

UNIVERZITA KRÁLOVA V PRAZE

FARMACEUTICKÁ FAKULTA

KATEDRA BIOCHEMIE

FLAVONOIDY.

Stručný přehled a biologický význam.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Helena Říhová

HRADEC KRÁLOVÉ 2008

VEDOUCÍ PRÁCE: Prof. RNDr. EVA KVASNIČKOVÁ CSc.

Poděkování

Ráda bych poděkovala paní Prof. RNDr. Evě Kvasničkové, CSc., za odborné vedení práce, mnoho cenných rad a podnětů a za pomoc při vyhledávání a zpracovávání potřebné literatury.

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci vypracovala samostatně s použitím citované literatury.

V Hradci Králové dne

30.6.08

OBSAH

1. Úvod a cíl práce	7
2. Chemická struktura flavonoidů	9
3.1 Flavanoly	10
3.2 Proanthokyanidiny	11
3.3 Anthokyanidiny a anthokyaniny	12
3.4 Flavanony	13
3.5 Flavony	13
3.6 Flavonoly	14
3.7 Chalkony	14
3.8 Isoflavonoidy	15
3. Biosyntéza flavonoidů	17
4.1 Enzymy biosyntézy	19
4. Význam flavonoidů pro rostlinný organismus a jejich výskyt	22
5. Osud flavonoidů v živém organismu	25
5.1 Absorpce	25
5.2 Biologická dostupnost	27
5.3 Metabolismus	28
6. Význam flavonoidů pro lidský organismus	34
6.1 Antioxidační aktivita	35
6.2 Působení na cesty buněčné signalizace	38
6.3 Vliv na enzymovou aktivitu první a druhé fáze detoxikace	38
6.4 Ochrana před škodlivými jevy působící na buněčný cyklus	39
6.5 Inhibice proliferace a indukce apoptózy	40
6.6 Tlumení zánětu	40
6.7 Snižování exprese adhezivních molekul v cévách	41
6.8 Inhibice agregace destiček	42

6.9	Zvyšování aktivity endotelové NO-synthasy	42
6.10	Vliv na tvorbu AGE-látek indukované sacharidy	42
6.11	Estrogenové účinky	43
6.12	Vliv na proteolytické enzymy	43
6.13	Vliv na replikaci bakterií	43
6.14	Vliv na replikaci virů	44
7.	Shrnutí a závěr	45
8.	Seznam použité literatury	47

Seznam použitých zkratk

AGEs	Konečné produkty pokročilé glykace
AIF	Faktor indukující apoptózu
ANS	Anthokyanidinsynthasa
BS β G	Broad-specificity β -glucosidasa
Bcl-2	Antiapoptotický faktor
Bcl-XL	Antiapoptotický protein patřící do rodiny Bcl-2
CDK	Cyklindependentní kinasy
CHS	Chalkonsynthasa
CHI	Chalkonisomerasa
COX-2	Cyklooxygenasa 2
CYP1A1/2	Izoformy cytochromu P450
CYP2C9	Izoforma cytochromu P450
DFR	Dihydroflavonol-4-reduktasa
EBV	Epstein-Barrové virus
ECG	Epikatechingalát
F3H	Flavanon-3-hydroxylasa
F3'H	Flavonoid-3'-hydroxylasa
F3'5'H	Flavonoid-3', 5'-hydroxylasa
3GT	Flavonoid-3-O-glykosyltransferasa
GSH	Glutathionperoxidasa
HSV	Herpes simplex virus
HDL	Lipoprotein o vysoké hustotě
ICAM-1	Buněčný adhezivní (intercelulární) protein 1, také znám jako CD54

LDL	Lipoprotein o nízké hustotě
LPH	Laktátfloridzinhadrolasa
MCT	Monokarboxylátový transporter
MRP1	Multi drug associated protein 1
MRP2	Multi drug associated protein 2
PAPS	3'-fosfoadenosin-5'-fosfosulfát
PGE ₂	Prostaglandin 2
p21	Inhibitor cyklindependentní kinasy 1A
p53	Transkripční faktor (protein 53)
RAGE	Transmembránový receptor pro AGE-látky
ROS	Reaktivní formy kyslíku
SGLT1	Na ⁺ -dependentní glukosový transporter
SOD	Superoxiddismutasa
UGT	UDP-glukuronosyltransferasa
UGT1A	Izoforma UGT
VCAM-1	Cévní buněčný adhezivní protein 1, označovaný též CD106
XIAP	Inhibitor apoptického proteinu, vázaný na chromozom X

1 Úvod a cíl práce

Flavonoidy jsou skupina látek patřících mezi rostlinné fenoly. V současné době množství známých flavonoidních látek přesahuje 4000 a stále roste.

Historie flavonoidů sahá do první poloviny devatenáctého století, kdy byla objevena jejich chemická identita, ale jejich existence se u botaniků a rostlinných fyziologů traduje už po staletí. Jejich zásluhy v rostlinném organismu jsou známy mnohem dříve než samotný farmakologický účinek. Lidová léčitelství je odedávna využívala například ve formě čajů. Zájem o flavonoidy stoupl v devadesátých letech v souvislosti s hypotézou oxidačního stresu, oxidačního poškození organismu a častějším výskytem některých závažných chorob. K vyšší atraktivitě flavonoidů přispěl i jejich výskyt ve snadno dostupných zdrojích. V letech 1901 - 1920 byly izolovány a identifikovány z tříslovin anthokyanidiny, flavony a flavonoly. Popření vitaminové povahy flavonoidů byla potvrzena ve třicátých letech téhož století. V padesátých letech již byl užíván pojem „flavonoidy“, který zahrnoval sloučeniny rostlinných polyfenolů obsahující flavonový skelet. V dalších desetiletích pokračovalo intenzivní studium těchto látek, což se ještě zvýšilo v již uvedených devadesátých letech. Přispěl k tomu i rozvoj nových analytických a separačních technik (Zloch, 2003).

Rozšíření flavonoidů v rostlinné říši je značné. Vyskytují se ve vyšších rostlinách a to hlavně v květech, listech a kůře. Velmi hojně je nalzáme zejména v ovoci a zelenině (zvláště ve slupkách), obilí a ořechách. Významným zdrojem flavonoidů jsou také nápoje obsahující výtažky z rostlin, jako jsou například ovocné šťávy, čaje, víno a pivo.

Flavonoidy představují ve vodě rozpustná barviva dávající květům, plodům, méně často i listům jejich barvu. První zkoumaní zástupci se vyznačovali nápadně žlutou barvou (flavus - žlutý). Flavonoidům jsou chemicky příbuzné anthokyanidiny, resp. jejich glykosidy anthokyaniny (anthokyaniny). Jedná se o široce rozšířené pigmenty mající v závislosti na pH fialovou, modrou nebo červenou barvu. Lokalizace flavonoidů v rostlinném pletivu je závislá na daném druhu rostliny. Navíc se v různých rostlinách vyskytují částečně volně a částečně ve formě glykosidů. Rozpustné glykosidy se nacházejí především ve vakuolách. V květech jsou nositeli flavonoidů epidermální buňky. Flavonoidy nechybí ani v oplodí plodu, semenech a dokonce ani v pylových zrnech.

Flavonoidy patří mezi polyfenolické sloučeniny syntetizované pouze v rostlinách. Mohou se vyskytovat ve volné i vázané formě. Váží se s cukernou složkou, čímž vznikají glykosidy, především O-glykosidy. Základ struktury tvoří flavan, který vzniká spojením dvou benzenových kruhů pomocí heterocyklického pyranu. Flavonoidy jsou klasifikovány podle své chemické struktury. Obecněji je můžeme rozdělit do tří hlavních skupin jako jsou flavonoidy, isoflavonoidy a neoflavonoidy. Hlavní třídy flavonoidů jsou flavonoly, flavony, flavanony, katechiny, anthokyanidiny, dihydroflavonoly a chalkony (van Acker, 2001). Jednotlivé deriváty flavonoidů se od sebe liší stupněm oxidace pyranového kruhu a stupněm substituce. Substituční reakce zahrnují hydrogenaci, hydroxylaci, metylaci, malonylaci, sulfaci a glykosylaci.

Díky svým mnohočetným vlastnostem jsou flavonoidy častým předmětem výzkumu. Mají velký význam v léčbě i v běžném životě. Každý den je přijímáme v nejrůznější stravě rostlinného původu. Vznikají v rostlinách za účelem jejich ochrany před nežádoucími vlivy z okolí. V lidském organismu mají podobný účinek jako vitamíny. Jejich protektivní účinky pomáhají v boji proti volným radikálům, virům, nádorovým buňkám, dále pomáhají v prevenci proti srdečním onemocněním, rakovině a zánětlivým reakcím (díky ovlivnění metabolismu kyseliny arachidonové). Ovlivňují aktivitu enzymů účastnících se při reparaci poškozených buněčných struktur, buněčné proliferaci, shlukování destiček a také při imunitní odezvě. V důsledku inhibice agregace destiček klesá riziko vzniku trombů, navíc zvyšují flavonoidy stabilitu cévních stěn. Antioxidační aktivita flavonoidů závisí jednak na poloze a počtu hydroxylových skupin v dané molekule, jednak na její glykosylaci. K antioxidačním vlastnostem můžeme přiřadit např. inhibici peroxidace lipidů ve fosfolipidové dvojvrstvě a snižování oxidačního poškození LDL, tedy i rizika aterosklerózy. Flavonoidy jsou schopné vázat a inaktivovat některé kovové ionty (Fe^{3+} , Cu^{2+}) odpovídající za oxidační aktivitu (Rice-Evans et al., 1995; van Acker, 2001; Handique et Baruah, 2002,).

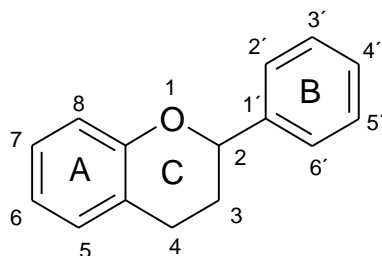
Cílem předložené bakalářské práce je uvést stručný přehled základních struktur flavonoidů a jejich osudu v organismu, zahrnujícího absorpci, distribuci a metabolismus. Dalším cílem je nastínit jejich účinek a potenciální využití v klinické praxi.

2 Chemická struktura flavonoidů

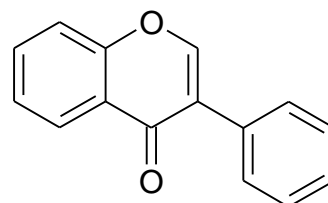
Fenolické sloučeniny jsou jedny z nejpočetnějších a široce rozšířených skupin látek v rostlinném světě. Je známo více než 8000 fenolických struktur. Jedná se o produkty sekundárního metabolismu rostlin. (Bravo,1998)

Strukturu přírodních polyfenolů mohou představovat jak jednoduché molekuly, jako jsou například fenolické kyseliny, tak i vysoce polymerizované sloučeniny, k nimž patří například tanniny. Vyskytují se zejména v konjugovaných formách s jedním nebo více cukernými zbytky spojenými přes hydroxylové skupiny, ale existují také sloučeniny, u kterých se cukerné jednotky napojují přímo na aromatický kruh. Připojenými cukry mohou být monosacharidy, disacharady až oligosacharidy. Jedním z nejčastějších cukerných zbytků je glukosa, objevuje se však také galaktosa, rhamnosa, xylosa a arabinosa.(Rice-Evans et al., 1995; Bravo, 1998) Výjimkou není ani spojení s dalšími sloučeninami, jako jsou karboxylové a organické kyseliny, aminy a lipidy. Ojediněle se flavonoidy mohou vyskytovat v rostlinách ve formě aglykonu. (Bravo, 1998)

Základní strukturu flavonoidů je flavanové jádro(obr.1) a isoflavonoidů je isoflavan (vznikající přesunutím kruhu B z polohy C2 do C3) (obr. 2). Struktura flavanu se skládá z difenylpropanu ($C_6-C_3-C_6$), jehož dvě benzenová jádra jsou spojena třemi uhlíky, které spolu s kyslíkem formují heterocyklus (2H-pyran). Tyto tři kruhy označme A, B, C, z nichž kruh A při syntéze nejčastěji vychází z molekuly resorcinolu nebo 1,3,5-trihydroxybenzenu, produktů acetátové dráhy, zatímco kruh B vzniká v dráze šikimátové. (Bravo, 1998; Croft, 1998; Wollgast et Anklam, 2000)



Obr. 1. Flavanové jádro



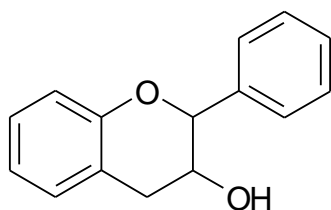
Obr. 2. Základní struktura isoflavonoidů

Flavonoidy jsou klasifikovány podle jejich základní chemické struktury. Mohou být rozděleny do deseti tříd, které je možno ještě dále dělit. (Henstrand et al.,1992; Bravo, 1998). Upřednostnili jsme dělení podle van Ackera, který rozděluje flavonoidy na flavonoly, flavony, flavanony, katechiny (nebo flavanoly), anthokyanidiny, dihydroflavonoly, chalkony a isoflavonoidy (Van Acker, 2001).

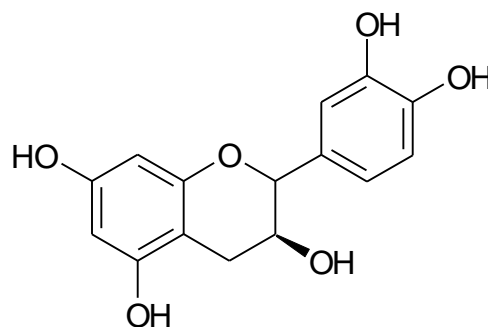
U aromatického kruhu A probíhají derivatizace nejčastěji v polohách 5 a 7 (acetátovou dráhou) a u kruhu B v polohách 3', 4' a 5' (šikimátovou dráhou). (Morton et al., 2000)

2.1 Flavanoly

Vycházejí z flavanu, přičemž v pozici C3 mají připojenou hydroxylovou skupinu (obr.3). Flavan-3-oly tvoří molekuly proanthokyanidinů (Beecher, 2003), jejich struktura je velmi podobná struktuře anthokyanidinů, až na kladné znaménko, které je přítomno právě u anthokyanidinů, a až na dvojně vazby na C kruhu. Flavanoly se mohou nacházet buď v monomerní podobě jako jsou např. katechiny (obr. 4), nebo v polymerní podobě jako jsou proanthokyanidiny. Katechin se liší od epikatechinu pouze prostorovou orientací -OH skupiny v poloze C3.



