

**Studium
biologicky aktivních extraktů
z vybraných léčivých rostlin
pro využití
v moderním potravinářském průmyslu**

RNDr. Blanka Svobodová, Ph.D.

Teze disertační práce



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Teze disertační práce

**Studium biologicky aktivních extraktů z vybraných
léčivých rostlin pro využití v moderním
potravinářském průmyslu**

**Study of biologically active extracts from selected medicinal plants
for application in modern food industry**

Autor: **RNDr. Blanka Svobodová, Ph.D.**

Studijní program: P 2901 Chemie a technologie potravin

Studijní obor: 2901V013 Technologie potravin

Školitel: prof. RNDr. Vlastimil Kubáň, DrSc.

Oponenti: prof. RNDr. Irena Valterová CSc.
prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc.
doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.

Zlín, leden 2021

© RNDr. Blanka Svobodová, Ph.D.

Vydala **Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně** v edici **Doctoral Thesis Summary**.
Publikace byla vydána v roce 2021.

Klíčová slova: Solanum stramonifolium, Momordica charantia, antimikrobiální aktivita, antioxidační aktivita, protizánětlivá aktivita, antikarcinogenní aktivita, toxicita, fenolické látky, fortifikace potravin.

Key words: Solanum stramonifolium, Momordica charantia, antimicrobial activity, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, anticarcinogenic activity, toxicity, phenolic compounds, food fortification.

Plná verze disertační práce je dostupná v Knihovně UTB ve Zlíně.

ISBN 978-80-7454-906-9

ABSTRAKT

Hlavním cílem této disertační práce bylo studium málo prozkoumaných léčivých rostlin z tropického pásma, a to z pohledu možného využití obsažených biologicky aktivních látek v moderním potravinářství. Díky rostoucímu zájmu konzumentů o funkční potraviny obohacené o přírodní složky, přispívající k udržení zdraví a prevenci civilizačních chorob, stejně jako tlaku na výrobce kvůli zajištění bezpečnosti potravin proti mikrobiální kontaminaci a prodloužení jejich trvanlivosti pomocí přidaných přírodních antioxidantů, se otevřel zcela nový trh v moderním potravinářství.

Testovány byly rostliny *Momordica charantia* L. (nadzemní část) a *Solanum stramonifolium* Jacq. (kořen, stonek, plod, list). Extrakty připravené v 80% ethanolu byly podrobeny sérii standardních testů biologické aktivity (antioxidační, protizánětlivá, antikarcinogenní, antimikrobiální) a jejich možná toxicita byla hodnocena testem na primární buněčné linii PLP2. V rámci antimikrobiální aktivity byl sledován jak účinek proti běžným patogenům, tak proti rezistentním kmenům. Pomocí metody LC–MS byly identifikovány přítomné látky, které by mohly být zodpovědné za silný biologický účinek extraktů, a to především s důrazem na fenolické látky, jež jsou známy svou výraznou biologickou aktivitou. Jednalo se především o deriváty kyseliny hydroxyskořicové a glykosyly kvercetinu, kaempferolu a isorhamnetinu.

ABSTRACT

The aim of this work was to study medicinal plants from the tropical region that are scarcely investigated, for the possible application of their biologically active compounds in the modern food industry. The increasing interest of consumers in functional foods fortified by natural ingredients providing a health benefit and civilization diseases prevention, as well as the pressure on producers concerning the food safety against microbial contamination and prolonged shelf-life using natural antioxidants, opened a new market in modern food industry.

Aerial parts of *Momordica charantia* L. and leaves, stems, fruits, and roots of *Solanum stramonifolium* Jacq. were tested. Extracts prepared in 80% ethanol were submitted to the biological activity screening (antioxidant, anti-inflammatory, antitumor and antimicrobial) and their toxicity was evaluated in primal cell line test with PLP2. As part of the antimicrobial activity screening, the inhibition of both sensitive and resistant pathogenic bacteria was studied. The identification of the phenolic compounds present in the crude extracts was performed by liquid chromatography-mass spectrometry method (LC-MS) in order to determine the molecules responsible for the strong biological effect and already attributed to significant biological activity. The present structures were mainly the derivatives of hydroxycinnamic acid and glycosylated derivatives of quercetin, kaempferol, and isorhamnetin.

OBSAH

ABSTRAKT	3
ABSTRACT	4
1. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	6
1.1 Biologicky aktivní látky v moderním potravinářství.....	6
1.2 Zdroje biologicky aktivních látek	6
1.2.1 <i>Momordica charantia</i> L.....	7
1.2.2 <i>Solanum stramonifolium</i> Jacq.....	8
1.3 Testování biologické aktivity	10
2. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE	11
3. ZVOLENÉ METODY ZPRACOVÁNÍ.....	12
3.1 Původ rostlinného materiálu a extrakce	12
3.2 Testy biologické aktivity	12
3.2.1 Antibakteriální aktivita.....	12
3.2.2 Antioxidační aktivita	12
3.2.3 Protizánětlivá aktivita	13
3.2.4 Antikarcinogenní aktivita	13
3.3 LC-MS analýza přítomných látek	14
3.3.1 Fenolické látky	14
3.4 Statistická analýza dat	14
4. VYBRANÉ VÝSLEDKY	15
4.1 LC-MS analýza	16
4.2 Biologická aktivita	19
4.2.1 Antimikrobiální aktivita.....	19
4.2.2 Antioxidační aktivita	21
4.2.3 Protizánětlivá aktivita	23
4.2.4 Antikarcinogenní aktivita a cytotoxicita.....	24
5. PŘÍNOS PRÁCE PRO VĚDU A PRAXI.....	26
6. ZÁVĚR	27
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	29
SEZNAM OBRÁZKŮ	30
SEZNAM TABULEK	30
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	31
SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORA	35
ŽIVOTOPIS AUTORA.....	37

1. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Vliv stravy na lidské zdraví je známým pilířem moderní výživy a podporuje zájem o nalezení nových produktů s pozitivním fyziologickým účinkem k udržení a zlepšení zdraví člověka, zatěžovaného civilizačními vlivy, oxidačním stresem, nedostatkem pohybu a nevyváženou stravou. Jedním z nejvýznamnějších odvětví výzkumu v oblasti potravin je extrakce a charakterizace nových přírodních ingrediencí vykazujících biologickou aktivitu, jež mohou být dále přidány do funkčních potravin, které přispívají k udržení zdraví konzumenta.

V zásadě lze biologicky aktivní látky rostlinného původu definovat jako produkty sekundárního metabolismu, které rostlina využívá k přežití a obraně před biotickým i abiotickým stresem. Produkce těchto látek závisí na mnoha faktorech, např. rostlinném druhu, klimatických podmínkách nebo kompetitivnosti prostředí kolem rostliny. Mezi nejpočetnější sloučeniny se zdokumentovanou biologickou aktivitou patří především fenolické látky [1].

1.1 Biologicky aktivní látky v moderním potravinářství

Látky s prokázanou biologickou aktivitou nacházejí uplatnění v potravinářství jak z pohledu požadavků výrobce, tak spotřebitele. Zachování bezpečnosti a trvanlivosti potravinářských výrobků je legislativně a logisticky vyžadovaná nutnost výroby, zatímco zvyšující se nároky na funkčnost výrobku z hlediska jeho příznivého ovlivnění zdraví jsou iniciovány ze strany spotřebitelů zejména ve vyspělých zemích, kde snadno dostupné potraviny již dávno neplní pouze nutriční funkci. Biologicky aktivní látky lze přidávat do potravin zejména ve formě izolovaných sloučenin nebo standardizovaných extraktů a žádoucí jsou především jejich antimikrobiální a antioxidační účinky. Novým odvětvím jsou funkční potraviny, kde je očekávaný pozitivní přínos na udržení zdraví konzumenta spojen s dalšími biologickými aktivitami.

1.2 Zdroje biologicky aktivních látek

Rostlinná říše je nevyčerpatelným zdrojem sloučenin vykazujících biologickou aktivitu také ve vztahu k lidskému zdraví. Tyto látky jsou produkty sekundárního metabolismu a jsou rostlinami tvořeny k obraně (škůdci, patogenní mikroorganismy), vyrovnávání se s environmentálním stresem (UV záření, vysoké teploty), komunikaci (feromony), atd. Zejména rostliny z tropických oblastí jsou pod celoročním tlakem prostředí (nepřerušované vegetační období, vysoké teploty, silné UV záření atd.) ve kterém rostou, a kompeticí s jinými druhy rostlin, proto vykazují daleko vyšší obsah a účinnost těchto látek. Z celkového

množství cca 298 tisíc kategorizovaných rostlinných druhů bylo doposud probádáno a detailně testováno jen asi 5 až 15 % rostlin z hlediska biologické aktivity, přičemž u tropických rostlin je toto číslo ještě výrazně menší [2, 3]. Například 70 % rostlin s *in vitro* antikarcinogenním účinkem je právě z tropických oblastí [4]. Vodítkem je obvykle tradiční použití v lidovém léčitelství, na jehož základě se selektují perspektivní druhy pro další výzkum.

1.2.1 *Momordica charantia* L.

Momordica charantia L., (viz tabulka 1) lidově nazývaná hořká okurka (*bitter melon*, *bitter gourd* či *karela*) z čeledi tykvovitých (*Cucurbitaceae*), se vyskytuje v tropických a subtropických oblastech Asie, Karibiku, jižní Afriky a Jižní Ameriky, kde je také hojně kultivována pro svůj plod připomínajícím okurku, který má typicky hořkou chuť. Její divoká varianta „*M. charantia* L. wild“ se vyskytuje volně v tropickém pralese ostrova Trinidad a Tobago. Tato jednoletá, popínavá, řídce ochlupená rostlina s tenkými, pětiúhelníkovými lodyhami a dlouhými úponky, dorůstá délky až 2 m. List je pětilaločný. Plodem je typická pukající bobule (10–20 mm) kuželovitého tvaru s bradavičnatým povrchem, zbarveným světle zeleně, ve zralosti žlutě. Semena jsou hnědá nebo bílá, na povrchu obalena červeným míškem [5].

Tabulka 1 Taxonomická klasifikace rostliny *Momordica charantia* L.



Botanické zařazení	
Říše	rostliny (<i>Plantae</i>)
Podříše	cévnaté rostliny (<i>Tracheobionta</i>)
Oddělení	krytosemenné (<i>Magnoliophyta</i>)
Třída	vyšší dvouděložné (<i>Rosopsida</i>)
Řád	tykvotvaré (<i>Cucbitales</i>)
Čeď	tykvovité (<i>Cucurbitaceae</i>)
Rod	<i>Momordica</i>

Synonyma:

Cucumis argyi H.Lév., *Cucumis intermedius* M.Roem., *Momordica chinensis* Spreng., *M. elegans* Salisb., *M. indica* L., *M. muricata* Willd., *M. sinensis* Spreng., *M. thollonii* Cogn., *Sicyos fauriei* H. Lév. [1]

Lidová jména:

Trinidad: bitter melon, **Karibik, USA:** bitter gourd, balsam pear, balsam apple, **Čína:** ku gua, **Mexiko:** melo de ratón [2]

Použití v lidové medicíně:

Listy: diabetes, ekzém, horečka, hypertenze, lepra, malárie, nachlazení, poruchy menstruace, hemoroidy, rakovina, revma, rýma, spalničky, vaginitida, vnitřní parazité, záněty, žloutenka,

Kořen: afrodisiakum

[1] Tropic database, 2020; [2] Das a kol., 2009;

Rostlina je tradičně využívána zejména v podpůrné terapii diabetu. Čaj z listů se používá v různých zemích k léčbě žloutenky, hypertenze, rakoviny, revmatismu, nachlazení, malárie, zánětů, horečky, spalniček, menstruačních poruch a hubení vnitřních parazitů. Zevně je ve formě obkladů aplikována při poraněních, ekzému, lepře, hemeroidech a vaginitidě. Kořen je v Mexiku považován za silné afrodisiakum. Plod a list jsou také využívány v kulinářství k přípravě polévek a fazolových pokrmů.

M. charantia je bohatá na biologicky aktivní látky a její účinek byl ověřen více než 100 studiemi *in vitro* a několika desítkami klinických studií, zejména orientovanými na léčbu diabetu a virových infekcí [8–11].

Při studiu účinku rostliny v léčbě diabetu byly identifikovány tři hlavní skupiny látek s hypoglykemickým účinkem, a to steroidní saponiny (charantin), alkaloidy (např. momordicin) a peptidy (p–insulin, momorcharin A a B) [12]. Momorchariny vykazaly také *in vitro* antivirovou aktivitu vůči HIV viru, Herpes viru a byla u nich klinicky potvrzena inhibice guanylátcyklasy, jež se podílí na patogenezi leukémie a psoriázy. Zjištěna byla také *in vitro* antimikrobiální aktivita extraktů z plodu a listů vůči *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, atd. [13, 14].

1.2.2 *Solanum stramonifolium* Jacq.

