných látek. V této práci se zaměřuji zejména na xanthohumol, 8-prenylnaringenin a α a β -hořké kyseliny. U těchto sekundárních metabolitů byly doloženy účinky na řadu fyziologických i patologických procesů u živočichů včetně člověka, od účinků protirakovinných přes antioxidační až po antibakteriální. Cílem práce bylo shrnout na základě publikované literatury informace o těchto vybraných farmakologicky významných metabolitech chmele, a to jak z hlediska jejich významu pro chmel, tak i vybraných účinků na nerostlinné organismy.

7. Zdroje

Adeoya-Osiguwa, S.A., Markoulaki, S., Pocock, V., Milligan, S.R., Fraser, L.R., 17 β -Estradiol and environmental estrogens significantly affect mammalian sperm function. *Human Reproduction*, 18, 100-107, 2003

Agati, G., Matteini, P., Goti, A., Tattini, M., Chloroplast-located flavonoids can scavenge singlet oxygen. *New Phytologist*, 174, 77-89, 2007

Brunelli, E., Minassi, A., Appendino, G., Moro, L., 8-Prenylnaringenin, inhibits estrogen receptor- α mediated cell growth and induces apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 107, 140–148, 2007

Castro, C.B., Whittock, L.D., Whittock, S.P., Leggett, G., Koutoulis, A., DNA Sequence and expression variation of hop (*Humulus lupulus*) valerophenone synthase (VPS), a key gene in bitter acid biosynthesis. *Annals of Botany*, 102, 265-273, 2008

Cattoor, K., Dresel, M., De Bock, L., Boussery, K., Van Bocxlaer, J., Remon, J.-P., De Keukeleire, D., Deforce, D., Hofmann, T., Heyerick, A., Metabolism of hop-derived bitter acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 7316-7924, 2013

Chakraborty, T.R., Alicea, E., Chakraborty, S., Relationships between urinary biomarkers of phytoestrogens, phthalates, phenols, and pubertal stages in girls. *Adolescent Health, Medicine and Therapeutics*, 3, 17-26, 2012

Chen, W.-J., Lin, J.-K., Mechanisms of cancer chemoprevention by hop bitter acids (beer aroma) through induction of apoptosis mediated by Fas and caspase cascades. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 55-64, 2004

De Keukeleire, J., Ooms, G., Heyerick, A., Roldan-Ruiz, I., Van Bockstaele, E., De Keukeleire, D., Formation and accumulation of α -acids, β -acids, desmethylxanthohumol, and xanthohumol during flowering of hops (*Humulus lupulus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 4436–4441, 2003

De Keukeleire, J., Janssens, I., Heyerick, A., Ghekiere, G., Cambie, J., Roldan-Ruiz, I., Van Bockstaele, E., De Keukeleire, D. Relevance of organic farming and effect of climatological conditions on the formation of α -acids, β -acids, desmethylxanthohumol and xanthohumol in hop (*Humulus lupulus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 61–66, 2007

Dumas, E.R., Michaud, A.E., Bergeron, C., Lafrance, J.L., Mortillo, S., Gafner, S., Deodorant effects of a supercritical hops extract: antibacterial activity against *Corynebacterium xerosis* and *Staphylococcus epidermidis* and efficacy testing of a hops/zinc ricinoleate stick in humans through the sensory evaluation of axillary deodorancy. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 8, 197-204, 2009

Fuchimoto, J., Kojima, T., Okabayashi, T., Masaki, T., Ogasawara, N., Obata, K., Nomura, K., Hirakawa, S., Kobayashi, N., Shigyo, T., Yokota, S., Fujii, N., Tsutsumi, H., Himi, T., Sawada, N., Humulone suppresses replication of respiratory syncytial virus and release of IL-8 and RANTES in normal human nasal epithelial cells. *Medical Molecular Morphology*, 46, 203-209, 2013

Garton, M., Breast cancer and hormone-replacement therapy: the Million Women Study. *The Lancet*, 362, 419-427, 2003

Gerhauser, C., Alt, A., Heiss, E., Gamal-Eldeen, A., Klimo, K., Knauft, J., Neumann, I., Scherf, H.-R., Frank, N., Bartsch, H., Becker, H., Cancer chemopreventive activity of xanthohumol, a natural product derived from hop. *Molecular Cancer Therapeutics*, 1, 959-969, 2002

