

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
**KATEDRA FARMAKOGNOZIE A FARMACEUTICKÉ BOTANIKY**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Hodnocení obsahu flavonoidů u různých druhů rostlin rodu**  
**Bergenia**

**Vypracovala: Almíra Marková**

**Vedoucí diplomové práce: doc. PharmDr. Lenka Tůmová, CSc.**

**Oponent diplomové práce: PharmDr. Jana Karlíčková, Ph.D.**

**Hradec Králové, 2022**

**Poděkování:**

Děkuji své školitelce doc. PharmDr. Lence Tůmové, CSc. za její odborné vedení, cenné rady a připomínky a za trpělivost při vypracovávání této diplomové práce.

Poděkovat za podporu chci i mým nejbližším, a to nejen při psaní této práce, ale i po celou dobu studia.

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

V Hradci Králové, 12. 5. 2022



Almila Marková

# OBSAH

1	ÚVOD .....	1
2	CÍL .....	2
3	TEORETICKÁ ČÁST.....	3
3.1	Botanický popis a výskyt rostlin rodu <i>Bergenia</i> .....	3
3.1.1	<i>Bergenia crassifolia</i> (L.) Fritsch.....	7
3.1.2	<i>Bergenia ciliata</i> (Haw.) Sternb.....	9
3.1.3	<i>Bergenia x ornata</i> Guill.....	10
3.2	Obsahové látky .....	11
3.2.1	Flavonoidy .....	12
3.2.2	Biosyntéza flavonoidů .....	14
3.2.3	Vlastnosti a použití flavonoidů .....	16
3.2.4	Vybrané flavonoidy obsažené ve zkoumaných druzích rodu <i>Bergenia</i> .....	17
3.2.5	Další významné obsahové látky.....	20
3.3	Biologický účinek látek obsažených v druzích rodu <i>Bergenia</i> .....	28
3.3.1	Antibakteriální aktivita .....	28
3.3.2	Antidiabetická aktivita.....	28
3.3.3	Protizánětlivá aktivita.....	29
3.3.4	Antipyretická aktivita.....	29
3.3.5	Antioxidační aktivita .....	30
3.3.6	Antimalarická aktivita.....	30
3.3.7	Antitusická aktivita .....	31
3.3.8	Antihypertenzní aktivita .....	31
3.3.9	Litolytická aktivita.....	32
3.3.10	Antiulcerózní aktivita.....	32
3.3.11	Protirakovinná aktivita .....	33
3.3.12	Adaptogenní aktivita .....	33
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	34
4.1	Chemikálie a pomocné látky .....	34
4.2	Přístrojové vybavení .....	34
4.3	Rostlinný materiál .....	34
4.4	Postup stanovení.....	36
5	VÝSLEDKY.....	37
5.1	Statistické zpracování výsledků .....	39

5.1.1	Aritmetický průměr .....	39
5.1.2	Rozptyl .....	39
5.1.3	Směrodatná odchylka .....	39
5.1.4	Analýza rozptylu .....	40
5.1.5	Bonferroniho korekce.....	43
6	DISKUSE .....	50
7	ZÁVĚR .....	54
8	OBRÁZKOVÁ PŘÍLOHA .....	55
9	CITOVANÁ LITERATURA.....	62
10	SEZNAM OBRÁZKŮ .....	70
11	SEZNAM TABULEK .....	72
12	ABSTRAKT .....	73
13	ABSTRACT .....	74

# 1 ÚVOD

Vztah rostlin a lidí je starý jako lidstvo samo. Nejstarší písemná zpráva o rostlinných léčivech je Pen Ts'ao od Shen Nunga z Číny a pochází z roku 2800 př. n. Jde o nejstarší známý lékopis. Obsahuje 365 různých léčiv pocházejících z minerálů, rostlin a zvířat, které Shen Nung osobně vyzkoušel a popsal. Zatím jsme dokázali využít jen zlomek potenciálu přírodních zdrojů rozmanitých a inovativních chemických struktur. Léčivé rostliny jsou zdrojem širokého spektra potenciálně užitečných léčiv. Více než 60 % komerčně vyráběných léčivých přípravků vychází z využití léčivých rostlin v tradiční medicíně, která dosud hraje významnou roli v léčbě onemocnění zejména v rozvojových zemích.

Bergenie rostoucí v místech svého původního výskytu využívají tamní etnika odnepaměti k léčebným účelům. V místech, kam se dostaly importem, je zatím oceňována a využívána hlavně jejich okrasná hodnota. Droga z listů a oddenků má litolytické, antioxidační, protizánětlivé, antipyretické či antitusické vlastnosti. Díky bohatému a různorodému souboru obsahových látek (třísloviny, flavonoidy, arbutin, bergenin) je neustále předmětem výzkumu.

(1; 2; 3)

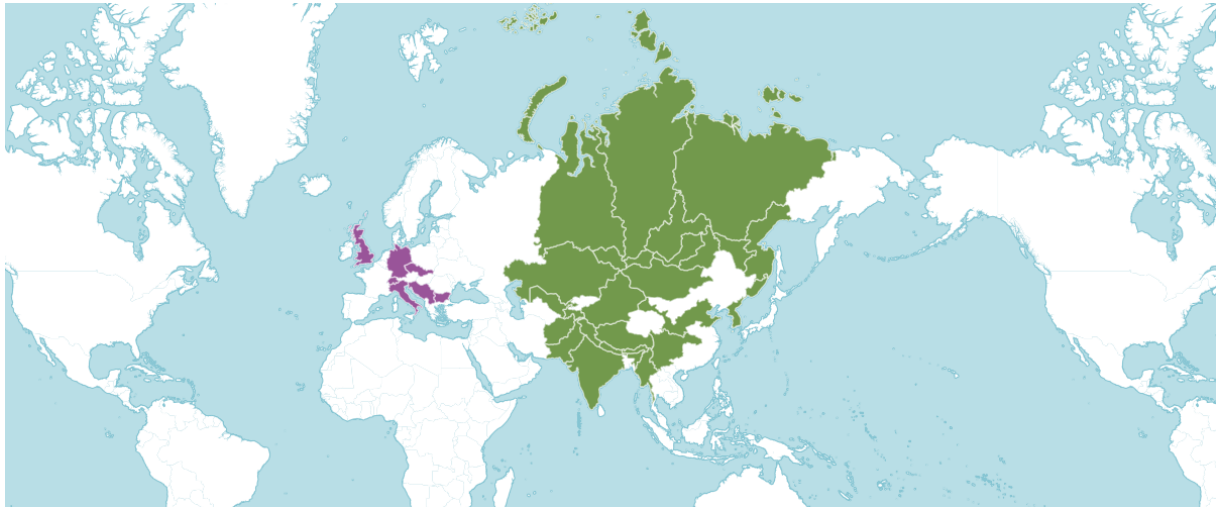
## 2 CÍL

Cílem diplomové práce bylo hodnocení obsahu flavonoidů u různých druhů rostlin rodu *Bergenia* z čeledi Saxifragaceae: *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch, *Bergenia ciliata* (Haw.) Sternb. a *Bergenia ornata* Stein. a sledování obsahu flavonoidů v závislosti na době sběru. Obsah flavonoidů byl stanovován spektrofotometricky.

Tato práce navazuje na disertační práci *Fytochemická studie jednotlivých taxonů rostlin rodu Bergenia* Mgr. Heleny Hendrychové pod vedením doc. PharmDr. Lenky Tůmové, CSc., publikované v roce 2015. Doplnjuje souhrnný přehled stanovovaných obsahových látek ve vybraných zkoumaných druzích rodu *Bergenia* o celkový obsah flavonoidů.

### 3 TEORETICKÁ ČÁST

#### 3.1 Botanický popis a výskyt rostlin rodu *Bergenia*



**Obrázek 1:** Mapa světa zobrazující geografické rozšíření druhů *Bergenie*, zeleně jsou zobrazeny areály přirozeného výskytu, fialově pak oblast, kam byly druhy introdukovány. (4)

Rod *Bergenia* pojmenoval Konrad Mönch na počest botanika Karla Augusta von Bergen (1704–1759). Spadá do čeledi Saxifragaceae (lomikamenovité).

