

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra chemie



**Antioxidační aktivita a obsah flavonoidů u vybraných
zástupců čeledi hluchavkovitých**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Klára Jelenová

Obor studia: Kvalita a zpracování zemědělských produktů

Vedoucí práce: Ing. Matyáš Orsák, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Antioxidační aktivita a obsah flavonoidů u vybraných zástupců čeledi hluchavkovitých" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13. 4. 2018 _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Matyáši Orsákovi, Ph.D. za jeho cenné rady, připomínky a odborné vedení, které mi věnoval při sepisování této práce. Dále děkuji Ing. Luboši Paznochtovi za pomoc při analytických stanoveních v laboratoři. Velké díky patří rovněž mým rodičům a manželovi za podporu během celého studia.

Antioxidační aktivita a obsah flavonoidů u vybraných zástupců čeledi hluchavkovitých

Souhrn

Tato práce je zaměřena na stanovení antioxidační aktivity methanolických extraktů rostlin čeledi *Lamiaceae*. Bylo vybráno čtrnáct rostlinných druhů této čeledi, které jsou v České republice hojně využívány jak v oblasti lidového léčení, tak v potravinářství. Antioxidační aktivita byla stanovována pomocí metody DPPH. Výsledky ukázaly, že mezi sledovanými rostlinnými druhy existuje v antioxidační aktivitě významný rozdíl. Nejvyšší antioxidační aktivita byla naměřena u dobromysli obecné (*Origanum vulgare*).

Součástí práce bylo rovněž stanovení obsahu flavonoidních látek v methanolických extraktech rostlin. Spektrofotometricky byl stanovován celkový obsah flavonoidů a jejich podskupin 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů. Podle získaných výsledků byla zjištěna závislost celkového obsahu flavonoidů na rostlinném druhu. Tato závislost se však nepotvrdila u obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů.

Vzhledem k tomu, že se flavonoidům připisuje značná antioxidační aktivita, byla v této práci posuzována možná pozitivní korelace mezi obsahem těchto látek a antioxidační aktivitou. Její existence byla nalezena pouze mezi obsahem 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů a antioxidační aktivitou, nikoliv mezi celkovým obsahem flavonoidů a antioxidační aktivitou.

Klíčová slova: celkové flavonoidy, DPPH, kvercetin, *Lamiaceae*, oregano, radikál

Antioxidant activity and flavonoid content of selected representatives of the family *Lamiaceae*

Summary

This thesis is focused on determining the antioxidant activity of methanolic extracts of plants of the family Lamiaceae. Fourteen species of this family had been selected, which are widely used in the Czech Republic both in the field of folk healing and in the food industry. The antioxidant activity was determined using the DPPH method. The results showed a significant difference in the antioxidant activity among the examined plant species. The highest antioxidant activity was measured in *Origanum vulgare*.

The thesis also included determination of the content of flavonoids in methanolic extracts of plants. The total content of flavonoids and their subgroups of 3', 4'-dihydroxyflavones and flavanols was determined spectrophotometrically. According to the obtained results, the dependence of the total content of flavonoids on the plant species was found. However, this dependence was not confirmed by the content of 3', 4'-dihydroxyflavones and flavanols.

Due to the significant antioxidant activity attributed to flavonoids, a positive correlation between the content of these substances and antioxidant activity was considered in this thesis. However, it has been found only between 3', 4'-dihydroxyflavones and flavanols and antioxidant activity; not between the total content of flavonoids and antioxidant activity.

Keywords: total flavonoids, DPPH, quercetin, *Lamiaceae*, oregano, radical

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíle práce a hypotézy	2
Cíle práce	2
Hypotézy.....	2
3 Literární rešerše.....	3
Antioxidační aktivita.....	3
3.1.1 Reaktivní formy kyslíku	3
3.1.2 Oxidační stres	5
3.1.3 Antioxidanty	5
3.1.4 Metody měření antioxidační aktivity	6
3.1.4.1 Metoda FRAP.....	7
3.1.4.2 Metoda ABTS	7
3.1.4.3 Metoda ORAC	7
3.1.4.4 Metoda DPPH	8
Fenolické sloučeniny (polyfenoly).....	8
Flavonoidy.....	9
3.1.4.5 Anthokyaniny a anthokyanidiny	12
3.1.4.6 Flavonoly.....	12
3.1.4.7 Flavony.....	13
3.1.4.8 Flavanony	13
3.1.4.9 Isoflavony.....	13
3.1.4.10 Flavanoly.....	14
3.1.4.11 Biosyntéza flavonoidů.....	14
3.1.4.12 Absorpce a metabolismus flavonoidů	19
3.1.5 Fenolické kyseliny	20
3.1.6 Třísloviny.....	21
3.1.7 Stilbeny	22
3.1.8 Lignany	23
Čeled' hluchavkovité (<i>Lamiaceae</i>).....	24
3.1.9 Jablečník (<i>Marrubium L.</i>).....	24
3.1.10 Hluchavka (<i>Lamium L.</i>).....	25
3.1.11 Šanta (<i>Nepeta L.</i>)	26
3.1.12 Meduňka (<i>Melissa L.</i>).....	26

3.1.13	Saturejka (<i>Satureja</i> L.).....	27
3.1.14	Yzop (<i>Hyssopus</i> L.)	27
3.1.15	Dobromysl (<i>Origanum</i> L.).....	28
3.1.16	Majoránka (<i>Majorana</i> MILL.).....	29
3.1.17	Mateřídouška (<i>Thymus</i> L.).....	29
3.1.18	Bazalka (<i>Ocimum</i> L.).....	30
3.1.19	Máta (<i>Mentha</i> L.).....	30
3.1.20	Šalvěj (<i>Salvia</i> L.)	31
3.1.21	Rozmarýn (<i>Rosmarinus</i>).....	32
4	Metodika	33
	Rostlinný materiál a uchování vzorků	33
	Příprava vzorků	33
	Použité chemikálie a přístroje	34
4.1.1	Stanovení antioxidační aktivity	34
4.1.2	Stanovení celkového obsahu flavonoidů	34
4.1.3	Stanovení 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů.....	34
	Stanovení antioxidační aktivity	35
	Stanovení celkového obsahu flavonoidů	36
	Stanovení 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů	37
	Výsledky a statistické zpracování	39
4.1.4	Stanovení antioxidační aktivity	39
4.1.5	Stanovení flavonoidních látek	45
5	Diskuze	52
6	Závěr	56
7	Seznam literatury	57
8	Seznam použitých zkratk a symbolů	68
9	Přílohy	69
10	Seznamy	95
	10. 1 Seznam obrázků	95
	10. 2 Seznam tabulek	96
	10. 3 Seznam příloh	96

1 Úvod

Rostlinné sekundární metabolity vykazují významné farmakologické vlastnosti a mají často velmi prospěšné účinky na lidský organismus. Tyto přírodní látky jsou tak stále více využívány v potravinářském, farmaceutickém či kosmetickém průmyslu.

Mnoho poruch v lidském organismu, jako jsou koronární onemocnění srdce, záněty, diabetes, karcinogeneze, neurodegenerativní onemocnění aj., mohou vznikat důsledkem zvýšené koncentrace volných radikálů v organismu. Hlavní příčinou těchto chorob je oxidační stres, způsobený produkcí těchto radikálů. Škodlivým účinkům lze do značné míry předcházet příjmem antioxidačních doplňků nebo potravin, které antioxidanty přímo obsahují.

Většina aromatických a léčivých rostlin obsahuje chemické sloučeniny, které mají antioxidační vlastnosti. Vzhledem k jejich přirozenému původu, jsou antioxidanty získané z rostlin prospěšnější, než ty syntetické. Díky tomu, je studiu biologicky aktivních látek a chemického složení léčivých rostlin, jako potenciálních zdrojů přirozených antioxidantů, věnována velká pozornost.

Čeleď hluchavkovité (*Lamiaceae*) je jednou z nejdůležitějších rostlinných čeledí, která je dobře známá díky různým biologickým a léčivým účinkům. Rostliny této čeledi se sbírají ve volné přírodě nebo jsou pěstovány jako kulturní plodiny. Využívají se na výrobu mnoha komerčních přípravků včetně bylinných čajů, koření, nápojů, léků a farmaceutických přípravků. Zástupci čeledi *Lamiaceae* se již po mnoho let využívají v lidovém léčitelství i jako aromatická koření především díky jejich vysokému obsahu různých fenolických látek, které vykazují vysokou antioxidační aktivitu. Řadí se mezi ně i flavonoidy, které jsou považovány za významné přirozené antioxidanty.

2 Cíle práce a hypotézy

Cíle práce

- Stanovit antioxidační aktivitu u vybraných druhů rostlin čeledi hluchavkovitých
- Stanovit obsah flavonoidních látek u vybraných druhů rostlin čeledi hluchavkovitých
- Nalézt možné korelace mezi obsahy flavonoidních látek a antioxidační aktivitou

Hypotézy

- Rostliny čeledi hluchavkovitých vykazují odlišnou antioxidační aktivitu
- Obsah flavonoidů je závislý na druhu rostliny
- Existuje pozitivní korelace mezi obsahy flavonoidních látek a antioxidační aktivitou

3 Literární rešerše

Antioxidační aktivita

Antioxidační aktivita je definována jako schopnost biologicky aktivních sloučenin udržet buněčné struktury a funkce tím, že účinně odstraňují volné radikály, inhibují peroxidační reakce lipidů a brání dalším oxidativním poškozením (Zou et al., 2016). Antioxidanty jsou tedy molekuly, které – jsou-li přítomny v malých koncentracích ve srovnání s látkami, jež by měly chránit – mohou zabraňovat nebo omezovat oxidační destrukci těchto látek (Paulová a kol., 2002). Již mnohokrát bylo prokázáno, že antioxidanty jsou schopny redukovat riziko chronických onemocnění včetně rakoviny či kardiovaskulárních chorob (Selamoglu et al., 2017).

Mimo endogenní nízkomolekulární antioxidanty, jako je glutathion, koenzym Q, kyselina močová a další, se v poslední době věnuje stále větší pozornost látkám přírodního původu, které se do těla dostávají společně s potravou. Vedle své nutriční a energetické hodnoty tak některé potraviny rostlinného původu působí jako zdroje antioxidantů. Mezi přírodní látky s antioxidačními účinky, které jsou přijímané potravou, patří tradičně antioxidační vitaminy (Paulová a kol., 2002). Poslední dobou se však přikládá stále větší význam jiným přírodním látkám, zejména polyfenolickým sloučeninám, mezi které patří například flavonoidy, katechiny, fenolické kyseliny, stilbenoidy a lignany (Mahato a Banerjee, 2017). Jejich zdrojem je ovoce, zelenina, vláknina, čaj, víno a léčivé a aromatické rostliny. Předpokládaný denní příjem polyfenolů z různých zdrojů, byl odhadnut na 1 g – je tedy vyšší, než příjem antioxidačních vitaminů (Paulová a kol., 2002). Z fytochemikálií vykazují mimo polyfenolické sloučeniny antioxidační aktivitu například alkaloidy (Mahato a Banerjee, 2017).

3.1.1 Reaktivní formy kyslíku

Volné radikály jsou definovány jako molekuly nebo fragmenty molekul obsahující jeden či více nepárových elektronů v atomových nebo molekulových orbitalech. Tento nepárový elektron (či elektrony) dává obvykle volnému radikálu značný stupeň reaktivity. V živých systémech představují nejdůležitější třídu radikály odvozené od kyslíku (Valko et al., 2007). Bylo odhadnuto, že u průměrného člověka útočí každý den na každou tělesnou buňku 10 000 – 20 000 volných radikálů (Valko et al., 2004).

Volné radikály kyslíku, přesněji označované jako reaktivní formy kyslíku (ROS), jsou stejně jako reaktivní formy dusíku (NOS), produkty přirozeného buněčného metabolismu

(Valko et al., 2007). Jedná se o radikálové i neradikálové formy (Ray et al., 2012). Zástupci ROS a NOS jsou uvedeni v tabulkách (Tab. 1, 2).

Endogenní ROS se vytvářejí především na vnitřní membráně mitochondrií během procesu oxidační fosforylace a mají roli při aktivaci jaterních hvězdicovitých buněk (Lu et al., 2017). Rovněž mohou vznikat interakcemi s exogenními zdroji, jako jsou xenobiotické sloučeniny (léčiva, jedy, průmyslové chemikálie) (Ray et al., 2012).

ROS jsou pro živé systémy jak škodlivé, tak i prospěšné. Příznivého účinku dosahují při nízkých až středních koncentracích. Příkladem může být role při obraně proti infekčním činitelům či při indukci mitogenní odpovědi. Škodlivý účinek ROS, způsobující biologické poškození, se nazývá oxidační stres. Ten může vyvolávat i nadprodukce NOS (Valko et al., 2007).

Tab. 1: Reaktivní formy kyslíku (ROS) (Rahman et al., 2012)

Radikál	Látky, které nejsou radikály
Superoxid: $O_2^{\bullet-}$	Peroxid vodíku: H_2O_2
Hydroxyl: OH^{\bullet}	Kyselina chlorná: $HClO$
Peroxyl: RO_2^{\bullet}	Kyselina bromná: $HBrO$
Alkoxyl: RO^{\bullet}	Ozon: O_3
Hydroperoxyl: HO_2^{\bullet}	Singletový kyslík: 1O_2

Tab. 2: Reaktivní formy dusíku (NOS) (Rahman et al., 2012)

Radikál	Látky, které nejsou radikály
Oxid dusnatý: NO^{\bullet}	Oxid dusičitý: NO_2
Kyselina dusitá: HNO_2^{\bullet}	Nitrosyl kation: NO
	Nitrosyl anion: NO^- NO^-
	Oxid dusitý: N_2O_3
	Dinitrogen tetroxid: N_2O_4
	Peroxynitrit: $ONOO^-$
	Alkylperoxynitrit: $ROONO$

3.1.2 Oxidační stres

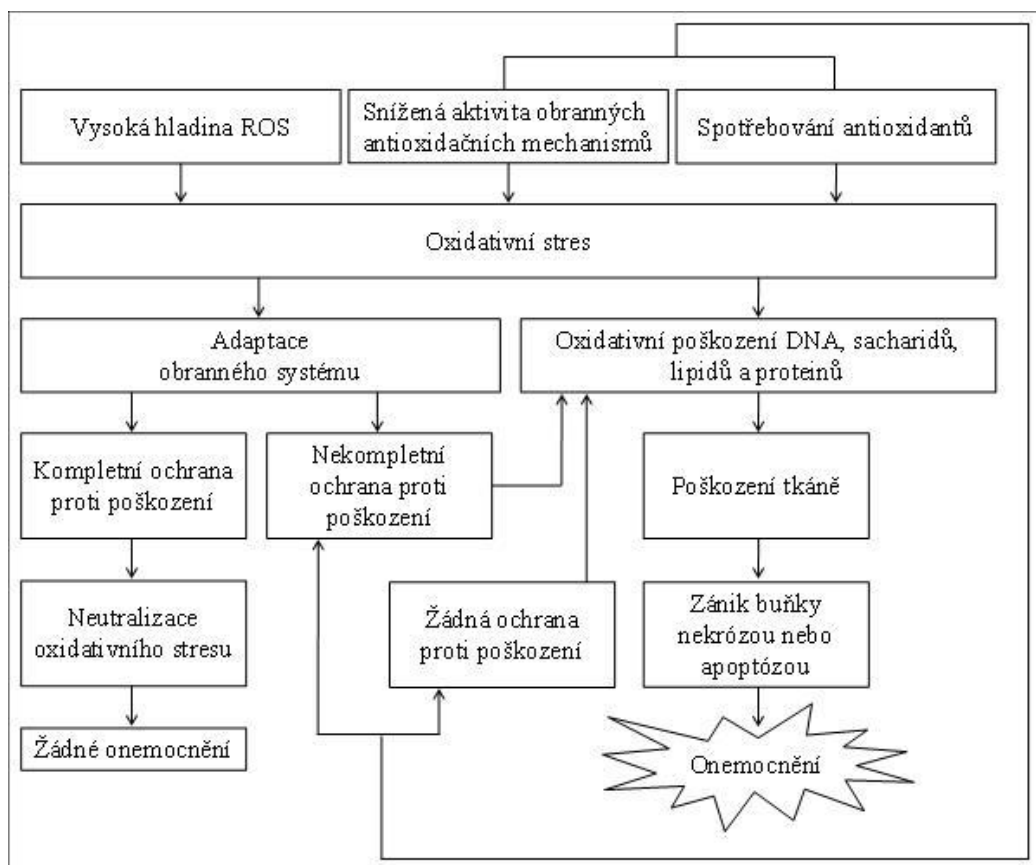
K oxidačnímu stresu dochází v biologických systémech porušením rovnováhy mezi produkcí ROS/NOS na jedné straně a nedostatkem enzymatických a neenzymatických antioxidantů na straně druhé. (Valko et al., 2007). Nedostatečnost víceúrovňového systému ochrany proti oxidačním účinkům – tzv. antioxidačního systému, vede k nadprodukcii a strukturální degradaci lipidové membrány, která má za následek ničení buněk, tkání a organismů (Sapko et al., 2016). Kyslíkové radikály mohou oxidovat lipidy nebo proteiny, čímž vytvářejí meziprodukty, které dále reagují s DNA (Valko et al., 2004). Obecně je uznáváno, avšak nedostatečně prokázáno, že hladina oxidačního stresu stoupá s věkem a vede k poškození makromolekul, jako je DNA (Jallali et al., 2005).

Oxidační stres hraje důležitou roli u chronických onemocnění, rakoviny a procesů stárnutí (Obr. 1) (Selamoglu et al., 2017). Souvisí rovněž s onemocněním srdce, kdy v důsledku zvýšené tvorby ROS dochází k patogenezi myokardu i srdečnímu selhání. Srdeční sval je vybaven řadou endogenních enzymatických a neenzymatických antioxidačních systémů, které jsou pro metabolismus ROS dostatečné. Proti cytotoxickým účinkům reaktivních metabolitů kyslíku působí například superoxid dismutasa, glutathion peroxidasa a katalasa. Pokud však dojde k porušení této rovnováhy, dochází k výše zmíněné zhoršené funkci myokardu (Borchi et al., 2010).

3.1.3 Antioxidanty

Vystavení organismu volným radikálům z různých zdrojů vedlo k vytvoření řady obranných mechanismů – jedním z nich je i antioxidační (Valko et al., 2007). Zvířecí a lidské buňky vyvinuly tento systém, který se skládá ze superoxid dismutasy, glutathion peroxidasy, katalasy a glutathion reductasy (enzymatické antioxidanty), spolu s množstvím antioxidantů o nízké molekulové hmotnosti, jako je askorbová kyselina (vitamin C), - tokoferoly (vitamin E), glutathion, cystein, karotenoidy či flavonoidy (neenzymatické antioxidanty). Tento obranný antioxidační systém však může být přemožen různými patologickými či environmentálními faktory (Rahman et al., 2012).

Je dobře znám účinek použití antioxidantů k léčbě onemocnění vyvolaných především oxidací volných radikálů. Použití syntetických antioxidantů však často komplikují vedlejší účinky. Proto je věnována stále větší pozornost přírodním, zejména rostlinným antioxidantům (Sapko et al., 2016).



Obr. 1: Mechanismus vzniku onemocnění souvisejícího s oxidačním stresem (Dalle-Donne et al., 2003)

Fenolické látky (polyfenoly) zahrnují některé z nejběžnějších tříd přírodních sloučenin s širokým polem působnosti. Rostlinným preparátům s antioxidačními vlastnostmi je díky obsahu fenolických látek a flavonoidů připisováno mnoho léčebných a preventivních účinků (Sapko et al., 2016).

3.1.4 Metody měření antioxidační aktivity

Bylo popsáno více než 40 různých metod pro *in vitro* měření antioxidační aktivity čistých sloučenin a komplexních směsí, včetně rostlinných extraktů (Sapko et al., 2016). Obecně je lze rozdělit do dvou skupin – na metody posuzující redoxní vlastnosti látek a na metody hodnotící schopnost eliminovat radikály. Do první skupiny patří například metoda FRAP, cyklická voltametrie či HPLC metoda s elektrochemickou detekcí. Mezi nejznámější

metody hodnotící schopnost eliminovat radikály patří metoda ABTS, DPPH, ORAC, metody založené na vychytávání OH-radikálů či superoxidového anion-radikálu (Paulová et al., 2004).

3.1.4.1 Metoda FRAP

Metoda FRAP (ferric reducing ability of plasma/ferric reducing antioxidant potential) je jednoduchá metoda, založená na principu redoxní reakce. Antioxidanty při této metodě redukují ze vzorku Fe^{3+} -tripirydyltriazin komplex (Fe^{3+} -TPTZ). Hodnoty FRAP, tedy antioxidační aktivita vzorku, se získávají nárůstem absorbance při 593 nm, odpovídajícímu množství komplexu Fe^{2+} -TPTZ. Tato metoda je však limitovaná tím, že měření probíhá při velmi nízké hodnotě pH (3,6), není tak vhodná pro polyfenolické látky (Benzie et Strain, 1996; Paulová et al, 2004)

3.1.4.2 Metoda ABTS

ABTS je jednou z nejpoužívanějších metod pro stanovení celkové antioxidační aktivity, která testuje schopnost látek či vzorku zhaset kation-radikál $\text{ABTS}^{*\cdot}$ [2,2'-azinobis-(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)], čímž dochází k odbarvení vzorku. Antioxidační aktivitu je pak možné stanovit podle rychlosti a míry odbarvení. Zhášení radikálu $\text{ABTS}^{*\cdot}$ antioxidanty se sleduje spektrofotometricky na základě změn absorpčního spektra. Absorbance se měří při 645 nm, 734 nm či 815 nm.

Jelikož je výsledná antiradikálová aktivita vzorku srovnávána s antiradikálovou aktivitou syntetické látky Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina), je metoda označována také jako TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity).

Tato metoda je jednoduchá, rychlá a má široké uplatnění. Je vhodná pro zkoumání antioxidantů rozpustných jak ve vodě, tak v tucích (Paulová et al., 2004; Re et al., 1999).

3.1.4.3 Metoda ORAC

ORAC (oxygen radical antioxidant/absorbance capacity) je spektrofluorimetrická metoda, která měří schopnost testovaného vzorku vychytávat volné radikály a jeho schopnost zabránění oxidační degradaci fluoresceinu v přítomnosti generátoru peroxylových radikálů

AAPH [2,2'-azobis(2-amidino-propan) dihydrochlorid] či generátoru hydroxylových radikálů $H_2O_2 + Cu^{2+}$. Měření je založeno na sledování úbytku fluorescence β -fykoeritrinu (β -PE) po ataku radikály. Tato metoda je poměrně univerzální, při stanovení antioxidační kapacity polyfenolů však byla popsána omezení, týkající se především jejich fotostability (Paulová et al., 2004; Ouerghemmi et al., 2016).

3.1.4.4 Metoda DPPH

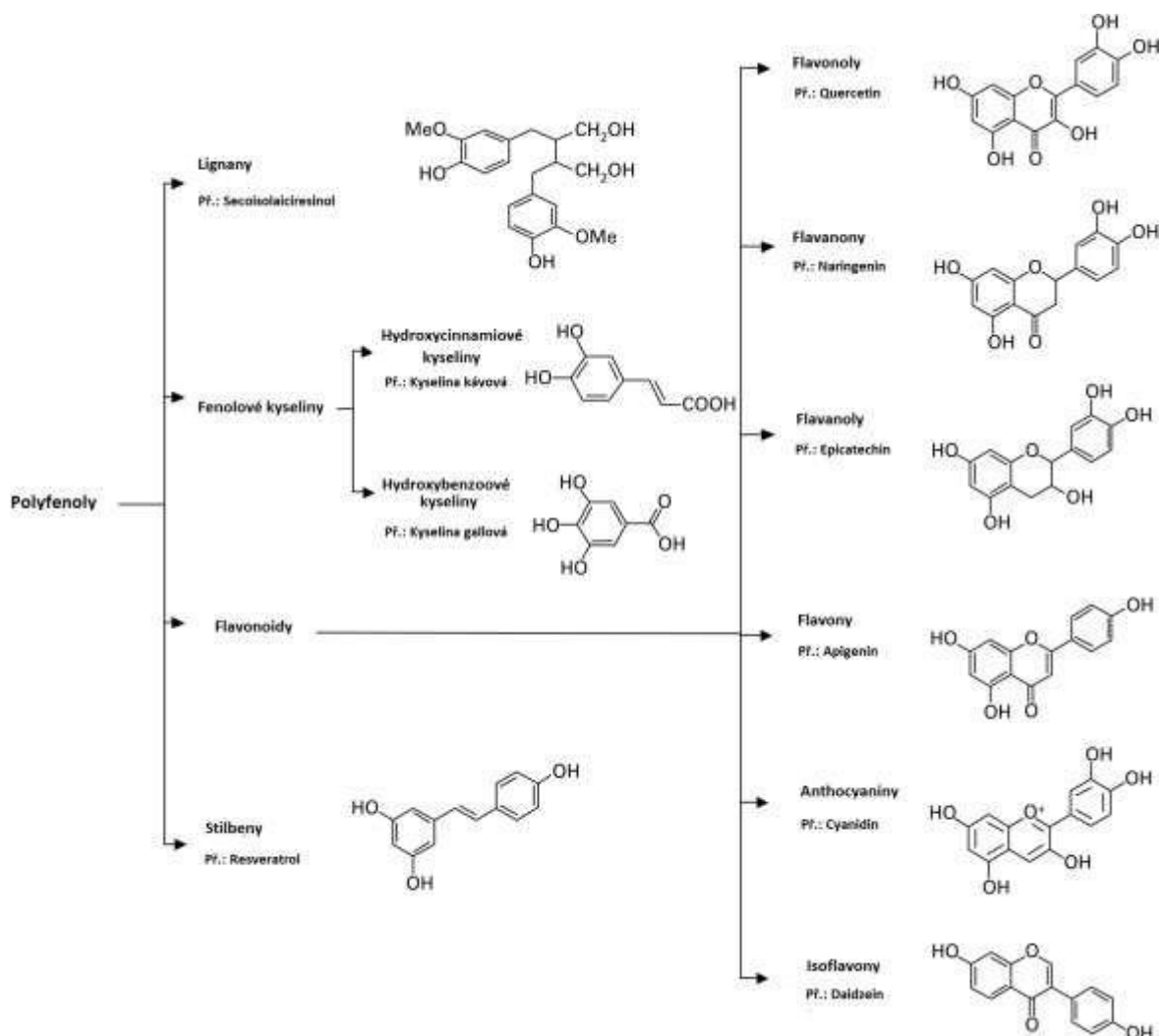
DPPH je jednou ze základních metod pro posouzení antiradikálové aktivity čistých látek i směsných vzorků. Je založena na reakci testované látky se stabilním radikálem difenylpikrylhydrazylem – DPPH, kdy dochází k redukci radikálu za vzniku DPPH-H (difenylpikrylhydrazin) (Paulová et al., 2004). DPPH způsobuje v metanolu purpurové až fialové zbarvení, které se po přidání antioxidantu odbarvuje do žluta (Mahato et Banerjee, 2017). Tato reakce je nejčastěji sledována spektrofotometricky. Pokles absorbance při 517 nm se nejčastěji měří po uplynutí určitého konstantního času. U směsných vzorků je někdy radikálová aktivita vyjadřována v ekvivalentech Troloxu či askorbové kyseliny (Paulová et al., 2004). Koleva et al. (2002) uvádí, že tato metoda je hojně využívaná, především díky své rychlosti a citlivosti.

