

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

**Rozchodnice růžová (*Rhodiola rosea*) a její využití ve
fytoterapii**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor: Aneta Marvanová

Studijní obor: Chemie

Vedoucí práce: doc. RNDr. David Jirovský, Ph.D.

2021 Olomouc

Prohlášení:

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

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a v informačním systému Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci 26. 04. 2021

.....

Podpis

Poděkování:

Za neocenitelnou a nezištnou pomoc, cenné rady a připomínky při vypracování této práce děkuji panu doc. RNDr. Davidu Jirovskému, Ph.D. Mé další poděkování náleží panu Mgr. Janu Rozsypalovi za spolupráci při získávání údajů pro výzkumnou část práce.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Aneta Marvanová
Název práce:	Rozchodnice růžová (<i>Rhodiola rosea</i>) a její využití ve fytoterapii
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta univerzity Palackého v Olomouci, Česká republika
Vedoucí práce:	doc. RNDr. David Jirovský, Ph.D.
Rok odevzdání práce:	2021

Anotace:

Tato práce se zabývá analýzou produktů z rostliny rozchodnice růžové (*Rhodiola rosea*) pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie v kombinaci se spektrofotometrickou detekcí.

Testovány byly dva komerčně zakoupené produkty v České republice a jedna vlastní tinktura připravená tradičním způsobem macerace v 50% roztoku ethanolu po dobu 5 týdnů. Analýzou bylo zjištěno, že jednotlivé produkty obsahují odlišné množství bioaktivních látek. Největší množství bylo prokázáno u vlastní vyrobené tinktury.

Klíčová slova:	Bioaktivní látky, fytochemie, rozchodnice růžová, spektrofotometrická detekce, tradiční čínská medicína, vysokoúčinná kapalinová chromatografie
Počet stran:	38
Počet příloh:	0
Jazyk:	Český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Aneta Marvanová
Title: *Rhodiola rosea* and its use in phytotherapy
Type of thesis: Bachelor's
Department: Department of Analytical Chemistry,
Faculty of Science, Palacký University,
Czech Republic
Supervisor: doc. RNDr. David Jirovský, Ph.D.
The year of submission: 2021

Annotation:

This study deals with analysis of products made of *Rhodiola rosea* by high-performance liquid chromatography using spectrophotometric detection.

Two commercial products freely available in the Czech Republic and one self-made tincture were tested. A traditional extraction procedure using maceration of dried ground roots in 50% ethyl alcohol for 5 weeks was used. The analysis showed that all of three products contained different amount of bioactive substances. The highest amount of bioactive substances was found in the self-made tincture.

Keywords: Bioactive substances, phytochemistry,
Rhodiola rosea, spectrophotometric
detection, traditional Chinese medicine,
high-performance liquid chromatography
Number of pages: 38
Number of appendices: 0
Language: Czech

OBSAH

1	Úvod	7
2	Cíl práce	7
3	Teoretická část	8
3.1	Dějiny bylinkářství	8
3.1.1	Historický vývoj tradiční čínské medicíny	8
3.1.2	Tradiční čínská medicína na českém území.....	12
3.1.3	Legislativa dávkování doplňků stravy v České republice	13
3.2	Rozchodnice růžová (<i>Rhodiola rosea</i>).....	15
3.2.1	Výskyt	15
3.2.2	Popis.....	15
3.2.3	Historie.....	17
3.2.4	Fytochemie	18
3.2.5	Farmakologické účinky.....	21
3.3	Současné metody analýzy rostliny a jejich produktů.....	27
4	Experimentální část	28
4.1	Úvod	28
4.2	Chemikálie	29
4.3	Experimentální vybavení	29
4.4	Zpracování vzorku k analýze.....	29
4.5	Analýza	30
4.6	Výsledky a diskuze.....	31
5	Závěr	33
6	Přehled použitých zkratk	34
7	Použitá literatura	35

1 ÚVOD

Tato práce je zaměřená na fytochemické využití rozchodnice růžové (*Rhodiola rosea*) ve farmakologii. Jedná se o rostlinný adaptogen, který je díky své mnohočetné léčebné funkci zcela výjimečný. V posledních letech je zaznamenán obrovský zájem o produkty, které obsahují bioaktivní složky právě této rostliny. Práce je složena ze dvou částí: teoretické a experimentální. V teoretické části je kapitola pojednávající o historickém vývoji tradiční čínské medicíny, která tvoří hlavní doménu této rostliny. Důraz však bude především kladen na charakteristiku rostliny, její fytochemické složení a její aplikace ve farmakologii. Náplní experimentální části je podrobit produkty z této rostliny analýze pomocí instrumentální techniky HPLC a tím je vzájemně porovnat.

2 CÍL PRÁCE

Hlavním cílem této práce je seznámit čtenáře s rozchodnicí růžovou a jejími účinky na zdraví člověka. Jako další cíle byly stanoveny:

- základní poznatky o historickém vývoji tradiční čínské medicíny,
- charakteristika rostliny, její fytochemické složení a následná aplikace ve farmakologii,
- na základě experimentu porovnat dva komerčně zakoupené produkty rozchodnice růžové pomocí instrumentální techniky HPLC.

Nad rámec původního plánu byla praktická část rozšířena o přípravu vlastní tinktury z rozchodnice a její porovnání se zakoupeným extraktem.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Dějiny bylinkářství

Přes veškerý vývoj v medicíně je bylinkářství stále považováno za nejdůležitější a zároveň za nejstarší formu medicíny. Důvodem jsou synteticky připravená léčiva, jejichž základ je často tvořen aktivními složkami rostlin. V dávných dobách se jednalo především o ženské povolání, které bylo přenášeno z matky na dceru. S rozvojem psaného jazyka se poznatky o tehdejších rostlinách začaly zaznamenávat a rozšiřovat do celého světa. Ve starověku to vedlo celou řadu léčitelů a filozofů ke tvorbě herbářů. Avšak tehdejší doba byla silně křesťanská, což dávalo vzniku názorům, že nemoc je trest od boha a zbavení se hříchu vede k vyléčení dané nemoci. V období středověku byla za centrum dokonalosti a vševědomosti považována Persie. V Evropě byl rozvoj bylinkářství brzděn představiteli křesťanské církve. Během novověku došlo k rozvoji knihtisku a tím i k rozšíření vědomostí o bylinách. V tomto období dochází k největšímu vývoji herbářů a jejich zdokonalení. Ženy měly zakázané se léčitelství věnovat, jinak byly označeny za kacířky a tím se vyslaly na jistou smrt. Tehdejší rozvoj pokračuje až do dnešní doby, kdy se neustále objevují nové látky a účinky, které napomáhají k léčbě prozatím stále neléčitelných chorob jako je HIV, rakovina nebo například Alzheimerova choroba. Tato práce pojednává o rostlině zvané rozchodnice růžová (*Rhodiola rosea*). Zmínky o ní jsou k nalezení v tradiční ruské, nepálské nebo třeba tibetské medicíně. Za její hlavní doménu je však považována tradiční čínská medicína, o které bude řeč v následující kapitole [1, 2].

3.1.1 Historický vývoj tradiční čínské medicíny

Tradiční čínská medicína (TCM) je považována za nejdelší nepřerušovanou tradici v oblasti léčitelství. Zahrnuje několik složek: fytoterapie (na kterou je kladen důraz v této práci), akupunktura, masáže, cvičení a dietetika. Lidé již před několika tisíci lety věděli, že rostliny mají nespočetné léčebné účinky a snažili se je využívat ve svůj prospěch. Poznatky o rostlinách se přenášely z generace na generaci, postupně se písemně zaznamenávaly a tím se dalo vzniku fytoterapii neboli terapii bylinami. Přestože si TCM prošla v průběhu několik tisíců let značným vývojem, je nutné nejdříve pochopit počátky její historie. Období 29. stol. př. n. l.–16. stol. n. l. je rozděleno na pět hlavních částí:

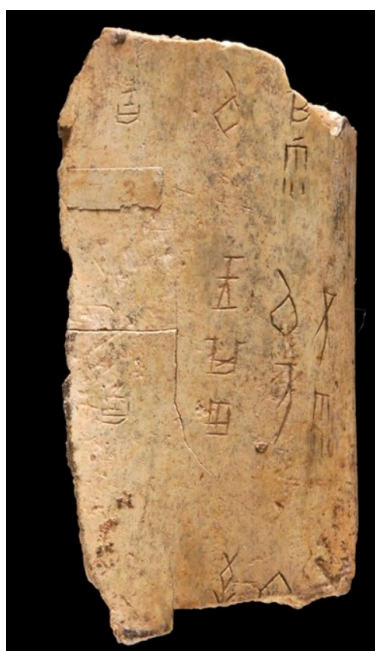
1. doba tří císařů (Fu Xi, Shennong, Huangdi),
2. dynastie Shang, Bian Qiao,
3. lékaři Zhang Zhongjing, Wang Shuhe, Hua Tuo,
4. dalších 1300 let,
5. současnost [1, 3, 4].