Tato vytrvalá bylina z čeledi lilkovitých (*Solanaceae*), nazývaná také *cocochat*, *cat's balls*, pochází z tropické Střední a Jižní Ameriky a nyní roste hojně v tropických a subtropických oblastech Ameriky i Asie. Vyskytuje se jako planě rostoucí vzpřímená rostlina keřovitého vzrůstu (až 2 m) a je hustě otrněná na stonku a na spodní i horní straně velkých laločnatých listů. Plodem je malá, zcela chloupky pokrytá bobule (10–20 mm v průměru), která je v době zralosti

oranžová až červená. Zralý plod je jedlý a často vyhledávaný zejména dětmi jako sladkokyselá, planě rostoucí pochoutka [15].

Tabulka 2 Taxonomická klasifikace rostliny *Solanum stramonifolium* Jacq.



Botanické zařazení	
Říše	rostliny (<i>Plantae</i>)
Podříše	cévnaté rostliny (<i>Tracheobionta</i>)
Oddělení	krytosemenné (<i>Magnoliophyta</i>)
Třída	vyšší dvouděložné (<i>Rosopsida</i>)
Řád	lilkotvaré (<i>Solanales</i>)
Čeleď	lilkovité (<i>Solanaceae</i>)
Rod	<i>Solanum</i>

Synonyma:

Solanum demerarensense Dunal , *S. hirsutum* Herb.
Peurari ex Dunal, *S. maccai* Dunal , *S. platyphyllum* Dunal , *S. stramonifolium* Jacq., , *S. toxicarium* Lam. ,*S. toxicarium* Rich., *S. trichocarpum* Miq.,*S. undecimangulare* Willd. ex Roem. & Schult. [1]

Lidová jména:

Trinidad: coco-chat, **Brazílie:** jóa, jurubeba, **Kolombie:** e-to-pa-a, kobu-yá, uvilla, **Guyána:** bura bura, **Peru:** shiwánkush, coconilla [1], **Indie:** ram begun, tide begal [2]

Použití v lidové medicíně:

Kořen: bolest zubů, malárie, horečky, rakovina, pohlavní choroby [3],

Listy: afty, moniliáza, nachlazení, kašel, rány [3], čištění krve[4]

Plody: rány, kopřivka, mravenčí kousance [3],

Celá rostlina: bolest hrudníku, astma [2], játra [5]

[1] Parr, Mellon, Colquhoun, & Davies, 2005; [2] Das et al., 2009; [3] DeFilipps et al., 2004; [4] Austin & Bourne, 1992; [5] Pedrollo et al., 2016.

Jak je uvedeno v tabulce 2, v tradičním léčení se používá jak plod, tak i list a kořen, ovšem k odlišným účelům. Proto byly v této práci zkoumány účinky zvláště u jednotlivých částí rostliny. Šťáva z plodů se aplikuje zevně na rány, svědivé vyrážky a kousance. Listy se aplikují při aftách, nachlazení a kašli, k pročištění krve a zevně také na rány. Kořen (nejčastěji odvar či tinktura) se

používá při bolestech zubů, horečkách, pohlavních chorobách, rakovině a malárii. Celá rostlina pak bývá použita ve směsích na léčbu astmatu, při bolestech a problémech s játry [7, 17, 19].

Zatímco *S. stramonifolium* z Trinidadu a Tobaga nebyla doposud podrobena detailnímu studiu biologické aktivity a obsahových látek, plody pocházející z Thajska byly již studovány. Antioxidační aktivita (DPPH a ABTS test) vodných a methanolových extraktů byla popsána jako slabá, což bylo přisouzeno nízkému obsahu polyfenolických látek v plodu [20, 21]. Extrakty plodu v methanolu a ethylacetátu inhibovaly gramnegativní bakterii *Escherichia coli* (diskový difúzní test), nicméně byly neaktivní vůči patogenům jako *Salmonella enterica* sérovar *Typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Helicobacter pylori*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella enterica* sérovar *typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridians* a *Enterococcus* sp. [22]. Na druhou stranu, vodný extrakt semen, obsahující malé proteiny ($M_h < 14,4$ kDa), výrazně potlačoval růst jak grampozitivních, tak gramnegativních kmenů, konkrétně *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* a *Pseudomonas aeruginosa*, zatímco u *E. coli* a *Klebsiella pneumoniae* nebyla pozorována žádná antimikrobiální aktivita [23].

Obsah biologicky aktivních látek zůstává nicméně neprobádanou oblastí. Doposud jediná studie *S. stramonifolium* z Trinidadu a Tobaga popisuje izolaci solamarginu, solasodinového glykoalkaloidu z této rostliny [24]. Další nekonkrétní zmínka o fytochemickém složení zmiňuje přítomnost alkaloidů, flavonoidů, tríslovin, triterpenů a saponinů v ethanolovém extraktu kořenů z Brazílie [25].

1.3 Testování biologické aktivity

Biologická aktivita jednotlivých látek či směsných extraktů se obvykle posuzuje v první fázi na sérii *in vitro* testů, které jsou vybírány dle očekávaných výstupů konkrétního zdroje účinných látek. Vodítkem k výběru vhodných metod může být etnobotanická informace získaná díky tradičnímu použití rostliny v lidovém léčení [26]. V předkládané práci byla pozornost zaměřena jak na posouzení pozitivního vlivu rostlinného extraktu na lidské zdraví v oblasti prevence civilizačních chorob, tak i na možný přínos pro bezpečnost a trvanlivost potravinářského produktu. Z tohoto důvodu je nutno zastoupit několik metodik zkoumající antimikrobiální, antioxidační, protizánětlivou a antikarcinogenní aktivitu, a také ověřit možný toxický efekt, který by mohl být překážkou v aplikaci extraktů do potravin.

2. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Cílem předkládané disertační práce bylo studium extraktů tropických rostlin *Momordica charantia* L. a *Solanum stramonifolium* Jacq., jakožto potenciálních zdrojů biologicky aktivních látek pro vývoj nových funkčních potravin. Z důvodu rostoucí obliby a upřednostňování přírodních komplexních standardizovaných extraktů, spíše než izolovaných látek, bude stanovena aktivita hrubých extraktů. Nicméně různorodost takovýchto směsí je nutno charakterizovat pomocí chromatografických metod identifikací a kvantifikací dominantně přítomných látek, jež mohou žádanou biologickou aktivitu reprezentovat. Zejména u extraktů rostliny *Solanum stramonifolium* Jacq., jež doposud nebyla detailně fytochemicky zkoumána, bude kladen důraz na charakterizaci a kvantifikaci přítomných látek a jejich distribuci v jednotlivých částech rostliny.

Pro naplnění cíle disertační práce bylo nutno vytyčit několik cílů dílčích:

- výběr málo prozkoumaných tropických rostlin z oblasti Trinidad a Tobago na základě etnobotanických informací a tradičního použití v lidové medicíně,
- příprava extraktů, které by maximalizovaly zisk biologicky aktivních látek a zároveň splňovaly zvyšující se finanční a bezpečnostní nároky na rozpouštědla používaná v potravinářském průmyslu,
- stanovení antioxidační aktivity připravených extraktů pomocí standardních metod (DPPH, FRAP, TBARS, BCA),
- stanovení protizánětlivé aktivity s použitím Griessova činidla,
- stanovení cytotoxicity vůči lidským rakovinotvorným buněčným liniím (HeLa, MCF-7, NCI-H460 a HepG2) a vůči primární jaterní buněčné linii PLP2,
- stanovení antimikrobiální aktivity vůči vybraným bakteriím,
- LC-MS analýza fytochemických látek, zejména fenolických kyselin a polyfenolických látek a následně jejich kvantifikace v jednotlivých extraktech pomocí standardů nebo tentativně pomocí literatury.

3. ZVOLENÉ METODY ZPRACOVÁNÍ

3.1 Původ rostlinného materiálu a extrakce

Rostliny *Solanum stramonifolium* Jacq. (stonek, listy, kořeny a plody) a *Momordica charantia* L. (nadzemní část) byly vybrány na základě konzultace s místními léčiteli a botaniky a posléze sklizeny z volné přírody v oblasti Santa Cruz, Trinidad a Tobago pod dohledem Dr. Walcott, která také provedla botanické určení a přípravu herbářových položek TRIN 40645 a TRIN 40646, jež jsou uloženy v Botanické zahradě University West Indies, St. Augustine, Trinidad.

Jednotlivé vzorky rostlinného materiálu byly usušeny na vzduchu, pomlety a z každého vzorku bylo 5 g extrahováno ve 100 ml rozpouštědla ethanol/voda (80:20, v/v) po dobu 1 h za stálého míchání (150 rpm). Extrakt byl poté odfiltrován a pevný zbytek znovu extrahován za stejných podmínek. Spojené supernatanty byly následně odpařeny za vakua při 40 °C. Zbylá vodní frakce byla lyofilizována). Získaný prášek byl homogenizován a následně skladován v temnu při -20 °C [27].

3.2 Testy biologické aktivity

3.2.1 Antibakteriální aktivita

Antibakteriální aktivita byla stanovena mikrodiluční bujonovou metodou v mikrotitračních destičkách [28, 29]. Byly testovány 9 klinických izolátů včetně multiresistentních kmenů: methicilin-senzitivní *Staphylococcus aureus* a methicilin-resistentní *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* a *Acinetobacter baumannii*. K vyhodnocení byla použita standardní metodika [30] pomocí INT barviva (jodonitrotetrazoliová violet), které poskytuje růžové zabarvení v přítomnosti životaschopných bakterií.

3.2.2 Antioxidační aktivita

Z důvodu různorodosti mechanismů, uplatňujících se při antioxidačních jevech nejen v lidském těle, ale i potravinách, bylo nutno provést sérii metod. Jedině tak lze komplexněji posoudit antioxidační aktivitu hrubého extraktu a jeho příspěvek ze zdravotního i konzervačního hlediska. Celkem byly zvoleny 4 standardně používané metody: DPPH, FRAP, BCA a TBARS. V 80% ethanolu byla připravena koncentrační řada extraktů v rozmezí 5000-19,5 µg/ml. Pro pozitivní

kontrolu a srovnání byl připraven Trolox, syntetický, ve vodě rozpustný analog vitamínu E [31]. Výsledky jsou vyjádřeny jako IC₅₀ v µg/ml.

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl Assay)

Reakční směs v jamkách mikrotitrační destičky sestávala z 30 µl vzorku a 270 µl čerstvého pracovního roztoku DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu) v methanolu (60 µM). Směs byla inkubována 30 min v temnu při laboratorní teplotě. Absorbance byla měřena při 515 nm.

FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power; Prussian blue assay)

Test byl proveden s použitím K₃[Fe(CN)₆] ve fosfátovém pufru inkubovaného 20 min při 50 °C s extrakty, načež byla přidána trichloroctová kyselina a FeCl₃. Absorbance směsi byla změřena při 690 nm.

BCA (β-carotene Bleaching Assay)

Inhibice odbarvování β-karotenu v přítomnosti linolové kyseliny byla prováděna na koncentrační řadě extraktů naředěných v 80% ethanolu (20 – 0,156 mg/ml).

TBARS (Thiobarbituric acid Reactive Substances)

Test byl proveden s použitím homogenizované tkáně z vepřového mozku (*Sus scrofa*) v přítomnosti FeSO₄ a askorbové kyseliny. Směs byla inkubována 1 h při 37 °C ve vodní lázni. Přidáním kyseliny thiobarbiturová (2 % w/v) vznikl během dalšího záhřevu (20 min při 80 °C) barevný komplex malondialdehydu (MDA-TBA), jehož přítomnost byla detekována při 532 nm.

3.2.3 Protizánětlivá aktivita

Extrakty byly testovány pomocí standardní metody stanovení NO s použitím Griessova činidla [32] v koncentračním rozmezí 400 až 25 mg/ml. Produkce NO byla měřena jako absorbance při 540 nm.

3.2.4 Antikarcinogenní aktivita

Testy byly provedeny pomocí metody s použitím sulforhodaminu B (SRB) na 5 buněčných liniích [33]. Extrakty byly rozpuštěny ve vodě na zásobní roztok (8 mg/ml), ze kterého byla připravena koncentrační řada (400 – 1,5 µg/ml finální koncentrace) pro *in vitro* testování antiproliferačního efektu vůči 4 lidských rakovinných buněčných linií: HeLa (karcinom děložního čípku), HepG2 (karcinom jater), MCF-7 (adenokarcinom prsu) a NCI-H460 (nemalobuněčný

karcinom plic). Cytotoxicita byla ověřena na nerakovinotvorné primární buněčné linii PLP2 (vepřová jaterní tkáň).

3.3 LC-MS analýza přítomných látek

3.3.1 Fenolické látky

Analýza byla provedena ve spolupráci s portugalským pracovištěm Instituto Politecnico de Braganca [33]. Ke sběru chromatografických dat byl použit kapalinový chromatograf Dionex Ultimate 3000 UPLC System s detektorem diodového pole spojeného s hmotnostním spektrometrem (LC–DAD–ESI/MSⁿ).

Identifikace fenolických látek byla provedena srovnáním retenčních časů, UV–VIS spekter a hmotnostních spekter s dostupnými údaji pro standardy. Kalibrační křivky těchto standardů sloužily ke kvantifikaci látek. U ostatních sloučenin byla navržena identifikace na základě srovnání naměřených dat s literaturou a kvantifikace byla provedena pomocí nejpříbuznější struktury dostupného standardu. Výsledky byly vyjádřeny v miligramech identifikované látky na gram suchého lyofilizovaného extraktu (mg/g DE).