Guerrero-Bosagna, C., Skinner, M.K., Environmental epigenetics and phytoestrogen/phytochemical exposures. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 139, 270-276, 2013

Heyerick, A., Vervarcke, S., Depypere, H., Bracke, M., De Keukeleire, D., A first prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study on the use of a standardized hop extract to alleviate menopausal discomforts. *Maturitas*, 54, 164-175, 2006

Honma, Y., Tobe, H., Makishima, M., Yokoyama, A., Okabe-Kado, J., Induction of differentiation of myelogenous leukemia cells by humulone, a bitter in the hop. *Leukemia Research*, 22, 605-610, 1998

Hughes, C.L. Jr., Phytochemical mimicry of reproductive hormones and modulation of herbivore fertility by phytoestrogens. *Environmental Health Perspectives*, 78, 171-175, 1988

Hümpel, M., Isaksson, P., Schaefer, O., Kaufmann, U., Ciana, P., Maggic, A., Schleuning, W.-D., Tissue specificity of 8-prenylnaringenin: protection from ovariectomy induced bone loss with minimal trophic effects on the uterus. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 97, 299-305, 2005

Huszczka, E., Bartmańska, A., Anioł, M., Mączka, W., Żołnierczyk, A., Wawrzeńczyk, C., Degradation of hop bitter acids by fungi. *Waste Management*, 28, 1406-1410, 2008

Kirkwood, J. S., Legette, L. L., Miranda, C. L., Jiang, Y., Stevens, F., A Metabolomics driven elucidation of the antiobesity mechanisms of xanthohumol. *Journal of Biology and Chemistry*, 288, 19000–19013, 2013

Klener, P., Klener, P., *Principy systémové protinádorové léčby*. 1. vydání, Praha: Grada, 198 s. ISBN 978-802-4741-710, 2013

Kramer, B., Thielmann, J., Hickisch, A., Muranyi, P., Wunderlich, J., Hauser, C., Antimicrobial activity of hop extracts against foodborne pathogens for meat applications. *Journal of Applied Microbiology*, 118, 648-657, 2014

Lamy, V., Roussi, S., Chaabi, M., Gosse, F., Schall, N., Lobstein, A., Raul, F., Chemopreventive effects of lupulone, a hop b-acid, on human colon cancer-derived metastatic SW620 cells and in a rat model of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 28, 1575-1581, 2007

Lamy, V., Bousserouel, S., Gossé, F., Minker, C., Lobstein, A., Raul, F., Lupulone triggers p38 MAPK-controlled activation of p53 and of the TRAIL receptor apoptotic pathway in human colon cancer-derived metastatic cells. *Oncology Reports*, 26, 109-114, 2011

Larson, A.E., Yu, R.R.Y., Lee, O.A., Price, S., Haas, G.J., Johnson, E.A., Antimicrobial activity of hop extracts against *Listeria monocytogenes* in media and in food. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 195-207, 1996

Lee, Y., Moon, S.J., Montell, C., Multiple gustatory receptors required for the caffeine response in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 4495-4500, 2009

Liu, J., Burdette, J.E., Xu, H., Gu, C., van Breemen, R.B., Bhat, K.P.L., Booth, N., Constantinou, A.I., Pezzuto, J.M., Fong, H.H.S., Farnsworth, N.R., Bolton, J.L., Evaluation of estrogenic activity of plant extracts for the potential treatment of menopausal symptoms. *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2472-2479, 2001

McTiernan, A., Chlebowski, R.T., Martin, C., Peck, J.D., Aragaki, A., Pisano, E.D., Wang, C.Y., Johnson, K.C., Manson, J.E., Wallace, R.B., Vitolins, M.Z., Heiss, G., Conjugated equine estrogen influence on mammographic density in postmenopausal women in a substudy of the Women's Health Initiative randomized trial. *Journal of Clinical Oncology*, 27, 6135-6143, 2009

Milligan, S. R., Kalita, J. C., Heyerick, A., Rong, H., De Cooman, L., De Keukeleire, D., Identification of potent phytoestrogen in hops (*Humulus lupulus* L.) and beer. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83, 2249-2252, 1999

Milligan, S.R., Kalita, J.C., Pocock, V., Van De Kauter, V., Stevens, J.F., Deinzer, M.L., Rong, H., De Keukeleire, D., The endocrine activities of 8-prenylnaringenin and related hop (*Humulus lupulus* L.) flavonoids. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 85, 4912-4915, 2000