První období je spojováno s vládou tří císařů. Prvním z nich je Fu Xi, který je považován za zakladatele čínského lidu. Podle nejruznějších mýtů učil lidi lovit a tepelně upravovat zvěř. Je mu také přisuzován objev *bagua*, který je k naleznutí v knize *Yi Ching (Kniha změn)*. Jedná se o osm trigramů v taoistické kosmologii charakterizující relativní aspekty k přesnému řešení problému. Zmíněná *bagua* je odvozena od *I Ching*, který je reprezentován dvěma složkami: *Yan* (pozitivní princip, neporušený, nebo také mužský aspekt) a *Yin* (negativní princip, zlomený, ženský aspekt). Tyto složky jsou zakreslovány jako dvě ryby v kruhu, přičemž *Yan* je znázorněn bílou rybou s černým okem a v případě *Yin* je tomu naopak. Aby byl člověk zdravý a žil v harmonii, je potřeba, aby tyto dvě složky byly v rovnováze. Tato myšlenka tvoří základ TCM. Druhým císařem je Shennong, který žil ve 28. stol. př. n. l. Bývá také nazýván jako *Rudý císař*, protože jeho patronem je oheň. Říká se, že naučil lidi obstarávat půdu, využívat pluh a rozlišovat, které plodiny jsou jedovaté a které nikoli. O tom se také pojednává v díle *Shennong bencaojing*. Neprávem je toto dílo přisuzováno právě zmiňovanému císaři Shennongu. Existují totiž zmínky, že toto dílo bylo sepsáno několik stovek let po jeho smrti. I přesto je považován za zakladatele TCM. Jako poslední císař se do této éry řadí Huangdi (*Žlutý císař* – patronem je země). Učil lidi tisku a ke stavění pevných obydlí. Je mu přisuzováno jedno z nejstarších děl čínské medicíny, a to: *Huangdi Neijing (Vnitřní kniha Žlutého císaře, obr. 1)*. V této knize jsou sepsány rozhovory mezi císařem a jeho lékařem. Zavádí zde základy akupunktury, i když místo jehel se v té době využívalo naostřených kamenů a dlouhých kostí [4, 5, 6, 7].



Obr. 1- Kniha Huangdi Neijing [8]

Do druhého období (27. stol. př. n. l.–první polovina 5. stol. př. n. l.) spadá dynastie Shang, která je proslulá šamanstvím. Lidé této doby věřili, že nemoc je prokletí předků nebo vstoupení démona do těla. Šamani byli komunikátoři mezi lidmi a jejich předky. Myšlenky a názory předků interpretovali z věšteckých kostí (nejčastěji želvovina, obr. 2), které byly zahřáty a následně propíchnuty pruty. Tímto způsobem se na kostech vytvořily praskliny, které šamani dokázali přečíst, a tím byla umožněna komunikace mezi dvěma světy.



Obr. 2 - Praskliny na želví skořápce, které sloužily k věštění [9]

Do této éry se také řadí významný lékař Bian Qiao, o kterém se vypráví příběh varující před zanedbáním prevence. Bian Qiao oznámil markýzovi Qi Huanovi, že má latentní nemoc a že je nutná okamžitá léčba, avšak markýz tomu nevěnoval pozornost ani na jeho třetí upozornění. V důsledku rozhořčení poslal lékaři dopis, kde žádal o vysvětlení. Na to mu Bian Qiao odpověděl: „*Když byla nemoc jen hluboko v kůži, šlo ji vyléčit různými aplikacemi; když v krevním systému, propíchnutím; když v žaludku a ve střevech, alkoholickými extrakty. Ale když to proniklo až do kostní dřeně, co by mohl doktor udělat? Teď, když se nemoc usadila v kostní dřeni Jeho Excellence, je pro mě zbytečné dalších poznámek.*“⁴ Za pět dní markýz zemřel [4, 7, 10].

Třetí éra je považována za období nejvýznamnějších léčitelů. Prvním z nich je Zhang Zhongjing, který kladl důraz na příznaky nemocí. Hodně také prosazoval chladné koupele, které mají pozitivní vliv na organismus. Dalším z nich je chirurg Hua Tuo, který je považován za zakladatele anestetik a fyzioterapie. Pro potlačení bolesti podával svým pacientům přípravek z konopí a vína. Konec jeho života však nabere na rychlé obrátky. Král Wei (Cao Cao) trpěl závratěmi a tak požádal Hua Tua, aby mu je pomohl vyléčit. Když tomu tak učinil, chtěl po něm, aby ho těch závratí zbavil natrvalo. Na to mu však Hua Tuo odpověděl, že by musel provést zákrok, při kterém bude jeho lebka zcela otevřená. Král to vzal jako spiknutí a tak nařídil, aby ho uvěznili a následně popravili. Posledním představitelem nejvýznamnějších léčitelů je Wang Shuhe, s nímž je spojená pulzní metoda léčení. Díky třem základním bodům na každém zápěstí zkoumal pulzy, pomocí nichž byl schopen charakterizovat, zdali je daný člověk nemocný či nikoli, popřípadě kde se daný problém nachází [4].

Poslední období spadá do období 3. stol. n. l.–16. stol. n. l. Nejvýznamnějším představitelem této doby je Ge Hong, který zavedl předpisy pro nouzové stavy. Také popsal neštovice jako smrtelnou nemoc, ale až o 700 let později bylo zavedeno první očkování proti neštovicím [4].

V 19. století se Číňané stěhovali za prací do Spojených států a s nimi byla také přinášena TCM, která byla do té doby pro Američany neznámá. Její průlom nastal v roce 1971, kdy James Reston (obr. 3), reportér z New Yorku, byl léčen na akutní apendicitidu. V Pekingu podstoupil chirurgický zákrok a poté nastoupil na akupunkturní léčbu. Jejím výsledkem byl naprosto ohromen, a proto se při návratu do Spojených států rozhodl o tuto zkušenost podělit s ostatními. Publikoval článek: *Now About My Operation in Peking, New York Times, 26. 7. 1971*, díky kterému se povědomí tradiční čínské medicíny dostalo i do Evropy a to i na území tehdejšího Československa [10].



Obr. 3 - James Reston [10]

3.1.2 Tradiční čínská medicína na českém území

Jak bylo řečeno shora, velkou zásluhu o přínos TCM na území Evropy má James Reston. Nebyl však jediný, kdo zavítal do Číny. Jeden z Čechů tam vycestoval již ve 14. stol. n. l. Byl to Oldřich z Furlandska, který byl i mimo jiné nazýván jako český *Marco Polo*. Dalším významným Čechem na území Číny byl Karel Slaviček (1678–1735). Byl to astronom, matematik a hudebník, který žil v Pekingu, kde je také pochován. První přeloženou knihou do češtiny byla *Lao C'ova Tao Te Ťing* (obr. 4) Rudolfem Dvořákem na přelomu 19. a 20. století. První studia čínského jazyka probíhala na zlínské Vyšší lidové škole pod vedením Jaroslava Průška, kterému poskytl stipendium v Číně sám Tomáš Baťa. O značný přínos TCM na naše území se také zasloužil roku 1965 MUDr. Josef Vymazal, který měl stáž v Číně. Po návratu do své vlasti praktikoval akupunkturu na klinice Univerzity Karlovy v Praze a posléze vydal knihu odkazující právě na ni: *Akupunktura*. Další kniha, která pojednává o TCM a akupunkturu samotné se nazývá *Kovem a ohněm*. Od roku 1977 je u nás uznávána jako interdisciplinární metoda [3].



Obr. 4 - Kniha Lao C'ova Tao Te Ěing [11]

3.1.3 Legislativa dávkování doplňků stravy v České republice

Česká republika je pod velkým vlivem západních velmocí, a proto celá řada léků a metod léčení pochází právě z těchto zemí. V posledních letech je zaznamenán velký zájem o oblast přírodních léčiv a o východní medicínu obecně, kde má herbalistika dlouhou tradici. Lidé se snaží využívat sílu přírody a bojovat tak s nemocemi tzv. „přirozeně“. Nevýhodou synteticky připravených léků jsou nežádoucí vedlejší účinky. Abych uvedla příklad ze současnosti: lék Remdesivir se po určité době testování projevil jako účinný v boji proti viru covid-19, avšak informace o tom, že poškozuje játra a ledviny jsou zatajeny. Otázkou tedy zůstává, zdali si s danou léčbou pomůžeme, nebo jen jeden problém nahradíme druhým. Při léčení pomocí rostlin je toto riziko výrazně menší. Tady se však vyskytuje jiný problém, a to doporučené denní dávkování. Nejasnosti okolo doporučené denní dávky panují posledních pár let a to nejen v České republice. Je to způsobeno především neodbornou činností lidí na ministerstvu a ve vládě. Podle vyhlášky 225/2008 Sb. a následného předpisu 58/2018 Sb. pojednávající o doplňcích stravy a složení potravin se nesmí doplněk potravin přisuzovat vlastnosti prevence a léčení a nejsou přípustná ani samotná doporučení lékařů a odborníků. Tyto zákony byly vydány pro sjednocení podmínek mezi členy Evropské Unie a pro zvýšení ochrany spotřebitele. To je důvod, proč nalézáme na internetových stránkách a příbalovém letáku daného doplňku stravy věty

typu „*Podporuje udržovat zdravé klouby*“¹⁴ a nikoliv „*Pomáhá při bolesti kloubů*.“¹⁴ Je bez debat, že dávkování schválené ministerstvem a výrobcem je bezpečné, ale někdy je natolik nízké, že nejsme schopni postřehnout žádný efektivní účinek. Řešením by bylo zvýšení dávek, které však na příbalovém letáku není doporučeno, ba naopak jsme před ním varováni. Přestože jsou tímto sami uživatelé poškozováni, a to především po ekonomické stránce, odmítají si dávky zvýšit kvůli strachu z vedlejších účinků. Pro představu, jinak je tomu v případě léků. Pacient nediskutuje s lékařem o vhodném dávkování, a tedy z vedlejších účinků strach nemá. Dle mého názoru, má každé tělo jiné limity a proto nemůžeme očekávat, že všichni zapadneme do ministerstvem schválené a doporučované tabulky. V případě užívání doplňků stravy je třeba na sobě pozorovat příznaky a postupem času si dávkování upravit tak, aby to vyhovovalo danému jedinci. Myšlenka toho, že doporučená dávka je dostačující a popřípadě její snižování je téměř nereálná. Ve většině případů je třeba danou dávku zvýšit, aby se daný „léčebný“ efekt projevil. A rozhodně bych se toho nebála. Rostliny užívané v potravinářství, potažmo ve farmácii nejsou na rozdíl od syntetických léků tak nebezpečné. Jediné, co se může stát, je zvýšená míra daného efektu. Abych uvedla příklad pro lepší demonstraci: budeme-li užívat doplněk stravy napomáhající potlačit nespavost, tak při nadměrné dávce se může stát, že daný jedinec bude ještě více unavený a spavý. A proto je v zájmu daného jedince, aby našel svůj tzv. zlatý střed, při kterém budou pozitivní účinky daného doplňku maximální. Je však třeba zmínit, že se tu pojednává o doplňcích stravy. V případě předepsaných léků je třeba brát v potaz a respektovat doporučené denní dávkování lékaře. Přece jen se jedná o odborníka ve svém oboru s několikaletou praxí [12, 13, 14, 15].