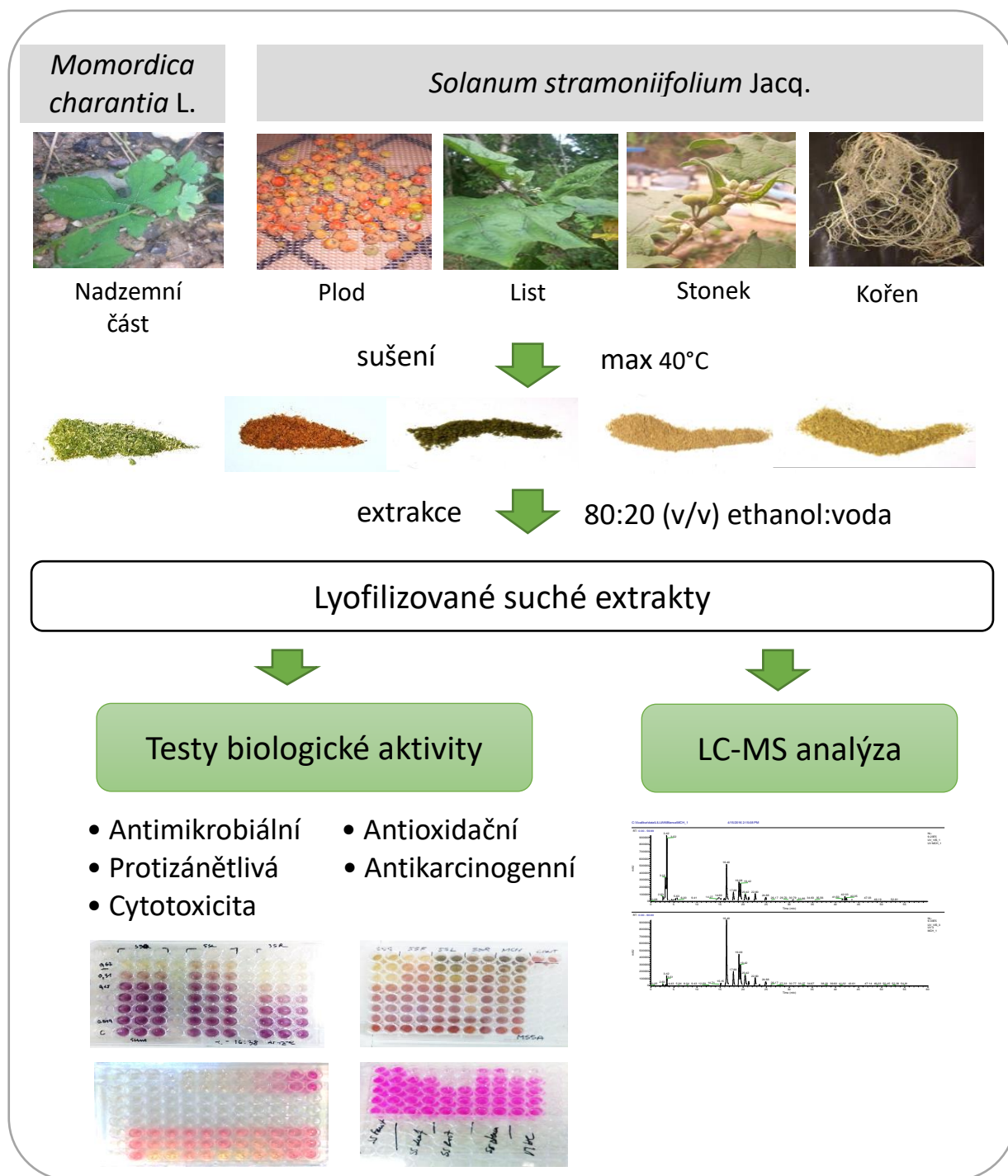
3.4 Statistická analýz dat

Všechny vzorky a koncentrace byly připraveny ve třech opakováních (duplicitně v testech cytotoxicity) a všechna měření byla taktéž provedena třikrát. Výsledky jsou uváděny jako střední hodnota a směrodatná odchylka. Data byla analyzována pomocí Deanova-Dixonova testu k vyloučení odlehlých hodnot tak, že byla vypočtena kritéria Q_{\min} a Q_{\max} pro minimální a maximální hodnotu v souboru a výsledná hodnota porovnána s kritickou hodnotou kritéria Q_k , za podmínky $\{ Q_{\min}; Q_{\max} \} > Q_k$, byla daná krajní hodnota vyloučena na hladině významnosti 0,05 ($\alpha = 0,05$). K posouzení signifikantního rozdílu mezi vzorky jak v jednotlivých testech, tak v kvantitativním stanovení obsahu fenolických látek bylo provedeno vyhodnocení pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) a následně Tukeyovým HSD testem (Honestly Significant Difference) s hladinou významnosti $\alpha=0,05$.

Jmenované statistické metody byly provedeny s použitím softwaru Statistics Package for Social Sciences (SPSS) v 23.0 (IBM, Rochester, MN, USA), programu GraphPad Prism 8.4.3 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) a Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmont, USA).

4. VYBRANÉ VÝSLEDKY

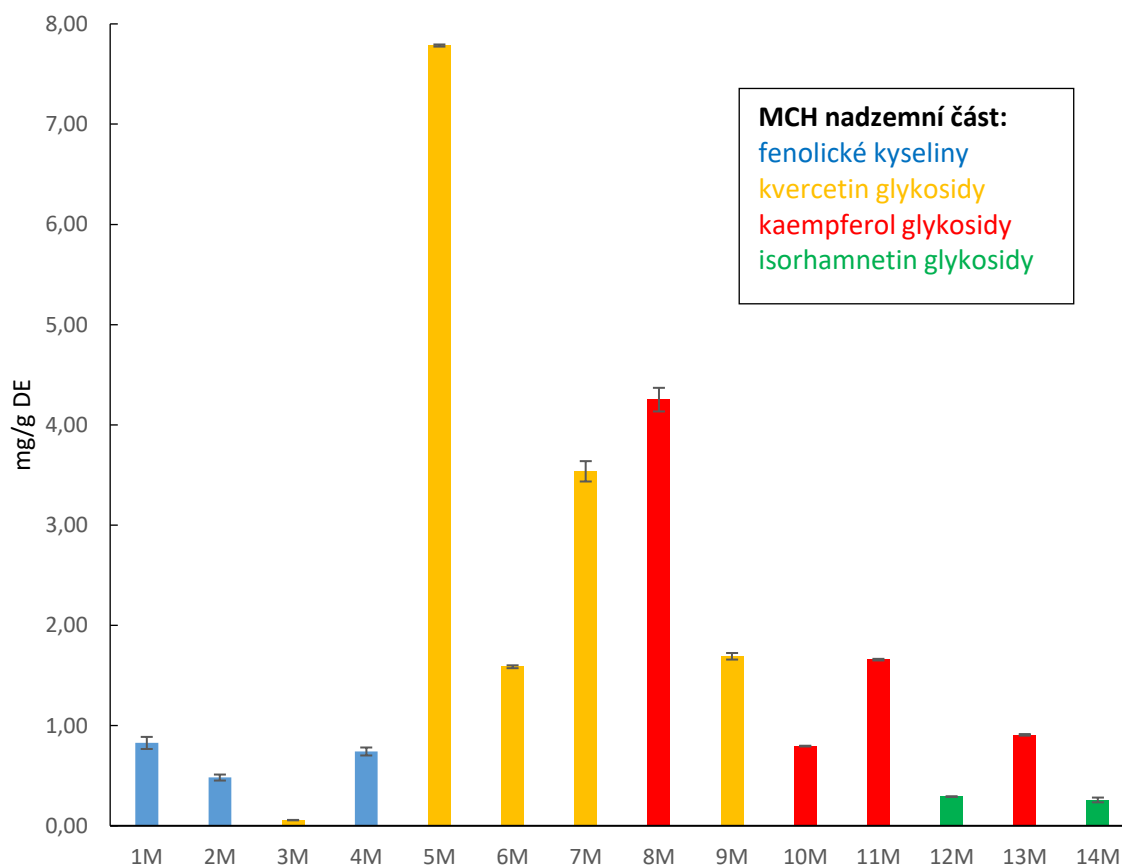
V této kapitole jsou shrnuty výsledky biologické aktivity a kvalitativní a kvantitativní analýzy metodou LC-MS pro extrakty (80% ethanol) rostlin *Momordica charantia* L. (MCH) a *Solanum stramonifolium* Jacq (SS). Celý experiment je schematicky shrnut na obrázku 1.



Obrázek 1: Schéma experimentu

4.1 LC-MS analýza

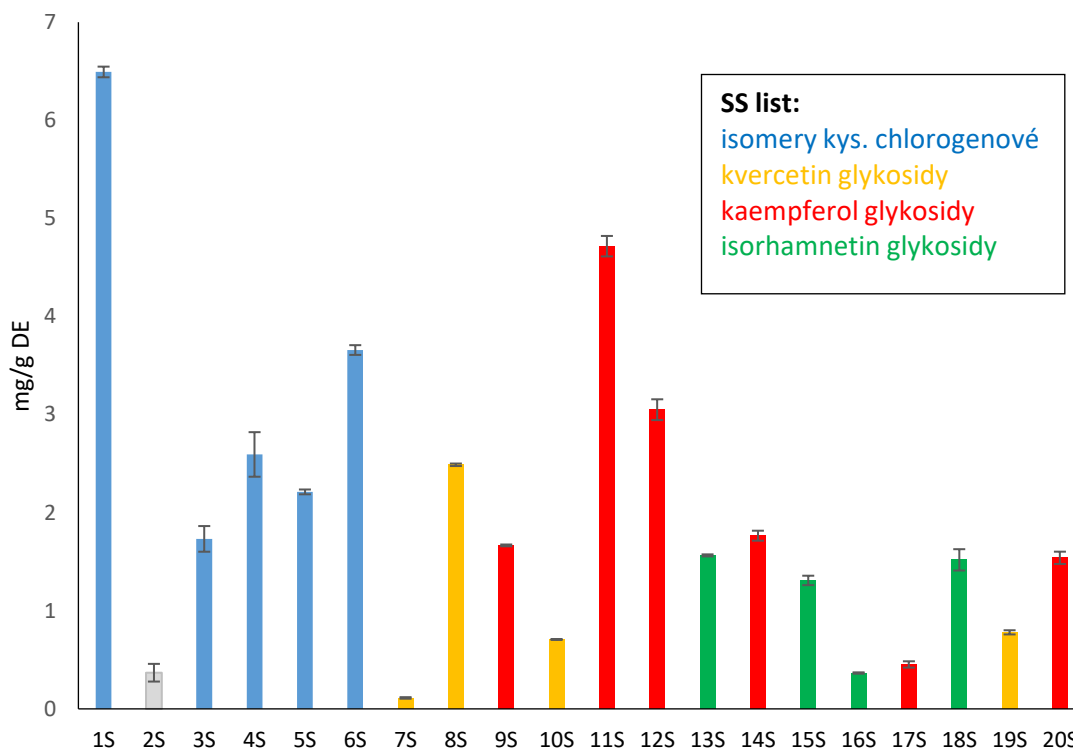
Ve vzorku MCH bylo identifikováno celkem 14 sloučenin. Z těchto sloučenin byly 3 deriváty fenolických kyselin, konkrétně hydroxykyseliny, a 11 flavonoidů (flavonolové glykosidy). Mezi identifikovanými flavonoly byly deriváty kvercetinu, kaempferolu a isorhamnetinu. Obrázek 2 graficky shrnuje podíl identifikovaných látek z pohledu zastoupení obou skupin polyfenolů vztažený na hmotnost suchého extraktu.



Obrázek 2: Kvantitativní zastoupení polyfenolů v extraktu *Momordica charantia* L. (mg/g DE, tj. suchého extraktu). Derivát kryptochlorogenové kyseliny (**1M**); 4-*O*-feruloylchinová kyselina (**2M**); kvercetin-*O*-dihexosid (**3M**); 5-*O*-feruloylchinová kyselina (**4M**); kvercetin-*O*-pentosylhexosid (**5M**); kvercetin-3-*O*-rutinosid (**6M**); kvercetin-3-*O*-glukosid (**7M**); kaempferol-*O*-pentosylhexosid (**8M**); kvercetin-*O*-acetylhexosid (**9M**); kaempferol-3-*O*-rutinosid (**10M**); kaempferol-3-*O*-glukosid (**11M**); isorhamnetin-3-*O*-glukosid (**12M**); kaempferol-*O*-acetylhexosid (**13M**); isorhamnetin-*O*-acetylhexosid (**14M**)

Celkový obsah identifikovaných fenolických látek byl $24,87 \pm 0,01$ mg/g DE, z čehož $2,05 \pm 0,01$ mg/g DE tvořily fenolické kyseliny. Flavonoidy byly početnější skupinou fenolických látek ($22,82 \pm 0,01$ mg/g DE), přičemž kvercetin-*O*-pentosylhexosid (sloučenina **5M**) byl shledán kvantitativně nejvíce

zastoupenou molekulou s $7,78 \pm 0,01$ mg/g DE. Madala a kol. [34] také uvádí přítomnost *cis*-chlorogenové kyseliny v listech *M. charantia* z Jižní Afriky. Kvantitativní stanovení jednotlivých flavonoidních glykosidů (kromě rutinu) doposud nebylo u divoce rostoucí variety rostliny *Momordica charantia* popsáno. Konkrétně sloučeniny **4M**, **7M**, **8M**, **9M**, **13M** a **14M** byly u planého druhu *Momordica charantia* identifikovány poprvé.