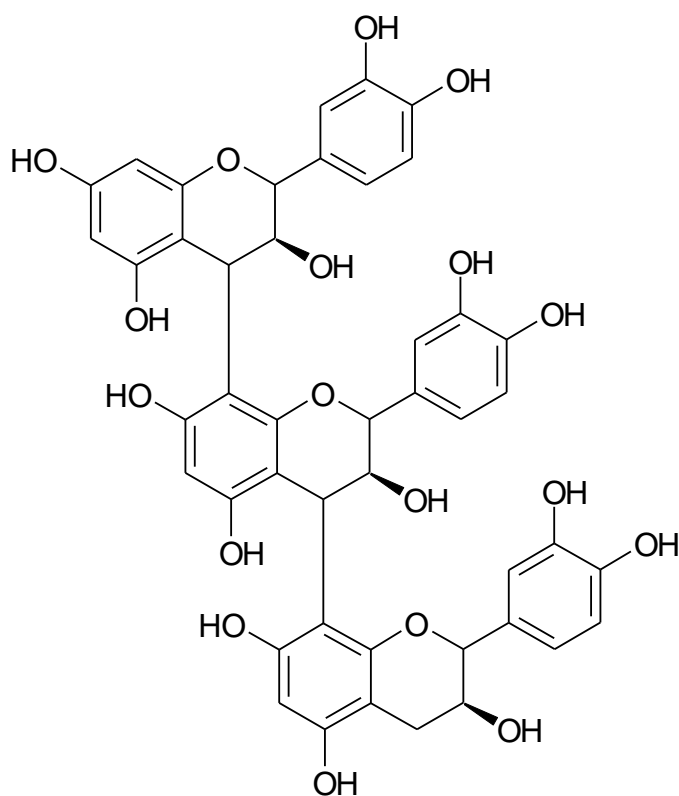
Obr. 3. Flavan-3-ol



Obr. 4. Katechin

2.2 Proanthokyanidiny

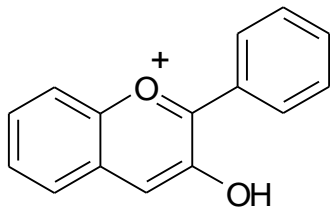
Jsou známé též jako kondenzované tanniny. Mohou to být dimery, oligomery i polymery katechinů, spojené mezi uhlíky C4 a C8 (nebo C6) (obr. 5). (Manach et al., 2004)



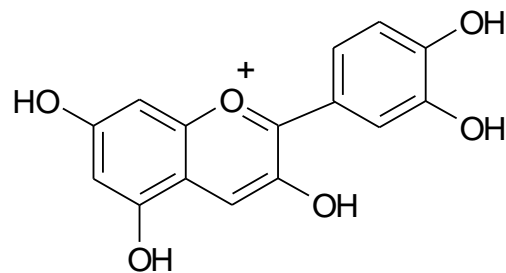
Obr. 5. Proanthokyanidin - trimer

2.3 Anthokyanidiny a anthokyaniny

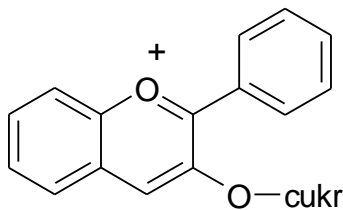
Svoji strukturou jsou velmi podobné flavanolům. Jednou z odlišností je kladný náboj na atomu kyslíku heterocyklu a dvojná vazba na kruhu C (obr. 6). Vyskytují se jak ve formě aglykonu (anthokyanidiny) (obr. 7), tak i ve formě glykosidu (anthokyaniny) (obr. 8 a 9). V poloze C3 mají hydroxylovou skupinu, na kterou se v případě anthokyaninů napojuje glykosidickou vazbou glukosa. Podléhají i esterifikaci s řadou organických kyselin (jablečnou a citrónovou) a fenolických kyselin. Anthokyaniny jsou stabilizovány tvorbou komplexů s ostatními flavonoidy (kopigmentace). (Manach et al., 2004)



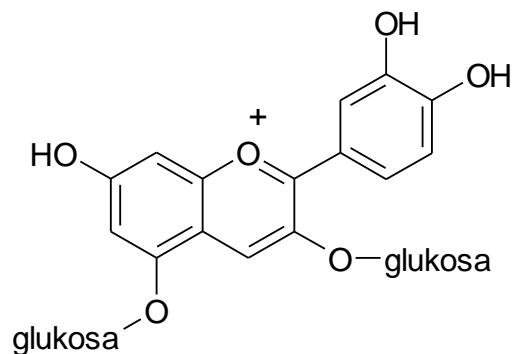
Obr. 6. Základní struktura anthokyanidinů



Obr. 7. Kyanidin



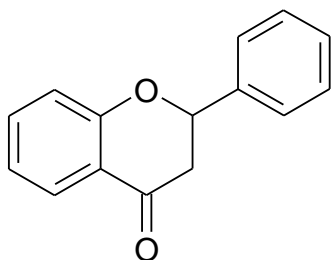
Obr. 8. Anthokyanin



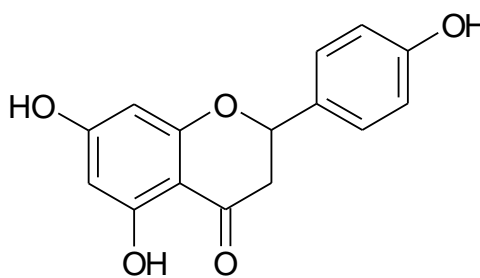
Obr. 9. Kyanin

2.4 Flavanony

Mohou se vyskytovat ve formě glykosidů i volných aglykonů. V pozici C4 je kyslík připojen dvojnou vazbou (ketonová skupina) (obr. 10). Mezi aglykony patří např. naringenin (obr. 11), hesperetin a eriodiktyol. Flavanony jsou většinou glykosylovány disacharidy a to v poloze C7, jako je neohesperidosa nebo rutinosa.



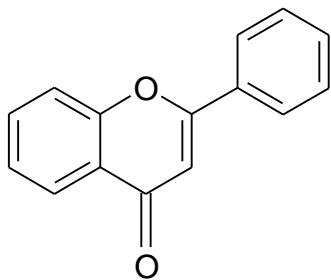
Obr. 10. Základní struktura flavanonu



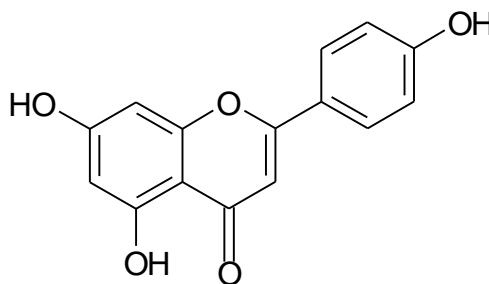
Obr. 11. Naringenin

2.5 Flavony

Sloučeniny, jejichž hlavními zástupci jsou apigenin (obr. 13) a luteolin. Známé jsou i polymethoxylované flavony jako například tangeretin, nobiletin a sinensetin. (Manach et al., 2004). Mezi uhlíkem C2 a C3 mají dvojnou vazbu a v poloze C4 připojenou ketonovou skupinu (obr. 12).



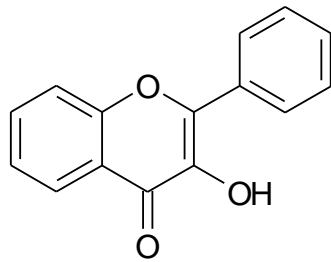
Obr. 12. Základní struktura flavonů



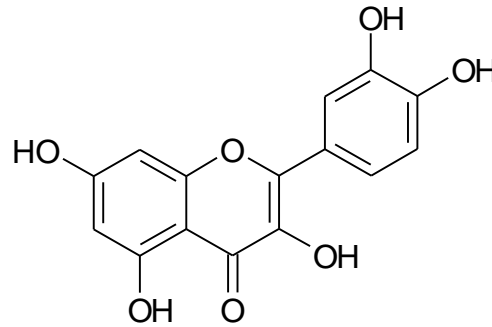
Obr. 13. Apigenin

2.6 Flavonoly

Jsou podobné flavonům, ale v pozici C3 mají navíc připojenou hydroxylovou skupinu (obr. 14). Tuto (pod)skupinu zastupují hlavně quercetin (obr. 15) a kaempferol. Flavonoly se vyskytují také ve formě glykosidů, kdy hlavní cukerné složky tvoří glukosa nebo rhamnosa, výjimkou nejsou ani galaktosa, arabinosa, xylosa, glukuronová kyselina atd. (Manach et al., 2004)



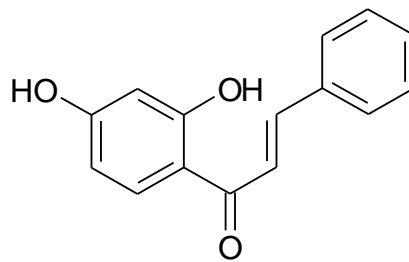
Obr. 14. Flavonol



Obr. 15. Quercetin

2.7 Chalkony

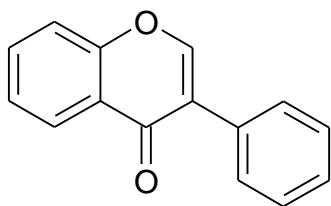
Mají otevřený kruh C, ketonovou skupinu v poloze C4 a dvojnou vazbu mezi C2 a C3 (obr. 16).



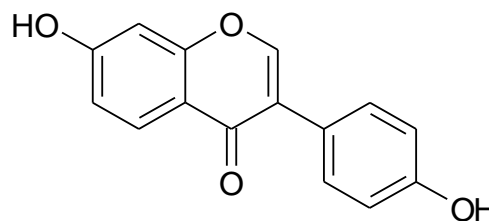
Obr. 16. Základní struktura chalkonů

2.8 Isoflavonoidy

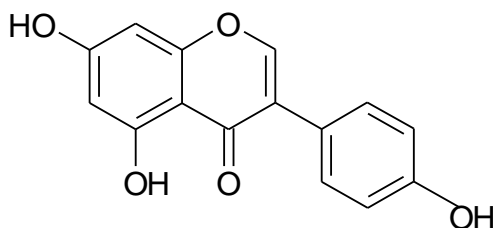
Sloučeniny tvořené z chalconů (Morton et al., 2000). Kruh B je přemístěn z pozice C3 do pozice C2 (obr. 17). Zahrnují tři hlavní molekuly: genistein (obr. 19), daidzein (obr. 18) a glycitein.



Obr. 17. Základní struktura isoflavonoidů



Obr. 18. Daidzein



Obr. 19. Genistein

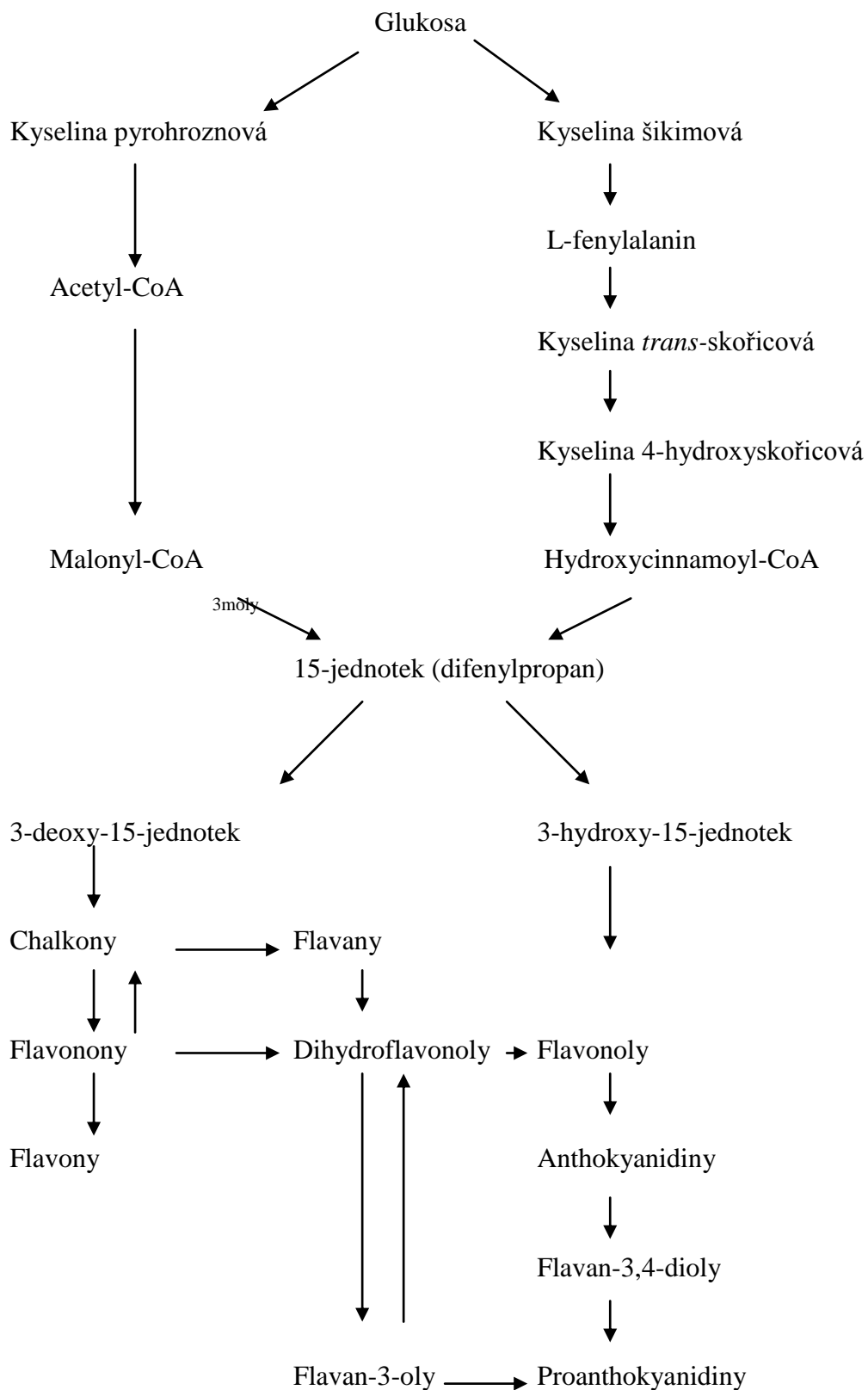
V literatuře se můžeme navíc setkat s dalšími flavonoidními látkami jako jsou bioflavonoidy, stilbeny a aurony.

Třída	Sloučenina	Substituenty					
		3	5	7	3'	4'	5'
Flavon(ol)y	Myricetin	OH	OH	OH	OH	OH	OH
	Quercetin	OH	OH	OH	OH	OH	H
	Fisetin	OH	H	OH	OH	OH	H
	Rutin	ORu	OH	OH	OH	OH	H
	Kaempferol	OH	OH	OH	H	OH	H
	Galangin	OH	OH	OH	H	H	H
	MonoHER	ORu	OH	OEtOH	OH	OH	H
	Apigenin	H	OH	OH	H	OH	H
	Diosmin	H	OH	ORu	OH	OMe	H
	Luteolin	H	OH	OH	OH	OH	H
Flavanon(ol)y	Naringenin	H	OH	OH	H	OH	H
	Naringin	H	OH	ORu	H	OH	H
	Hesperitin	H	OH	OH	OH	OMe	H
	Hesperidin	H	OH	ORu	OH	OMe	H
	Taxifolin	OH	OH	OH	OH	OH	H
	(+)- Catechin	OH	OH	OH	OH	OH	H
	Chalkony	Phloretin	OH(2)	OH(4)	OH(6)	H	H
Phloridzin		OGL(2)	H(4)	OH(6)	H	H	OH(6)
Anthokyanidiny	Cyanidin	OH	OH	OH	OH	OH	H
	Pelargonidin	OH	OH	OH	OH	OH	H

Tab. 1. Podtřídy v přírodě se vyskytujícími flavonoidů a jejich zástupci (podle Van Acker 2001)

3 Biosyntéza flavonoidů

Polyfenoly jsou produkty sekundárního metabolismu rostlin, vycházejí ze dvou hlavních syntetických drah, šikimátové a acetátové (Bravo, 1998). Výchozí sloučeninou obou drah je glukosa (Formica et Regelson, 1995). Kyselina octová je ve své aktivní formě jako acetyl-CoA později jako malonyl-CoA, který se může primární cestou přeměnit na mastné kyseliny, nebo se může stát výchozí látkou pro cestu sekundární, kde dochází k syntéze kruhu A. Produkty primární šikimátové dráhy vedou ke vzniku aromatických aminokyselin (např. thyrosinu a fenylalaninu) a produkty sekundární šikimátové dráhy k fenylpropanu. Fenylpropanoidová dráha, běžně se vyskytující ve vyšších rostlinách, je základem řady syntetických drah vedoucích mj. k flavonoidům. Podobně jako kruh A jsou kruhy B a C odvozeny z metabolismu glukosy, vznikají však cestou šikimátovou, dále přes devítihlíkaté kyseliny (např. kyselinu *trans*-skořicovou, 4-hydroxyskořicovou a kumarovou). Aktivované formy těchto kyselin s CoA kondenzují s šestihlíkatými produkty, odvozenými od malonátu, za vzniku chalkonů (C₁₅). Následují uzavření kruhu a hydratační reakce dávající vznik různým flavonoidům (obr. 20) (Formica et Regelson, 1995; Rice-Evans, 1995; Wollgast, 2000).



Obr. 20. Přehled biosyntézy a vzájemných přeměn flavonoidů. (podle Rice-Evans 1996, Wollgast a Anklam 2000)

3.1 Enzymy v biosyntéze flavonoidů

Biosyntéza flavonoidů (obr. 21) je zahájena enzymatickou reakcí katalyzovanou chalkonsynthasou a vede ke vzniku žlutě zbarveného chalkonu. Ve většině rostlin však není chalkon konečným produktem a dochází tak pomocí několika enzymatických reakcí k jeho přeměně do ostatních tříd flavonoidů, jako jsou flavanony, dihydroflavonoly a také i anthokyaniny, což jsou hlavní ve vodě rozpustná barviva květů a plodů. Další třídy flavonoidů (flavony, proanthokyanidiny, isoflavony, flavonoly a aurony) jsou odvozeny z meziproductů vznikajících při tvorbě anthokyaninu (Schijlen, 2004).

Chalkonsynthasa (CHS) katalyzuje krok, kdy dochází postupně ke kondenzaci tří acetátových jednotek, vznikajících z malonyl-CoA a p-kumaroyl-CoA, což vede ke vzniku 4,2',4',6'-tetrahydroxychalkonu (Schijlen, 2004).

Chalkonisomerasa (CHI) přeměňuje naringenin-chalkon na flavanon-naringenin. Jsou známy dva typy chalkonisomerasy: První typ může izomerizovat 6'-hydroxy- stejně jako 6'-deoxychalkony, zatímco druhý typ přeměňuje jen 6'-hydroxychalkony na flavanony (Schijlen, 2004).