3.2 Rozchodnice růžová (*Rhodiola rosea*)

3.2.1 Výskyt

Rod *Rhodiola* obsahuje až 90 druhů, avšak toto číslo je velmi variabilní. Původně byla objevena v hornatých oblastech jihozápadní Číny a Himalájích, kde je také nejvíce rozšířena. Rozchodnice růžová (*Rhodiola rosea*) je nejvíce prostudovaným druhem svého rodu. Pravděpodobně pochází z jižní Sibiře, avšak je jediný, který se vyskytuje na území České republiky a to v oblasti Hrubého Jeseníku a Krkonoš. V průběhu několika tisíců let byla nalezena v: „Asii (od Ruska až po Japonsko), Evropě (Skandinávie, Velká Británie, hornaté oblasti střední Evropy), Islandu, Grónsku a v některých oblastech Severní Ameriky,⁴² jak je patrné z obr. 5. Celkově byla tedy zaregistrována ve více než 28 zemích po celé severní polokouli. Podle distribuce lze usoudit, že se jedná o arkticko-alpský druh upřednostňující vyšší nadmořské výšky nebo chladné podnebí. Na základě těchto faktů byl odvozen jeho druhý název *arktický kořen*. Nejčastěji lze rozchodnici růžovou spatřit v okolí řek, svahů, útesů, vysokohorských luk a v tundrách. Nároky na půdu nemá velké, avšak jako většina rostlin preferuje půdu, která je dostatečně vlhká, propustná a bohatá na živiny. Právě se stavem půdy souvisí kvalita rostliny [2, 16, 17, 18, 19].



Obr. 5 - Globální distribuce rozchodnice růžové (tmavě šedá) [2]

3.2.2 Popis

Rozchodnice růžová (*Rhodiola rosea*, obr. 6 a 7) z čeledi *Crassulaceae*, podčeledi *sedoideae* a rodu *Rhodiola* je vytrvalá sukulentní bylina, která je známá především pro svůj oddenek s léčivými účinky. Je dvoudomá a diploidní. Kvůli dřívější

časté sklizni patří mezi kriticky ohrožené a dnes chráněné druhy. Dosahuje výšky až půl metru, avšak tento a mnoho dalších parametrů jsou závislé na geografické oblasti, ročním období a délce dne. Jedná se o tučnolistou nízkou rostlinu vytvářející trsy [2, 17, 18, 19, 20, 21].

Oddenek je tlustý, dužnatý, má podlouhlý či válcovitý tvar a voní po růžích, odtud se odvozuje druhové *jméno rozchodnice růžová, roseroot, růžovník horní, růžovka obecná*. Často nese přezdívku *goldenroot*, znamenající v překladu *zlatý kořen*, který je odvozený od charakteristické nazlátlé barvy oddenku. Jeho struktura v příčném řezu poukazuje na ochrannou tkáň, která je tvořená šesti až osmi vrstvami korku a pouze jednou až dvěma vrstvami phellodermu [2, 17, 18, 19, 21].

Z oddenku dále vyrůstá listová růžice a z ní několik vysokých nerozvětvených dužnatých a oblých lodyh dosahující délky 10-35 cm. Na nich se nacházejí bledě šedé listy, jež jsou podlouhlé, ploché, s vysokým obsahem vody, obvejčité až kopinaté a jež obvykle vyrůstají střídavě. Mohou dosahovat délky až 30 cm [2, 17, 19, 21].

Ze stonků vyrůstá ve třetím až čtvrtém roce života rostliny husté koncové květenství, které může obsahovat až 150 květů. Barva se liší v závislosti na druhu rostliny (v případě rozchodnice růžové má žlutou barvu). Květenství je čtyřčetné, vrcholičnaté, obvykle jednopohlavní. Samčí květy jsou žlutozelené až žluté, v květu se nachází osm tyčinek a dva pestíky, pod nimiž jsou rozprostřeny čtyři medníky. Samičí květy jsou tvořeny jen kališními lístky, korunní jsou redukovány či zcela chybí. Uvnitř se nachází čtyři pestíky a pod semeníkem žlázky s nektarem. Dozrávají později než samčí květy. Kvetou většinou v rozmezí června až srpna [2, 17, 18, 19, 21].



Obr. 6 - Rozchodnice růžová [22]



Obr. 7- Obrázek celé rostliny [23]

3.2.3 Historie

Informace o zmiňované rozchodnici růžové můžeme nalézt v celé řadě evropských knih. První zmínky o ní jsou v herbáři ze 16 století pod názvem *New Kreuterbuch*. O několik let později byla ve francouzské knize *Materia medica* zaznamenána charakteristická vůně oddenku po růžích, z čehož byla následně odvozena přezdívka rostliny *roseroot*. Lidé z různých zemí je využívali pro odlišné účely. V Itálii se využívala pro podporu těhotenství, v Norsku se jí naopak léčily rány, oteklé končetiny, plicní choroby, popřípadě i poruchy močového ústrojí. V pohoří Uralu ji lidé sbírali a udržovali v malých krabičkách březové kůry, kde ji následně využívali jako lék pro posílení imunity, proti únavě a vyčerpanosti a také z ní čerpali základní živiny pro přežití v extrémních podmínkách při honu na zvěř. Právě pro tyto účinky se hojně využívala i v horských vesnicích Gruzie, kde ji lidé při několikadenní obchodní cestě brali s sebou. V Sibérii je už po několik generací zvykem předat novomanželům kytici této rostliny. Ta má představovat dlouhý společný, zdravý a plodný život. Ve starověké Číně císaři posílali své poddané na Sibiř, aby přinesli tuhle rostlinu výměnou za drahokamy a zlato. Tato rostlina byla pro ně obrazem dlouhověkosti a nadřazenosti. V Mongolsku se s ní léčila například tuberkulóza, zánět plic a horečky, byla také využívána jako ústní voda pro špatný dech a pro posílení imunity organismu. Našla uplatnění i v kosmetice, parfumerii, ve veterinářství pro léčbu intersticiálních parazitů, při výrobě krmiva a barvení textilie. Celá rostlina je jedlá, proto bývala hojně využívána

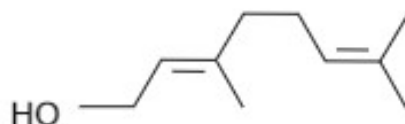
jako samotný zdroj potravy. Dnes je její sběr ve volné přírodě zakázán kvůli častému sběru v minulosti a je považována za ohroženou [2].

3.2.4 Phytochemie

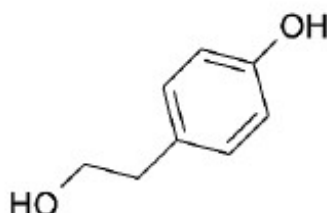
Chemické a fyzikální složení rostliny je závislé na jednotlivém druhu, existují však vlastnosti, které jsou pro rod *Rhodiola* shodné [16].

Rozchodnice růžová je vysoce ceněná léčivá rostlina. Po staletí byla používána jako léčivo proti nejrůznějším nemocím, jako je deprese, únava, bolest hlavy, rýma, chřipka, gastrointestinální poruchy. Je proslulá svými antioxidačními, antizánětlivými, antirakovinými, antidiabetickými, antibakteriálními a antivirovými účinky. Právě díky její mnohočetné biologické aktivitě bylo její fytochemické složení zkoumáno vědci po celém světě. Biologicky aktivní látky se nacházejí především v oddenku a kořeni, které jsou tradiční medicínou z tohoto důvodu nejvíce využívány. Aby produkty z této rostliny mohly mít spolehlivé účinky, byla potřeba identifikovat jednotlivé látky působící v této rostlině [2].

Výzkumy potvrdily přibližně 28 sloučenin, které byly izolovány z kořenů a nadzemních částí rostliny, a následně klasifikovaných do šesti skupin: fenylopropanoidy, deriváty fenylethanolu, flavanoidy, monoterpeny, triterpeny a fenolové kyseliny. Produkty z rozchodnice jsou primárně ve formě extraktu nebo ve formě sušených kořenů. Nejpočetnější složku zde tvoří rosaviny (kap. 4. 2. 4. 2), které jsou zároveň epochálním znakem pro tuto rostlinu. Nejsou to však jediné farmakologicky účinné složky. Další a velmi účinnou složkou je salidroside (kap. 4. 2. 4. 1). „*Sušený kořen obsahuje 0,05% esenciálních olejů s největším zastoupením látek: monoterpenové uhlovodíky (25,40%), monoterpenové alkoholy (23,61%), alifatické alkoholy s přímým řetězcem (37,54%). n-Dekanol (30,38%), geraniol (12,49%) a 1,4-p-methadien-7-ol (5,10%) byly nejhojněji vyskytující se těkavé látky v esenciálním oleji z celkového počtu 86.*“²⁴ Geraniol (obr. 8) byl identifikován jako látka udávající rostlině charakteristickou vůni po růžích. Dále je třeba zmínit, že linalool a jeho oxidy, nonanal, n-dekanal, nerol a cinnamylalkohol zvýrazňují vůni květenství. Zaznamenána byla i celá řada antioxidačních složek jako např. p-tyrosol (obr. 9), organické kyseliny a flavonoidy. Salidroside a další glykosidové sloučeniny podobné salidroside (rosavin, rosarin, rosiridin, rhodiolin, rosin) a p-tyrosol jsou považovány za nejdůležitější složky dávající této rostlině svoji výjimečnost. Výše zmíněná dvojice salidroside a p-tyrosolu byla nalezena ve všech zkoumaných druzích *Rhodioly*, proto se pro standardizaci využívá složka rosavinu, která je pro každý druh charakteristická [16, 18, 19, 24].