Miranda, C. L., Stevens, J. F., Helmrich, A., Henderson, M. C., Rodriguez, R. J., Yang, Y.-H., Deinzer, M. L., Barnes, D. W., Buhler, D. R., Antiproliferative and cytotoxic effects of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus*) in human cancer cell lines. *Food and Chemical Toxicology* 37, 271-285, 1999

Miranda, C.L., Aponso, G.L.M., Stevens, J.F., Deinzer, M.L., Buhler, D.R., Prenylated chalcones and flavanones as inducers of quinone reductase in mouse Hepa 1c1c7 cells, *Cancer Letters*, 149, 21-29, 2000

Murakami, A., Darby, P., Javornik, B., Pais, M.S., Seigner, E., Lutz, A., Svoboda, P., Molecular phylogeny of wild hops, *Humulus lupulus* L. *Heredity*, 97, 66-74, 2008

Nagel, J., Lana K.Culley, Yuping Lu, Enwu Liu, Paul D. Matthews, Jan F. Stevens and Jonathan E. Page, EST Analysis of hop glandular trichomes identifies an O-methyltransferase that catalyzes the biosynthesis of xanthohumol. *The Plant Cell* 20, 186–200, 2008

Novák, P., Krofta, K., Matoušek, J., Chalcone synthase homologues from *Humulus lupulus*: some enzymatic properties and expression. *Biologia Plantarum*, 50, 48-54, 2006

Pepper, M.S., Hazel, S.J., Hümpel, M., Schleuning, W.-D., 8-Prenylnaringenin, a novel phytoestrogen, inhibits angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Cellular Biology*, 199, 98-107, 2004

Pinto, C., Cestero, J. J., Rodríguez-Galdón, B., Macías, P., Xanthohumol, a prenylated flavonoid from hops (*Humulus lupulus* L.), protects rat tissues against oxidative damage after acute ethanol administration. *Toxicology Reports*, 1, 726–733, 2014

Possemiers, S., Bolca, S., Grootaert, C., Heyerick, A., Decroos, K., Dhooge, W., De Keukeleire, D., Rabot, S., Verstraete, W., Van de Wiele, T., The prenylflavonoid isoxanthohumol from hops is activated into potent phytoestrogen 8-Prenylnaringenin in vitro and in the human intestine. *The Journal of Nutrition*, 136, 1862-1867, 2006

Power, F.B., Tutin, F., Rogerson, H., The constituents of hops. *J. Chem. Soc.* 103, 1267–1292, 1913 (citováno podle Stevens a Page, 2004)

Rad, M., Hümpel, M., Schaefer, O., Schoemaker, R.C., Schleuning, W.-D., Cohen, A.F., Burggraaf, J., Pharmacokinetics and systemic endocrine effects of the phyto-oestrogen 8-prenylnaringenin after single oral doses to postmenopausal women. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 62, 288-296, 2006

Rogge, M.M., The role of impaired mitochondrial lipid oxidation in obesity. *Biological Research for Nursing*, 10, 356-373, 2009

Rong, H., Boterberg, T., Maubach, J., Stove, C., Depypere, H., Van Slambrouck, S., Serreyn, R., De Keukeleire, D., Mareel, M., Bracke, M., 8-Prenylnaringenin, the phytoestrogen in hops and beer, upregulates the function of the E-cadherin/catenin complex in human mammary carcinoma cells. *European Journal of Cell Biology*, 80, 580-585, 2001

Schaefer, O., Hümpel, M., Fritzemeier, K.-H., Bohlmann, R., Schleuning, W.-D., 8-prenylnaringenin is a potent ER α selective phytoestrogen present in hops and beer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 84, 359-360, 2003

Schiller, H., Forster, A., Vonhoff, C., Hegger, M., Billerd, A., Winterhoff, H., Sedating effects of *Humulus lupulus* L. extracts. *Phytomedicine*, 13, 535-541, 2006

Schmalreck, A.F. and Teuber, M., Structural features determining the antibiotic potencies of natural and synthetic hop bitter resins, their precursors and derivatives. *Can J Microbiol* 21, 205–212, 1975 (citováno podle Kramer et al., 2014)