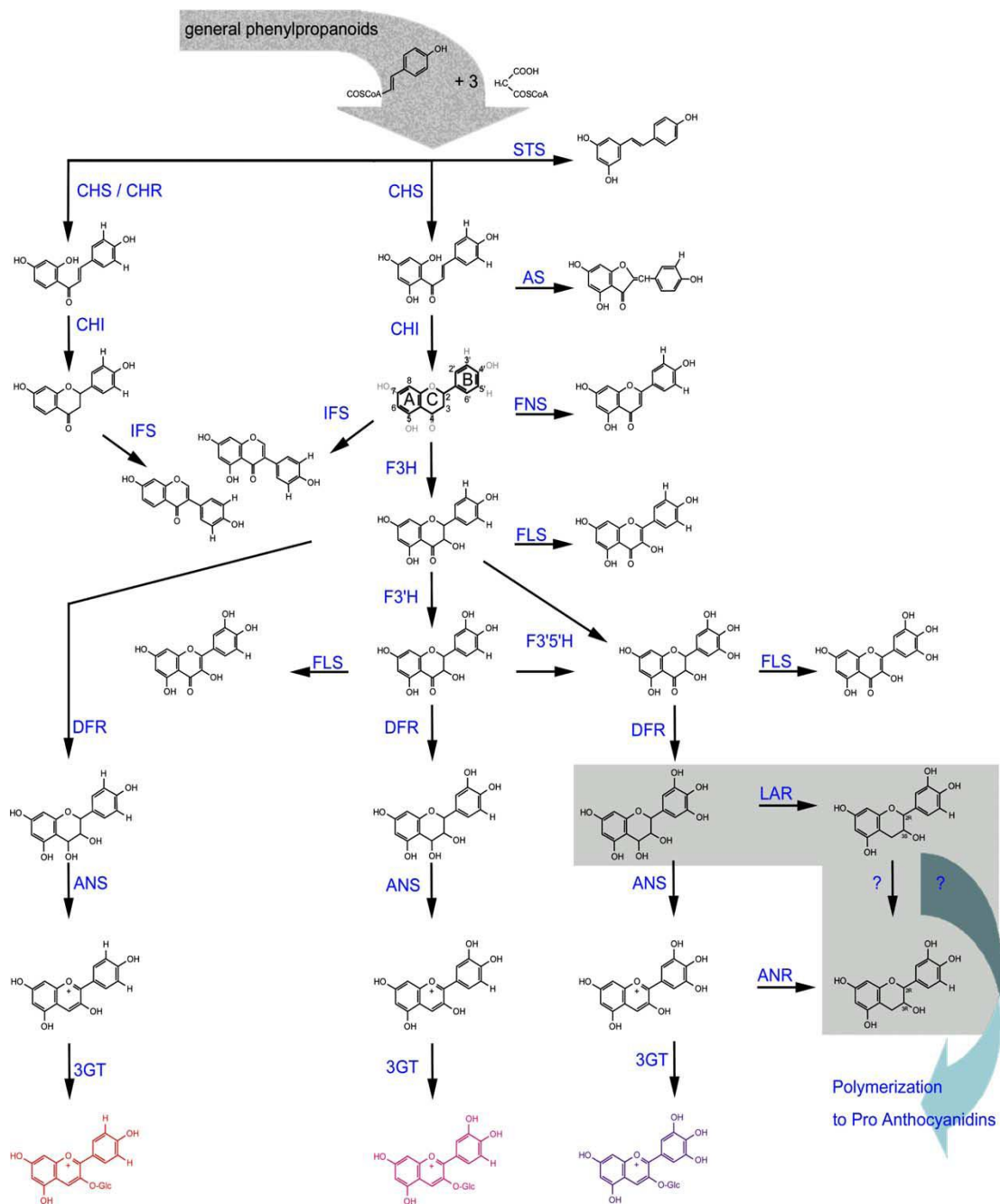
Následná hydroxylace flavanonů v pozici C₃ vedoucí k dihydroflavonolům je demonstrována v široké škále rostlin (v kukuřici, rajčatech, petunii atd.), tato reakce je uskutečňována díky flavanon-3-hydroxylase (F3H), která je v rámci rostlinné říše dosti konzervativní (British, 1991). Dihydrokaempferol je produktem hydroxylace naringeninu katalyzované flavanon-3-hydroxylasou. Dále může být dihydrokaempferol hydroxylován v pozici 3' (na kruhu B) flavonoid-3'-hydroxylasou (F3'H), enzymu asociovaného s P450, což vede k tvorbě dihydroquercetinu a dále k produkci kyanidinových pigmentů, nebo současně v pozici 3' a 5' (na kruhu B) za vzniku dihydromyricetinu, který je žádoucí k produkci delphinidinových anthokyaninů, a to za účasti flavonoid-3',5'-hydroxylasy (F3'5'H), enzymu, který je také asociovaný s P450 (Winkel-Shirley, 2001).

Již zmíněné dihydroflavonoly mohou být redukovány pomocí dihydroflavonol-4-reduktasy (DFR) za vzniku leukoanthokyanidinů (flavan-3,4-diolu), jako kofaktor se účastní NADPH (Kristiansen et Rhode, 1991). Leukoanthokyanidiny dále slouží jako přímé prekurzory pro syntézu anthokyanidinů a následně anthokyaninů. A navíc jsou prekurzory pro syntézu katechinů a proanthokyanidinů (Schijlen, 2004). Aby se mohly leukoanthokyanidiny přeměnit na anthokyanidiny, potřebují k tomu anthokyanidinsynthasu (ANS), další člen z rodiny 2-oxoglutarát-dependentních

dioxygenas. Anthokyanidinsynthasa vykazuje velikou podobnost s flavanon-3-hydroxylasou a flavonolsynthasou (Martin, 1991).

Flavonoidy a anthokyanidiny s volnými hydroxylovými skupinami v C₃ pozici (na kruhu C) jsou všeobecně za fyziologických podmínek nestabilní a nelze je tedy najít ve volné přírodě (Schijlen, 2004). Za připojení glukosy v aktivované formě (UDP-glukosy) na hydroxylovou skupinu v poloze 3' kruhu C, je zodpovědná flavonoid-3-O-glukosyltransferasa (3GT). Tento poslední krok vedl ke stabilizaci a ke zvýšení rozpustnosti anthokyanidinů a jejich následné kumulaci ve vakuolách. Podle způsobu hydroxylace na kruhu B mohou být rozlišeny tři hlavní typy anthokyaninů. Každý má svou charakteristickou barvu, s přibývajícím počtem hydroxylových skupin na kruhu B se zvyšuje i vlnová délka absorpčního maxima ve viditelné oblasti: Pelargonidinové pigmenty jsou zodpovědné za oranžovou, červenou nebo růžovou barvu, deriváty kyanidinu za červenou nebo fialovou barvu a deriváty delphinidinu za purpurovou nebo modrou barvu (Zuker et al., 2002). Na nesčetné množství barev anthokyanů mají však vliv i další okolnosti jako jsou například: pH ve vakuolách, intermolekulární asociace anthokyaninů mezi sebou nebo kopigmentace s dalšími polyfenoly, dále intramolekulární asociace aromaticky modifikovaných anthokyaninů, glykosylace, tvorba komplexů s kovy a tvar buňky (Tanaka et al., 1998).

K dalším modifikacím flavonoidů jako jsou acylace, další glykosylace, methylace či hydroxylace, může docházet ve všech třídách flavonoidů, zatímco prenylace, sulfatace a C-glykosylace se objevují jen u určitých skupin flavonoidů. Modifikovány jsou nejčastěji konečné produkty jako jsou anthocyanin-3-glucosidy, flavonoly, flavony a isoflavony (Schijlen et al., 2004). Kromě syntézy anthokyaninů může tato cesta větvit i do ostatních tříd flavonoidů jako jsou stilbeny, aurony, deoxy-(iso)flavonoidy, flavony, flavonoly, katechiny a proanthokyanidiny.



Obr. 21. Přehled hlavních syntetických drah flavonoidů v rostlinách. CHS-chalkonsynthasa; CHR-chalkonreduktasa; STS-stilbensynthasa; AS-aureusidinsynthasa; CHI-chalconisomerasa; F3H-flavanonhydroxylasa; FNS-flavon synthasa; IFS-isoflavon synthasa; FLS-flavonol synthasa, F3'H-flavonoid-3'-hydroxylasa; F3'5'H-flavonoid-3', 5'-hydroxylasa; DFR-dihydroflavonol-4-reduktasa; ANS-anthokyanidinsynthasa; LAR-leucoanthocyanidinreduktasa; ANR-anthokyanidinreduktasa; 3GT-flavonoid-3-glycosyltransferasa. Převzato z Schiljen et al. 2004

4 Význam flavonoidů pro rostlinný organismus a jejich výskyt

Rostliny obsahují velké množství nízkomolekulárních sekundárních metabolitů důležitých pro ochranu rostliny před býložravci a patogeny, při interakci rostliny s jejím prostředím, při opylování (lákání opylovačů) a rozšiřování semen (zoochorie). Rostliny nejsou chráněny imunitním systémem založeným na bílkovinách tak, jak je známe u živočichů. Místo toho spoléhají na rozmanitost nízkomolekulárních látek, jejichž funkce ve spolupráci s fyzikálními bariérami a některými obrannými enzymy zajišťuje ochranu proti fyziologickému stresu a útoku živočišných predátorů. Existuje obrovské množství rostlinných sekundárních metabolitů, mnohé z nich jsou pro býložravce toxické. Kromě flavonoidů mezi ně patří i alkaloidy, terpenoidy atd. Flavonoidy slouží rostlině jako ochrana před UV zářením, které je zdrojem reaktivních forem kyslíku. Mají schopnost přímo zhaset singletový kyslík, superoxid, hydroxylový radikál, peroxid vodíku atd. Jejich umístění ve vakuolách jim však nedovoluje podílet se na ochraně proti vysoce reaktivním formám kyslíku, uvolněných z chloroplastů při fotosyntéze. Obsah flavonoidů v rostlinách má vliv i na jejich barvu. Ta je důležitá pro lákání opylovačů (Rhodes, 1996; Cooke et al., 2005).

4.1 Potravinové zdroje flavonoidů

Flavonoly jsou jedny z nejrozšířenějších flavonoidů v potravě. U rostlin se hromadí ve vnějších a nadzemních částech (povrchových pletivech a listech). Nejznámější z nich jsou quercetin a kaempferol. Quercetin je aglykon a jeho známé glykosidy jsou rutin (rutinosid - glykosid s rhamnosou a glukosou) a quercitrin (rhamnosid). Nejbohatším zdrojem jsou cibule, kapusta kadeřávek, pórek, brokolice a borůvky. Jsou však také obsaženy i v červeném víně a čaji (Manach et al., 2004).

Flavanony se nacházejí v bramborách a některých aromatických rostlinách, jako je máta. Ve vysokých koncentracích jsou přítomné pouze v citrusových plodech. Hlavními aglykony jsou hesperetin (glykosid hesperidin) v pomerančích, naringenin (glykosid naringin) v grapefruitu a eriodictyol (glykosid eriocitrin) v citronech. Flavanony jsou zpravidla glykosylovány v pozici 7 (kruhu A). Neohesperidosa dává např. naringinu hořkou chuť, kdežto rutinosa je bez chuti. Většina flavanonů je u citrusů obsažena hlavně v albidu (pevná bílá část). Proto může mít celý plod až pětkrát větší obsah flavanonů než sklenice pomerančové šťávy (Manach et al., 2004).

Flavony jsou ve srovnání s flavonoly zastoupeny v ovoci a zelenině mnohem méně. Skládají se především z glykosidů odvozených od luteolinu a apigeninu (apiinu a apigetrinu). Kůra citrusových plodů obsahuje velká množství polymethoxylovaných flavonů, jako jsou tangeretin, nobiletin a sinensetin. Tyto polymethoxylované flavony patří mezi nejhydrofobnější flavonoidy. Hlavními jedlými zdroji jsou petržel a celer (Manach et al., 2004; Cooke et al., 2005).

Flavanoly se vyskytují buď v monomerní podobě (katechiny) nebo jako polymery (proanthokyanidiny). Katechiny se nacházejí v mnoha druzích ovoce (nejvíce v meruňce). Dále jsou přítomny v zeleném čaji a čokoládě, v menším množství pak v červeném víně. Černý čaj obsahuje méně monomerních flavanolů, protože jsou během fermentace čajových lístků oxidovány na komplex kondenzovaných polyfenolů zvaných theoflaviny (dimery) a thearubiginy (polymery). Nejčastějšími flavanoly vyskytujícími se v ovoci jsou katechin a epikatechin. Galokatechin, epigalokatechin a epigalokatechingalát jsou obsaženy v některých semenech luštěnin, v hroznovém víně a hlavně pak v čaji. Od ostatních flavonoidů se liší tím, že se v potravě nevyskytují v glykosylované podobě (Manach et al., 2004; Cooke et al., 2005).

Proanthokyanidiny, známé jako kondenzované tanniny, jsou dimery, oligomery a polymery katechinů. Nalézají se v mnoha rostlinách, např. v jablkách (velmi významně), borové kůře, skořici, semenech a slupce hroznového vína, kakau a červeném víně. Vyskytují se také v borůvkách, brusinkách, černém rybízu, v zeleném a černém čaji a ostatních rostlinách. Největší koncentrace proanthokyanidinů byly naměřené v plodech arónie. Jablka obsahují průměrně osmkrát větší množství proanthokyanidinů než červené víno (Hammerstone et al., 2000; Manach et al., 2004).

Anthokyaniny jsou pigmenty rozpuštěné ve vakuolách epidermálních částí plodů a květů. V závislosti na pH se mění jejich chemická struktura a tím i barva. Jejich aglykony jsou poměrně nestabilní, před degradací je chrání glykosylace (hlavně glukosou v poloze 3) a esterifikace různými organickými kyselinami (citrónovou a jablečnou) a fenolickými kyselinami. Stabilizace anthokyaninů probíhá dále tvorbou komplexů s ostatními flavonoidy (tzv. kopigmentací). Anthokyaniny se nachází v červeném víně, některých druzích obilnin a v listnaté a kořenové zelenině (jako jsou hlávkové zelí, fazole, cibule, ředkvičky atd.). Nejhojněji jsou obsaženy v ovoci, zejména v jejich povrchových pletivech. V případě některých červených plodů (třešně a jahody) se hojně nacházejí i v dužnině. Nejběžnějším anthokyanidinem v potravě je kyanidin (Manach et al., 2004; Cooke et al., 2005).

Isoflavonoidy, hlavně isoflavony, se velice podobají estrogenům, ale nejsou to steroidy. Tato podoba jim propůjčuje pseudohormonální vlastnosti, např. vazbu na estrogenové receptory. Díky tomu jsou označovány jako fytoestrogeny. Nejznámějšími jsou genistein, daidzein a glycitein. Jejich glykosidy jsou, na rozdíl od aglykonů, citlivé na teplo. Isoflavony se vyskytují téměř výhradně v luštěninách. Hlavním zdrojem isoflavonů je sója (Manach et al.,2004; Cooke et al., 2005).

5 Osud flavonoidů v živém organismu

5.1 Absorpce

Ještě dříve, než mohou být flavonoidy absorbovány ze střeva, musí být z rostlinné potravy odděleny pomocí žvýkání, dále působením trávicích šťáv v gastrointestinálním traktu a nakonec působením mikroorganismů v tlustém střevě. Lze předpokládat, že složení potravinové hmoty oddělené od rostlinného pletiva závisí nejen na druhu rostliny, ale i na podmínkách biosyntézy a přítomnosti dalších složek potravy. Absorpce flavonoidů z potravy bude záviset na jejich fyzikálně-chemických vlastnostech, jako jsou molekulová hmotnost a konfigurace, lipofilita, rozpustnost a pKa. Účinek rostlinné hmoty na absorpci doposud není přesně znám (Bravo, 1998; Hollman, 2004).

Velkou roli v absorpci a metabolismu flavonoidů hraje jejich struktura (glykosidy, oligomery atd.). Většina flavonoidů, kromě katechinů, je v potravě obsažena ve formě β -glykosidů. Flavonoly (3-hydroxy-2-fenylchroman-4-ony) se vyskytují zejména jako 3-O-glykosidy, i když 7- a 4'-O-glykosidy se v některých rostlinách (např. v cibuli) nacházejí také. Ostatní třídy flavonoidů, jako například flavony (2-fenylchroman-4-ony), flavanony (2,3-dihydro-2-fenylchroman-4-ony) a isoflavony (3-fenylchroman-4-ony) jsou glykosylovány v pozici 7. Nejčastější glykosidy flavonolů v potravě jsou glukosidy, rutinoidy nebo xylosidy. Při vaření k modifikaci glykosidů většinou nedochází, aglykony se však uvolňují při fermentaci či autolýze (Day et al., 1998).