V současnosti zahrnuje rod *Bergenia* asi 32 známých druhů, z nichž devět má farmakologický význam. Tento počet se v různých literárních zdrojích dost liší. Borissova a později Yeo popisuje vedle šesti druhů také řadu zahradních hybridů. Pan rozpoznává devět druhů rozdělovaných do pravděpodobně parafyletických sekcí *Scopulosae*, *Bergeniae* a *Ciliatae*, a desátý popsal ze Sečuánu.

Všechny *bergenie* jsou charakteristické silnými plazivými oddenky, nápadně velkými tuhými listy a masitými stonky s množstvím velikých, pětičetných, diplostemonických květů v cymózních květenstvích.

Sekci *Scopulosae* zastupuje jediný taxon – *Bergenia scopulosa* T.P.Wang. Od typové skupiny se liší jen zcela lysými květenstvími. Vyskytuje se na lesnatých svazích Čchin-lingských horských hřebenů.

Druhy typové sekce *Bergeniae* mají celokrajné nebo vroubkované, trichomů prosté listy, květy mají žláznatě chlupaté stopky a kalichy. *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch má veliké, široce obvejčité nebo téměř okrouhlé listy s okrouhlou či klínovitou bází. Zvonkovité, obvyklé poniklé



květy ve stažených latách, podpíraných nápadnými toulci vyrůstají na červeně naběhlých, až půl metru vysokých stoncích. Jsou růžově purpurové, u některých východoasijských populací bledě růžové (*B. koreana* Nakai) až temně purpurové (*B. pacifica* Kom.). Na zalesněných severních svazích středoasijských a sibiřských hor porůstá skalní suti, někdy v souvislých porostech údajně o několika čtverečních kilometrech.

*Bergenia cordifolia* (Haw.) Sternb. bývá o poznání robustnější, má okrouhlé, puchýřnatě prolamované listy se ztlustlými okraji a srdčitými bázemi, sytě růžové květy jsou v rozvolněných latách vzpřímeně postaveny, přesto je považována za altajskou rasu předešlého druhu.

*Bergenia purpurescens* (Hook & Thoms) Engl. má neveliké obvejčité listy s klínovitě staženými bázemi, nad nimiž vysoko vyrůstají sytě červené stonky s velikými, poniklými, svítivě purpurovými zvonkovými květy s nápadně žláznatými kalichy. Obývá tibetské vysokohorské pastviny, řídké subalpínské křoviny a kamenité hole, odkud po himalájských svazích vystupuje k 4800 m n. m. v horách nepálských a myanmarských.

Druhy sekce *Ciliatae* mají listy s krátkými, pochvatě ligulátními řapíky po obvodu či alespoň na pochvách brvitě, květní stopky a kalichy jsou zpravidla žláznaté.

*Bergenia stracheyi* (Hook. & Thoms.) Engl. má lysé, opakvejčité listy s brvitě pilovitými okraji. Často tvoří několik květenství z listové růžice. Na růžově stínovaných, žláznatých stvolech nanejvýš čtvrt metru vysokých nese množství bílých nebo bledě růžových, poniklých, úzce zvonkovitých a vonných květů. Roste na vlhkých skalách Tibetu a Pamíru.

*Bergenia emeiensis* Wu & Pan má brvitě pouze pochvy na řapících úzce obvejčitých, v zimě nečervenajících listů. Květy v nepřiliš bohatých latách jsou poniklé a nápadně veliké. Bíle kvetoucí typové populace vystupují jen zřídka nad 1000 m n.m., růžově kvetoucí varieta vystupuje na lesnatých svazích západních sečuánských hřebenů podstatně výše až k 4200 m n.m.

Jiný sečuánský endemit, sytě růžově kvetoucí *Bergenia tianquanensis* Pan má listy hrubě zubatě vyřezávané a po okraji jen při bázi brvitě.

Další příbuzné druhy ze subalpínských poloh středoasijských velehor jsou purpurově kvetoucí tianshanská *Bergenia ugamica* Pavlov a bělokvětá pamířská *Bergenia hissarica* Boriss..

*Bergenia ciliata* (Haw.) Sternb. je extrémně proměnlivý taxon s listy v zimě zatahujícími a brvitými nejen po obvodu, ale i po téměř okrouhlých čepelích. Bíle anebo do růžova zbarvené

květy jsou široce zvonkovité se žláznatými, často červenými kalichy. Roste na skalnatých západohimalájských svazích, v květu často namrzá. Významné jsou její hybridy. *Bergenia pacumbis* (Buch.-Ham.) Wu & Pan byla donedávna považována za lysou rasu předešlého druhu s listy jen v náznaku brvitě pilovitými a s lými květními kalichy. Kvete bíle nebo růžově a roste v tibetských a západohimalájských lesích. (1; 5; 6)

**Tabulka 1:** Původní druhy rodu *Bergenia* a jejich původ (5)

Taxon	Původ	Altitude	Sekce
<i>B. ciliata</i> Sternb.	Nepál, Afghanistan, Pákistán	1800–3000	Ciliatae
<i>B. crassifolia</i> Fritsch.	Primorje, Korea, Sin-ťiang	(200)–2000	Bergenia
<i>B. emeiensis</i> Wu	S'-čchuan	1600–4200	Ciliatae
<i>B. hissarica</i> Boriss.	Uzbekistán	1200–1600	Ciliatae
<i>B. pacumbis</i> Wu & Pan	z Tibetu a Yunnanu do Nepálu	1200 – 3000	Ciliatae
<i>B. purpurascens</i> Engl.	z Tibetu a Yunnanu do Nepálu	2800 – 4800	Bergenia
<i>B. scopulosa</i> Wang.	Šen-si	2400 – 3600	Scopulosae
<i>B. stracheyi</i> Engl.	z Tibetu do Afghanistanu	3000 – 4600	Bergenia
<i>B. tianquanensis</i> Pan	S'-čchuan	2200 – 3400	Ciliatae
<i>B. ugamica</i> Pavlov	Kazachstán	2600 – 2800	Ciliatae

**Tabulka 2:** Taxonomicky významné znaky původních druhů (5)

Taxon	List	Květy	Kalichy
<i>B. ciliata</i> Sternb.	± okrouhlý, pýřitý, vroubkovaný	bílé, růžové	žláznaté
<i>B. crassifolia</i> Fritsch.	opakvejčitý, lysý, celokrajný	purpurové	žláznaté
<i>B. emeiensis</i> Wu	úzce opakvejčitý, celokrajný	bílé, růžové	žláznaté
<i>B. hissarica</i> Boriss.	± opakvejčitý s brvitými okraji	růžovobílé	lyse
<i>B. pacumbis</i> Wu & Pan	± okrouhlý, s brvitými okraji	bílé, růžové	řídce pýřité
<i>B. purpurascens</i> Engl.	opakvejčitý, lysý, zubaté okraje	purpurové	pýřité
<i>B. scopulosa</i> Wang.	± okrouhlý, zvlněný, lysý	růžové	lyse
<i>B. stracheyi</i> Engl.	opakvejčitý, zubatý, brvitý okraj	červenavé	pýřité
<i>B. tianquanensis</i> Pan	obvejčitý, žláznatý, okraj brvitý	červenavé	pýřité
<i>B. ugamica</i> Pavlov	± elipčitý, vroubkované okraje	purpurové	pýřité

Křížením původních druhů vzniklo mnoho hybridů využívaných převážně jako okrasné rostliny. Jejich výčet a stručný botanický popis je uveden v následující tabulkách. Tučně zvýrazněný je hybrid, kterým se zabývá tato práce.