Shimamura, M., Hazato, T., Ashino, H., Yamamoto, Y., Iwasaki, E., Tobe, H., Yamamoto, K., Yamamoto, S., Inhibition of angiogenesis by humulone, a bitter acid from beer hop. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 289, 220–224, 2001

Siegel, L., Mitermiquie-Grosse, A., Griffon, C., Klein-Soyer, C., Lobstein, A., Raul, F., Stephan, D., Antiangiogenic properties of lupulone, a bitter acid of hop cones. *Anticancer Research*, 28, 289-294, 2008

Siragusa, G.R., Haas, G.J., Matthews, P.D., Smith, R.J., Buhr, R.J., Dále, N.M., Wise, M.G., Antimicrobial activity of lupulone against *Clostridium perfringens* in the chicken intestinal tract jejunum and caecum. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61, 853-858, 2008

Stevens, J.F., Alan W. Taylor, Jeff E. Clawson, Max L. Deinzer, Fate of xanthohumol and related prenylflavonoids from hops to beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 2421-2428, 1999

Stevens, J. F., Page, J. E., Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health!, *Phytochemistry*, 65, 1317-1330, 2004

Teuber, M. and Schmalreck, A.F., Membrane leakage in *Bacillus subtilis* 168 induced by the hop constituents lupulone, humulone, isohumulone and humulinic acid. *Arch Microbiol* 94, 159–171, 1973 (citováno podle Kramer et al., 2014)

Thomé, O.W., Prof. Dr. Thomé's flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. vydáno 1905, London: Forgotten Books, Reprint 2013, převzato z http://biolib.mpiiz.mpg.de/thome/band2/tafel_026.html

Tobe, H., Muraki, Y., Kitamura, K., Komiyama, O., Sato, Y., Sugioka, T., Maruyama, H.B., Matsuda, E., Nagai, M., Bone resorption inhibitors from hop extract. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 61, 158-159, 1997

Tsurumaru, Y., Sasaki, K., Miyawaki, T., Momma, T., Umemoto, N., Yazaki, K., An aromatic prenyltransferase-like gene HIPT-1 preferentially expressed in lupulin glands of hop. *Plant Biotechnology*, 27, 199-204, 2010

van Duursen, M.B.M., Smeets, E.E.J.W., Rijk, J.C.W., Nijmeijer, S.M., van den Berg, M., Phytoestrogens in menopausal supplements induce ER-dependent cell proliferation and overcome

breast cancer treatment in an in vitro breast cancer model. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 269, 132-140, 2013

Verzele, M., Stockx, J., Fontijn, F., Anteunis, M., Xanthohumol, a new natural chalcone. *Bull. Soc. Chim. Belg* 66, 452–475, 1957 (citováno podle Stevens a Page, 2004)

Wilson, D.G., Plant remains from the Graveney boat and the early history of *Humulus lupulus* L. in W. Europe. *New Phytologist*, 75, 627-648, 1975

Yamaguchi, N., Satoh-Yamaguchi, K., Ono, M., In vitro evaluation of antibacterial, anticollagenase, and antioxidant activities of hop components (*Humulus lupulus*) addressing acne vulgaris. *Phytomedicine*, 16, 369-376, 2009

Yilmazer, M., Xanthohumol, a flavonoid from hops (*Humulus lupulus*): in vitro and in vivo metabolism, antioxidant properties of metabolites, and risk assessment in humans. *Disertační práce*, Oregon State University, 2001

Yui, K., Kiyofuji, A., Osada, K., Effects of xanthohumol-rich extract from the hop on fatty acid metabolism in rats fed a high-fat diet. *Journal of Oleo Science*, 63, 159-168, 2014

Zanoli, P., Rivasi, M., Zavatti, M., Brusiani, F., Baraldi, M., New insight in the neuropharmacological activity of *Humulus lupulus* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 102, 102-106, 2005

Zanoli, P., Zavatti, M., Rivasi, M., Brusiani, F., Losi, G., Puia, G., Avallone, R., Baraldi, M., Evidence that the β -acids fraction of hops reduces central GABAergic neurotransmission. *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 87-92, 2007

Zanoli, P., Zavatti, M., Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 383-396, 2008

Zuurbier, K.W.M., Fung, S.-Y., Scheffer, J.J.C., Verpoorte, R., Formation of aromatic intermediates in the biosynthesis of bitter acids in *Humulus lupulus*. *Phytochemistry*, 38, 77-82, 1995