Glykosidy jsou považovány za příliš hydrofilní na to, aby prošly pasivní difúzí v tenkém střevě. Toto je pravděpodobnější u aglykonů, které takto mohou být absorbovány. Studie na potkanech, kteří byli zbaveni bakteriální mikroflóry, ukázaly, že velká množství nepřeměněných glykosidů byla vyloučena stolicí, přičemž u potkanů s normální mikroflórou bylo nalezeno ve stolici pouze malé množství glykosidů (Griffits et Barrow, 1972). Vazba mezi cukrem a flavonolem je L-glykosidová a tedy resistantní proti hydrolýze pankreatickými enzymy i enzymy střevní stěny. Proto se předpokládalo, že glykosylované flavonoidy jsou vstřebávány pouze v zanedbatelné míře (Hollman et al., 1995).

Poté se však ukázalo, že by v některých případech mohly být z tenkého střeva vstřebávány glykosidy flavonolů dokonce snadněji než samotné aglykony. Poloha a druh cukerného zbytku mohou mít na absorpci sloučeniny v tenkém střevě vliv (Williamson et

al., 1996). Pacienti s ileostomií měli výrazně vyšší absorpci (měřenou jako rozdíl mezi perorálně podaným a ileostomií vyloučeným množstvím) glukosidů quercetinu z cibule oproti quercetinu bez cukerné složky či quercetin-rutinosidu (Hollman et al., 1995; 1997). Pro vysvětlení tohoto pozoruhodného zjištění, že hydrofilní glykosidy quercetinu jsou transportovány přes tenké střevo, byla uvažována účast Na⁺-dependentního glukosového kotransportéru (SGLT1) (Hollman et al., 1999). Předpoklad, který zveřejnil Hollman et al. (1995) byl sice správný, na druhé straně se však ukázalo, že efektivita této absorpce je u některých flavonoidů značně potlačena jejich současným efluxem prostřednictvím apikálního transportéru MRP 2 (multidrug resistance-associated protein 2) (Walgren et al., 2000).

Glukosidy quercetinu, které pronikly do enterocytů tenkého střeva, by mohly být hydrolyzovány β-glykosidasou s nízkou specificitou (BSβG) (Day et al., 1998). Glykosidy flavonoidů jsou navíc pravděpodobně hydrolyzovány laktasafloridzinhydrolasou (LPH) na vnější straně kartáčového lemu enterocytů (Day et al., 2000; Sesink et al., 2003). Tato LPH patří do rodiny β-glukosidas, které mají celkem tři druhy. Již zmíněná LPH je, stejně jako glukocerebrosidasa, vázána na membránách a obě mají specifickou enzymovou aktivitu. LPH je přítomna na kartáčovém lemu tenkého střeva a má, vedle své primární funkce (hydrolyza laktosy), také schopnost hydrolyzovat např. florizin (patřící do skupiny chalkonů) na floretin a glukosu (Leese et Semenza, 1973). Volný aglykon pak může být absorbován střešní stěnou. Novější studie se shodují v názoru, že pokud glykosidy quercetinu vůbec ve významné míře pronikají do enterocytů, pronikají do systémového oběhu již jen jako aglykony (Erlund et al., 2000; Sesink et al., 2001).

Glykosidy, ke kterým nevykazují afinitu ani SGLT1 ani LPH, jsou transportovány dále do tlustého střeva, kde jsou hydrolyzovány enzymy bakteriální mikroflóry. Uvolněný aglykon je vzhledem k malé absorpční kapacitě sliznice tlustého střeva vstřebáván minimálně a je z převážné části bakteriemi degradován (Scheline, 1973; Hollman, 1999).

Katechiny (flavan-3-oly) se na rozdíl od většiny ostatních flavonoidů v potravě vyskytují jako aglykony, příp. vázané na kyselinu galovou, jak uvádějí Lee et al. (1995), zkoumající absorpci polyfenolů obsažených v zeleném čaji. V rostlinné stravě se katechiny vyskytují navíc ve formě oligomerů obsahujících až 17 jednotek (proanthokyanidiny). Ve střevě se pravděpodobně vstřebávají pouze oligomery do tří jednotek, větší jsou pak degradovány bakteriální mikroflórou (Holt et al., 2002; Hollman, 2004).

5.2 Biologická dostupnost

Tento parametr slouží k popisu frakce stanovované dávky nezměněné sloučeniny (léčiva), která dosáhne systémovou cirkulaci a je přístupná v místě účinku. Biologická dostupnost flavonoidů obsažených v potravě je poměrně nízká. Jednak bývá limitována špatným transportem (Wallgren et al., 1998), jednak intenzivním metabolismem (Walle et al., 1999). Pokud jde o absorpci flavonolových glykosidů u člověka, může být tato velice pomalá, ale i velice rychlá. Doby dosažení maximálních koncentrací se pohybují mezi 0,5 až 9 hodinami (Hollmann, 2004). Například quercetin obsažený v cibuli ve formě glukosidů má přibližně třikrát vyšší biologickou dostupnost než quercetin přítomný jako konjugát s jinými sacharidy v jablkách (β -galaktosid a β -xylosid) nebo čistý quercetin- β -rutosid (Hollmann et al., 1997). Skutečnost, že cukerná složka v glykosidech quercetinu je významný pro jejich biologickou dostupnost, byla potvrzena při podání čistého quercetin- β -glukosidu a čistého quercetin- β -rutosidu (Hollman, 1999). Příčina je v absorpci (viz také kap. 5.1). Zatímco quercetin-glukosid se vstřebává v tenkém střevě, je quercetin-rutosid absorbován z tlustého střeva, kde jeho vstřebání předchází bakteriální deglykosylace. Po perorálním příjmu glykosidů quercetinu se v plazmě ve velké míře objevuje quercetin-glukuronid a v malé míře aglykon, nikoli glykosidy (Sesink, 2001). Na rychlost eliminace tedy cukerná složka již nemá žádný vliv.

Absorpce katechinů je poměrně rychlá a odehrává se pravděpodobně v tenkém střevě. Biologická dostupnost různých druhů katechinů se od sebe nijak zvlášť neliší, může ji však snižovat tvorba dimerů. Podobně jako u flavonolů hraje cukerná složka roli i u flavanonových rutosidů, jejichž absorpce je pomalá. Ze všech tříd flavonoidů mají největší biologickou dostupnost isoflavony, u nichž není rozdíl mezi glukosidy a aglykony. Zajímavé je, že absorpce jak aglykonů, tak glukosidů probíhá v tlustém střevě poměrně pomalu. Anthokyaniny se naproti tomu vstřebávají velmi rychle, mají však nejmenší biologickou dostupnost ze všech flavonoidů. Příčinou může být problematické stanovování anthokyaninů v tělních tekutinách. Poločas eliminace se mezi různými třídami flavonoidů liší. Pro ostatní třídy flavonoidů sice není k dispozici dostatek údajů, ale profily plazmatických koncentrací naznačují, že eliminace bude srovnatelná s katechiny a anthokyaniny (Hollman, 2004).

5.3 Metabolismus

Pro metabolismus flavonoidů jsou důležité dva kompartmenty. První zahrnuje orgány jako jsou tenké střevo, játra a ledviny. Druhý kompartment tvoří tlusté střevo. Flavonoidy, které se nevstřebaly v tenkém střevě a ty, které se už vstřebaly, ale následně se vyloučily žlučí, se dostávají do tlustého střeva (obr. 22) (Hollman 2004).

Vedle metabolismu hrají v absorpci a biologické dostupnosti důležitou roli také membránové přenašeče, hlavně ty, které zajišťují eflux z buňky. Mezi přenašeče uplatňující se v absorpci flavonoidů patří SGLT1, který se nachází v tenkém střevě. Dalším absorpčním přenašečem je MCT (monocarboxylate transporter), jenž transportuje flavonoidy obsažené v čaji - (-)-epikatechingalát (ECG). V malé míře se při transportu flavonoidů uplatňuje glykoprotein P. Existují i mnohem významnější efluxní transportery, zejména MRP1 a MRP2 (Vaidyanathan et Walle, 2003).

Metabolismus flavonoidů v játrech zahrnuje první a druhou fázi biotransformace. První fáze (oxidace) zavádí nebo odkrývá polární skupiny. Tento krok se objevuje zejména u syntetických flavonoidů, neboť přirozeně se vyskytující flavonoidy již některé polární skupiny obsahují (Hackett, 1986). Další fází je konjugace těchto polárních skupin s kyselinou glukuronovou, sírovou nebo glycinem. Tyto reakce jsou označovány jako glukuronidace, sulfatace nebo acetylace. Ke konjugaci dochází jak u flavonoidů samotných, tak u jejich metabolitů vzniklých v tlustém střevě (Hollman et Katan, 1998).

O oxidačním metabolismu flavonoidů je toho známo velmi málo, zvláště u člověka. Hlavním enzymem v monooxygenačních reakcích je P450. Studie s potkaními jaterními mikrosomy (homogenát potkaních jaterních mikrosomů indukovaných Aroclorem 1254, užívaným k hodnocení mutagenicity xenobiotik) ukázaly, že zde probíhá rozsáhlý oxidační metabolismus některých flavonoidů zprostředkovaný enzymem CYP1A1 (Silva et al., 1997a). Tento enzym se uplatňuje v metabolismu karcinogenů a je syntetizován spíše v mimojaterních tkáních, zejména v plicích. Exprese lidské isoformy CYP1A2 probíhá v játrech, kde metabolizuje mnoho důležitých léčiv, ale i karcinogenů (Gonzalez, 1989; Guengerich, 1988). Oba dva CYP se svojí substrátovou specificitou vzájemně překrývají (Zhai et al., 1998).

Otake a Walle (2002) studovali roli rekombinantních isoform enzymu P450 v metabolismu flavonoidů v lidských jaterních mikrosomech, konkrétně dvou flavonolů hydroxylovaných v poloze 3 (galanginu a kaempferidu) a flavonu chrysinu. Oba flavonoly se přeměnily oxidačním metabolismem na kaempferol. Na této přeměně se podílely nejen

CYP1A1 a CYP1A2, ale také CYP2C9. Galangin byl tak v poloze 4 (kruhu C) oxidován, kdežto kaempferid O-demethylován. Dalším poznatkem v jejich studii byla větší efektivita CYP1A2 oproti CYP1A1, mechanismus oxidace u obou flavonoidů byl však podobný. Odlišný mechanismus vykazoval CYP2C9. Chrysin nebyl metabolizován žádnou z uvedených isoform (Otake et Walle, 2002). Oxidační metabolismus může vést jednak k eliminaci flavonoidů, ale stejně tak může mít bioaktivační efekt. Jako příklad lze uvést oxidační reakci, při které dochází k přeměně galanginu na kaempferol, který může následně přejít na quercetin (Silva et al., 1997a,b), poskytující ve zvýšené míře aktivní molekuly s antioxidačními vlastnostmi (Pietta, 2002). Takové reakce mohou probíhat v játrech i extrahepatálně (Otake et Walle, 2002).

Některé flavonoidy mohou velmi výrazně a selektivně inhibovat izoformy CYP1A (zvláště CYP1A1 a CYP1A2), což má veliký význam nejen pro prevenci zhoubných nádorů, ale i pro ostatní farmakologické a toxikologické vlastnosti těchto látek (Zhai et al., 1998) (viz kap.6).

Absorbované flavonoidy jsou vystaveny třem typům konjugace, jakými jsou methylace, sulfatace a glukuronidace.

K methylaci u flavonoidů většinou dochází přednostně v poloze 3' (kruhu B), ale v malé míře se vyskytují i 4'-O-methylované produkty (Manach et al., 2004). Přenos methylové skupiny z S-adenosylmethioninu na flavonoidy s O-difenolickou (catecholovou) složkou katalyzuje catechol-O-methyltransferasa. Takové reakce jsou známy i u quercetinu, katechinu, kyseliny kofeinové a luteolinu. Wu et al. (2002) také poprvé dokázali přeměnu kyanidinu na peonidin v lidském těle. Catechol-O-methyltransferasa se vyskytuje v nejrůznějších tkáních. Její nejvyšší aktivitu můžeme zaznamenat v játrech a ledvinách (Lee et al., 2002). Naproti tomu methylace katechinu byla zjištěna ve velké míře v tenkém střevě potkanů (Donovan et al., 2001).

Sulfatace je katalyzována sulfotransferasou, která přenáší sulfátovou složku z 3'-fosfoadenosin-5'-fosfosulfátu (PAPS) na hydroxylovou skupinu velkého množství sloučenin (žlučových kyselin, steroidů, flavonoidů atd.). Sulfatace flavonoidů probíhá hlavně v játrech, není však známo, jaké izoformy se přesně účastní konjugace a není ani zcela objasněna poloha sulfatace u různých flavonoidů (Piskula et Terao, 1998).

Při glukuronidaci se uplatňuje UDP-glukuronosyltransferasa (UGT), což je enzym zabudovaný v membráně endoplazmatického retikula mnoha tkání. Jeho význam spočívá v přenosu kyseliny glukuronové z UDP-glukuronové kyseliny na žlučové kyseliny, steroidy, flavonoidy a na další složky obsažené v potravě, včetně xenobiotik. Několik

vědeckých týmů, např. Sfakianos et al. (1997) nebo Crespy et al. (2001), dokázalo, že glukuronidace flavonoidů nejdříve probíhá v enterocytech ještě před další konjugací v játrech. Při pokusech *in vitro* s lidskými mikrosomy získanými z enterocytů a hepatocytů byla glukuronidace quercetinu a luteolinu mnohem vyšší ve střevních mikrosomech než v jaterních (Boersma et al., 2002) V lidském těle je obsaženo okolo 15 izoform UDP-glukuronyltransferasy, jejichž substrátové aktivity se pravděpodobně vzájemně překrývají a jednotlivé izoformy se od sebe liší tkáňovou distribucí. Některé izoformy mohou mít výraznou hepatální a/nebo extrahepatální produkci (exprese v ledvinách, ve střevě a v cílových tkáních pro steroidy). Expresa UGT1A podrodiny probíhá především v gastrointestinálním traktu (tenkém střevě), tyto formy jsou pak připraveny podílet se na *first pass* efektu orálně podaných léčiv a hrají také důležitou roli v interindividuálních rozdílech celkové orální biologické dostupnosti (Fisher et al., 2001).

Studie galanginu provedené týmem Otake et al. (2002) zjistily, že galangin podstupuje v čerstvých lidských hepatocytech hlavně glukuronidaci a sulfataci a jen ve stopovém množství oxidaci. Uplatnění methylace, sulfatace a glukuronidace se mění v závislosti na povaze substrátu a na požité dávce. Sulfatace je obecně vzato dráha s vyšší afinitou a nižší kapacitou než glukuronidace. Pokud tedy stoupne požítá dávka, dojde k posunu od sulfatace ke glukuronidaci (Koster et al., 1981). Zdá se, že rovnováha mezi sulfatací a glukuronidací flavonoidů je ovlivněna druhem, pohlavím a dostupností potravy (Piskula, 2000).

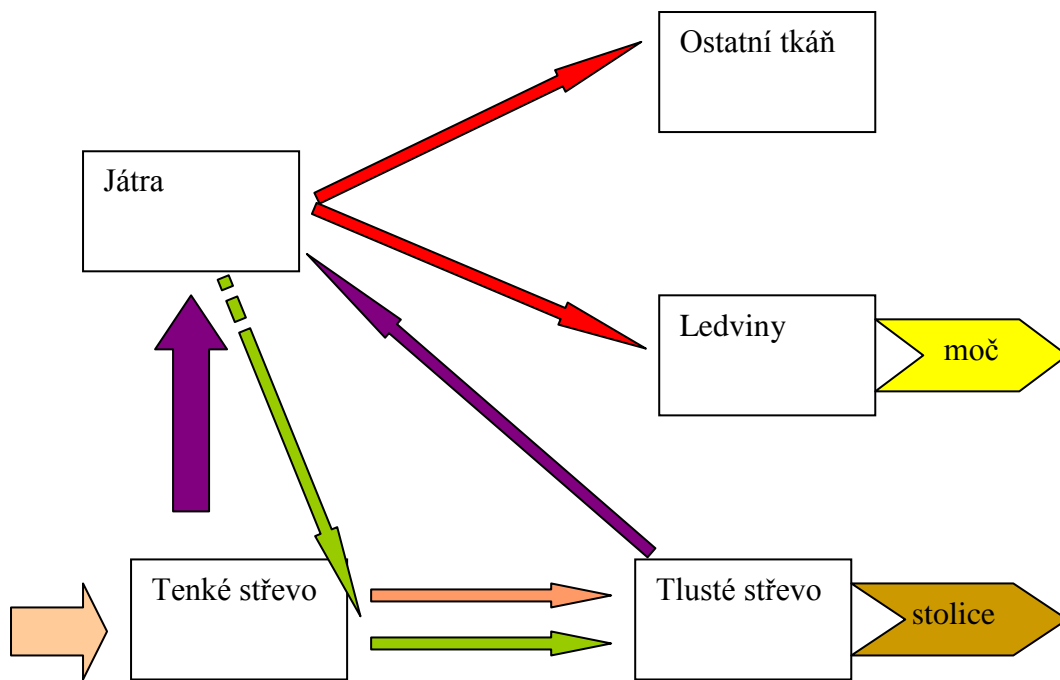
Metabolity flavonoidů se v krvi nevyskytují volně. Hlavním vazebným proteinem v plazmě je albumin, jehož vazba na metabolity flavonoidů je podmíněna jejich chemickou strukturou. Stupeň vazby na albumin by mohl mít význam pro clearance metabolitů a jejich dodávku do buněk a tkání. Uvolnění metabolitů z albuminu může být závislé na změně pH, kdy dochází ke konformační změně tohoto komplexu. Průnik do buněk je pak úměrný koncentraci nenavázaných metabolitů (Manach et al., 2004).