Fenolické sloučeniny (polyfenoly)

Rostliny produkují širokou škálu sekundárních metabolitů, mezi které patří fenolické sloučeniny, synonymním označením také fenolové sloučeniny či polyfenoly. Tyto biologicky aktivní látky hrají zásadní roli v udržení rovnováhy rostliny mezi jejím přirozeným prostředím a schopností se adaptovat. Jejich obsah je ovlivněn mimo jiné úrovní stresových faktorů. Pro člověka jsou fenolické sloučeniny významné z farmakologického a potravinářského hlediska. Polyfenoly jsou považovány za nejdůležitější antioxidanty v lidské stravě a jejich přítomnost v potravě rostlinného původu může chránit konzumenta před oxidačním stresem, kardiovaskulárními a chronickými nemocemi (Ouerghemmi et al., 2016).

Rostlinné fenoly – tedy zdroje přírodních antioxidantů, se mohou vyskytovat ve všech částech rostlin. Mezi přirozeně se vyskytující fenolické sloučeniny s antioxidační aktivitou patří flavonoidy, fenolické kyseliny, lignany či stilbeny (podrobnější rozdělení do skupin

a podskupin na Obr. 2). Dále to mohou být nefenolické terpeny, tokoferoly, fosfolipidy, polyfunkční organické kyseliny a další (Ouerghemmi et al., 2016).



Obr. 2: Možné rozdělení fenolických látek (Spencer et al., 2008)

Flavonoidy

Tvoří největší skupinu rostlinných fenolických látek, což činí více než polovinu z osmi tisíc přirozeně se vyskytujících fenolických sloučenin (Martins et al., 2011). Selamoglu (2017) uvádí, že již bylo identifikováno více než 6 000 flavonoidů. Tyto látky plní u rostlin různé biologické funkce, přes plodnost a klíčivost semen, po ochranu proti UV záření a rostlinným patogenním mikroorganismům či pigmentaci květů, plodů a semen, díky které lákají opylovače a roznašeče semen. Jsou rovněž zodpovědné za zbarvení některých rostlin do podzimních odstínů, které mohou chránit buňky listů před poškozením fotooxidací (Falcone Ferreyra et al., 2012; Schijlen et al., 2004).

Všechny flavonoidy mají stejný základní skelet – flavan, sestávající ze dvou aromatických kruhů se šesti atomy uhlíku (kruh A a B), které jsou vzájemně spojené heterocyklem, obsahujícím tři atomy uhlíku (kruh C). Vzhledem k velké rozsáhlosti této skupiny látek, se na základě modifikací centrálního kruhu C rozlišuje několik podskupin: flavony, flavonoly, isoflavony, flavanoly, flavanonoly, flavanony, anthokyanidiny a proanthokyanidiny (Obr. 3). Obrovskou rozdílnost ve strukturách flavonoidů způsobenou modifikacemi základního skeletu zajišťují enzymy, jako jsou glykosyl transferasy, methyl transferasy a acyl transferasy. V jednom rostlinném druhu tak mohou být desítky různých flavonoidů (Selamoglu, 2017; Schijlen et al., 2004).

Nejvýznamnějšími a nejrozšířenějšími flavonoidy jsou nejspíše flavonoly, které mají široký rozsah fyziologické působnosti. Jsou zastoupeny převážně quercetinem, kaempferolem a myricetinem (Falcone Ferreyra et al., 2012).

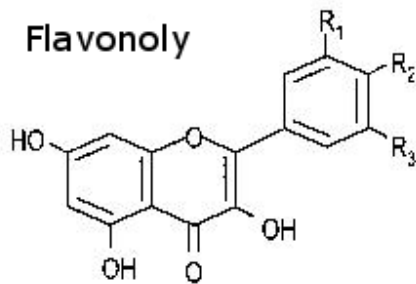
Jelikož flavonoidy dodávají barvu a chuť ovoci, zelenině, ořechům a semenům, tvoří nedílnou součást lidské stravy. Bohatými dietními zdroji těchto látek jsou například citrusy (flavanony), čaj, jablka a kakao (flavanoly), sója (isoflavony), celer (flavony), cibule (flavonoly) a bobule (anthokyaniny) (Schijlen et al., 2004).

V poslední době se použití flavonoidů v různých odvětvích průmyslu velmi zvýšilo. Díky jejich antioxidačním vlastnostem se stále více používají v oblastech potravinářství, medicíny a zemědělství (Selamoglu, 2017). Mnohé *in vitro* studie ukázaly, že většina flavonoidů je účinnějšími antioxidanty, než třeba vitaminy C a E. Například quercetin a flavan-3-ol epikatechin gallát mají pětikrát vyšší celkovou antioxidační aktivitu, než vitaminy C a E (vyjádřeno v ekvivalentech Troloxu) (Schijlen et al., 2004).

Dále chrání před koronárním onemocněním srdce, určitými druhy rakoviny a dalšími nemocemi souvisejícími s věkem (Schijlen et al., 2004). Podle Kuczmánové et al. (2015) jsou flavonoidy alespoň částečně zodpovědné za biologické účinky mnoha léčivých rostlin (např. protizánětlivé, antivirové, antibakteriální, neuroprotektivní, antispasmodické, protirakovinné aj.)

Obecně platí, že antioxidační účinek flavonoidů je silně závislý na třech faktorech. Jedná se o chelatační potenciál kovu, kdy velmi záleží na uspořádání hydroxylových a karbonylových skupin kolem molekuly, dále na přítomnosti vodíkových (donorů elektronů) substituentů schopných redukovat vodíkové radikály a na schopnosti flavonoidů delokalizovat (přemístit) nepárový elektron, vedoucí k vytvoření stabilního fenoxylového radikálu. Vysoký účinek flavonoidů coby antioxidantů je tak připisován jak preventivnímu mechanismu, tak mechanismu přerušování řetězce (Selamoglu, 2017).

Flavonoly

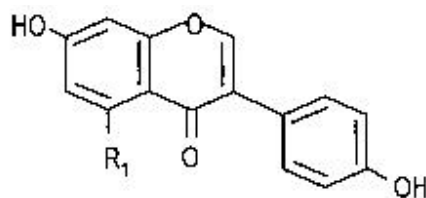


$R_2 = \text{OH}; R_1 = R_3 = \text{H}$:

Kaempferol

$R_1 = R_2 = \text{OH}; R_3 = \text{H}$: Quercetin

$R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$: Myricetin



$R_1 = \text{H}$: Daidzein

$R_1 = \text{OH}$: Genistein

Anthokyanidiny



$R_1 = R_2 = \text{H}$: Pelargonidin

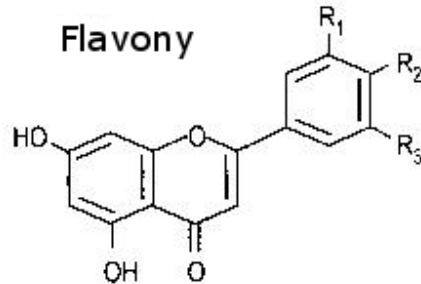
$R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{H}$: Cyanidin

$R_1 = R_2 = \text{OH}$: Delphinidin

$R_1 = \text{OCH}_3; R_2 = \text{OH}$: Petunidin

$R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$: Malvidin

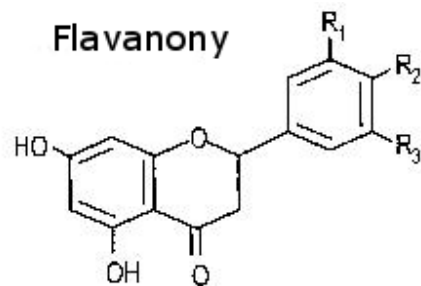
Flavony



$R_1 = \text{H}; R_2 = \text{OH}$: Apigenin

$R_1 = R_2 = \text{OH}$: Luteolin

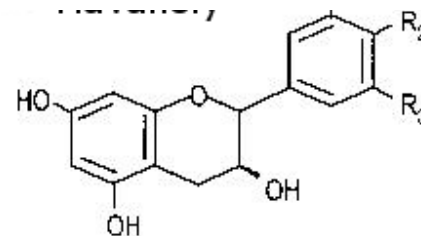
Flavanony



$R_1 = \text{H}; R_2 = \text{OH}$: Naringenin

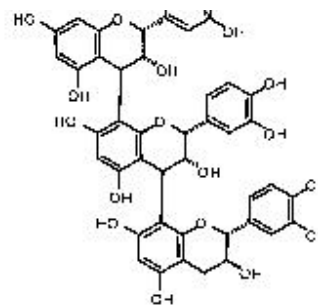
$R_1 = R_2 = \text{OH}$: Eriodictyol

$R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{OCH}_3$: Hesperetin



$R_1 = R_2 = \text{OH}; R_3 = \text{H}$: Katechin

$R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$: Gallokatechin



Trimer procyanidin

Obř. 3: Struktury hlavních skupin flavonoidů a jejich zástupců (Manach et al., 2004)

3.1.4.5 Anthokyaniny a anthokyanidiny

Jde pravděpodobně o nejdůležitější skupinu viditelných rostlinných pigmentů kromě chlorofylu, které zodpovídají za barvu rostlin a plodů vyšších rostlin (Kong et al., 2003; Wollgast a Anklam, 2000). Konkrétně se jedná o růžové, červené, modré nebo fialové zbarvení (Manach et al., 2004). Anthokyanidiny jsou rozpustné ve vodě a hromadí se ve vakuolách (Zuker et al., 2002).

Anthokyaniny se skládají z anthokyanidinů – aglykonů a jejich glykosidů. Jednotlivé anthokyaniny se liší počtem hydroxylových skupin, povahou a množstvím cukrů připojených k molekule, polohou a povahou tohoto připojení a množstvím alifatických nebo aromatických kyselin připojených k cukrům v molekule. Nejčastějšími cukry jsou glukosa, galaktosa, rhamnosa, arabinosa či rutinosa. U vyšších rostlin se vyskytuje pouze 6 anthokyanidinů (aglykonů): pelargonidin, cyanidin, peonidin, delphinidin, petunidin a malvidin (Jimenez-Garcia et al., 2013; Kong et al., 2003).

V lidské stravě se anthokyaniny vyskytují zejména v ovoci. Dalšími zdroji je například červené víno, některé obiloviny a listová a kořenová zelenina (např. lilek, zelí, cibule, ředkvičky). Nejvíce zastoupeným anthokyanidem je cyanidin (Manach et al., 2004).

3.1.4.6 Flavonoly

Nejvíce zastoupenými flavonoidy v potravinách jsou flavonoly, jejichž hlavními představiteli jsou kaemferol, quercetin a myricetin. Jejich základem je 3-hydroxyflavon. Rozmanitost této podtřídy udává různá pozice fenolické OH skupiny. Vyskytují se v mnoha běžných potravinách, jako je cibule, jablka, kapary, brokolice, grapefruity či švestky (Marín et al., 2015). Jsou přítomny poměrně v nízkých koncentracích 15 – 30 mg.kg⁻¹ čerstvé hmoty (Manach et al., 2004).

Flavonoly se vyskytují ve formě glykosidů, kdy cukernou část tvoří často glukosa nebo rhamnosa, zahrnuty mohou být ale i ostatní cukry, jako galaktosa, arabinosa, xyloza či glukuronová kyselina. V ovoci je často obsaženo 5 – 10 různých flavonolových glykosidů (Manach et al., 2004).

3.1.4.7 Flavony

Flavony jsou podskupinou flavonoidů, u které byly prokázány antibakteriální, antioxidační a protizánětlivé účinky. Oproti flavonolům se v ovoci a zelenině vyskytují mnohem méně. Jejich hlavními zástupci jsou luteolin a apigenin. Ten jen obsažen v heřmánku a včelím propolisu. Znamé jsou rovněž polymethoxylované flavony jako tangeretin, nobiletin a sinensetin, vyskytující se v kůře citrusů. Tyto polymethoxylované flavony jsou nejvíce hydrofobními flavonoidy (Hariri et al., 2017; Manach et al., 2004).

3.1.4.8 Flavanony

Chemickou strukturou flavanonů je 2,3-dihydro-2-fenylchromen-4-on. Velmi bohatými zdroji jsou citrusové plody a rajčata, v menším množství se vyskytují ale i v některých aromatických rostlinách (máta). Mezi hlavní aglykony patří například hesperetin (v pomeranči), naringenin (v grapefruitu) či eriodictyol (v citronu). Flavanony jsou obvykle glykosylovány disacharidy v pozici C7, a to buď neohesperidosou, která dodává hořkou chuť či rutinosou, která je bez chuti. Oproti jiným podtřídám flavonoidů jsou flavanony biologicky dostupnější. To může být způsobeno skutečností, že jsou tyto sloučeniny méně degradovány střevní mikrobiotou (Manach et al., 2004; Marín et al., 2015).

3.1.4.9 Isoflavony

Další podtřídou flavonoidů jsou isoflavony, které se vyskytují převážně v rostlinách čeledi bobovité (*Fabaceae*) a řadí se mezi fytoestrogeny (Marín et al., 2015). Ačkoliv se nejedná o steroidy, jejich uspořádání hydroxylových skupin v pozicích 7 a 4' je analogické s konfigurací hydroxylů v molekule estradiolu. Díky tomu vykazují pseudohormonální vlastnosti, včetně schopnosti vázat se na estrogení receptory (Manach et al., 2004).

Sójové boby obsahují isoflavony, jako je genistein, daidzein a glycitein v koncentracích až 1-3 mg.g⁻¹. Každá z těchto sloučenin může být přítomna ve čtyřech formách: nekonjugované (aglykon), konjugované s cukry, acetylglukosidy a malonylglukosidy (Vitale et al., 2013). Deriváty malonylglukosidů mají nepříjemnou, hořkou a adstringentní chuť (Manach et al., 2004).

3.1.4.10 Flavanoly

Flavanoly (známé také jako flavan-3-oly) jsou poměrně složitou podtřídou flavonoidů. Vyskytují se jak ve formě monomerů (katechiny), tak ve formě polymerů (proanthokyanidiny – více v kap. 3.2.3). Monomerní formy mohou být hydroxylovány za vzniku gallokatechinů či esterifikovány s gallovou kyselinou (Manach et al., 2004; Pinent et al., 2017).

Katechiny se nacházejí u mnoha druhů ovoce, např. v meruňkách. Nejbohatším zdrojem je však zelený čaj, čokoláda či červené víno. Hlavními flavanoly v ovoci jsou katechin a epikatechin, zatímco gallokatechin, epigallokatechin a epigallokatechin gallat se vyskytují u některých luštěnin, v hroznech a v čaji. Oproti jiným podskupinám flavonoidů nejsou flavanoly glykosylovány v potravinách (Manach et al., 2004).

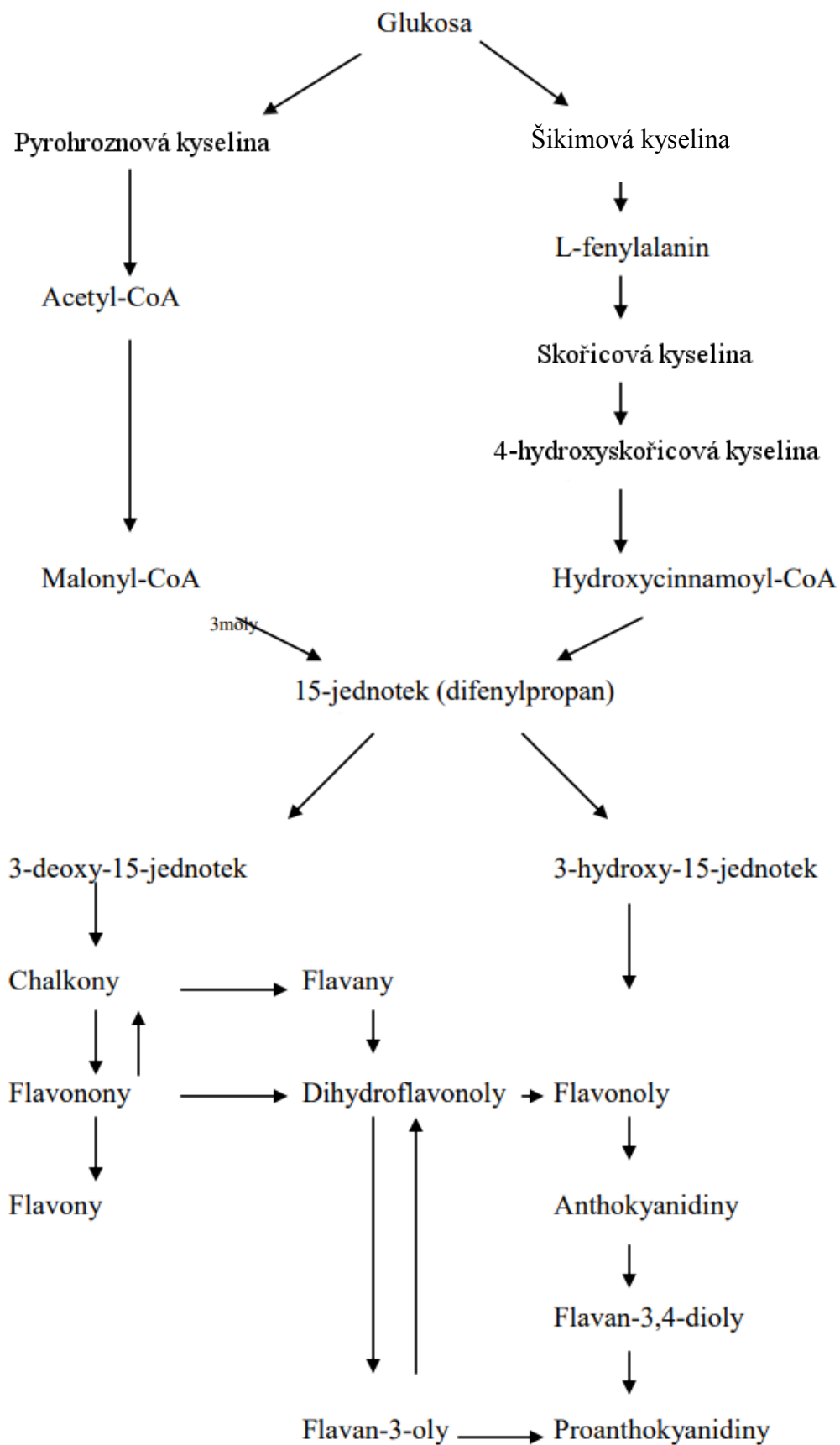
Pinent et al. (2017) uvádí, že flavanoly chrání před kardiovaskulárními chorobami, dále mají antioxidační, antikarcinogenní a protizánětlivé účinky.

3.1.4.11 Biosyntéza flavonoidů

Fenolické látky vznikají ze dvou hlavních syntetických drah – šikimátové a acetátové. Jak octová, tak šikimová kyselina vycházejí z metabolismu glukosy (Wollgast a Anklam, 2000). Dráha biosyntézy flavonoidů představuje jeden z nejstarších příkladů koordinace působení genů a enzymů a jejich regulace v závislosti na faktorech vnějšího prostředí a faktorech podporujících vývoj (Winkel-Shirley, 2002). Rozlišujeme dvě skupiny genů, podílející se na této dráze: strukturní geny kódující enzymy, které se přímo podílejí na tvorbě flavonoidů a regulační geny, které řídí exprese strukturních genů (Schhijlen et al., 2004).

Prekurzory syntézy většiny flavonoidů jsou malonyl-CoA a *p*-kumaroyl-CoA, které jsou odvozeny z metabolismu sacharidů (Schhijlen et al., 2004). Flavonoidy jsou syntetizovány přes fenylypropanoidovou dráhu přeměnou fenylyalaninu na 4-kumaroyl-CoA, který konečně vstupuje do biosyntézy flavonoidů. První specifický enzym pro tuto flavonoidní dráhu je chalkon synthasa, který vytváří úroveň žlutě zbarvených chalkonů, z nichž všechny flavonoidy pocházejí (Obr. 4) (Falcone Ferreyra et al., 2012). Dráha syntézy tak pokračuje různými enzymatickými kroky k dalším třídám flavonoidů, jako jsou flavanony, dihydroflavanoly a nakonec na anthokyaniny. Ostatní skupiny (např. flavony, isoflavony, auryony, proanthokyanidiny a flavonoly) znázorňují boční větve flavonoidní dráhy a jsou odvozeny od meziproductů anthokyaninu (Schhijlen et al., 2004).

Přestože některé rostliny obsahují velké množství různých flavonoidů, u jiných druhů je zastoupení těchto sekundárních metabolitů nedostatečné. Z tohoto důvodu byly u některých rostlin vyvinuty genetické modifikace flavonoidní dráhy, ať už kvůli ochraně proti patogenům či jejich zdravotním účinkům na lidský organismus (Schhijlen et al., 2004).



Obr. 4: Schématické znázornění biosyntézy a přeměny flavonoidů (Wollgast a Anklam, 2000)

Enzymy podílející se na biosyntéze flavonoidů

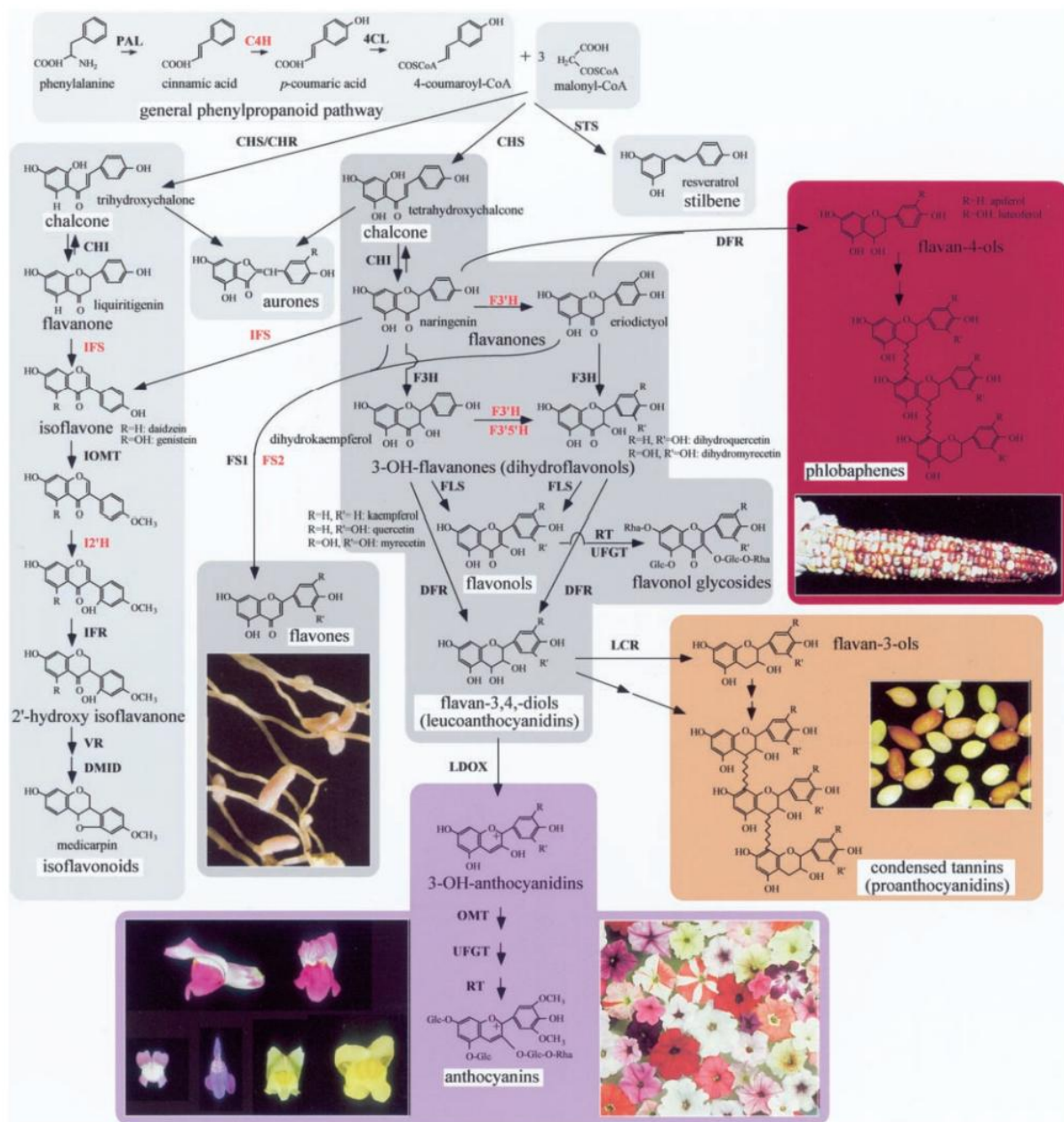
Enzym chalkon synthasa (CHS) katalyzuje postupnou kondenzaci tří acetátových jednotek vycházejících z malonyl-CoA s jednou jednotkou *p*-kumaroyl-CoA na 4,2', 4', 6'-tetrahydroxychalkon. Genomové a cDNA (komplementární DNA) sekvence kódující CHS byly izolovány z mnoha rostlinných druhů. CHS je častým cílem genetického inženýrství, kdy dochází k pokusům o potlačení či regulaci tohoto genu. V důsledku úplné absence flavonoidů tak dochází ke změně barvy květu na čistě bílou či k samčí sterilitě (Marín et al., 2015; Schijlen et al., 2004).

Dalším enzymem, uplatňujícím se v biosyntéze flavonoidů je chalkon isomerasa (CHI). Většina rostlin chalkony neakumuluje. Jejich formaci - naringenin chalkon – izomerizuje na flavanon naringenin. Jsou známy dva typy CHI: první (isomerasa luštěnin), který dokáže izomerizovat jak 6'-hydroxyl-, tak 6'-deoxy chalkony a druhý, který přeměňuje pouze 6'-hydroxychalkony (Joung et al., 2003; Schijlen et al., 2004).

Následná hydroxylace flavanonů v poloze C-3 na dihydroflavonoly je demonstrována u široké škály rostlin (např. petúnie, rajčata, kukuřice). Reakce je uskutečňována díky flavanon-3-hydroxylase (F3H). Mutace vedoucí ke ztrátě tohoto enzymu zabraňuje postupné syntéze anthokyanidinů a v důsledku toho vzniku bílých květů. Produktem hydroxylace naringeninu F3H je dihydrokaempferol (DHK), který může být dále hydroxylován v pozici 3' (kruhu B) na dihydroquercetin (DHQ) a dále až k produkci kyanidinových pigmentů. Hydroxylace je prováděna pomocí enzymu P450 flavonoid-3'-hydroxylasy (F3'H). DHK může být rovněž hydroxylován v pozicích 3' a 5' pomocí enzymu P450 flavonoid-3', 5'-hydroxylasy (F3'5'H) na dihydromyricetin (DHM), který je nutný pro produkci anthokyanidinového delphinidinu (Schijlen et al., 2004).