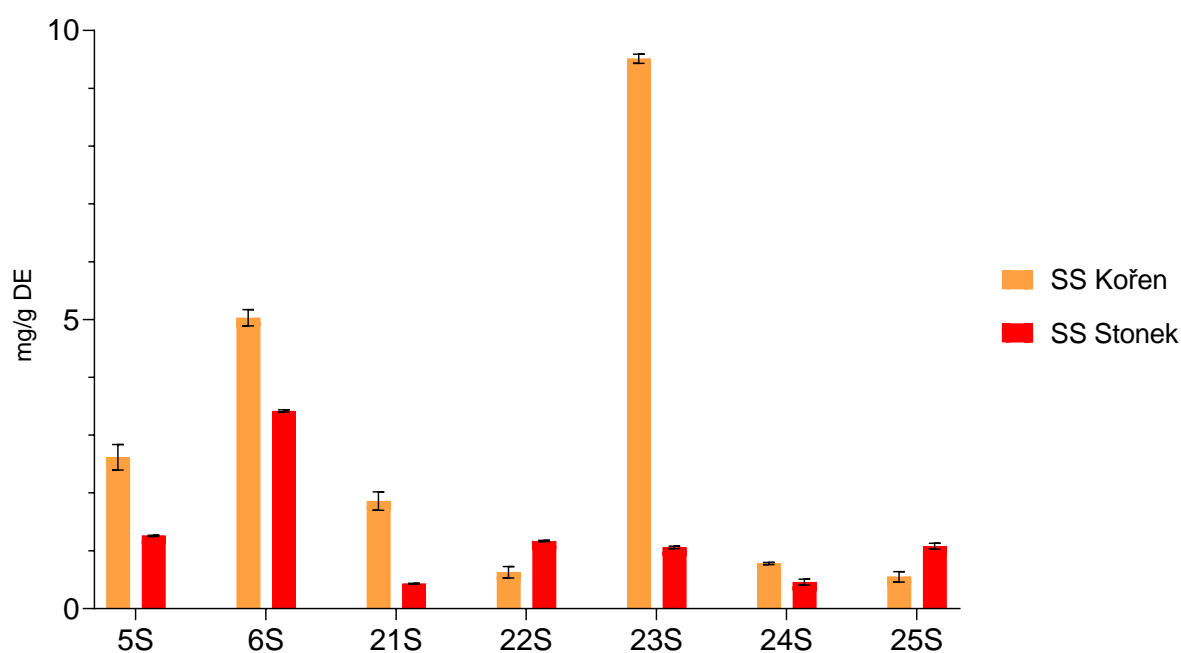


Obrázek 3: Kvantitativní zastoupení polyfenolů v listech *S. Stramoniiifolium* (mg/g DE, tj. suchého extraktu). *trans*-neochlorogenová kyselina (**1S**) protokatechová kyselina (**2S**); *cis*-kryprochlorogenová kyselina (**3S**); *trans*-kryptochlorogenová kyselina (**4S**); *cis*-chlorogenová kyselina (**5S**); *trans*-chlorogenová kyselina (**6S**); kvercetin-*O*-dihexosid (**7S**); kvercetin-*O*-deoxyhexosyl-*O*-rutinosid (**8S**); (**9S**); kvercetin-3-*O*-rutinosid (**10S**); kaempferol-*O*-deoxyhexosyl-*O*-rutinosid (**11S**); kaempferol-*O*-hexosyl-*O*-deoxyhexosyl-hexosid (**12S**); isorhamnetin-*O*-deoxyhexosyl-*O*-rutinosid (**13S**); kaempferol-3-*O*-rutinosid (**14S**); isorhamnetin-*O*-deoxyhexosyl-hexosid (**15S**); isorhamnetin-3-*O*-rutinosid (**16S**); kaempferol-3-*O*-glukosid (**17S**); isorhamnetin-3-*O*-glukosid (**18S**); kvercetin-*O*-caffeoyl-rutinosid (**19S**); kaempferol-*O*-caffeoyl-rutinosid (**20S**)

U rostliny SS bylo určeno 25 fenolických látek, z toho 20 fenolických látek v extraktu SS z listu a dalších 5 v kořeni a stonku. V SS extraktu z listu bylo určeno 6 derivátů fenolických kyselin a 14 flavonoidů (glykosylované deriváty flavonolů). V extraktu z plodů se nepodařilo přes veškerou snahu touto standardizovanou metodou určit obsažené látky, proto není součástí dalšího

hodnocení. Z flavonolových derivátů byly v extraktu SS z listů nalezeny především glykosidy kvercetin, isorhamnetin a kaempferol.

Celkové množství nalezených fenolických kyselin v extraktu SS z listu bylo $17,1 \pm 0,5$ mg/g DE a flavonoidů $22,0 \pm 0,3$ mg/g. Obrázek 3 uvádí kvantitativní zastoupení jednotlivých identifikovaných sloučenin v extraktu SS z listů. Jak je patrné, nejvíce zastoupenou látkou byla kyselina *trans*-neochlorogenová ($6,49 \pm 0,05$ mg/g DE). Isomery kyseliny chlorogenové tvořily majoritní podíl fenolických kyselin. Z flavonoidů dominoval zastoupením kaempferol-*O*-deoxyhexosyl-*O*-rutinosid s $4,7 \pm 0,1$ mg/g DE. Porovnáme-li zastoupení derivátů vycházejících ze tří přítomných aglykonů, pak převažují glykosidy kaempferolu ($13,19 \pm 0,37$ mg/g DE; 60%), následovány glykosidy isorhamnetinu ($4,76 \pm 0,70$ mg/g DE; 22 %) a nejméně byly zastoupeny glykosidy kvercetin ($4,09 \pm 0,04$ mg/g DE; 18 %). Sloučeniny **1S**, **3S**, **4S** a **5S** nebyly u zkoumaného rostlinného druhu *Solanum stramonifolium* Jacq. doposud jinými autory popsány.



Obrázek 4: Kvantitativní zastoupení polyfenolů v kořeni a stonku *S. stramonifolium*. *cis*-chlorogenová kyselina (**5S**); *trans*-chlorogenová kyselina (**6S**); *bis*(dihydrokaffeoyl) spermidin isomer 1 (**21S**); *tris*(dihydrokaffeoyl) spermidin hexosid (**22S**); *tris*(dihydrokaffeoyl) spermidin (**23S**); *bis*(dihydrokaffeoyl) spermidin isomer 2 (**24S**); *bis*(dihydrokaffeoyl) spermidin isomer 3 (**25S**)

Extrakty z kořene a stonku si byly profilově, co do zastoupení fenolických kyselin, podobné, ovšem daleko méně pestré, než tomu bylo v případě extraktu z listu, v obou bylo identifikováno celkem 7 látek (viz obrázek 4). Zatímco

deriváty hydroxyskořicové a dihydrohydroxyskořicové kyseliny jsou v rodě *Solanum* známou skupinou fenolických látek s celou škálou biologických aktivit, jejich konjugáty s polyaminy představují méně prozkoumanou skupinu látek. Tyto látky byly u zkoumané rostliny zaznamenány poprvé.

Sloučenina **23S** byla kvantitativně nejvíce zastoupenou látkou v kořeni ($9,51 \pm 0,08 \mu\text{g/g DE}$), zatímco ve stonku to byl její hexosid **22S** ($1,17 \pm 0,01 \mu\text{g/g DE}$). Na druhou stranu, v listech nebyl žádný z derivátů spermidinu detekován. Jelikož v literatuře bývá výskyt těchto látek uváděn zejména v oddencích rostlin rodu *Solanum*, podporují získané výsledky selektivní výskyt zmíněné skupiny konjugátů na podzemní části rostliny [35].

Celkově lze shrnout, že flavonoidy byly nejvíce zastoupenou skupinou fenolických sloučenin identifikovaných v jednotlivých částech zkoumaných rostlin *S. stramonifolium* Jacq. a *Momordica charantia* L. Vedle toho, v extraktech SS z kořene a stonku dominovaly konjugáty dihydrokávové kyseliny s polyaminy – konkrétně se spermidiny.

4.2 Biologická aktivita

Hrubé extrakty z listů, plodů, stonků a kořenů rostliny *Solanum stramonifolium* Jacq., (SS) a *Momordica charantia* L. (MCH) nadzemní část, připravené v 80% ethanolu, byly testovány pomocí série vybraných testů biologické aktivity tak, aby byla ověřena jejich účinnost a potenciál pro použití v potravinářském průmyslu. Dále byla zhodnocena jejich potenciální toxicita.

4.2.1 Antimikrobiální aktivita

Tabulka 3 shrnuje výsledky získané v testu za použití bujónové mikrodiluční metody s INT kolorimetrickým vyhodnocením. Zachycená minimální inhibiční koncentrace (MIC) se pohybovala v rozmezí 0,625 až 20 mg/ml. Ve dvou případech byla MIC vyšší než maximální testovaná koncentrace, extrakt ze stonku proti bakteriím *A. baumannii* a *P. aeruginosa*.

Celkově byly grampozitivní kmeny citlivější než gramnegativní kmeny. Tato skutečnost je velmi často prisuzována rozdílné struktuře buněčných obalů a horší dostupnosti účinných látek přes komplexnější stěnu gramnegativních bakterií s lipopolysacharidovou vrstvou

Tabulka 3 Antibakteriální aktivita hrubých extraktů *Solanum stramonii* (SS) a *Momordica charantia* (MCH)

Mikroorganismus	MIC (mg/ml)				MCH Nadzemní část
	SS Plod	SS List	SS Kořen	SS Stoněk	
Grampozitivní kmeny					
MRSA	20	5	10	5	5
MSSA	20	5	10	5	5
<i>Enterococcus faecalis</i>	10	5	10	10	1,25
<i>Listeria monocytogenes</i>	2,5	20	10	2,5	0,625
Gramnegativní kmeny					
<i>Acinetobacter baumannii</i>	20	10	10	>20	10
<i>Escherichia coli</i>	20	5	10	20	5
<i>Escherichia coli</i> ESBL	20	5	10	20	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	5	10	20	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL	20	5	10	20	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	10	20	>20	10

MRSA = methicilin-resistentní *Staphylococcus aureus*; MSSA = methicilin-senzitivní *Staphylococcus aureus*;
ESBL = producenti širokospektrých β -laktamáz; MIC = minimální inhibiční koncentrace

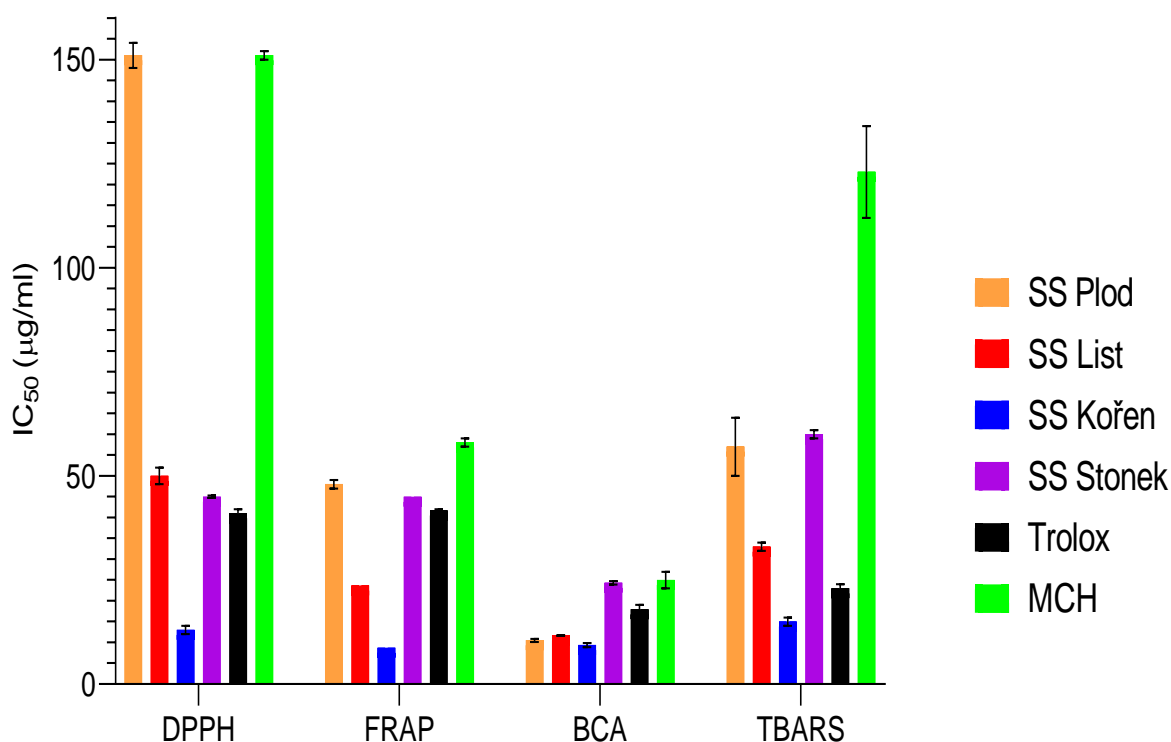
Extrakt z kořene vykázal širokospektrou neselektivní inhibici vůči oběma skupinám u 9 z 10 kmenů poskytnutím shodných MIC (10 mg/ml). Na druhou stranu byl extrakt ze stonku mnohem účinnější proti grampozitivním kmenům (2,5 – 10 mg/ml). *Listeria monocytogenes* byla nejcitlivějším kmenem a v testu byly získány nejnižší hodnoty MIC u extraktu MCH (MIC = 0,625 mg/ml), u rostliny SS pak u extraktu z plodu a ze stonku (2,5 mg/ml). Naproti tomu byla *P. aeruginosa* nejméně inhibovaným organismem v testu. Celkově dopadl v testu nejlépe extrakt MCH (MIC = 0,625 – 10 mg/ml) a extrakt SS z listu, který inhiboval 7 klinických izolátů při koncentraci 5 mg/ml. Také stojí za zmínku, že u bakterií s vyšším stupněm rezistence, a to methicillin-resistentní *S. aureus* (MRSA) či β -laktamázy produkující *E. coli* a *K. pneumoniae*, nebyla pozorována vyšší MIC ve srovnání s jejich citlivějšími analogy. Tato skutečnost by mohla být

velice významná nejen pro potravinářský průmysl, ale také při vývoji antibiotik ve farmaceutickém průmyslu.