Několik hodin po podání radioaktivně značených flavonoidů (quercetinu, epigalokatechingalátu, resveratrolu, quercetinu-4'-glukosidu) myším se radioaktivita objevila především v krvi a tkáních trávicího systému (v žaludku, střevě a játrech). Pomocí HPLC však byly flavonoidy nalezeny i ve velkém množství jiných tkání – mozku, endoteliálních buňkách, srdci, ledvinách, slezině, pankreatu, prostatě, děloze, vaječnicích, mléčných žlázách, varlatech, močovém měchýři, kostech a kůži (Manach et al., 2004; Suganuma et al., 1998). Je těžké přesně říci, zda se některé flavonoidy v určitých tkáních akumuluji. Do některých buněk vstupují flavonoidy pomocí specifického mechanismu.

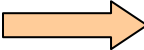






Primárně flavonoidy pronikají do endotelu. Jejich koncentrace v cílových tkáních nekorelují s koncentrací v plazmě, distribuce mezi plazmou a cílovými tkáněmi se navíc u různých flavonoidů liší (Manach et al., 2004).

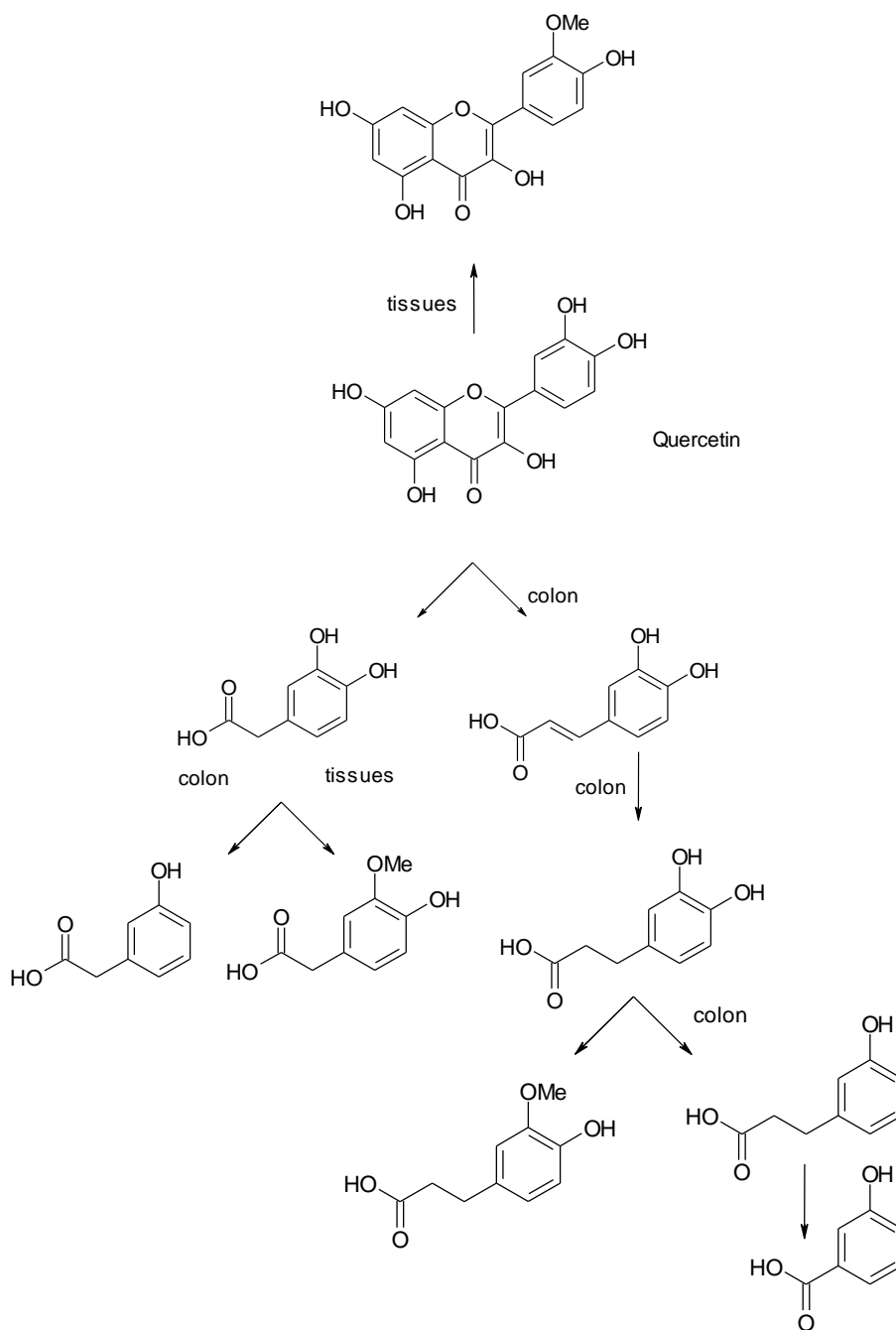
Exkrece flavonoidů může probíhat dvěma cestami – biliární nebo renální. Míra konjugace podmiňuje cestu vylučování. Menší konjugáty, jako jsou například monosulfáty, se přednostně vylučují do moči, zatímco rozsáhlé konjugáty jsou vylučovány žlučí (Manach et al., 2004).

Metabolismus v tlustém střevě je závislý na přítomnosti živé mikroflóry. Schází se zde flavonoidy, které nebyly absorbovány v tenkém střevě společně s konjugovanými metabolity vyloučenými do žluči. Významem této mikroflóry je tvorba širokého množství metabolitů štěpením heterocyklického kruhu a kruhu A na fenolické kyseliny a laktony (obr. 23) (Manach et Donovan, 2004). Způsob hydroxylace má vliv na antioxidační vlastnosti jednotlivých fenolických kyselin a zřejmě i biologické účinky flavonoidů obsažených v potravě (Van Acker, 2001). Typ štěpení kruhu závisí na druhu flavonoidu (Hollman, 2004; Van Acker, 2001). Primárním štěpením kruhu katechinů, flavonolů, flavonů a flavanonů vznikají odlišné produkty. Hydroxylové skupiny jsou nezbytné pro štěpení kruhu, podmiňují citlivost dané sloučeniny k mikrobiální degradaci v tlustém střevě (Griffiths and Smith, 1972). Pro štěpení heterocyklického kruhu C je nutná přítomnost volných hydroxylových skupin v polohách 5 a 7 (kruhu A) společně s pozicí 4' (kruhu B) (Griffiths and Smith, 1972). Degradované produkty jsou pravděpodobně z tlustého střeva absorbovány, neboť byly nalezeny v plazmě a v moči (Olthof et al., 2003; Rechner, 2002).



Obr. 22 Stručné schéma metabolismu flavonoidů (převzato z Hollman, 2004; Mannach et Donovan, 2004)

-  Natrávená potrava z žaludku
-  Vaena portae
-  Arterie
-  Žluč
-  Nevstřebané zbytky potravy z tenkého střeva
-  Stolice
-  Moč



Obr. 23 Metabolické dráhy quercetinu v lidských tkáních a tlustém střevě. Flavonoly mohou reagovat podobně (Převzato z Hollman et Ketan, 1998)

6 Význam flavonoidů pro lidský organismus

Flavonoidy představují skupinu rostlinných látek se širokou škálou biologických účinků vyplývajících hlavně z jejich antioxidačních vlastností a schopnosti modulovat některé enzymy a buněčné receptory. Flavonoidům jsou připisovány antibakteriální a antivirové, protizánětlivé, analgetické, antialergické, hepatoprotektivní, apoptické, estrogenové i antiestrogenové účinky. Flavonoidy také zasahují do iniciace, propagace a progresu nádorového bujení. Ne všechny účinky flavonoidů jsou však prospěšné. Mezi nežádoucí vlastnosti některých flavonoidů patří mutagenní a/nebo prooxidační efekty, nevyhýbají se ani interferenci s životně důležitými biochemickými drahami.

Bylo zjištěno, že flavonoidy tlumí rozvoj experimentálních nádorů, vyvolaných chemickými karcinogeny (Balasubramanian et Govindasamy, 1996; Li et al., 2002). I když se objevují zprávy o příznivém účinku flavonoidů přijímaných v potravě v prevenci zhoubných nádorů (Knekt et al., 2002), jiné epidemiologické studie tento efekt nepotvrdily (Goldbohm et al., 1996; Arts et al., 2002). Určitou roli zde může hrát i zdroj a druh flavonoidů: Flavonoidy obsažené v čaji ve většině studií nevykazují žádný významný preventivní efekt (Higdon et Frei, 2003). Mechanismy účinku flavonoidů na prevenci nádorových onemocnění jsou popsány níže. Patří mezi ně např. antioxidační a protizánětlivé účinky, vliv na enzymovou aktivitu první a druhé fáze detoxikace, ochrana před škodlivými jevy na buněčný cyklus, inhibice proliferace a indukce apoptózy.

Ani výsledky studií zjišťujících vliv příjmu flavonoidů na kardiovaskulární systém nejsou jednoznačné. Pět studií z osmi spojují příjem flavonoidů se snížením rizika ischemické choroby srdeční (Hertog et al., 1993; Knekt et al., 1996; Hertog et al., 1997; Yochum et al., 1999; Hirvonen et al., 2001; Knekt et al., 2002; Huxley et Neil, 2003; Sesso et al., 2003). Mechanismů účinku flavonoidů v prevenci kardiovaskulárních nemocí je více. Nejdůležitější z nich jsou antioxidační, protizánětlivý a estrogenový účinek, snižování exprese adhezních molekul v cévách, inhibice agregace destiček, zvyšování aktivity endotelové NO-synthasy, inhibice bakteriální a virové replikace, vliv na proteolytické enzymy a na AGE-látky.

V následujícím textu jsou popsány nejdůležitější mechanismy, které se uplatňují ve vztahu k nádorovým a kardiovaskulárním onemocněním.

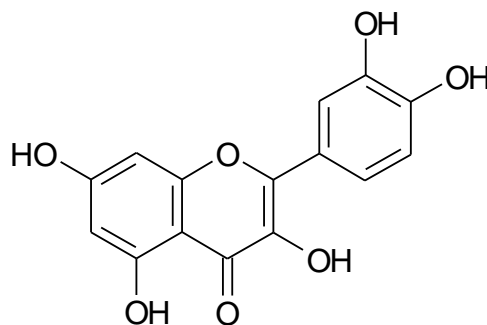
6.1 Antioxidační aktivita

V poslední době se často diskutuje oxidační stres a jeho souvislost s flavonoidy. Oxidační stres je vlastně výsledek působení jednoho nebo více ze tří faktorů. Prvním z nich je zvýšená tvorba oxidujících látek. Druhým faktorem je snižování antioxidační ochrany a poslední z této trojice je chybná oprava oxidačního poškození. Poškození buněk je způsobeno tzv. ROS (*reactive oxygen species*), jež jsou tvořeny volnými kyslíkovými radikály nebo molekulami obsahujícími kyslík, které buď produkují kyslíkový radikál a nebo jej aktivují. Mezi ROS patří například hydroxylový radikál, superoxid, peroxid vodíku atd. Hlavním zdrojem vzniku ROS je aerobní dýchání, metabolismus xenobiotik pomocí mikrosomálního P450, metabolismus argininu, β -oxidace mastných kyselin, stimulace fagocytózy patogeny nebo lipopolysacharidy a další. Za normálních podmínek jsou z buňky ROS likvidovány superoxidodismutasou (SOD), katalasou nebo glutathionperoxidasou (GSH). Hlavní poruchy způsobené kyslíkovými radikály se projevují zejména u makromolekul, jako jsou DNA, polynenasycené mastné kyseliny (v membránových lipidech) a životně důležité proteiny. Příčina vzniku některých známých chorob (Alzheimerova choroba, Parkinsonova nemoc, tvorba zhoubných novotvarů atd.) a stárnutí je připisována právě ROS a oxidačnímu stresu (Fiers et al. 1999; Magder, 2006; Hayes et McLellan, 1999).

Konzumace ovoce a zeleniny či některých nápojů rostlinného původu (červeného vína, černého i zeleného čaje, maté, ovocných šťáv) může snížit riziko některých druhů zhoubných nádorů a kardiovaskulárních nemocí. Je to pravděpodobně způsobeno jejich antioxidačními složkami. Mezi takové antioxidanty řadíme nejen velmi známý β -karoten, lykopen, vitamín C a E, ale také široké množství polyfenolických sloučenin, zahrnujících flavonoidy a polyfenolické kyseliny (účinek polyfenolických kyselin je nejvyšší právě v přítomnosti flavonoidů) (Kaur et Kapoor, 2001; Lachman et al., 2004).

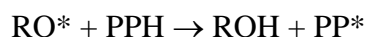
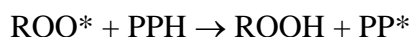
Flavonoidy jsou účinné antioxidanty a to díky jejich vlastnosti vychytávat volné radikály kyslíku a mastných kyselin (Lachman et al., 2004). Jsou silnými antioxidanty *in vitro*, ne vždy je však možno potvrdit jejich účinek *in vivo*, a to především v důsledku jejich rozsáhlého metabolismu. Obecně vzato, měly zjištěné metabolity flavonoidů mnohem menší antioxidační aktivitu, než jejich mateřské sloučeniny, a nebo neměly aktivitu žádnou. Jako příklad uveďme fenyloctovou kyselinu, hlavní metabolit quercetin-3-rutinosidu, která má antioxidační aktivitu srovnatelnou s vitamínem E, ale ve srovnání s quercetinem menší. Rozrušení molekul flavonoidů a fenolických kyselin

nejčastěji štěpením kruhu a β -oxidací v tlustém střevě a játrech výrazně snižuje jejich antioxidační aktivitu. Ta je navíc snižována následnou konjugací jejich metabolitů. Příčinou je změna počtu hydroxylových skupin a strukturálních vztahů v molekule (Rice-Evans et al., 1996; Manach et al., 1998; Piskula et Terao, 1998; Olthof et al., 2003). Antioxidační aktivita flavonoidů tedy značně závisí na jejich chemické struktuře, míře absorpce (některé flavonoidy totiž mají vysokou antioxidační aktivitu, ale vzhledem k tomu, že se nemohou například pro svou velikost vstřebat, působí pouze na úrovni trávicího traktu, kde chrání lipidy, proteiny a sacharidy před oxidačním poškozením během trávení) a metabolismu, stejně tak jako aktivita methylovaných a konjugovaných forem cirkulujících v plazmě. Antioxidační efekt také plně souvisí se stupněm hydroxylace. (Bravo, 1998). Pro dosažení antioxidačního účinku musí flavonoid splňovat alespoň jednu z těchto podmínek: 1) přítomnost o-difenolické skupiny na kruhu B, 2) dvě až tři dvojně vazby s připojenou oxoskupinou v poloze 4 a 3) hydroxylové skupiny v poloze 3 a 5 (Rice-Evans et al., 1996; Bravo, 1998). Jedním z těch, které nejlépe splňují všechny tyto podmínky, je flavonol quercetin (Obr. 24).



Obr. 24 Struktura quercetinu ukazující strukturové vlastnosti ve vztahu k jeho antioxidačním vlastnostem

Flavonoidy fungují jako zhášeci volných radikálů a chelátory kovových iontů, které jsou schopny katalyzovat peroxidaci lipidů. Tato funkce je důležitá při prevenci kardiovaskulárních nemocí, zejména vzniku aterosklerotického plátu. Při inhibici oxidace LDL bylo navrženo několik mechanismů účinku: 1) snižování tvorby volných radikálů, 2) ochrana α -tokoferolu v LDL před oxidací, 3) regenerace oxidovaného α -tokoferolu a 4) chelatace kovových iontů. Samotný účinek antioxidantů spočívá v tom, že darují atom vodíku volnému radikálu (viz schéma). Meziprodukt, fenoxyl-radikál, je poměrně stabilní.