Dalším enzymem je dihydroflavonol-4-reduktasa (DFR), který katalyzuje specifickou redukci dihydroflavonolu na leukoanthokyanidin za použití NADPH jako kofaktoru. Tyto leukoanthokyanidiny jsou bezprostředními prekurzory pro syntézu anthokyanidinů, ale také katechinů a proanthokyanidinů, které slouží k odolnosti rostlin a považují se za zdravě prospěšné látky v potravinách a krmivech. Leukoanthokyanidiny jsou dále převedeny na anthokyanidiny enzymem anthokyanidin syntasou (ANS).

Flavonoidy a anthokyanidiny s volnými hydroxylovými skupinami v pozici 3 na heterocyklickém kruhu (C), jsou všeobecně za fyziologických podmínek nestabilní, a proto se v přírodě nenachází. Za přenos glukosy na hydroxylovou skupinu v pozici 3 na C kruhu je zodpovědný enzym flavonoid-3-O-glukosyltransferasa (3GT). Jedná se o zásadní konečný krok potřebný ke stabilizaci anthokyanidinů (Schijlen et al., 2004).



Obr. 5: Schématické znázornění hlavních cest biosyntézy flavonoidů (Winkel-Shirley, 2001)

Další modifikace flavonoidů, jako jsou acylace, další glykosylace, metylace či hydroxylace, mohou probíhat ve všech třídách flavonoidů, zatímco sulface, prenylace a C-glykosylace se vyskytují jen u některých tříd. Většina změn je prováděna na koncových produktech jako anthokyanin-3-glukosidech, flavonolech, flavonech a (iso)flavonech. Podrobný přehled hlavních syntetických drah flavonoidů s jejich enzymy je na Obr. 5.

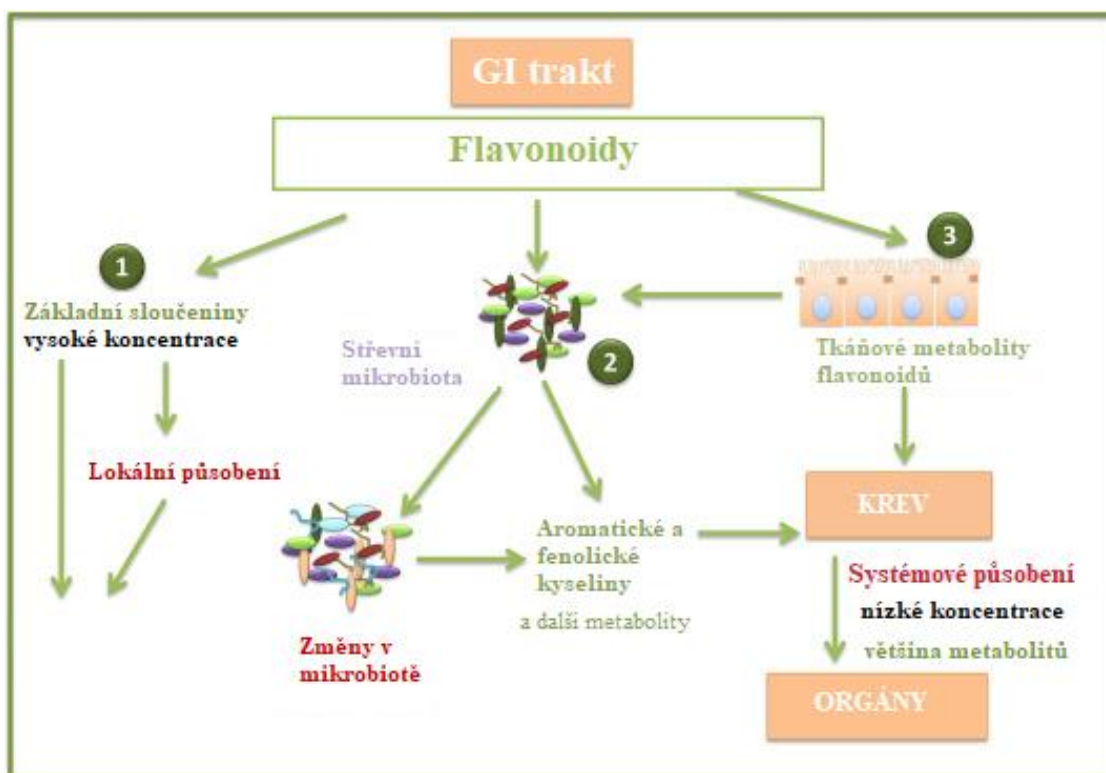
3.1.4.12 Absorpce a metabolismus flavonoidů

Biologická dostupnost flavonoidů v trávicím traktu závisí na struktuře flavonoidů, interakci s formou potravy, aktivitě trávicích hydrolytických enzymů, složení mikrobioty a na transportu střevních epitelových buněk. Flavonoidy mohou být metabolizovány jak enzymy přítomnými ve střevních epitelových buňkách, tak ve velké míře mikrobiotou.

Po požití mají flavonoidy tři hlavní možné metabolické možnosti, které vymezují jejich molekulární cíle a biologickou aktivitu (Obr. 6). První má přímý účinek na gastrointestinální (GI) trakt, který může být zprostředkován původními sloučeninami či metabolity. Takové účinky mohou mít vzhledem k vysoké koncentraci flavonoidů v žaludku a vrchní části střeva značný význam. Působí na epitelové buňky GI traktu, endokrinní a imunitní buňky či obsah střev (např. přímé antioxidační účinky). Lokálním působením může docházet například ke změnám uvolňování hormonu GI traktu, které ovlivňují systémovou homeostázu glukosy (Oteiza et al., 2018).

Druhou možností je interakce flavonoidů s mikrobiotou, což vede ke změně jejího profilu. Produkují se menší molekuly, které vstupují do oběhu, kde jsou schopné dosáhnout orgánů vzdálených od středu těla (Williamson et Clifford, 2017). Důležitou skutečností je, že zatímco flavonoidní polymery (např. proantocyanidiny) nejsou v GI traktu vůbec nebo velmi špatně absorbovány, jejich metabolismus mikrobiotou vede ke sloučeninám (např. valerolatonům či fenolickým kyselinám), které jsou absorbovány a mohou vést k systémovým účinkům.

Třetím potenciálním osudem je biotransformace flavonoidů střevními epitelovými buňkami. Konjugáty vytvořené ve střevní epitelové tkáni, mohou být buď transportovány do krevního řečiště či vyloučeny zpět do střeva, kde mohou být dále metabolizovány a/nebo projevovat lokální biologické účinky (Oteiza et al., 2018).



Obr. 6: Osud flavonoidů v GI traktu (Oteiza et al., 2018)

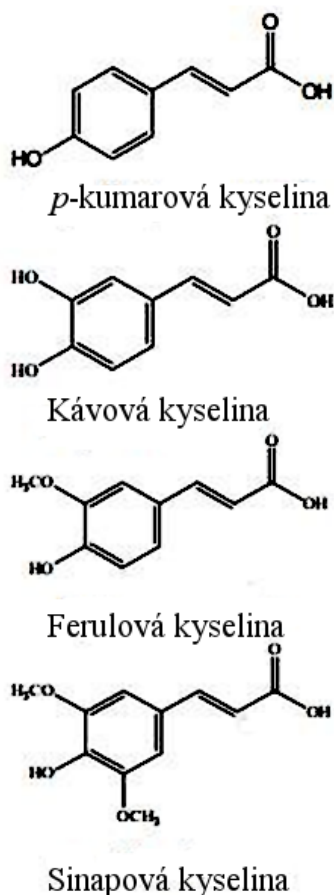
3.1.5 Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny, podobně jako flavonoidy, představují důležitou třídu fenolických látek s biologicky aktivními funkcemi (Martin et al., 2011). Jedná se o aromatické kyseliny s fenolovým kruhem, který má alespoň jednu karboxylovou skupinu (Saibabu et al., 2015). Nacházejí se v buněčných stěnách rostlin jako produkty rozkladu ligninu. Vyskytují se buď ve volné formě nebo konjugované přes hydroxylovou skupinu se sacharidickým zbytkem či jako konjugované estery (Kumar, 2017).

Na základě jejich struktury mohou být děleny do dvou skupin: deriváty hydroxybenzoové (sedm atomů C) a hydroxyskořicové kyseliny (devět atomů C). K nejčastěji se vyskytujícím hydroxybenzoovým kyselinám patří například gallová, hydroxybenzoová, protokatechová, vanilová a syringová kyselina. Hydroxyskořicové kyseliny se nacházejí v rostlinných buněčných stěnách a jsou zapojeny do obranných mechanismů rostlin. Nejvýznamnější hydroxyskořicové kyseliny jsou například kávová, ferulová, *p*-kumarová a sinapová kyselina (Obr.7) (Kumar, 2017; Martins et al., 2011).

Fenolické kyseliny jsou vzhledem k jejich obrovské strukturální rozmanitosti spojeny

s důležitými funkcemi v rostlinách, jako je syntéza proteinů, příjem živin, enzymatická aktivita a allelopatie. Mezi jejich další biologické vlastnosti patří antipyretická, analgetická či antimikrobiální aktivita (Kumar, 2017). Hojně se vyskytují například v ořechách (vlašských) či ovoci (maliny, hrozny, černý rybíz, jahody, brusinky) (Salibabu et al., 2015).



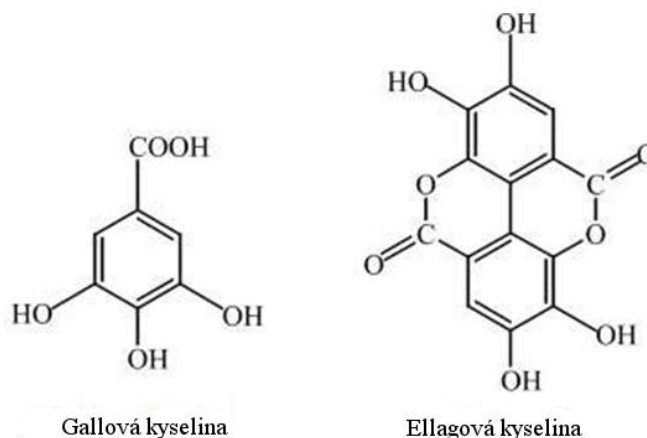
Obr. 7: Chemická struktura vybraných hydroxyskořicových kyselin (Heleno et al., 2015)

3.1.6 Třísloviny

Třísloviny neboli taniny jsou rovněž polyfenoly o střední až vysoké molární hmotnosti. Jedná se o vysoce hydroxylované molekuly, které mohou tvořit nerozpustné komplexy se sacharidy a bílkovinami. Potraviny bohaté na třísloviny jsou považované za adstringencia (látky se svíravým účinkem) (Wollgast a Anklam, 2000).

Rozlišujeme dvě hlavní skupiny taninů: hydrolyzovatelné a kondenzované třísloviny. (Wollgast a Anklam, 2000). Hydrolyzovatelné třísloviny jsou převážně deriváty gallové kyseliny a její estery (gallotaniny) nebo ellagové kyseliny (ellagitaniny), (Obr. 8), které

vznikají sekundárně ze dvou molekul gallové kyseliny. Její deriváty a gallotaniny mají typickou galloyl skupinu, která je esterifikována na glukózu či chinovou kyselinu. V přírodě se častěji vyskytují ellagitaniny, které mají popsáno více než 500 různých struktur (Kokali et Skidmore, 2015). Jak vyplývá z názvu, hydrolyzovatelné třísloviny jsou snadno hydrolyzovány pomocí kyselin, zásad, horké vody či působení enzymů za vzniku vícesytných alkoholů a fenyلكarboxylové kyseliny (Wollgast a Anklam, 2000).



Obr. 8: Chemická struktura gallové a ellagové kyseliny (Bagul et al., 2005)

Druhou skupinou jsou kondenzované třísloviny (proanthokyanidiny), které se mnohdy řadí mezi flavonoidy. Jedná se o oligomery a polymery, kde je monomerní jednotkou flavan-3-ol - katechin a epikatechin a jejich deriváty s jedním či třemi hydroxylovanými benzenovými kruhy (Kokali et Skidmore, 2015; Wollgast a Anklam, 2000). Tyto monomerní jednotky jsou navzájem propojeny vazbami mezi uhlíky C4 a C8 (nebo C6) (Manach et al., 2004). Potravinami bohatými na tyto látky jsou zelený čaj, kakao, kola, banány a granátová jablka (Marín et al., 2015). Bylo zjištěno, že proanthokyanidiny zvyšují plasmatickou antioxidační kapacitu a chrání střevní sliznici před oxidačním stresem. Pozitivní účinek mají také na vaskulární funkci a rovněž snižují aktivitu krevních destiček (Kruger et al., 2014).

3.1.7 Stilbeny

Přírodní stilbeny jsou skupinou polyfenolů, pro kterou je charakteristická přítomnost 1,2-difenylethylenového jádra. Existuje více než 400 přirozených stilbenů. Jejich výskyt je nicméně závislý na přítomnosti klíčového enzymu, podílejícího se na biosyntéze stilbenů –

stilben synthasy. Stilbeny se tak vyskytují v omezené a heterogenní skupině rostlinných druhů (Sirerol et al., 2016).

Tyto fenolické látky mají obrovský potenciální význam díky jejich antikancerogenním, antiproliferačním, antileukemickým, antioxidačním či protizánětlivým vlastnostem. Vyskytují se v konformacích *E-* (*trans-*) a *Z-* (*cis-*), z nichž každá vyvolává různé farmakologické účinky. Bylo prokázáno, že *E-* forma vykazuje účinnější antikancerogenní aktivitu, než forma *Z-* a je rovněž termodynamicky stabilnější (Khan et al., 2017).

Stilbeny se v lidské stravě vyskytují pouze v malých množstvích. Nejznámějším zástupcem je resveratrol (3,4,5-trihydroxystilben), který byl původně nalezen v hroznech. Vyskytuje se jako volný resveratrol či jako jeho derivát piceid (glukosid). Malé množství *trans*-resveratrol se vyskytuje také u borůvek, červeného rybízu, brusinek a jahod (Manach et al., 2004; Szajdek et Borowska 2008). Resveratrol vykazuje významné účinky proti rakovině a AIDS (Khan et al., 2017).

3.1.8 Lignany

Lignany jsou přirozeně se vyskytující rostlinné fenoly, které jsou odvozeny od fenylypropanoidů. Většina lignanů je přítomna volně v rostlinách, malá část však koexistuje se sacharidy za vzniku glykosidů ve dřevě a pryskyřici rostlin. Jde o sekundární metabolity s nízkou molekulovou hmotností, vyskytující se téměř ve všech morfologických částech rostlin (Zhang et al., 2014). V rostlině pomáhají zajišťovat ochranu proti býložravcům a mikroorganismům (Teponno et al., 2016).

Lignany jsou nejčastěji tvořeny dvěma fenylypropanovými jednotkami (Manach et al., 2004). Podle jejich struktur je můžeme dělit do pěti hlavních skupin: lignany, neolignany, norlignany, hybridní lignany a oligomerní lignany. Mnohé typy lignanů přitahují díky jejich četným farmakologickým vlastnostem značnou pozornost. Jedná se o protinádorové, hepatoprotektivní, insekticidní a estrogenní, antihypertenzní, sedativní či antioxidační účinky (Zhang et al., 2014).

Lignany jsou poměrně hojně rozšířeny. Byly identifikovány téměř u 70 čeledí, z nichž mnohé byly používány v lidovém léčitelství (Zhang et al., 2014). Nejbohatším zdrojem je lněné semeno, které obsahuje secoisolariciresinol (až do 3,7 g/kg sušiny) a v malém množství také matairesinol. Jiná obilná zrna (pšenice, triticales), ovoce (hrušky, švestky) a některá zelenina (česnek, mrkev, chřest) obsahují rovněž stopy těchto lignanů, koncentrace ve lnu jsou však tisíckrát vyšší (Manach et al., 2004).

Čeľad' hluchavkovité (*Lamiaceae*)

Lamiaceae je šestou největší rostlinnou čeledí obsahující více než 230 rodů a 7130 druhů. Rostliny patřící do této čeledi jsou rozšířeny po celém světě (Bekut et al., 2017; Trivellini et al., 2016). Hlavní centra výskytu jsou však ve Středomoří a v jihozápadní a střední Asii (Slavík a kol., 2000).

V čeledi *Lamiaceae* jsou jednoleté, dvouleté nebo vytrvalé byliny a polokeře, často výrazně aromatické. Mimo naše území rostou také keře či stromy. Lodyhy jsou většinou 4hranné, jednoduché či větvené. Hluchavkovité rostliny mají vstříčné listy, obvykle křížmostojné, jednoduché, celistvé nebo vzácněji peřeně členěné, řapíkaté nebo přisedlé, bez palistů. Květy vyrůstají v lichopřeslenech. Jsou většinou zřetelně souměrné, oboupohlavné či druhotně jednopohlavné. Kalich je 5četný, trubkovitý až zvonkovitý. Koruna je srostlolupenná, původně z pěti lístků, dvoupyská. V květech jsou zpravidla 4 dvoumocné tyčinky. Plodem je tvrdka, u některých mimoevropských skupin tobolka nebo peckovice.

Významem mnoha zástupců čeledi *Lamiaceae* je využití v potravinářském, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu, často také v lidovém léčitelství. Některé druhy se používají jako koření při dochucování nejrůznějších pokrmů. Rozsáhlé použití je i při výrobě parfémů (Slavík a kol., 2000).

Používanými částmi jsou nejčastěji listy a nať, sbírané většinou v plném květu. Mohou se aplikovat v čerstvé či sušené formě nebo ve formě dávek speciálně připravených pro vnitřní nebo vnější užití. Tradičním použitím pro léčebné účely jsou výluhy, sirupy, tinktury, kloktadla, kapky aj.

Jsou bohatými zdroji terpenoidů, glykosidů, flavonoidů, fenolických kyselin a ostatních fenolických sloučenin. Druhy této čeledi se používají především při onemocněních spojených s trávicí soustavou, zejména nadýmáním a dyspepsií či rovněž při léčbě infekcí (Bekut et al., 2017).

Obrázky vybraných druhů jsou v Příloze 1.

3.1.9 Jablečník (*Marrubium L.*)

Rod jablečník obsahuje asi 97 druhů, které jsou široce rozšířeny v mírných a teplých oblastech s převážným výskytem ve Středomoří (Boulila et al., 2015). Méně pak ve střední Evropě a mírném pásu až po východní Sibiř a Čínu. Byliny tohoto rodu jsou vytrvalé,

chlupaté až plstnatě chlupaté. Mezi zástupce patří například jablečník obecný (*Marrubium vulgare* L.) či jablečník cizí (*Marrubium peregrinum* L.) (Slavík a kol., 2000).

Jablečník obecný (*Marrubium vulgare* L.) je vytrvalá, 30-70 cm vysoká, slabě aromatická bylina s tupě hranatými lodyhami, které jsou nevětvené nebo nepravidelně a krátce větvené, někdy dřevnatějící. Listy jsou řapíkaté, čepel vejčitá až téměř trojúhelníkovitá. Rostliny mají bohaté lichopřesleny. Tento druh roste v teplých oblastech podél cest, v rumišťích či na kamenitých místech. Potřebuje lehké, provzdušněné, hlinitopísčité či písčité půdy, bohaté na živiny a vápník. V Čechách se vyskytuje jen ojediněle. Z jablečníku se využívá sušená nať, která obsahuje především třísloviny, flavonoidy a silice. U jablečníku byly popsány antioxidační, antibakteriální, analgetické, antidiabetické či protizánětlivé účinky. Díky tomu se používá v lidovém léčitelství k přípravě čajů či nálevů (Boulila et al., 2015; Slavík a kol., 2000).

3.1.10 Hluchavka (*Lamium* L.)

Rod hluchavka obsahuje jednoleté, dvouleté či vytrvalé byliny. Kalich květu je víceméně pravidelný, trubkovitý až zvonkovitý. Koruna má bílé, růžové, purpurové až purpurově fialové zbarvení a je dvoupyská. Je popsáno asi 40 druhů tohoto rodu rozšířených v Evropě, Asii a severní Africe. Mezi nejběžnější zástupce patří hluchavka bílá (*Lamium album* L.), hluchavka nachová (*Lamium purpureum* L.), hluchavka šalvějová (*Lamium orvala* L.), hluchavka skvrnitá (*Lamium maculatum* L.) či hluchavka objímavá (*Lamium amplexicaule* L.) (Slavík a kol., 2000).

Hluchavka bílá (*Lamium album* L.) je 20-40 cm vysoká bylina s obvykle jdenoduchou lodyhou. Listy jsou řapíkaté a čepel vejčitá. Květy jsou ve 2-6 oddálených lichopřeslenech téměř přisedlé. Koruna je bílá či krémově bílá s prohnutou korunní trubkou. Jako místa výskytu se označují rumišťe, skládky, komposty, silniční příkopy, okrajové části zanedbaných parků a zahrad apod. Rostliny upřednostňují čerstvě vlhké až mírně vysychavé půdy, bohaté na dusík. V ČR je hluchavka bílá hojně rozšířeným druhem (Slavík a kol., 2000).

Přítomnost fenolických látek v hluchavce bílé je spojována s antioxidační aktivitou. Obsahuje převážně flavonoidy (quercetin, quercetin-3-O-glukosid, rutin, kaempferol-3-O-glukosid a tilirosid), fenolické kyseliny (chlorogenovou, vanillovou a kávovou). V hluchavce se dále vyskytují iridoidní glykosidy (lamalbid), polysacharidy, triterpenové saponiny, slizy a malé množství silice. Je používána v oficiálním i lidovém léčitelství díky svým adstringentním, antispasmodickým a protizánětlivým účinkům (Alipieva et al., 2003; Pereira

et al., 2012). Její květ a nať jsou lékopisnou drogou (Slavík a kol., 2000). Květy hluchavky bílé jsou také atraktivní pro opylovače (Pereira et al., 2012).

3.1.11 Šanta (*Nepeta L.*)

Rod šanta zahrnuje přibližně 300 druhů s převážným výskytem ve Středomoří a jihozápadní Asii. Mezi zástupce patří například šanta kočičí (*Nepeta cataria L.*), šanta lesostepní (*Nepeta nuda L.*) či šanta velkokvětá (*Nepeta grandiflora*) (Hadi et al., 2017; Slavík a kol., 2000).

Šanta kočičí (*Nepeta cataria L.*) je vytrvalá aromatická bylina s dřevnatějším kořenem. Lodyhy dorůstají délky 30-70 (-100) cm. Listy má řapíkaté a čepel trojúhelníkovitou, na okraji hrubě vroubkovaně pilovitou. Lichoklasy jsou složeny z lichopřeslenů vyrůstajících v úžlabí listenů podobných listům. Kalich je souměrný, někdy fialově naběhlý a koruna smetanově bílá, někdy i nafialovělá. Vyskytuje se například na kamenitých svazích, v rumištích, na okrajích polních cest a chodníků, podél potoků, v blízkosti sídel apod. Vyhledává sušší, výhřevné půdy, bohaté na živiny. Dříve byla často pěstovaná v zahrádkách jako léčivá rostlina s podobným použitím jako meduňka lékařská (*Melissa officinalis L.*) (Slavík a kol., 2000).

Hlavními obsahovými látkami jsou silice a polyfenoly, kterým jsou také připisovány léčivé vlastnosti. Přestože fenolické látky šanty vykazují antioxidační, antibakteriální, antivirovou, protizánětlivou, hepatoprotektivní a antikarcinogenní aktivitu, nebyly v tomto rodu dostatečně prozkoumány (Hadi et al., 2017).

3.1.12 Meduňka (*Melissa L.*)

Byliny tohoto rodu jsou vytrvalé, větvené, žláznatě chlupaté až lysé a rovněž aromatické. Rod Meduňka zahrnuje 3 druhy vyskytujícími se od Evropy po Střední Asii a Írán. Nejznámějším z nich je meduňka lékařská (*Melissa officinalis L.*) (Slavík a kol., 2000).

Meduňka lékařská dorůstá do výšky 30-80 cm. Listy má řapíkaté a čepel eliptickou, řídce či hustě chlupatou až lysou. Květy jsou ve 4-12květých lichopřeslenech přisedlých v úžlabí listenů. Koruna je bílá, mírně dvoupyská. Meduňka lékařská se hojně pěstuje v zahrádkách po celém území. Daří se jí na těžších půdách, bohatých na živiny, ve slunných polohách. Uplatňuje se jako součást čajů v lidovém léčitelství či ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu, kde se využívá její silice (Slavík a kol., 2000). Kromě silic obsahuje dále třísloviny

typické pro čeleď *Lamiaceae* (např. rozmarýnovou kyselinu), flavonoidy (rhamnocitrin, isoquercetin) a triterpenové kyseliny (ursolovou a oleanovou) (Herodež et al., 2003).

Meduňka lékařská se tradičně používá ke zlepšení poruch spánku a snížení stresu. Zmírňuje pocity melancholie a deprese. Rovněž byly zjištěny antioxidační a protirakovinné účinky (Lin et al., 2015). V lidovém léčitelství se používá i při bolesti v podbřišku, žaludečních potížích, chronických bronchiálních katarrech, migrénách, ale i při bolesti zubů, ucha a vysokém krevním tlaku. Zevně nachází využití při revmatismu či bolestech svalů (Herodež et al., 2003).

3.1.13 Saturejka (*Satureja L.*)

Rod saturejka zahrnuje jednoleté, zřídka dvouleté aromatické byliny. Koruna je světle fialová, růžová nebo bílá. Je známo asi 200 druhů, vyskytujících v mírných a subtropických pásech celého světa. Na našem území je nejvíce rozšířená saturejka zahradní (*Satureja hortensis L.*) (Farzaneh et al., 2015; Slavík a kol., 2000)

Tento druh má tenký, větvený kořen. Jeho přímá lodyha dorůstá výšky 10-30 (-60) cm. Listy jsou čárkovitě kopinaté a na vrcholu zašpičatělé. Koncové lichoklasy jsou tvořené 2-5květými lichopřesleny. Saturejka zahradní je pěstována po celém území, většinou na zahrádkách. Potřebuje dobrou zahradní půdu, nejlépe v teplých chráněných polohách (Slavík a kol., 2000). Jedná se o silně aromatickou rostlinu užívanou jako kuchyňské koření i jako tradiční léčivá rostlina. Pozitivní účinky na lidské zdraví jsou připisovány různým biologicky aktivním složkám, jako jsou silice, triterpeny a flavonoidy. Jde především o protizánětlivé, antioxidační a antibakteriální účinky (Farzaneh et al., 2015).

3.1.14 Yzop (*Hyssopus L.*)

Rod Yzop tvoří keře či polokeře, většinou olýsalé, silně aromatické a s přisedlými žlázkami. Popsáno je 15 druhů s výskytem od Středomoří do Střední Asie, přičemž nejznámějším je yzop lékařský (*Hyssopus officinalis L.*).