**Tabulka 3:** Pojmenované hybridy (5)

Hybrid	Popsáno	Rodičovské druhy
<i>B. x beesiana</i> Scheider	1960	<i>B. crassifolia</i> Fritsch x <i>B. purpurascens</i> Engl.
<i>B. x meadia</i> Engl.	1821	<i>B. cordifolia</i> Sternb. x <i>B. crassifolia</i> Fritsch
<i>B. x newryensis</i> Yeo	1883	<i>B. cordifolia</i> Sternb. x <i>B. purpurascens</i> Engl.
<b><i>B. x ornata</i> Guill.</b>	<b>1878</b>	<b><i>B. ciliata</i> Sternb. x <i>B. crassifolia</i> Fritsch</b>
<i>B. x schmidtii</i> Silva-Tar.	1878	<i>B. pacumbis</i> Wu&Pan x <i>B. crassifolia</i> Fritsch
<i>B. x spathulata</i> Guill.	1928	<i>B. ciliata</i> Sternb. x <i>B. strachey</i> Fritsch.

**Tabulka 4:** Taxonomicky významné znaky hybridů (5)

Hybrid	List	Okvětní lístky	Kalichy
<i>B. x beesiana</i> Scheider	obvejčitý, lysý, okraj pilovitý	purpurové	± lysé
<i>B. x meadia</i> Engl.	± okrouhlý, lysý, okraj ± pilovitý	bílé, růžové	± žláznaté
<i>B. x newryensis</i> Yeo	± okrouhlý, ± lysý, okraj pilovitý	purpurové	± žláznaté
<b><i>B. x ornata</i> Guill.</b>	<b>± okrouhlý, ± pýřitý, okraj brvitý</b>	<b>bílé, růžové</b>	<b>žláznaté</b>
<i>B. x schmidtii</i> Silva-Tar.	± okrouhlý, ± lysý, okraj brvitý	růžové	± žláznaté
<i>B. x spathulata</i> Guill.	úzce vejčitý, lysý, brvitě pilovitý	purpurové	± brvitě

### 3.1.1 *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch

#### 3.1.1.1 Botanický popis

Synonyma: *Saxifraga crassifolia* L., *B. bifolia* Moench; tibetské jméno: Gadur, Mongolské jméno: Badgar, Tutaannavchit, Badaan; anglické jméno: Leatherleaf Berginia, Thicketleaved Berginia, Pigsqueak (podle zvuku, který listy vydávají, když se třou o sebe), elephant's ears, Mongolian tea, Siberian tea; české jméno: bergénie tučnolistá, badan tučnolistý.

V roce 1753 ji Linné popsal pod názvem *Saxifraga crassifolia* a K. Fritsch přiřadil rostlinu rodu *Bergenia*.

Je to víceletá bylina s tlustými poléhavými oddenky a přezimujícími listy, které jsou téměř kulaté, kožovité a lesklé v délce cca 35 cm. Listy tvoří růžici, která se posunuje s růstem oddenku a odumíráním starých listů. V místech původního výskytu kvete v květnu až začátkem června. Květenství je světle fialovorůžové, plody jsou tobolky velmi drobných černých semen, dozrávající v červenci až srpnu. V plané formě se vyskytuje v horách Altaje, Sajanách, Tuvě a v okolí Bajkalu, oblast výskytu se táhne až do horských lesních oblastí Mongolska. *Bergenie* roste dobře v nižší části kamenitých návrší na severních nebo na severozápadních svazích a v řídkých lesích a údolích řek. Snáší zastínění a může růst v polostínu, ale silné zastínění se může odrazit na slabší intenzitě kvetení. Méně je zastoupena na východních a jihozápadních svazích, na jižních svazích roste jen na holinách vzniklých vykácením lesa nebo na požářištích. Ve vyhovujících podmínkách vytváří souvislé porosty, jejichž průměrná produktivita je šest až sedm tun oddenků s listy na jeden hektar. Prozkoumaná stanoviště na východním pobřeží Bajkalu dovolují každoroční sběr až 36 000 tun drogy. Při sklizni by nemělo docházet k plošnému sběru rostlin, je potřeba nechat v porostech nedotčených 10–15 % rostlin pro zabezpečení jejich rozmnožení. Podle prastaré legendy nechávali mongolští a sibiřští obyvatelé každý desátý kořen *bergenie* v lese k jejímu rozmnožení. I proto je Sibiř a Mongolsko stále bohatým zdrojem této drogy. Hlavní oblastí sběru jsou badanové a borůvkovobadanové typy lesa na jihu Sibiře. Oddenky se sklízí celé léto, do konce vegetační periody, jejich sklizeň probíhá snadno, protože se nacházejí při povrchu. Sklizené oddenky se očistí od hlíny a malých kořínků, promyjí studenou vodou, nakrájí na malé kousky a suší se ve slabší vrstvě. Oddenky nechané na hromadách déle než tři dny, snadno zahnívají. Při nesprávném sušení oddenků se výrazně snižuje jejich kvalita. Obvykle se nechají oddenky nejprve zavadnout na sušácích a pak se dosušují v sušárnách do stabilního obsahu vody v sušině. Sušení trvá zhruba tři týdny,

za tu dobu se váha oddenků sníží na 30–35 %. Oddenky obsahují 15–27 % tříslovin. Rychlé sušení snižuje množství tříslovin a pomalé pomáhá udržet jejich obsah. Dobře vysušené oddenky mají na lomu světle žlutou barvu. Drogu lze skladovat až 4 roky. Vlastnosti drogy z oddenku jsou definovány v ruském lékopise, obsah tříslovin musí být nejméně 20 %. Kvalita a vlastnosti drogy z listů jsou regulovány ruskou technickou normou TU 9373-131-00482192-96 „Listy badanu“. (7; 8; 9; 10; 11)

### 3.1.1.2 Použití

K léčebným účelům se využívá především oddenek, méně často listy bergénie. Listy se používají zejména v lidovém léčitelství. Sklízí se na konci léta. Literatura uvádí, že v tomto období je jejich léčivý účinek největší. Listy obsahují 13–23 % tříslovin. Se stářím rostliny obsah tříslovin v listech klesá, ale v kořenech a oddencích naopak roste.

Vnitřně se přípravky z bergénie užívají k léčbě horečky, nachlazení, bolesti hlavy, gastritidy průjmu, neinfekční kolitidy a enterokolitidy a působí efektivně proti úplavici a *E. coli*. Zevně se používají ve stomatologii ke kloktání při chronických zánětech dutiny ústní a k potírání dásní, v gynekologii pro výplachy při léčbě erozí děložního čípku. Extrakt z oddenků se také používá pro zpevnění stěny krevních kapilár, k zastavení krvácení po potratu a zmírňuje silnou menstruaci. Prášek z kořenů a oddenků bergénie se používá k hojení ran a jako protizánětlivý prostředek. Léčivé vlastnosti bergénie jsou široce využívány také v kosmetologii. Používá se ve formě pleťových vod k léčbě mastné seborey obličeje, vlasů, rozšířených pórů, seboroické dermatitidy, akné a při nadměrném pocení. Má také adaptogenní účinky.

Burjati a Mongolové používají mladé listy *B. crassifolia* k přípravě čaje. V oblasti Altaje se však čaj připravuje ze starých zčernalých listů („čagyrský čaj“), které obsahují méně tříslovin. Staré spodní listy pravidelně odumírají, vysychají a zčernají. Právě z těchto černých listů, které celou zimu ležely pod sněhem, se pak připravuje chutný čaj anebo se přidávají do bylinných čajových směsí. Usušené listy se musí použít do dvou let. Tibeťané si potírají kůži pastou z čerstvých listů, aby ji ochránili před škodlivým působením UV záření. Žvýkání listů pomáhá ulevovat od zácpy a šťáva z listů se používá k léčbě bolesti uší.

