

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakognozie

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Antioxidační vlastnosti květů *Sambucus nigra* II.

Vypracovala: Pavlína Kozoňová

Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Jiřina Spilková, CSc.

Prohlášení

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

V Hradci Králové dne 11. 5. 2016

.....

Kozoňová Pavlína

Poděkování:

Poděkování patří zejména mé školitelce doc. RNDr. Jiřině Spilkové CSc., za její odborné vedení, vstřícný přístup, poskytnutích cenných rad a informací při vypracování této diplomové práce. V neposlední řadě bych ráda poděkovala také své rodině a příteli za podporu během celého mého studia.

Obsah

1	Úvod	6
2	Cíl práce	8
3	TEORETICKÁ ČÁST.....	9
3.1	<i>Sambucus nigra</i> L.	9
3.1.1	Popis rostliny	9
3.1.2	Popis květu bezu černého	9
3.1.3	Vyšlechtěné kultivary	10
3.1.4	Charakteristika studovaných kultivarů	11
3.2	Obsahové látky květů.....	17
3.2.1	Flavonoidy	17
3.2.2	Fenolické kyseliny	19
3.2.3	Triterpeny	20
3.2.4	Fytosteroly	21
3.2.5	Silice	21
3.2.6	Další obsahové látky květů.....	22
3.3	Využití květu bezu černého	23
3.3.1	Tradiční medicína	23
3.3.2	Farmakologická aktivita květu	23
3.3.2.1	Antioxidační aktivita.....	23
3.3.2.2	Protizánětlivý účinek	24
3.3.2.3	Antidiabetický účinek	25
3.3.2.4	Antibakteriální účinek.....	26
3.3.2.5	Diuretický účinek.....	26
3.3.2.6	Imunomodulační účinek	26
3.3.2.7	Antiproliferativní efekt	26
3.3.2.8	Ostatní účinky	27
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	28
4.1	Rostlinný materiál.....	28
4.2	Použité chemikálie a přístroje	29
4.3	Stanovení antioxidační aktivity.....	30
4.3.1	Příprava extraktů.....	30
4.3.2	Příprava roztoku DPPH	30
4.3.3	Postup stanovení	30

4.3.4	Měření absorbance.....	30
4.3.5	Výsledky měření.....	32
5	Diskuze.....	52
6	Závěr.....	54
7	Použitá literatura	55
8	Abstrakt	60
9	Abstract	61

1 Úvod

Přírodní medicína a používání léčivých rostlin v léčbě různých onemocnění jsou téměř tak staré jako je lidstvo samo. Již v dávném středověku naši předkové věděli o přínosu léčivých rostlin, nicméně jejich používání bylo spíše nahodilé na základě pokusů a zkušeností. Rostlinám byla v dřívější době připisována magická moc. Postupem času se však prohlubovaly znalosti o obsahových látkách rostlin a jejich účincích na fyzický i psychický stav člověka. Prvním a nejrozsáhlejším dílem ve kterém bylo popsáno více než 600 léčivých rostlin, byla kniha „De materia medica“ řeckého lékaře Dioscorida žijícího v 1. století n.l. Velmi významným dílem používaným dodnes byl Matthioliho herbář popisující rostliny jak z hlediska botanického, tak medicínského. Můžeme zde nalézt až 400 rostlinných druhů. S rozvojem syntetických léčiv však přírodní medicína upadla téměř v zapomnění. V současné době, i přes velký pokrok v chemickém průmyslu, se stále více pacientů trpících různými chorobami obrací k přírodnímu způsobu léčení. Vznikají kliniky založené na tradiční čínské medicíně i homeopatii. Avšak i vědecký výzkum je orientován na přírodní zdroje, na zkoumání možností využití rostlin v terapii nejrůznějších onemocnění, stanovení jejich obsahových látek a určení jejich mechanismů účinků. [1-2]

Sambucus nigra L. (Adoxaceae) je velmi často využívanou rostlinou v přírodní medicíně. První zmínky o bezu černém můžeme nalézt již ve spisech řeckého lékaře Hippokrata žijícího v 5-4. století př.n.l. Černý bez ve svém díle doporučoval pro jeho diuretické účinky a také jako prostředek proti bolestem. Rostlina je charakteristická možností všestranného využití, lze použít květ, listy, kůru, plody ale i kořen. [1] Plod je pro svoji charakteristickou chuť a šťavnatost hojně využíván hlavně v potravinářství k výrobě šťáv, vína či sirupů. V tradiční medicíně má nezastupitelné místo především květ, v menší míře i plod bezu. Mezi hlavní obsahové látky květů patří flavonoidy, fenolické kyseliny, triterpeny a steroly.[3] V současnosti probíhá mnoho studií, kde jsou studovány biologické účinky bezu. Na základě těchto studií byla prokázána celá řada účinků. Mezi nejvýznamnější patří účinky protizánětlivé, antirotické a diuretické. Klinické testy rovněž potvrdily pozitivní efekt u řady onemocnění. S výhodou lze květ bezu využít při léčbě revmatismu, zánětech horních i dolních cest dýchacích, ekzémů, ale i diabetu, díky stimulaci glukózového metabolismu. [2]

V souvislosti s léčbou civilizačních chorob se stále více dostává do popředí výzkum antioxidační aktivity přírodních látek. Tuto schopnost, působit proti oxidativnímu stresu

spojenému s tvorbou volných radikálů má celá řada přírodních látek. U květu bezu černého se jedná zejména o flavonoidy, které patří k jeho hlavním obsahovým látkám.[3-4] Antioxidanty mají za úkol odstraňovat nadbytek volných radikálů v organismu. Vliv volných radikálů na proces stárnutí popsal již v roce 1954 Dr.Denham Harman.[4] Nejedná se však pouze o stárnutí, jejich nadbytek vede ke vzniku širokého spektra onemocnění, jako jsou kardiovaskulární onemocnění a s ním související ateroskleróza, různá onkologická onemocnění, diabetes mellitus, autoimunitní choroby, ale i Alzheimerova či Parkinsonova choroba [5-6]

2 Cíl práce

Cílem této diplomové práce bylo stanovení antioxidační aktivity extraktů z květů bezu černého (*Sambucus nigra L.*) spektrofotometricky, metodou využívající DPPH. K analýze byly použity květy 19 vyšlechtěných kultivarů bezu černého vypěstovaných Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským Holovousy s.r.o. (VŠÚO) nasbíraných v roce 2014. Studovány byly kultivary: 'Albida', 'Allesö', 'Aurea', 'Bohatka', 'Dana', 'Haschberg', 'Heidegg 13', 'Juicy', 'Korsør', 'Mammut', 'Pregarten', 'Riese aus Voßloch', 'Sambo', 'Sambu', 'Samdal', 'Sampo', 'Samyl', 'Tulbing' a 'Weinhenstephan'.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 *Sambucus nigra* L.

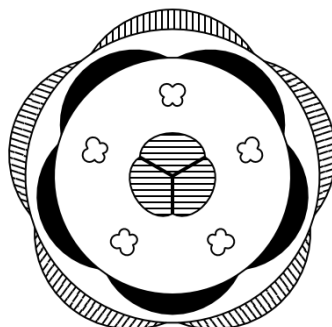
3.1.1 Popis rostliny

Sambucus nigra L., bez černý řadíme do čeledi Adoxaceae.[3] Jedná se o velmi rozšířený keř dorůstající do výšky 1,5-5,0 m, vzácněji se může jednat o strom až 10 m vysoký. Roste ve vlhkých, hlubokých, na živiny bohatých půdách dobře zásobených především dusíkem. Můžeme jej nalézt podél řek i komunikací, na polích, u sloupů elektrického vedení nebo ve světlých listnatých lesích. [7] Vyskytuje se v mírném a subtropickém pásmu obou polokoulí, kromě Afriky.[2] V České republice je rozšířen po celém území mimo vysokohorské oblasti. Listy jsou opadavé, vstřícné, lichozpeřené, složené z 5-7 listů. Jejich tvar je elipčitý nebo vejčitý s pilovitým okrajem. Větve jsou v mládí lysé, šedozelené s početnými tmavými lenticelami, později šedé s nepravidelně brázděnou borkou. Uvnitř se nachází široká bílá nebo mírně nažloutlá dřev. Dřevo je tvrdé. Plodem je kulovitá černo-fialová, lesklá peckovice se 3-5 semeny. Semena jsou žlutá, vejcovitá. [7-8]

3.1.2 Popis květu bezu černého

Květy vyrůstají na koncích větví a jsou obvykle pětičetné, malé, vonné, složené v květenství plochých vrcholíků. Vytváří velké množství pylu. Barva květů je bílá nebo slabě nažloutlá. V závislosti na klimatických podmínkách obvykle kvete od června do července.[2] Květ se skládá z drobného trubkovitého kalichu a kolovité koruny. Tyčinky jsou přibližně stejně dlouhé jako koruna, prašníky žluté, blizna trojlaločnatá, čnělka je buď malá, nebo zcela chybí. [8] Květ lze zjednodušeně popsat květním vzorcem $\text{♂} \downarrow \text{K} (5) \text{C} (5) \text{A} 5 \text{G} (3)$, z něhož vyplývá, že se jedná o oboupohlavní, souměrný květ. Kalich a koruna jsou složeny z 5 srostlých lístků. Andreceum (soubor tyčinek) je tvořen 5 volnými tyčinkami a gyneceum (soubor pestíků) tvoří 3 srostlé pestíky se spodním semeníkem. [9]

Další možností popisu květu je grafické znázornění pomocí květního diagramu, který vyobrazuje v příčném řezu všechny důležité struktury květu. [10]



Obr. 1: Květní diagram *Sambucus nigra* L. [11]

Jedinou lékopisnou drogou, kterou poskytuje *Sambucus nigra* je květ, *Sambuci nigrae flos* (syn. *Sambuci flos*). Obsahuje minimálně 0,80 % flavonoidů, vyjádřeno jako isokvercitrósid, přepočítáno na vysušenou drogu. [12] Plody, které se používají také jako droga *Sambuci fructus* oficiální nejsou a nalezneme je v Českém farmaceutickém kodexu.

3.1.3 Vyšlechtěné kultivary

V České republice je v současnosti bez černý nedocenenou rostlinou a to jak v potravinářství, tak ve farmaceutickém průmyslu. Pro potravinářství jsou důležité zejména plody, pro farmacii především květ, ale i sušená plodenství. I přesto, že v České republice doposud nebyly vyšlechtěny žádné kultivary bezu černého, je snaha tuto rostlinu dostat do širšího podvědomí české společnosti. Pěstují se u nás kultivary dovezené ze zahraničí, přičemž se jedná o odrůdy vyšlechtěné v podobných klimatických podmínkách, které nalezneme v České republice. Hlavními výhodami kulturních odrůd oproti planému bezu jsou větší květenství a vyšší hektarové výnosy. Udržovacímu šlechtění bezu černého se u nás věnuje zejména VŠÚO Holovousy s.r.o. Na základě jejich odborných analýz a pozorování hospodářských a fenologických znaků lze blíže specifikovat vlastnosti jednotlivých odrůd vzhledem k pěstebním podmínkám v České republice. V této práci se budu věnovat těmto odrůdám: 'Albida', 'Allesö', 'Aurea', 'Bohatka', 'Dana', 'Haschberg', 'Heidegg 13', 'Juicy', 'Korsør', 'Mammut', 'Pregarten', 'Riese aus Voßloch', 'Sambo', 'Sambu', 'Samdal', 'Sampo', 'Saml', 'Tulbing' a 'Weinhenstephan'. [13]

3.1.4 Charakteristika studovaných kultivarů

Tab. 1: Původ kultivarů [14]

Země původu	Odrůda
Dánsko	'Allesö', 'Korsør', 'Sambu', 'Samdal', 'Sampo', 'Saml'
Německo	'Mammut', 'Riese aus Voßloch', 'Weinhenstephan'
Rakousko	'Haschberg', 'Heidegg 13', 'Pregarten'
Slovensko	'Albida', 'Bohatka', 'Dana', 'Sambo'

'Albida'

Rozkladitý keř charakteristický nízkým počtem květů, s čímž souvisí i malá výnosnost plodenství. Plody jsou šťavnaté, bohaté především na sodík, draslík a zinek, vhodné k přípravě šťáv. Z tříletého sledování vyplývá, že sklizňové zralosti plodů dosahuje později. [13-15]

'Allesö'

Tato odrůda se využívá v mnoha zemích jako zdroj ovoce. Má krémově bílé květy a tmavě zelené listy, hodí se i jako okrasný keř. Ve šťávě z plodů byl zjištěn vysoký obsah manganu a železa. Jedná se o pozdější odrůdu s velkou výnosností plodů. [13] [15-16]

'Aurea'

Odrůda původem ze Severní Ameriky, charakteristická vzpřímeným růstem a pozdější násadou menších květů. [14] [16-17]

'Bohatka'

Jeví se jako málo výhodná pro pěstování v našich klimatických podmínkách. Vyznačuje se pozdním květem, malou násadou květů a tím i plodů. Plody vynikají svojí chutí a příjemným aroma. [13-15] [18]

'Dana'

Polorozkladitý keř, plody jsou bohaté na vitamín C, hořčík a vápník. I přes malý počet plodenství je výnosnost šťávy z plodů vysoká, díky nadprůměrné hmotnosti plodenství. [13-14]

'Haschberg'

Pro tuto odrůdu je charakteristická vysoká odolnost vůči různým onemocněním a napadení škůdci. Je odolná i vůči silným dešťům. Dorůstá výšky přibližně 2 metrů. Plody jsou kulovité a vynikají svoji vůní. Květenství je tvořeno velkými shluky žlutavě bílých květů. Tato odrůda se také vyznačuje vysokou násadou květů a tím i vysokým počtem a hmotností plodenství. V plodech byl zjištěn vysoký obsah anthokyanů. S výhodou je využívána v potravinářském průmyslu pro výrobu šťáv či kompotů. [1] [13-14] [19]



Obr. 2: 'Haschberg' - keř v květu [13]

'Heidegg 13'

Jedna z odrůd s pozdějším nástupem kvetení a nízkým počtem velkých květů. Plodenství je charakteristické vysokou hmotností. Plody jsou bohaté na vitamín C a anthokyany. [13-15]



Obr. 3: 'Heidegg 13' - květ [13]

'Korsør'

Tato odrůda je charakteristická svou raností sklizně. Počet plodenství je nižší, avšak s nadprůměrnou hmotností úrody velkých tmavě modrých bobulí. Lze ji využít jako okrasný keř. [13-14] [20]

'Mammut'

Vzpřímený keř, vhodný k pěstování na písčitých půdách. Jeden z prvních vyšlechtěných kultivarů s vysokým obsahem anthokyanových barviv v plodech. Jeho květy jsou vhodné k výrobě nápojů. [13][21]

'Pregarten'

Hlavním znakem této odrůdy je rychlý růst, proto je vhodná na nově se zakládající zahrady. V prvním roce pěstování se vyznačuje nízkým počtem plodenství s vysokou hmotností. [1][16]

'Riese aus Voßloch'

Rozkladitý hustě větvený keř s velkými květy. Plody mají podlouhle kulovitý tvar a jsou bohaté na chrom.[13] [22]

'Sambo'

Vyšlechtěna v Bojnicích na Slovensku. Patří mezi rané odrůdy. Velmi snadno se rozmnožuje pomocí odnoží. Tento druh je vhodný k produkci květů i plodů. Květy se vyznačují silnou, aromatickou vůní a jsou vhodné k přípravě sirupů v potravinářství. [23]

'Sambu'

Charakteristický především brzkým květem a vysokou násadou květů, čemuž odpovídá vysoký konečný výnos plodů. Z plodů se vyrábí chutný sirup.[13-15]



Obr.4: 'Sambu' – keř v květu [Foto poskytnuto VŠÚO Holovousy s.r.o]

'Sandal'

Tento kultivar má velmi rychlý nástup plodnosti. Lze jej pěstovat ve formě keře i stromu. Výhodou je rovnoměrné dozrávání plodů v plodenství. Plody mají vysoký obsah kyselin a výbornou chuť, proto je její využití vhodné zejména v potravinářství na výrobu džemů a šťáv. [13] [24]



Obr. 5: 'Samdal' - keř v květu [13]

'Sampo'

Raná odrůda s brzkým nástupem kvetení a rychlým dozráváním plodů. Plody jsou vzhledem ke své intenzivní chuti vhodné k přípravě šťáv.[14][25]



Obr. 6: 'Sampo' - květ [13]

'Samil'

Polorozkladitý keř, s nízkým počtem objemných květů a plodenství, které se pro svou vysokou hmotnost a šťavnatost s výhodou používají v potravinářství. [13-14]



Obr. 7: 'Samil' - květ [13]

'Weihenstephan'

Velmi dobrý výnosový potenciál plodů i květů. Plody jsou bohaté na sodík, vápník, zinek a antokyanová barviva. [13]



Obr. 8: 'Weihenstephan' - keř v květu [13]

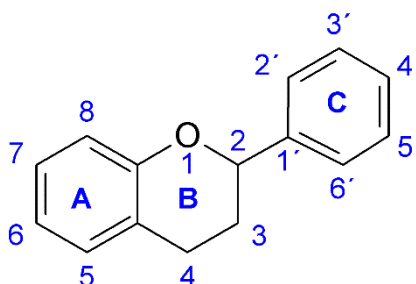
Odrůdy 'Juicy', 'Tulbing' byly do udržovacího šlechtění zavedeny nově a jejich charakteristiky doposud nejsou známy.