Polokeře yzopu lékařského dorůstají do výšky 20-60 cm a mají hluboký dřevnatý kořen. Listy jsou podlouhlé, kopinaté až čárkovitě kopinaté, s přisedlými, silně aromatickými žlázkami. Lichopřesleny jsou nejčastěji 3-7květé, skládající často jednostranný lichoklas. Koruna je modrá až fialová, zřídka bílá. Stanoviště výskytu jsou obvykle na rumišťích, příkopech a na stráních, vždy na slunných a suchých místech s lehčí půdou. Nať se používá

jako koření do polévek, salátů a k masům. Rovněž se pěstuje jako léčivá a okrasná rostlina (Slavík a kol., 2000).

Pro farmaceutické účely se tato rostlina používá jako antiseptikum, stomachikum, proti chronické bronchitidě a léčbě astmatu. Aplikuje se také při léčbě revmatických bolestí, modřin, ran či při regulaci krevního tlaku (Džamić et al., 2013). Kromě silic obsahuje yzop také fenolické látky, jako jsou flavonoidní glykosidy (deriváty apigeninu a luteolinu) či fenolické kyseliny a třísloviny (Venditti et al., 2015).

3.1.15 Dobromysl (*Origanum* L.)

Byliny rodu *Origanum* jsou vytrvalé, s přímými lodyhami, obvykle chlupaté a pokryté přisedlými siličnými žlázkami. Spadá sem asi 20 druhů s převážným rozšířením ve Středozeří a na Blízkém východě. Nejznámějším druhem je dobromysl obecná (*Origanum vulgare* L.) (Slavík a kol., 2000).

Dobromysl obecná, též označována jako oregano, dorůstá do výšky 25-60 cm. Listy, listeny i kalich jsou tečkované tmavými lesklými žlázkami, vylučujícími silice. Lichopřesleny jsou chudokvěté, nahuštěné do krátkých 5-25květých lichoklasů nebo hlávek. Koruna je růžová až růzovofialová. Častými stanovišti výskytu jsou okraje lesů a řídkých křovin, výslunné stráně, paseky apod. Vyhledává mělké až středně hluboké sušší půdy bohaté na živiny. V České republice se vyskytuje hojně, zejména v teplejších oblastech (Slavík a kol., 2000).

Dobromysl se sbírá odedávna a je známá svou silnou antioxidační a antimikrobiální aktivitou. Sušená nať se používá k přípravě čajů, uplatňujících se jak ve farmacii, tak v lidovém léčitelství. Drcená nať je využívána i jako koření v kuchyni. Antimikrobiální aktivita je způsobená především vysokým obsahem silic, které navíc přispívají k chuti a vůni byliny. Hojně zastoupené jsou také fenolické sloučeniny, včetně flavonoidů a fenolických kyselin, které zodpovídají za antioxidační aktivitu. Tyto fenolické antioxidanty mají další biologické účinky jako antivředové, protizánětlivé, antidiabetické, cytotoxické či protinádorové. Dobromysl je i významnou nektarodárnou rostlinou (Slavík a kol., 2000; Zhang et al., 2014).

3.1.16 Majoránka (*Majorana* MILL.)

Jedná se o dvouleté byliny s větvenými lodyhami, které jsou silně aromatické. Je popsáno asi 6 převážně východomediteránních druhů.

Tím hlavním je majoránka zahradní (*Majorana hortensis* nebo také *Origanum majorana*). Má bohatě větvený kořen a přímou, vystoupavou až poléhavou větvenou lodyhu, vysokou 20 – 50 cm. Lichopřesleny jsou složeny z 8 – 12 drobných, postupně rozkvétajících květů. Koruna je růžová až bílá. Tento druh je běžně pěstovaný po celém území ČR – většinou v malém množství pro domácí potřebu, ale i jako polní kultura. Nať se ořezává při začátku kvetení, obvykle dvakrát za sezónu. Nejvíce se jí daří na lehčích hlinito-písčitéch půdách. Majoránka je hojně využívána jako koření v kuchyni, ale i jako léčivka (Slavík a kol., 2000). Díky silicím vykazuje antimikrobiální vlastnosti, silnou antioxidační aktivitu má zejména kvůli vysokému obsahu fenolických kyselin a flavonoidů. Tradičně se bylina využívá jako prostředek proti astmatu, zažívacím potížím, bolesti hlavy a revmatismu (Sellami et al., 2009).

3.1.17 Mateřídouška (*Thymus* L.)

Rod mateřídouška obsahuje nízké keříky či vytrvalé byliny s dřevnatějším, bohatě rozvětveným hlavním kořenem. Tyto rostliny jsou zpravidla silně aromatické. Patří sem asi 215 druhů rozšířených téměř po celé Eurasii, na Islandu či v severní Africe. Oblastí největšího výskytu je Středomoří, zejména Pyrenejský poloostrov. Mezi hlavní zástupce patří mateřídouška vejčitá (*Thymus pulegioides* L.), mateřídouška úzkolistá (*Thymus serpyllum* L.) a tymián obecný (*Thymus vulgaris* L.). Dalšími druhy jsou například mateřídouška alpská (*Thymus alpestris*), mateřídouška panonská (*Thymus pannonicus* ALL.) či mateřídouška olýsalá (*Thymus glabrescens* WILLD.) (Ložiené et al., 2007; Slavík a kol., 2000).

Pro mateřídoušku vejčitou jsou charakteristické nízké 10 – 30 cm vysoké, zpravidla volně až hustě trsnaté keříky s větvenými stonky, vždy zakončenými květenstvím. Květonosné větve jsou ostře čtyřhranné. Lichoklasy jsou zkrácené, válcovité až kulovité s chlupatými kalichy a růžovými až bílými korunami. Jedná se o nejhojnější mateřídoušku na území ČR. Vyskytuje se na krátkostébelných loukách, pastvinách, mezích, okrajích polních cest a lesů apod. Roste na spíše chudších, málo humózních půdách s proměnlivým obsahem živin.

Tymián obecný neboli mateřídouška tymián roste jako nízké keříky či polokeře. Stonky jsou přímé, 20 – 30 cm vysoké a bohatě větvené. Řapíkaté listy mají úzce eliptickou až úzce kopinatou čepel. Květy jsou oboupohlavné nebo funkčně samičí s fialovou nebo růžovou korunou. Tymián obecný se pěstuje pro listy, které se používají jako aromatické koření nebo jako součást léčivých čajů (Slavík a kol., 2000).

Druhy rodu *Thymus* jsou hojně používány jako aromatické koření či jako tradiční rostlinné léčivé přípravky k léčbě gastrointestinálních poruch, respiračních infekcí či kožních onemocnění. Různé farmakologické studie prokázaly antioxidační, protizánětlivé, spasmolytické, antibakteriální a další účinky. Tyto vlastnosti jsou připisovány přítomnosti fenolických sloučenin, triterpenových kyselin a především silicím (Raudone et al., 2017).

3.1.18 Bazalka (*Ocimum L.*)

Do tohoto rodu patří asi 50 druhů, vyskytujících se v tropických, subtropických i mírných pásech. Jedná se o jednoleté, větvené lysé byliny. Nejznámějším druhem je u nás bazalka pravá (*Ocimum basilicum L.*)

Bazalka pravá nebo také bazalka vonná má bohatě větvené lodyhy, které jsou vysoké 20 – 40 cm. Lichopřesleny jsou chudokvěté s bílými korunami. Jedná se o druh, který je u nás pěstován na zahradách - zplaňuje jen zřídka. Vyžaduje teplejší polohy a kypré půdy, bohaté na živiny. V plném květu se sklízí nať, která se používá v čerstvém stavu nebo sušená, jako koření k masům, do omáček a salátů (Slavík a kol., 2000). V minulosti byla bazalka konzumována pro prevenci kardiovaskulárních onemocnění, dále působila jako antispasmodikum, karminativum, digestivum či tonikum. Dosavadní studie ukázaly, že extrakty vykazují antioxidační, antihypertenzní, antibakteriální a antikancerogenní účinky, které se z velké části připisují fenolické sloučenině – rozmarýnové kyselině (Kwon et al., 2017).

3.1.19 Máta (*Mentha L.*)

Máta je rod vytrvalých aromatických bylin, které mají podzemní či nadzemní plazivé oddenky. Popsáno bylo asi 18 druhů a 11 hybridů s výskytem původně v mimotropických oblastech Eurasie, východní a jižní Afriky, Severní Americe, Austrálii a na Novém Zélandu. V České republice roste máta dlouholistá (*Mentha longifolia L.*), máta vonná (*Mentha*

suaveolens), máta klasnatá (*Mentha spicata* L.), máta vodní (*Mentha aquatica* L.) a máta rolní (*Mentha arvensis* L.) Všechny druhy tohoto rodu se mohou vzájemně poměrně snadno křížit. Tito kříženci jsou často sterilní a obvykle nevytvářejí další dceřinné generace. Snadno se však množí vegetativně, a proto jsou běžnou složkou plané květeny i častým předmětem pěstování. Takovýmto jedincem je máta peprná (*Mentha x piperita*), která vznikla zkřížením máty vodní a máty klasnaté (Benabdallah et al., 2016; Slavík a kol., 2000).

Máta peprná má oddenek s podzemními výběžky. Lodyha je přímá, vysoká 40-80 cm. Listy jsou řapíkaté s kopinatou až vejčitou čepelí, která je na spodní straně pokryta jednoduchými chlupy a krátkými papilami. Koruna je zbarvena do světle růžova až světle fialova. Tento druh je pěstován pro nať případně pro listy. Používají se buď jako siličná droga nebo surovina k získávání silice pro potravinářský, farmaceutický či jiný průmysl. Silice máty peprné obsahuje řadu monoterpenů, z nichž nejvíce zastoupenými jsou menthol a menthon. Derivátům polyfenolů se připisují také karminativní, digestivní, antispasmodické, protizánětlivé a antioxidační účinky (Benabdallah et al., 2016; Slavík a kol., 2000)

3.1.20 Šalvěj (*Salvia* L.)

Rod šalvěj zahrnuje jednoleté, dvouleté nebo vytrvalé aromatické byliny či polokeře. Jedná se o velmi obsáhlý rod – je popsáno asi 900 druhů rozšířených téměř na všech kontinentech. Nejznámějším druhem je šalvěj lékařská (*Salvia officinalis* L.), dále také šalvěj muškátová (*Salvia sclarea* L.), šalvěj lepkavá (*Salvia glutinosa* L.), šalvěj luční (*Salvia pratensis* L.) aj. (Slavík a kol., 2000)

Šalvěj lékařská roste jako silně aromatické polokeře, vysoké 20 – 70 cm. Mají bohatě větvený hlavní kořen a přímé, zřídka větvené lodyhy. Listy jsou řapíkaté s podlouhle vejčitou čepelí, v mládí hustě šedoplstnatou. Lichopřesleny jsou 8 – 10květé se světle fialovými, zřídka bílými korunami. Jedná se o druh původem z jižní Evropy a Malé Asie. U nás je pěstován jako léčivá či okrasná rostlina v zahrádkách (Slavík a kol., 2000).

Bylina obsahuje značné množství silice složené z terpenových složek thujonu, borneolu, 1,8-cyneolu, linaoolu, kafru aj. Listy obsahují karneolovou, oleanolovou, ursolovou a kávovou kyselinu, dále pak třísloviny, flavonoidy a glykosidy (Govil and Singh, 2010).

Salvia officinalis L. je považována za královnu bylin, která je široce využívána ve farmaceutickém průmyslu i v kulinářství (Martins et al., 2015). Tato rostlina je doporučována téměř proti každé nemoci, přičemž oficiální drogou je list a nať. Adstringentní účinky zajišťují třísloviny. Prokázány byly též antibakteriální, prostatické a fungistatické

účinky. Alkoholové výtažky z listů mají antioxidační vlastnosti. Rovněž byla zjištěna účinnost při léčbě mírné až středně těžké Alzheimerovy choroby, nadýmání, nadměrného pocení, dyspepsie, zánětu hrtanu či zánětu dásní i při prevenci zubního kazu (Baricevic et al., 2001; Govil and Singh, 2010).

3.1.21 Rozmarýn (*Rosmarinus*)

Rod rozmarýn (též rozmarýna) zahrnuje tři druhy, které rostou divoce především v oblasti západního Středomoří. Rozprostírají se v oblastech až do 1500 metrů nad mořem. Jedná se o druhy rozmarýn lékařský (*Rosmarinus officinalis*), *Rosmarinus eriocalyx* a *Rosmarinus tomentosus*. Rostliny jsou světlomilné a kolonizují především otevřené a málo úrodné půdy. Jsou popsány jako víceleté keře se vzpřímenými nebo poléhavými chlupatými stonky. Listy jsou jednoduché, čárkovité až kopinaté, zakřivené směrem dolů. Charakteristické je pro ně květenství v přeslenu s 5 – 15 květy (Hernández et al., 2016).

Rozmarýn lékařský je důležitým kořením, které se používá jak při vaření, tak v potravinářském i kosmetickém průmyslu jako konzervační látka díky své antioxidační aktivitě. Rovněž je tato bylina známá jako léčivá rostlina, která vykazuje mnoho biologických aktivit: hepatoprotektivní, antimikrobiální, antitrombotickou, antidiabetickou, diuretickou, antioxidační, antikancerogenní či protizánětlivou. Zejména antioxidační a protizánětlivé aktivity jsou spojovány s přítomností fenolických kyselin (rozmarýnová, kávová, chinová) a flavonoidů (kaempferol, quercetin, rutin) (Maldini et al., 2016). Silice má také stimulační vlastnosti. Využívá se jako plicní antiseptikum, choleretikum či antidiarhoikum (Pintore et al., 2002).

4 Metodika

V experimentální části diplomové práce byla stanovována antioxidační aktivita vybraných rostlin čeledi hluchavkovitých pomocí radikálové metody DPPH. Dále byl spektrofotometricky stanovován celkový obsah flavonoidů a jejich podtříd 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů.

Rostlinný materiál a uchování vzorků

V diplomové práci bylo analyzováno dvacet šest vzorků čtrnácti druhů rostlin čeledi hluchavkovitých. Jednalo se o zástupce využívané v potravinářství i léčitelství.

Třináct vzorků bylo zakoupeno u firmy *Valdemar Grešík – Natura*. Jedná se o firmu, která byla založena roku 1990 a dnes patří mezi přední české výrobce bylinných čajů, ovocných čajů, koření, kapek, mastí, koupelí z léčivých bylin a potravinových doplňků. Tyto vzorky byly zakoupeny na jaře 2017, sušené a zabalené v papírových sáčcích po 50 g. Datum sběru ani lokalitu se bohužel nepodařilo dohledat, jelikož se většinou jedná o směsné šarže. Vzhledem k tomu, že výrobce není povinen uvádět zemi původu bylin, byla poskytnuta pouze u některých druhů. Podrobnější informace jsou uvedeny v Příloze 2, 3.

Dalších třináct vzorků bylo nasbíráno v průběhu června a července 2017 za podmínek běžných pro sběr těchto rostlin. Podrobnější informace jsou uvedeny v Příloze 4. Bezprostředně po sběru byly nasbírané byliny v tenkých vrstvách rozprostřeny do nízkých kartonových krabic vystlaných čistým bílým balicím papírem. Následně byly uloženy na teplou, tmavou půdu s dobrým odvětráváním. Po usušení byly jednotlivé vzorky rostlin vloženy do čistých popsaných sklenic a zavičkovány.

Příprava vzorků

Sušené rostlinné materiály byly před extrakcí homogenizovány rozdrčením ve mlýnku na prášek. Rozemletím došlo k lepší dostupnosti rozpouštědel k rostlinným pletivům, a tím i k možnosti dosažení lepších výsledků. Na analytických vahách byly následně naváženy 2 g (s přesností +/- 0,001 g) do 100 ml odměrných baněk a doplněny po rysku methanolem. Takto byly vzorky uloženy v temnu při pokojové teplotě a další den byly přes filtrační papír zfiltrvány a extrakty dále použity ke stanovení.

Použité chemikálie a přístroje

Ke stanovení byl použit jednopaprskový spektrofotometr Helios γ pro 190 – 1100 nm značky UNICAM. Použité chemikálie k jednotlivým stanovením byly následující:

4.1.1 Stanovení antioxidační aktivity

- DPPH
- Methanol
- Kyselina askorbová

4.1.2 Stanovení celkového obsahu flavonoidů

- H_2SO_4
- NaNO_2
- NaOH
- Destilovaná voda

4.1.3 Stanovení 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů

- Octan draselný
- NTS (β -diaminoethylester kyseliny borité)
- Methanol

Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita byla měřena radikálovou metodou DPPH, jejíž princip je popsán v kapitole 3.1.4.4.

Ke stanovení antioxidační aktivity byly použity methanolicke extrakty, jejichž příprava byla popsána v kapitole 4.2. Před samotným měřením byly vzorky 20krát naředěny. Některé však vykazovaly vyšší antioxidační aktivitu, a proto musely být naředěny 50krát.

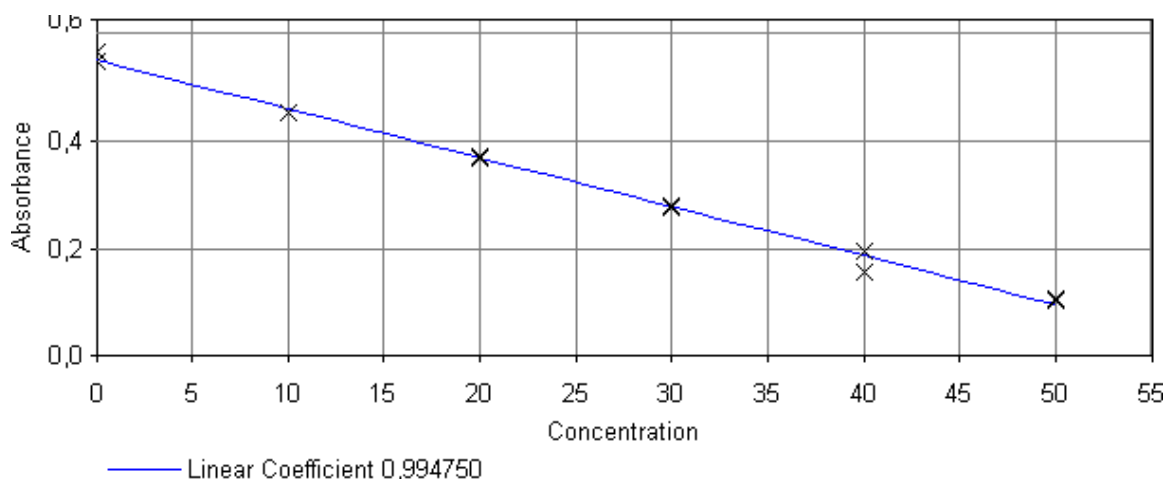
Pro přípravu pracovního roztoku DPPH bylo do 50 ml odměrné baňky naváženo 0,012 g krystalické látky DPPH a doplněno po rysku methanolem. Baňka byla na 10 minut umístěna na elektromagnetickou míchačku a následně se roztok ředil na absorbanci 0,6 A při 515 nm, proti methanolu – blanku.

Do plastové kyvety byly poté odpipetovány 2 ml roztoku DPPH a 200 μ l extraktu (10 μ l či 4 μ l bylinného methanolickeho extraktu – každý vzorek třikrát). Směsi byly promíchány a po 20 minutách proměřeny na spektrofotometru při vlnové délce 515 nm. Výsledná antioxidační aktivita byla vyjádřena jako ekvivalent Troloxu, který byl použit k sestavení kalibrační řady (Obr. 9) a následně přepočítán na obsah sušiny pomocí vzorce:

$$X = \frac{c d V}{m_n}$$

kde:

- X je celková antioxidační aktivita v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny rostlinného vzorku (ekvivalent Troloxu)
- c je koncentrace látky (Troloxu) v měřeném vzorku v $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
- d – „dilution“ – počet ředění methanolickeho extraktů (20/50)
- V je celkový objem připraveného methanolickeho extraktu (100 ml)
- m_n je hmotnost navážky v g



Obr. 9: Kalibrační řada ke stanovení antioxidační aktivity

Stanovení celkového obsahu flavonoidů

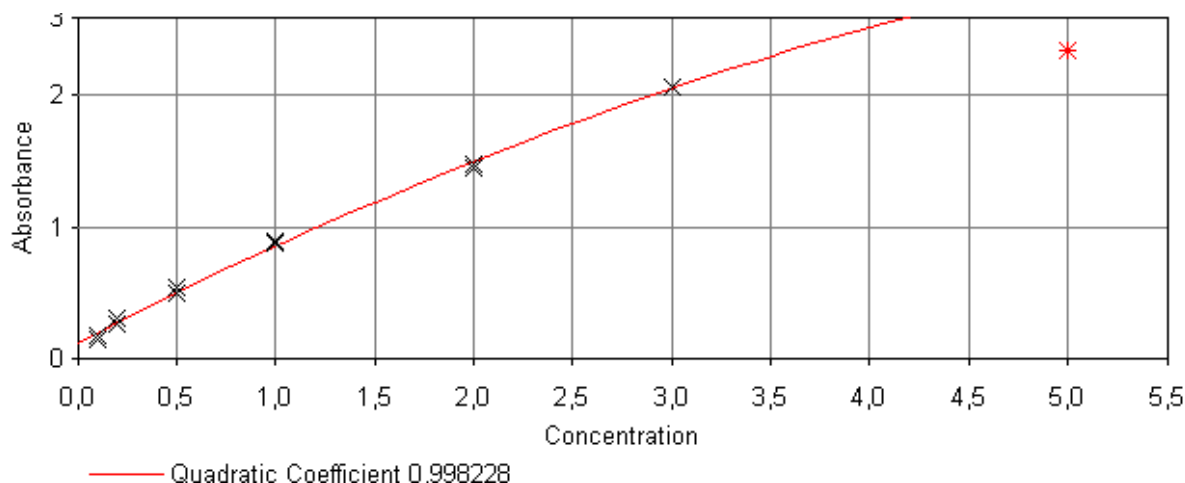
Ke stanovení celkových flavonoidů byly použity methanolické extrakty, jejichž příprava byla popsána v kapitole 4.2.

Do 25 ml odměrných baněk bylo nepipetováno 0,5 ml methanolického extraktu, ke kterému bylo přidáno 3 ml 0,2 M roztoku H_2SO_4 , 3 ml 3 M roztoku $NaNO_2$ a 3 ml 10 % roztoku $NaOH$. Po promíchání se baňky doplnily po rysku destilovanou vodou a opět důkladně promíchaly. Připravené vzorky se nechaly 15 minut stát při pokojové teplotě. Po uplynutí této doby byla spektrofotometricky stanovována absorbance při vlnové délce 395 nm oproti slepému vzorku. Do něho bylo místo methanolických extraktů z bylin nepipetováno 0,5 ml methanolu. Celkový obsah flavonoidů byl vyjádřen jako obsah quercetinu, který byl použit na sestavení kalibrační řady (Obr. 10) a následně přepočítán na obsah sušiny pomocí vzorce:

$$X = \frac{c \cdot \frac{V}{V_p}}{m_n}$$

kde:

- X je obsah flavonoidů v $\mu g \cdot g^{-1}$ sušiny rostlinného vzorku (ekvivalent quercetinu)
- c je koncentrace látky (quercetinu) v měřeném vzorku v $\mu g \cdot ml^{-1}$
- V_e je celkový objem připraveného methanolického extraktu (100 ml)
- V_p je objem pipetovaného methanolického extraktu do vzorku (0,5 ml)
- m_n je hmotnost navážky v g



Obr. 10: Kalibrační řada ke stanovení celkového obsahu flavonoidů

Stanovení 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů

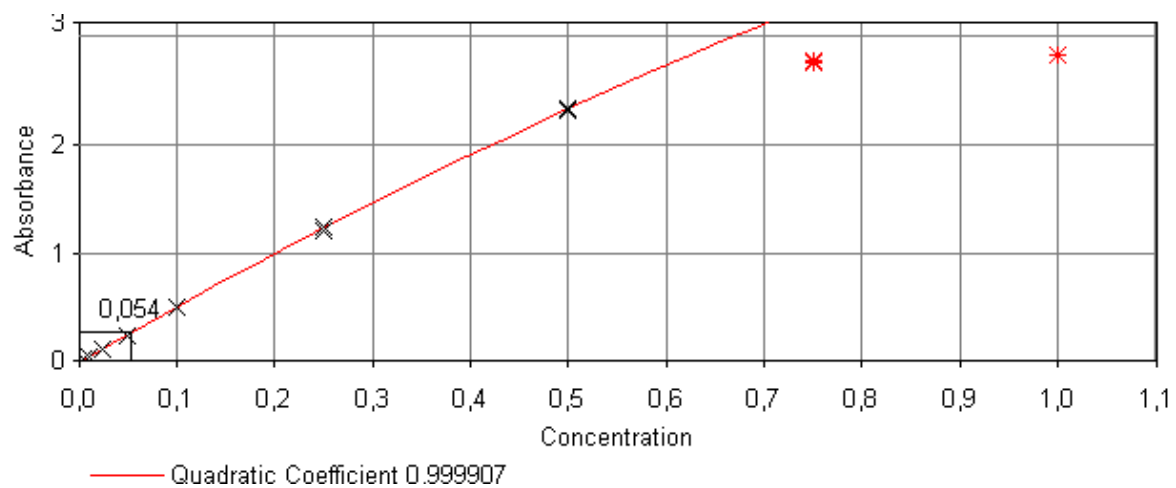
Ke stanovení 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů byly použity methanolicke extrakty, jejichž příprava byla popsána v kapitole 4.2.

Do 10 ml odměrných baněk bylo nepipetováno 0,25 ml methanolickeho extraktu, ke kterému bylo přidáno 0,2 ml 1% roztoku NTS (β -diaminoethylester kyseliny borité) v methanolu. Po promíchání se baňky doplnily po rysku methanolem a opět důkladně promíchaly. Připravené vzorky se nechaly 30 minut stát při pokojové teplotě. Po uplynutí této doby byla spektrofotometricky stanovována absorbance při vlnové délce 380 nm oproti slepému vzorku. Do něho bylo místo methanolickeho extraktů z bylin nepipetováno 0,25 ml methanolu. Obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů byl vyjádřen jako obsah quercetinu, který byl použit na sestavení kalibrační řady (Obr. 11) a následně přepočítán na obsah sušiny pomocí vzorce:

$$X = \frac{c \cdot \frac{V}{V_p}}{m_n}$$

kde:

- X je obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny rostlinného vzorku (ekvivalent quercetinu)
- c je koncentrace látky (quercetinu) v měřeném vzorku v $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
- V_e je celkový objem připraveného methanolickeho extraktu (100 ml)
- V_p je objem pipetovaného methanolickeho extraktu do vzorku (0,25 ml)
- m_n je hmotnost navážky v g



Obr. 11: Kalibrační řada ke stanovení obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů

Výsledky a statistické zpracování

Výsledné hodnoty všech stanovení měřených vzorků jsou zaznamenány v tabulkách, které jsou nejprve rozděleny na vzorky kupovaných bylin (Grešík) a vlastního sběru (Tab. 3, 4, 6, 7). Následně byly jejich hodnoty zprůměrovány pro každý rostlinný druh (Tab. 5, 6, 7).