Je zajímavé, že listy a oddenky bergénie tučnolisté se běžně používají v lidovém léčitelství, ale jediný zdroj, který definuje vlastnosti nebo dávku této drogy je Ruský lékopis, kde je oddenek *B. crassifolia* uveden jako lékopisná droga. (1; 9; 12)

### 3.1.2 *Bergenia ciliata* (Haw.) Sternb.

Synonyma: *B. ligulata* var. *ciliata* (Royle) Engl., *B. ligulata* Engl., *B. thysanodes* (Lindl.) C.K. Schneid., *Megasea ciliata* Haw., *Saxifraga ciliata* (Royle), *Saxifraga thysanodes* Lindl.; anglické jméno: Velvet leaf, Fringed Bergenia; hindské jméno: Pakhanabheda, Silphara, Patharcua, Pakhanabhed; arabské jméno: Jantiane; české jméno: bergenie brvitá (13; 14)

#### 3.1.2.1 Botanický popis

Tento druh upřednostňuje vlhké, mírné klima, kde teploty nepřesahují 20 °C. Rostlina je odolná a přežije i teploty hluboko pod bodem mrazu (až -20 °C). Má velké kulaté zvlněné listy, široké až 30 cm, z obou stran ochmýřené a lemované jemnými načervenalými chlupy. Mladé listy nejsou moc zimovzdorné, časně i pozdní mrazy zničí květy i listy, ale růstové pupeny jsou dosti odolné, takže se rychle vzpamatují. Listy poškozené mrazem jsou na jaře nahrazeny novými. Potřebuje výbornou drenáž. Na svém původním stanovišti v horách západního Pákistánu, v jižním Kašmíru a v Nepálu jsou rostliny chráněny před mrazem dlouhotrvající sněhovou pokrývkou. Květy jsou světle růžové až téměř bílé a objeví se, až když vyraší nové listy. Květy obvykle stáří tmavnou. Nekvete tak bohatě jako jiné druhy. (11; 15)

#### 3.1.2.2 Použití

Indický název „Pashanabheda“ („rozpustit kámen“) odkazuje na litolytické vlastnosti drogy, která bývá součástí receptur používaných k rozpouštění ledvinových a žlučnickových kamenů a pro léčbu leukorey a hemoroidů. Odvar z oddenku se užívá ráno nalačno po dobu 3 měsíců k vyléčení ledvinových kamenů. Je účinná při léčbě dysurie, zvětšení sleziny, plicních potíží, k léčbě kašle, menorrhagii a při infekci močových cest včetně krystalurie a selhání ledvin. Má adstringentní, diuretické, styptické, tonizující a afrodiziakální účinky. Oddenky se používají k hřejivým obkladům na ztuhlé klouby, vředy, abscesy a kožní infekce. Listy a kořeny působí proti kurdějím, spasmolyticky a protiprůjmově. Extrakt z listů *B. ciliata* má antimalarické vlastnosti. Etanolové extrakty působí v nízkých dávkách (0,5 mg/kg) diureticky, ale ve vysokých dávkách (100 mg/kg) naopak diurézu snižují. Protizánětlivý účinek klesá se zvyšující se dávkou. Droga potlačuje aktivitu CNS, proto se používá při závratích a bolestech hlavy ve středních nebo nízkých dávkách. Oškrábaný oddenek se namáčí do medu a dává se žvýkat dětem při prořezávání zubů. Šťáva z listů se používá při bolestech uší. V Nepálu se směs sušené šťávy z

oddenku *B. ciliata* a medu v poměru 1:1 (jedna čajová lžička) podává 2–3krát denně ženám po porodu jako tonikum a lék na poruchy trávení (karminativum). Odvar z oddenků je užíván perorálně jako antipyretikum a anthelmintikum. Ke kompenzaci diabetu se dle tradiční ájurvédské medicíny užívá dvakrát denně 1–3 g práškované drogy *B. ciliata* a zapíjí se teplou vodou. K léčbě močových kamenů nebo dysurie se užívá odvar z *B. ciliata*, (20–30 g práškované drogy z kořenů se zalije 0,5 l vody s vaří se, až se objem zredukuje na polovinu). K vyléčení ledvinových kamenů se ráno nalačno užívá odvar z kořene po dobu 3 měsíců. Indický ájurvédský lékopis definuje 3–6 g práškované drogy z oddenku jako denní léčebnou dávku nebo 50–100 ml odvaru připraveného z 20–30 g práškované drogy.

(1; 13; 14; 16; 17; 18; 19)

### **3.1.3 *Bergenia x ornata* Guill.**

Synonymum: *Saxifraga ornata* Decne.

#### **3.1.3.1 Botanický popis**

Tento hybrid vznikl křížením *B. ciliata* Sternb. x *B. crassifolia* Fritsch. a byl uveden na trh v Paříži v roce 1876 pod názvem *Saxifraga ornata*. V roce 1878 byl ten to název změněn na stávající *Bergenia x ornata*. Některé zdroje ji uvádějí pod názvem *Bergenia x schmidtii*. Má okrouhlé nebo široce obvejčité, pýřité listy s brvitým okrajem. Přezimující listy jsou 10–20 cm dlouhé. Stonky dosahují délky až 30 cm. Květy jsou bílé nebo růžové se žláznatými kalichy, kvete časně, proto jsou často poškozeny mrazem. (5; 6)

#### **3.1.3.2 Použití**

Je pěstována v mnoha odrůdách především pro okrasné účely. Hendrychová v analýze zelených listů *B. ornata* naměřila v těchto listech vysoký obsah polyfenolu arbutinu (35,8 – 51,0 mg/g). Ze tří porovnávaných druhů (*B. ciliata*, *B. crassifolia* a *B. ornata*) měla obsah arbutinu nejvyšší. Tato studie také přinesla informace o vysoké antiagregační a imunostimulační aktivitě listové drogy. (20)

**Tabulka 5:** Léčebné použití různých druhů rodu *Bergenia* (1)

Taxon	Používaná část	Léčebné využití		
<i>B. ciliata</i> Sternb.	celá rostlina	analgetikum antiarytmikum antiastmatikum antibakteriální antidiabetikum antidotum antiepileptikum antiflogistikum antimalarikum antihemorhagikum	antiobezitikum antihemoroidikum antiophthalmitikum antioxidant antipyretikum antiulcerotikum cerebroprotektivum diuretikum ekbolikum emenagogum	expektorans hepatoprotektivum imunomodulans litolytikum protirakovinné proti průjmu proti nadýmání proti křečím při popáleninách proti vráskám
<i>B. crassifolia</i> Fritsch.	celá rostlina	antihypertenzivum antiflogistikum antioxidant antipyretikum	abtiobezitikum cerebroprotektivum diuretikum hepatoprotektivum	imunomodulans litolytikum
<i>B. emeiensis</i> Wu	celá rostlina	antiflogistikum antiobezikum	antioxidant	proti vráskám
<i>B. hissarica</i> Boriss.	kořen, oddenek	antioxidant	neuroprotektivum	laxativum
<i>B. pacumbis</i> Wu & Pan	kořen, oddenek	adstringens analgetikum antiarytmikum antiflogistikum antipyretikum antivirotikum antidiabetikum antihemoroidikum	antimykotikum antiprotozoikum antiskorbutikum antiulcerotikum cerebroprotektivum diuretikum expektorans hepatoprotektivum	imunomodulans litolytikum protirakovinné protinádorové při popáleninách spasmolytikum
<i>B. purpurascens</i> Engl.	oddenek	antiflogistikum antipyretikum	antibakteriální	litolytikum
<i>B. scopulosa</i> Wang.	list, kořen, oddenek	antihypertenzivum antiflogistikum antiobezikum	antioxidant antitusikum cerebroprotektivum	diuretikum hepatoprotektivum imunomodulans
<i>B. stracheyi</i> Engl.	oddenek	antiflogistikum antihemoroidikum antimykotikum	antiobezikum antioxidant litolytikum	ke hřejivým obkladům na ztuhlé klouby