3.2 Obsahové látky květů

Obsahové látky bezu černého zahrnují široké spektrum farmakologicky aktivních látek. Jejich typ a množství se liší v závislosti na části rostliny, ve které se nachází. Hlavními obsahovými látkami květů bezu jsou flavonoidy, dále fenolické kyseliny, triterpeny, fytosteroly, silice a další minoritní látky. [26]

3.2.1 Flavonoidy

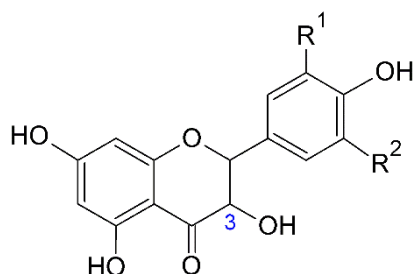
Flavonoidy tvoří rozsáhlou skupinu biologicky aktivních rostlinných látek. Běžně se vyskytují v potravě, zejména v ovoci, zelenině, víně a čaji. Obsah flavonoidů v květech bezu černého se pohybuje okolo 3%. [27] Jedná se o přírodní fenolické látky odvozené od 2-fenylchromonu, patřící mezi sekundární metabolity rostlin, jejichž struktura se skládá ze dvou benzenových jader A, C a pyranového kruhu B, který je přikondenzovaný ke kruhu A (Obr. 9). V přírodě se nejčastěji vyskytují vázány na různé cukry za vzniku flavonoidních glykosidů. Na základě stupně oxidace pyranového kruhu je lze rozdělit do několika skupin. [28] V květech bezu černého nalezneme tyto skupiny flavonoidů: flavonoly, flavanony a flavanoly. Mezi hlavní biologické účinky flavonoidů patří především antioxidační, protizánětlivý, antibakteriální, antialergický a antitrombotický účinek. [29-30]



Obr. 9.: Flavonoidní skelet

Flavonoly

V přírodě se vyskytují buď ve formě volných aglykonů - kvercetin, kempferol a isorhamnetin, nebo častěji ve formě flavonoidních glykosidů - rutin, astralagin, hyperosid a isokvercitrin. Tyto sloučeniny mají v poloze 3-O-glykosidicky vázaný cukr. [27]



Obr. 10: Flavanoly

Tab. 2: Obměny struktury flavonolů

	R₁	R₂
Kvercetin	OH	H
Kempferol	H	H
Isorhamnetin	OCH ₃	H

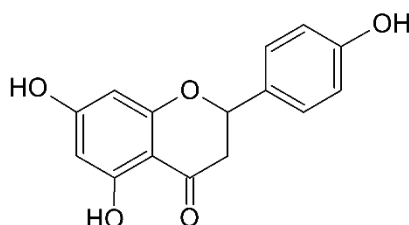
Doposud identifikované flavonoly v extraktech z květů bezu jsou uvedeny v tabulce 3. Nejvýznamnější a také nejvíce prozkoumanou látkou z této skupiny je rutin, respektive jeho aglykon kvercetin. Má výrazné antioxidační vlastnosti založené na eliminaci O₂[•], HO[•] a ROO[•] radikálů. Kromě toho u něj bylo prokázáno několik farmakologických účinků, včetně antialergického, protizánětlivého, vazoaktivního, protinádorového, antibakteriálního, antivirového, antiprotozoálního a hypolipidémického. [31] Ve formě doplňků stravy je doporučován k prevenci žilních onemocnění, vzhledem ke své schopnosti snižovat permeabilitu kapilár. V potravinářství a kosmetických výrobcích se používá jako přírodní žluté barvivo, konzervans a stabilizátor.[30]

Tab. 3: Flavonoly v květech bezu [32-33]

Kvercetin-3-O-rutinosid (rutin)
Kvercetin-3-O-galactosid (hyperosid)
Kvercetin-3-O-glukosid (isokvercitrin)
Kvercetin-3-O-(6''-acetyl)-glukosid
Kempferol acetylhexosid
Kempferol-3-O-glukosid (astralagin)
Kempferol-3-O-rutinosid
Kempferol dihexosid
Kempferol triglykosid
Isorhamnetin-3-O-rutinosid
Isorhamnetin-3-O-glukosid
Isorhamnetin pentosid
Isorhamnetin dihexosid

Flavanony

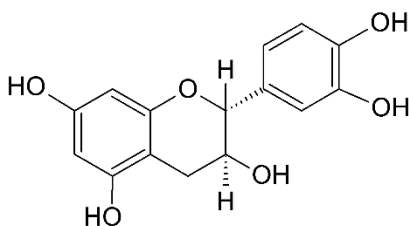
Jediným zástupcem této skupiny, který byl doposud prokázán v květech bezu černého je aglykon naringenin. [33] Jedná se o látku s převážně antimikrobiálním, protinádorovým a hepatoprotektivním účinkem. Kromě těchto účinků, bylo ve studiích *in vitro* u potkanů krmených stravou s vysokým obsahem cholesterolu, prokázána schopnost snižovat plazmatické a jaterní hladiny cholesterolu inhibicí HMG-CoA reductázy a acyl koenzymu A. [34]



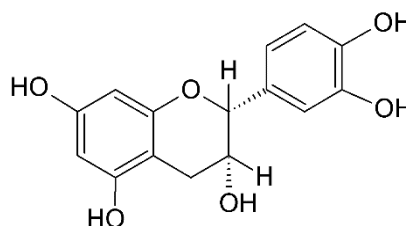
Obr. 11: Naringenin

Flavanoly

Nazývané též katechiny. V květech bezu byl identifikován katechin a jeho izomer epikatechin. [33] Vyznačují se kardioprotektivním a antidiabetickým účinkem, který souvisí především s jejich antioxidační aktivitou. [35]



Obr. 12: Katechin

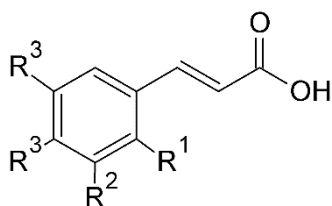


Obr. 13: Epikatechin

3.2.2 Fenolické kyseliny

Dalšími obsahovými látkami jsou fenolické kyseliny, nejčastěji se jedná o deriváty kyseliny hydroxyskořicové. V květech bezu černého byla prokázána přítomnost kyseliny kávové, kyseliny ferulové, kyseliny p-kumarové a jejich esterů s β -glukózou. [3][36] Nejvýznamnější z této skupiny, kyselina chlorogenová, vykazuje antidiabetickou a hypolipidemickou aktivitu. [37] Seznam doposud identifikovaných derivátů kyseliny

hydroxyskořicové je uveden v tabulce 5. Charakteristické jsou především svým antioxidačním a protizánětlivým účinkem. [33]



Obr. 14: Struktura hydroxyskořicových kyselin

Tab. 4: Hydroxyskořicové kyseliny

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
ferulová	H	OCH ₃	OH	H
kávová	H	OH	OH	H
p-kumarová	H	H	OH	H

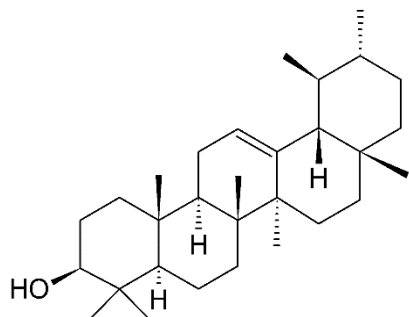
Tab. 5: Hydroxyskořicové kyseliny obsažené v květech bezu

3-O-kafeoylchinová (neochlorogenová)
cis-3-O-kafeoylchinová
4-O-kafeoylchinová (krytochlorogenová)
5-O-kafeoylchinová (chlorogenová)
1,5-di-O-kafeoylchinová
3,5-di-O-kafeoylchinová
4,5-di-O-dikafeoylchinová
3-O-feruoylchinová
5-O-feruoylchinová
3-O-p-kumaroylchinová
5-O-p-kumaroylchinová
cis- 5-O-kumaroylchinová
trans-5-O-kumaroylchinová

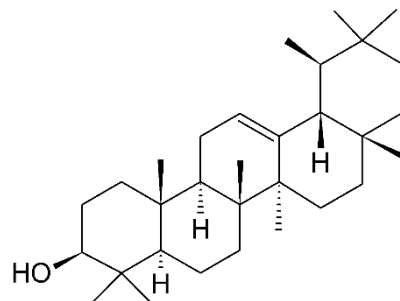
Kromě derivátů kyseliny skořicové byly v květech bezu identifikovány ještě fenolické kyseliny - kyselina gallová a vanilová. [38]

3.2.3 Triterpeny

Dalšími sekundárními metabolity, které se nacházejí v květech bezu jsou triterpeny, jejichž obsah činí přibližně 1%. Jedná se o pentacyklické alkoholy, α -amyrin, β -amyrin a pentacyklické kyseliny, kyselinu ursolovou kyselinu oleanolovou a kyselinu 20- β -hydroxyursolovou. [36] Pro triterpeny je typický je protizánětlivý, antialergický, protinádorový a gastroprotektivní účinek. [39]



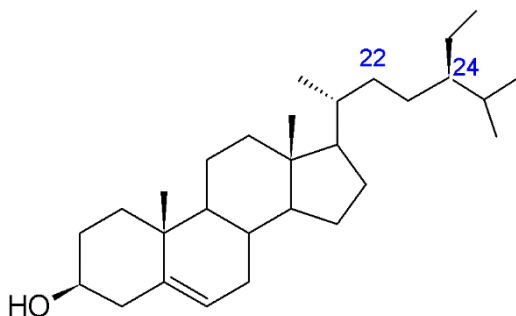
Obr. 15: α -amyrin



Obr. 16: β -amyrin

3.2.4 Fytosteroly

Rostlinné steroly jsou lipofilní steroidní látky, v květu bezu obsaženy přibližně okolo 1%. Jejich struktura je velmi blízká cholesterolu, kterému brání jeho absorpci ve střevě a tím snižují jeho hladinu. V případě květu bezu se konkrétně jedná o β -sitosterol, stigmasterol, který má navíc v poloze 22 dvojnou vazbu a kampesterol, u kterého nalezneme v poloze 24 místo etylové skupiny, metylovou [40-41].



Obr. 17: β -sitosterol

3.2.5 Silice

V květech bezu nalezneme dále malé množství silice (0,03-0,14%) s vysokým obsahem volných mastných kyselin a alkanů. [3] Tyto obsahové látky jsou zodpovědné za charakteristické aroma květů. Z mastných kyselin se jedná o kyselinu palmitovou a olejovou. [26] Bylo zjištěno, že za výraznou květinovou vůni odpovídá především přítomnost linalolu, α -terpineolu, 4-metyl-3-penten-2-onu a (Z)-p-cinemu. Ovocné vůně jsou spojeny s vysokým obsahem pentanal, heptanal, a β -demascenonu. Svěží a travnaté aroma zajišťuje hexanal, hexanol a (Z)-3-hexenolem. [42]

3.2.6 Další obsahové látky květů

Kromě výše zmíněných obsahuje květ bezu slizy, třísloviny, cukry, cholin a šťavelan vápenatý.[3] V květech bezu byl identifikován také protein plastokyanin, jehož struktura se skládá z jednoho polypeptidového řetězce tvořeného 99 aminokyselinami a jedním atomem mědi. [27][43] V nových studiích obsahových látek květu bezu černého byla v extraktech z pylu zjištěna přítomnost polyaminových sloučenin typu acyl-spermidinu.[44] Tyto látky se uplatňují při proliferaci a růstu buněk, svými kladnými náboji se váží na DNA a RNA, čímž zasahují do jejich replikace a proteosyntézy. Mohou také působit jako inhibitory enzymů, především proteinkináz.[45]

Přítomnost kyanogenního glykosidu sambunigrinu, který je obsažen především v semenech, nebyla doposud experimentálně potvrzena, nicméně některé zdroje uvádí jeho přítomnost i v květech. [30] Mezi polysacharidy nacházející se v květech řadíme především pektin. [26] Další zdroje uvádí rovněž velké množství minerálních látek bohatých na draslík a malé množství vitamínu C. [27]

3.3 Využití květu bezu černého

Sambucus nigra L. je velmi často využívanou rostlinou v potravinářství a tradiční medicíně. V potravinářství jsou hojně využívány plody k výrobě šťáv a vín bohatých na vitamín C. Z květů bezu se připravují nápoje a sirupy. V lidové medicíně má bez černý nezastupitelné místo, vzhledem k možnosti využití téměř všech částí rostliny.[1]

3.3.1 Tradiční medicína

Květy bezu černého se k léčbě různých onemocnění používaly již od nepaměti především pro své potopudné, protizánětlivé a stimulační účinky na krevní oběh. [30] Ve formě čaje je vhodný při léčbě nachlazení spojeným s teplotou, protože ulehčuje pocení, čímž pomáhá snižovat horečku.[2] Zevně se používá ve formě koupelí při podráždění kůže, ekzémech nebo mastíci se pleti. Příznivého účinku na zažívací trakt lze využít při křečích trávicího traktu, nadýmání a pro jeho projímavé účinky i při zácpě. Odvar z květů byl v lidovém léčitelství využíván jako kloktadlo při zánětech v dutině ústní nebo k oplachům očí při zánětu spojivek. Používal se také při zánětech, otocích a bolestí spojených s revmatismem. Byl používán také k uklidnění při nervozitě. V současné fytoterapii se využívá květ bezu v čajových směsích, při léčbě chřipky a nachlazení, často v kombinaci např. s lipovým květem. V homeopatii se používá k léčbě rýmy, tlumení revmatických bolestí svalů i kloubů a mírnění příznaků bronchiálního astmatu. [1]

3.3.2 Farmakologická aktivita květu

Obsahové látky květu bezu černého se vyznačují celou řadou biologických účinků. Většina výzkumů se věnuje konkrétním obsahovým látkám, ale můžeme nalézt i studie, které se zabývají přímo farmakologickými účinky extraktů z květu bezu.

3.3.2.1 Antioxidační aktivita

Jedná se o schopnost látek eliminovat volné radikály. Látky, které mají tuto schopnost nazýváme antioxidanty. Volný radikál je nestabilní, vysoce reaktivní částice, vznikající během chemické reakce odtržením elektronu z mateřské molekuly nebo atomu. V lidském těle často vzniká celá řada reaktivních forem kyslíku ROS (reactive oxygen species) a reaktivních forem dusíku RNS (reactive nitrogen species). Mezi reaktivní formy kyslíku neřadíme pouze volné radikály, ale i sloučeniny, ze kterých mohou radikály vznikat. Z radikálu sem patří - superoxid O_2^{\bullet} , hydroxylový radikál HO^{\bullet} , peroxy ROO^{\bullet} , alkoxy RO^{\bullet} ,

hydroperoxyl HO_2^\bullet a sloučeniny, ze kterých vznikají reaktivní formy kyslíku - peroxid vodíku, kyselina chlorná a ozon. Hlavní reaktivní formy dusíku jsou oxid dusnatý NO^\bullet a dusičitý NO_2^\bullet . Ze sloučenin pak mimo jiné nitrosyl NO^+ , nitroxid NO , kyselina dusitá a oxid dusitý. [6] Vzhledem k tomu, že lidský organismus je centrem celé řady chemických reakcí, je vznik volných radikálů zcela fyziologický proces. Důležité jsou především jako součást enzymových mechanismů při uvolňování a přeměně energie. Jejich působení však není pouze pozitivní. V případě nadměrného vzniku volných radikálů může dojít k nedostatku antioxidantů, které mají za úkol jejich nadbytek eliminovat a dochází ke vzniku tzv. oxidačního stresu. Při dlouhodobé nerovnováze volné radikály vedou ke vzniku různých onemocnění. Nadměrná tvorba reaktivních radikálů může indukovat vznik onemocnění kardiovaskulárního systému, diabetu mellitu, onkologických onemocnění a neurodegenerativních chorob jako je Alzheimerova a Parkinsonova choroba. [4-5]

U květu bezu černého bylo prokázáno, že antioxidační aktivitou se vyznačují především flavonoidy a fenolické kyseliny. Antioxidační účinnost je jedním z faktorů, který se podílí na zhodnocení prospěšnosti květu bezu černého na lidské zdraví.