Antimikrobiální aktivita flavonoidů je dobře známa a byla popsána i u sloučenin detekovaných v této práci, například kvercetin, rutin, kaempferol, kvercitrin a další [36]. Z výsledků lze konstatovat, že extrakty vykazují širokospektrální účinek, ačkoli hodnota MIC ve srovnání se standardem je daleko vyšší, což lze u extraktu očekávat vzhledem ke komplexnosti matrice ve srovnání s čistou látkou.

4.2.2 Antioxidační aktivita

Antioxidační aktivita byla stanovena použitím čtyř *in vitro* testů zahrnujících několik mechanismů, zejména přenos atomu vodíku (HAT) a přenos singletového elektronu (SET), aby mohla být plně posouzena antioxidační kapacita studovaných vzorků [37]. Jednalo se o testovací metody DPPH; FRAP, BCA a TBARS, jejichž detailní popis a metodika jsou uvedeny v předchozích kapitolách.



Obrázek 5: Antioxidační aktivita extraktů *S. stramonifolium* (SS) a *Momordica charantia* (MCH). Nejvyšší aktivitě odpovídají nejnižší hodnoty inhibiční koncentrace IC_{50} . Použitý standard: Trolox, všechny hodnoty jsou uvedeny jako průměr a směrodatná odchylka, $n = 9$.

Z dat na obrázku 5 vyplývá, že extrakt MCH a extrakty všech testovaných částí rostliny SS mají silný antioxidační potenciál. Extrakt z kořenů dosahoval nejlepších hodnot. Byl dokonce účinnější než komerčně používaný standard Trolox, protože poskytoval nižší IC_{50} ve všech čtyřech testech.

V testu s DPPH klesala aktivita extraktů SS jednotlivých částí rostliny v řadě kořen > list > stonek > plod s odpovídajícími hodnotami IC_{50} 13 ± 1 ; 50 ± 2 ; 74 ± 4 a 151 ± 3 $\mu\text{g/ml}$. U testu FRAP dosáhly lepších výsledků než Trolox ($IC_{50} = 41,7 \pm 0,3$ $\mu\text{g/ml}$) dva extrakty: kořen a list (IC_{50} $8,68 \pm 0,03$ a $23,7 \pm 0,1$ $\mu\text{g/ml}$). Extrakty z MCH a z kořene a listu SS předčily Trolox i v BCA testu, kde potvrdily silnější schopnost inhibovat zhášení β -karotenu; tentokrát spolu s extraktem z plodu, pro který je toto jediný případ lepších výsledků než u standardu. Metoda BCA byla zhodnocena jako nejcitlivější vůči extraktům z obou rostlin.

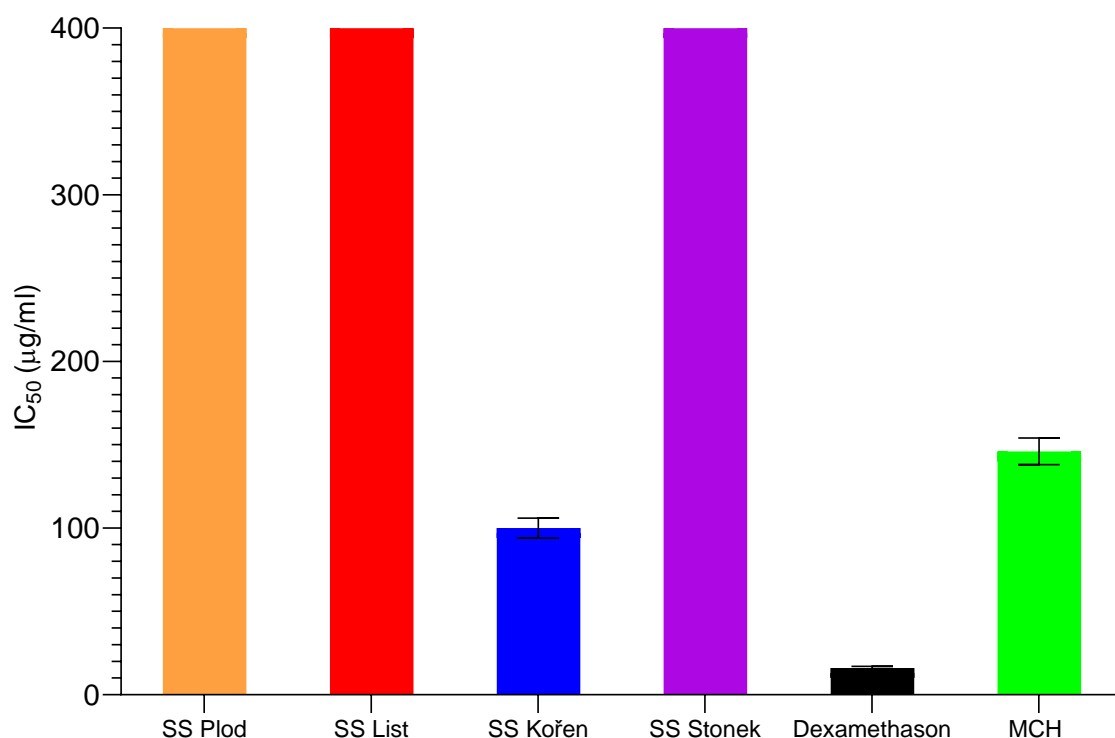
Wu a Ng [38] získali podobná data v DPPH testu pro ethanolický extrakt z plodů planě rostoucí MCH ($IC_{50} = 157$ $\mu\text{g/ml}$) překračující aktivitu pro vitamin E ($IC_{50} = 172$ $\mu\text{g/ml}$). Wetwitayaklung a Phaechamud [21] zjistili u methanolického extraktu SS nízký antioxidační potenciál v TEAC testu s použitím $ABTS^{\cdot+}$ radikálu ($IC_{50} = 1133,08$ μg ve srovnání s $10,14$ μg pro Trolox) a přisoudili jej nízkému obsahu celkových fenolických látek ($1,55$ g ekvivalentu gallové kyseliny/100 g extraktu).

Celkově lze shrnout, že extrakty z rostlin MCH a SS se lišily v antioxidační aktivitě jednak dle části rostlinného těla, ale také dle použité metody a mechanismu účinku. Jelikož se jedná o hrubé extrakty, je možno považovat výsledky zejména u stonku a listu za velmi slibné, jelikož dosahovaly hodnot čisté látky standardu Trolox. Proto by další studium mělo být zaměřeno zejména na tyto části rostliny.

Již dříve byl dokázán vztah mezi redukční schopností a stupněm hydroxylace a konjugace fenolických sloučenin [39]. Zmínění autoři popisují vyšší antioxidační potenciál kvercetin a rutin ve FRAP testu ve srovnání s Troloxem. Isokvercitrin (sloučenina **7M**), rutin (sloučenina **6M**) a glykosidy kvercetin, přítomné v extraktu MCH, mohou být proto zodpovědné za silný antioxidační účinek, jelikož již v předchozích studiích ukázaly srovnatelné nebo vyšší antioxidační schopnosti než například BHT (butylhydroxytoluen) či α -tokoferol [40]. Také třetí kvantitativně nejvíce zastoupená sloučenina isokvercitrin (**7M**) spolu s nikotiflorinem (**10M**) a astragalinem (**11M**) ukázaly silný potenciál ve vychytávání volných radikálů v dřívějších studiích [41].

4.2.3 Protizánětlivá aktivita

Jak je uvedeno na obrázku 6, u extraktu MCH byla zjištěna inhibice produkce NO s výslednou hodnotou $IC_{50} = 146 \pm 8 \mu\text{g/ml}$. Podobný výsledek zaznamenal Hsu a kol. pro plody MCH, extrahované v ethylacetátu [42]. Ze všech testovaných částí rostliny SS, byla zachycena protizánětlivá aktivita pouze u extraktu z kořene ($IC_{50} = 100 \pm 6 \mu\text{g/ml}$).

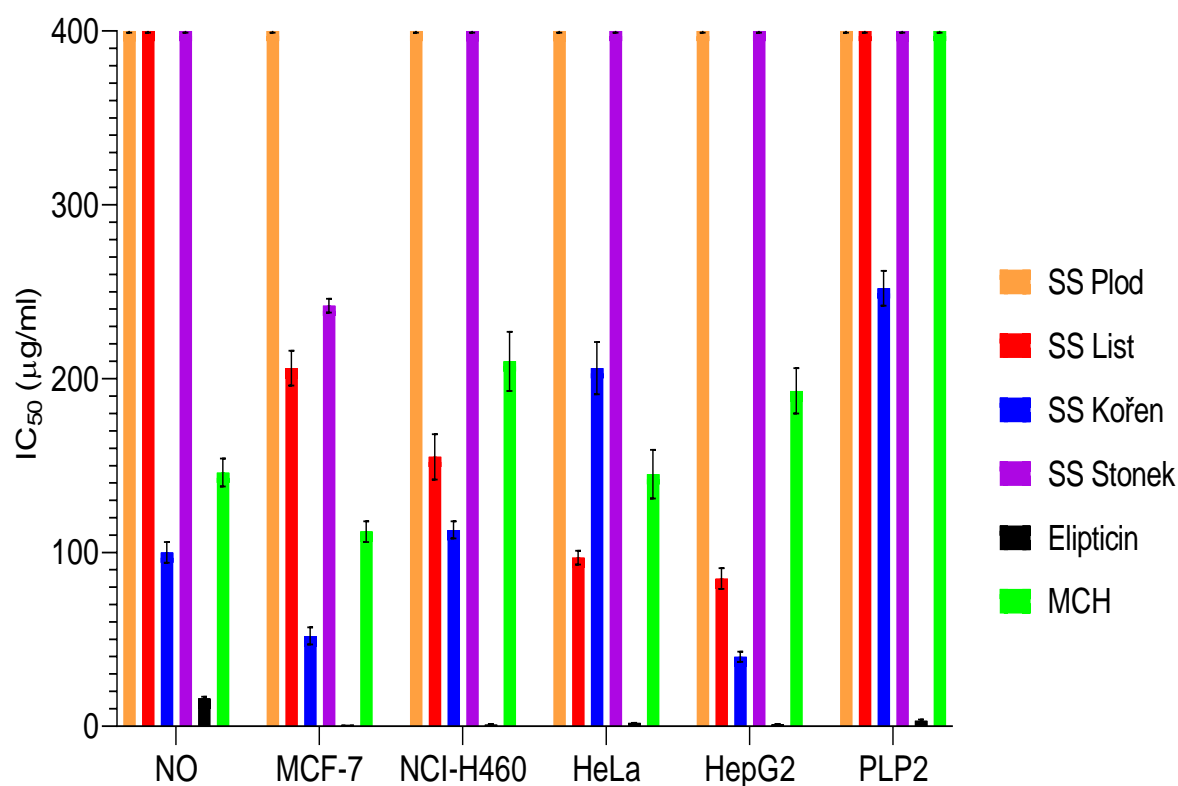


Obrázek 6: Protizánětlivá aktivita extraktů *S. stramonifolium* a *M. charantia* na buněčné linii myších makrofágů RAW 264.7 stanovením oxidu dusnatého NO. Nejvyšší aktivitě odpovídají nejnižší hodnoty inhibiční koncentrace IC_{50} . U hodnot $IC_{50} > 400 \mu\text{g/ml}$ byla v grafu záměrně vyznačena maximální hodnota sloužící k porovnání míry aktivity vzorků. Použitý standard: dexamethason, všechny hodnoty jsou uvedeny jako průměr a směrodatná odchylka, $n = 9$.