Odlišná antioxidační aktivita, kterou vykazují rostliny čeledi hluchavkovité, závislost obsahu flavonoidů na druhu rostliny, i korelace mezi antioxidační aktivitou a obsahem flavonoidních látek byly statisticky vyhodnoceny v programu Statistica 12.

Pro statistické vyhodnocení odlišné antioxidační aktivity mezi jednotlivými rostlinami a vyhodnocení závislosti flavonoidů na rostlinném druhu byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA). Nulovou hypotézou pro testované soubory bylo konstatování, že mezi jednotlivými vzorky rostlinných druhů a jejich hodnotami antioxidační aktivity či flavonoidů není statisticky významný rozdíl na hladině významnosti ($\alpha = 0,05$). Pro vyhodnocení nulové hypotézy sloužila p-hodnota. Nejprve byl proveden F-test a pokud byla nulová hypotéza zamítnuta ($p \leq \alpha$), byly zjištěny statisticky významné rozdíly a následovalo podrobnější vyhodnocení pomocí Schéffeho metody.

Pro statistické vyhodnocení možné korelace mezi antioxidační aktivitou a obsahem flavonoidních látek byla použita vícenásobná regresní analýza. Nulovou hypotézou pro testované soubory bylo konstatování, že mezi antioxidační aktivitou a obsahem flavonoidních látek neexistuje lineární vztah (korelace). Pro vyhodnocení nulové hypotézy sloužila p-hodnota. Pokud byla nulová hypotéza zamítnuta ($p \neq 0$), byla zjištěna korelace na zvolené hladině významnosti.

4.1.4 Stanovení antioxidační aktivity

Výsledky měření antioxidační aktivity metodou DPPH jsou zaznamenány v tabulkách (Tab. 3 a 4). Průměrné hodnoty pro jednotlivé rostlinné druhy jsou zaneseny v Tab. 5. Antioxidační aktivita byla vyjádřena ekvivalentním množstvím Troloxu (v μg) vztaženého k ml extraktu a následně převedena na mg Troloxu vztažené na g sušiny.

Tab. 3: Výsledky měření antioxidační aktivity u kupovaných vzorků bylin (Grešík)

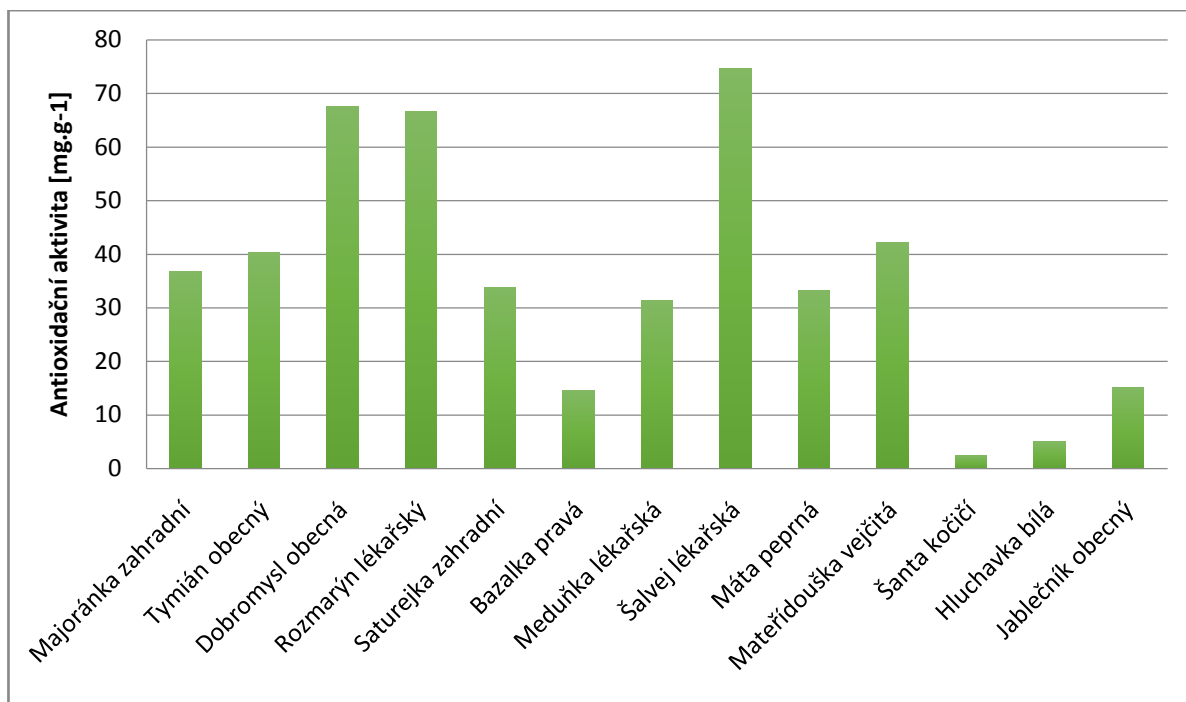
Druh byliny	průměrná koncentrace v μg Troloxu/ml extraktu	ředění	$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
Majoránka zahradní	36,76	20 x	36,74
Tymián obecný	40,65	20 x	40,33
Dobromysl obecná	27,14	50 x	67,51
Rozmarýn lékařský	26,64	50 x	66,53
Saturejka zahradní	33,87	20 x	33,77
Bazalka pravá	14,59	20 x	14,58
Meduňka lékařská	31,38	20 x	31,32
Šalvej lékařská	29,85	50 x	74,55
Máta peprná	33,23	20 x	33,16
Mateřídouška vejčitá	42,25	20 x	42,17
Šanta kočičí	2,49	20 x	2,49
Hluchavka bílá	4,97	20 x	4,95
Jablečnick obecný	15,01	20 x	15,01

V Tab 3 jsou znázorněny výsledné hodnoty antioxidační aktivity u 13 kupovaných vzorků bylin (Grešík) – 4. sloupec. Celková antioxidační aktivita je vyjádřena v mg Troloxu vztažených na g sušiny. Hodnoty se pohybují v intervalu od $2,49 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ do $74,55 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší antioxidační aktivita byla naměřena v šalvěji lékařské, a to $74,55 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Vysoké hodnoty měla také dobromysl obecná s $67,51 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ či rozmarýn lékařský s $66,53 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejmenší antioxidační aktivita byla naměřena u šanty kočičí s $2,49 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a hluchavky bílé s $4,95 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Na Obr. 12 je grafické znázornění antioxidační aktivity jednotlivých kupovaných vzorků bylin (Grešík), vyjádřené v mg Troloxu vztažených na g sušiny.

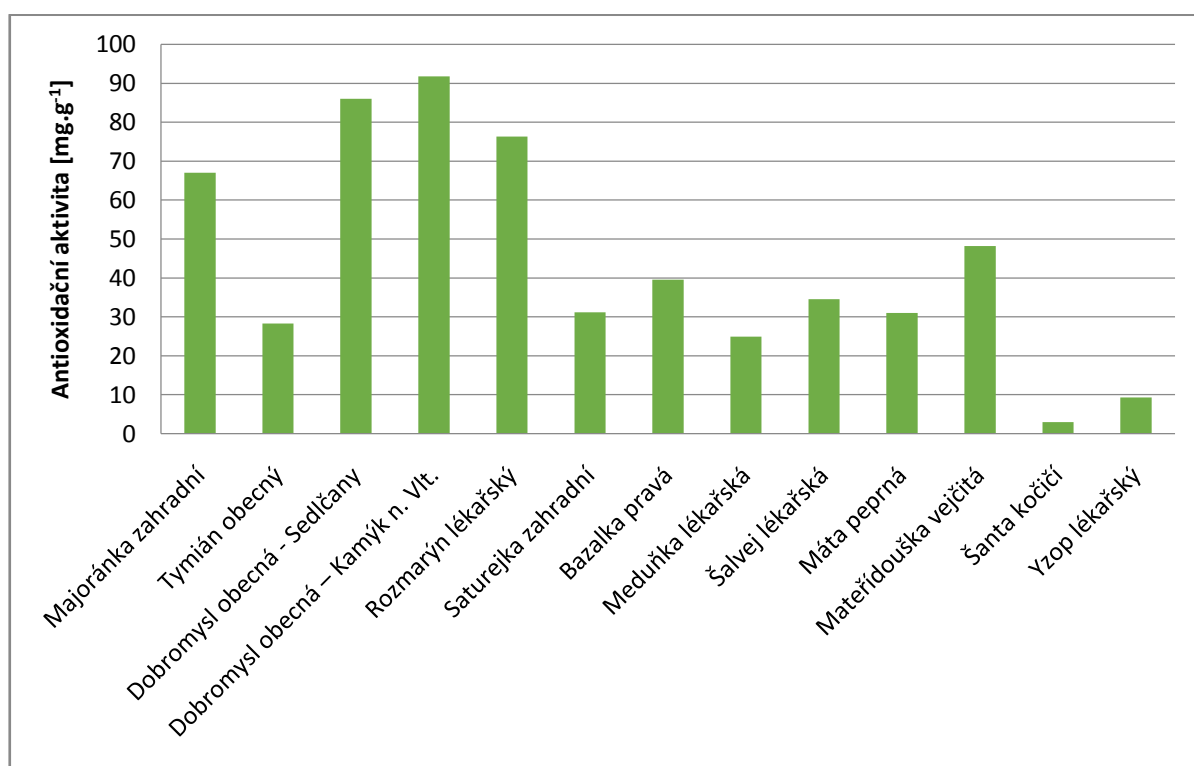
Tab. 4 : Výsledky měření antioxidační aktivity u nasbíraných vzorků bylin

Druh byliny	průměrná koncentrace v μg Troloxu/ml extraktu	ředění	$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
Majoránka zahradní	26,85	50 x	67,06
Tymián obecný	28,36	20 x	28,29
Dobromysl obecná - Sedlčany	34,42	50 x	86,05
Dobromysl obecná – Kamýk n. Vlt.	36,72	50 x	91,8
Rozmarýn lékařský	30,53	50 x	76,29
Saturejka zahradní	31,28	20 x	31,19
Bazalka pravá	26,28	20 x	39,52
Meduňka lékařská	25,06	20 x	24,94
Šalvej lékařská	34,55	20 x	34,55
Máta peprná	31,16	20 x	30,97
Mateřídouška vejčitá	48,22	20 x	48,22
Šanta kočičí	2,92	20 x	2,92
Yzop lékařský	9,31	20 x	9,27

V Tab. 4 jsou znázorněny výsledné hodnoty antioxidační aktivity u 13 vzorků bylin (vlastní sběr) – 4. sloupec. Celková antioxidační aktivita je vyjádřena v mg Troloxu vztažených na g sušiny. Hodnoty se pohybují v intervalu od $2,92 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ do $91,8 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší antioxidační aktivita byla naměřena v dobromysli obecné nasbírané v lokalitě Kamýk nad Vltavou, a to $91,8 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Vysoké hodnoty měla také dobromysl obecná s lokalitou sběru v Sedlčanech, u které bylo naměřeno $86,05 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ či rozmarýn lékařský se $76,29 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejmenší antioxidační aktivita byla naměřena u šanty kočičí s $2,92 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a yzopu lékařského s $9,27 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Na Obr. 13 je grafické znázornění antioxidační aktivity jednotlivých nasbíraných vzorků bylin, vyjádřené v mg Troloxu vztažených na g sušiny.



Obr. 12: Grafické znázornění antioxidační aktivity jednotlivých kupovaných vzorků bylin (Grešík)

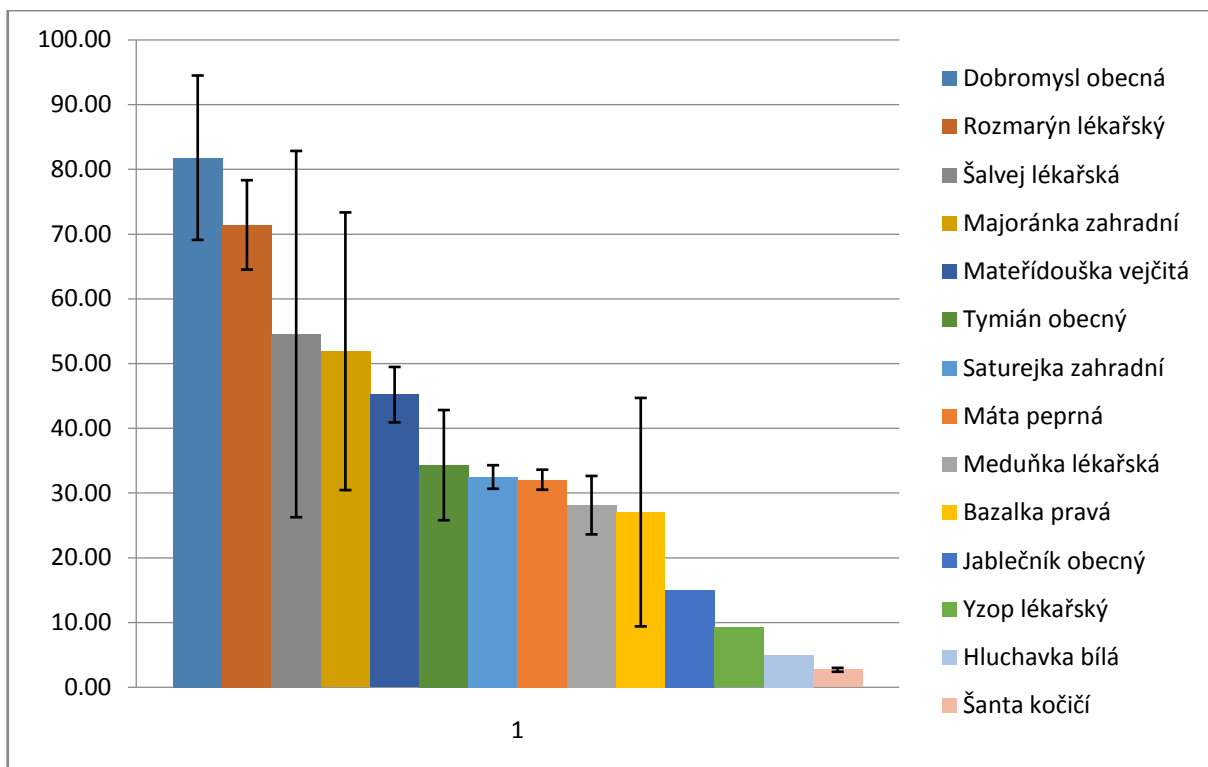


Obr. 13: Grafické znázornění antioxidační aktivity jednotlivých nasbíraných vzorků bylin

Tab. 5: Průměrné hodnoty naměřené antioxidační aktivity u jednotlivých druhů bylin (Grešík a vlastní sběr)

Druh byliny	mg.g⁻¹
Dobromysl obecná	81,79 ± 12,69
Rozmarýn lékařský	71,41 ± 6,90
Šalvej lékařská	54,55 ± 28,28
Majoránka zahradní	51,90 ± 21,44
Mateřídouška vejčitá	45,20 ± 4,28
Tymián obecný	34,31 ± 8,51
Saturejka zahradní	32,48 ± 1,82
Máta peprná	32,07 ± 1,55
Meduňka lékařská	28,13 ± 4,51
Bazalka pravá	27,05 ± 17,64
Jablečník obecný	15,01
Yzop lékařský	9,27
Hluchavka bílá	4,95
Šanta kočičí	2,71 ± 0,30

V Tab 5 jsou znázorněny výsledné průměrné hodnoty antioxidační aktivity u 14 druhů bylin (Grešík a vlastní sběr) s jejich směrodatnou odchylkou. Druhy bylin jsou seřazeny sestupně. U tří druhů bylin (jablečník obecný, yzop lékařský a hluchavka bílá) byl proměřován pouze jeden vzorek, směrodatná odchylka zde tedy chybí. Celková antioxidační aktivita je vyjádřena v mg Troloxu vztažených na g sušiny. Hodnoty antioxidační aktivity se pohybují v intervalu od $2,71 \pm 0,30 \text{ mg.g}^{-1}$ do $81,79 \pm 12,69 \text{ mg.g}^{-1}$. Nejvyšší průměrná antioxidační aktivita byla naměřena u dobromysli obecné, a to $81,79 \pm 12,69 \text{ mg.g}^{-1}$. Vysoké průměrné hodnoty měl také rozmarýn lékařský s $71,41 \pm 6,90 \text{ mg.g}^{-1}$ či šalvej lékařská s $54,55 \pm 28,28 \text{ mg.g}^{-1}$ a majoránka zahradní s $51,90 \pm 21,44 \text{ mg.g}^{-1}$. U šalvěje a majoránky však byla vysoká hodnota směrodatné odchylky, a to přes 20 mg.g^{-1} . Nejmenší průměrná antioxidační aktivita byla u šanty kočičí s $2,71 \pm 0,30 \text{ mg.g}^{-1}$, dále u hluchavky bílé s $4,95 \text{ mg.g}^{-1}$ a yzopu lékařského s $9,27 \text{ mg.g}^{-1}$. Na Obr. 14 je grafické znázornění průměrných hodnot antioxidační aktivity jednotlivých druhů bylin se směrodatnou odchylkou, vyjádřené v mg Troloxu vztažených na g sušiny. Druhy bylin jsou seřazeny sestupně.



Obr. 14: Grafické znázornění průměrných hodnot antioxidantní aktivity jednotlivých druhů bylin (Grešík a vlastní sběr)

Ke statistickému hodnocení odlišnosti antioxidantní aktivity u rostlin čeledi hluchavkovitých byla použita naměřená data antioxidantní aktivity všech vzorků bylin (Grešík a vlastní sběr). U F-testu byla p-hodnota menší, než zvolená hladina významnosti, mezi vzorky byl tedy zjištěn rozdíl. Pro podrobnější hodnocení byl dále použit Schéffeho test, na základě kterého byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi antioxidantní aktivitou dobromysli obecné a šanty kočičí. Příklady statistického hodnocení jsou uvedeny v Příloze 5.

4.1.5 Stanovení flavonoidních látek

Tab. 6 : Celkový obsah flavonoidů v bylinách

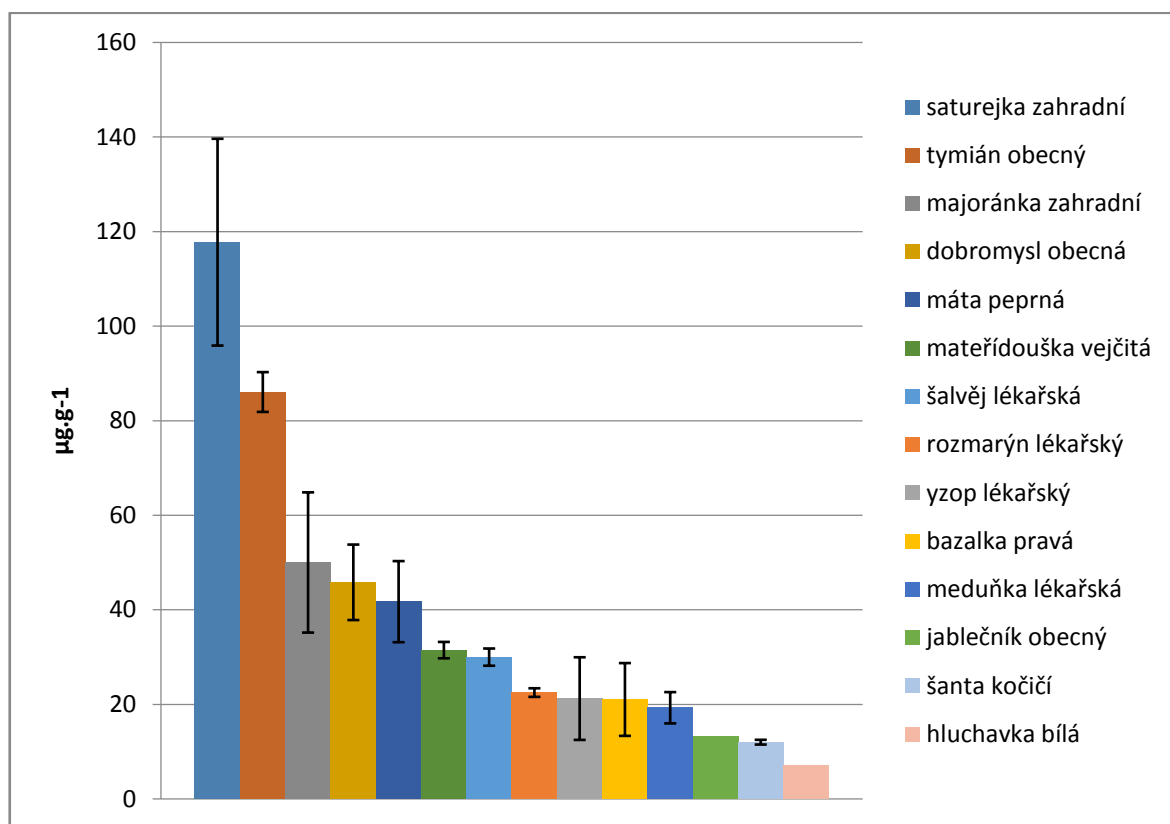
Druh byliny	[$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]		
	Grešík	Vlastní sběr	Průměr
majoránka zahradní	35,18	64,84	50,01 ± 14,83
tymián obecný	81,85	90,27	86,06 ± 4,21
dobromysl obecná	35,22	47,70 (Sedlčany) 54,50 (Kamýk n. Vlt.)	45,81 ± 7,98
rozmarýn lékařský	21,58	23,39	22,49 ± 0,91
saturejka zahradní	95,91	139,58	117,75 ± 21,83
bazalka pravá	12,29	29,77	21,03 ± 8,74
meduňka lékařská	15,97	22,59	19,28 ± 3,31
šalvěj lékařská	28,17	31,80	29,99 ± 1,82
máta peprná	33,13	50,30	41,72 ± 8,58
mateřídouška vejčitá	29,74	33,20	31,47 ± 1,73
šanta kočičí	11,50	12,50	12,00 ± 0,50
hluchavka bílá	7,17	X	7,17
jablečnick obecný	13,2	X	13,2
yzop lékařský	X	21,22	21,22

V Tab. 6 jsou znázorněny naměřené hodnoty celkového obsahu flavonoidů u 14 druhů bylin (Grešík a vlastní sběr) a jejich výsledné průměrné hodnoty se směrodatnou odchylkou. U tří druhů bylin (jablečnick obecný, yzop lékařský a hluchavka bílá) byl proměřován pouze jeden vzorek, směrodatná odchylka zde tedy chybí. Celková obsah flavonoidů je vyjádřen v μg quercetinu vztažených na g sušiny.

Celkový obsah flavonoidů u kupovaných vzorků bylin (Grešík) se pohybuje v intervalu od 7,17 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do 95,91 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší obsah byl naměřen u satirejky zahradní, a to 95,91 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Vysoký obsah měl také tymián obecný s 81,85 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejmenší obsah byl zjištěn u hluchavky bílé se 7,17 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Celkový obsah flavonoidů u nasbíraných vzorků bylin (vlastní sběr) se pohybuje v intervalu od 12,50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do 139,58 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší obsah byl naměřen u satirejky

zahravní, a to $139,58 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Vysoký obsah měl rovněž tymián obecný s $90,27 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejmenší obsah byl zjištěn u šanty kočičí s $12,50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

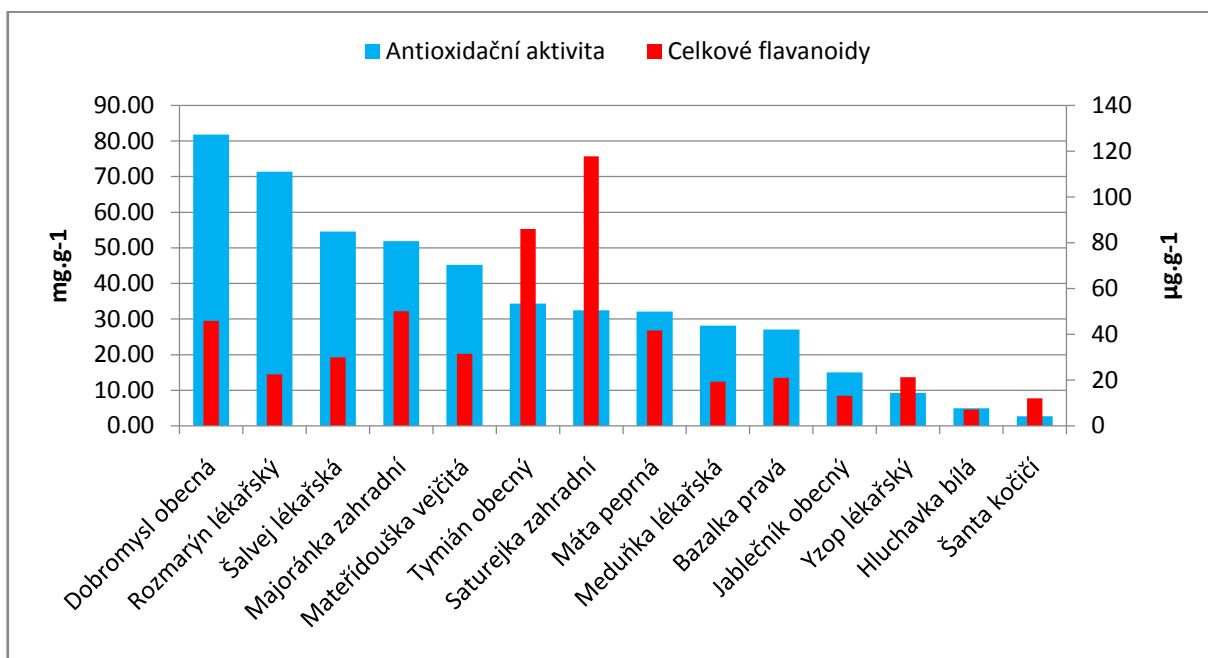


Obr. 15: Grafické znázornění průměrných hodnot celkového obsahu flavonoidů jednotlivých druhů bylin

Výsledné průměrné hodnoty celkového obsahu flavonoidů u jednotlivých druhů bylin se pohybují v intervalu od $7,17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do $117,75 \pm 21,83 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší průměrnou hodnotu celkového obsahu flavonoidů měla saturejka zahravní, a to $117,75 \pm 21,83 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Druhý průměrný nejvyšší obsah měl tymián obecný s $86,06 \pm 4,21 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejnižší celkový obsah flavonoidů byl u hluchavky bílé se $7,17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Na Obr. 15 je grafické znázornění průměrných hodnot celkového obsahu flavonoidů jednotlivých druhů bylin se směrodatnou odchylkou, vyjádřené v μg quercetinu vztahených na g sušiny. Druhy bylin jsou seřazeny sestupně.

Ke statistickému hodnocení závislosti obsahu flavonoidů na druhu rostliny byla použita naměřená data celkového obsahu flavonoidů všech vzorků bylin (Grešík a vlastní sběr). U F-testu byla p-hodnota menší, než zvolená hladina významnosti, mezi vzorky byl tedy zjištěn rozdíl. Pro podrobnější hodnocení byl dále použit Schéffého test, na základě kterého byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi obsahem flavonoidů saturejky zahravní a bazalky pravé, dobromysli obecné, yzopu lékařského, hluchavky bílé, jablečníku

obecného, mateřídoušky vejčité, meduňky lékařské, rozmarýnu lékařského, šalvěje lékařské, šanty kočičí a máty peprné. Příklady statistického hodnocení jsou uvedeny v Příloze 6.