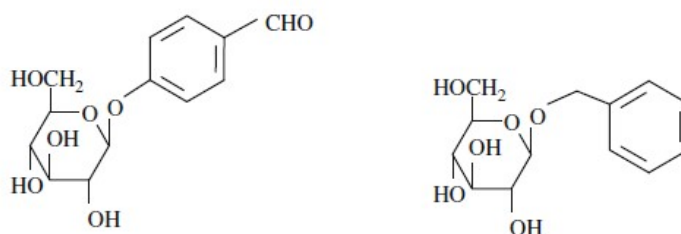


Obr. 8 - Chemická struktura geraniolu [24]



Obr. 9 - Chemická struktura p-tyrosolu [18]

Studie v závěru ukázaly, že se v této rostlině nachází více než 140 fytochemických složek, které byly primárně nalezeny v kořeni a oddenku. To zahrnuje monoterpenové alkoholy a jejich glykosidy, kyanogenní glykosidy, arylové glykosidy (obr. 10), fenylethanoidy, fenylpropanoidy a jejich glykosidy, flavonoidy a mnoho dalších látek udávající nenahraditelné účinky této rostliny [2, 24].

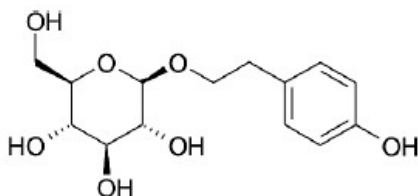


Obr. 10 - Chemické struktury arylových glykosidů [24]

3.2.4.1 Salidrosid

Salidrosid ($C_{14}H_{20}O_7$, p-hydroxyphenylethyl-O- β -D-glukopyranosa), též známý jako rhodiolid (obr. 11), se řadí mezi nejvíce prostudované sloučeniny této rostliny. Byl izolován z kořene rozchodnice růžové spolu s p-tyrosolem. Je považován za hlavní složku, díky které má rostlina takové léčivé účinky. Vzhledem k tomu, že pozdější studia potvrdila přítomnost salidrosidu ve všech druzích rostliny, byly za znak pro odlišení jednotlivých druhů zvoleny rosaviny. Díky své velké biologické aktivitě má antioxidační, antistresové, antivirové, antibakteriální, antirakovinné, antidiabetické, antizánětlivé, neuroprotektivní a hepatoprotektivní účinky. Bylo také prokázáno, že

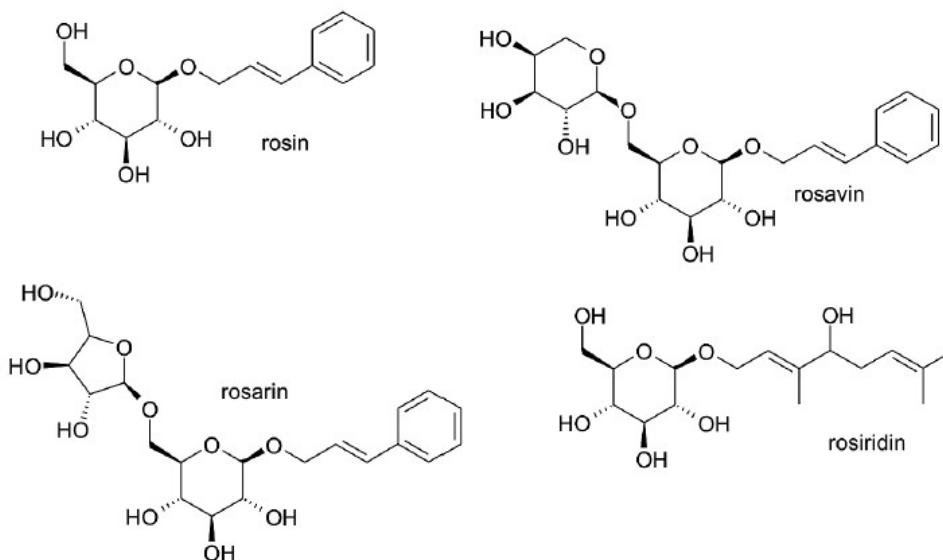
potlačuje únavu a problémy se spaním, zvyšuje produktivitu, zlepšuje celkovou imunitu, chrání kardiovaskulární systém a jednotlivé orgány a také snižuje hyperglykémii. Nejnovější studie také poukázaly na to, že potlačuje mitochondriální dysfunkci vyvolanou azidem sodným a také zabraňuje buněčné smrti neuronů, které jsou vyvolané glutamátem a hypoglykemií [2, 16, 19, 24, 25, 26, 27].



Obr. 11 - Chemická struktura salidosidu [18]

3.2.4.2 Rosaviny

Další velmi početnou skupinu tvoří tzv. rosaviny (obr. 12), kam patří rosaviny (cinnamyl-(6'-O- α -L-arabinopyranosyl)-O- β -D-glukopyranosid), rosariny a rosiny (cinnamyl-O- β -D-glukopyranosid). Jsou také označovány jako phenylpropanoidy nebo také glykosidy cinnamylalkoholu. Jak již bylo zmíněno výše, obsah rosavinů v jednotlivých druzích *Rhodioly* je odlišný a proto se používají ke standardizaci extraktů [2, 16, 18, 19].



Obr. 12 - Chemické struktury rosavinů [18]

3.2.5 Farmakologické účinky

Sibiřané rozchodníci tradičně používali po celá staletí pro své terapeutické účinky. Měla sloužit ke zvýšení fyzické a psychické odolnosti, k potlačení únavy, stresu, chřipky, rýmy, horečky, deprese a nespavosti. Nejrůznějšími výzkumy bylo prokázáno, že extrakty z kořenů obsahují silné adaptogeny, které mohou hrát klíčovou roli v novodobých onemocněních, jako je rakovina a celá řada dalších chorob. Jak bude řečeno níže, byly prokázány jisté protirakovinné, neuroprotektivní, antivirové, antibakteriální, antioxidantní, kardioprotektivní účinky a také potlačuje stres, únavu, depresi, úzkost a zlepšuje celkovou imunitu jedince [2].

3.2.5.1 Neuroprotektivní účinky

Neurodegenerativní onemocnění se řadí mezi jedny z hlavních příčin smrti u lidí po celém světě. Právě neuronální poškození je příčinou řady chorob a nemocí, jako je například Alzheimerova nebo Huntigova choroba, Parkinsonův syndrom či skleróza, které mohou vést ke ztrátě paměti, dysfunkci, až následné smrti. Avšak výše zmíněné poškození není jediným faktorem, který hraje roli při vzniku některých z těchto nemocí. Musí se brát v potaz i věk, životospráva, vrozená imunita daného jedince a spousta dalších faktorů, které tu mohou sehrát svoji roli. Účinky salidroside byly nejvíce prostudovány v Rusku a Skandinávii a výsledky poukázaly na fakt, že menší dávky mají stimulační účinky na rozdíl od větších dávek, která působí jako sedativa. Hlavní bioaktivní složka rozchodnice (salidroside) zlepšuje paměť, myšlení, plánování, pozornost a může napomáhat při učení. Vylepšuje také pracovní nasazení a snižuje dobu zotavení po fyzické námaze. Největší vliv má na deprese a stres, ale bude i zmínka o Alzheimerově chorobě, cévní mozkové příhodě nebo například o oxidačním stresu [18, 19, 28, 29, 30].

Alzheimerova choroba

Oxidační stres (viz níže) může být příčinou celé řady chorob, jako je například Alzheimerova choroba (AD). Tato velmi zákeřná nemoc se objevuje převážně u starších lidí a způsobuje demenci, která vede k úplné neschopnosti až smrti. Přibývajícím věkem rovněž hraje velkou roli v existenci AD. Je třeba ovšem brát ohled na životosprávu, obezitu, cukrovku a další faktory daného jedince. První případ AD byl zaznamenán roku 1907 u 51leté ženy pocházející z Německa. Od té doby došlo k velkému rozvoji v hledání léku a příčin této choroby, ale i přesto si stále nese název

„neléčitelná“. Jsou však nejrůznější studie, které poukazují na to, že jistým trénováním lze tuto nemoc aspoň z části korigovat, či prodloužit dobu soběstačnosti. *„Z histopatologického pohledu je AD charakterizována přítomností extracelulárních amyloidových plátů obsahujících agregovaný amyloid β a intracelulární neurofibrilární spletnice obsahující hyperfosforylovaný tau protein.“*³¹ Právě zvýšená produkce ROS (reaktivních forem kyslíku) a RNS (reaktivních forem dusíku) způsobuje oxidační stres, který vyúsťuje v buněčnou smrt nervových tkání v mozku. To je důvodem, proč se celá řada vědců a doktorů po celém světě snaží najít lék proti AD na bázi antioxidantu [31, 32].