Produkce NO nebyla u všech ostatních vzorků inhibována až do testované maximální koncentrace $400 \mu\text{g/ml}$. Důležitost studia planých forem rostlinných druhů potvrzuje studie z roku 2009, která shledala extrakt z plodů plané variety MCH účinnějším než jeho analogický extrakt z kultivované MCH v testu na RAW 264.7 makrofázích stimulovaných pomocí LPS, kdy došlo k 64% redukci oxidu dusnatého při koncentraci $50 \mu\text{g/ml}$ ethanolického extraktu oproti kontrole [43]. Fenolické látky jsou všeobecně považovány za důležité složky rostlinných extraktů s protizánětlivým účinkem. Ze sloučenin, které byly odhaleny v této práci, byly již dříve s protizánětlivým účinkem asociovány

zejména rutin [44], nikotiflorin [45], isokvercitrin [46], astragalin [47] a deriváty chlorogenové kyseliny [48].

4.2.4 Antikarcinogenní aktivita a cytotoxicita



Obrázek 7: Antikarcinogenní aktivita a cytotoxicita extraktů *S. stramonifolium* a *M. charantia*. U hodnot $IC_{50} > 400 \mu\text{g/ml}$ byla v grafu záměrně vyznačena maximální hodnota sloužící k porovnání míry aktivity vzorků. Použitý standard v testu: elipticin; výsledky jsou uvedeny jako průměr a směrodatná odchylka, $n=6$.

Obrázek 7 shrnuje graficky účinnost jednotlivých extraktů v tomto testu. Pro přehlednost bylo u vzorků, u nichž nebyla v koncentračním rozmezí zachycena IC_{50} , vynesena jako ekvivalentní hodnota $400 \mu\text{g/ml}$. Z výsledků vyplývá, že extrakt MCH a extrakty SS z listu a kořene inhibovaly všechny nádorové buněčné linie. Nejnižších hodnot inhibiční koncentrace IC_{50} bylo dosaženo u linie HepG2 ($40 \pm 3 \mu\text{g/ml}$ pro SS kořen a $85 \pm 6 \mu\text{g/ml}$ pro SS list). Extrakt SS ze stonku účinkoval pouze na buněčnou linii MCF-7 ($IC_{50} = 242 \pm 4 \mu\text{g/ml}$) a u extraktu SS z plodu se nepodařilo zachytit IC_{50} ani do maximální koncentrace. Z pohledu použitých kultur se jako nejcitlivější jeví buněčná linie karcinomu prsu MCF-7, jež byla inhibována čtyřmi z pěti extraktů. U extraktu MCH bylo nejnižší hodnoty IC_{50} ($112 \pm 6 \mu\text{g/ml}$) dosaženo pro buněčnou linii MCF-7, tudíž je extrakt MCH nejúčinnější v případě buněk karcinomu prsu.

Ve srovnání se standardem elipticinem byly výsledky nejméně o řád vyšší, tudíž průměrné. Nicméně elipticin je jednak čistá látka s vysokým účinkem proti všem použitým buněčným liniím, ale na druhé straně s vysokou hepatotoxicitou vůči nerakovinotvorným buňkám v testu s PLP2 primární buněčnou linií.

Použité extrakty nepřekročily u PLP2 hodnoty, které byly získány pro nádorové buněčné linie. Extrakt z kořene byl kupříkladu středně toxický vůči PLP2 ($IC_{50} = 252 \pm 10 \mu\text{g/ml}$), ale aktivní koncentrace u nádorových linií byly o řád nižší nebo lehce nižší. Z tohoto důvodu se jeví jako slibnější kandidát pro použití v potravinářském průmyslu spíše extrakt SS z listu, jelikož na rozdíl od extraktu z kořene nebyl zaznamenán toxický účinek v PLP2 testu až do hladiny $400 \mu\text{g/ml}$, která je považována za orientační hraniční hodnotu pro preliminární testy tohoto účelu.

V literatuře bylo potvrzeno, že obecně mají hrubé extrakty ve srovnání s čistými izolovanými sloučeninami obvykle nízkou toxicitu. Proto si v potravinářském a farmaceutickém průmyslu začínají opět nacházet své místo právě hrubé extrakty, i přes problémy standardizace a udržení kvality jednotlivých extraktů, které jsou závislé na více faktorech [49].

Celkově lze shrnout, že extrakt MCH a extrakt SS z listu jsou z pohledu biologické aktivity nejlepšími kandidáty z důvodu silné antioxidační aktivity, inhibice nádorových buněčných linií a zároveň nízké cytotoxicity vůči primární buněčné linii PLP2. Pokud by nebyl kladen důraz na nízkou toxicitu extraktu, pak je jednoznačně nejúčinnějším biologicky aktivním extraktem v testu extrakt z kořene rostliny *Solanum stramonifolium*, který byl vysoce aktivní ve všech testech.

5. PŘÍNOS PRÁCE PRO VĚDU A PRAXI

Přínos pro vědu:

- Byly provedeny detailní studie biologické aktivity extraktů *Momordica charantia* L a *Solanum stramonifolium* Jacq., které přispějí k vědeckému poznání těchto doposud málo prozkoumaných tropických rostlin.
- U obou rostlin byla stanovena toxicita na primární buněčné linii, na jejíž základě byly vybrány extrakty vhodné pro potravinářský průmysl.
- V 80% ethanolovém extraktu *M. charantia* bylo 6 fenolických látek identifikováno poprvé.
- U rostliny *S. stramonifolium* byla poprvé u tohoto druhu popsána přítomnost biologicky aktivních látek také selektivně v jednotlivých částech rostliny.
- U obou rostlin byl pozorován širokospektrální inhibiční účinek vůči senzitivním i rezistentním klinickým izolátům bakterií. To naznačuje přítomnost látek schopné obejít rezistenční mechanismy testovaných bakterií.
- U extraktu z kořene *S. stramonifolium* byla zjištěna antioxidační aktivita silnější než u standardu Trolox, což dokazuje silný antioxidační potenciál pro použití extraktu v potravinářství.

Přínos pro praxi:

- Získané výsledky potvrdily potenciál vybraných tropických rostlin pro vývoj nových funkčních potravin, po nichž se výrazně zvyšuje poptávka.
- Připravené extrakty potvrdily možný vysoký biologický potenciál v udržování zdraví konzumentů pomocí prevence oxidačního stresu a civilizačních chorob s ním souvisejících (zánětlivá onemocnění, kardiovaskulární nemoci, neurodegenerativní procesy, rakovina).
- Díky zjištěné antimikrobiální a antioxidační aktivitě mohou být extrakty prospěšné pro zachování bezpečnosti a trvanlivosti potravin kontrolou nežádoucích kmenů ve výrobku a zpomalení procesů oxidace citlivých molekul.
- Kvantifikace přítomných látek v extraktu může sloužit pro standardizaci komerčně vyvíjených extraktů vhodných pro potravinářský průmysl.

6. ZÁVĚR

Stoupající zájem konzumentů o fortifikované potraviny, které vykazují pozitivní vliv na zdraví a předcházejí chronickým chorobám, motivuje výrobce k vývoji nových produktů. Také zvyšující se preference spotřebitelů směrem k přírodním surovinám udává trend v nahrazování syntetických přídatných látek za látky přírodního původu. Vývoj standardizovaných rostlinných extraktů, které splňují tyto zdravotní požadavky a zároveň napomáhají udržení bezpečnosti potravin z hlediska trvanlivosti a možné kontaminace během výroby, a to bez vedlejších negativních účinků na lidské zdraví (jako je tomu u mnoha syntetických přídatných látek), je stále ještě na svém začátku.

Testovány byly dvě rostliny, planá varieta *Momordica charantia* L. a *Solanum stramonifolium* Jacq., z nichž bylo připraveno celkem pět extraktů v 80% ethanolu (MCH nadzemní část, SS plod, SS list, SS kořen a SS stonek).

Z důvodu bližšího poznání přítomných biologicky aktivních látek byly metodou LC–MS v extraktech stanoveny fenolické látky. Identifikovány byly látky, u nichž byl již dříve popsán silný antioxidační, protizánětlivý, antimikrobiální či antikarcinogenní účinek. Jednalo se zejména o deriváty kyseliny chinové a dále deriváty kvercetinu, kaempferolu a isorhamnetinu, jak u *M. charantia*, tak u *S. stramonifolium* (list). Zajímavé bylo zjištění obdobného profilu látek v kořeni a stonku *S. stramonifolium*, konkrétně přítomnost dihydrocaffeoylspermidinů. Ty byly ve zmíněné rostlině identifikovány poprvé, ač jsou známými metabolity rodu *Solanum*, např. popsané v hlízách brambor (*S. tuberosum*). V extraktu z kořene bylo nalezeno vysoké množství tris(dihydrokaffeoyl)spermidinu ($9,51 \pm 0,08 \mu\text{g/g}$ suchého extraktu, tj. DE), zatímco ve stonku bylo této látky podstatně méně ($1,06 \pm 0,02 \mu\text{g/g DE}$). Z fenolických kyselin dominovala *trans*-chlorogenová kyselina ($5,03 \pm 0,14 \mu\text{g/g DE}$ v kořeni a $3,42 \pm 0,02 \mu\text{g/g DE}$ ve stonku, zatímco v listu to byla *trans*-neochlorogenová kyselina s $6,49 \pm 0,05 \mu\text{g/g DE}$). Z flavonoidů byl v listu nejvíce zastoupen flavonoid kaempferol-*O*-deoxyhexosyl-*O*-rutinosid ($4,7 \pm 0,1 \mu\text{g/g DE}$).

U studované plané variety *M. charantia* bylo šest sloučenin identifikováno poprvé (5-*O*-feruoylchinová kyselina, isokvercitrin, kaempferol-*O*-pentosylhexosid, kvercetin-*O*-acetylhexosid, kaempferol-*O*-acetylhexosid, isorhamnetin-*O*-acetylhexosid). Nejvíce zastoupenou sloučeninou v extraktu této rostliny byl kvercetin-*O*-pentosylhexosid ($7,78 \pm 0,01 \mu\text{g/g DE}$).

Z pohledu biologické aktivity se jako nejslibnější jevil extrakt z kořene *S. stramonifolium*, který byl vysoce aktivní ve všech testech. Ve všech čtyřech testech antioxidační aktivity dokonce dosahoval lepších výsledků než standard Trolox. Jako jediný také tento extrakt vykázal protizánětlivou aktivitu ($IC_{50} = 100 \pm 6 \mu\text{g/ml}$). Nicméně byl shledán pro svou toxicitu vůči primární buněčné linii ($IC_{50} = 252 \pm 10 \mu\text{g/ml}$) jako nevodný pro použití v potravinářství. Extrakt z listu stejné rostliny vykázal slibnou antioxidační a antikarcinogenní aktivitu, navíc proti klinickým izolátům bakterií byl účinnější.

Extrakt *M. charantia* byl také efektivní ve všech testech, i když nedosáhl takové aktivity jako kořen *S. stramonifolium*. Výhodou je ovšem nízká toxicita MCH ($IC_{50} = 400 \mu\text{g/ml}$). Za zmínku jist stojí inhibice bakterie *L. monocytogenes*, u níž bylo dosaženo vůbec nejnižší účinné koncentrace ve všech testech ($MIC = 0,625 \mu\text{g/ml}$). Celkově byl extrakt MCH účinnější vůči klinickým izolátům bakterií než extrakty *S. stramonifolium*.

Extrakt z plodu byl z pohledu biologické aktivity nejméně perspektivní, byla zachycena pouze antioxidační aktivita. Zajímavým byla však silná inhibice gram pozitivní bakterie *Listeria monocytogenes* ($MIC = 2,5 \mu\text{g/ml}$). V extraktu z plodu nebylo možno identifikovat žádné konkrétní fenolické látky použitou standardní metodou.

Rostliny *Momordica charantia* L. a *Solanum stramonifolium* Jacq., divoce rostoucí v přírodě tropických ostrovů Trinidadu a Tobaga, jsou slibnými zdroji nových biologicky aktivních látek, což potvrdily extrakty z tradičně používaných částí rostlin v sérii testů, zkoumajících jejich antioxidační, protizánětlivé, antikarcinogenní a antibakteriální vlastnosti.

Provedené testy umožnily výběr extraktu *M. charantia* (nadzemní část) spolu s extraktem *S. stramonifolium* (list) jakožto vhodných kandidátů pro potravinářský průmysl. Nicméně další selektivní testy budou třeba k schválení vyvíjených produktů.