V mnoha studiích byla prokázána výrazná antiradikálová aktivita extraktů květů bezu. [33] K měření antioxidační aktivity v rostlinném materiálu se využívá nejrůznějších metod. Ve studii, kde byla použita metoda DPPH a metoda založená na reakci s β -karotenem, bylo prokázáno, že extrakty z květů bezu černého vykazují mnohem výraznější antiradikálovou aktivitu v porovnání s extrakty z plodů a listů bezu černého. Inhibují aktivitu volných radikálů a zabraňují oxidačním reakcím kyseliny linolové a β -karotenu. [46] V poslední době patrně nejpřesnější metodou online HPLC-CUPRAC byla stanovena výrazná antioxidační aktivita v extraktech květu bezu, za kterou byly zodpovědné fenolické látky na základě jejich schopnosti redukovat měď. [47]

3.3.2.2 Protizánětlivý účinek

Zánět je jedním z obranných mechanismů imunitního systému před poškozením lidského organismu. Může být vyvolán mikroorganismy nebo cizorodými látkami. V tradiční medicíně je květ bezu využíván u chronických zánětů při revmatismu či jako kloktadlo při zánětech v dutině ústní. [1] Toto využití je podloženo studií *in vitro* na lidských buněčných kulturách za použití metanolových extraktů z květů bezu, kde byl zjištěn inhibiční účinek na biosyntézu zánětlivých cytokinů $\text{IL-1}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ a $\text{TNF-}\alpha$. Mimo toho vykazoval extrakt inhibiční účinek na syntézu prostaglandinů. [48]

3.3.2.3 Antidiabetický účinek

Diabetes mellitus typu 2 je metabolická porucha, patřící mezi civilizační choroby, jejichž výskyt se v populaci poslední dobou značně zvyšuje. Mezi hlavní rizikové faktory patří především obezita, hypertenze a hyperlipidémie. Při tomto onemocnění dochází k inzulínové rezistenci, která vede k nadměrné produkci inzulínu β -buňkami pankreatu a zvýšení glukoneogeneze v játrech, čímž dochází ke vzniku hyperinzulinémie a hyperglykémie. K léčbě této choroby je k dispozici široké spektrum léků, které se ale velmi často projevují četnými nežádoucími účinky, proto je snaha hledat přírodní látky, které by byly schopny ovlivnit metabolismus glukózy a lipidů.[49]

Ve studii extraktů květu bezu na buněčných kulturách byla prokázána aktivace PPAR γ receptorů a s tím související stimulace zpětného vychytávání glukózy. Za aktivaci PPAR γ receptorů byly zodpovědné především aglykony identifikovaných látek, flavanon naringenin, kyselina α -linolenová a kyselina linolová, zatímco další obsahové látky květu ve formě glykosidů, jako je kvercetin-3-O-rutinosid, kvercetin-3-O-glukosid, kamferol-3-O-rutinosid, isorhamnetin-3-O-rutinosid, isorhamnetin-3-O-glukosid a 5-O-kafeoylchinová kyselina, nebyly schopné receptor PPAR γ aktivovat. Z uvedené studie vyplývá, že aglykony látek obsažených v květu bezu by mohly mít potenciální využití v prevenci a léčbě inzulínové rezistence, nicméně nebyl prokázán mechanismus účinku této aktivace.[50]

Další studie prokázala schopnost extraktu snižovat hladinu glukózy zvýšením jejího vychytávání v adipocytech. Studie byla provedena v kulturách myotubulů prasat a po chromatografickém rozboru bylo patrné, že na účinku se z obsahových látek podílí naringenin a kyselina 5-O-kafeoylchinová. Naringenin také snižoval hladinu lipidů u hád'átka obecného. Nabízí se zde možnost potenciálního využití naringeninu při nutričních dietách a léčbě diabetu. [51]

S diabetem úzce souvisí viscerální obezita, jako jeden z rizikových faktorů vzniku tohoto onemocnění. Dobrovolníkům s vyšší tělesnou hmotností byla podávána šťáva z plodů bezu obohacená o extrakt z květů. Tato studie prokázala, schopnost látek z výtazků bezu snižovat tělesnou hmotnost a krevní tlak. V neposlední řadě se také zlepšil psychický stav sledovaných jedinců. [52]

3.3.2.4 Antibakteriální účinek

Ve studii na kulturách různých druhů bakterií vypěstovaných na agaru byly sledovány účinky vodného extraktu z květu bezu černého. Extrakt vykazoval inhibiční účinek na růst bakterií *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Streptococcus pyogenes*. Avšak ve srovnání s amoxicilinem, vankomycinem, penicilinem G a ceftriaxonem byl tento účinek výrazně nižší. [53]

3.3.2.5 Diuretický účinek

Močopudný účinek květů bezu byl znám již Hippokratovi. [1] Ve studii byl podáván potkanům extrakt z květů rozpuštěný v hypotonickém solném roztoku, přičemž bylo zjištěno, že po podání se výrazně zvýšil průtok moči a současně došlo ke zvýšení vylučování draslíku. Diuretická aktivita byla téměř srovnatelná s hydrochlorotiazidem, což je v dnešní době velmi často podávané diuretikum. [54]

Podobných výsledků bylo dosaženo podáním infúze extraktu z květu bezu černého potkanům. Diuretická aktivita květu byla v porovnání s theofylinem výrazně vyšší. [41]

3.3.2.6 Imunomodulační účinek

Schopnost extraktu z květu stimulovat imunitní reakce byla zkoumána ve studii *in vitro* se zaměřením na pektinové polysacharidy. Hlavní monosacharidové jednotky, kterými jsou polysacharidy v květech bezu tvořeny, byly identifikovány pomocí GC-MS. Jednalo se o rhamnózu, xylózu, manózu, galaktózu, arabinózu a glukózu. Výsledek studie naznačuje imunomodulační aktivitu u rozvětvených arabinogalaktanů spojených s rhamnogalakturonanem. Mechanismem účinku je patrně fixace komplementu a stimulace aktivity makrofágů. [55]

3.3.2.7 Antiproliferativní efekt

Fenolické sloučeniny jsou známé schopností ovlivňovat fyziologické funkce organismu a buněčnou transdukcí. Mohou stimulovat imunitní reakci, specificky rozpoznat a zničit nádorové buňky. Stejně tak inhibují angiogenezi, která je nezbytná pro růst nádorů. Kromě toho mohou snižovat přilnavost a invazi nádorových buněk, čímž se snižuje schopnost nádorů metastázovat. Mechanismů účinků, kterými jsou tyto sloučeniny schopné těchto preventivních a antikarcinogenních účinků dosáhnout, jsou různé. Může se jednat o indukci buněčné apoptózy, inhibici proliferace buněk či buněčného cyklu. Nicméně velmi

často je tento účinek spojován právě s antioxidační aktivitou. Předpokládá se, že hlavní látkou v květech bezu, která se na tomto účinku podílí, je rutin. Pozorováním *in vitro* hepatocelulárního karcinomu bylo však zjištěno, že se tímto účinkem rovněž vyznačují kyselina gallová, kyselina vanilová, kyselina kávová a kyselina skořicová. [56]

3.3.2.8 Ostatní účinky

Sambuci nigrae flos je často součástí projímavých čajových směsí. Do randomizované klinické studie byli vybráni dobrovolníci ve věku 18 - 50 let s chronickou zácpou. Podávaná směs drog obsahující plod bedrníku, plod fenyklu, květ bezu a květ senny vykazovala projímavý účinek. Avšak tento účinek samotného květu bezu nebyl prokázán.[57]

Diaforetický účinek, pro který se květ bezu užíval celá staletí v tradiční medicíně, byl prokázán ve studii na zdravých dobrovolnících. Po podání květů bezu černého se u těchto jedinců zvýšila odezva potních žláz na tepelné podněty, čímž došlo i ke zvýšení diaforézy. [41]

Antivirotickou aktivitou se vyznačují hlavně plody bezu. [58] Bylo však zjištěno, že lyofilizovaný extrakt z květů *Sambucus nigra* L., nadzemních částí *Hypericum perforatum* L. a kořenů *Saponaria officinalis* L., obsahující flavonoidy, fenolové kyseliny, saponiny, třísloviny, polysacharidy, vykazoval antivirotický účinek. Ve studiích *in vivo* a *in vitro* byl prokázán inhibiční účinek na rozmnožování různých kmenů viru chřipky A a B a *in vitro* inhibiční účinek na herpes simplex virus typu 1. Přesto nelze s jistotou říci, jaký podíl na tomto efektu má samotný extrakt z květu bezu. [59]

Výtažky z květu bezu černého jsou mimo jiné také doporučovány pro svou fotostabilizující a fotoprotektivní účinnost. Rovněž jsou vhodné jako přísada do opalovacích přípravků, díky své antioxidační aktivitě, za kterou jsou zodpovědny polyfenolické látky, především kvercetin a kyseliny gallová. [60]

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Rostlinný materiál

K analýze byly použity metanolové extrakty z usušených květů 19 vyšlechtěných kultivarů bezu černého (Tab. 6). Vzorčky pocházely z VŠÚO Holovousy s.r.o. Sběr celých vrcholíků byl proveden v roce 2014 v době plného květu, uštípnutím celého vrcholíku. Sušeny byly volně na vzduchu při pokojové teplotě. Uchovávány v uzavřených obalech chráněných před světlem.

Tab. 6: Zkoumané kultivary

1.	'Albida'
2.	'Allesö'
3.	'Aurea'
4.	'Bohatka'
5.	'Dana'
6.	'Haschberg'
7.	'Heidegg'
8.	'Juicy'
9.	'Korsør'
10.	'Mammut'
11.	'Pregarten'
12.	'Riese aus Voßloch'
13.	'Sambo'
14.	'Sambu'
15.	'Samdal'
16.	'Sampo'
17.	'Samyl'
18.	'Tubling'
19.	'Weinhenstephan'

4.2 Použité chemikálie a přístroje

Chemikálie

DPPH - 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl, Sigma, St. Louis, USA

Metanol - CH₃OH, Penta Chrudim, Česká republika

Přístrojové vybavení

Analytické váhy, Kern, Německo

Dvoupaprskový spektrofotometr UV 1601, Shimadzu, Japonsko

Laboratorní síta, Retsch (Německo)

Ultrazvuková lázeň, Bandelin Sonorex, Německo

4.3 Stanovení antioxidační aktivity

Ke stanovení antioxidační aktivity byla použita metoda založená na eliminaci syntetického radikálu DPPH, měřením poklesu absorbance spektrofotometricky při vlnové délce 517 nm.

4.3.1 Příprava extraktů

Z květenství byly odstraněny jednotlivé květy a rozdrobněny v třence. Z připravené práškové drogy (prosévána sítím č. 355) *Sambuci nigrae flos* bylo odváženo 0,1 g, přidáno 25 ml metanolu a následně vloženo na 30 minut do ultrazvukové lázně. Po vychladnutí při pokojové teplotě a za občasného míchání byl výluh zfiltrován. Takto vzniklý filtrát byl doplněn metanolem v 25 ml baňce po rysku. Stejný postup se opakoval u všech 19 vzorků.

4.3.2 Příprava roztoku DPPH

K naváženému množství 0,05g DPPH bylo přidáno 50ml metanolu. Pro urychlení rozpouštění byla tato směs vložena na 30 minut do ultrazvukové lázně. Po uplynutí této doby byl roztok převeden do 50 ml odměrné baňky a doplněn po rysku metanolem. Takto připravený roztok byl uložen do temna a chladu, aby nedošlo k rozkladným procesům.

4.3.3 Postup stanovení

Z připravených extraktů bylo postupně odpipetováno do jednotlivých zkumavek 0,025 ml, 0,05 ml, 0,075 ml, 0,1 ml, 0,15 ml, 0,20 ml, 0,25 ml, 0,30 ml, přidáno 0,2 ml roztoku DPPH (odpovídá 0,202 mg DPPH) a doplněno metanolem na celkový objem 5 ml. Společně se vzorky je nutné připravit slepý vzorek, který vznikl odpipetováním 0,2 ml roztoku DPPH a doplněn v 5 ml odměrné baňce po rysku. Takto připravené vzorky včetně slepého, byly uloženy na 30 minut do temna.

4.3.4 Měření absorbance

Po uplynutí inkubační doby byl u slepého vzorku a koncentrační řady vzorků změřen pokles absorbance proti metanolu při vlnové délce 517 nm.

Jednotlivé koncentrace byly přepočítány na navážku drogy. Naměřené hodnoty absorbance byly použity k výpočtu % redukovaných radikálů, dle vzorce:

$$\%_{\text{zred.rad.DPPH}} = (1 - A_{\text{vz}}/A_{\text{sl}}) \times 100,$$

kde A_{sl} je absorbance slepého vzorku a A_{vz} naměřená hodnota absorbance jednotlivých vzorků.

Do grafů byla zanesena závislost % zhášení volných radikálů na koncentraci a odečteny hodnoty IC_{50} , což je hodnota udávající koncentraci extraktu při které dojde k redukci 50% radikálů. U každého kultivaru bylo měření provedeno dvakrát.

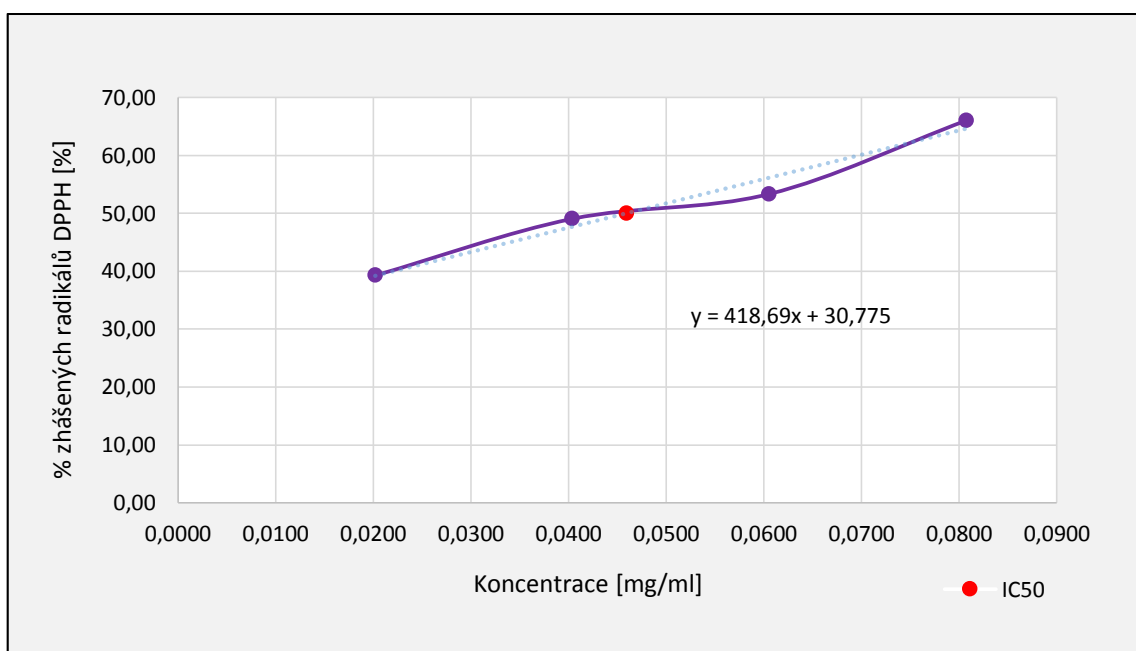
Výsledky měření jsou uvedeny v tabulkách 7- 26 a grafech 1-20.