Deprese

Deprese je choroba psychického rázu, která postihuje velkou řadu lidí po celém světě a každým dnem roste. Ročně jí trpí přes více než 350 miliónů lidí. Mezi nejčastější symptomy se řadí: depresivní nálada, pocit viny, ztráta nadšení a zájmu, nízké sebevědomí, nespavost, vyčerpanost, špatná pozornost a problém příjmu potravin. *„Je výsledkem interakce nervově-endokrinně-imunologického systému. Avšak jeho patofyziologické mechanismy nejsou stále objasněny.“*²⁵ Je pravdou, že antidepresiva se jeví jako účinná, avšak je snaha najít alternativní lék, který nebude vyvolávat vedlejší účinky a bude obdobně napomáhat v boji proti depresi. Rozchodnice růžová se jeví jako vhodný kandidát. Řadí se do skupiny adaptogenů, což jsou modifikátory reakcí na stres, které zvyšují nescifickou odolnost proti stresu, a tím zvyšují schopnost těmto změnám odolávat. Některé aktivní látky, které jsou v ní přítomny, stimulují mozek a zvyšují hladinu koncentrace neurotransmiterů (serotonin, acetylcholin, dopamin a noradrenalin). Serotonin (5H-T), je neurotransmitter, který je s depresí nejvíce spojován a snížením jeho receptorů by mohlo vést k vysvětlení mechanismu této choroby [25, 29, 33].

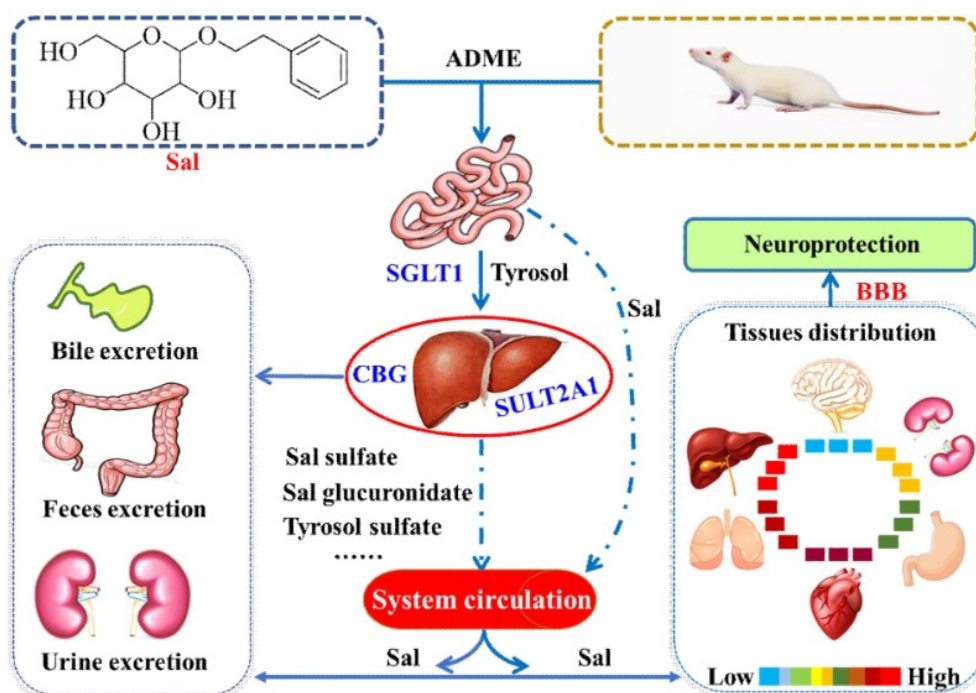
Stres

S depresí je úzce spojen stres. Lidé v dnešní době žijí v neustálém shonu. Ať už je to způsobeno školou, prací, zodpovědností za své děti, obava o své blízké či finance, jsou lidé v neustálém stresu a napětí. Několik studií prokázalo, že stres se může značně podílet na řadě nemocí a chorob. Jeho potlačením se tedy vyvarujeme nejrůznějším onemocněním. Je pravda, že svoji roli má i genetická předpověď, ale správná životospráva může značně pomoci při boji s potenciální chorobou. Ať už je to konzumace alkoholických nápojů, kouření cigaret, nedostatečný pohyb, nedostatek

spánku či psychická nevyrovnanost rozhodně na tělo mít pozitivní vliv nebude. Biologicky aktivní látky rostliny zmírňují symptomy každodenního stresu. Bylo zjištěno, že v rozchodnici obsažený rosalin vykazuje největší antistresové účinky [34]. Největšímu stresu jsou vystaveni studenti, kteří musí čelit celé řadě stresorů během svého studia. Právě na nich byly prováděny nejrůznější výzkumy ke studiu stresu a nervozity. Pozitivní výsledky byly viditelné už po třech dnech užívání extraktu z rozchodnice [29, 34].

Cévní mozková příhoda

S nervovou soustavou úzce souvisí cévní mozková příhoda, která postihuje hlavně lidi staršího věku. Vyvolává závažné neuronální příznaky, jako je neuronální smrt, poškození či zánět. Je založena na trombektomii (odstranění krevní sraženiny pod vedením zobrazovacích metod). S požitím extraktu rozchodnice souvisí čtyři fáze, tzv. ADME (absorpce, distribuce, metabolismus a eliminace, obr. 13). Po absorpci, ať už orálně či intravenózně, následuje distribuce salidroside. Jako cílový orgán jsou považována játra, kde dochází i k jeho největší akumulaci. Se zvýšenou hodnotou akumulace se setkáváme také v srdci, plicích, ledvinách a žaludku, tedy v orgánech s bohatým průtokem krve. Po několika studiích bylo prokázáno, že salidroside velmi těžko prostupuje hematoencefalickou bariérou. Tady nás může napadnout otázka: Jak je možné, že působí na nervovou soustavu a na mozek samotný? S mozkem jsou spojeny dva významné orgány – játra a ledviny. A zprostředkovatelem mezi nimi je v tomto případě krev. To je důvod, proč v některých studiích bylo prokázáno, že poškození jater souvisí s mozkovým edémem a dysfunkce ledvin způsobuje oxidační stres ovlivňující především mozek. Salidroside je tedy absorbován a prochází gastrointestinálním traktem, kde se transformuje na p-tyrosol a další metabolity. Ty se dostávají do jater a jsou distribuovány do dalších tkání (především do mozku). V poslední fázi je více než polovina látky vyloučena močí. Může se zdát, že by rozchodnice růžová mohla efektivně sloužit jako lék proti mozkové příhodě, avšak stále chybí více důkazů a výzkumů, které by toto tvrzení potvrdily [35].



Obr. 13 - Koloběh salidosidu v těle [35]

Oxidační stres

Častou příčinou poškození či smrti buněk je oxidační stres. Tím, že salidosid tento stres snižuje, potlačuje jejich apoptózu a degradaci. Tato schopnost byla implikována v procesu stárnutí a i právě výše zmíněných neurodegenerativních poruch. Problém tvoří radikály ROS a RNS. Například peroxid vodíku (H_2O_2), který je produkován během redoxního procesu, má sílu i na poškození DNA, protože vyvolává jejich apoptózu. Díky příjmu antioxidantů a upravené stravě se tomuto však může zabránit nebo alespoň potlačit. Mechanismy reakcí, především na buněčné úrovni, jsou stále nejasné [26, 31].

3.2.5.2 Protirakovinné účinky

Nejčastěji postihuje rakovina starší lidi a to v oblasti prostaty, plic, tlustého střeva, slinivky, močového měchýře a prsu. S nástupem 21. století se však tato nemoc velmi rozšířila a postihuje nejen lidi staršího věku, ale i mladistvé. Jak už bylo zmíněno dříve, lidé žijí ve větším stresu než v minulosti. Na studenty je kladen větší nátlak, obdobně jako na zaměstnance ve firmě. A právě stres může hrát zásadní roli při této nemoci. Mnoho případů rakoviny se projevilo po pár letech na základě nervového vypjetí v práci, rodině či škole. Je to zapříčiněno způsobem života, kterým v tomto století žijeme. Salidosid by mohl být potenciálním léčivem této nemoci, protože

vykazuje značnou protirakovinnou aktivitu. Tvrzení, že rozchodnice růžová by mohla být léčivem rakoviny je předčasné. Panuje zde totiž celá řada nejasností a nepřesností. Faktem zůstává, že výzkumy prokázaly inhibici tvorby nádorů a také potlačení metastáz. Dokázal tedy prodloužit dobu přežití daného jedince. Dnešní léčba rakoviny zahrnuje 3 stádia: chirurgickou operaci, chemoterapii a ozařování. Cílem této léčby je snížit tvorbu rakovinných buněk a tím předejít úmrtí jedince popřípadě zlepšit kvalitu života. Jak je již známo, s touto nemocí si není radno zahrávat a není na ni zatím vyvinut stoprocentní lék. Není pravidlem, že výše zmíněná stádia léčby mají pozitivní výsledky. Na celou řadu lidí se může projevit jako neúčinná a proto zkouší i tzv. adjuvantní chemoterapii, která využívá přírodních látek, tzv. přírodních adaptogenů, k léčbě této zákeřné nemoci. Navíc většina chemoterapeutických látek jsou hematotoxické (snižují počet krevních buněk v kostní dřeni) nebo hepatotoxické (poškozují játra). Tyto nežádoucí účinky byly po podání extraktu rozchodnice výrazně potlačeny. V závěru je potřeba zmínit, že salidrosid inhibuje tvorbu nádorů a navíc zmírňuje vedlejší účinky při jejich léčbě pomocí ozařování. S pojmenováním „léku“ bychom však měli ještě vyčkat [16, 19, 28, 36].