### 3.2 Obsahové látky

V rodu *Bergenia* bylo dosud identifikováno a charakterizováno 152 chemických sloučenin, které patří do chemických tříd polyfenolů, fenolických glykosidů, laktonů, chinonů, sterolů, tříslovin, terpenů a jiných. Ze samotné *B. crassifolia* bylo doposud izolováno 104 bioaktivních sloučenin. (1) Přehled obsahových látek ve vybraných druzích rodu *Bergenia* je uveden v tabulkách 6 a 7. Studie Salminena a Shikova uvádí, že zelené listy *B. crassifolia* obsahují

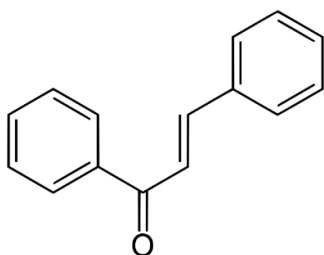


11 % flavonoidů a fermentované listy 18 % flavonoidů. Dále se zde uvádí až 3krát větší obsah ellagotaniinů a glukogallinu (hydrolyzovatelných tříslovin) v zelených listech než ve fermentovaných, zatímco obsah kyseliny gallové je mnohem nižší (12,7krát) ve vzorcích zelených listů, to je pravděpodobně zapříčiněno fermentací, která způsobuje degradaci ellagotaniinů na kyselinu gallovou. (21) Hendrychová ve své disertační práci vůbec poprvé v listech *B. x ornata* Guill stanovila obsah celkových polyfenolů, arbutinu, bergeniinu a v červených listech pak měřila obsah anthokyanů. (20)

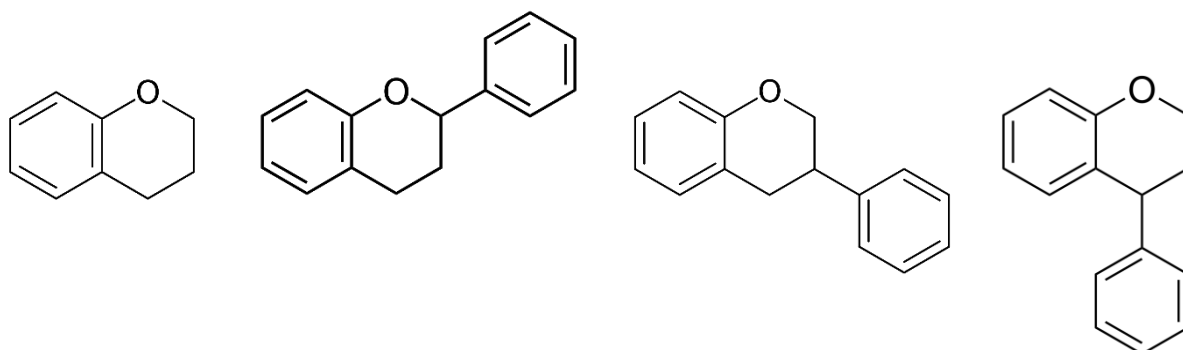
### 3.2.1 Flavonoidy

Z hlediska rozšíření, počtu zástupců a možností léčebného využití se flavonoidy se řadí mezi nejvýznamnější sekundární metabolity rostlin.

Flavonoidy jsou deriváty fenylochromanu. Základem struktury je chroman. Podle polohy navázaného aromatického substituentu rozlišujeme flavany (2-fenylochroman), isoflavany (3-fenylochroman) a neoflavany (4-fenylochroman). Tyto skupiny sdílí společný chalkonový prekurzor, a proto jsou biogeneticky i strukturálně příbuzné. (27)



**Obrázek 2:** Struktura chalkonu (22)



**Obrázek 3:** Struktura chromanu (23), flavanu (24), isoflavanu (25) a neoflavanu (26)

### 3.2.1.1 Flavany

Deriváty odvozené od 2-fenylchromanu jsou v přírodě nejrozšířenější. Podle stupně oxidace a nasycení heterocyklického pyranového kruhu může být skupina flavanů rozdělena do několika podskupin na **flavanony** (eriodiktyol, hesperetin, naringenin), **flavony** (apigenin, diosmetin, luteolin), **flavonoly** (avikularin, galangin, kaempferol, kvercetin, myricetin, reynoutrin), **flavanonoly** (fustin, taxifolin), **flavan-3-oly** (afzelechin), **flavan-4-oly** (apiforol, luteoforol), **flavan-3,4-dioly** (leukoantokyanidin) a **flaveny** (baphiflaven A). Jednotlivé flavonoidy se od sebe odlišují počtem a polohou hydroxylových a metoxylových skupin na obou aromatických jádrech. (27; 28; 29; 30)

Vybrané flavonoidy flavanového typu (kaempferol, kvercetin, eriodiktyol a afzelechin), které byly izolovány ze zkoumaných druhů rodu *Bergenia* jsou popsány níže v samostatné kapitole 3.2.4.

Ve druhu *Bergenia ligulata* byla navíc potvrzena přítomnost reynoutrinu a avikularinu. (1)

### 3.2.1.2 Isoflavonoidy

Méně časté 3-fenylchromanové deriváty, charakteristické zejména pro čeleď Fabaceae, byly také identifikovány v čeledích Rutaceae, Malvaceae, Myristicaceae, Rosaceae, Asteraceae, Iridaceae, Menispermaceae nebo v mechu *Bryum capillare*. Dosud bylo popsáno více než 800 látek. Podle stupně oxidace a přítomnosti dalších heterocyků na základním skeletu je můžeme rozdělit na isoflavany, isoflavanony a isoflavony. Nejrozšířenější jsou isoflavony, které se v rostlině nacházejí buď glykosidicky vázané (O-glykosidy, C-glykosidy) nebo jako volné aglykony. Mezi isoflavonoidy patří biochanin A, daidzein, formononetin, genistein, glycitein, glycinol, iridin, kalykosin, maackiain, medikarpin, ononin, pisatin či prunetin. Chemická struktura isoflavonodů je velmi podobná lidskému pohlavnímu hormonu estrogeneru. Díky slabým estrogenním účinkům se tak řadí mezi fytoestrogeny. V buňkách se vážou na estrogenní receptory (převážně  $\beta$  estrogenní receptory) a vyvolávají účinky typické pro estrogeny tělu vlastní. Estrogenní aktivitou působí zejména při nedostatku endogenních receptorů například v období menopauzy. Využívají se k mírnění klimakterických potíží a s tím související prevence osteoporózy. Literatura uvádí, že díky jejich antioxidační aktivitě je možné je využít v prevenci rakoviny. Inhibují oxidaci LDL cholesterolu a mohou být využity k prevenci

aterosklerózy. Významným zdrojem jsou semena a klíčky sóji luštinaté a květy jetele lučního (29; 31)