4.3.5 Výsledky měření

Kultivar 'Albida'

$m_{nav}=0,1009g$						
$A_{sI}=1,238$						
V [ml]	C [mg/ml]	A_1	$\%_1$	A_2	$\%_2$	Φ
0,025	0,0202	0,772	37,64	0,732	40,87	39,26
0,05	0,0404	0,661	46,61	0,601	51,45	49,03
0,075	0,0605	0,589	52,42	0,567	54,20	53,31
0,1	0,0807	0,44	64,46	0,402	67,53	65,99
0,15	0,1211	0,115	90,71	0,117	90,55	90,63
0,2	0,1614	0,109	91,20	0,104	91,60	91,40
0,25	0,2018	0,107	91,36	0,107	91,36	91,36
0,3	0,2422	0,106	91,44	0,105	91,52	91,48
IC ₅₀		0,0459				

Tab. 7: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Albida'

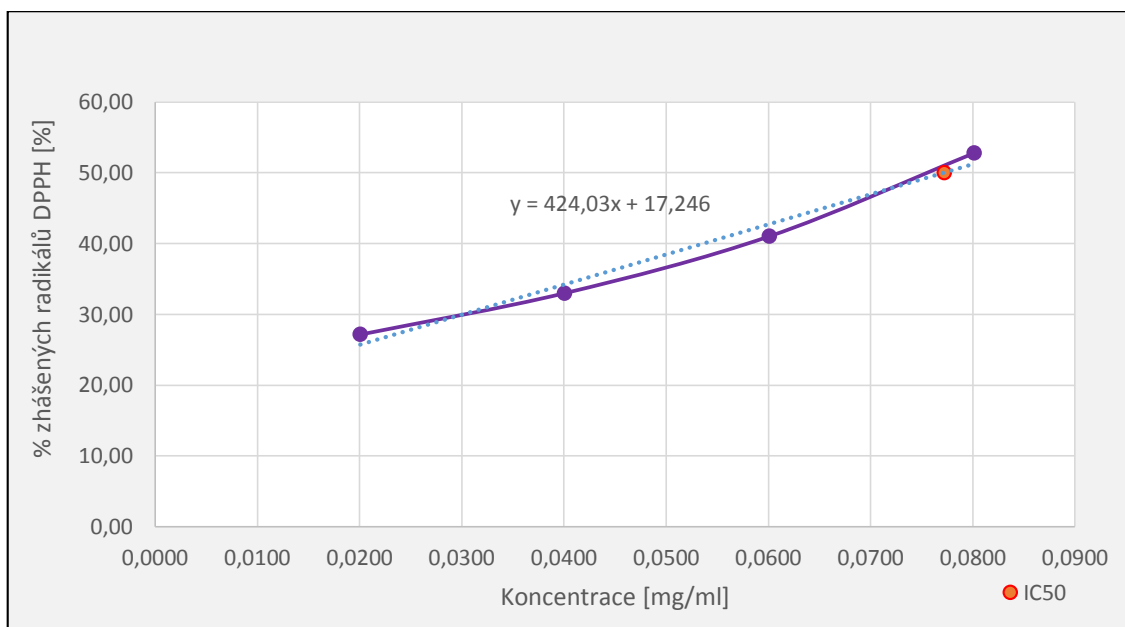


Graf 1: Antioxidační aktivita extraktu květu kultivaru 'Albida'

Kultivar 'Allesö'

m _{nav} =0,1002g						
A _{sl} =1,238						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0200	0,912	26,33	0,892	27,95	27,14
0,05	0,0401	0,838	32,31	0,821	33,68	33,00
0,075	0,0601	0,735	40,63	0,725	41,44	41,03
0,1	0,0802	0,596	51,86	0,573	53,72	52,79
0,15	0,1202	0,492	60,26	0,493	60,18	60,22
0,2	0,1603	0,133	89,26	0,16	87,08	88,17
0,25	0,2004	0,137	88,93	0,144	88,37	88,65
0,3	0,2405	0,131	89,42	0,126	89,82	89,62
IC ₅₀		0,0772				

Tab. 8: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Allesö'

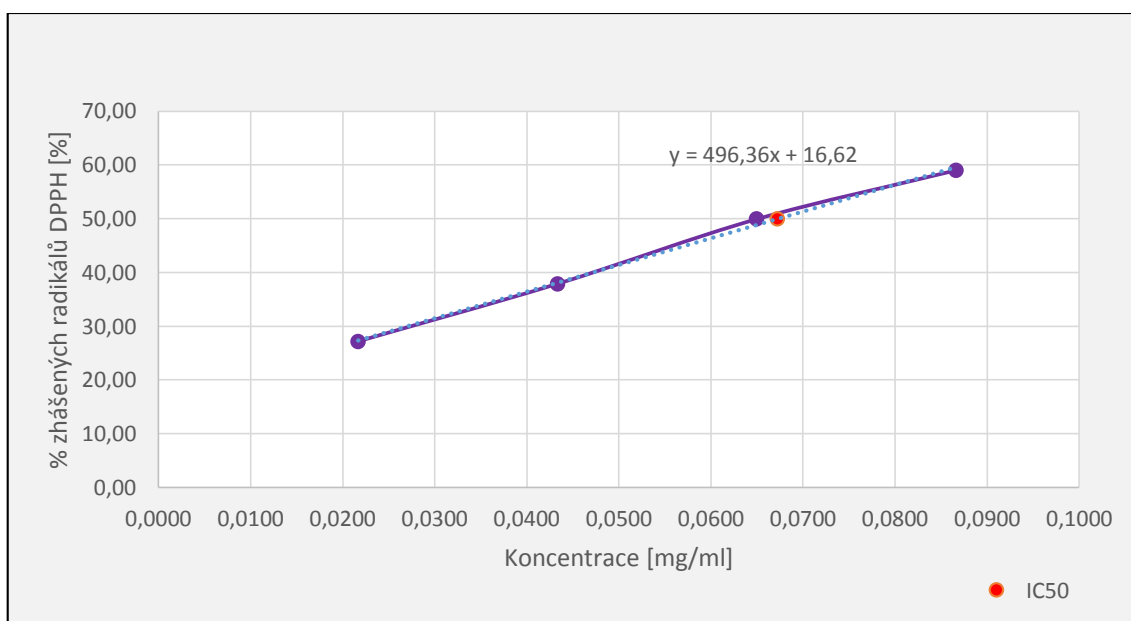


Graf 2: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Allesö'

Kultivar 'Aurea'

m _{nav} =0,1083g						
A _{sl} =1,238						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0217	0,914	26,17	0,889	28,19	27,18
0,05	0,0433	0,746	39,74	0,792	36,03	37,88
0,075	0,0650	0,631	49,03	0,609	50,81	49,92
0,1	0,0866	0,537	56,62	0,478	61,39	59,01
0,15	0,1300	0,353	71,49	0,231	81,34	76,41
0,2	0,1733	0,147	88,13	0,146	88,21	88,17
0,25	0,2166	0,137	88,93	0,141	88,61	88,77
0,3	0,2599	0,141	88,61	0,136	89,01	88,81
IC ₅₀		0,0672				

Tab. 9: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Aurea'

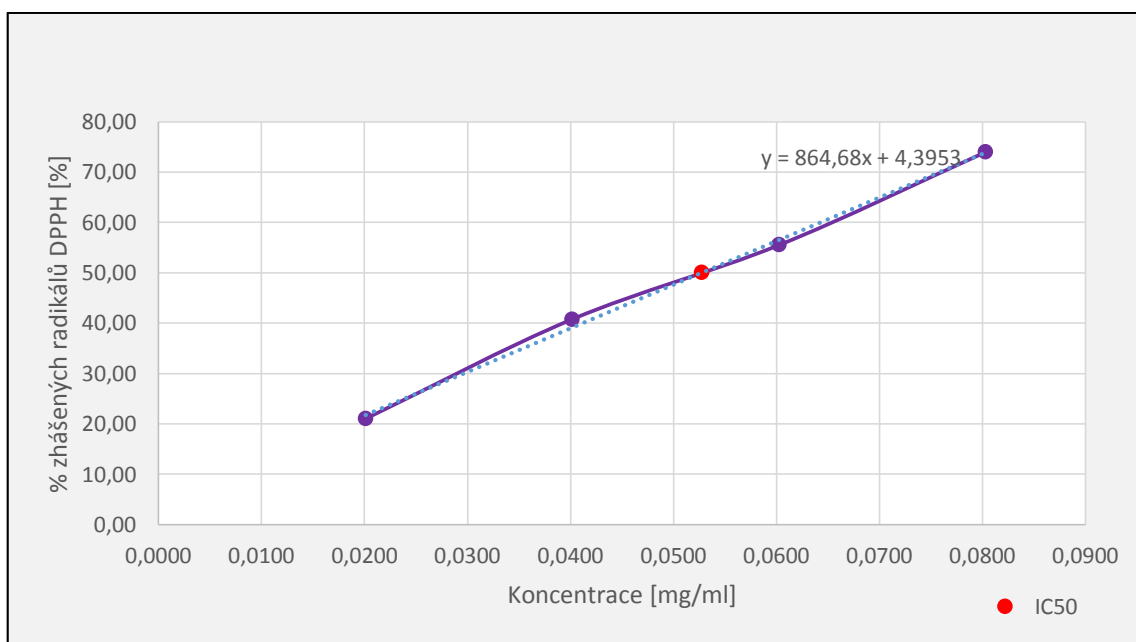


Graf 3: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Aurea'

Kultivar 'Bohatka'

m _{nav} =0,1004g						
A _{sl} =0,839						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0201	0,718	19,60	0,693	22,40	21,00
0,05	0,0402	0,527	40,99	0,531	40,54	40,76
0,075	0,0602	0,399	55,32	0,396	55,66	55,49
0,1	0,0803	0,25	72,00	0,215	75,92	73,96
0,15	0,1205	0,112	87,46	0,117	86,90	87,18
0,2	0,1606	0,107	88,02	0,107	88,02	88,02
0,25	0,2008	0,105	88,24	0,106	88,13	88,19
0,3	0,2410	0,107	88,02	0,107	88,02	88,02
IC ₅₀		0,0527				

Tab. 10: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Bohatka'

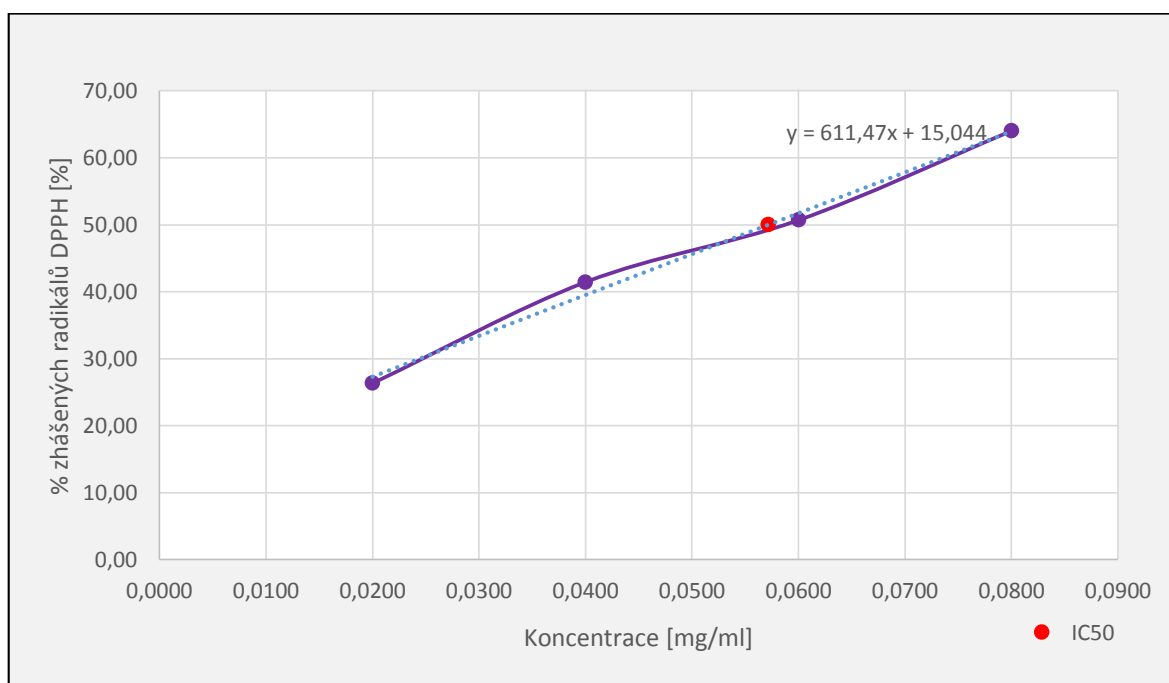


Graf 4: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Bohatka'

Kultivar 'Dana'

m _{nav} =0,1000g						
A _{sl} =1,238						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0200	0,911	26,41	0,913	26,25	26,33
0,05	0,0400	0,736	40,55	0,714	42,33	41,44
0,075	0,0600	0,578	53,31	0,643	48,06	50,69
0,1	0,0800	0,42	66,07	0,471	61,95	64,01
0,15	0,1200	0,265	78,59	0,212	82,88	80,74
0,2	0,1600	0,13	89,50	0,139	88,77	89,14
0,25	0,2000	0,119	90,39	0,124	89,98	90,19
0,3	0,2400	0,118	90,47	0,114	90,79	90,63
IC ₅₀		0,0572				

Tab. 11: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Dana'

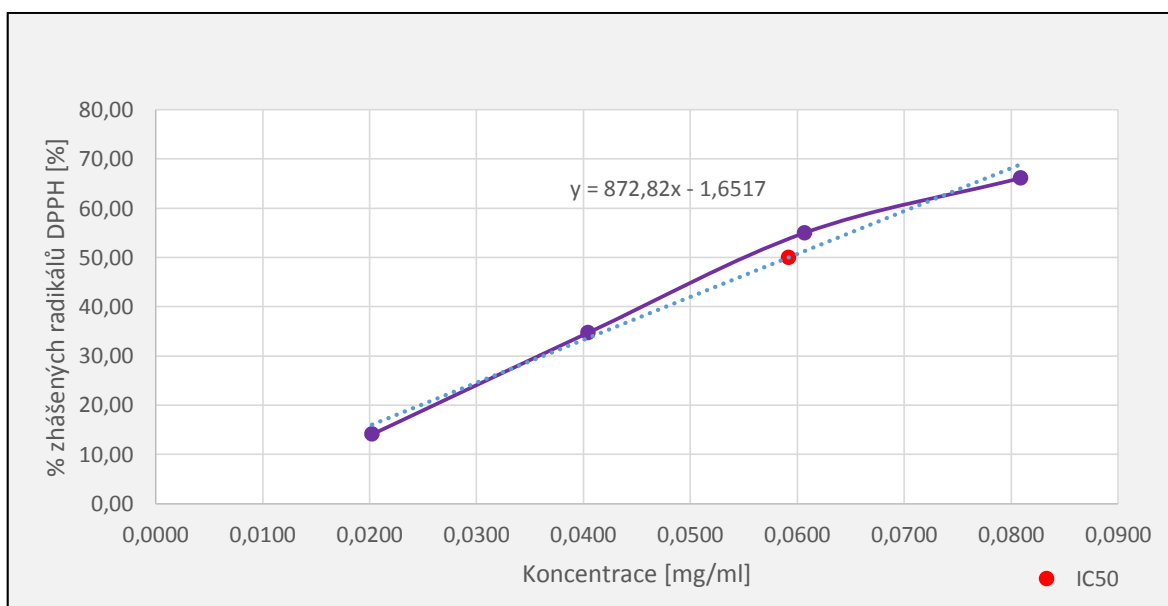


Graf 5: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Dana'

Kultivar 'Haschberg'

m _{nav} =0,1011g						
A _{sl} =0,893						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0202	0,754	15,57	0,781	12,54	14,05
0,05	0,0404	0,591	34,71	0,583	34,71	34,71
0,075	0,0607	0,393	55,99	0,411	53,98	54,98
0,1	0,0809	0,303	66,07	0,302	66,18	66,13
0,15	0,1213	0,144	83,87	0,143	83,99	83,93
0,2	0,1618	0,138	84,55	0,134	84,99	84,77
0,25	0,2022	0,127	85,78	0,133	85,11	85,44
0,3	0,2426	0,133	85,11	0,124	86,11	85,61
IC ₅₀		0,0624				

Tab. 12: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Hachberg'