3.2.5.3 Kardioprotektivní účinky

Kardiovaskulární onemocnění jsou nejčastější příčinou smrti po celé zemi. Jejich hlavním činitelem je ateroskleróza, kde se jedná o „*chronické progresivní onemocnění cévních stěn*.“³⁷ Hlavní roli při vývoji a progresi aterosklerózy hraje zánět. Mezi nejčastější kardiovaskulární onemocnění se řadí mozková mrtvice, ischemická choroba srdeční, arytmie, trombóza, plicní embolie a mnoho dalších. Několik výzkumů prokázalo, že salidrosid zlepšuje funkci srdce a chrání ho před poškozením tím, že se daný stres snaží potlačit [19, 28, 37].

3.2.5.4 Astma

Jedná se o nejčastější chronickou zánětlivou chorobu dnešní doby, která postihuje 12-15 % obyvatelstva. Bez odborné pomoci může dojít až ke smrti. Doposud nebyl objeven spolehlivý lék, avšak existují různé medikamenty, které potlačují účinky astmatu. Častou příčinou je zde dědičnost doprovázená zvýšenou infiltrací leukocytů, jako jsou eozinofily, a sekrecí hlenu do dýchacích cest. Ukazuje se, že rozchodnice by mohla sloužit jako potenciální lék při léčbě této choroby [38, 39].

3.2.5.5 Antivirové účinky

V lednu roku 2020 postihl celý svět virus, zvaný jako covid-19, neboli SARS-CoV-2. Patří do skupiny *Coronaviridae*, což jsou obalené viry s jednořetězcovou RNA, které jsou zodpovědné i za běžné nachlazení. Do této skupiny se dále řadí známý SARS (těžký akutní respirační syndrom), MERS-CoV (středovýchodní respirační syndrom). Covid-19, který je stále dost aktuální, postihuje především dýchací soustavu a gastrointestinální trakt. Mezi nejčastější příznaky se jeví: horečka, ztráta čichu nebo chuti, problémy s dýcháním, únava, bolest očí a vyrážka na těle. Způsob jeho rozmnožování spočívá v sedmi krocích:

1. vazba virionu na povrch hostitelské buňky,
2. průnik do buňky,
3. uvolnění nukleové kyseliny,
4. replikace virové nukleové kyseliny,
5. syntéza virových proteinů,
6. jejich maturace,
7. uvolnění z buňky [40, 41, 42, 43].

Remdesivir je prekurzorem analogu ATP (adenosintrifosfátu), který působí přímo na virus k zastavení jeho množení. Jeho užití je však rizikové, protože poškozuje játra a ledviny. Proto se řada vědců po celém světě snaží využít přírodních rostlinných adaptogenů, které zvyšují imunitní odpověď na viry. Jedním z nich je rozchodnice růžová, která se osvědčila svými antivirovými účinky obdobně jako Remdesivir, ale nevykazuje nepříznivé vedlejší účinky. Je potřeba si uvědomit, že zmiňovaná rostlina pouze napomáhá zvýšit imunitu proti replikaci viru, nikoliv jeho množení přímo zastavit [43].

3.3 Současné metody analýzy rostliny a jejich produktů

Při výběru vhodné metody pro chemickou analýzu rozchodnice růžové vycházíme z jejího fytochemického složení. Vzhledem k tomu, že se jedná o komplexní vzorek, převažují separační metody. Hojně se využívá extrakce, která slouží pro přípravu vzorků z této rostliny. Mezi nejčastější instrumentální separační techniky se řadí vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) [24, 44, 45, 46, 47, 48] nejčastěji v kombinaci s detektorem diodového pole [24], popřípadě s detektorem elektrochemickým. Z elektromigračních metod se využívá kapilární elektroforéza [49]. Existuje článek zabývající se analýzou rostliny pomocí NMR techniky [44]. Vzhledem ke skutečnosti, že v rostlině je celá řada látek, které jsou elektrochemicky aktivní, připadá do úvahy rovněž použití elektrochemické techniky.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Úvod

Byly zakoupeny dva produkty výše zmíněné rozchodnice růžové. První z nich (obr. 14) byl testován mnou po dobu tří měsíců. Jedná se o formu prášku, kdy se na zhruba 0,1 g rozmíchá v dostatečném množství vody a vypije. Už po 14 dnech užívání se mi výrazně zlepšila kvalita i délka spánku a cítila jsem se celkově v lepší psychické kondici. Druhý zakoupený produkt (obr. 15) byl užíván dalším rodinným příslušníkem. V tomto případě se jednalo o extrakt z rostliny, který se konzumoval ve formě tablety (500 mg). Zpočátku se to u daného jedince projevovalo naopak. Cítil se velmi unavený, ale postupem času se kvalita spánku taktéž zlepšila. Další část spočívala v analýze těchto produktů pomocí HPLC techniky v kombinaci se spektrometrickým detektorem diodového pole, jejich vzájemné porovnání a následná příprava domácí tinktury ze sušené rostliny.



Obr. 14 - První zakoupený produkt, *Rhodiola Naturalis* ve formě prášku [foto autora]



Obr. 15 – Druhý zakoupený produkt, rozchodnice růžová ve formě extraktu v jedlé kapsli [foto autora]

4.2 Chemikálie

- Rhodiola Naturalis, doplněk stravy (výrobce: Gloobe corp. s.r.o., země původu: Rusko)
- Rhodiola rosea extrakt, doplněk stravy (výrobce Allnature, s.r.o., země původu: Čína)
- deionizovaná voda
- methanol (HPLC gradient grade, Fisher Scientific, UK)
- potravinářský ethanol (PENTA, Česká republika)
- acetonitril (HPLC gradient grade, Fisher Scientific, UK)

4.3 Experimentální vybavení

- vanička
- analytická váha
- lžička
- špachtle
- uzavíratelná umělohmotná nádobka
- ultrazvuková lázeň
- automatické pipety spolu s pipetovacími nástavci
- ependorfky
- centrifuga
- injekční stříkačka
- 0,2 μm stříkačkový filtr
- vialky
- kádinky
- parafilm
- krabička

4.4 Zpracování vzorku k analýze

Při navrhování způsobu zpracování vzorků a jejich následné analýzy se vycházelo z více literárních zdrojů tak, aby výsledný postup co nejlépe reflektoval zamýšlený účel. Nejdříve je třeba si navázat potřebné množství vzorku. K němu bylo přidáváno extrakční činidlo ve formě alkoholu (nejčastěji 70%) [24, 44, 45, 50] V našem případě se využilo 70% MetOH [44]. Poté byl vzorek umístěn do ultrazvukové lázně a nechal se extrahovat po dobu 30 minut [44, 45, 50]. Následovala centrifugace při 10 000 otáčkách za minutu po dobu 30 minut [45, 46, 51]. Dále byl odebrán

supernatant, který byl opět centrifugován za stejných podmínek [46]. Na závěr byla provedena filtrace přes injekční filtry [44]. Tímto je vzorek izolován a připraven k následné analýze.

Postup extrakce: Od každého produktu bylo naváženo 400 mg. Oba vzorky byly umístěny zvlášť do umělohmotné nádoby a ke každému bylo přidáno 10 ml extrakčního činidla MetOH:H₂O (3:7, v/v). Mezitím bylo připraveno 100 ml MF ACN:H₂O (15:85, v/v), které bylo odplyněno pomocí helia. Následně byly vzorky extrahovány v ultrazvukové lázni po dobu 30 minut. Od každého vzorku byl odebrán 1 ml supernatantu, který byl následně umístěn do ependorfy a podroben centrifugaci při 10 000 otáčkách za minutu po dobu 5 minut. Poté bylo odebráno 0,3 ml supernatantu a opět bylo centrifugováno za stejných podmínek. Dále byla nutná filtrace. K tomu bylo využito injekčních stříkaček, ze kterých byl odebrán píst a nasazen 0,2 µm stříkačkový filtr. 0,3 ml vzorku bylo přelito do injekční stříkačky, nasazen píst a jeho stlačením došlo k filtraci veškerého vloženého množství. Vzorky byly 10x zředěny (na 0,1 ml vzorku připadalo 0,9 ml MF). Výsledná tekutina byla umístěna do vialky, kde byla připravena k následné analýze pomocí HPLC.

Postup macerace: Bylo naváženo 4,5 g sušené rostliny (první zakoupený produkt) a ten byl následně převrstven vodným roztokem EtOH (1:1, v/v). Výsledná směs byla umístěna do uzavíratelné umělohmotné nádoby a utěsněna parafilmem. Poté byla nádoba umístěna do krabičky a ponechána ve tmě po dobu 5 týdnů. Po uvedené době byl odebrán 1 ml vzorku a podroben centrifugaci za stejných podmínek jako v případě extrakce. Poté byl vzorek 10x zředěn roztokem MF ACN:H₂O (15:85, v/v). 150 µl vzorku bylo izolováno a připraveno k analýze.