Obr. 16: Grafické znázornění průměrných hodnot antioxidační aktivity a celkového obsahu flavonoidů u jednotlivých druhů bylin

Na Obr. 16 jsou graficky znázorněny průměrné hodnoty antioxidační aktivity a celkového obsahu flavonoidů u jednotlivých druhů bylin. Antioxidační aktivita je vyjádřena jako mg Troloxu vztažené na g sušiny, obsah flavonoidů jako µg quercetinu vztažené na g sušiny. Z grafu je patrné, že mezi antioxidační aktivitou a obsahem flavonoidů neexistuje pozitivní korelace.

Ke statistickému hodnocení možné korelace mezi antioxidační aktivitou a celkovým obsahem flavonoidů byla použita naměřená data celkového obsahu flavonoidů všech vzorků bylin (Grešík a vlastní sběr). K hodnocení byla použita vícenásobná regresní analýza, která korelaci nepotvrdila. Příklady statistického hodnocení jsou uvedeny v Příloze 7.

V Tab. 7 jsou znázorněny naměřené hodnoty obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů u 14 druhů bylin (Grešík a vlastní sběr) a jejich výsledné průměrné hodnoty se směrodatnou odchylkou. U tří druhů bylin (jablečnick obecný, yzop lékařský a hluchavka bílá) byl proměřován pouze jeden vzorek, směrodatná odchylka zde tedy chybí. Obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů je vyjádřen v µg quercetinu vztažených na g sušiny.

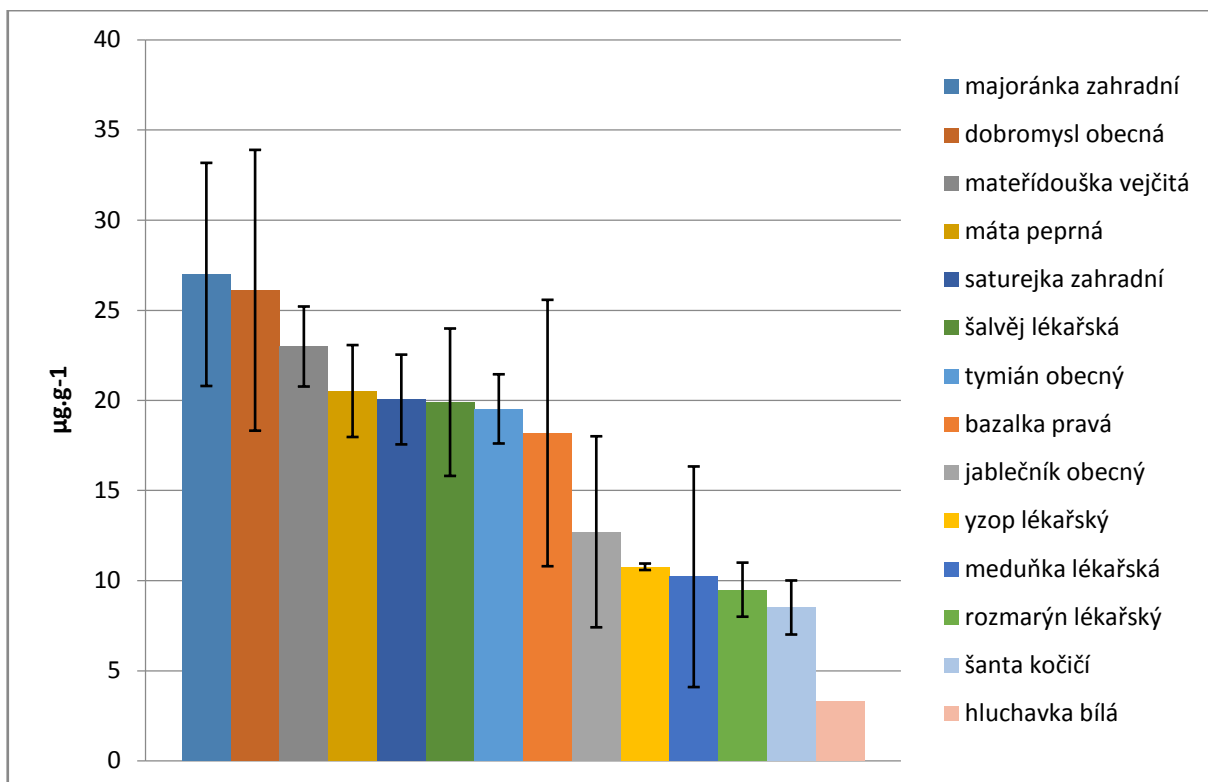
Tab. 7: Obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů v bylinách

Druh byliny	[$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]		
	Grešík	Vlastní sběr	Průměr
majoránka zahradní	20,79	33,17	26,98 ± 6,19
tymián obecný	21,43	17,56	19,50 ± 1,94
dobromysl obecná		22,00 (Sedlčany)	26,10 ± 7,79
	19,30	37,00 (Kamýk n. Vlt.)	
rozmarýn lékařský	7,99	10,99	9,49 ± 1,5
saturejka zahradní	22,53	17,55	20,04 ± 2,49
bazalka pravá	10,79	25,56	18,18 ± 7,39
meduňka lékařská	4,09	16,32	10,21 ± 6,12
šalvěj lékařská	23,98	15,80	19,89 ± 4,09
máta peprná	17,96	23,06	20,51 ± 2,55
mateřídouška vejčitá	20,76	25,20	22,98 ± 2,22
šanta kočičí	7,00	10,00	8,50 ± 1,50
hluchavka bílá	3,29	X	3,29
jablečnick obecný	12,7	X	12,7
yzop lékařský	X	10,76	10,76

Obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů u kupovaných vzorků bylin (Grešík) se pohybuje v intervalu od 3,29 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do 23,98 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší obsah byl naměřen u šalvěje lékařské, a to 23,98 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Podobný obsah měla také satirejka zahradní s 22,53 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ či tymián obecný s 21,43 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejmenší obsah byl zjištěn u hluchavky bílé s 3,29 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a meduňky lékařské se 4,09 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů u nasbíraných vzorků bylin (vlastní sběr) se pohybuje v intervalu od 10,00 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do 37,00 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší obsah byl naměřen u dobromysli obecné nasbírané v lokalitě Kamýk nad Vltavou, a to 37,00 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Vysoký obsah měla rovněž majoránka zahradní s 33,17 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejmenší obsah byl zjištěn u šanty kočičí s 10,00 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a yzopu lékařského s 10,76 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Výsledné průměrné hodnoty obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů u jednotlivých druhů bylin se pohybují v intervalu od 3,29 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do 26,98 ± 6,19 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší průměrnou hodnotu obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů měla majoránka zahradní, a to 26,98 ± 6,19 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Podobný průměrný obsah měla dobromysl obecná s 26,10 ± 7,79 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejnižší

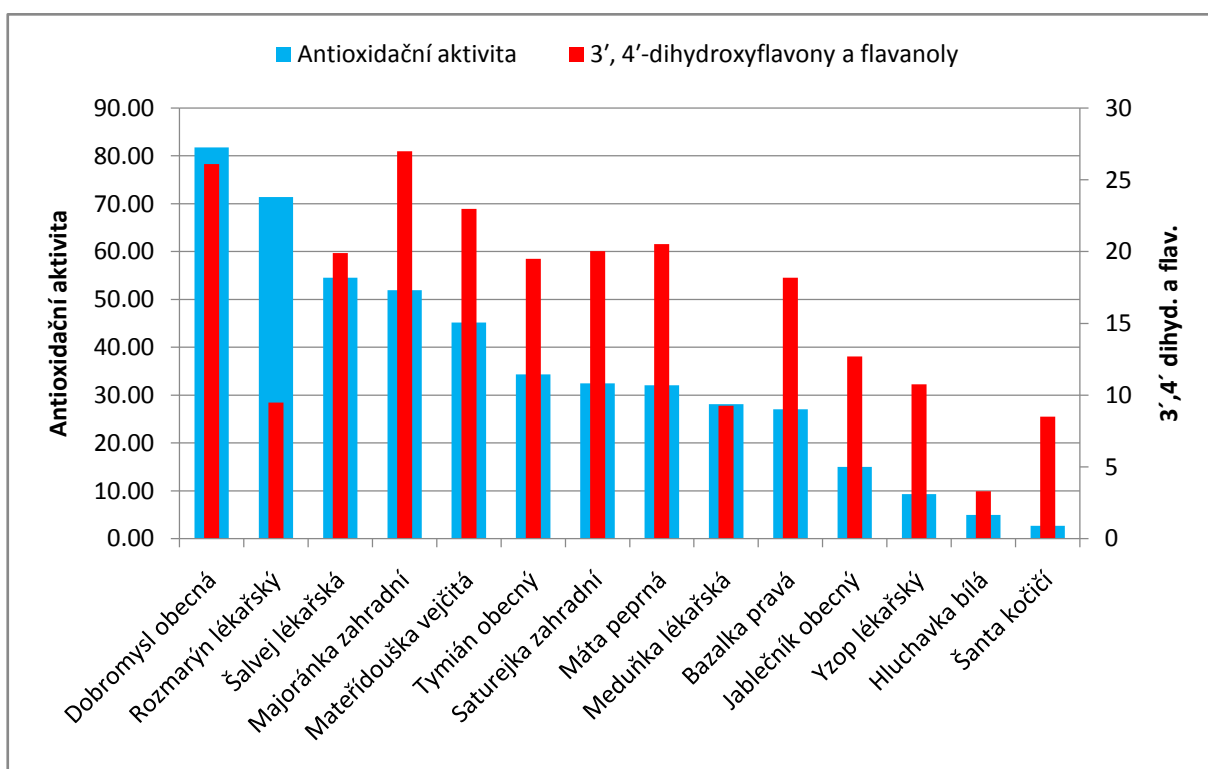


Obr. 17: Grafické znázornění průměrných hodnot obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů jednotlivých druhů bylin

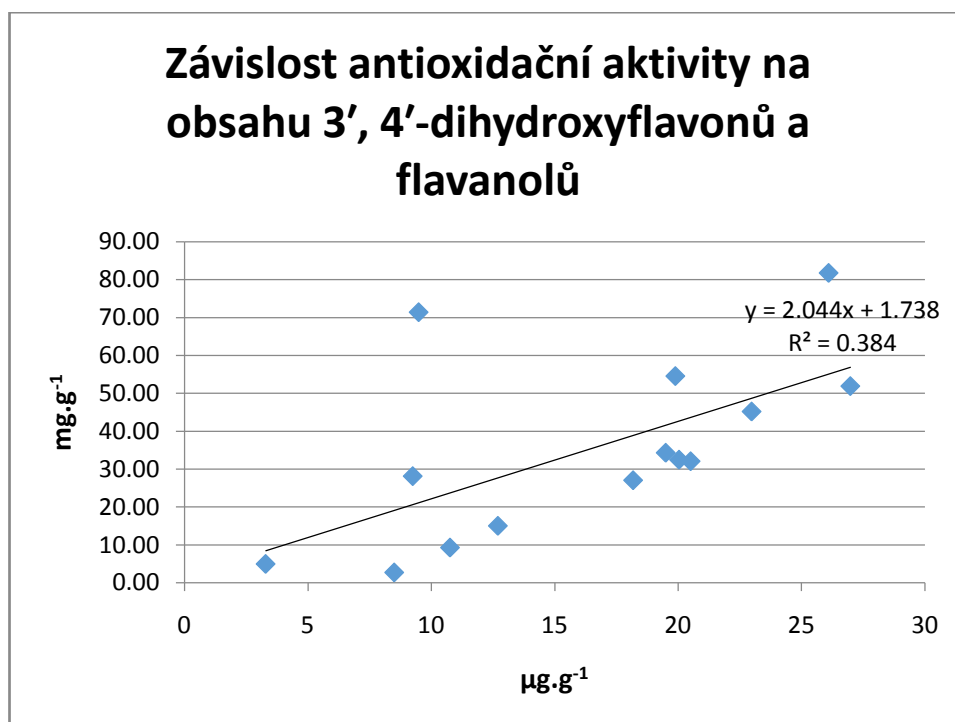
průměrný obsah flavonoidů byl hluchavky bílé se 3,29 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Na Obr. 17 je grafické znázornění průměrných hodnot obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů u jednotlivých druhů bylin se směrodatnou odchylkou, vyjádřené v μg quercetinu vztahených na g sušiny. Druhy bylin jsou seřazeny sestupně.

Ke statistickému hodnocení závislosti obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů na druhu rostliny byla použita naměřená data obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů všech vzorků bylin (Grešík a vlastní sběr). U F-testu byla p-hodnota větší, než zvolená hladina významnosti, mezi vzorky tedy neexistuje statisticky významný rozdíl a závislost nebyla potvrzena. Příklady statistického hodnocení jsou uvedeny v Příloze 8.

Na Obr. 18 jsou graficky znázorněny průměrné hodnoty antioxidační aktivity a obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů u jednotlivých druhů bylin. Antioxidační aktivita je vyjádřena jako mg Troloxu vztaheného na g sušiny, obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů jako μg quercetinu vztaheného na g sušiny. Z grafu vyplývá možná pozitivní korelace mezi antioxidační aktivitou a obsahem 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů.



Obr. 18: Grafické znázornění průměrných hodnot antioxidační aktivity a obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů u jednotlivých druhů bylin



Obr. 19: Grafické znázornění závislosti antioxidační aktivity na obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů

Na Obr. 19 je grafické znázornění závislosti antioxidační aktivity na obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů. Naměřená data jsou proložena lineární závislostí. Z grafu je patrné, že nám do lineární závislosti nesedí dobromysl obecná a rozmarýn lékařský – druhy, u kterých byla naměřena nejvyšší antioxidační aktivita. Pro ostatní přibližně platí závislost

$$y = 2,044 x + 1,738$$

kde y označuje antioxidační aktivitu v mg.g^{-1} a x obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů v $\mu\text{g.g}^{-1}$. Obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů má přímý vliv na antioxidační aktivitu.

Ke statistickému hodnocení možné korelace mezi antioxidační aktivitou a obsahem 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů byla použita naměřená data obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů všech vzorků bylin (Grešík a vlastní sběr). K hodnocení byla použita vícenásobná regresní analýza, která korelaci potvrdila. Příklady statistického hodnocení jsou uvedeny v Příloze 9.

5 Diskuze

Flavonoidy patří mezi fenolické látky čistě rostlinného původu. Existuje stále více studií, které potvrzují jejich pozitivní vliv na lidské zdraví. Díky jejich antioxidačním vlastnostem může konzumace potravin či užívání bylin se zvýšeným obsahem flavonoidů snižovat riziko vzniku různých civilizačních chorob. Stanovování jejich obsahu v různých rostlinných materiálech je tak velmi významné.

Podle mnoha studií uvedených v literární rešerši, vykazují rostliny čeledi *Lamiaceae* antioxidační vlastnosti. Ty jsou často připisovány různým fenolickým látkám, zejména flavonoidům

Tato práce byla zaměřena na stanovení antioxidační aktivity, celkového obsahu flavonoidů a podskupiny 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů u vybraných rostlinných druhů čeledi *Lamiaceae*, které jsou v České republice hojně využívány jak v lidovém léčitelství, tak v potravinářství. Ke stanovení byly použity methanolicke extrakty dvaceti šesti vzorků čtrnácti vybraných druhů bylin čeledi *Lamiaceae*. Polovina vzorků byla zakoupena, druhá polovina nasbírána a nasušena.

Antioxidační aktivita

Ke stanovení antioxidační aktivity rostlinných materiálů byla použita metoda DPPH, jejíž výhodou je především rychlost a citlivost. Antioxidační aktivita byla vyjádřena v mg Troloxu vztahených na g sušiny.

Hodnoty antioxidační aktivity jednotlivých rostlinných druhů byly po zprůměrování v rozmezí od $2,71 \pm 0,30 \text{ mg.g}^{-1}$ do $81,79 \pm 12,69 \text{ mg.g}^{-1}$. Nejvyšší průměrnou antioxidační aktivitu vykazovala dobromysl obecná, a to $81,79 \pm 12,69 \text{ mg.g}^{-1}$. Nejnižší průměrná antioxidační aktivita byla naopak naměřena u šanty kočičí, a to $2,71 \pm 0,30 \text{ mg.g}^{-1}$. U druhů majoránka zahradní a šalvěj lékařská byla stanovena vysoká směrodatná odchylka, a to přes 20 mg.g^{-1} . Rozdílné hodnoty mezi vzorky mohly být způsobeny odlišnou zemí původu, tedy jinými klimatickými podmínkami a dalšími vnějšími faktory.

Sytar et al. (2016) uvádějí ve své studii hodnoty antioxidační aktivity, měřené pomocí metody DPPH u vybraných bylin čeledi *Lamiaceae*, v %. Ty se pohybují v rozmezí od $75,12 \pm 0,19 \%$ do $94,56 \pm 0,35 \%$. Po přepočítání naměřených hodnot v této diplomové práci na %, bylo získáno rozmezí od 12 % do 93 %. Vzhledem k tomu, že ve studii byla stanovována antioxidační aktivita pouze u devíti vzorků sedmi rodů, je pravděpodobné, že vyšší počet vzorků a rodů, měřených v této diplomové práci, ovlivňuje i vyšší rozmezí hodnot.

Mnoho studií udává antioxidační aktivitu v hodnotách IC50 (střední hodnota inhibice). Pro lepší porovnání byly tedy výše naměřené výsledky převedeny na tyto hodnoty. Rozmezí antioxidační aktivity tak bylo od 10,38 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ do 71,72 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

Stagos et al. (2012) ve své studii stanovovali rovněž antioxidační aktivitu vybraných druhů čeledi *Lamiaceae*, pomocí různých metod. Pro stanovování byly použity methanolicke a vodní extrakty. Naměřené hodnoty IC50, při použití metody DPPH, se pohybovaly v rozmezí od $8 \pm 0,3 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ do $94 \pm 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Naměřené hodnoty v této diplomové práci do tohoto rozmezí tedy spadají. Vyšší antioxidační aktivita byla většinou naměřena u methanolickech extraktů. Pro srovnání byla antioxidační aktivita stanovována také metodou ABTS. Zde se naměřené hodnoty pohybovaly v rozmezí od $12 \pm 0,3 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ do $95 \pm 2,3 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Téměř ve všech případech byla naměřená antioxidační aktivita pomocí metody ABTS vyšší, než pomocí metody DPPH.

Ve studii Hossaina et al. (2010) byl zase sledován vliv metody sušení vzorku a doby skladování na antioxidační aktivitu. Bylo zde prokázáno, že u čerstvých vzorků antioxidační aktivita s přibývajícím dobou skladování stoupala. U lyofilizovaných vzorků a vzorků sušených horkým vzduchem tomu bylo naopak. U vzorků sušených horkým vzduchem byla rovněž naměřena nejvyšší antioxidační aktivita, která se pohybovala v rozmezí od 200 do 480 mg Troloxu vztažených na g sušiny. Tyto hodnoty jsou tak výrazně vyšší, než naměřené hodnoty v této práci.

Vysoká antioxidační aktivita dobromysli obecné, rozmarýnu lékařského a šalvěže lékařské je v souladu s Dorman et al. (2003) či Zheng et Wang (2001). Barrost et al. (2010) uvádí, že ze zkoumaných rostlin čeledi *Lamiaceae* měla nejvyšší antioxidační aktivitu dobromysl obecná, což koreluje s výsledkem této práce.

Hypotéza, že rostliny čeledi hluchavkovitých vykazují odlišnou antioxidační aktivitu, byla potvrzena. Statisticky významný rozdíl byl však nalezen pouze mezi druhy dobromysl obecná a šanta kočičí. Rozdíl byl patrný i mezi ostatními druhy, nebyl však statisticky významný.

Celkový obsah flavonoidů a 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů

Celkový obsah flavonoidů a 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů v rostlinných materiálech byl stanoven spektrofotometricky. Výsledná hodnota byla vyjádřena v μg quercetinu vztažených na g sušiny.

Hodnoty celkového obsahu flavonoidů jednotlivých rostlinných druhů byly po zprůměrování v rozmezí od 7,17 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do $117,75 \pm 21,83 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší průměrný obsah

celkových flavonoidů měla saturejka zahradní, a to $117,75 \pm 21,83 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejnižší celkový obsah flavonoidů byl naměřen u hluchavky bílé, a to $3,29 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Vysoká směrodatná odchylka u saturejky zahradní ($21,83 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) mohla být způsobena odlišnou zemí původu jednotlivých vzorků, tedy jinými klimatickými podmínkami a dalšími vnějšími faktory.

Hodnoty 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů jednotlivých rostlinných druhů byly pro zprůměrování v rozmezí od $3,29 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do $26,98 \pm 6,19 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší průměrnou hodnotu obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů měla majoránka zahradní, a to $26,98 \pm 6,19 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejnižší průměrný obsah flavonoidů byl hluchavky bílé se $3,29 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Ve studii, kterou uvádějí Sytar et al. (2016), byl stanovován obsah flavonoidů u několika rostlinných druhů čeledi *Lamiaceae*. Naměřené hodnoty (v μg quercetinu vztažených na g sušiny) se zde pohybovaly v rozmezí od $0,2 \pm 0,0002 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do $11,1 \pm 0,003 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Tyto hodnoty jsou podstatně menší, než ty, které byly naměřeny v této diplomové práci. Ke stanovení byly sice použity rovněž methanolické extrakty, absorbance však byla stanovována při jiné vlnové délce (415 nm) a rovněž použité chemikálie se lišily. Methanolické extrakty byly smíchány s chloridem hlinitým, octanem draselným a vodou.

Naprosto odlišné výsledky byly popsány ve studii Tohidi et al. (2017), ve které byl stanovován celkový obsah flavonoidů u různých druhů rodu *Thymus*. Ke stanovení zde byla použita kolorimetrická metoda s octanem hlinitým a absorbance stanovována při 510 nm. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v μg quercetinu vztažených na g sušiny. Celkový obsah flavonoidů se zde pohyboval v rozmezí od $1\,890 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do $8\,550 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Takto rozdílné hodnoty mohou být způsobeny odlišnou metodou stanovení, ale i klimatickými podmínkami či jinými vnějšími faktory, jelikož proměřované rostlinné vzorky pocházely z Íránu.

Podle další studie (Bajalan et al., 2016), byl naměřený obsah flavonoidů u zástupců čeledi *Lamiaceae* v rozmezí od $281,9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do $716,2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Hodnoty byly uvedeny v μg quercetinu vztažených na g sušiny. Ke stanovení byly použity methanolické extrakty. Použité chemikálie i vlnová délka, při níž byla stanovována absorbance, se však od těch, které byly použity v této práci, opět lišily.

Z výše uvedených studií vyplývá, že celkový obsah flavonoidů v rostlinných vzorcích dosahuje obrovské variability. Výsledné hodnoty se mohou pohybovat od desetin $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ po jednotky tisíc $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Takto odlišné obsahy mohou záviset nejen na použité metodě, ale i na dalších faktorech, které mohou ovlivňovat obsah flavonoidů přímo v rostlinách. Rahimmalek et al. (2009) ve své studii uvádí, že obsah těchto látek je silně závislý na lokaci odběru vzorku, stejně tak jako na dominantních klimatických a environmentálních faktorech.

Hypotéza, že obsah flavonoidů je závislý na druhu rostliny, tedy že rostliny čeledi hluchavkovitých mají odlišný obsah flavonoidů, byla potvrzena. Statisticky významný rozdíl byl však nalezen pouze mezi druhy saturejka zahradní a bazalka pravá, dobromysl obecná, yzop lékařský, hluchavka bílá, jablečník obecný, mateřídouška vejčitá, meduňka lékařská, rozmarýn lékařský, šalvěj lékařská, šanta kočičí a máta peprná. Rozdíl byl patrný i mezi ostatními druhy, nebyl však statisticky významný. Závislost obsahu flavonoidů na druhu rostlin potvrzují rovněž mnohé studie, např. Bajalan et al. (2016) či Benabdallah et al. (2016). Obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů však na druhu rostliny závislý nebyl a závislost nebyla potvrzena ani v žádné studii.

Cílem této práce bylo rovněž nalézt možné korelace, mezi obsahy flavonoidních látek a antioxidační aktivitou. Tato hypotéza byla u celkového obsahu flavonoidů zamítnuta, jelikož statistické vyhodnocení možnou korelaci nenašlo. Stejně tak tomu bylo i ve studii, kterou uvádí Barros et al. (2010). Benabdallah et al. (2016) či Khaled-Khodja et al. (2014) naopak ve svých studiích uvádějí pozitivní korelaci mezi obsahem flavonoidů a antioxidační aktivitou. V této diplomové práci byla pozitivní korelace nalezena pouze mezi antioxidační aktivitou a obsahem 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů.

6 Závěr

- Cílem práce bylo stanovení antioxidační aktivity vybraných druhů rostlin čeledi hluchavkovitých. K tomuto účelu bylo vybráno 14 druhů této čeledi. Jejich methanolické extrakty byly proměřovány pomocí metody DPPH.
- Hodnoty antioxidační aktivity rostlinných vzorků (v mg Troloxu vztažených na g sušiny) se pohybovaly v rozezí od $2,71 \pm 0,30 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ do $81,79 \pm 12,69 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší průměrnou antioxidační aktivitu vykazovala dobromysl obecná.
- Hypotéza, že rostliny čeledi hluchavkovitých vykazují odlišnou antioxidační aktivitu, byla potvrzena. Statisticky významný rozdíl byl mezi antioxidační aktivitou dobromysli obecné a šanty kočičí.
- Dalším cílem bylo stanovení obsahu flavonoidních látek u vybraných druhů čeledi hluchavkovitých. Jejich methanolické extrakty byly proměřeny spektrofotometricky.
- Obsah celkových flavonoidů rostlinných vzorků (v μg quercetinu vztažených na g sušiny) byl v rozezí od $7,17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do $117,75 \pm 21,83 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší průměrný obsah celkových flavonoidů měla saturejka zahradní. Obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů byl v rozezí od $3,29 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ do $26,98 \pm 6,19 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší průměrnou hodnotu obsahu měla majoránka zahradní.
- Hypotéza, že obsah flavonoidů je závislý na druhu rostliny, byla potvrzena. Na zvolené hladině významnosti byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi druhy saturejka zahradní a bazalka pravá, dobromysl obecná, yzop lékařský, hluchavka bílá, jablečník obecný, mateřídouška vejčitá, meduňka lékařská, rozmarýn lékařský, šalvěj lékařská, šanta kočičí a máta peprná. Závislost obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů na druhu rostliny nebyla potvrzena.
- Cílem bylo dále nalézt možné korelace mezi obsahy flavonoidních látek a antioxidační aktivitou.
- Hypotézu, že existuje pozitivní korelace mezi obsahy flavonoidních látek a antioxidační aktivitou, se podařilo prokázat jen z části. Pozitivní korelace byla potvrzena mezi obsahem 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů a antioxidační aktivitou. Mezi celkovým obsahem flavonoidů a antioxidační aktivitou pozitivní korelace potvrzena nebyla.