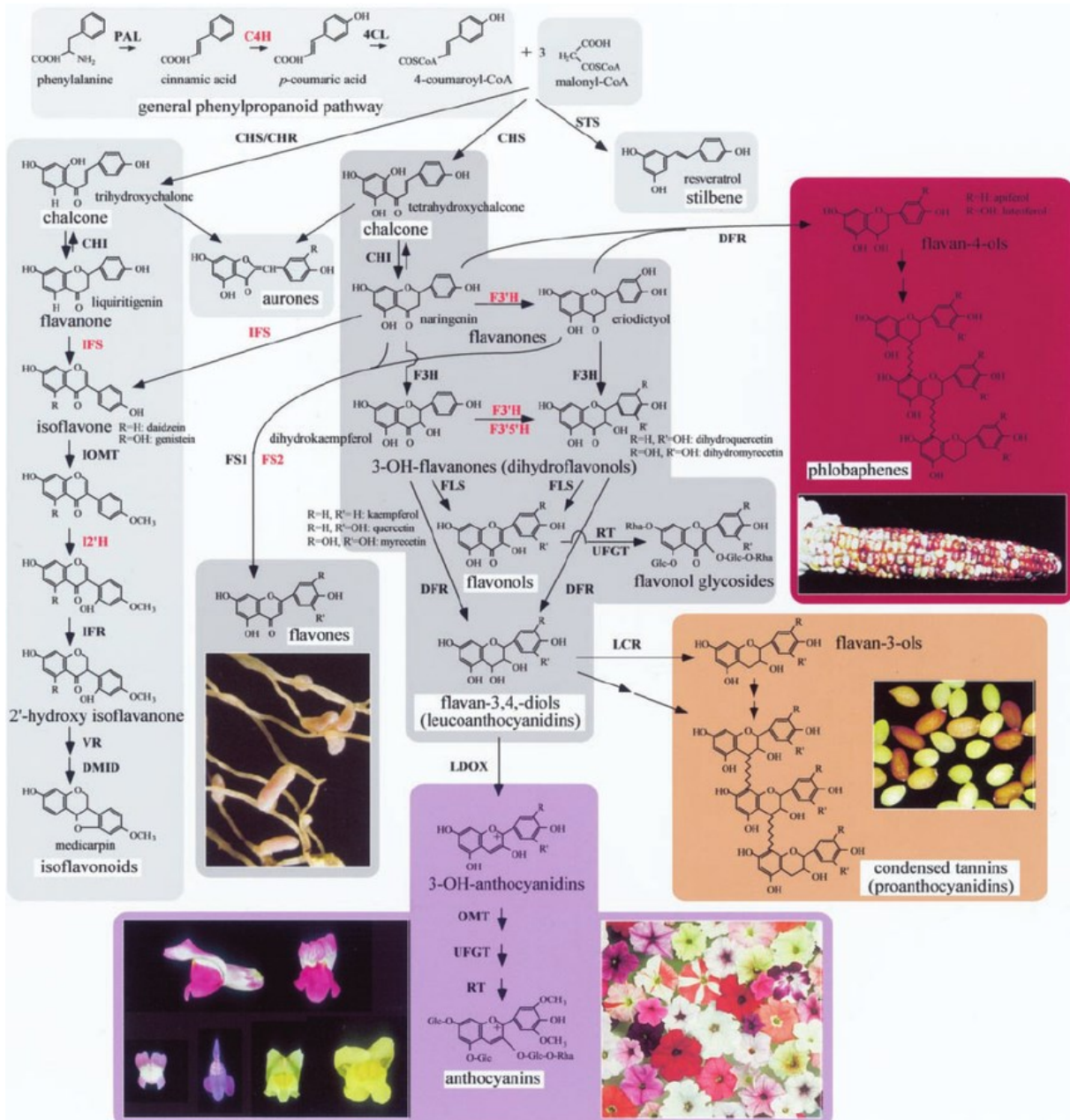
### 3.2.1.3 Neoflavonoidy

Nejméně početně jsou v rostlinné říši zastoupeny deriváty 4-fenylchromanu. Zahrnují 4-arylkumariny, 3,4-dihydro-4-arylkumariny a neoflaveny. Prvním neoflavonem izolovaným z přírodních zdrojů byl v roce 1951 calophyllolid ze semen *Calophyllum inophyllum*. Nachází se také v kůře a dřevu srílanské endemické rostliny *Mesua thwaitesii*. (32; 27) Mezi další neoflavonoidy patří také nevetin nebo antidiabeticky působící koutareagenin z *Hintonia latifora*. (27; 32; 33)

### 3.2.2 Biosyntéza flavonoidů

Aglykony flavonoidních glykosidů jsou produkty dvou hlavních biosyntetických cest, šikimátové a acetátové. Molekula flavonoidů ( $C_6-C_3-C_6$ ) vzniká kondenzací cinnamoylkoenzymu A (šikimátová cesta) se třemi molekulami malonylkoenzymu A (acetátová cesta). Nejprve se vytvoří chalkon, který dále přechází na flavanonový (nejčastěji naringenin) nebo isoflavanový typ, ze kterých poté dalšími reakcemi vznikají ostatní typy flavonoidů. Deriváty se tvoří zavedením nebo odstraněním hydroxylových skupin. (28; 29)

Flavonoidy se nacházejí pouze v rostlinách, a to ve formě glykosidů rozpuštěných v buněčné šťávě vakuol nebo v silicích jako lipofilní metoxyderiváty. Glykosylace nastává v konečné fázi tvorby flavonoidu. Cukernou část tvoří převážně monosacharidy, nejčastěji glukóza nebo ramnóza, ale může to být také kyselina glukuronová, galaktóza, arabinóza nebo xylóza. Nejčastěji je připojen jeden glykosyl, někdy jsou však substituovány dva nebo tři hydroxyly flavonoidu. Farmakologické působení glykosidů je vázáno na aglykon, ale cukerná složka ho také významně ovlivňuje a modifikuje. Aglykony jsou tvořeny nejrůznějšími látkami, které spojuje přítomnost skupiny schopné glykosidické vazby (alkoholy, aminy, fenoly, thioalkoholy, ...). (28; 29; 34)



**Obrázek 4:** Schéma hlavních biochemických drah vedoucí k syntéze flavonoidů a dalších polyfenolů. (35)

Enzymy katalyzující dílčí reakce: cinnamát-4-hydroxyláza (C4H), chalkonizomeráza (CHI), chalkonreduktáza (CHR), chalkonsyntáza (CHS), 4-kumaroyl-CoA-ligáza (4CL), dihydroflavonol-4-reduktáza (DFR), 7,2'-dihydroxy-4'-metoxyisoflavanoldehydratáza (DMID), flavanon-3-hydroxyláza (F3H), flavonsyntáza (FSI a FSII), flavonoid-3'hydroxyláza (F3'H), flavonoid-3'5'-hydroxyláza (F3'5'H), isoflavan-O-metyltransferáza (IOMT), isoflavanreduktáza (IFR), isoflavan-2'-hydroxyláza (I2'H), isoflavonsyntáza (IFS), leukoanthokyanidin dioxygenáza (LDOX), leukoanthokyanidinreduktáza (LCR), O-metyltransferáza (OMT), fenylalanin amonium lyáza (PAL), rhamnosyltransferáza (RT), stilbensyntáza (STS), UDPG-flavonoid glukosyltransferáza (UFGT) a vestitonreduktáza (VR)

### 3.2.3 Vlastnosti a použití flavonoidů

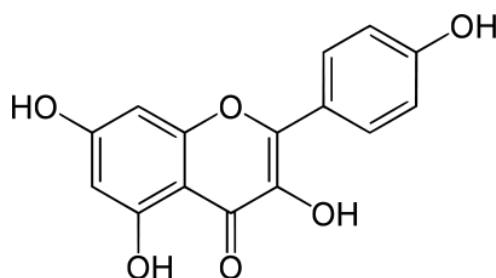
Flavonoidy se používají se jak v čistém stavu, tak jako součást rostlinných drog nebo jejich extraktů. Biologická dostupnost flavonoidů z potravy je mezi různými jedinci vysoce proměnlivá. Flavonoidy jsou z potravy uvolněny žvýkáním a jejich absorpce závisí na jejich fyzikálně chemických vlastnostech, jako je velikost molekuly, konfigurace, lipofilita, rozpustnost a acidobazické vlastnosti. Po požití procházejí flavonoidy rozsáhlou metabolizací, přičemž hlavním místem resorpce je tenké a tlusté střevo. Glykosidy jsou příliš hydrofilní na to, aby byly z tenkého střeva vstřebávány pasivní difuzí, odštěpení polární složky je tedy nezbytné pro prostou difúzi většiny flavonoidů přes kartáčový lem tenkého střeva. Hydrolytické štěpení na aglykon a cukernou složku začíná již v dutině ústní ve slinách pomocí enzymů glukosidáz a pokračuje působením enzymů pankreatických šťáv a tenkého střeva (nejvýznamnější je laktáza). Aglykony jsou lipofilnější, takže mohou procházet přes membránu tenkého střeva pasivní difuzí. Hydrolýza sacharidové složky však není nezbytnou podmínkou absorpce všech flavonoidů. Jestliže cukernou složku tvoří glukózový zbytek, může být celý glykosid do enterocytů transportován pomocí sodíko-glukózového kotransportéru (SGLT-1). Flavonoidy, které nejsou vstřebány v tenkém střevě se dostávají do tlustého střeva, kde jsou metabolizovány střevními bakteriemi, které jsou schopny glykosidy hydrolyzovat a současně mohou degradovat uvolněné aglykony na menší molekuly. Aglykony flavonoidů jsou v místě pyranového cyklu rozštěpeny nejčastěji na fenolické a aromatické kyseliny, které se poté mohou stát biologicky dostupnými. Vzhledem k omezené resorpci flavonoidů v tenkém střevě může dosáhnout koncentrace flavonoidů v tlustém střevě vysokých hodnot a může tak působit preventivně proti vzniku kolorektálního karcinomu. Po absorpci jsou flavonoidy vázány na albumin transportovány krví do jater, kde podléhají první a druhé fázi metabolismu. V první fázi jsou do molekuly zavedeny polární skupiny, které ji připravují pro druhou fázi konjugace. Uplatňuje se zejména oxidace pomocí cytochromu P450, redukce nebo hydrolýza. Přirozeně se vyskytující flavonoidy již většinou polární skupiny obsahují, proto jsou rovnou glukuronidovány, sulfatovány nebo konjugovány s glycinem. Takto konjugované polární molekuly mohou být z organismu vyloučeny ledvinami močí. (28; 34; 36; 29)