4.5 Analýza

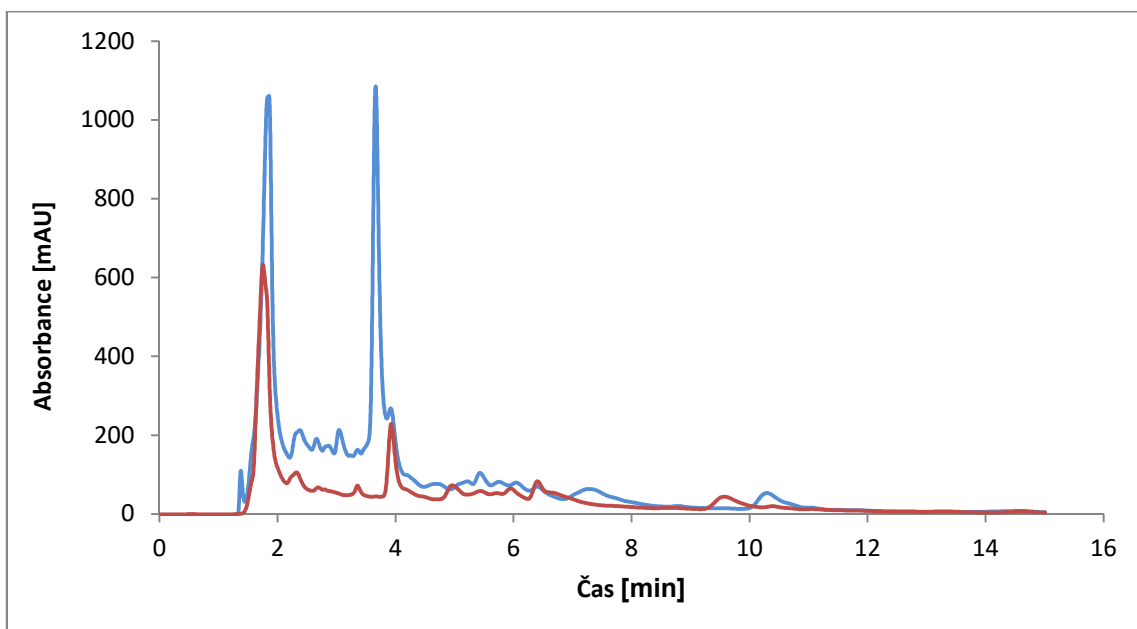
Vzorky připravené dle výše uvedených postupů (kap. 5.4) jsou vhodné k přímé chemické analýze. Vialky byly umístěny do autosampleru, kde byly následně podrobeny analýze pomocí instrumentální techniky HPLC v kombinaci se spektrometrickým detektorem diodového pole. V obou případech byly použity stejné pracovní podmínky.

Pracovní podmínky:

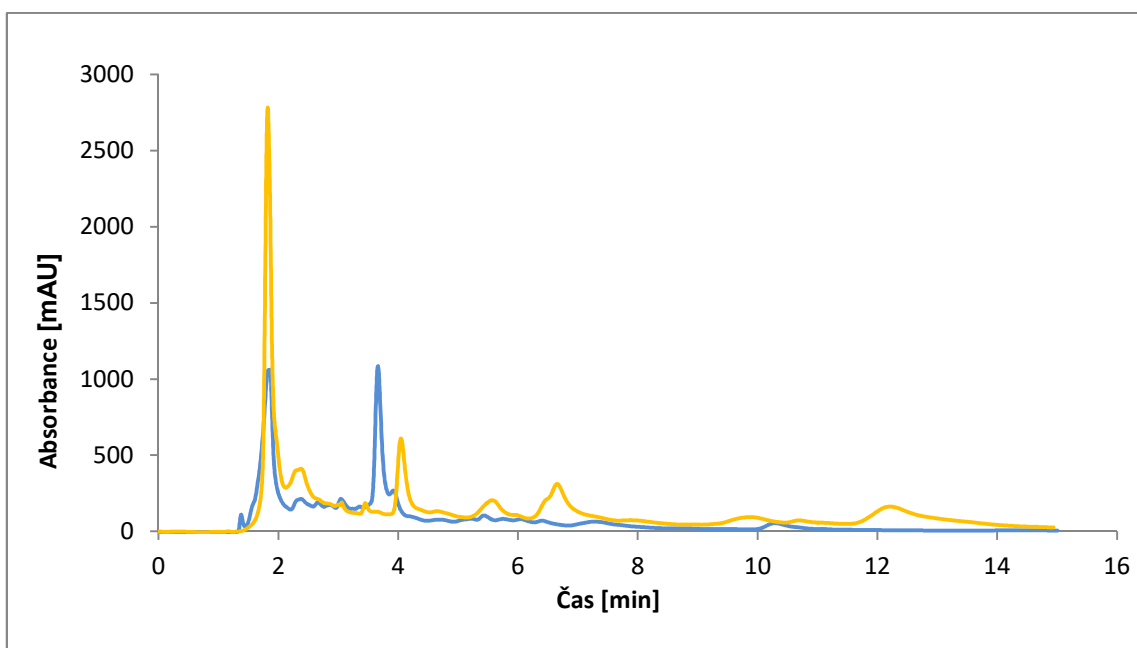
- MF: ACN:H₂O (15:85, v/v)
- kolona C₈ NUCLEODUR GRAVITY (MACHEREY NAGEL) s předkolonkou
- kolona termostatována na 35°C

- průtok: 200 $\mu\text{l}/\text{min}$
- měření při vlnových délkách: 210 nm, 254 nm, 280 nm, 320 nm
- nástřik vzorku: 5 μl

4.6 Výsledky a diskuze



Obr. 16 - Výsledný chromatogram dvou komerčně zakoupených produktů měřených při 210 nm za výše uvedených podmínek: první zakoupený produkt ve formě 100% sušeného kofene (červená), druhý zakoupený produkt ve formě extraktu v jedlé tabletě (modrá)



Obr. 17 - Výsledný chromatogram domácí tinktury (žlutá) a zakoupeného extraktu (modrá) měřených při 210 nm za výše uvedených podmínek

Přestože bylo měřeno při čtyřech různých vlnových délkách (viz kap. 4. 5) analýzy při 250, 280 a 320 nm nejsou uváděny. Důvodem je, že vzorek měřený při 210 nm je nejméně selektivní, tudíž nám poskytuje nejvhodnější výsledky. Smyslem této práce nebyla kvalitativní ani kvantitativní charakterizace, ale pouhý screening dvou odlišných produktů. I ze screeningového chromatogramu (obr. 16) je patrné, že v případě produktu ve formě extraktu je jeden neznámý pík navíc. Je pravděpodobné, že daná látka byla přidána v průběhu výroby. Kvůli nedostačujícím informacím o výrobku však nejsme schopni tuhle teorií potvrdit, popřípadě ani vyvrátit. Z obr. 16 je dále patrné, že sušený kořen rostliny je méně koncentrovaný než zakoupený extrakt.

Pro další porovnání bylo vhodné připravit domácí tinkturu ze sušeného kořene. Při její přípravě byla zohledněna i snadnost provedení v domácích podmínkách. I z tohoto důvodu byl nahrazen toxický methanol vodným roztokem ethanolu. Při délece macerace bylo vycházeno z doporučené doby herbalistů, tedy 4–5 týdnů [21]. Již na první pohled šlo očekávat výrazně vyšší koncentrace vyextrahovaných látek (díky silně tmavému zbarvení), což se také potvrdilo v následné analýze pomocí HPLC (obr. 17). V obou případech byl vzorek podroben analýze HPLC v kombinaci se spektrometrickým detektorem diodového pole pro lepší charakterizaci.

5 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo podat čtenářům širší informace o nepříliš známé rostlině rozchodnice růžové (*Rhodiola rosea*), která je však po staletí hojně využívána v tradiční východní medicíně. Byl navrhnout vhodný postup k analýze této rostliny pomocí HPLC v kombinaci se spektrometrickým detektorem. Výsledky analýz poukázaly na fakt, že v případě prvního zakoupeného produktu, který obsahoval sušený kořen ve formě prášku, je koncentrace dle očekávání nižší, než jaká je v případě druhého zakoupeného produktu ve formě extraktu.

V dalším kroku byla ze sušené rostliny ve formě prášku připravena klasickým maceračním postupem vlastní lihová tinktura, která byla následně analyzována metodou HPLC. V závěru této analýzy se ukázalo, že koncentrace vyextrahovaných látek z domácí tinktury je ještě větší v porovnání se zakoupeným extraktem. Z toho vyplývá, že ideální je si danou tinkturu z rostliny připravit sám, protože v takovém případě může daný léčebný efekt překonat komerční výrobky. V případě zakoupení některého produktu z rostliny je dobré se zaměřit na to, v jaké formě daný produkt je. I tento faktor může mít ve výsledku velký dopad na velikost účinku.

Tato práce by rovněž mohla být užitečná komukoli, kdo se zajímá o studovanou problematiku a měla by poskytnout základní a ucelený přehled nejen o terapeutických i fytochemických vlastnostech a využití rozchodnice, ale také o tradiční čínské medicíně, která je s touto rostlinou spojována nejvíce.