7 Seznam literatury

Alipieva, K. I., Taskova, R. M., Evstatieva, L. N., Handjieva, N. V., Popov, S. S. 2003. Benzoxazinoids and iridoid glucosides from four *Lamium* species. *Phytochemistry*. 64(8). 1413-1417.

Bagul, M., Srinivasa, H., Padh, H., Rajani, M. 2005. A rapid densitometric method for simultaneous quantification of gallic acid and ellagic acid in herbal raw materials using HPTLC. *Journal of separation science*. 28(6). 581-584.

Bajalan, I., Mohammadi, M., Alaei, M., Pirbalouti, A. G. 2016. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of extracts from different populations of lavandin. *Industrial Crops and Products*. 87. 255-260.

Baricevic, D., Sosa, S., Della Loggia, R., Tubaro, A., Simonovska, B., Krasna, A., Zupancic, A. 2001. Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. *Journal of ethnopharmacology*. 75(2). 125-132.

Barros, L., Heleno, S. A., Carvalho, A. M., Ferreira, I. C. 2010. Lamiaceae often used in Portuguese folk medicine as a source of powerful antioxidants: Vitamins and phenolics. *LWT-Food Science and Technology*. 43(3). 544-550.

Bekut, M., Brkić, S., Kladar, N., Dragović, G., Gavarić, N., Božin, B. 2017. Potential of selected Lamiaceae plants in anti (retro) viral therapy. *Pharmacological research*.

Benabdallah, A., Rahmoune, C., Boumendjel, M., Aissi, O., Messaoud, C. 2016. Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 6(9). 760-766.

Benzie, I. F., Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*. 239(1). 70-76.

Borchi, E., Bargelli, V., Stillitano, F., Giordano, C., Sebastiani, M., Nassi, P. A., Amati, G., Cerbai, E., Nediani, C. 2010. Enhanced ROS production by NADPH oxidase is correlated to changes in antioxidant enzyme activity in human heart failure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 1802(3). 331-338.

Boulila, A., Sanaa, A., Salem, I. B., Rokbeni, N., M'rabet, Y., Hosni, K., Fernandez, X. 2015. Antioxidant properties and phenolic variation in wild populations of *Marrubium vulgare* L.(Lamiaceae). *Industrial Crops and Products*. 76. 616-622.

Dalle-Donne, I., Giustarini, D., Colombo, R., Rossi, R., Milzani, A. 2003. Protein carbonylation in human diseases. *Trends in molecular medicine*. 9(4). 169-176.

Dorman, H. J. D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkanen, M. J. 2003. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food chemistry*. 83(2). 255-262.

Džamić, A. M., Soković, M. D., Novaković, M., Jadranin, M., Ristić, M. S., Tešević, V., Marin, P. D. 2013. Composition, antifungal and antioxidant properties of *Hyssopus officinalis* L. subsp. *pilifer* (Pant.) Murb. essential oil and deodorized extracts. *Industrial crops and products*. 51. 401-407.

Falcone Ferreyra, M. L., Rius, S., Casati, P. 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in plant science*. 3. 222.

Farzaneh, M., Kiani, H., Sharifi, R., Reisi, M., Hadian, J. 2015. Chemical composition and antifungal effects of three species of *Satureja* (*S. hortensis*, *S. spicigera*, and *S. khuzistanica*) essential oils on the main pathogens of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 109. 145-151.

Govil, J. N., Singh, V. K. 2010. *Recent Progress in Medicinal Plants, Volume 29: Drug Plants III*. Studium Press LLC. Houston. 460 p. ISBN: 1-933699-19-1.

Hadi, N., Sefidkon, F., Shojaeiyan, A., Šiler, B., Jafari, A. A., Aničić, N., Mišić, D. 2017. Phenolics' composition in four endemic *Nepeta* species from Iran cultivated under experimental field conditions: The possibility of the exploitation of *Nepeta* germplasm. *Industrial crops and products*. 95. 475-484.

Hariri, B. M., McMahon, D. B., Chen, B., Adappa, N. D., Palmer, J. N., Kennedy, D. W., Lee, R. J. 2017. Plant flavones enhance antimicrobial activity of respiratory epithelial cell secretions against *Pseudomonas aeruginosa*. *PloS one*. 12(9). e0185203.

Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R., Ferreira, I. C. 2015. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food chemistry* 173. 501-513.

Hernández, M. D., Sotomayor, J. A., Hernández, Á., Jordán, M. J. 2016. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oils. In *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. 77. 677-688.

Herodež, Š. S., Hadolin, M., Škerget, M., Knez, Ž. 2003. Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. *Food Chemistry*. 80(2). 275-282.

Hossain, M. B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B., Brunton, N. P. 2010. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*. 123(1). 85-91.

Jallali, N., Ridha, H., Thrasivoulou, C., Underwood, C., Butler, P. E. M., Cowen, T. 2005. Vulnerability to ROS-induced cell death in ageing articular cartilage: the role of antioxidant enzyme activity. *Osteoarthritis and cartilage*. 13(7). 614-622.

Jimenez-Garcia, S. N., Guevara-Gonzalez, R. G., Miranda-Lopez, R., Feregrino-Perez, A. A., Torres-Pacheco, I., Vazquez-Cruz, M. A. 2013. Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: Biochemistry, biotechnology, and genomics. *Food Research International*. 54(1). 1195-1207.

Joung, J. Y., Kasthuri, G. M., Park, J. Y., Kang, W. J., Kim, H. S., Yoon, B. S., ... Jeon, J. H. 2003. An overexpression of chalcone reductase of *Pueraria montana* var. *lobata* alters biosynthesis of anthocyanin and 5'-deoxyflavonoids in transgenic tobacco. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 303(1). 326-331.

Khaled-Khodja, N., Boulekbache-Makhlouf, L., Madani, K. 2014. Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Industrial crops and products*. 61. 41-48.

Khan, Z. A., Iqbal, A., Shahzad, S. A. 2017. Synthetic approaches toward stilbenes and their related structures. *Molecular diversity*. 21(2). 483-509.

Köhler, F. E. 1887. Köhler's Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen Abbildungen mit kurz erläuterndem Texte: Atlas zur Pharmacopoea germanica, austriaca, belgica, danica, helvetica, hungarica, rossica, suecica, Neerlandica, British pharmacopoeia, zum Codex medicamentarius, sowie zur Pharmacopoeia of the United States of America (Vol. 1). FE Köhler.

Kokaly, R. F., Skidmore, A. K. 2015. Plant phenolics and absorption features in vegetation reflectance spectra Nera 1.66 μm . *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*. 43. 55- 83.

Koleva, I. I., Van Beek, T. A., Linssen, J. P., Groot, A. D., Evstatieva, L. N. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical analysis*. 13(1). 8-17.

Kong, J.-M., Chia, L.-S., Goh, N.-K., Chia, T.-F., Brouillard, R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*. 64 (5). 923- 933.

Kruger, M. J., Davies, N., Myburgh, K. H., Lecour, S. 2014. Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases. *Food Research International*. 59. 41-52.

Kuczmánová, A., Gál, P., Varinská, L., Treml, J., Kováč, I., Novotný, M., Mučaji, P. 2015. Agrimonia eupatoria L. and Cynara cardunculus L. Water Infusions: Phenolic Profile and Comparison of Antioxidant Activities. *Molecules*. 20(11). 20538-20550.

Kumar, B. R. 2017. Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs). *Journal of pharmaceutical analysis*. 7(6). 349-364.

Kwon, D. Y., Li, X., Kim, J. K., Park, S. U. 2017. Molecular cloning and characterization of rosmarinic acid biosynthetic genes and rosmarinic acid accumulation in *Ocimum basilicum* L. *Saudi Journal of Biological Sciences*.

Lin, S. H., Chou, M. L., Chen, W. C., Lai, Y. S., Lu, K. H., Hao, C. W., Sheen, L. Y. 2015. A medicinal herb, *Melissa officinalis* L. ameliorates depressive-like behavior of rats in the forced swimming test via regulating the serotonergic neurotransmitter. *Journal of Ethnopharmacology*. 175. 266-272.

Losch, F. 1905. *Kräuterbuch: unsere Heilpflanzen in Wort und Bild*. Bechtermünz im Weltbild-Verlag.

Ložienė, K., Venskutonis, P. R., Šipailienė, A., Labokas, J. 2007. Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food chemistry*. 103(2). 546-559.

Lu, C., Zou, Y., Liu, Y., Niu, Y. 2017. Rosmarinic acid counteracts activation of hepatic stellate cells via inhibiting the ROS-dependent MMP-2 activity: Involvement of Nrf2 antioxidant system. *Toxicology and applied pharmacology*. 318. 69-78.

Mahato, G., Banerjee, N. 2017 Phytochemical Analysis and DPPH Antioxidant Activity of Two Traditionally Used Plants Occurring at Purulia District of West Bengal, India. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 47. 5315-5319.

Maldini, M., Montoro, P., Addis, R., Toniolo, C., Petretto, G. L., Foddai, M., Nicoletti, M., Pintore, G. 2016. A new approach to discriminate *Rosmarinus officinalis* L. plants with antioxidant activity, based on HPTLC fingerprint and targeted phenolic analysis combined with PCA. *Industrial crops and products*. 94. 665-672.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*. 79(5). 727-747.

Marín, L., Miguélez, E. M., Villar, C. J., Lombó, F. 2015. Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: antimicrobial properties. *BioMed research international*. 2015.

Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., Ferreira, I. C. 2015. Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. *Food chemistry*. 170. 378-385.

Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montanez-Saenz, J., Aguilar, C. N., Teixeira, J. A. 2011. Bioactive Phenolic compounds: Production and extraction by solid – state fermentation. *Biotechnology Advances*. 29. 365-373.

Masclef, A. 1891. *Atlas des plantes de France utiles, nuisibles et ornementales: 400 planches coloriées représentant 450 plantes communes, avec de nombreuses fig. de détail et un texte explicatif des propriétés des plantes, de leurs usages et applications en médecine, agriculture, horticulture, dans l'industrie, l'économie domestique etc...* Klincksieck.

Oteiza, P. I., Fraga, C. G., Mills, D. A., Taft, D. H. 2018. Flavonoids and the gastrointestinal tract: Local and systemic effects. *Molecular aspects of medicine*.

- Ouerghemmi, S., Sebei, H., Siracusa, L., Ruberto, G., Saija, A., Cimino, F., Cristani, M. 2016. Comparative study of phenolic composition and antioxidant activity of leaf extracts from three wild *Rosa* species grown in different Tunisia regions: *Rosa canina* L., *Rosa moschata* Herrm. and *Rosa sempervirens* L. *Industrial Crops and Products*. 94. 167-177.
- Paulová, H., Bochořiková, H., Táborská, E. 2004. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*. 98. 174-179.
- Pereira, O. R., Domingues, M. R., Silva, A. M., Cardoso, S. M. 2012. Phenolic constituents of *Lamium album*: Focus on isoscutellarein derivatives. *Food research international*. 48(1). 330-335.
- Pinent, M., Blay, M., Serrano, J., Ardévol, A. 2017. Effects of flavanols on the enteroendocrine system: repercussions on food intake. *Critical reviews in food science and nutrition*. 57(2). 326-334.
- Pintore, G., Usai, M., Bradesi, P., Juliano, C., Boatto, G., Tomi, F., Casanova, J. 2002. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*. 17(1). 15-19.
- Rahimmalek, M., Bahreininejad, B., Khorrami, M., Tabatabaei, B. E. S. 2009. Genetic variability and geographic differentiation in *Thymus daenensis* subsp. *daenensis*, an endangered medicinal plant, as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Biochemical genetics*. 47(11-12). 831.
- Rahman, T., Hosen, I., Islam, M. T., Shekhar, H. U. 2012. Oxidative stress and human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 3(07). 997.
- Raudone, L., Zymone, K., Raudonis, R., Vainoriene, R., Motiekaityte, V., Janulis, V. 2017. Phenological changes in triterpenic and phenolic composition of *Thymus* L. species. *Industrial Crops and Products*. 109. 445-451.

Ray, P. D., Huang, B. W., Tsuji, Y. 2012. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular signalling*. 24(5). 981-990.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. 26(9-10). 1231-1237.

Saibabu, V., Fatima, Z., Khan, L. A., Hameed, S. 2015. Therapeutic potential of dietary phenolic acids. *Advances in pharmacological science*. 2015.

Sapko, O. A., Chebonenko, O. V., Utarbaeva, A. Sh., Amirkulova, A. Zh., Tursunova, A. K. 2016. Antioxidant Activity of Medicinal Plants from Southeastern Kazakhstan. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 50(9). 603-607.

Selamoglu, Z. 2017. Polyphenolic Compounds in Human Health with Pharmacological Properties. *J. Tradit. Med. & Clin. Natur*. 6(4). 1.

Selamoglu, Z., Dugun, C., Akgul, H., Gulhan, M. F. 2017. In-vitro Antioxidant Activities of the Ethanolic Extracts of Some Contained-Allantoin Plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 16. 92-98.

Sellami, I. H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannas, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Industrial Crops and Products*, 30(3), 395-402.

Schijlen, E. G., De Vos, C. R., van Tunen, A. J., Bovy, A. G. 2004. Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry*. 65(19). 2631-2648.

Sirerol, J. A., Rodríguez, M. L., Mena, S., Asensi, M. A., Estrela, J. M., Ortega, A. L. 2016. Role of natural stilbenes in the prevention of cancer. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016.

Slavík, B., Čvančara, A., Dvořáková, M. ... Zázvorka, J. 2000. Květena České republiky 6. Academia. Praha. 770 s. ISBN: 80-200-0306-1

Spencer, J. P., Abd El Mohsen, M. M., Minihane, A. M., Mathers, J. C. 2008. Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. *British Journal of Nutrition*. 99(01). 12-22.

Stagos, D., Portesis, N., Spanou, C., Mossialos, D., Aligiannis, N., Chaita, E., Panagoulis, Ch., Reri, E., Skaltsounis, L., Tsatsakis, A. M., Kouretas, D. 2012. Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. *Food and Chemical Toxicology*. 50(11). 4115-4124.

Sturm, J., Sturm, J. G. 1796. Deutschlands Flora in Abbildungen. Gedruckt auf Kosten des Verfassers, Nurnberg, Germany.

Sytar, O., Hemmerich, I., Zivcak, M., Rauh, C., Brestic, M. 2016. Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. *Saudi Journal of Biological Sciences*.

Szajdek, A., Borowska, E. J. 2008. Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Foods for Human Nutrition*. 63(4). 147-156.

Teponno, R. B., Kusari, S., Spiteller, M. 2016. Recent advances in research on lignans and neolignans. *Natural product reports*. 33(9). 1044-1092.

Tohidi, B., Rahimmalek, M., & Arzani, A. (2017). Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. *Food chemistry*, 220, 153-161.

Trivellini, A., Lucchesini, M., Maggini, R., Mosadegh, H., Villamarin, T. S. S., Vernieri, P., Mensuali-Sodi, A., Pardossi, A. 2016. Lamiaceae phenols as multifaceted compounds: bioactivity, industrial prospects and role of “positive-stress”. *Industrial Crops and Products*. 83. 241-254.

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., Telser, J. 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and cellular biochemistry*. 266(1-2). 37-56.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 39(1). 44-84.

Venditti, A., Bianco, A., Frezza, C., Conti, F., Bini, L. M., Giuliani, C., Bramucci, M., Quassinti, L., Damiano, S., Lupidi, G., Beghelli, D., Caterbi, S., Petrelli, D., Vitali, L. A., Papa, F., Caprioli, G., Beghelli, D. 2015. Essential oil composition, polar compounds, glandular trichomes and biological activity of *Hyssopus officinalis* subsp. *aristatus* (Godr.) Nyman from central Italy. *Industrial Crops and Products*. 77. 353-363.

Vitale, D. C., Piazza, C., Melilli, B., Drago, F., Salomone, S. 2013. Isoflavones: estrogenic activity, biological effect and bioavailability. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*. 38(1). 15-25.

Williamson, G., Clifford, M. N. 2017. Role of the small intestine, colon and microbiota in determining the metabolic fate of polyphenols. *Biochemical pharmacology*. 139. 24-39.

Winkel-Shirley, B. 2001. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant physiology*. 126(2). 485-493.

Winkel-Shirley, B. 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current opinion in plant biology*. 5(3). 218-223.

Wollgast, J., Anklam, E. 2000. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*. 33(6). 423-447.

Zhang, J., Chen, J., Liang, Z., Zhao, C. 2014. New lignans and their biological activities. *Chemistry & biodiversity*. 11(1). 1-54.

Zhang, X. L., Guo, Y. S., Wang, C. H., Li, G. Q., Xu, J. J., Chung, H. Y., Ye, W. C., Li, Y. L., Wang, G. C. 2014. Phenolic compounds from *Origanum vulgare* and their antioxidant and antiviral activities. *Food chemistry*. 152. 300-306.

Zheng, W., Wang, S. Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food chemistry*. 49(11). 5165-5170.

Zou, Z., Xi, W., Hu, Y., Nie, C., Zhou, Z. 2016. Antioxidant activity of Citrus fruits. *Food chemistry*. 196. 885-896.

Zuker, A., Tzfira, T., Ben-Meir, H., Ovadis, M., Shklarman, E., Itzhaki, H., Forkmann, G., Martens, S., Neta-Sharir, I., Weiss, D., Vainstein, A. 2002. Modification of flower color and fragrance by antisense suppression of the flavanone 3-hydroxylase gene. *Molecular Breeding*. 9(1). 33-41.

8 Seznam použitých zkratek a symbolů

3GT - flavonoid-3-O-glukosyltransferasa

ABTS - [2,2'-azino-bis-(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)]

ANS - anthokyanidin synthasa

DFR - dihydroflavonol-4-reduktasa

DHK - dihydrokaempferol

DHM – dihydromyricetin

DHQ – dihydroquercetin

DPPH – difenylpikrylhydrazyl

F3H - flavanon-3-hydroxylasa

FRAP - ferric reducing antioxidant potential

GI – gastro-intestinální

CHI – chalkon isomerasa

CHS – chalkon synthasa

NOS – reaktivní formy dusíku

NTS – β -diaminoethylester kyseliny borité

ORAC - oxygen radical antioxidant/absorbance capacity

ROS – reaktivní formy kyslíku

TEAC - Trolox equivalent antioxidant capacity

TPTZ – tripyridyltriazin

9 Přílohy

Příloha 1: Obrázky bylin



Jablečník obecný (*Marrubium vulgare*) (Köhler, 1887)



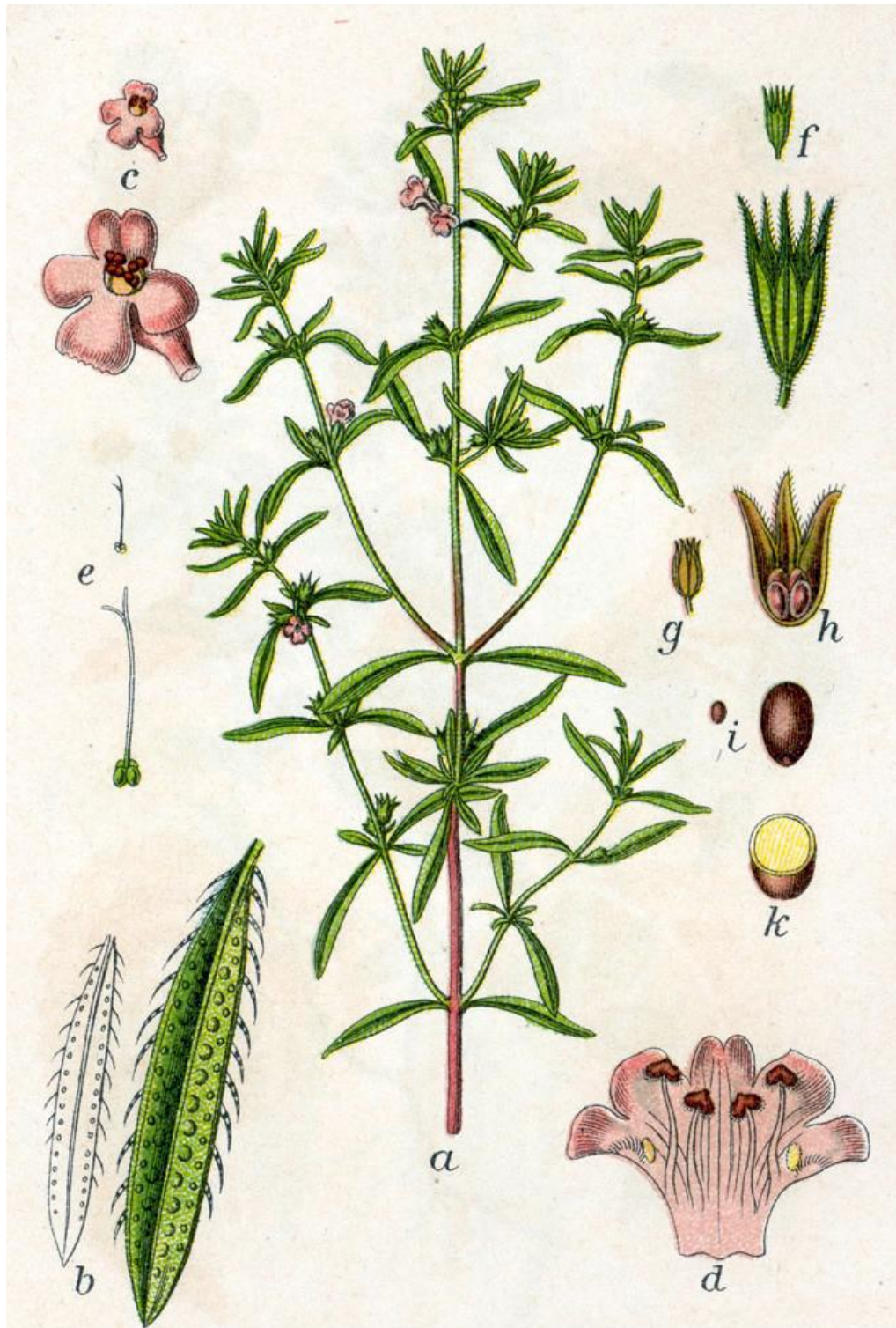
Hluchavka bílá (*Lamium album*) (Sturm et Sturm, 1796)



Šanta kočičí (*Nepeta cataria*) (Sturm et Sturm, 1796)



Meduňka lékařská (*Melissa officinalis*) (Köhler, 1887)



Saturejka zahradní (*Satureja hortensis*) (Sturm et Sturm, 1796)



Yzop lékařský (*Hyssopus officinalis*) (Masclef, 1891)

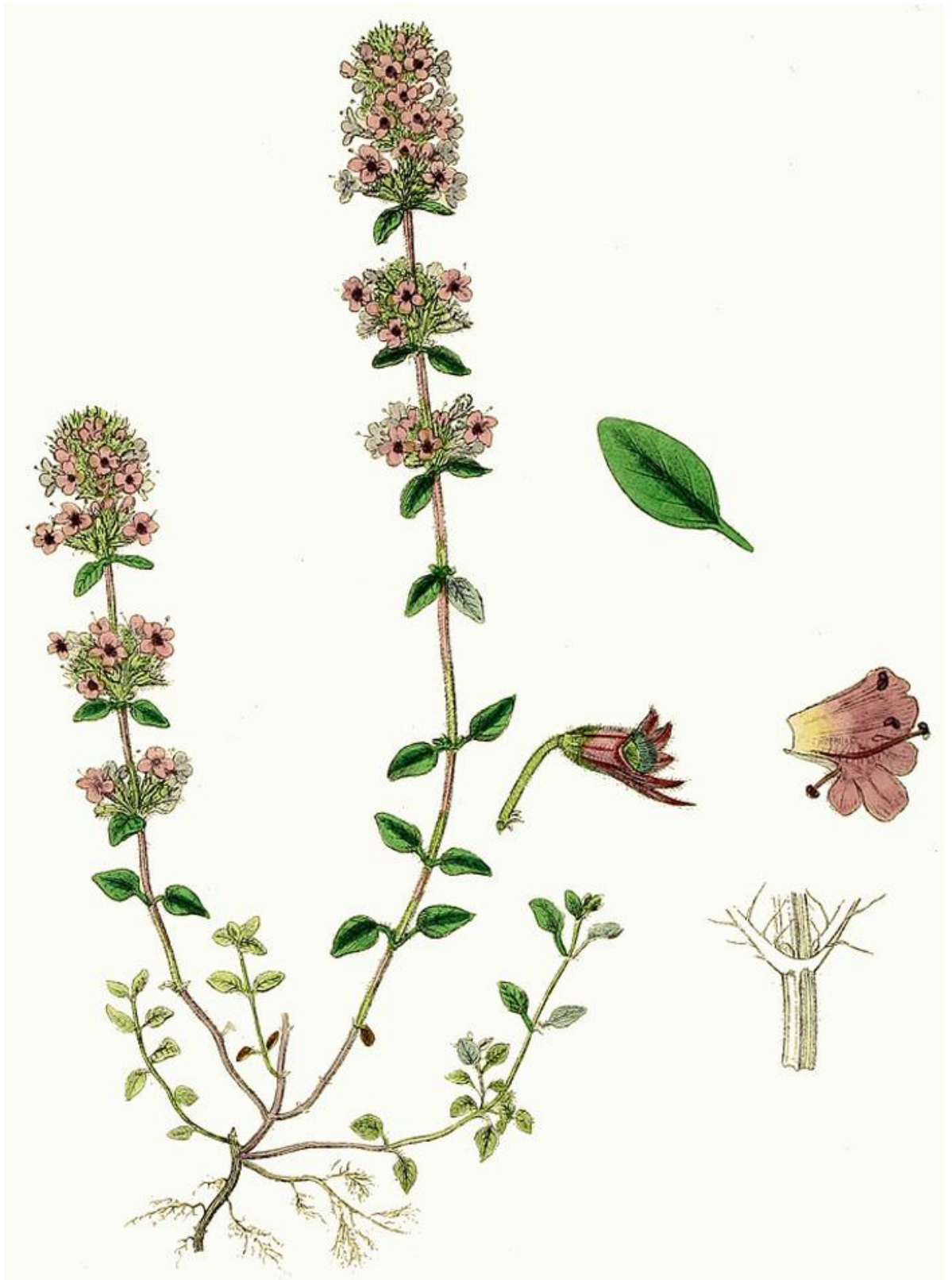


Dobromysl obecná (*Origanum vulgare*) (Masclef, 1891)



1 a, b, c. Majoran.
Origanum majorana L.