Flavonoidy se v rostlinách účastní oxidačně redukčních dějů. Chrání rostlinu před ultrafialovou složkou spektra slunečního záření. Jejich další funkcí v rostlinách je také vábení opylovačů. Využití flavonoidů a flavonoidních drog v terapii je rozmanité. Některé zlepšují prostupnost

kapilár, snižují jejich lomivost, zastavují krvácení a zmírňují otoky, což jsou schopnosti známé jako „P-vitaminový“ efekt. Některé mají schopnost snižovat krevní tlak, rozšiřovat krevní cévy a působit močopudně. S vápenatými ionty vytváří komplexní soli a zabraňují tak srážení krve a zadržují vápník v těle. Významná je také jejich antioxidační funkce. Mají schopnost zhaset volné kyslíkové radikály a reaktivní formy kyslíku při jejich nadměrné tvorbě v organismu. Inhibují také některé enzymy, které se účastní biochemických procesů, při kterých volné radikály vznikají a chelatují měď a železo. Působí protizánětlivě, zabraňují oxidaci krevních lipoproteinů (LDL) volnými radikály a snižují negativní dopad oxidačního poškození při kardiovaskulárním či nádorovém onemocnění a stárnutí organismu. Inhibují hyaluronidázu a brání šíření mikrobiálních toxinů tkáněmi. Používají se jako podpůrné prostředky při léčbě infekčních nemocí, protože potencují účinek vitamínu C. (29; 37; 38)

### 3.2.4 Vybrané flavonoidy obsažené ve zkoumaných druzích rodu *Bergenia*

#### 3.2.4.1 Kaempferol



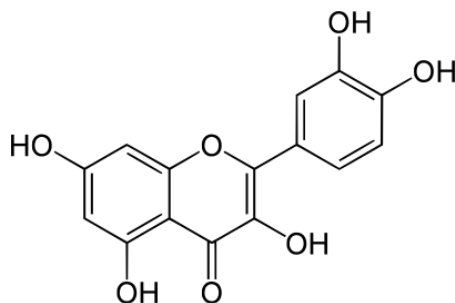
**Obrázek 5:** Struktura kaempferolu (39)

Chemicky: 3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyfenyl)-4H-1-benzopyran-4-on

Flavonoid kaempferol patří do podskupiny flavonolů. Běžně se nachází v ovoci, zelenině a zelených rostlinách. Nebohatším zdrojem kaempferolu je listová zelenina zahrnující špenát a kapustu. Několik epidemiologických studií uvádí možnou souvislost mezi konzumací potravin obsahujících kaempferol a snížením rizika vzniku chronických onemocnění kardiovaskulárního systému a rakoviny (plic, žaludku, slinivky břišní, vaječnicků). Kromě toho, že kaempferol významně inhibuje růst rakovinných buněk a angiogenezi, prokázal schopnost navozovat jejich smrt v různých tkáních, včetně plic. Zároveň je mnohem méně toxický pro zdravé buňky ve srovnání se standardními chemoterapeutiky. V kombinaci s jinými protirakovinnými látkami může také zvyšovat jejich protirakovinnou aktivitu. Například kombinace kaempferolu s kvercetinem významně zvyšuje protirakovinné účinky kvercetinu tím, že blokuje vylučování

kvercetin, což znamená, že kaempferol může zvyšovat biologickou dostupnost různých protirakovinných léků. Studie *in vitro* a *in vivo* dále poukazují na antioxidační a protizánětlivou aktivitu kaempferolu, jeho některých glykosidů i rostlin, které ho obsahují. Zajímavá je i antidiabetická aktivita a schopnost zabraňovat vzniku komplikací diabetu u některých kaempferolových glykosidů a rostlin obsahujících tento flavonoid. Kaempferol vykazuje špatnou perorální biologickou dostupnost, ale je běžně metabolizován na účinnější metabolity (metylderiváty, sulfát, glukuronidů). Biodostupnost lze zlepšit i využitím nanotechnologií. Potažení vrstvou nanočástic polymeru (PLGA, polyetylenoxid, polypropylenoxid) zlepšuje absorpci a schopnost kaempferolu dosáhnout systémové cirkulace a chrání ho před efluxními transportéry. Je tedy účinnější než léčba kaempferolem samotným. Literatura uvádí, že je velmi obtížné určit nejúčinnější dávku kaempferolu, protože většina výzkumů byla prováděna s použitím dávek daleko přesahujících jeho perorální biologickou dostupnost. Nicméně konzumace potravin bohatých na kaempferol poskytujících 8,04 mg/den byla spojena s příznivými účinky bez hlášených nežádoucích účinků. (40; 41)

#### 3.2.4.2 Kvercetin



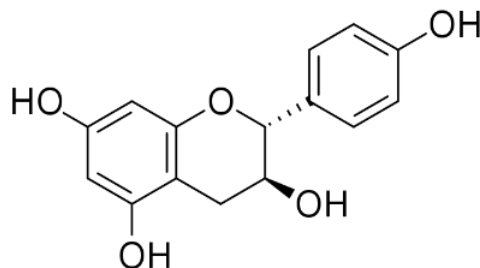
**Obrázek 6:** Struktura kvercetinu (42)

Chemicky: 2-(3,4-Dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4H-1-benzopyran-4-on

Flavonol kvercetin je jedním z nerozšířenějších flavonoidů. Nejvýznamnějším zdrojem kvercetinu je *Allium cepa*. (38) V rostlinné říši se tento sekundární rostlinný metabolit vyskytuje glykosidicky vázaný. V této formě je pak běžnou součástí lidské stravy. Četné studie prokázaly jeho antioxidační, protizánětlivé, imunoprotektivní a protirakovinné účinky. (27) Denní příjem 150–730 mg kvercetinu po dobu čtyř až deseti týdnů pak vykazuje antihypertenzní účinky. Příjem 730 mg/den snižuje systolický a diastolický krevní tlak u pacientů s hypertenzí, u pacientů s prehypertenzí ale na tlak žádný vliv nemá. (44) Uvádí se,

že optimální účinná dávka kvercetinu, která má příznivý vliv na snížení krevního tlaku a zmírnění zánětu je 500 mg ve formě aglykonu. (43)