6 PŘEHLED POUŽITÝCH ZKRATEK

ACN	Acetonitril
AD	Alzheimerova choroba
ADME	Absorpce, distribuce, metabolismus a eliminace
ATP	Adenosintrifosfát
EtOH	Ethanol
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
MetOH	Methanol
MF	Mobilní fáze
NMR	Nukleární magnetická rezonance
RNS	Reaktivní formy dusíku
ROS	Reaktivní formy kyslíku
TCM	Tradiční čínská medicína

7 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] L. Bremness, A. Brumovská, J. Dow, N. Hall, L. Harrison, O. Kratochvílová, V. Větvíčka, Dějiny bylinkářství, v knize: Bylinář: Zdraví, krása a radost, Fortuna Print, Praha 1994, 238–240.
- [2] A. Cuerrier, K. Ampong-Nyarko, *Rhodiola rosea*, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton 2015.
- [3] <https://www.tcm.cz/o-skole/historie/historie-tcm-v-ceskych-zemich>, staženo 6. dubna 2021.
- [4] <https://www.britannica.com/science/traditional-Chinese-medicine/Final-period>, staženo 6. dubna 2021.
- [5] J.-Ch. Hong, M.-Y. Hwang, Y.-J. Chen, M.-Y. Chen, L.-Ch. Liu, Using eight trigrams (BaGua) approach with epistemological practice to vitalize problem-solving processes: A confirmatory analysis of R&D managers, *Thinking Skills and Creativity* 7 (2012) 187–191.
- [6] https://cs.wikipedia.org/wiki/Osm_trigram%C5%AF, staženo 21. dubna 2021.
- [7] <https://www.villageremedies.com/blog-articles/traditional-chinese-medicine-a-brief-history>, staženo 6. dubna 2021.
- [8] <https://cz.pinterest.com/pin/650629477420458329/visual-search/>, staženo 21. dubna 2021.
- [9] <https://www.nms.ac.uk/explore-our-collections/stories/world-cultures/oracle-bones/>, staženo 21. dubna 2021.
- [10] <https://www.actcm.edu/chinese-medicine>, staženo 6. dubna 2021.
- [11] <https://www.tcm-cs.com/foto/cz/556/>, staženo 21. dubna 2021.
- [12] <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2008-225#p4>, staženo 6. dubna 2021.
- [13] <https://www.sagit.cz/info/sb18058>, staženo 6. dubna 2021.
- [14] https://cs.wikipedia.org/wiki/Zdravotn%C3%AD_tvrzen%C3%AD, staženo 6. dubna 2021.
- [15] <https://www.celostnimediceina.cz/doporucene-davkovani-vitaminu-a-potravinovych-doplнку-rndr-petr-fort-csc.htm>, staženo 6. dubna 2021.
- [16] G. S. Kelly, *Rhodiola rosea*: A Possible Plant Adaptogen, *Alternative Medicine Review* 6 (2001) 293–302.
- [17] <https://cs.wikipedia.org/wiki/Rozchodnice>, staženo 6. dubna 2021.

- [18] J. Juřica, T. Koupá, Rozchodnice růžová a její neuropsychotropní účinky, Česká a slovenská farmacie 65 (2016) 87–93.
- [19] F. Khanum, A. S. Bawa, B. Singh, *Rhodiola rosea*: A Versatile Adaptogen, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 4 (2005) 55–62.
- [20] <https://www.serafinbyliny.cz/herbar/rozchodnice-ruzova-detail-1431>, staženo 6. dubna 2021.
- [21] S. H. Buhner, *Přírodní antibiotika: alternativní způsob léčby*, Knižní klub, Praha 2014, 315–324.
- [22] <https://cz.pinterest.com/pin/431993789260931217/visual-search/>, staženo 21. dubna 2021.
- [23] <https://cz.pinterest.com/pin/117023290289405388/>, staženo 21. dubna 2021.
- [24] A. Panossian, G. Wikman, J. Sarris, *Rosenroot (Rhodiola rosea): Traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy*, *Phytomedicine* 17 (2010) 481–493.
- [25] Q. G. Chen, Y. S. Zeng, Z. Q. Qu, J. Y. Tang, Y. J. Qin, P. Chung, R. Wong, U. Hägg, The effects of *Rhodiola rosea* extract on 5-HT level, cell proliferation and quantity of neurons at cerebral hippocampus of depressive rats, *Phytomedicine* 16 (2009) 830–831.
- [26] L. Zhang, H. Yu, Y. Sun, X. Lin, B. Chen, Ch. Tan, G. Cao, Z. Wang, Protective effects of salidroside on hydrogen peroxide-induced apoptosis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells, *European Journal of Pharmacology* 564 (2007) 18–19.
- [27] X. Lin, Y. Liu, L. Ma, X. Ma, Z. Chen, H. Chen, L. Si, X. Ma, Z. Yu, X. Chen, Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by *Rhodiola rosea*, a natural adaptogen, *Biomedicine & Pharmacotherapy* 125 (2020) 1–2.
- [28] W.-L. Pu, M.-Y. Zhang, R.-Y. Bai, L.-K. Sun, W.-H. Li, Y.-L. Yu, Y. Zhang, L. Song, Z.-X. Wang, Y.-F. Peng, H. Shi, K. Zhou, T.-X. Li, Anti-inflammatory effects of *Rhodiola rosea* L.: A review, *Biomedicine & Pharmacotherapy* 121 (2020) 1–10.
- [29] C. Concerto, C. Infortuna, M. R. A. Muscatello, A. Bruno, R. Zoccali, E. Chusid, E. Aguglia, F. Battaglia, Exploring the effect of adaptogenic *Rhodiola Rosea* extract on neuroplasticity in humans, *Complementary Therapies in Medicine*, 41 (2018) 141–142.

- [30] S. E. Schriener, A. Avanesian, Y. Liu, H. Luesch, M. Jafari, Protection of human cultured cells against oxidative stress by *Rhodiola rosea* without activation of antioxidant defenses, *Free Radical Biology and Medicine* 47 (2009) 577–578.
- [31] S. F. Nabavi, N. Braidy, I. E. Orhan, A. Badiie, M. Daglia, S. M. Nabavi, *Rhodiola rosea* L. and Alzheimer's Disease: From Farm to Pharmacy, *Phytotherapy Research* 30 (2016) 532–539.
- [32] Z.-Q. Qu, Y. Zhou, Y.-S. Zeng, Y. Li, P. Chung, Pretreatment with *Rhodiola Rosea* Extract Reduces Cognitive Impairment Induced by Intracerebroventricular Streptozotocin in Rats: Implication of Anti-oxidative and Neuroprotective Effects, *Biomedical and Environmental Sciences* 22 (2009) 318–319.
- [33] L. Gao, Ch. Wu, Y. Liao, J. Wang, Antidepressants effects of *Rhodiola* capsule combined with sertraline for major depressive disorder: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial, *Journal of Affective Disorders* 265 (2020) 99–103.
- [34] M. Cropley, A. P. Banks, J. Boyle, The Effects of *Rhodiola rosea* L. Extract on Anxiety, Stress, Cognition and Other Mood Symptoms, *Phytotherapy Research* 29 (2015) 1934–1939.
- [35] F. Fan, L. Yang, R. Li, X. Zou, N. Li, X. Meng, Y. Zhang, X. Wang, Salidroside as a potential neuroprotective agent for ischemic stroke: a review of sources, pharmacokinetics, mechanism and safety, *Biomedicine & Pharmacotherapy* 129 (2020) 1–19.
- [36] X. Zhang, J. Zhu, J. Yan, Y. Xiao, R. Yang, R. Huang, J. Zhou, Z. Wang, W. Xiao, C. Zheng, Y. Wang, Systems pharmacology unravels the synergic target space and therapeutic potential of *Rhodiola rosea* L. for non-small cell lung cancer, *Phytomedicine* 79 (2020) 1-2.
- [37] <https://www.wikiskripta.eu/w/Ateroskler%C3%B3za>, staženo 21. dubna 2021.
- [38] <http://www.alphega-lekarna.cz/bronchialni-astma.-je-duvodem-astmatu-az-prilis-hygienicke-prostredi->, staženo 6. dubna 2021.
- [39] G. H. Yan, Y. H. Choi, Salidroside Attenuates Allergic Airway Inflammation Through Negative Regulation of Nuclear Factor-Kappa B and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase, *Journal of Pharmacological Sciences* 126 (2014) 126–127.
- [40] <https://cs.wikipedia.org/wiki/Koronavirus>, staženo 21. dubna 2021.
- [41] <https://www.nzip.cz/clanek/447-covid-19-zakladni-informace>, staženo 21. dubna 2021.

- [42] S. Rozsypal a kolektiv autorů, Nový přehled biologie, Scientia, Praha 2003, 579–604.
- [43] G. Panckaj, S. Preeti, V. Khushbu, Remdesivir break replication of virus & Rhodiola rosea acts same by enhancing immunity, Internation Journal of Scientific and Engineering Research 11 (2020) 817–825.
- [44] A. S. Marchev, I. Y. Aneva, I. K. Koycheva, M. I. Georgiev, Phytochemical variations of Rhodiola rosea L. wild-grown in Bulgaria, Phytochemistry Letters 20 (2017) 386–390.
- [45] I. Mirmazloum, M. Ladányi, Z. György, Changes in the Content of the Glycosides, Aglycons and their Possible Precursors of Rhodiola rosea during the Vegetation Period, Natural Product Communications 10 (2015) 1413–1416.
- [46] B. Avula, Y. Wang, Z. Ali, T. J. Smillie, V. Filion, A. Cuerrier, J. T. Arnason, I. A. Khan, RP-HPLC determination of phenylalkanoids and monoterpenoids in Rhodiola rosea and identification by LC-ESI-TOF, Biomedical Chromatography 23 (2009) 865–872.
- [47] Y. Peng, J. Luo, Q. Lu, X. Chen, Y. Xie, L. Chen, W. Yang, S. Du, HPLC analysis, semi-preparative HPLC preparation and identification of three impurities in salidroside bulk drug, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 49 (2009) 828–832.
- [48] Y. Mao, Y. Li, N. Yao, Simultaneous determination of salidroside and tyrosol in extracts of Rhodiola L. by microwave assisted extraction and high-performance liquid chromatography, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 45 (2007) 510–515.
- [49] B. Chen, L. Zhang, G. Chen, Determination of salidroside and tyrosol in Rhodiola by capillary electrophoresis with graphene/poly(urea-formaldehyde) composite modified electrode, Electrophoresis 32 (2011) 870–876.
- [50] A. Elameen, V. M. Kosman, M. Thomsen, O. N. Pozharitskaya, A. N. Shikov, Variability of Major Phenyletanes and Phenylpropanoids in 16-Year-Old Rhodiola rosea L. Clones in Norway, Molecules 25 (2020) 1–12.
- [51] P. Ihezor-Ejiofor, E. S. Dey, Extraction of rosavin from Rhodiola rosea root using supercritical carbon dioxide with water, The Journal of Supercritical Fluids 50 (2009) 29–32.