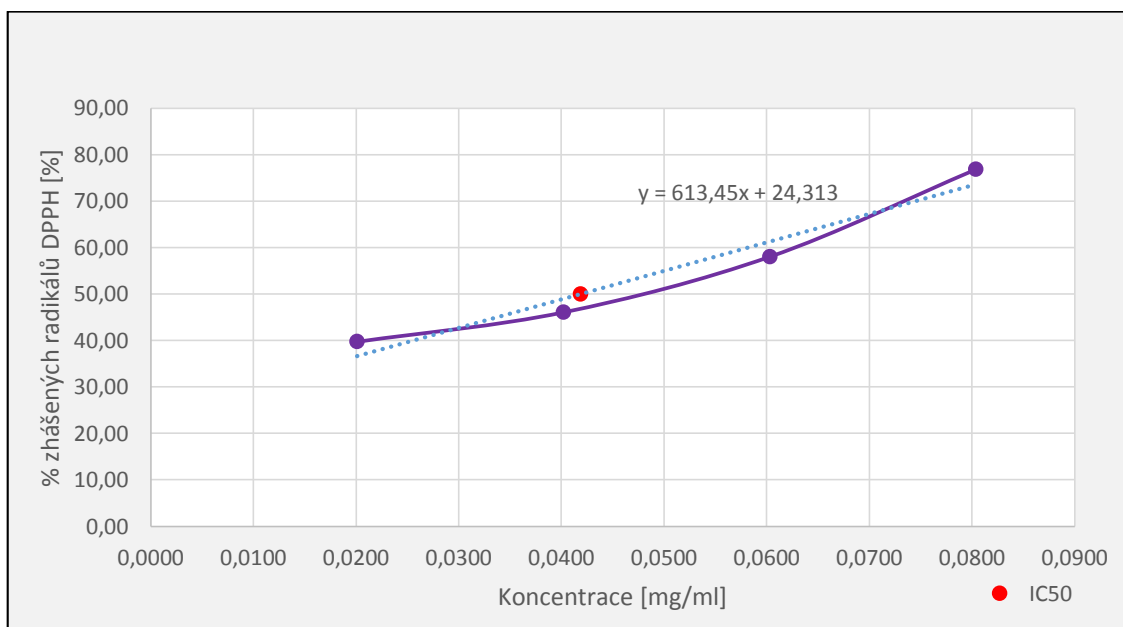


Graf 6: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Haschberg'

Kultivar 'Heidegg 13'

m _{nav} =0,1005g						
A _{sl} =1,238						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0201	0,747	39,66	0,746	39,74	39,70
0,05	0,0402	0,694	43,94	0,642	48,14	46,04
0,075	0,0603	0,533	56,95	0,507	59,05	58,00
0,1	0,0804	0,273	77,95	0,301	75,69	76,82
0,15	0,1206	0,113	90,87	0,125	89,90	90,39
0,2	0,1608	0,104	91,60	0,105	91,52	91,56
0,25	0,2010	0,105	91,52	0,102	91,76	91,64
0,3	0,2412	0,106	91,44	0,107	91,36	91,40
IC ₅₀		0,0419				

Tab. 13: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Heidegg 13'

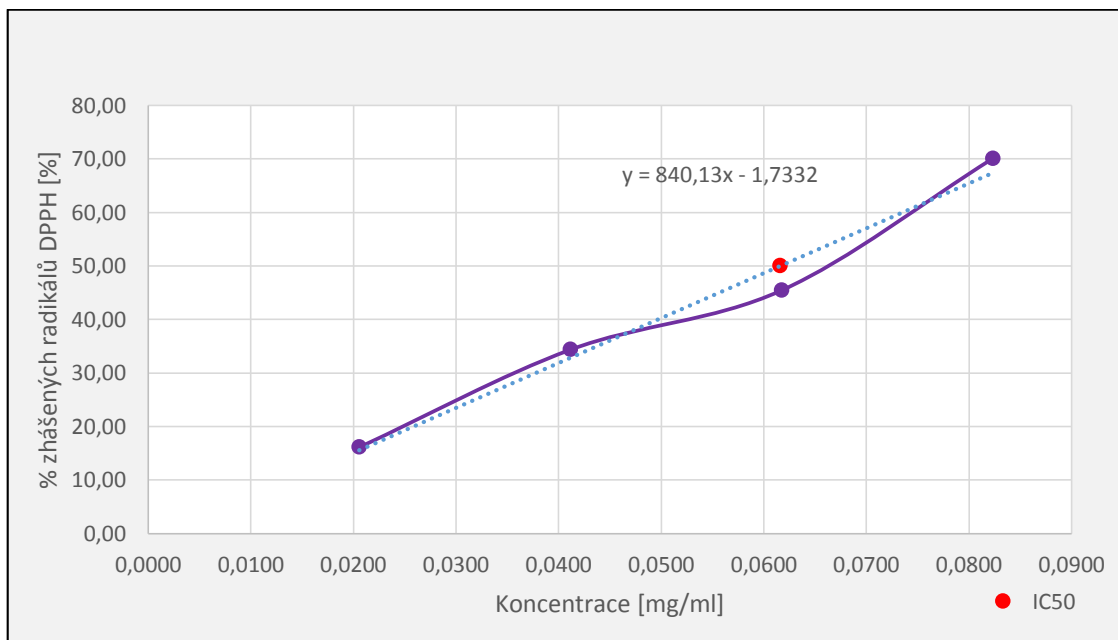


Graf 7: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Heidegg 13'

Kultivar 'Juicy'

m _{nav} =0,1029g						
A _{sl} =0,952						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0206	0,841	11,66	0,756	20,59	16,12
0,05	0,0412	0,674	29,20	0,576	39,50	34,35
0,075	0,0617	0,531	44,22	0,508	46,64	45,43
0,1	0,0823	0,321	66,28	0,249	73,84	70,06
0,15	0,1235	0,145	84,77	0,144	84,87	84,82
0,2	0,1646	0,134	85,92	0,138	85,50	85,71
0,25	0,2058	0,132	86,13	0,135	85,82	85,98
0,3	0,2470	0,129	86,45	0,125	86,87	86,66
IC ₅₀		0,0616				

Tab. 14: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Juicy'

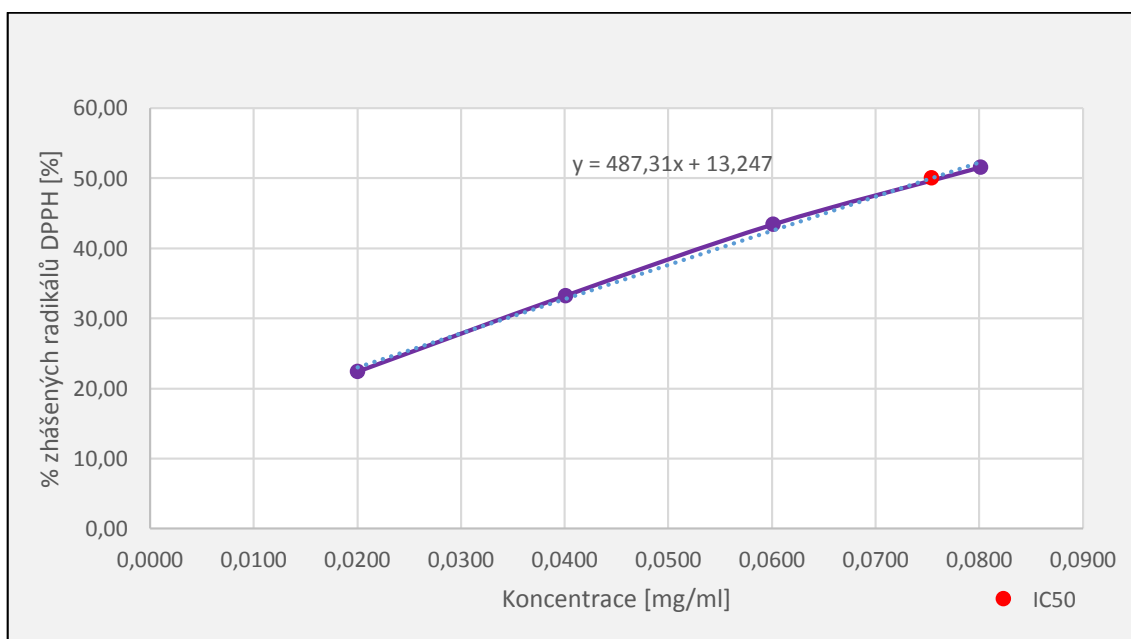


Graf 8: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Juicy'

Kultivar 'Korsør'

m _{nav} =0,1002g						
A _{sl} =1,238						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0200	0,979	20,92	0,942	23,91	22,42
0,05	0,0401	0,796	35,70	0,857	30,78	33,24
0,075	0,0601	0,696	43,78	0,705	43,05	43,42
0,1	0,0802	0,589	52,42	0,61	50,73	51,58
0,15	0,1202	0,375	69,71	0,233	81,18	75,44
0,2	0,1603	0,125	89,90	0,131	89,42	89,66
0,25	0,2004	0,13	89,50	0,127	89,74	89,62
0,3	0,2405	0,121	90,23	0,122	90,15	90,19
IC ₅₀		0,0754				

Tab. 15: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Korsør'

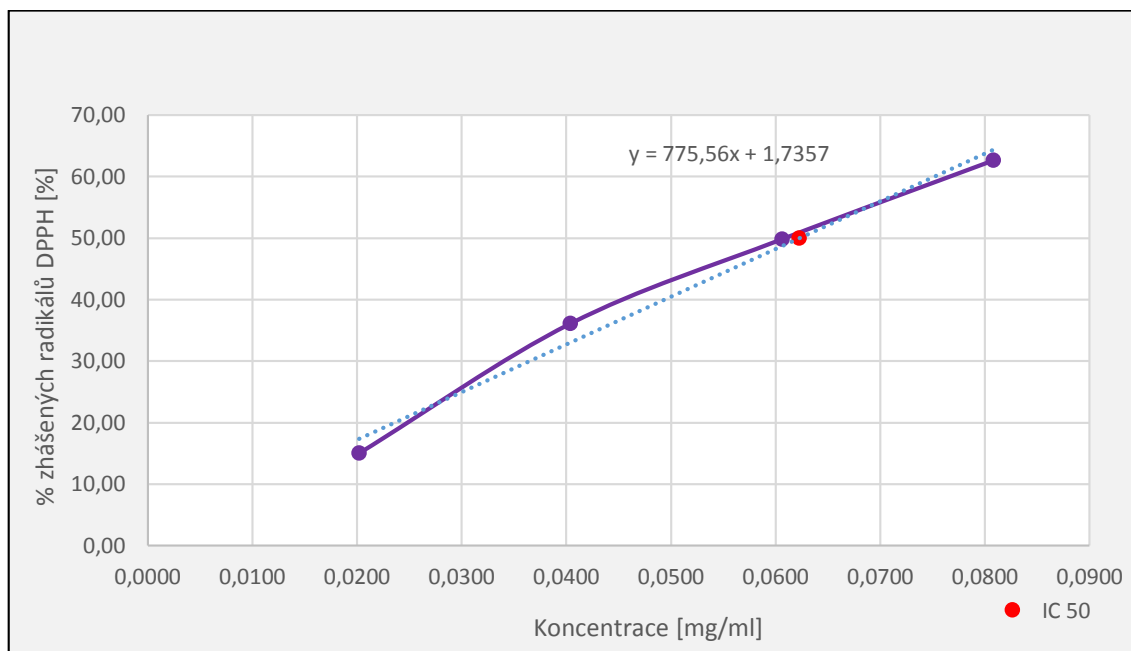


Graf 9: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Korsør'

Kultivar 'Mammut'

m _{nav} =0,1010g						
A _{sI} =0,893						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0202	0,756	15,34	0,762	14,67	15,01
0,05	0,0404	0,565	36,73	0,576	35,50	36,11
0,075	0,0606	0,467	47,70	0,429	51,96	49,83
0,1	0,0808	0,327	63,38	0,34	61,93	62,65
0,15	0,1212	0,156	82,53	0,148	83,43	82,98
0,2	0,1616	0,138	84,55	0,131	85,33	84,94
0,25	0,2020	0,128	85,67	0,138	84,55	85,11
0,3	0,2424	0,116	87,01	0,135	84,88	85,95
IC ₅₀				0,0622		

Tab. 16: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Mammut'

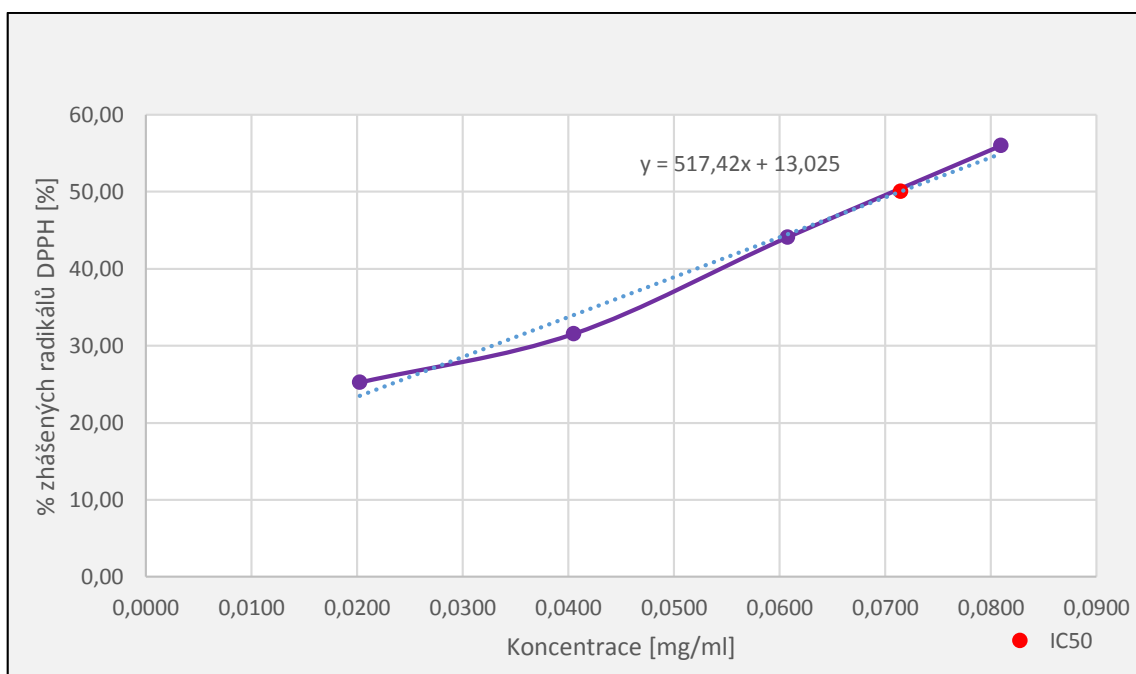


Graf 10: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Mammut'

Kultivar 'Pregarten'

m _{nav} =0,1012g						
A _{sl} =1,238						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0202	0,913	26,25	0,938	24,23	25,24
0,05	0,0405	0,866	30,05	0,829	33,04	31,54
0,075	0,0607	0,685	44,67	0,7	43,46	44,06
0,1	0,0810	0,57	53,96	0,52	58,00	55,98
0,15	0,1214	0,291	76,49	0,366	70,44	73,47
0,2	0,1619	0,127	89,74	0,124	89,98	89,86
0,25	0,2024	0,124	89,98	0,119	90,39	90,19
0,3	0,2429	0,12	90,31	0,119	90,39	90,35
IC ₅₀		0,0715				

Tab. 17: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Pregarten'

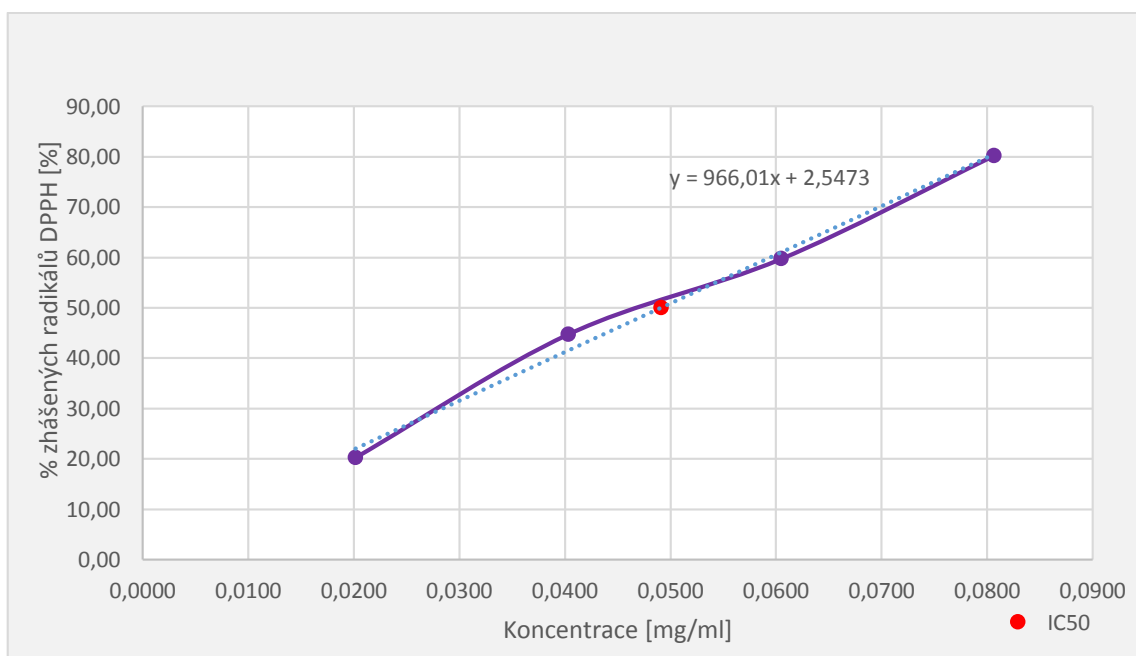


Graf 11: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Pregarten'