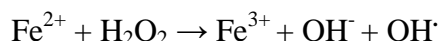


Fenoxy-radikály dále působí také jako zhášeci volných radikálů (viz schéma).

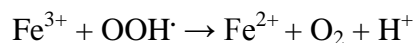


Důležitou roli hrají i podmínky (pH, přítomnost železa, vysoké koncentrace fenolických antioxidantů, ty mohou dokonce iniciovat autooxidační proces) (Bravo, 1998).

Kovové ionty se účastní různých reakcí jako katalyzátory a zvyšují tak počet volných radikálů. V těle se můžeme setkat zejména s ionty železa a mědi. Vysoké koncentrace iontů železa mohou být problematické v důsledku tvorby volných radikálů např. Fentonovou reakcí. Tato reakce, objevená již koncem 19. století H.J.H. Fentonem, spočívá v reakci peroxidu vodíku s dvojmocným železem v kyselém prostředí (tzv. Fentonovo činidlo):



Vzniklé ionty Fe^{3+} mohou dále reagovat s H_2O_2 a hydroperoxylovým radikálem, čímž dochází k regeneraci Fe^{2+} :



Právě reakce mezi železitými ionty a flavonoidy má veliký význam. Flavonoidy jsou totiž schopny vychytávat ionty železa díky přenosu náboje z jejich hydroxylové skupiny, přičemž vzniká již zmíněný fenoxy-radikál. Tím vlastně zabraňují proběhnutí Fentonovy reakce a následnému oxidačnímu poškození buněčných struktur. Tvorba kovových chelátů závisí na vzájemné poloze hydroxylových skupin a na místě chelatace kovového iontu. Je zajímavé, že všechny studované flavonoidy měly vyšší redukční kapacitu pro ionty mědi než železa. Zde pak hrál důležitou roli počet hydroxylových skupin. Vyšší počet přihrával mědnatých iontům, zatímco přítomnost dvou až tří dvojných vazeb a držení současně katecholové skupiny na kruhu B a hydroxylové skupiny v poloze 3 byly příhodné pro železité ionty. Důležitou roli hrálo i pH. (Mira et al., 2002; Lachman et al., 2004; Ren et al., 2008).

6.2 Působení na cesty buněčné signalizace

Buňky jsou schopny odpovídat na řadu stresových faktorů nebo signálů zvyšováním nebo snižováním dostupnosti specifických proteinů. Dráhy buněčné signalizace zahrnují celý komplex kaskád jevů vedoucích ke změnám v expresi specifických genů. Tyto dráhy regulují velký počet buněčných procesů, ke kterým patří růst, proliferace a buněčná smrt (apoptóza). Právě velké množství biologických účinků flavonoidů je spojováno s jejich schopností ovlivňovat dráhy buněčné signalizace. Intracelulární koncentrace flavonoidů požadovaná k ovlivnění signalizačních drah je výrazně nižší než koncentrace potřebná k dosažení antioxidační kapacity buněk. Metabolity flavonoidů si tak mohou stále udržovat svoji schopnost interakce s proteiny buněčné signalizace, dokonce i když už je jejich antioxidační aktivita snížena. Účinný přenos signálu vyžaduje proteiny zvané kinasy, jež katalyzují fosforylaci cílových proteinů na specifickém místě. Kaskády (zahrnující specifické fosforylace či defosforylace proteinů přenášejících signál) nakonec působí na aktivitu transkripčních faktorů, což jsou proteiny schopné navázat se na specifický responzivní element DNA a indukovat nebo inhibovat transkripci různých genů. Flavonoidy mohou ovlivňovat chronická onemocnění díky selektivní inhibici kinas. Spojování specifických receptorů buněčných membrán s růstovými faktory vede k iniciaci kaskády buněčné signalizace vedoucí k regulaci buněčného růstu a signalizace. Flavonoidy mohou negativně ovlivňovat signalizaci zprostředkovanou růstovými faktory, a to buď inhibicí fosforylace receptorů nebo znemožněním navázání růstových faktorů na receptory (Spencer et al., 2003; Higdon, 2005)

6.3 Vliv na enzymovou aktivitu první a druhé fáze detoxikace

Enzymy první fáze mohou katalyzovat reakce, které napomáhají vzniku toxických nebo karcinogenních chemických látek. Jako příklad můžeme uvést některé izoformy CYP450 (zejména CYP1A1 a 1A2). Karcinogenní metabolity vznikají po následné indukci CYP1A1 polycyklickými aromatickými sloučeninami (skupina chemických látek běžně se vyskytujících v životním prostředí – výfukové plyny, kouř atd.). Vzrůst exprese a aktivity CYP1A1 je spojován s vysokým rizikem vzniku nádoru plic (Guengerich, 1988; Gonzalez, 1989; McLemore et al., 1990; Zhai et al., 1998) a také s kolorektálním karcinomem (Sivaraman, 1994). Podobně působí i CYP1A2 na prokarcinogeny (polycyklické aromatické uhlovodíky, nitrosaminy a arylacetaminy), které přeměňuje na

karcinogeny (Guengerich, 1990), a hraje tak roli při vzniku zhoubných nádorů souvisejících s kouřením (Smith et al., 1996). Proto by snad inhibice izoformem P450 mohla mít důležitý vliv na prevenci nádorových onemocnění (Zhai et al., 1998). Zhai et al. (1998) studovali flavony a další deriváty lišící se od sebe pouze v počtu a poloze hydroxylových skupin na flavonovém jádře, aby objasnili, jak souvisí struktura flavonoidů s jejich schopností ovlivnit aktivitu izoformem P450. Flavon inhibuje jak CYP1A1, tak CYP1A2, přičemž CYP1A2 dvakrát intenzivněji. Další flavonoidy vykazují také inhibiční vlastnosti obou izoformem CYP1A, jejich mechanismus však dosud nebyl blíže prozkoumán. Inhibici CYP1A2 významně zvyšuje hydroxylace v 3. a 5. pozici, kdežto hydroxylace v poloze 7 ji snižuje (Zhai et al., 1998). Dokonce 3,5,7-trihydroxylace inhibovala CYP1A2 v mnohem větší míře, než samostatné hydroxylace v pozici 3 nebo 5. Proto byl galangin také nejmocnějším inhibitorem všech testovaných sloučenin a vykazoval až pětkrát větší selektivitu pro CYP1A2 než pro CYP1A1. Naproti tomu 7-hydroxyflavon významně inhiboval CYP1A1 (Zhai et al., 1998). Lee et al. v roce 1998 zjistili, že inhibice aktivity CYP1A2 způsobená flavonoidy je závislá na jejich základní struktuře a koncentraci. Dále uvedli, že flavony mají vyšší inhibiční aktivitu než flavonoly. Zajímavým zjištěním byl vliv počtu hydroxylových skupin na inhibiční aktivitu, kdy chrysin se dvěma hydroxylovými skupinami měl tuto vyšší než apigenin (se třemi) a luteolin (se čtyřmi). Mezi flavonoly vykazoval nejvyšší inhibiční aktivitu již zmíněný galangin (Lee et al., 1998; Zhai et al., 1998). Důležitou roli hraje však i poloha hydroxylace (Lee et al., 1998). Velké množství flavonoidů s různou strukturou obsažených v potravě mohou přispívat k některým odchylkám ve farmakokinetických a farmakodynamických dějích (Zhai et al., 1998).

Na enzymy druhé fáze detoxikace působí flavonoidy stimulačně, tyto enzymy totiž katalyzují reakce podporující exkreci potenciálně toxických látek nebo karcinogenních chemických látek (Walle K.U. et Walle T., 2002).

6.4 Ochrana před škodlivými jevy působící na buněčný cyklus

Dělící se buňka prochází buněčným cyklem, který trvá od doby jejího vzniku až po další dělení. Skládá se z několika přípravných fází (od konce mitózy po začátek mitózy – interfáze) a mitózy. V případě poškození DNA dochází k dočasnému zastavení buněčného cyklu v kontrolních bodech. Zde se určí další osud poškozené DNA – buď oprava nebo buněčná smrt (apoptóza). Nesprávná nebo poškozená regulace buněčného

cyklu může vést k šíření mutací, které se podílejí na vývoji nádorového bujení. Nejrůznější flavonoidy pomáhají zastavit buněčný cyklus tím, že inhibují produkci cyklinů a cyklindependentních kinas (CDK), případně zvyšují tvorbu proteinů p21 a p53 (Ramos, 2008).

6.5 Inhibice proliferace a indukce apoptózy

Nádorové buňky se na rozdíl od normálních buněk liší nekontrolovatelnou proliferací a invazivním růstem. K tomuto dochází ztrátou schopnosti odpovídat na signály způsobující buněčnou smrt (apoptózu). Řízená buněčná smrt je komplikovaný proces, který zahrnuje aktivní účast zasažených buněk na vlastní kaskádové destrukci. Uplatňují se zde tzv. kaspasy, které se nacházejí v buňce v neaktivním stavu, jejich aktivací proapoptotickým signálem dochází k dějům, kterými se buňka připravuje na svou smrt. Apoptóza je charakterizována typickými znaky jako je fragmentace jaderné DNA, hyperchromazie jádra, zmenšení objemu buňky a změna charakteru různých organel. Významnou úlohu v apoptóze hrají mitochondrie. Vrcholem buněčné smrti je tvorba apoptotických tělísek, což jsou membránou ohraničené buněčné fragmenty, které jsou následně fagocytovány makrofágy. Nitrobuněčné enzymy tak nepoškodí okolní tkáň.

Flavonoidy mohou přispět ke spuštění apoptózy díky modulaci množství klíčových faktorů, které se podílejí v apoptických signálních drahách. Uplatňují se při aktivaci kaspas, faktoru bax (sloužícího jako kofaktor proapoptotického proteinu p53), aktivují produkci cytochromu c, faktoru smac/DIABLO (inhibitoru faktoru XIAP, který podporuje nádorový růst inhibicí některých kaspas) a dále faktoru indukujícího apoptózu (AIF). Naopak inhibují tvorbu antiapoptotických faktorů bcl-2 a bcl-XL či survivinu (inhibitoru kaspas 3, 7, 9) (Hollman et Katan, 1999; Grandao-Serrano et al., 2006; Ramos, 2007; 2008).

6.6 Tlumení zánětu

Zánět může způsobit zvýšenou produkci volných radikálů, stejně tak jako uvolnění zánětlivých mediátorů, které napomáhají proliferaci a angiogenezi a inhibují apoptózu. Některé flavonoidy se uplatňují při vychytávání volných radikálů (viz kap. 6.1). Li et al. (2000) zjistili, že baikalin (flavon) inhibuje vazbu mnoha chemokinů s lidskými leukocyty nebo buňkami se zvýšenou expresí specifických chemokinových receptorů. Důsledkem je snížená schopnost chemokinů navodit buněčnou migraci. U četných flavonoidů byl také

zjištěn inhibiční efekt na prostaglandinovou kaskádu - tak např. epigalokatechingalát, kurkumin, genistein, punikalagin a mangiferin snižují aktivitu cyklooxygenasy, konkrétně COX-2. Genistein a kurkumin prokazatelně inhibují tvorbu prostaglandinu PGE₂. Zajímavé je, že tím také mohou tlumit proliferaci nádorových buněk a schopnost metastazovat (Ramos, 2008). Tento účinek se však neváže jen na nádorová onemocnění, ale uplatňuje se i v prevenci kardiovaskulárních nemocí, zejména ischemické choroby srdeční. Ischemická choroba srdeční vzniká na základě rozvoje aterosklerózy, kterou můžeme zařadit mezi zánětlivá onemocnění. Flavonoidy zde zánět tlumí prostřednictvím již zmíněné inhibice cyklooxygenasy (Schramm et German, 1998; Mojžíšová et Kuchta, 2001).

6.7 Snižování exprese adhezních molekul v cévách

Zvýšená exprese adhezivních molekul endotelií způsobuje adhezi bílých krvinek na stěny arterie a podporuje tak rozvoj aterosklerózy. Interakce mezi leukocyty a endoteliemi je mnohastupňový proces. Můžeme do něho zahrnout primární adhezi, aktivaci leukocytu a spojení s integrinem závislé na aktivaci. Primární adheze k endoteliím (rolování) se uskutečňuje díky interakci leukocytů nebo cévních selektinů s jejich ligandovými protějšky. Rolování slouží k prodloužení interakce leukocytu s parakrinními produkty endoteliální buňky. Dojde k aktivaci a následnému vypuštění prozánětlivých mediátorů (cytokinů, které mohou jak spouštět silnou adhezi, tak sloužit jako chemotaktické působky). Spojení závislé na aktivaci se uskutečňuje mezi integriny leukocytů a opačnými receptory na endotelových buňkách (např. ICAM-1). Právě tato interakce mezi leukocyty a endoteliemi, jinak za normálních okolností nepostradatelná, je také příčinou cévních chorob. Své místo zde má i diapedéza.

Flavonoidy hrají roli jako efektivní inhibitory exprese E-selektinu, která je zprostředkovaná cytokiny. Tuto schopnost mají jen některé flavonoidy (např. apigenin), a to z důvodu strukturní specifity. S pozitivnějším výsledkem se můžeme setkat u inhibice integrinu (VCAM-1), kde se projevila většina flavonů a flavonolů. Výjimkou mezi většinou flavonoidů je isoflavon genistein, který stimuluje expresi ICAM-1. *In vivo* nemusí flavonoidy často inhibovat indukci exprese adhezivních molekul, ale mohou inhibičně působit na samotné leukocyty díky jejich schopnosti měnit produkci celulárních prozánětlivých faktorů (Middleton et Kandaswami, 1992; Tiisala et al., 1994; Gerritsen et al. 1995; Schramm et German, 1998).

6.8 Inhibice agregace destiček

Jedním z prvních kroků vzniku krevní sraženiny je agregace destiček. Vzniklý trombus může uzavřít např. koronární či cerebrální tepnu, což se projeví infarktem myokardu nebo mozkovou mrtvicí. Účinek flavonoidů na agregaci destiček viz kap. 6.11. (Mojžíšová et Kuchta, 2001; Hidgon, 2005).

6.9 Zvyšování aktivity endotelové NO-synthasy

NO-synthasa je enzym katalyzující tvorbu oxidu dusnatého v cévních endoteliálních buňkách. Oxid dusnatý je potřebný k udržení vazodilatace. A právě snížení NO-dependentní vazodilatace je spojováno se zvýšeným rizikem vzniku kardiovaskulárních nemocí (Hidgon, 2005). Anter a spol. (2003) potvrdili, že flavonoidy z černého čaje zvyšují aktivitu NO-synthasy.

6.10 Vliv na tvorbu AGE-látek indukované sacharidy

V lidském těle mohou bílkoviny, lipidy a DNA podléhat glykaci (spojování aminoskupiny se sacharidem). Konečnými produkty pokročilé glykace jsou tzv. AGE-látky (advanced glycation end-products), od mateřské sloučeniny se liší svými vlastnostmi a toxicitou. Poškozováním ostatních molekul mohou AGE-látky přispívat k rozvoji řady nemocí, jako např. katarakty, onemocnění ledvin, Alzheimerovy choroby, aterosklerózy a některých dalších kardiovaskulárních onemocnění. Evolučně se pro tyto nebezpečné látky vytvořily speciální receptory (RAGE), které jsou přítomné na většině buněk cévního (např. endotelie) a imunitního (makrofágy) systému. Ty zprostředkují odstanění AGE-látek. Ke snižování tvorby těchto produktů jsou zapotřebí tři kroky, 1) inhibice autooxidace sacharidů, 2) zabránění tvorby kovalentní vazby (mezi hydroxylovou skupinou sacharidu a volnou aminoskupinou - glykaci) a 3) znemožnění glykoxidace. Nejdůležitějším krokem se jeví právě inhibice autooxidace sacharidů (především glukózy), což dokáží flavonoly (např. quercetin) a některé jejich produkty (např. 3,4-fenyloctová kyselina). Právě flavonoly (quercetin) mohou díky hydroxylovým skupinám na kruhu B zastavit glykaci kolagenu. AGE-látky jsou nebezpečné i tvorbou volných kyslíkových radikálů. Účinek flavonoidů vyvazovat tyto látky byl zmíněn v kap. 6.1. Flavonoidy, které jsou schopny inhibovat autooxidaci glukózy, jsou schopny zabránit i glykoxidaci (Schramm et German, 1998).