Výsledky této práce obohatí znalosti o méně zkoumaných druzích tropických rostlin, které obvykle díky environmentálně náročnému prostředí vykazují vyšší biologickou aktivitu sekundárních metabolitů, které produkují k obraně a přežití.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ATCC	Americká referenční kolekce mikroorganismů
BCA	test odbarvování β -karotenu
CFU	kolonie tvořící jednotka
DMEM	Dulbeccovo modifikované Eaglovo médium
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
EI	elektronová ionizace
ESBL	širokospektré beta-laktamasy
ESI	ionizace elektrosprejem
FRAP	Stanovení redukční síly pomocí železitých iontů
HAT	přenos atomu vodíku
HeLa	lidské buňky karcinomu děložního čípku
HepG2	lidské buňky hepatocelulárního karcinomu
INT	<i>p</i> -iodonitrotetrazolium chlorid
LC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
LPS	lipopolysacharid
MCF-7	lidské buňky karcinomu prsu
MRS	kultivační bujón de Man, Rogosa, Sharpe
MRSA	Methicilin resistantní <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	Methicilin sensitivní <i>Staphylococcus aureus</i>
NCI-H460	lidské buňky karcinomu plic
NO	oxid dusnatý
PLP2	játerní vepřová primární buněčná linie
PBS	pufrovaný fyziologický roztok
RAW 264.7	myší makrofágová linie
SET	přenos elektronu
TBARS	reaktivní složky thiobarbiturové kyseliny
UPLC	ultra účinná kapalinová chromatografie

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Schéma experimentu.....	15
Obrázek 2: Kvantitativní zastoupení polyfenolů v extraktu <i>M. charantia</i>	16
Obrázek 3: Kvantitativní zastoupení polyfenolů v listech <i>S. Stramoniifolium</i> ...	17
Obrázek 4: Kvantitativní zastoupení polyfenolů v kořeni a stonku <i>S. stramoniifolium</i>	18
Obrázek 5: Antioxidační aktivita extraktů <i>S. stramoniifolium</i> a <i>M. charantia</i> ...	21
Obrázek 6: Protizánětlivá aktivita extraktů <i>S. stramoniifolium</i> a <i>M. charantia</i> ..	23
Obrázek 7: Antikarcinogenní aktivita a cytotoxicita extraktů <i>S. stramoniifolium</i> a <i>M. charantia</i>	24

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Taxonomická klasifikace rostliny <i>Momordica charantia</i> L.	7
Tabulka 2 Taxonomická klasifikace rostliny <i>Solanum stramoniifolium</i> Jacq.	9
Tabulka 3 Antibakteriální aktivita hrubých extraktů <i>Solanum stramoniifolium</i> a <i>Momordica charantia</i>	20

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] VIEIRA DA SILVA, Beatriz, J. C. M. BARREIRA a M. B. P. P. OLIVEIRA. Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional foods: Extraction, biochemistry and protected-delivery technologies. *Trends in Food Science and Technology*. 2016, **50**, 144–158.
- [2] MORA, Camilo, Derek P TITTENSOR, Sina ADL, Alastair G B SIMPSON a Boris WORM. How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? *PLoS Biology* [online]. 2011, **9**(8), e1001127. ISSN 1544-9173. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pbio.1001127
- [3] PIETERS, Luc a Arnold J. VLIETINCK. Bioguided isolation of pharmacologically active plant components, still a valuable strategy for the finding of new lead compounds? *Journal of Ethnopharmacology* [online]. 2005, **100**(1), 57–60 [vid. 2017-04-27]. ISSN 03788741. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2005.05.029
- [4] PANDEY, Saurabh, Paul N SHAW a Amitha K HEWAVITHARANA. Review of Procedures Used for the Extraction of Anti-Cancer Compounds from Tropical Plants. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 2015, **15**(3), 314–326.
- [5] KUBOLA, Jittawan a Sirithon SIRIAMORNPUN. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter melon (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chemistry* [online]. 2008, **110**(4), 881–890. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2008.02.076
- [6] TROPICOS DATABASE. *Momordica charantia*. *Missouri Botanical Garden* [online]. 2020 [vid. 2020-02-02]. Dostupné z: <http://legacy.tropicos.org/Name/9200010>
- [7] DAS, H B, K MAJUMDAR, B K DATTA a D RAY. Ethnobotanical uses of some plants by Tripuri and Reang tribes of Tripura. *Natural Product Radiance*. 2009, **8**(2), 172–180.
- [8] DANDAWATE, Prasad R, Dharmalingam SUBRAMANIAM, Subhash B PADHYE a Shrikant ANANT. Bitter melon: a panacea for inflammation and cancer. *Chinese Journal of Natural Medicines* [online]. 2016, **14**(2), 81–100. Dostupné z: doi:10.1016/s1875-5364(16)60002-x
- [9] HABICHT, Sandra D, Christine LUDWIG, Ray Yu YANG a Michael B KRAWINKEL. *Momordica charantia* and type 2 diabetes: from in vitro to human studies. *Current diabetes reviews*. 2014, **10**(1), 48–60.
- [10] TAN, Sing P, Tuyen C KHA, Sophie E PARKS a Paul D ROACH. Bitter melon (*Momordica charantia* L.) bioactive composition and health benefits: A review. *Food Reviews International* [online]. 2016, **32**(2), 181–202. Dostupné z: doi:10.1080/87559129.2015.1057843
- [11] UPADHYAY, Aparna, Pooja AGRAHARI a D K SINGH. A Review on Salient Pharmacological Features of *Momordica charantia*. *International Journal of Pharmacology* [online]. 2015, **11**(5), 405–413. Dostupné z: doi:10.3923/ijp.2015.405.413
- [12] GROVER, J K a S P YADAV. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. *Journal of Ethnopharmacology* [online]. 2004, **93**(1), 123–132. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2004.03.035
- [13] FANG, E F a T B NG. Bitter Gourd (*Momordica charantia*) is a Cornucopia of Health: A Review of its Credited Antidiabetic, Anti-HIV, and Antitumor Properties. *Current Molecular Medicine*. 2011, **11**(5), 417–436.
- [14] LEELAPRAKASH, G, J Caroline ROSE, B M GOWTHAM, Pradeep Krishna JAVVAJI a S A

- PRASAD. In vitro antimicrobial and antioxidant activity of Momordica charantia leaves. *Pharmacophore*. 2011, **2**(4), 244–252.
- [15] WHALEN, M D, D E COSTICH a C B HEISER. Taxonomy of Solanum section Lasiocarpa. *Gentes Herbarum*. 1981, **12**, 41–129.
- [16] PARR, A J, F A MELLON, I J COLQUHOUN a H V DAVIES. Dihydrocaffeoyl polyamines (kukoamine and allies) in potato (*Solanum tuberosum*) tubers detected during metabolite profiling. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. 2005, **53**(13), 5461–5466. Dostupné z: doi:10.1021/jf050298i
- [17] DEFILIPPS, R A, S L MAINA, J CREPIN a National Museum of Natural History Department of BOTANY. *Medicinal Plants of the Guianas (Guyana, Surinam, French Guiana)* [online]. B.m.: Department of Botany, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, 2004. Dostupné z: <https://books.google.pt/books?id=GNZYGwAACAAJ>
- [18] AUSTIN, Daniel F a Godfrey R BOURNE. Notes on Guyana's Medical Ethnobotany. *Economic Botany* [online]. 1992, **46**(3), 293–298. ISSN 00130001, 18749364. Dostupné z: <http://www.jstor.org/stable/4255444>
- [19] PEDROLLO, Camilo Tomazini, Valdely Ferreira KINUPP, Glenn SHEPARD JR a Michael HEINRICH. Medicinal plants at Rio Jauaperi, Brazilian Amazon: Ethnobotanical survey and environmental conservation. *Journal of Ethnopharmacology* [online]. 2016, **186**, 111–124. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.03.055>
- [20] SAMEE, Weerasak, Mongkol ENKALOHAKUL, Nakharin NEBBUA, Paradorn DIREKROJANAVUTI, Chayanid SORNCHAITHAWATWONG a Narisa KAMKAEN. Correlation Analysis between Total Acid, Total Phenolic and Ascorbic Acid Contents in Fruit Extracts and Their Antioxidant Activities [online]. 2006, **1**(3), 196–203. Dostupné z: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.590.1123&rep=rep1&type=pdf>
- [21] WETWITAYAKLUNG, P a T PHAECHAMUD. Antioxidant activities and phenolic content of solamun and capsicum sp. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* [online]. 2011, **2**(2), 146–154. Dostupné z: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-79955527262&partnerID=40&md5=d92db0b0ec841de97ef04b08ae86df39>
- [22] SAKUNPAK, A a P PANICHAYUPAKARANANT. Antibacterial activity of Thai edible plants against gastrointestinal pathogenic bacteria and isolation of a new broad spectrum antibacterial polyisoprenylated benzophenone, chamuangone. *Food Chemistry* [online]. 2012, **130**(4), 826–831. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2011.07.088
- [23] SARNTHIMA, Rakrudee a Saranyu KHAMMUANG. Antibacterial Activities of Solanum stramonifolium Seed Extract. *International Journal of Agriculture and Biology*. 2012, **14**(1), 111–115.
- [24] PINGAL, Ramish. *Phytochemical studies on Solanum arboreum, Solanum asperum, Solanum stramonifolium and Solanum triste* [online]. St. Augustine, Trinidad and Tobago, 2008. University of West Indies. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/2139/2484>
- [25] AIRES, Isabel C S, Renato A LIMA a Andrina G S BRAGA. Identificação de Metabólitos Secundários no Extrato Etanólico das Raízes de Solanum stramonifolium (Solanaceae). In: *64º Congresso Nacional de Botânica* [online]. 2013. Dostupné z: <http://www.botanica.org.br/trabalhos-cientificos/64CNBot/resumo-ins20025-id6164.pdf>
- [26] GU, Ronghui, Yuehu WANG, Bo LONG, Edward KENNELLY, Shibiao WU, Bo LIU, Ping LI a Chunlin LONG. Prospecting for Bioactive Constituents from Traditional Medicinal Plants through Ethnobotanical Approaches. *Biol Pharm Bull*. 2014, **37**(6), 903–915.

- [27] CHANDOURA, Hassiba, Joao C M BARREIRA, Lillian BARROS, Celestino SANTOS-BUELGA, Isabel C F R FERREIRA a Lotfi ACHOUR. Seeds of *Opuntia* spp. as a novel high potential by-product: Phytochemical characterization and antioxidant activity. *Industrial Crops and Products* [online]. 2015, **65**, 383–389. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2014.11.011
- [28] EUCAST. *ESCMID: European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* [online]. 2013 [vid. 2016-03-03]. Dostupné z: http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents/
- [29] KLOUCEK, P, Z POLESNY, B SVOBODOVA, E VLKOVA a L KOKOSKA. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Calleria District. *Journal of Ethnopharmacology* [online]. 2005, **99**(2), 309–312. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2005.01.062
- [30] KUETE, Victor, Patrick Y ANGO, Ghislain W FOTSO, Gilbert D W F KAPCHE, Jean P DZOYEM, Arlette G WOUKING, Bonaventure T NGADJUI a Berhanu M ABEGAZ. Antimicrobial activities of the methanol extract and compounds from *Artocarpus communis* (Moraceae). *BMC complementary and alternative medicine* [online]. 2011, **11**. Dostupné z: doi:10.1186/1472-6882-11-42
- [31] PEREIRA, Carla, Ricardo C CALHELHA, Lillian BARROS a Isabel C F R FERREIRA. Antioxidant properties, anti-hepatocellular carcinoma activity and hepatotoxicity of artichoke, milk thistle and borututu. *Industrial Crops and Products*. 2013, **49**, 61–65. ISSN 0926-6690.
- [32] CORREA, Rubia Carvalho Gomes, Aloisio HENRIQUE PEREIRA DE SOUZA, Ricardo C CALHELHA, Lillian BARROS, Jasmina GLAMOCLIIJA, Marina SOKOVIC, Rosane Marina PERALTA, Adelar BRACHT a Isabel C F R FERREIRA. Bioactive formulations prepared from fruiting bodies and submerged culture mycelia of the Brazilian edible mushroom *Pleurotus ostreatoroseus* Singer. *Food & Function* [online]. 2015, **6**(7), 2155–2164. Dostupné z: doi:10.1039/c5fo00465a
- [33] BARROS, Lillian, Eliana PEREIRE, Ricardo C CALHELHA, Montserrat DUENAS, Ana Maria CARVALHO, Celestino SANTOS-BUELGA a Isabel C F R FERREIRA. Bioactivity and chemical characterization in hydrophilic and lipophilic compounds of *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of Functional Foods* [online]. 2013, **5**(4), 1732–1740. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2013.07.019
- [34] MADALA, N E, F TUGIZIMANA a P A STEENKAMP. Development and Optimization of an UPLC-QTOF-MS/MS Method Based on an In-Source Collision Induced Dissociation Approach for Comprehensive Discrimination of Chlorogenic Acids Isomers from *Momordica* Plant Species. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* [online]. 2014. Dostupné z: doi:10.1155/2014/650879
- [35] NARVÁEZ-CUENCA, Carlos-Eduardo, Jean-Paul VINCKEN a Harry GRUPPEN. Identification and quantification of (dihydro) hydroxycinnamic acids and their conjugates in potato by UHPLC–DAD–ESI-MSn. *Food chemistry*. 2012, **130**(3), 730–738. ISSN 0308-8146.
- [36] HODEK, P. Flavonoids. In: *Metabolism of Drugs and Other Xenobiotics* [online]. 2012, s. 543–582. Dostupné z: doi:10.1002/9783527630905.ch20
- [37] PRIOR, R L, X L WU a K SCHAICH. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. 2005, **53**(10), 4290–4302. Dostupné z: doi:10.1021/jf0502698
- [38] WU, ShuJing a LeanTeik NG. Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. *Lwt-Food Science and Technology* [online]. 2008, **41**(2), 323–330. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2007.03.003
- [39] PULIDO, R, L BRAVO a F SAURA-CALIXTO. Antioxidant activity of dietary polyphenols as

- determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. 2000, **48**(8), 3396–3402. Dostupné z: doi:10.1021/jf9913458
- [40] VON GADOW, A, E JOUBERT, C F HANSMANN, A VONGADOW, E JOUBERT a C F HANSMANN. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalathus linearis*), alpha-tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. 1997, **45**(3), 632–638. Dostupné z: doi:10.1021/jf960281n
- [41] YANG, Chunyan, Fu LI, Xiaolong ZHANG, Lun WANG, Zhiqiong ZHOU a Mingkui WANG. Phenolic antioxidants from *Rosa soulieana* flowers. *Natural Product Research* [online]. 2013, **27**(21), 2055–2058. Dostupné z: doi:10.1080/14786419.2013.811660
- [42] HSU, Chin, TsungHsien TSAI, YouYi LI, WenHuey WU, ChingJang HUANG a PoJung TSAI. Wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) extract and its bioactive components suppress *Propionibacterium acnes*-induced inflammation. *Food Chemistry* [online]. 2012, **135**(3), 976–984. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2012.05.045
- [43] LII, ChongKuei, HawWen CHEN, WenTzu YUN a KaiLi LIU. Suppressive effects of wild bitter gourd (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* ser.) fruit extracts on inflammatory responses in RAW 264.7 macrophages. *Journal of Ethnopharmacology* [online]. 2009, **122**(2), 227–233. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2009.01.028
- [44] LEE, S J, S Y LEE, H J HA, S H CHA, S K LEE a S J HUR. Rutin attenuates lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in macrophage cells. *Journal of Food and Nutrition Research* [online]. 2015, **3**(3), 202–205. Dostupné z: doi:10.12691/jfnr-3-3-12
- [45] SOBERON, Jose R, Melina A SGARIGLIA, Diego A SAMPIETRO, Emma N QUIROGA a Marta A VATTUONE. Free radical scavenging activities and inhibition of inflammatory enzymes of phenolics isolated from *Tripodanthus acutifolius*. *Journal of Ethnopharmacology* [online]. 2010, **130**(2), 329–333. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2010.05.015
- [46] ROGERIO, A P, A KANASHIRO, C FONTANARI, E V G DA SILVA, Y M LUCISANO-VALIM, E G SOARES a L H FACCIOLI. Anti-inflammatory activity of quercetin and isoquercitrin in experimental murine allergic asthma. *Inflammation Research* [online]. 2007, **56**(10), 402–408. Dostupné z: doi:10.1007/s00011-007-7005-6
- [47] LEE, HyangBok, EunKi KIM, SangJae PARK, Sang Gu BANG, Tae Gil KIM a Dae Won CHUNG. Isolation and anti-inflammatory effect of astragalins synthesized by enzymatic hydrolysis of tea seed extract. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2011, **91**(13), 2315–2321. Dostupné z: doi:10.1002/jsfa.4457
- [48] LIANG, Ningjian a David D KITTS. Role of Chlorogenic Acids in Controlling Oxidative and Inflammatory Stress Conditions. *Nutrients* [online]. 2016, **8**(1). Dostupné z: doi:10.3390/nu8010016
- [49] CAROCHO, Marcio, Maria Filomena BARREIRO, Patricia MORALES a Isabel C F R FERREIRA. Adding Molecules to Food, Pros and Cons: A Review on Synthetic and Natural Food Additives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2014, **13**(4), 377–399. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12065

SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORA

Příspěvky v recenzovaných periodických s impakt faktorem

SVOBODOVÁ, B., BARROS, L., ŠOPÍK, T., CALHELHA, R.C., HELENO, S., ALVES, M.J., WALCOTT, S., KUBÁŇ, V., FERREIRA, I.C.F.R.. Non-edible parts of *Solanum stramonifolium* Jacq. – a new potent source of bioactive extracts rich in phenolics compounds for functional foods. *Food and Function*. 2017, č. 8, s. 2013-2021.

SVOBODOVÁ, B., BARROS, L., CALHELHA, R.C., HELENO, S., ALVES, M.J., WALCOTT, S., BITTOVÁ, M., KUBÁŇ, V., FERREIRA, I.C.F.R.. Bioactive properties and phenolic profile of *Momordica charantia* L. medicinal plant growing wild in Trinidad and Tobago. *Industrial Crops and Products*. 2017, č. 95, s. 365-373.

TESAŘOVÁ, H., **SVOBODOVÁ, B.**, KOKOŠKA, L., MARŠÍK, P., PŘIBYLOVÁ, M., LANDA, P., VADLEJCH, J. Determination of oxygen radical absorbance capacity of black cumin (*Nigella sativa*) seed quinone compounds. *Natural Product Communications*. 2011, č. 2, s. 213-6. ISSN: 1934-578X.

HALAMOVÁ, K., KOKOŠKA, L., FLESAR, J., SKLENIČKOVÁ, O., **SVOBODOVÁ, B.**, MARŠÍK, P. In vitro antifungal effect of black cumin seed quinones against dairy spoilage yeasts at different acidity levels. *Journal of Food Protection*. 2010, roč. 73, č. 12, s. 2291-5. ISSN: 0362-028X.

SVOBODOVÁ, B., ORSÁK, M., LACHMAN, J., VADLEJCH, J., KOKOŠKA, L. Evaluation of in vitro antioxidant activity of selected Peruvian medicinal plants. *Planta Medica*, 2009, roč. 75, č. 9, s. 940 - 941. ISSN: 0032-0943.

KLOUČEK P., **SVOBODOVÁ B.**, POLESNÝ Z., LANGROVÁ I., SMRČEK S., KOKOŠKA L. Antimicrobial activity of some medicinal barks used in Peruvian Amazon. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, č. 111, s. 427-429. ISSN: 0378-8741

KLOUČEK P., POLESNÝ Z., **SVOBODOVÁ B.**, VLKOVÁ E., KOKOŠKA L. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Calleria District. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, č. 99, s. 309-312. ISSN: 0378-8741

Příspěvky v recenzním řízení v periodických s impakt faktorem

SVOBODOVÁ, B., POLESNÁ, L., ORSÁK, M., VADLEJCH, J., LACHMAN, J., KUBÁŇ, V., KOKOŠKA, L. Evaluation of In Vitro Antioxidant Activity of Peruvian Medicinal Plant Extracts. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. (11/2019)

STROPNICKÝ, M., TAUCHEN, J., LAPAČKOVÁ, J., KOUYATE, A. M., VAN DAMME, P., **SVOBODOVÁ, B.**, KOKOŠKA, L. Antioxidant capacity of bark extracts from Malian medicinal plants. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. (11/2019)

Příspěvky v recenzovaných periodických bez impakt faktoru

PHAN, T.T.D., BITTOVÁ, M., MIKULÁŠEK, K., KUBÁŇ, V., KRÁČMAR, S., VALÁŠEK, P., **SVOBODOVÁ, B.** Content of 4(5)-methylimidazole, caffeine and chlorogenic acid in commercial coffee brands. *Potravinářstvo*, 2015, č. 9, s. 31-38.

ŠIVEL, M., FIŠERA, M., KLEJDUS, B., KRÁČMAR, S., KUBÁŇ, V., GOLIAN, J., **SVOBODOVÁ, B.** Lutein in food supplements available on the markets of the viszegrad countries. *Potravinářstvo*. 2014, č. 8, s. 261-266.

VOJTÍŠKOVÁ, P., ŠVEC, P., KUBÁŇ, V., KREJZOVÁ, E., BITTOVÁ, M., KRÁČMAR, S., **SVOBODOVÁ, B.** Chemical composition of buckwheat plant parts and selected buckwheat products. *Potravinářstvo*. 2014, č. 8, s. 247-253.

Vybrané příspěvky ve sbornících z mezinárodních konferencí

SVOBODOVÁ, B., RAK, J., KUBÁŇ, V., KAŠPÁRKOVÁ, V., ČUBOŇ, J. Fatty acids profile of wild boar fat used for traditional herbal salves in Moravian Slovakia. 23. Silae Congress , 7. – 12. 9. 2014, Marsala, Italy. ISSN 1827-8620.

SVOBODOVÁ, B.; RAK, J.; KUBÁŇ, V.; KOKOŠKA, L.; LEUNER, O. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of *Naucleopsis glabra* (Moraceae) from Peru. 23. Silae Congress , 7. – 12. 9. 2014, Marsala, Italy. ISSN 1827-8620.

Kapitola v knize

SVOBODOVÁ, B., KUBÁŇ, V. : *Solanaceae: A family well-known and still surprising*. In: *Phytochemicals in Vegetables: A Valuable Source of Bioactive Compounds* (Petropoulos S. A., Ferreira I. C. F. R., Barros L. Eds.). Bentham Science Publishers, 2018, pp. 296-372. Print ISBN: 978-1-68108-740-5, eISBN: 978-1-68108-739-9

Studijní opora

SVOBODOVÁ, B.: *Toxikologie*. Studijní opora, OPVK projekt CZ.1.07/2.2.00/28.0185, Univerzita Tomáše Bati, 2015. Digitální kopie ve formátu PDF dostupná z (URN): http://vyuka.flkr.utb.cz/pluginfile.php/8024/mod_folder/content/0/Texty%20OPVK%20Toxikologie.pdf?forcedownload=1

ŽIVOTOPIS AUTORA

OSOBNÍ ÚDAJE

Jméno: RNDr. Blanka Svobodová, Ph.D.
Datum narození: 7. září 1979
E-mail: bsvobodova@utb.cz

VZDĚLÁNÍ

2013+ Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická
doktorské studium v oboru **Technologie potravin**
2010 Karlova Univerzita v Praze, Přírodovědecká fakulta
titul RNDr v oboru **Klinická a toxikologická analýza**
2006 - 9 Česká zemědělská univerzita v Praze,
doktorské studium v oboru **Agrikultura tropů a subtropů**
2004 - 6 Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta
magisterské studium v oboru **Klinická a toxikologická analýza**

ODBORNÁ PRAXE

2016 *Erasmus+*, Instituto Politecnico de Beja, **Portugalsko**, 2 měsíce
2016 *Erasmus+*, Instituto Politecnico de Braganca, **Portugalsko**,
4 měsíce
2015 16. škola hmotnostní spektrometrie, Frymburk (13. – 18. září)
2014+ *Freemover*, Livet Ltd., **Trinidad and Tobago**, opakovaně
Odborný konzultant v oblasti chemie a toxikologie potravin,
výživových doplňků a přírodních produktů. Odborné semináře,
workshopy a pořady v rádiu ohledně výživy, problematiky chemie
v potravinách atd.
2014 *Lektor semináře předmětu* Základy toxikologie, Univerzita Tomáše
Bati ve Zlíně, Fakulta logistiky a krizového řízení
2013 *Pracovní stáž pro PhD studenty*, Slovenská poľnohospodárska
univerzita v Nitre, **Slovenská Republika**, 2 měsíce
2009 *Pracovní stáž pro PhD studenty*, Department of Chemistry,
University of West Indies, St. Augustine campus, **Trinidad and
Tobago**, 2 měsíce
2008 *Erasmus*, Centro de Investigación de Química Ambiental,
Universidad Politécnica de Valencia, **Španělsko**, 6 měsíců
2006 – 2008, 2002 *Laborant*, Ústav organické chemie a biochemie AV
ČR, sekce Steroidy: Syntéza derivátů brassinosteroidů.

PROJEKTY

- 2017 *Použití přídatných a jiných funkčních látek ve vybraných potravinách. IGA/FT/2017/004*, spoluřešitel
- 2016 *Aplikace přídatných a jiných funkčních látek ve výrobě vybraných potravin. IGA/FT/2016/003*, spoluřešitel
- 2015 *Studium funkce vybraných přídatných a biologicky aktivních látek v potravinách. IGA/FT/2015/004*, spoluřešitel
- 2014 *Aplikace fosforečnanů a hydrokoloidů do vybraných potravin. IGA/FT/2014/001*, spoluřešitel
- 2008-2012 *Využití synbiotik a rostlinných extraktů ve výživě lidí a zvířat. Grantová agentura České republiky GAČR 525/08/H060*, spoluřešitel
- 2008-2009 *Peruánské léčivky jako zdroj nových biologicky aktivních látek. Celouniverzitní interní grant CIGA 200085001*, hlavní řešitel
- 2008 *Využití antimikrobiální aktivity esenciálních olejů v plynné fázi pro konzervaci potravin. Celouniverzitní interní grant CIGA 20082009*, spoluřešitel
- 2008 *Analýza biologicky aktivních látek z peruánských léčivých rostlin Naucleopsis glabra a Pterocarpus rohrii. Interní grant IG 3109/2008*, hlavní řešitel
- 2007 *Antioxidační aktivita vybraných léčivých rostlin z Peru. Interní grant IG 8/2007*, hlavní řešitel

Vědecké identifikátory autora (ke 14.1.2021)	Blanka Svobodová
Researcher ID/Publons	B-1126-2014
publikace	16
citovanost	151
h-index	5
Orcid ID	0000-0003-1212-4919
Scopus Author ID:	56584328700

RNDr. Blanka Svobodová, Ph.D.

**Studium biologicky aktivních extraktů z vybraných léčivých
rostlin pro využití v moderním potravinářském průmyslu**

Study of biologically active extracts from selected medicinal plants
for application in modern food industry

Teze disertační práce

Vydala Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně,
nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01 Zlín.

Náklad: vyšlo elektronicky

Sazba: autor

Publikace neprošla jazykovou ani redakční úpravou.

Rok vydání 2021

Pořadí vydání: první

ISBN 978-80-7454-906-9