Kultivar 'Riese aus Voßloch'

m _{nav} =0,1008g						
A _{sl} =0,952						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0202	0,725	23,84	0,793	16,70	20,27
0,05	0,0403	0,529	44,43	0,523	45,06	44,75
0,075	0,0605	0,398	58,19	0,369	61,24	59,72
0,1	0,0806	0,185	80,57	0,192	79,83	80,20
0,15	0,1210	0,126	86,76	0,13	86,34	86,55
0,2	0,1613	0,125	86,87	0,129	86,45	86,66
0,25	0,2016	0,119	87,50	0,119	87,50	87,50
0,3	0,2419	0,118	87,61	0,117	87,71	87,66
IC ₅₀		0,0491				

Tab. 18: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Riese aus Voßloch'

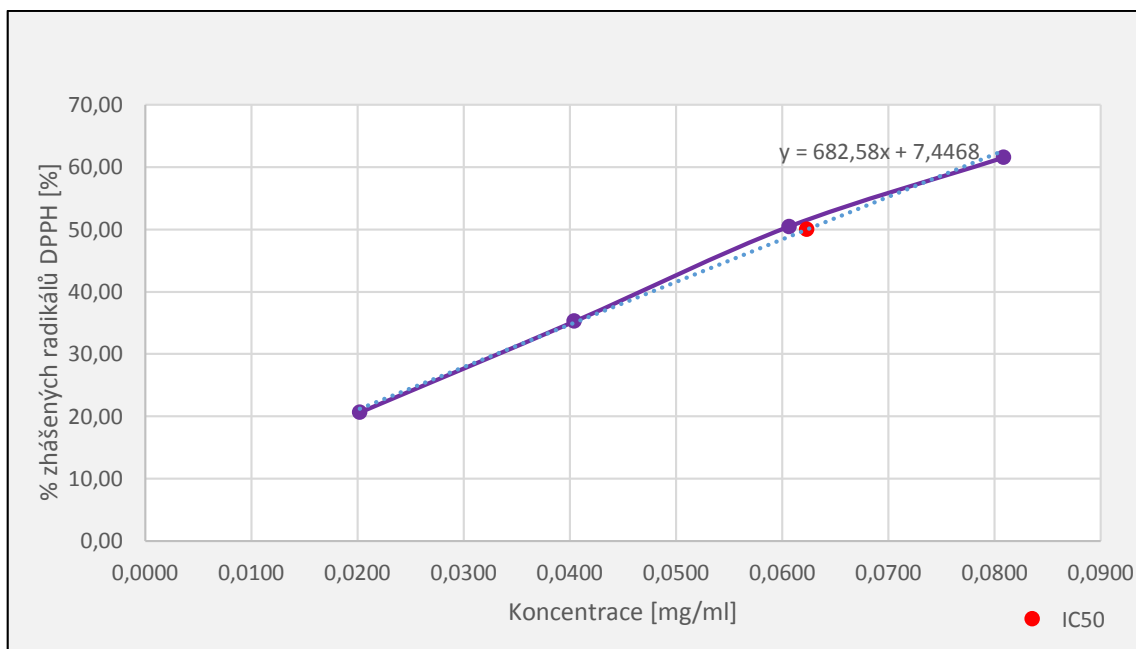


Graf 12: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Riese aus Voßloch'

Kultivar 'Sambo'

m _{nav} =0,1011g						
A _{sl} =0,893						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0202	0,71	20,49	0,708	20,72	20,60
0,05	0,0404	0,613	31,35	0,544	39,08	35,22
0,075	0,0607	0,432	51,62	0,453	49,27	50,45
0,1	0,0809	0,366	59,01	0,321	64,05	61,53
0,15	0,1213	0,150	83,20	0,15	83,20	83,20
0,2	0,1618	0,144	83,87	0,147	83,54	83,71
0,25	0,2022	0,134	84,99	0,136	84,77	84,88
0,3	0,2426	0,138	84,55	0,14	84,32	84,43
IC ₅₀		0,0623				

Tab. 19: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Sambo'

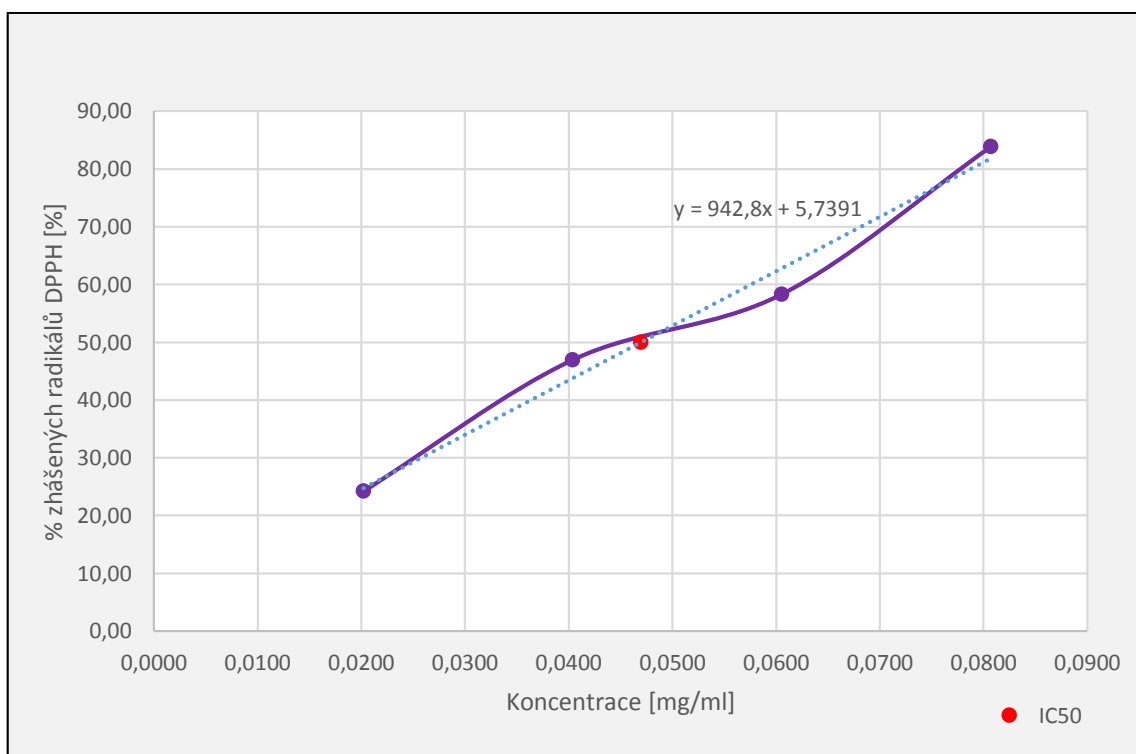


Graf 13: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Sambo'

Kultivar 'Sambu'

m _{nav} =0,1009g						
A _{sl} =0,893						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0202	0,693	22,40	0,661	25,98	24,19
0,05	0,0404	0,444	50,28	0,504	43,56	46,92
0,075	0,0605	0,358	59,91	0,387	56,66	58,29
0,1	0,0807	0,152	82,98	0,137	84,66	83,82
0,15	0,1211	0,134	84,99	0,129	85,55	85,27
0,2	0,1614	0,123	86,23	0,132	85,22	85,72
0,25	0,2018	0,120	86,56	0,124	86,11	86,34
0,3	0,2422	0,100	88,80	0,109	87,79	88,30
IC ₅₀		0,0469				

Tab. 20: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Sambu'

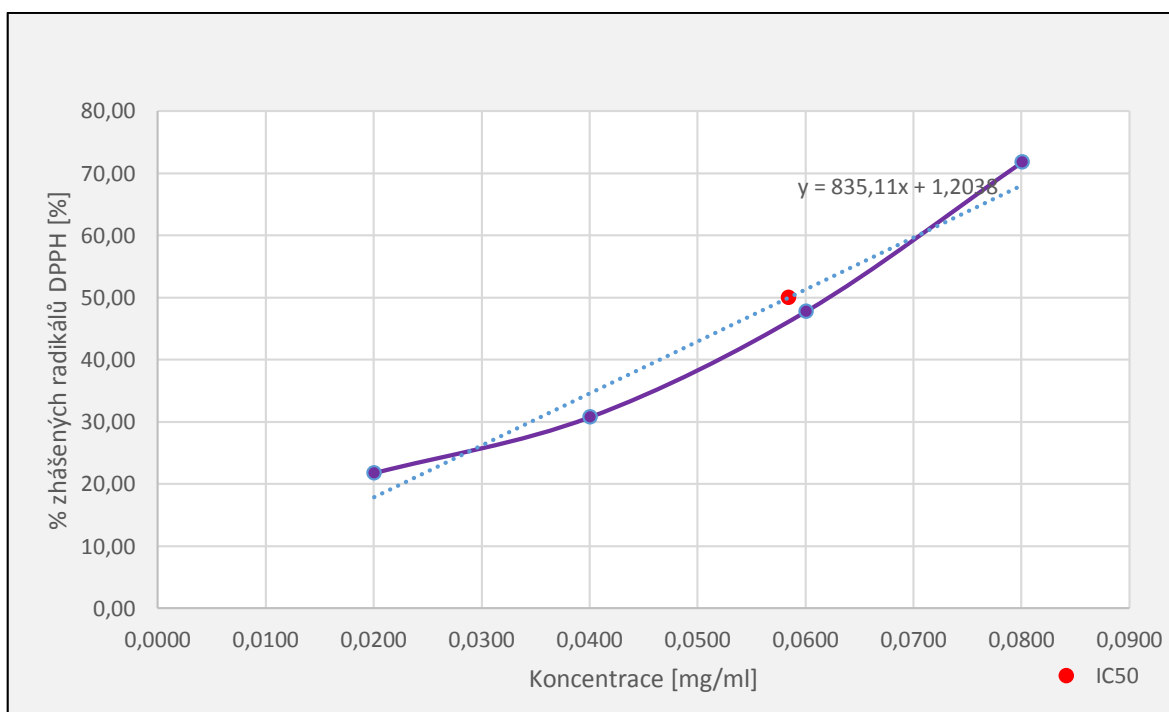


Graf 14: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Sambu'

Kultivar 'Samdal'

m _{nav} =0,1001g						
A _{sl} =0,893						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0200	0,688	22,96	0,710	20,49	21,72
0,05	0,0400	0,630	29,45	0,607	32,03	30,74
0,075	0,0601	0,476	46,70	0,457	48,82	47,76
0,1	0,0801	0,258	71,11	0,246	72,45	71,78
0,15	0,1201	0,140	84,32	0,141	84,21	84,27
0,2	0,1602	0,138	84,55	0,135	84,88	84,71
0,25	0,2002	0,138	84,55	0,131	85,33	84,94
0,3	0,2402	0,126	85,89	0,134	84,99	85,44
IC ₅₀		0,0584				

Tab. 21: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Samdal'

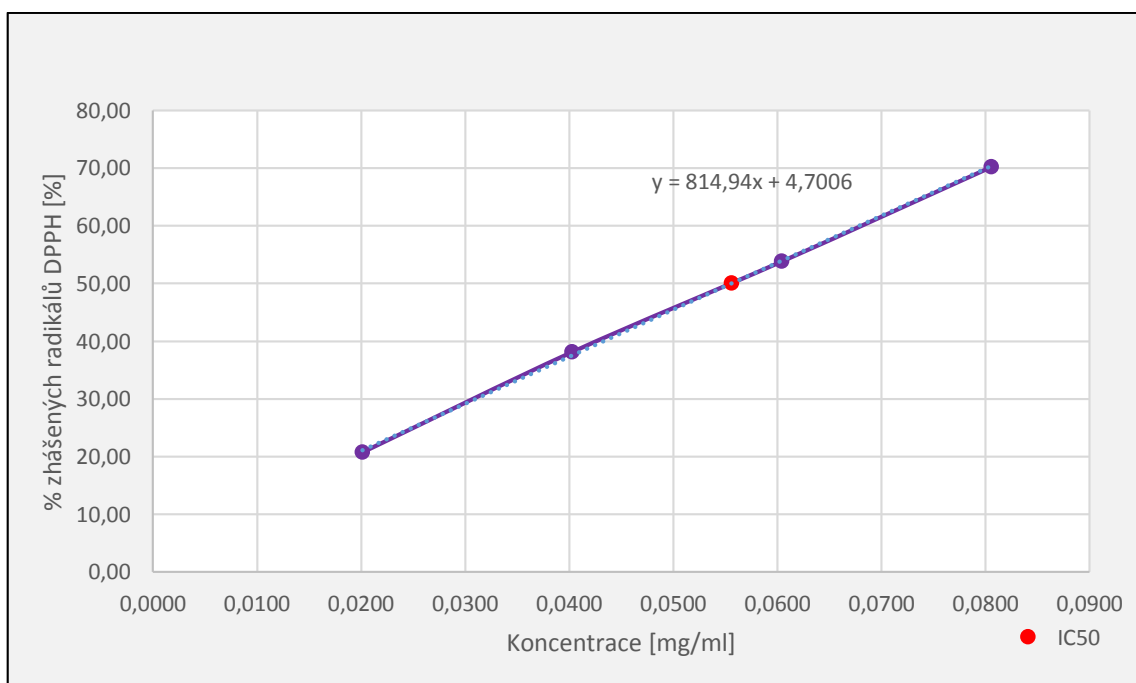


Graf 15: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Samdal'

Kultivar 'Sampo'

m _{nav} =0,1007g						
A _{sl} =0,952						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0201	0,722	24,16	0,787	17,33	20,75
0,05	0,0403	0,599	37,08	0,579	39,18	38,13
0,075	0,0604	0,437	54,10	0,442	53,57	53,83
0,1	0,0806	0,299	68,59	0,268	71,85	70,22
0,15	0,1208	0,133	86,03	0,131	86,24	86,13
0,2	0,1611	0,132	86,13	0,131	86,24	86,19
0,25	0,2014	0,127	86,66	0,127	86,66	86,66
0,3	0,2417	0,126	86,76	0,125	86,87	86,82
IC ₅₀		0,0556				

Tab. 22: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Sampo'