6.11 Estrogenové účinky

U premenopausálních žen se ukázalo, že mají nižší riziko vzniku onemocnění cévního systému (oproti mužům stejného věku), tato výhoda však po menopauze mizí. Nathan et Chaudhuri (1997) popsali účinky estrogenu, který má vliv na inhibici rozvoje aterosklerózy. Tento účinek se skládá z mnoha kroků, jako jsou: snižování koncentrace lipoproteinu(a), ochrana lipidů před oxidací, zvyšování koncentrace HDL v krvi, ovlivňování exprese chemokinů a adhezivních molekul v endoteliálních buňkách, inhibice proliferace hladkých svalových buněk cév, inhibice syntézy kolagenu, potlačení agregace destiček, zajištění prokrvení tkání díky schopnosti podpořit vazodilataci krevních cév. Flavonoidy sdílejí s estrogenem různé vlastnosti (např. schopnost inhibovat oxidaci lipidů, agregaci destiček, expresi cytokinů a adhezivních molekul). Navíc podporují vazodilataci a vážou se na estrogenové receptory II. typu. Estrogenovými vlastnostmi se vyznačuje např. isoflavony (genistein), chalkony (isoliquiritigenin), flavonol (quercetin) a flavon (apigenin) (Scambia et al., 1990; Miksicek, 1993).

6.12 Vliv na proteolytické enzymy

Charakteristickým znakem aterosklerózy je tvorba ateromových plátů. Tato léze je tvořena lipidovým jádrem (složeným z buněk hladké svaloviny, imunitních buněk a extracelulární matrix) odděleným od krve tzv. fibrózní čepičkou. Ateromový plát uzavírá cévu, způsobuje ischemii a dochází k aktivaci proteas (především kolagenasy a elastasy). Aktivace proteas může vyvolat poškození a následnou nestabilitu plátu. Flavonoidy inhibují *in vitro* aktivitu proteas a akumulaci proteoglykanů a hyaluronanu. Anthokyany a extrakty z některých rostlin obsahující flavonoidy inhibují aktivitu elastasy, trypsinu a α -chymotrypsinu. Flavonoidy tlumí aktivaci leukocytů, které v aktivním stavu uvolňují proteasy (Mohácsi et al., 1992; Simpson et al., 1993; Nikkari et al., 1995; Schramm et German, 1998).

6.13 Vliv na replikaci bakterií

Některé druhy bakterií a jejich produkty mají podíl na vzniku infekční endokarditidy, poškození srdce revmatickou horečkou a dalších chorob. Zdá se, že

frekvence a vážnost bakteriálních nemocí má souvislost s onemocněním cévního systému. Až na některé výjimky se flavonoidy jeví jako inhibitory růstu a replikace bakterií patogenních pro cévní systém člověka. Tento vliv se přičítá schopnosti flavonoidů indukovat poškození bakteriální DNA. Navíc mohou flavonoidy pomáhat při cévních poruchách způsobených právě bakteriemi (Ivancheva et al., 1992; Schramm et German, 1998).

6.14 Vliv na replikaci virů

Myokarditida je onemocnění myocytů, při kterém může dojít k jejich degeneraci a nekróze. Primárně je často spojována s viry, avšak její etiologie je poměrně málo prozkoumána. Poškození myocytů je způsobeno buď replikací viru v těchto buňkách, načež lyzované myocyty vylučují myosin, který přitahuje a aktivuje leukocyty pomocí cytokinů, nebo se virus replikuje v myocytu do té doby, dokud ho nezničí autoimunitní proces zprostředkovaný T-lymfocyty. Antivirový účinek byl zjištěn jak u flavonoidů, tak u rostlinných extraktů obsahujících flavonoidy. Např. známý quercetin účinkoval proti HSV a proti chřipkovému viru. Účinek flavonoidů má vzhledem k jejich strukturní variabilitě různý mechanismus. Flavonoidy působí i na jiné viry (EBV, HIV, virus hepatitidy, poliovirus atd.). Nejenže flavonoidy inhibují replikaci virové částice, ale mohou také posílit antivirové působky (např. interferony) a inhibovat aktivitu p56^{lck}, tyrosinkinasy uplatňující se při aktivaci T lymfocytů (Leslie et al., 1989; Caforio et McKenna, 1996; Huber, 1997; Schramm et German, 1998; Formica et Regelson, 2000).

7 Shrnutí a závěr

Flavonoidy představují velmi rozšířenou skupinu rostlinných látek, kterou řadíme mezi polyfenoly. Základní strukturou flavonoidů je flavan složený z difenylpropanu (dvě benzenová jádra spojená třemi uhlíky, které s pomocí kyslíku tvoří heterocyklus). Celá molekula se tedy skládá ze tří kruhů. Flavonoidy jsou produkty sekundárního metabolismu rostlin. Jako výchozí sloučenina pro jejich syntézu slouží glukóza. Jsou známy dvě cesty syntézy – šikimátová a acetátová, obě se posléze spojují v patnáctiuhlíkatý produkt. Flavonoidy můžeme rozdělit do několika tříd s charakteristickými vlastnostmi. Nejznámější jsou flavonoly, flavony, flavanony, flavanoly, anthokyanidiny, chalkony a isoflavonoidy. Vyskytují se buď jako glykosidy nebo jako samotné aglykony. V rostlinném organismu vznikly za účelem ochrany před predátory, nepříznivými vlivy (např. UV) a také jim slouží jako lákadla pro opylovače. Lidé mohou tyto látky najít v ovoci, zelenině, ovocných šťávách, víně atd. Pro lidský organismus mají flavonoidy příznivý vliv. Tento je zajisté způsoben spoluprací více faktorů (látek) obsažených v rostlinné potravě. Pro zajímavost uvedme, že mnoho flavonoidů má hořkou chuť, a šlechtěním rostlin za účelem dosažení lepší a sladší chuti, případně jejich nevhodná potravinářská a kuchyňská úprava mohou obsah těchto látek snižovat. Metabolismus flavonoidů je poměrně složitý. Některé flavonoidy se vstřebávají už v tenkém střevě, jiné putují až do tlustého střeva, kde podléhají vlivu bakteriální mikroflóry, která je schopná je štěpit. Mnohé výzkumy kladou důraz na cukernou složku. Tento může být nápomocen při vstřebávání v tenkém střevě (do krve se však dostává už jen aglykon), nebo naopak nutí glykosid k další cestě do tlustého střeva, kde jej zpracovává bakteriální mikroflóra.. Pro metabolismus flavonoidů jsou nejdůležitější tenké střevo, játra a ledviny, kde podléhají první, druhé a třetí fázi biotransformace. Ne všechny metabolity flavonoidů se v organismu uplatní. Nepotřebné se vyloučí močí a žlučí, některé degradační produkty vyloučené do žluči se mohou opět vstřebat v tlustém střevě. Metabolity flavonoidů, které si tělo ponechalo, přispívají svými vlastnostmi k ochraně organismu před nežádoucími vlivy. Pole působnosti je široké a vychází ze základních mechanismů: antioxidační aktivity, vychytávání volných radikálů, tvorbou kovových chelátů, vlivu na regulační dráhy signalizace, protizánětlivého, antivirového, antibakteriálního účinku a dalších. Výzkumy se zabývají zejména vlivem flavonoidů na prevenci vzniku nádorů a kardiovaskulárních nemocí, což je nejčastější příčina úmrtí ve vyspělých zemích.

Tato kapitola neměla za cíl dosáhnout celou problematiku flavonoidů, ale pouze uvést některé základní poznatky.

Seznam literatury

- Anter E., Thomas S.R., Schulz E., Shapira O.M., Vita J.A., Keaney J.F. Jr. Activation of eNOS by the p38 MAP kinase in response to black tea polyphenols. *J Biol Chem.* Epub 2004.
- Arts I.C., Jacobs D.R. Jr., Folsom A.R., Dietary catechins and cancer incidence: the Iowa Women's Health Study. *IARC Sci Publ.* 156, 353-5, 2002.
- Balasubramanian S., Govindasamy S. Inhibitory effect of dietary flavonol quercetin on 7,12-dimethyl-benz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *Carcinogenesis* 17, 877-879, 1996.
- Beecher G.A., Overview of Dietary Flavonoids: Nomenclature, Occurance and Intake. *The American Journal of Clinical Nutrition, J Nutr.* 133, 3248S-3254S, 2003
- Bravo L., Polyphenols: Chemistry, Dietary sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews* 1998: 317-333.
- Boersma M.G., Woude H., Van Der Bogaards J., Boeren S., Vervoort J., Cnubben N.H., Iersel M.L., Van Bladeren P.J., Van Rietjens I.M.C.M., Regioselectivity of phase II metabolism of luteolin and quercetin by UDP-glucuronosyl transferases. *Chem. Res. Toxicol.* 15, 662-670, 2002. In: Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L, Polyphenols: Food Sources and Bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79, 727-747, 2004.
- Caforio AL, McKenna WJ., Recognition and optimum management of myocarditis. *Drug.* 52(4), 515-25, 1996.
- Cooke D., Steward W.P., Gescher A.J., Marczylo T., Anthocyanins from fruits and vegetables--does bright colour signal cancer chemopreventive activity? *Eur J Cancer.* 41(13), 1931-40, 2005.
- Crespy V, Morand C., Besson C., Manach C., Démigné C., Rémésy C., Comparison of the intestinal absorption of quercetin, phloretin and their glucosides in rats. *J Nutr.* 131(8), 2109-14, 2001.
- Croft K.D., The Chemistry and Biological Effects of Flavonoids and Phenolic Acids. *Ann N Y Acad Sci.* 20, 435-42, 1998
- Dadáková - <http://home.zf.jcu.cz/dadakova/texty/flavon.htm>, 23. 6. 2006.

- Day A.J., DuPont M.S., Ridley S., Rhodes M., Rhodes M.J.C., Morgan M.R.A., Williamson G., Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver L-glucosidase activity. *FEBS Letters* 436, 71-75, 1998
- Day A.J., Cañada F.J., Díaz J.C., Kroon P.A., Mclauchlan R., Faulds C.B., Plumb G.W., Morgan M.R., Williamson G. Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase. *FEBS Lett.* 468(2-3), 166-70, 2000. In: Hollman P.C.H., Absorption, bioavailability, and metabolism of flavonoids. *Pharmaceutical biology* 42, 74-83, 2004.
- Donovan J.L., Crespy V., Manach C., et al., Catechin is metabolized by both the small intestine and the liver in rats. *J Nutr.* 131, 1753-7, 2001.
- Erlund I., Kosonen T., Alfthan G., Mäenpää J., Perttunen K., Kenraali J., Parantainen J., Aro A., Pharmacokinetics of quercetin from quercetin aglycone and rutin in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol.* 56(8), 545-53, 2000.
- Fisher M.B., Paine M.F., Strelevitz T.J., Wrighton S.A., The role of hepatic and extrahepatic UDP-glucuronosyltransferases in human drug metabolism. *Drug Metab Rev.* 33(3-4), 273-97, 2001. In: Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L, Polyphenols: Food Sources and Bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79, 727-747, 2004.
- Fiers W., Beyaert R., Declercq W., Vandenaabeele P., More than one way to die: apoptosis, necrosis and reactive oxygen damage. *Oncogene.* 18(54), 7719-30, 1999.
- Formica J.V., Regelson W., Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology*, 33, 1061 - 1080, 1995. In: Wollgast J., Anklam E., Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33, 423-447, 2000.
- Gerritsen M.E., Carley W.W., Ranges G.E., Shen C.P., Phan S.A., Ligon G.F., Perry C.A., Flavonoids inhibit cytokine-induced endothelial cell adhesion protein gene expression. *Am J Pathol.* 147(2), 278-92, 1995.
- Goldbohm R.A., Hertog M.G., Brants H.A., van Poppel G., van den Brandt P.A., Consumption of black tea and cancer risk: a prospective cohort study. *J Natl Cancer Inst.* 17, 88(2), 93-100, 1996

- Gonzalez F.J., The molecular biology of cytochrome P450s, *Pharmacol Rev.* 40(4), 243-88, 1988. In: Zhai S., Dai R., Friedman F.K., Vestal R.E., Comparative Inhibition of Human Cytochromes P450 1A1 and 1A2 by Flavonoids. *Drug Metab Dispos.* 26, 10, 989-992, 1998.
- Granado-Serrano A.B., Martín M.A., Bravo L., Goya L., Ramos S., Quercetin induces apoptosis via caspase activation, regulation of Bcl-2, and inhibition of PI-3-kinase/Akt and ERK pathways in a human hepatoma cell line (HepG2). *J Nutr.* 136(11), 2715-21, 2006.
- Griffiths L.A., Barrow A., Metabolism of flavonoid compounds in germ-free rats. *Biochem* 130, 1161-1162, 1972.
- Griffiths L.A., Smith G.E., Metabolism of apigenin and related compounds in the rat. Metabolite formation in vivo and by the intestinal microflora in vitro. *Biochem J.* 128(4), 901-11, 1972.
- Guengerich F.P., Roles of cytochrome P450 enzymes in chemical carcinogenesis and cancer chemotherapy. *Cancer Res.* 48, 2946-2954, 1988
- Guengerich F.P., Characterization of human cytochrome P450 enzyme in carcinogen metabolism, *Asian Pac J Pharmacol* 5, 327–345, 1990. In: Zhai S., Dai R., Friedman F.K., Vestal R.E., Comparative Inhibition of Human Cytochromes P450 1A1 and 1A2 by Flavonoids. *Drug Metab Dispos.* 26, 10, 989-992, 1998.
- Hackett A.M., The metabolism of flavonoid compounds in mammals. *Prog Clin Biol Res.* 213, 177-94, 1986. In: Hollman P.C.H., Absorption, bioavailability, and metabolism of flavonoids. *Pharmaceutical biology* 42, 74-83, 2004
- Hammerstone J.F., Lazarus S.A., Schmitz H.H., Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods. *J Nutr.* 130(8S Suppl), 2086S-92S, 2000.
- Handique J.G., Baruah J.B., Polyphenolic compounds: an Overview. *Reactive and functional polymers* 52, 163-188, 2002.
- Hayes J.D., McLellan L.I., Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res.* 31(4), 273-300, 1999.
- Henstrand J.M., McCue K.F., Brink K., Handa A.K., Herrmann K.M., Conn E.E., Light and Fungal Elicitor Induce 3-Deoxy-d-arabino-Heptulosonate 7-Phosphate

Synthase mRNA in Suspension Cultured Cells of Parsley (*Petroselinum crispum* L.). *Plant Physiol.* 1992 Feb;98(2):761-763.

- Hertog M.G., Feskens E.J., Hollman P.C., Katan M.B., Kromhout D., Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet.* 342(8878), 1007-11, 1993
- Hertog M.G., Sweetnam P.M., Fehily A.M., Elwood P.C., Kromhout D., Antioxidant flavonols and ischemic heart disease in a Welsh population of men: the Caerphilly Study. *Am J Clin Nutr.* 65(5), 1489-94, 1997.
- Higdon J., Flavonoids. Linus Pauling Institute. Oregon State University. 2005 ;
doplnila: Drake V. J., 2008.
- <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/phytochemicals/flavonoids/>
- Higdon J.V., Frei B., Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 43(1), 89-143, 2003.
- Hirvonen T., Pietinen P., Virtanen M., Ovaskainen M.L., Häkkinen S., Albanes D., Virtamo J., Intake of flavonols and flavones and risk of coronary heart disease in male smokers. *Epidemiology.* 12(1), 62-7, 2001.
- Hollman P.C.H., de Vries J.H.M., van Leeuwen S.D., Mengelers M.J.B., and Katan M.B., Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Clin Nutr* 62,1276-82, 1995.
- Hollman P.C.H., van Trijp J.M.P., Buysman M.N.C.P., v.d. Gaag M.S., Mengelers M.J.B., de Vries J.H.M., Katan M.B., Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Letters* 418, 152-156, 1997.
- Hollman P.C.H., Buijsman M.N., van Gameren Y., Cnossen E.P., de Vries J.H., Katan M.B., The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free-Radic-Res.* 31(6), 569-73, 1999. In: Hollman P.C.H., Absorption, bioavailability, and metabolism of flavonoids. *Pharmaceutical biology* 42, 74-83, 2004.
- Hollman P.C.H., Absorption, bioavailability, and metabolism of flavonoids. *Pharmaceutical biology* 42, 74-83, 2004.
- Hollman P.C.H., Katan M.B., Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man, *Arch Toxicol Suppl.* 20, 237-48, 1998. In: Hollman P.C.H., Absorption, bioavailability, and metabolism of flavonoids. *Pharmaceutical biology* 42, 74-83, 2004

- Holt R.R., Lazarus S.A., Sullards M.C., Zhu Q.Y., Schramm D.D., Hammerstone J.F., Fraga C.G., Schmitz H.H., Keen C.L., Procyanidin dimer B2 [epicatechin-(4beta-8)-epicatechin] in human plasma after the consumption of a flavanol-rich cocoa. *Am J Clin Nutr.* 76(4), 798-804, 2002.
- Huber S.A., Autoimmunity in myocarditis: relevance of animal models. *Clin Immunol Immunopathol.* 83(2), 93-102, 1997.
- Huxley R.R., Neil H.A., The relation between dietary flavonol intake and coronary heart disease mortality: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Clin Nutr.* 57(8), 904-8, 2003.
- Ivancheva S., Manolova N., Serkedjieva J., Dimov V., Ivanovska N., Polyphenols from Bulgarian medicinal plants with anti-infectious activity. *Basic Life Sci.* 59, 717-28, 1992.
- Kaur, C., Kapoor H.C., Antioxidants in fruits and vegetables--the millennium's health. *Int-j-food-sci-technol.* Oxford : Blackwell Scientific Ltd. 36 (7), 703-725, 2001.
- Knekt P., Jarvinen R., Reunanen A., Maatela J., Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *BMJ.* 312(7029), 478-81, 1996.
- Knekt P., Kumpulainen J., Järvinen R., Rissanen H., Heliövaara M., Reunanen A., Hakulinen T., Aromaa A., Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr.* 76(3), 560-8, 2002.
- Koster H., Halsema I., Scholtens E., Knippers M., Mulder G.J., Dose-dependent shifts in the sulfation and glucuronidation of phenolic compounds in the rat in vivo and in isolated hepatocytes. The role of saturation of phenolsulfotransferase. *Biochem Pharmacol.* 15, 30(18), 2569-75, 1981. In: Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L, Polyphenols: Food Sources and Bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79, 727-747, 2004.
- Kristiansen K.N., Rhode W., Structure of the *Hordeum vulgare* gene encoding dihydroflavonol-4-reductase and molecular analysis of ant18 mutants blocked in flavonoid synthesis. *Mol-Gen-Genet.* 230(1-2): 49-59, 1991.
- Lachman J., Hejtmánková A., Orsák M., Pivec V., Natural antioxidants - important food constituents in human nutrition for healthy life in the beginning century. *ČZU Praha*, 75-90, 2004.