Majoránka zahradní (*Majorana hortensis*) (Losch, 1905)



Mateřídouška vejčitá (*Thymus pulegioides*) (Köhler, 1887)



Bazalka pravá (*Ocimum basilicum*) (Sturm et Sturm, 1796)



Máta peprná (*Mentha x piperita*) (Köhler, 1887)



Šalvěj lékařská (*Salvia officinalis*) (Köhler, 1887)



Rozmarýn lékářský (*Rosmarinus officinalis*) (Köhler, 1887)

Příloha 2: Fotografie zakoupených vzorků bylin (Grešík)



Příloha 3: Tabulka zakoupených vzorků bylin

Český název	Latinský název	Použitá část	Země původu	Číslo šarže
Šalvěj lékařská	<i>Salvia officinalis</i>	list	Albánie	280417
Šanta kočičí	<i>Nepeta cataria</i>	nať	Francie	180417
Dobromysl obecná	<i>Origanum vulgare</i>	nať	-	040417
Máta peprná	<i>Mentha piperita</i>	nať	-	261016
Saturejka zahradní	<i>Satureja hortensis</i>	nať	Polsko	150317
Rozmarýn lékařský	<i>Rosmarinus officinalis</i>	list	Maroko	060417
Majoránka zahradní	<i>Origanum majorana</i>	nať	Egypt	051216
Mateřídouška vejčítá	<i>Thymus pulegioides</i>	nať	ČR	110417
Hluchavka bílá	<i>Lamium album</i>	nať	-	180517
Meduňka lékařská	<i>Melissa officinalis</i>	nať	-	030317
Jablečník obecný	<i>Marrubium vulgare</i>	nať	ČR	200417
Tymián obecný	<i>Thymus vulgare</i>	nať	Polsko	150517
Bazalka pravá	<i>Ocimum basilicum</i>	nať	Egypt	280616

Příloha 4: Tabulka nasbíraných vzorků bylin

Český název	Latinský název	Použitá část	Lokalita	Datum sběru
Majoránka zahradní	<i>Origanum majorana</i>	nat'	Zahrada v Sedlčanech, okres Příbram, Středočeský kraj	8. 7. 2017
Tymián obecný	<i>Thymus vulgaris</i>	nat'	Zahrada v Sedlčanech, okres Příbram, Středočeský kraj	24. 6. 2017
Dobromysl obecná	<i>Origanum vulgare</i>	nat'	Zahrada v Sedlčanech, okres Příbram, Středočeský kraj	24. 6. 2017
Dobromysl obecná	<i>Origanum vulgare</i>	nat'	Zahrada v Kamýku nad Vltavou, okres Příbram, Středočeský kraj	18. 7. 2017
Rozmarýn lékařský	<i>Rosmarinus officinalis</i>	list	Zahrada v Sedlčanech, okres Příbram, Středočeský kraj	24. 6. 2017
Saturejka zahradní	<i>Satureja hortensis</i>	nat'	Zahrada v Sedlčanech, okres Příbram, Středočeský kraj	24. 6. 2017
Bazalka pravá	<i>Ocimum basilicum</i>	nat'	Zahrada v Sedlčanech, okres Příbram, Středočeský kraj	8. 7. 2017
Meduňka lékařská	<i>Melissa officinalis</i>	nat'	Zahrada v Sedlčanech,	24. 6. 2017

			okres Příbram, Středočeský kraj	
Šalvěj lékařská	<i>Salvia officinalis</i>	list	Zahrada v Sedlčanech, okres Příbram, Středočeský kraj	24. 6. 2017
Máta peprná	<i>Mentha piperita</i>	nat'	Zahrada v Sedlčanech, okres Příbram, Středočeský kraj	8. 7. 2017
Mateřídouška vejčitá	<i>Thymus pulegioides</i>	nat'	Smíšený les u Trkova, okres Příbram, Středočeský kraj	20. 7. 2017
Šanta kočičí	<i>Nepeta cataria</i>	nat'	Zahrada v Sedlčanech, okres Příbram, Středočeský kraj	8. 7. 2017
Yzop lékařský	<i>Hyssopus officinalis</i>	nat'	Zahrada v Kamýku nad Vltavou, okres Příbram, Středočeský kraj	18. 7. 2017

Příloha 5: Příklady výstupu ze statistického vyhodnocení odlišnosti antioxidační aktivity u rostlin čeledi hluchavkovitých – ANOVA (F-test, Schéffeho test)

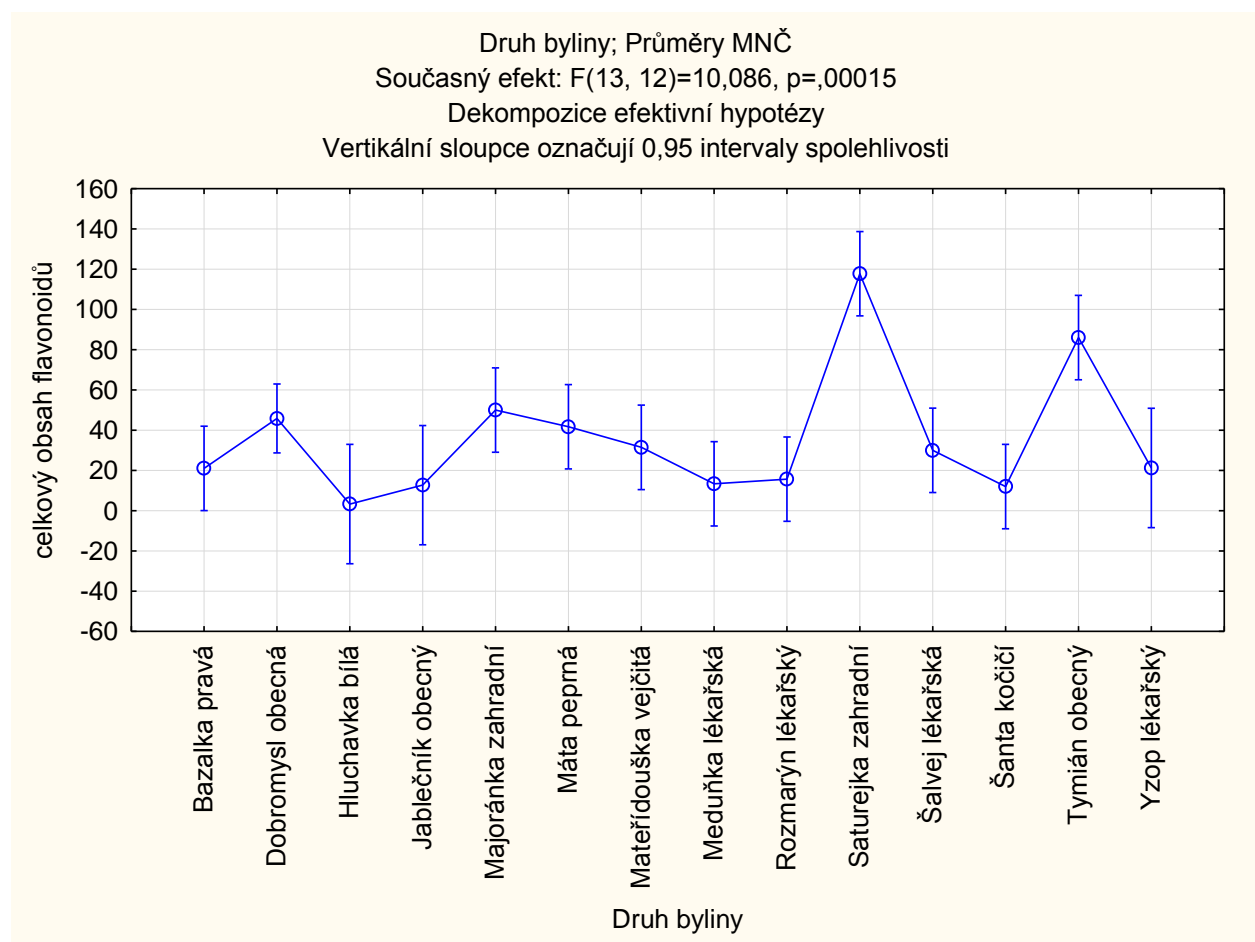
Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro antioxidační aktivita (DP - excel pro statistiku) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	P
Abs. člen	28907,53	1	28907,53	168,5979	0,000000
Druh byliny	14471,00	13	1113,15	6,4923	0,001326
Chyba	2057,50	12	171,46		

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná antioxidační aktivita (DP - excel pro statistiku) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 171,46, sv = 12,000						
	Druh byliny	1	2	3	4	5	
		27,050	81,787	4,9500	15,010	51,900	
1	Bazalka pravá		0,207885	0,999217	0,999999	0,985314	
2	Dobromysl obecná	0,207885		0,122112	0,244887	0,897552	
3	Hluchavka bílá	0,999217	0,122112		1,000000	0,766799	
4	Jablečník obecný	0,999999	0,244887	1,000000		0,939208	
5	Majoránka zahradní	0,985314	0,897552	0,766799	0,939208		
6	Máta peprná	1,000000	0,313608	0,994514	0,999950	0,998015	
7	Mateřídouška vejčitá	0,999172	0,717134	0,895309	0,986268	1,000000	
8	Meduňka lékařská	1,000000	0,227820	0,998741	0,999998	0,989835	
9	Rozmarýn lékařský	0,588424	0,999995	0,318167	0,537408	0,998307	
10	Saturejka zahradní	1,000000	0,323883	0,993723	0,999935	0,998381	
11	Šalvej lékařská	0,967815	0,942925	0,704999	0,905755	1,000000	
12	Šanta kočičí	0,987588	0,021646	1,000000	0,999999	0,446402	
13	Tymián obecný	1,000000	0,371937	0,989084	0,999808	0,999395	
14	Yzop lékařský	0,999921	0,165936	1,000000	1,000000	0,855307	
Č. buňky	Scheffeho test; proměnná antioxidační aktivita (DP - excel pro statistiku) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 171,46, sv = 12,000						
	6	7	8	9	10	11	12
	32,065	45,195	28,130	71,410	32,480	54,550	2,7050
1	1,000000	0,999172	1,000000	0,588424	1,000000	0,967815	0,987588
2	0,313608	0,717134	0,227820	0,999995	0,323883	0,942925	0,021646

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná antioxidační aktivita (DP - excel pro statistiku)						
	Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 171,46, sv = 12,000						
	Druh byliny		1	2	3	4	5
			27,050	81,787	4,9500	15,010	51,900
3	0,994514	0,895309	0,998741	0,318167	0,993723	0,704999	1,000000
4	0,999950	0,986268	0,999998	0,537408	0,999935	0,905755	0,999999
5	0,998015	1,000000	0,989835	0,998307	0,998381	1,000000	0,446402
6		0,999974	1,000000	0,738466	1,000000	0,993706	0,948807
7	0,999974		0,999557	0,977564	0,999982	1,000000	0,645315
8	1,000000	0,999557		0,621299	1,000000	0,976178	0,982349
9	0,738466	0,977564	0,621299		0,750228	0,999609	0,101875
10	1,000000	0,999982	1,000000	0,750228		0,994665	0,943706
11	0,993706	1,000000	0,976178	0,999609	0,994665		0,376038
12	0,948807	0,645315	0,982349	0,101875	0,943706	0,376038	
13	1,000000	0,999997	1,000000	0,799819	1,000000	0,997594	0,917247
14	0,998933	0,949132	0,999850	0,404626	0,998725	0,803155	1,000000

Příloha 6: Příklady výstupu ze statistického vyhodnocení odlišnosti obsahu flavonoidů u rostlin čeledi hluchavkovité (závislosti obsahu flavonoidů na druhu rostliny) – ANOVA (F-test, bodový graf, Schéffeho test)

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro celkový obsah flavonoidů (DP - excel pro statistiku) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	32345,95	1	32345,95	198,3078	0,000000
Druh byliny	22895,12	13	1761,16	10,7974	0,000107
Chyba	1957,32	12	163,11		



Č. buňky	Scheffeho test; proměnná celkový obsah flavonoidů (DP - excel pro statistiku) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 163,11, sv = 12,000						
	Druh byliny	1 21,030	2 45,807	3 7,1700	4 13,200	5 50,010	
1	Bazalka pravá		0,964908	0,999994	1,000000	0,944496	
2	Dobromysl obecná	0,964908		0,866272	0,953510	1,000000	
3	Hluchavka bílá	0,999994	0,866272		1,000000	0,830801	
4	Jablečník obecný	1,000000	0,953510	1,000000		0,929474	
5	Majoránka zahradní	0,944496	1,000000	0,830801	0,929474		
6	Máta peprná	0,996282	1,000000	0,953878	0,989466	1,000000	
7	Mateřídouška vejčitá	0,999998	0,999759	0,997477	0,999861	0,998686	
8	Meduňka lékařská	1,000000	0,943479	0,999999	1,000000	0,918836	
9	Rozmarýn lékařský	1,000000	0,977708	0,999980	1,000000	0,961176	
10	Saturejka zahradní	0,007387	0,035937	0,012956	0,020034	0,095643	
11	Šalvej lékařská	1,000000	0,999330	0,998624	0,999945	0,997248	
12	Šanta kočičí	1,000000	0,776766	1,000000	1,000000	0,749085	
13	Tymián obecný	0,120788	0,562671	0,127302	0,191698	0,803410	
14	Yzop lékařský	1,000000	0,995162	0,999999	1,000000	0,988584	
Č. buňky	Scheffeho test; proměnná celkový obsah flavonoidů (DP - excel pro statistiku) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 163,11, sv = 12,000						
	6 41,715	7 31,470	8 19,280	9 22,485	10 117,75	11 29,985	12 12,000
1	0,996282	0,999998	1,000000	1,000000	0,007387	1,000000	1,000000
2	1,000000	0,999759	0,943479	0,977708	0,035937	0,999330	0,776766
3	0,953878	0,997477	0,999999	0,999980	0,012956	0,998624	1,000000
4	0,989466	0,999861	1,000000	1,000000	0,020034	0,999945	1,000000
5	1,000000	0,998686	0,918836	0,961176	0,095643	0,997248	0,749085
6		0,999998	0,992323	0,998127	0,046027	0,999991	0,934482
7	0,999998		0,999985	1,000000	0,018469	1,000000	0,997890
8	0,992323	0,999985		1,000000	0,006351	0,999997	1,000000
9	0,998127	1,000000	1,000000		0,008380	1,000000	0,999997
10	0,046027	0,018469	0,006351	0,008380		0,016190	0,003421
11	0,999991	1,000000	0,999997	1,000000	0,016190		0,999027
12	0,934482	0,997890	1,000000	0,999997	0,003421	0,999027	
13	0,554951	0,281321	0,103933	0,136672	0,902080	0,251218	0,054864
14	0,999532	1,000000	1,000000	1,000000	0,035917	1,000000	1,000000

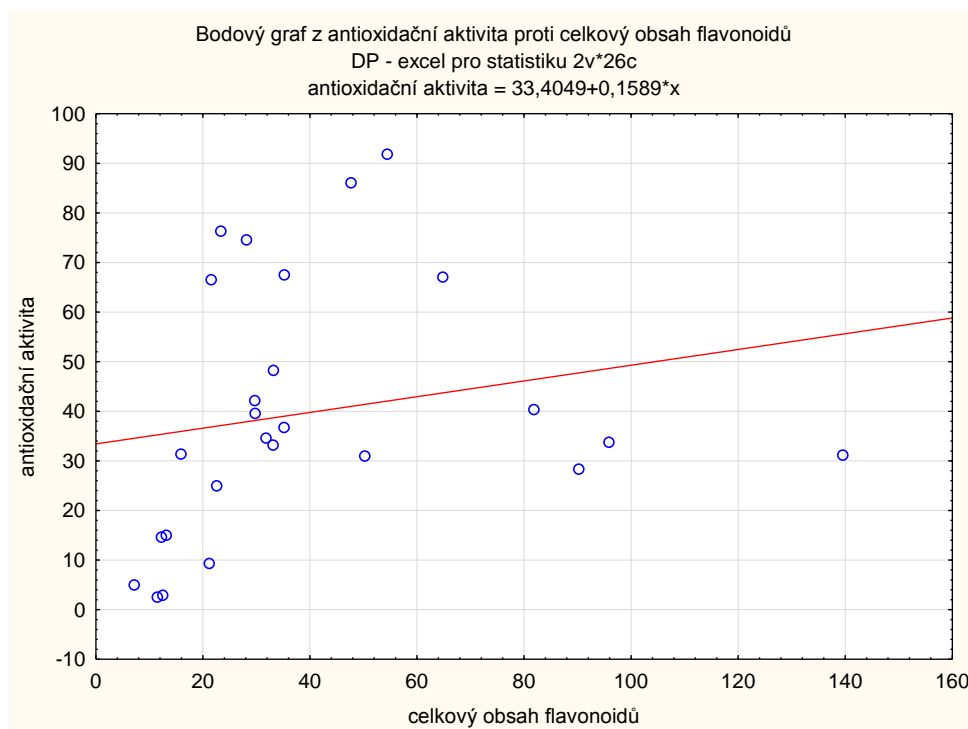
Příloha 7: Příklady výstupu ze statistického vyhodnocení odlišnosti obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů u rostlin čeledi hluchavkovité (závislosti obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů na druhu rostliny) – ANOVA (F-test)

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů (DP - excel pro statistiku) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	7275,506	1	7275,506	173,0853	0,000000
Druh byliny	811,801	13	62,446	1,4856	0,250232
Chyba	504,411	12	42,034		

Příloha 8: Příklady výstupu ze statistického vyhodnocení možné korelace mezi antioxidační aktivitou a celkovým obsahem flavonoidů – Vícenásobná regresní analýza

Statist.	Statistické shrnutí; ZP: antioxidační aktivita (DP - excel pro statistiku)
	Hodnota
Vícenás. R	0,194831501
Vícenás. R2	0,0379593138
Upravené R2	-0,00212571476
F(1,24)	0,946969858
p	0,340198398
Sm. chyba odhadu	25,7399584

N=26	Výsledky regrese se závislou proměnnou : antioxidační aktivita (DP - excel pro statistiku)					
	R= ,19483150 R2= ,03795931 Upravené R2= ----- F(1,24)=,94697 p<,34020 Směrod. chyba odhadu : 25,740					
	b*	Sm.chyba a z b*	b	Sm.chyba a z b	t(24)	p-hodn.
Abs.člen			33,4048 6	8,267351 6	4,04057 6	0,00047 6
celkový obsah flavonoidů	0,19483 2	0,200212	0,15889	0,163276	0,97312 4	0,34019 8



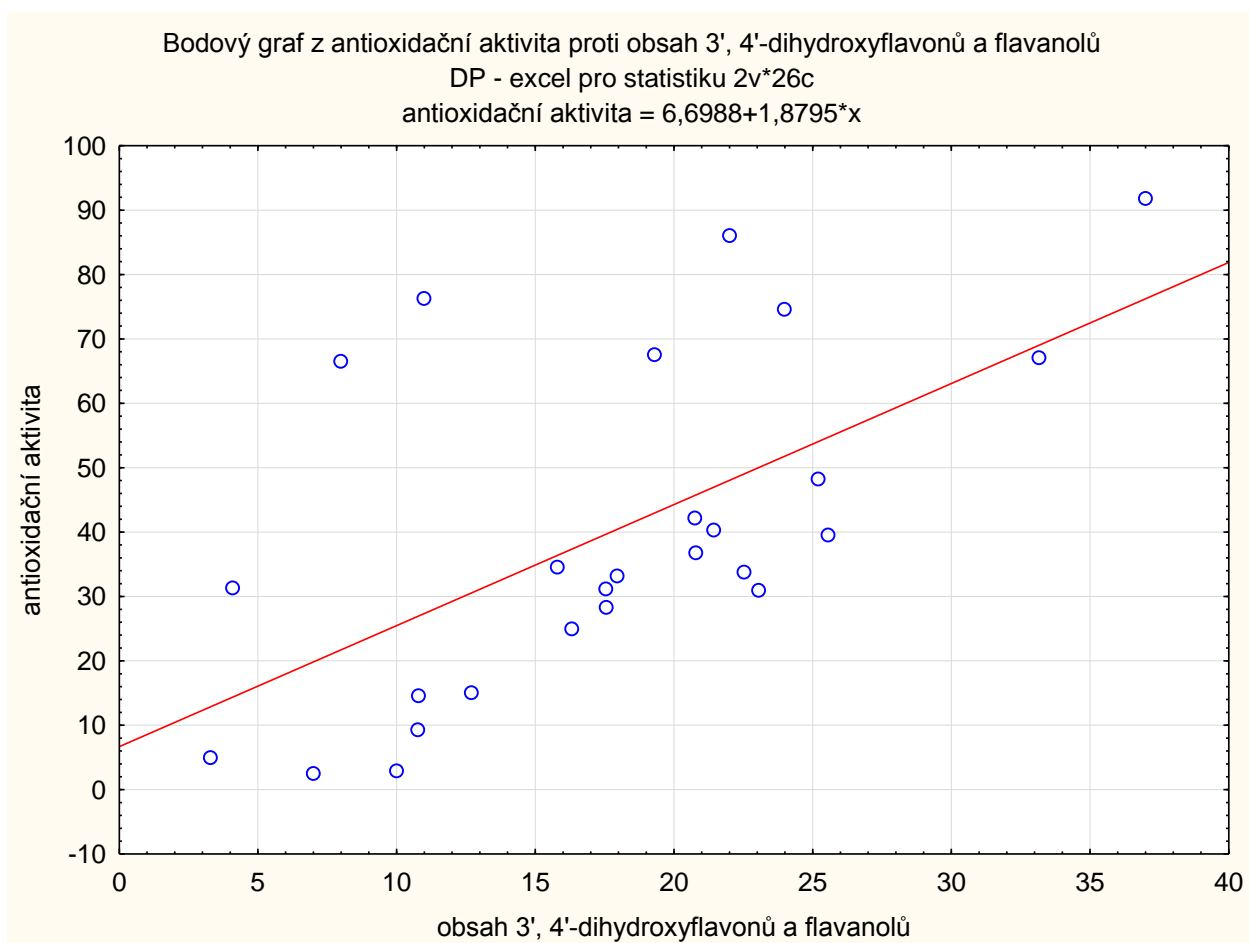
Bodový graf popisující závislost antioxidační aktivity na celkovém obsahu flavonoidů

Příloha 9: Příklady výstupu ze statistického vyhodnocení možné korelace mezi antioxidační aktivitou a obsahem 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů

Statist.	Statistické shrnutí; ZP: antioxidační aktivita (DP - excel pro statistiku)
	Hodnota
Vícenás. R	0,604079678
Vícenás. R2	0,364912257
Upravené R2	0,338450268
F(1,24)	13,7900538
p	0,00108312734
Sm. chyba odhadu	20,913561

N=26	Výsledky regrese se závislou proměnnou : antioxidační aktivita (DP - excel pro statistiku) R= ,60407968 R2= ,36491226 Upravené R2= ,33845027 F(1,24)=13,790 p<,00108 Směrod. chyba odhadu : 20,914			
	b*	Sm.chyba z b*	b	Sm.chyba z b
Abs.člen			6,698829	9,806257
obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů	0,604080	0,162671	1,879476	0,506120

N=26	Výsledky regrese se závislou proměnnou : antioxidační aktivita (DP - excel pro statistiku)	
	R= ,60407968 R2= ,36491226 Upravené R2= ,33845027 F(1,24)=13,790 p<,00108 Směrod. chyba odhadu : 20,914	
	t(24)	p-hodn.
Abs.člen	0,683118	0,501074
obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů	3,713496	0,001083



Bodový graf popisující závislost antioxidační aktivity na celkovém obsahu obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů

10 Seznamy

10.1 Seznam obrázků

- Obr. 1:** Mechanismus vzniku onemocnění souvisejícího s oxidačním stresem
- Obr. 2:** Možné rozdělení fenolických látek
- Obr. 3:** Struktury hlavních skupin flavonoidů a jejich zástupců
- Obr. 4:** Schématické znázornění biosyntézy a přeměny flavonoidů
- Obr. 5:** Schématické znázornění hlavních cest biosyntézy flavonoidů
- Obr. 6:** Osud flavonoidů v GI traktu
- Obr. 7:** Chemická struktura vybraných hydroxyskořicových kyselin
- Obr. 8:** Chemická struktura gallové a ellagové kyseliny
- Obr. 9:** Kalibrační řada ke stanovení antioxidační aktivity
- Obr. 10:** Kalibrační řada ke stanovení celkového obsahu flavonoidů
- Obr. 11:** Kalibrační řada ke stanovení obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů
- Obr. 12:** Grafické znázornění antioxidační aktivity jednotlivých kupovaných vzorků bylin (Grešík)
- Obr. 13:** Grafické znázornění antioxidační aktivity jednotlivých nasbíraných vzorků bylin
- Obr. 14:** Grafické znázornění průměrných hodnot antioxidační aktivity jednotlivých druhů bylin (Grešík a vlastní sběr)
- Obr. 15:** Grafické znázornění průměrných hodnot celkového obsahu flavonoidů jednotlivých druhů bylin
- Obr. 16:** Grafické znázornění průměrných hodnot antioxidační aktivity a celkového obsahu flavonoidů u jednotlivých druhů bylin
- Obr. 17:** Grafické znázornění průměrných hodnot obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů jednotlivých druhů bylin
- Obr. 18:** Grafické znázornění průměrných hodnot antioxidační aktivity a obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů u jednotlivých druhů bylin
- Obr. 19:** Grafické znázornění závislosti antioxidační aktivity na obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů

10. 2 Seznam tabulek

Tab. 1: Reaktivní formy kyslíku (ROS)

Tab. 2: Reaktivní formy dusíku (NOS)

Tab. 3: Výsledky měření antioxidační aktivity u kupovaných vzorků bylin (Grešík)

Tab. 4: Výsledky měření antioxidační aktivity u nasbíraných vzorků bylin

Tab. 5: Průměrné hodnoty naměřené antioxidační aktivity u jednotlivých druhů bylin (Grešík a vlastní sběr)

Tab. 6: Celkový obsah flavonoidů v bylinách

Tab. 7: Obsah 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů v bylinách

10. 3 Seznam příloh

Příloha 1: Obrázky bylin

Příloha 2: Fotografie zakoupených vzorků bylin (Grešík)

Příloha 3: Tabulka zakoupených vzorků bylin

Příloha 4: Tabulka nasbíraných vzorků bylin

Příloha 5: Příklady výstupu ze statistického vyhodnocení odlišnosti antioxidační aktivity u rostlin čeledi hluchavkovité – ANOVA (F-test, Schéffeho test)

Příloha 6: Příklady výstupu ze statistického vyhodnocení odlišnosti obsahu flavonoidů u rostlin čeledi hluchavkovité (závislosti obsahu flavonoidů na druhu rostliny) – ANOVA (F-test, bodový graf, Schéffeho test)

Příloha 7: Příklady výstupu ze statistického vyhodnocení odlišnosti obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů u rostlin čeledi hluchavkovité (závislosti obsahu 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů na druhu rostliny) – ANOVA (F-test)

Příloha 8: Příklady výstupu ze statistického vyhodnocení možné korelace mezi antioxidační aktivitou a celkovým obsahem flavonoidů – Vícenásobná regresní analýza

Příloha 9: Příklady výstupu ze statistického vyhodnocení možné korelace mezi antioxidační aktivitou a obsahem 3', 4'-dihydroxyflavonů a flavanolů