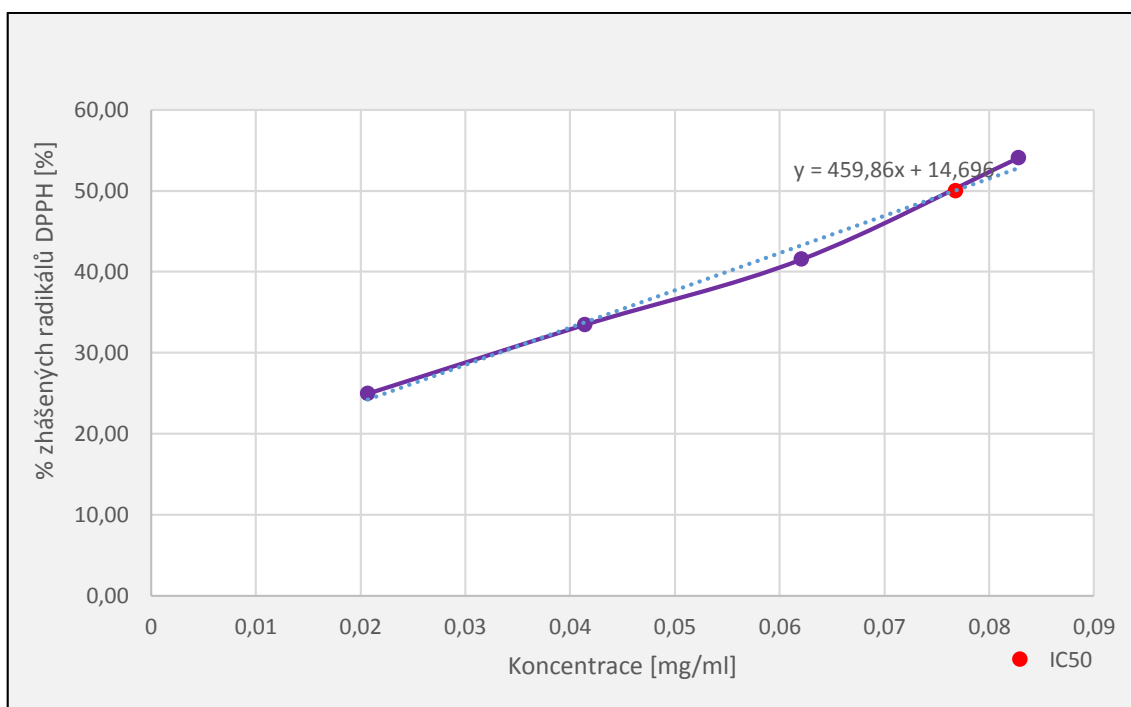


Graf 16: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Sampo'

Kultivar 'Sامل'

m _{nav} =0,1086g						
A _{sl} =1,194						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0207	0,939	21,36	0,749	28,60	24,98
0,05	0,0414	0,831	30,40	0,666	36,51	33,46
0,075	0,0621	0,709	40,62	0,604	42,42	41,52
0,1	0,0828	0,538	54,94	0,492	53,10	54,02
0,15	0,1242	0,268	77,55	0,136	87,04	82,29
0,2	0,1656	0,15	87,44	0,128	87,80	87,62
0,25	0,2070	0,127	89,36	0,127	87,89	88,63
0,3	0,2484	0,125	89,53	0,12	88,56	89,05
IC ₅₀			0,0712			

Tab. 23: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Sامل'

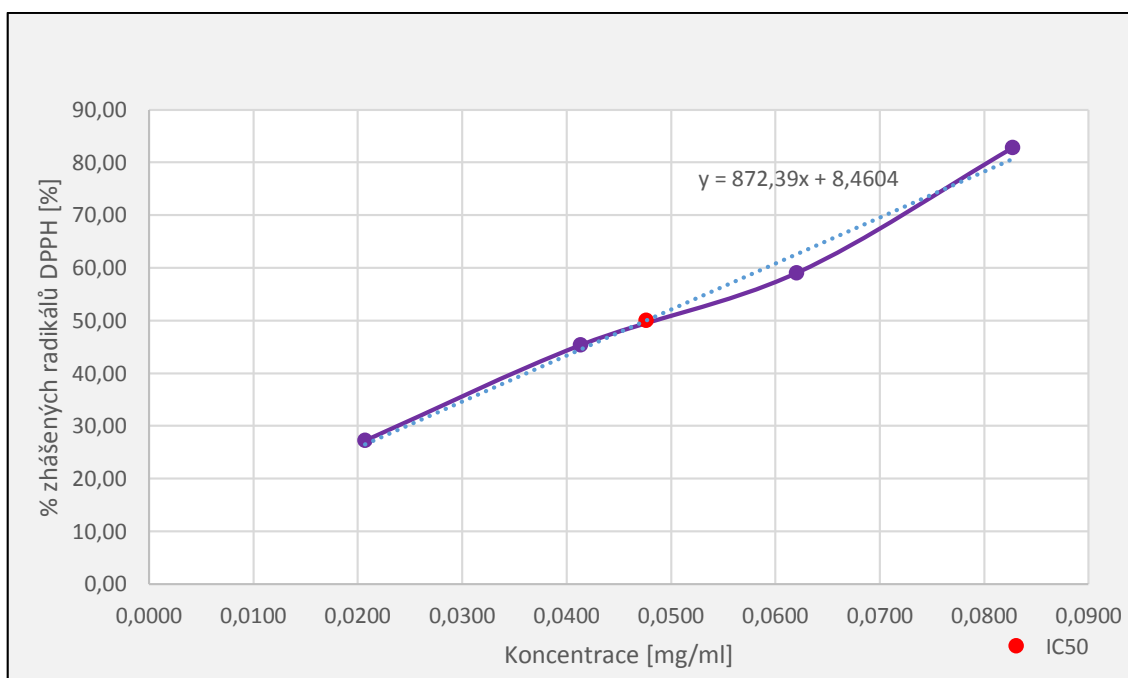


Graf 17: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Sامل'

Kultivar 'Tulbing'

m _{nav} =0,1034g						
A _{sl} =1,049						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0207	0,742	29,27	0,786	25,07	27,17
0,05	0,0414	0,571	45,57	0,576	45,09	45,33
0,075	0,0620	0,412	60,72	0,448	57,29	59,01
0,1	0,0827	0,162	84,56	0,200	80,93	82,75
0,15	0,1241	0,130	87,61	0,127	87,89	87,75
0,2	0,1654	0,126	87,99	0,121	88,47	88,23
0,25	0,2068	0,123	88,27	0,120	88,56	88,42
0,3	0,2482	0,120	88,56	0,114	89,13	88,85
IC ₅₀		0,0476				

Tab. 24: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Tulbing'

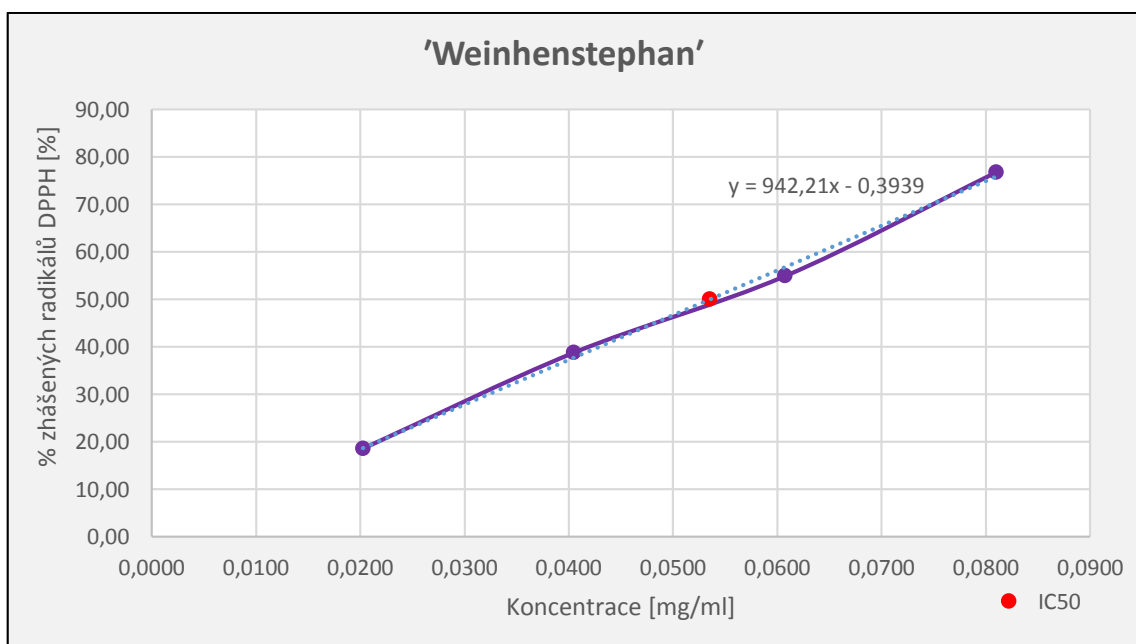


Graf 18: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Tulbing'

Kultivar 'Weinhenstephan'

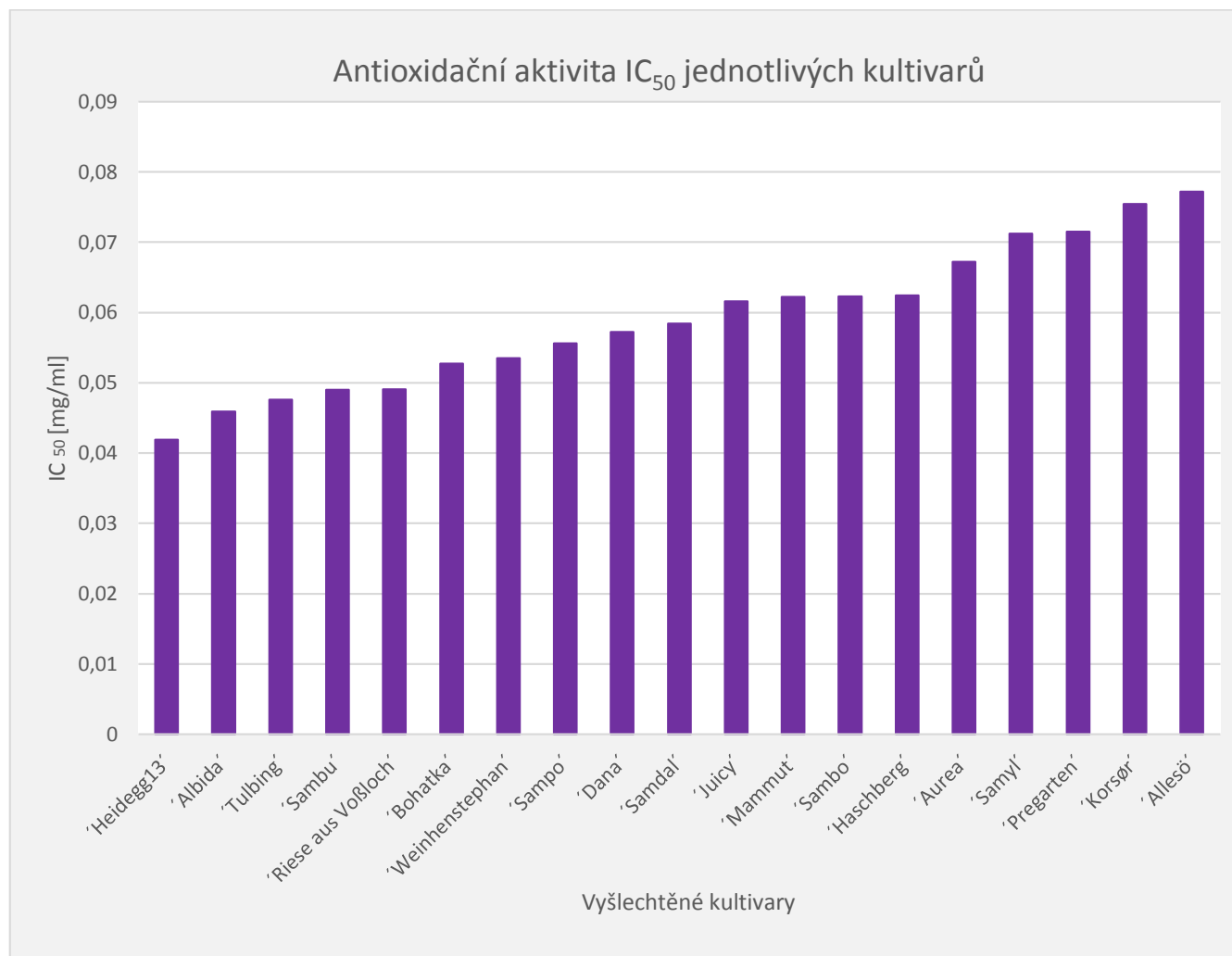
m _{nav} =0,1012g						
A _{sl} =0,952						
V [ml]	C [mg/ml]	A ₁	% ₁	A ₂	% ₂	Φ
0,025	0,0202	0,815	14,39	0,735	22,79	18,59
0,05	0,0405	0,539	43,38	0,626	34,24	38,81
0,075	0,0607	0,426	55,25	0,432	54,62	54,94
0,1	0,0810	0,185	80,57	0,257	73,00	76,79
0,15	0,1214	0,126	86,76	0,136	85,71	86,24
0,2	0,1619	0,125	86,87	0,130	86,34	86,61
0,25	0,2024	0,119	87,50	0,126	86,76	87,13
0,3	0,2429	0,118	87,61	0,121	87,29	87,45
IC ₅₀		0,0535				

Tab. 25: Naměřené hodnoty extraktu z květu kultivaru 'Weinhenstephan'



Graf 19: Antioxidační aktivita extraktu z květu kultivaru 'Weinhenstephan'

Kultivar	IC ₅₀
´Albida´	0,0459
´Allesö´	0,0772
´Aurea´	0,0672
´Bohatka´	0,0527
´Dana´	0,0572
´Haschberg´	0,0624
´Heidegg 13´	0,0419
´Juicy´	0,0616
´Korsør´	0,0754
´Mammut´	0,0622
´Pregarten´	0,0715
´Riese aus Voßloch´	0,0491
´Sambo´	0,0623
´Sambu´	0,0490
´Samdal´	0,0584
´Sampo´	0,0556
´Samyl´	0,0712
´Tulbing´	0,0476
´Weinhenstephan´	0,0535



Graf 20: Antioxidační aktivita jednotlivých kultivarů

5 Diskuze

Ve své diplomové práci jsem se věnovala stanovení antioxidační aktivity metanolových extraktů z květů 19 různých vyšlechtěných kultivarů bezu černého. Stanovení antioxidační aktivity metodou měření zhášení stabilního radikálu DPPH patří mezi nejužívanější postupy ke zjištění antioxidační aktivity. Toto stanovení je založeno na redukci DPPH v přítomnosti antioxidantu, který se stává donorem vodíku. Antioxidační aktivita se obvykle vyjadřuje jako IC_{50} , což udává koncentraci extraktu potřebného ke zhášení 50% radikálů. Byl měřen pokles absorbance v závislosti na množství eliminovaných radikálů, spektrofotometricky při vlnové délce 517nm. Z naměřených hodnot absorbance a koncentrace připravených extraktů byly vypočítány procenta zhášení volných radikálů. Zanesením závislosti % redukovaných radikálů na koncentraci do grafů (Graf 1-19) byla vypočtena hodnota IC_{50} . Z hodnot IC_{50} vyplývá, že čím nižší byla zjištěná hodnota IC_{50} , tím vyšší antioxidační aktivitu měl extrakt z květu jednotlivého kultivaru. Hodnoty IC_{50} se pohybovaly v rozmezí 0,0419-0,0772 mg/ml. Z grafu 20 lze vyčíst, že antioxidační aktivita klesala v pořadí 'Heidegg 13', 'Albida', 'Tulbing', 'Sambu', 'Riese aus Voßloch', 'Bohatka', 'Weinhenstephan', 'Sampo', 'Dana', 'Samdal', 'Juicy', 'Mammut', 'Sambo', 'Haschberg', 'Aurea', 'Samyl', 'Pregarten', 'Korsør' a 'Allesö'.

V porovnání s antioxidační aktivitou naměřenou v extraktech z květů planého bezu, kterou ve své diplomové práci stanovila Mgr. Štěpánová Zuzana [61] je patrné, že všechny sledované kultivary vykazovaly vyšší antioxidační aktivitou než planý bez.

Antioxidační aktivitu extraktů květů bezu černého lze předpokládat na základě známých obsahových látek fenolického charakteru. Ty jsou totiž hlavní skupinou sekundárních metabolitů považovanou za nositele antioxidační resp. antiradikálové aktivity. [32] V květech bezu se nacházejí flavonoidy, zejména ze skupiny flavonolů, kvercetin a jeho glykosidy, a hydroxyskořicové kyseliny, převážně kyselina chlorogenová a kyselina kávová. [33]

Pokud vztáhneme naměřenou antioxidační aktivitu na celkový obsah flavonoidů v květech stanovených spektrofotometricky a vyjádřený v % isokvercitosidu, který zjišťovala ve své práci Krulišová Markéta, lze vyčíst určitou souvislost mezi obsahem flavonoidů a antioxidační aktivitou. Vysokou antioxidační aktivitu vykazovaly extrakty z kultivarů 'Heidegg 13', 'Sambu', 'Riese aus Voßloch' a 'Albida', které měly také nejvyšší obsah flavonoidů. Kultivary s nízkým obsahem flavonoidů 'Allesö' a 'Aurea' vykazovaly

rovněž nízkou antioxidační aktivitu. Data u ostatních kultivarů nevykazují takovou pozitivní korelaci antioxidační aktivity a obsahu flavonoidů. V kultivarech 'Sambu' a 'Riese aus Voßloch' byla stanovena antioxidační aktivita IC_{50} 0,049 mg/ml, stejně tak stanovené množství flavonoidů bylo u obou kultivarů téměř stejné a to 1,29 mg v 0,1 g práškované drogy. [62] Z porovnaných výsledků však nelze přesně říci, že určitá antioxidační aktivita odpovídá konkrétnímu obsahu flavonoidů. Při měření antioxidační aktivity byly připraveny metanolové extrakty, do kterých kromě flavonoidů mohly přecházet i ostatní látky s antioxidační aktivitou, jako jsou hydroxyskořicové kyseliny.