- Lee M.J., Wang Z.Y., Li H., Chen L., Sun Y., Gobbo S., Balentine D.A., Yang C.S., Analysis of plasma and urinary tea polyphenols in human subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 4(4), 393-9, 1995.
- Lee H., Yeom H., Kim Y.G., Yoon C.N., Jin C., Choi J.S., Kim B.R., Kim D.H., Structure-related inhibition of human hepatic caffeine N3-demethylation by naturally occurring flavonoids. *Biochem Pharmacol.* 1, 55(9), 1369-75, 1998.
- Lee M-J, Maliakal P., Chen L., Meng X., Bondoc F.Y., Prabhu S., Lambert G., S. Mohr, Yang Ch.S., Pharmacokinetics of Tea Catechins after Ingestion of Green Tea and (-)-Epigallocatechin-3-gallate by Humans: Formation of Different Metabolites and Individual Variability. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention Vol. 11*, 1025-1032, 2002.
- Leese H.J. and Semenza G., On the Identity between the Small Intestinal Enzymes Phlorizin Hydrolase and Glycosylceramidase. *Biol. Chem.* 248, 8170-8173, 1973.
- Leslie K., Blay R., Haisch C., Lodge A., Weller A., Huber S., Clinical and experimental aspects of viral myocarditis. *Clin Microbiol Rev.* 2(2), 191-203, 1989.
- Li B.Q., Fu T., Gong W.H., Dunlop N., Kung H., Yan Y., Kang J., Wang J.M., The flavonoid baicalin exhibits anti-inflammatory activity by binding to chemokines. *Immunopharmacology.* 49(3), 295-306, 2000.
- Li Z.G., Shimada Y., Sato F., Maeda M., Itami A., Kaganoi J., Komoto I., Kawabe A., Imamura M., Inhibitory effects of epigallocatechin-3-gallate on N-nitrosomethylbenzylamine-induced esophageal tumorigenesis in F344 rats. *Int J Oncol.* 21(6), 1275-83, 2002.
- Magder S., Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? *Crit Care.* 10(1), 208, 2006.
- Manach C., Morand C., Crespy V., Demigné C., Texier O., Régéat F., Rémésy C., Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivatives which retain antioxidant properties. *FEBS Lett.* 426(3), 331-6, 1998.
- Manach C., Donovan J.L., Pharmacokinetics and metabolism of dietary flavonoids in humans. *Free Radic Res.* 38(8), 771-85, 2004.

- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L, Polyphenols: Food Sources and Bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79, 727-747, 2004
- Martin, C., Prescott, A., Mackay, S., Bartlett, J., Vrijlandt, E., Control of anthocyanin biosynthesis in flowers of *Antirrhinum majus*. *Plant J.* 1, 37–49, 1991.
- McLemore T.L., Adelberg S., Liu M.C., McMahon N.A., Yu S.J., Hubbard W.C., Czerwinski M., Wood T.G., Storeng R., Lubet R.A., et al., Expression of CYP1A1 gene in patients with lung cancer: evidence for cigarette smoke-induced gene expression in normal lung tissue and for altered gene regulation in primary pulmonary carcinomas. *J Natl Cancer Inst.* 15, 82(16), 1333-9, 1990. In: Zhai S., Dai R., Friedman F.K., Vestal R.E., Comparative Inhibition of Human Cytochromes P450 1A1 and 1A2 by Flavonoids. *Drug Metab Dispos.* 26, 10, 989-992, 1998.
- Middleton E. Jr., Kandaswami C., Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. *Biochem Pharmacol.* 43(6), 1167-79, 1992.
- Miksicek R.J., Commonly occurring plant flavonoids have estrogenic activity. *Mol Pharmacol.* 44(1), 37-43, 1993.
- Mira L, Fernandez MT, Santos M, Rocha R, Florêncio MH, Jennings KR., Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. *Free Radic Res.* 36(11), 1199-208, 2002.
- Mohácsi A., Fülöp T. Jr., Kozlovsky B., Hauck M., Kiss I., Leövey A., Sera and leukocyte elastase-type protease and antiprotease activity in healthy and atherosclerotic subjects of various ages. *J Gerontol.* 47(5), B154-8, 1992.
- Mojzisová G, Kuchta M., Dietary flavonoids and risk of coronary heart disease. *Physiol Res.* 50(6), 529-35, 2001.
- Morton L.W., Abu-Amsha Caccetta R., Puddey I.B., Croft K.D., Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 27, 152–159, 2000.
- Nathan L., Chaudhuri G., Estrogens and atherosclerosis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 37, 477-515, 1997.
- Nikkari S.T., O'Brien K.D., Ferguson M., Hatsukami T., Welgus H.G., Alpers C.E., Clowes A.W., Interstitial collagenase (MMP-1) expression in human carotid atherosclerosis. *Circulation.* 92(6), 1393-8, 1995.

- Olthof MR, Hollman PC, Buijsman MN, van Amelsvoort JM, Katan MB., Chlorogenic acid, quercetin-3-rutinoside and black tea phenols are extensively metabolized in humans. *J Nutr.* 133(6), 1806-14, 2003.
- Otake Y., Walle T., Oxidation of the flavonoids galangin and kaempferide by human liver microsomes and CYP1A1, CYP1A2, and CYP2C9. *Drug Metab Dispos.* 30(2), 103-5, 2002.
- Pietta P.G., Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 63, 1035–1042, 2000. In: Otake Y., Walle T., Oxidation of the flavonoids galangin and kaempferide by human liver microsomes and CYP1A1, CYP1A2, and CYP2C9. *Drug Metab Dispos.* 30(2), 103-5, 2002.
- Piskula M.K., Terao J., Accumulation of (-)-epicatechin metabolites in rat plasma after oral administration and distribution of conjugation enzymes in rat tissues. *J Nutr.* 128(7), 1172-8, 1998.
- Piskula M.K., Soy isoflavone conjugation differs in fed and food-deprived rats. *J Nutr.* 130(7), 1766-71, 2000.
- Ramos S., Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *J Nutr Biochem.* 18(7), 427-42, 2007.
- Ramos S., Cancer chemoprevention and chemotherapy: dietary polyphenols and signalling pathways. *Mol Nutr Food Res.* 52(5), 507-26, 2008.
- Rechner A.R., Kuhnle G., Bremner P., Hubbard G.P., Moore K.P., Rice-Evans C.A., The metabolic fate of dietary polyphenols in humans. *Free Radic Biol Med.* 15, 33(2), 220-35, 2002. In: Hollman P.C.H., Absorption, bioavailability, and metabolism of flavonoids. *Pharmaceutical biology* 42, 74-83, 2004.
- Ren J., Meng S., Lekka Ch.E., Kaxiras E., Complexation of flavonoids with iron: structure and optical signatures. *J Phys Chem B.* 112(6), 1845-50, 2008.
- Rhodes MJ., Physiologically-active compounds in plant foods: an overview. *Proc Nutr Soc.* 55(1B), 371-84, 1996.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G., Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 20, No. 7, pp 933-956, 1996.

- Scambia G, Ranelletti FO, Benedetti Panici P, Piantelli M, Rumi C, Battaglia F, Larocca LM, Capelli A, Mancuso S., Type-II estrogen binding sites in a lymphoblastoid cell line and growth-inhibitory effect of estrogen, anti-estrogen and bioflavonoids. *Int J Cancer*. 46(6), 1112-6, 1990.
- Scheline R.R. Metabolism of foreign compounds by gastrointestinal microorganisms. *Pharmacol Rev*, 25, 451-523, 1973. In: Hollman P.C.H., Absorption, bioavailability, and metabolism of flavonoids. *Pharmaceutical biology* 42, 74-83, 2004.
- Schijlen E.G., Ric de Vos C.H., van Tunen A.J., Bovy A.G., Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry* 65, 2631–2648, 2004.
- Schramm D.D., German J.B., Potential effects of flavonoids on the etiology of vascular disease. *J-nutr-biochem.*, 9 (10), 560-566, 1998.
- Sesink A.L., O'Leary K.A., Hollman P.C.H. Quercetin Glucuronides but Not Glucosides Are Present in Human Plasma after Consumption of Quercetin-3-Glucoside or Quercetin-4'-Glucoside. *J Nutr*. 131(7), 1938-41, 2001.
- Sesink A.L., Arts I.C., Faassen-Peters M., Hollman P.C. Intestinal uptake of quercetin-3-glucoside in rats involves hydrolysis by lactase phlorizin hydrolase. *J Nutr*. 133(3), 773-6, 2003
- Sesso H.D., Gaziano J.M., Liu S., Buring J.E., Flavonoid intake and the risk of cardiovascular disease in women. *Am J Clin Nutr* 77, 1400–8, 2003.
- Sfakianos J., Coward L., Kirk M., Barnes S., Intestinal uptake and biliary excretion of the isoflavone genistein in rats. *J Nutr*. 127(7), 1260-8, 1997.
- Silva ID, Rodrigues AS, Gaspar J, Laires A, Rueff J., Metabolism of galangin by rat cytochromes P450: relevance to the genotoxicity of galangin, *Mutat Res*. 24, 393(3), 247-57, 1997a. In: Otake Y. and Walle T., Oxidation of the Flavonoids Galangin and Kaempferide by Human Liver Microsomes and CYP1A1, CYP1A2, and CYP2C9. *Drug Metab Dispos*. 30, 2, 103-105, 2002.
- Silva I.D., Rodrigues A.S., Gaspar J., Maia R., Laires A., Rueff J., Involvement of rat cytochrome 1A1 in the biotransformation of kaempferol to quercetin: relevance to the genotoxicity of kaempferol. *Mutagenesis* 12(5), 383-90, 1997b.
- Simpson R., Alon R., Kobzik L., Valeri C.R., Shepro D., Hechtman H.B., Neutrophil and nonneutrophil-mediated injury in intestinal ischemia-reperfusion. *Ann Surg*. 218(4), 444-53, discussion 453-4, 1993.

- Sivaraman L., Leatham M.P., Yee J., Wilkens L.R., Lau A.F., Le Marchand L., CYP1A1 genetic polymorphisms and in situ colorectal cancer. *Cancer Res.* 15, 54(14), 3692-5, 1994.
- Smith T.J., Guo Z., Guengerich F.P., Yang C.S., Metabolism of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) by human cytochrome P450 1A2 and its inhibition by phenethyl isothiocyanate. *Carcinogenesis.* 17(4), 809-13, 1996.
- Spencer JP, Rice-Evans C, Williams RJ., Modulation of pro-survival Akt/protein kinase B and ERK1/2 signaling cascades by quercetin and its in vivo metabolites underlie their action on neuronal viability. *J Biol Chem.* 278(37), 34783-93, 2003.
- Suganuma M., Okabe S., Oniyama M., Tada Y., Ito H., Fujiki H., Wide distribution of [3H](-)-epigallocatechin gallate, a cancer preventive tea polyphenol, in mouse tissue. *Carcinogenesis.* 19(10), 1771-6, 1998.
- Tanaka Y., Tsuda S., Kusumi T. Metabolic engineering to modify flower color. *Plant and Cell Physiology* 39:1119–1126, 1998. In: Schijlen E.G. , Ric de Vos C.H., van Tunen A.J., Bovy A.G., Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry* 65, 2631–2648, 2004.
- Tiisala S., Majuri M.L., Carpén O., Renkonen R., Genistein enhances the ICAM-mediated adhesion by inducing the expression of ICAM-1 and its counter-receptors. *Biochem Biophys Res Commun.* 203(1), 443-9, 1994.
- Vaidyanathan J.B., Walle T., Cellular uptake and efflux of the tea flavonoid (-)-epicatechin-3-gallate in the human intestinal cell line Caco-2. *J Pharmacol Exp Ther* 307(2), 745-52, 2003.
- van Acker F.A.A.(ed.). New synthetic flavonoids as protectors against doxorubicin-induced cardiotoxicity (from synthesis to clinic). Vrije universiteit Amsterdam, Academisch proefschrift, 2001. ISBN 90-6464-347-4. 175 s.
- Walgren R.A., Walle U.K., Walle T., Transport of quercetin and its glucosides across human intestinal epithelial Caco-2 cells. *Biochem Pharmacol.* 15, 55(10),1721-7, 1998.
- Walgren R.A., Karnaky K.J., Jr., Lindenmayer G.E. and Walle T., Efflux of Dietary Flavonoid Quercetin 4'-β-Glucoside across Human Intestinal Caco-2 Cell Monolayers

by Apical Multidrug Resistance-Associated Protein-2. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 294, Issue 3, 830-836, 2000.

- Walle U.K., Galijatovic A., Walle T., Transport of the flavonoid chrysin and its conjugated metabolites by the human intestinal cell line Caco-2. *Biochem Pharmacol.* 1, 58(3), 431-8, 1999.
- Walle U.K., Walle T., Induction of human UDP-glucuronosyltransferase UGT1A1 by flavonoids-structural requirements. *Drug Metab Dispos.* 30(5), 564-9, 2002.
- Williamson G., Plumb G.W., Uda Y., Price K.R. and Rhodes M.J.C., *Carcinogenesis* 17, 2385-2387, 1996. In: Day A.J., DuPont M.S., Ridley S., Rhodes M., Rhodes M.J.C., Morgan M.R.A., Williamson G., Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver L-glucosidase activity. *FEBS Letters* 436, 71-75, 1998
- Wollgast J., Anklam E., Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33, 423-447, 2000.
- Wu X, Cao G, Prior RL., Absorption and metabolism of anthocyanins in elderly women after consumption of elderberry or blueberry. *J Nutr.*, 132(7), 1865-71, 2002.
- Yochum L., Kushi L.H., Meyer K., Folsom A.R., Dietary Flavonoid Intake and Risk of Cardiovascular Disease in Postmenopausal Women. *American Journal of Epidemiology.* 149(10), 943-949, 1999.
- Zhai S., Dai R., Friedman F.K., Vestal R.E., Comparative Inhibition of Human Cytochromes P450 1A1 and 1A2 by Flavonoids. *Drug Metab Dispos.* 26, 10, 989-992, 1998.
- Zloch Z.- http://www.vitamins.cz/archiv/2003/doc/1/L_08AC.doc, 16. 5. 2006.
- Zuker A., Tzfira T., Ben-Meir H., Ovadis M., Shklarman E., Itzhaki H., Forkmann G., Martens S., Neta-Sharir I., Weiss D., Vainstein A., Modification of flower color and fragrance by antisense suppression of the flavanone-3-hydroxylase gene. *Mol Breeding*, 9, 33-41, 2002. In: Schijlen E.G. , Ric de Vos C.H., van Tunen A.J., Bovy A.G., Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry* 65, 2631-2648, 2004.