6 Závěr

Ve své diplomové práci jsem se zabývala stanovením antioxidační aktivity metanolových extraktů z květů vyšlechtěných kultivarů *Sambucus nigra* L. Droga *Sambuci nigrae flos* je v současné fytoterapii užívána především při nachlazení spojeném s teplotou. V extraktech květu byly prokázány účinky antioxidační, diaforetické, protizánětlivé, antikarcinogenní a diuretické. V této diplomové práci byla pro měření antioxidační aktivity použita metoda založená na redukci radikálů DPPH. Detekce byla provedena spektrofotometricky, měřením poklesu absorbance v závislosti na množství zredukovaných radikálů. Hodnota antioxidační aktivity byla vyjádřena jako IC_{50} , což je koncentrace extraktu v mg/ml, při které dojde k redukci 50% radikálů DPPH. Naměřené hodnoty antioxidační aktivity vyjádřené jako IC_{50} se pohybovaly v rozmezí 0,0419-0,0772 mg/ml. Nejvyšší antioxidační aktivitou se vyznačovaly extrakty z květu kultivarů 'Heidegg 13', 'Albida', 'Tulbing', naopak nejnižší antioxidační aktivita byla zjištěna u kultivarů 'Pregarten', 'Korsør' a 'Allesö'. Ve srovnání s planým bezem se tyto vyšlechtěné kultivary vyznačují výrazně vyšší antiradikálovou aktivitou. Antioxidační aktivita květů z kultivarů *Sambucus nigra* L. nebyla doposud sledována.

7 Použitá literatura

- [1] Hemgesberg, H.: Černý bez a naše zdraví: květy, listy a plody černého bezu léčí všechny potíže. Olomouc: Fontána, 2002.
- [2] Jahodář, L.: Léčivé rostliny v současné medicíně: (co Mattioli ještě nevěděl). 1.vyd. Praha: Havlíček Brain Team, 2010.
- [3] Spilková a kol.: Farmakognozie. Praha: Nakladatelství Karolinum 2016; s. 109-110.
- [4] Passweter R.: O antioxidantech. Praha: Pragma, 2002.
- [5] Racek J.: Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. 1.vyd. Praha: Galén 2003.
- [6] Štípek S. a kol.: Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci. 1. vyd. Praha: Grada, 2000.
- [7] Slavík B. (Ed.): Květena České republiky 5. 1.vyd. Praha: Academia, 1997; s. 503-506.
- [8] Jahodář L.: Farmakobotanika: semenné rostliny. 1.vyd. Praha: Karolinum, 2006; s. 132-133
- [9] Generativní orgán. Biologie. Dostupné online z: http://ostrava-educanet.cz/biologie/ostrava-educanet.cz/www_biologie/indexd841.html?option=com_content&view=article&id=116&Itemid=116; 2016-04-08.
- [10] Rosypal S.: Fylogeneze, systém a biologie organismů. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1992.
- [11] Generátor květních diagramů. Dostupné online z: <http://kvetnidigram.8u.cz/index.php>; 2016-04-08.
- [12] Český lékopis 2009: doplněk 2012. Praha: Grada, 2012; s.1503.
- [13] Matějčíček A. a kol.: Metodika pěstování kulturních odrůd bezu černého.: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, 2013.
- [14] Matějčíček A., Kaplan J.: Porovnání hospodářských znaků kulturních odrůd bezu černého. Zahradnictví. 2011; (1), s. 60-61.
- [15] Matějčíček A., Kaplan J.: Porovnání fenologických znaků sedmnácti kulturních odrůd bezu černého. Zahradnictví. 2011; (2), s. 16-17.
- [16] Alleso. One green world. Dostupné online z: <https://onegreenworld.com/product/alleso-2/>; 2016-04-09.
- [17] Sambucus nigra 'Aurea'. Learn 2 grow. Dostupné online z: <http://www.learn2grow.com/plants/sambucus-nigra-ssp-canadensis-aurea/>; 2016-04-09.
- [18] Matějčíček A., Kaplan J.: Porovnání senzorických ukazatelů sedmnácti kulturních odrůd bezu černého. Vědecké práce ovocnářské. 2011; (22), s. 237-241.

- [19] Matějčíček A. a kol.: Odrůda černého bezu 'Haschberg'. Vědecké práce ovocnářské. 2013, (23), s. 87-90.
- [20]Korsor. One green world. Dostupné online z:
<https://onegreenworld.com/product/korsor-2/> ; 2016-04-09.
- [21] Sambucus nigra 'Mammut'. Gärtnerei naturwuchs. Dostupné online z:
http://www.garden-shopping.de/shop/artikel_202172.html ; 2016-04-09.
- [22] Sambucus nigra 'Riese aus Voßloch '. Gärtnerei naturwuchs. Dostupné online z:
http://www.garden-shopping.de/shop/artikel_204398.html ; 2016-04-09.
- [23] Kaplan J. a kol. : Odrůda černého bezu 'Sambo'. Vědecké práce ovocnářské. 2013; (23), s. 91-94.
- [24] Matějčíček A. a kol. : Odrůda černého bezu 'Samdal'. Vědecké práce ovocnářské. 2013, (23), s. 95-98.
- [25] Sambucus nigra 'Sampo '. Gärtnerei naturwuchs. Dostupné online z:
http://www.garden-shopping.de/shop/artikel_2297.html ; 2016-04-09.
- [26] Khan I. A., Abourashed E.A.: Leungs Encyclopedia of Common Natural Ingredients. 3.ed.Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 2010; s. 257-258.
- [27] Elder flower. American botanical council. Dostupné online z:
<http://cms.herbalgram.org/expandedE/Elderflower.html?ts=1461264076&signature=3abc7ad4e682bc5c50a1109645741693&ts=1461410217&signature=29283ba00747e7baa6f78019e4680cb2#Pharmacology> ; 2016-04-16.
- [28] Kumar S., Pandey A.K.: Chemistry and Biological Activities of Flavonoid :An Overview. Sci. World J. 2013; (2013).
- [29] Thilakarathna S.H.,Rupasinghe H.P.V.: Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement, Nutrients 2013; 5(9), s. 3367-3387.
- [30] Vespalcová M. a kol.: Bez černý jako významný zdroj flavonoidu rutinu. Vědecké práce ovocnářské 2011; (22), 243-251.
- [31] Maulidin R., Müller R.H., Keck C.M.: Development of an oral rutin nanocrystal formulation. Int. J. Pharmaceut. 2009; 370(1-2), s. 202-209.
- [32] Christensen L. P. et al.: Selection of elderberry (Sambucus nigra L.) genotypes best suited for the preparation of elderflower extracts rich in flavonoids and phenolic acids. Eur. Food Res. Technol. 2008; 227 (1), s. 293-305.
- [33] Mikulic-Petrovsek M. et al.: Traditional Elderflower Beverages: A Rich Source of Phenolic Compounds with High Antioxidant Activity. J. Agric. Food Chem. 2015; 63 (5), s. 1477-1487.
- [34] Lee.S.H et al.: Cholesterol-Lowering Activity of Naringenin via Inhibition of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase and Acyl Coenzyme A: Cholesterol Acyltransferase in Rats. Ann.Nut. Metab. 1999;43, s. 173-180

- [35] Ibrahim S. R., Abud M.Y., Rafat., Neetu M.: Protective role of tea catechind against oxidation-induced damage of type 2 diabetic erythrocytes .Clin. Exp. Pharmacol. P. 2005; 32, s. 70-75.
- [36] Wichtl M.: Teedrogen und Phytopharmaka. 5 Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 2009; s. 598-600
- [37] Ong K. W., Hsu A., Huat Tan B.K.: Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid mediated by ampk activation. Biochem. Pharmacol. 2013; 85(9), s. 1341-1351.
- [38] Kuceková Z. et al.: Edible flower – Antioxidant activity and impact on cell viability. Cent. Eur. J. Biol. 2013; 8(10), s. 1023-1031.
- [39] Oliveira et al.: Pentacyclic triterpenoids, α , β -amyryns, suppress the scratching behavior in a mouse model of pruritus. Pharmacol. Biochem. Be. 2004;78(4), s. 719-725.
- [40] Lomenick B. et al.: Identification and characterization of β -sitosterol target proteins. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2015; 25(21), s. 4976-4979.
- [41] Flos Sambuci. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. Vol.2. 2004. Dostupné online z: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js4927e/26.html#Js4927e.26> 2016-04-21
- [42] Jørgensen U. et al.: Olfactory and Quantitative Analysis of Aroma Compounds in Elder Flower (*Sambucus nigra* L.) Drink Processed from Five Cultivars. J. Agric. Food Chem. 2000; 48(6), s. 2376-2383.
- [43] Scawen D.M. at al.: The Amino-Acid Sequence of Plastocyanin from *Sambucus nigra* L. (Elder). Eur. J. Biochem. 1974; 44, s. 299-303
- [44] Kite C. G. et al.: Acyl Spermidines in Inflorescence Extracts of Elder (*Sambucus nigra* L., Adoxaceae) and Elderflower Drinks. J. Agric. Food. Chem. 2013; 61(14), 3501-3508.
- [45] Ledvina M. a kol.: Biochemie pro studující medicíny 1. díl, Praha: Nakladatelství Karolinum 2009; s. 239
- [46] Dawidowicz L.A., Wianowska D., Baraniak B.: The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra* L. (antioxidant properties of extract). Food Sci. Technol. 2006; 36(3), s. 308-315
- [47] Identification and Anti-oxidant Capacity Determination of Phenolics and their Glycosides in Elderflower by On-line HPLC-CUPRAC Method. Phytochem. Anal. 2014; 25, s. 147-154
- [48] Yesilada E. et al.: Inhibitory effects of Turkish folk remedies on inflammatory cytokines: interleukin-1 α , interleukin-1 β and tumor necrosis factor α . J. Ethnopharmacol. 1997;58(1), s. 59-73.
- [49] Silbernagl S., Lang F.: Atlas patofyziologie člověka, Praha:Grada 2001; s. 286-287

- [50] Christensen B.K., Petersen K.R., Kristiansen K., Christensen P.: Identification of bioactive compounds from flowers of black elder (*Sambucus nigra* L.) that activate the human peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ . *Phytother. Res.* 2010; 24(S2), s.129–132.
- [51] Bhattacharza S. et al.: Bioactive Components from Flower of *Sambucus nigra* L. Increase GLucose Uptake in Primary Porcine Myotube Cultures and Reduce Fat Accumulation in *Caenorhabditis elegans*. *J. Agric. Food. Chem.*, 2013; 61(46), s.11033-11040.
- [52] Chrubasik C. et al.: An Observational Study and Quantification of Actives in a Supplement with *Sambucus nigra* and *Asparagus officinalis* used for Weight Reduction. *Phytother. Res.* 2008; 22, s. 913-918
- [53] Matte, A.K. et al.: Triagem fitoquímica e avaliação da atividade antibacteriana de extratos das flores de *Sambucus nigra* L. (Caprifoliaceae). *Rev. Bras. Plantas Med.* 2015; 17(4), s. 1049-1054.
- [54] Beaux D., Fleurentin J., Mortier F.: Effect of extracts of *Orthosiphon stamineus* Benth, *Hieracium pilosella* L., *Sambucus nigra* L. and *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. In Rats. *Phytother. Res.* 1999; 13, s. 222-225.
- [55] Thi Ho T. G. et al.: Structural characterization of bioactive pectic polysaccharides from elderflower (*Sambuci flos*), *Carbohydr. Polym.* 2016; 135, s. 128-137.
- [56] Kucekova Z., Mlcek J., Humpolicek P., Rop O.: Edible flowers – antioxidant activity and impact on cell viability. *Cent. Eur. J. Biol.* 2013; 8(10), s. 1023-1031.
- [57] Picon P. et al.: Randomized clinical trial of a phytotherapeutic compound containing *Pimpinella anisum*, *Foeniculum vulgare*, *Sambucus nigra*, and *Cassia augustifolia* for chronic constipation. *BMC Complem. Altern. M.* 2010; 10(1), s. 17.
- [58] Anti-Influenza Virus Effect of elderberry Juice and Its Fraction. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* 2012; 76(9), s. 1633-1638
- [59] Serkedjieva J. et al.: Antiviral activity of the infusion (SHS-174) from flowers of *Sambucus nigra* L., aerial parts of *Hypericum perforatum* L., and roots of *Saponaria officinalis* L. against influenza and herpes simplex viruses. *Phytother. Res.* 1990; 4(3), s. 97-100.
- [60] Jaryzka A., Lewinska A., Gancarz R., Wilk K.A.: Assessment of extracts of *Helichrysum arenarium*, *Crataegus monogyna*, *Sambucus nigra* in photoprotective UVA and UVB; photostability in cosmetic emulsions. *J. photoch. Photobio. B.* 2013; 128, s. 50-57.
- [61] Štěpánová Z.: Antioxidační vlastnosti extraktů z květů *Sambucus nigra* L. Hradec Králové 2013. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. Katedra farmakognozie.

[62] Krulišová M.: Flavonoidy v květech vybraných kultivarů *Sambucus nigra* L. Hradec Králové 2016. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. Katedra farmakognozie.

8 Abstrakt

Droga *Sambuci nigrae flos* – květy černého bezu, se získává sběrem z rostlin ve volné přírodě. Používá se jako podpůrný prostředek při nachlazení. Zjištěny byly účinky antioxidační, protizánětlivé, antikarcinogenní a diuretické účinky. Hlavními obsahovými látkami květů bezu jsou flavonoidy a hydroxyskořicové kyseliny. Květy z vyšlechtěných kultivarů bezu černého se zatím pro získání drogy nevyužívají. Cílem práce bylo stanovení antioxidační aktivity extraktů z květů vyšlechtěných kultivarů bezu černého. Studovány byly kultivary: 'Albida', 'Allesö', 'Aurea', 'Bohatka', 'Dana', 'Haschberg', 'Heidegg 13', 'Juicy', 'Korsør', 'Mammut', 'Pregarten', 'Riese aus Voßloch', 'Sambo', 'Sambu', 'Samdal', 'Sampo', 'Samyl', 'Tulbing' a 'Weinhenstephan'. Antioxidační aktivita byla měřena spektrofotometricky metodou využívající radikál DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl). Výsledky antioxidační aktivity byly vyjádřeny hodnotou IC_{50} (koncentrace extraktu při které dojde k redukci 50% radikálů). Naměřené hodnoty se pohybovaly v rozmezí 0,0419 - 0,0772 mg/ml. Nejvyšší antioxidační aktivitou se vyznačovaly extrakty z květu kultivarů 'Heidegg 13', 'Albida', 'Tulbing', naopak nejnižší antioxidační aktivita byla zjištěna u kultivarů 'Pregarten', 'Korsør' a 'Allesö'.

9 Abstract

Drug *Sambuci nigrae flos* – *Sambuci nigrae flos* is obtained from the wild plants. The drug is primarily used to help reduce the symptoms of colds and flu. Elder flower provides antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and diuretic effects. The main substances are flavonoids and hydroxycinnamic acid. Elderflowers from bred cultivars are not used to obtain drug so far. The aim of this work was to determine antioxidant activity of extracts of elderflower cultivars. Cultivars 'Albida', 'Allesö', 'Aurea', 'Bohatka', 'Dana', 'Haschberg', 'Heidegg 13', 'Juicy', 'Korsør', 'Mammut', 'Pregarten', 'Riese aus Voßloch', 'Sambo', 'Sambu', 'Samdal', 'Sampo', 'Samyl', 'Tulbing' and 'Weinhenstephan' were analyzed. Antioxidant activity was measured spectrophotometrically using DPPH ((2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical method. Results of antioxidant activity were expressed as IC₅₀ (concentration required for 50% reduction of the DPPH radical). The measured values are in the range 0.0419 - 0.0772 mg/ml. Cultivars 'Heidegg 13', 'Albida', 'Tulbing' showed the highest antioxidant activity, whereas the lowest activity was found in 'Pregarten', 'Korsør' and 'Allesö' cultivars.