### 3.2.4.3 Afzelechin

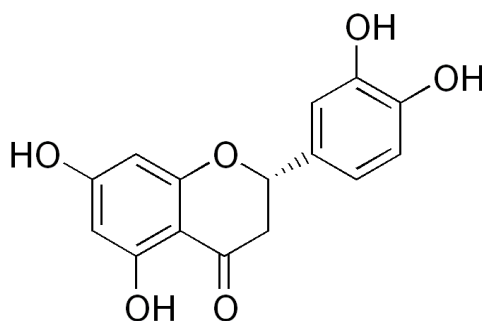


**Obrázek 7:** Struktura (+)-afzelechinu (45)

Chemický: (2S)-2-(4-hydroxyfenyl)-3,4-dihydro-2H-chromen-3,5,7-triol

Flavonoid afzelechin patří do podskupiny flavan-3-olů. Vyskytuje se ve dvou hlavních epimerech jako (+)-afzelechin a (-)-afzelechin neboli epiafzelechin. Literatura uvádí, že nejvyšší obsah afzelechinu se v bergeniích nachází v oddencích. *Bergenia ligulata* obsahuje v oddencích 0,168 % w/w afzelechinu. Afzelechin vykazuje antioxidační a antidiabetické účinky, inhibuje  $\alpha$ -glukosidázu a snižuje tak vstřebávání glukózy ze střeva. (46; 47; 48)

### 3.2.4.4 Eriodiktyol



**Obrázek 8:** Struktura eriodiktyolu (49)

Chemický: (2S)-2-(3,4-Dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-2,3-dihydro-4H-1-benzopyran-4-on

Flavonoid eriodiktyol patří do podskupiny flavanonů. Vyskytuje se v plodech citrusů, zelenině a v některých léčivých rostlinách. Jeho hlavním zdrojem je rostlina *Eriodictyon californicum*, neboli Yerba santa („svatá tráva“), původem ze Severní Ameriky. Podobně jako jiné flavonoidy se eriodiktyol v bergenií vyskytuje ve formě glykosidu (Eriodiktyol-7-O- $\beta$ -D-glukopyranosid), který je tvořen glukózovým zbytkem. Působením střevní mikroflóry je metabolizován metoxylací v játrech a přeměněn na rovněž účinný homoeriodiktyol. Četné studie poukazují



na široké spektrum terapeutických účinků eriodiktyolu, které zahrnují antioxidační, protizánětlivé, analgetické, imunomodulační, protirakovinné, neuroprotektivní, kardioprotektivní, antidiabetické, antiobezitní, hepatoprotektivní působení. Dále má schopnost snižovat suchost kůže, očí a v ústech. (50) Nedávné výsledky *in silico* studie navíc odhalily možnost využití eriodiktyolu v terapii koronaviru SARS-CoV-2. Testovala se jeho afinita k ACE2 receptoru (receptor pro angiotenzin konvertující enzym 2, přes který se virus dostává do buňky) a k různým proteinům ze SARS-CoV-2. Téměř ke všem byla zjištěna vysoká vazebná energie. (51) Kromě výše uvedených vlastností má eriodiktyol a sodná sůl jeho metabolitu homoeriodiktyolu schopnost maskovat hořkou chuť, proto se jeví jako zajímavé jejich potencionální využití jakožto modifikátorů chuti v potravinářství nebo ve výrobě léčiv. (52)

### **3.2.5 Další významné obsahové látky**

#### **3.2.5.1 Arbutin**

Chemicky: 4-hydroxyfenyl- $\beta$ -D-glukopyranosid

Listy bergenií jsou důležitým zdrojem arbutinu. (53; 20). Arbutin byl z čerstvých listů *B. crassifolia* poprvé izolován v roce 1930 Alexejem Čičibabinem. Množství arbutinu v rostlině se mění v závislosti na ročním období. Ve starých listech dosahuje 22 %. Nejvíce arbutinu obsahují zelené listy sbírané na podzim. (20) V černých listech se prakticky nevyskytuje, pravděpodobně je metabolizován na hydrochinon a jiné fenolické sloučeniny. (54) V oddencích *B. crassifolia* obsah arbutinu dosahuje minimálně 18 %, některé studie uvádějí až 23 %. V oddencích *B. crassifolia* byl stanoven obsah arbutinu v rozmezí od 19,92 do 27,9 %. V listech *B. crassifolia* byly identifikovány i tři galloyl estery arbutinu (2-O-caffeoylarbutin, 6-O-galloylarbutin a p-galloyloxyfenyl  $\beta$ -D-glukosid). (53)

Z hlediska výzkumu se jedná o nejdůležitější obsahovou látku bergenií. Skládá se z hydrochinonu a D-glukózy. Vyskytuje se ve dvou stereoizomerech  $\alpha$  a  $\beta$ . Zdroje těchto dvou izoform jsou odlišné.  $\beta$ -arbutin se v rostlinách vyskytuje přirozeně a získává se jejich extrakcí nebo uměle chemickou syntézou.  $\alpha$ -arbutin se připravuje synteticky transglykosylací hydrochinonu za použití mikrobiálních enzymů. Arbutin inhibuje tyrozinázu a zabraňuje tak tvorbě melaninu a tmavnutí kůže. Přílišná aktivita tyrozinázy totiž vede k hromadění melaninu, což může vést k hyperpigmentaci pokožky, tvorbě pih, stařeckých skvrn, melazmatu nebo až k

tvorbě maligního melanomu. Přidává se do kosmetických přípravků k zesvětlení kůže a používá se v terapii maligních melanomů. V současnosti se na trhu vyskytují topické kosmetické přípravky s  $\alpha$ -arbutinem. Za zesvětlující účinek arbutinu je odpovědný jeho aglykon hydrochinon, který se v čerstvé rostlině vyskytuje jen stopově, ale stárnutím rostliny nebo nesprávným skladováním např. za přístupu světla nebo přítomností mikroorganismů se jeho množství v droze zvyšuje. Stále není jasná shoda, která z izoform účinněji inhibuje tyrozinázu a syntézu melaninu a která má lepší účinek na zesvětlení kůže. Některé studie uvádějí, že  $\alpha$ -izoforma vykazuje lepší depigmentační výsledky. Kvalitu izomeru a jeho účinek pravděpodobně ovlivňuje čistota a konformace použitého enzymu, druh a koncentrace substrátu, teplota, pH nebo případná kontaminace produktu hydrochinonem.

Další možné využití arbutinu je v terapii infekcí močového a pohlavního ústrojí, jako je cystitida, nefritida, endometrióza nebo kapavka. Využívá se především antibakteriálních a dezinfekčních účinků jeho aglykonu hydrochinonu. (55; 56; 57)

### 3.2.5.2 Bergenin

Chemicky: (2R,3S,4S,4aR,10bS)-3,4,8,10-tetrahydroxy-2-(hydroxymetyl)-9-metoxy-3,4,4a,10b-tetrahydropyrano[3,2-c][2]benzopyran-6(2H)-on

Bergenin (synonymum: kuskutin) je C-glykosid 4-O-metylgallové kyseliny, patřící mezi isokumariny. Poprvé byl izolován z oddenků *Saxifraga (Bergenia) siberica*. Bergenin je přírodní sloučenina, která byla extrahována z různých částí (oddenek, kořeny, listy, stonek, kůra, semena, květy, dřevo, hlíza, jádrové dřevo, ovoce nebo celá rostlina) rostlin jako *Bergenia crassifolia*, *Bergenia ciliata*, *Corylopsis spicata*, *Mallotus philippinensis*, *Caesalpinia digyna*, *Sacoglottis gabonensis* a *Mallotus japonicus*. Patří mezi hlavní obsahové látky rostlin rodu *Bergenia*. V indických systémech medicíny se běžně nazývá Pashaanbheda (paashan: kámen, bheda: lámat) a Zakham-e-hayat (zakham: léze/rána, hayat: život/léčení). Je součástí Čínského lékopisu.

Díky rozsáhlému spektru farmakologických účinků se zájem o výzkum bergeninů dostává stále více do popředí. Má antioxidační (zhášení volných radikálů), protimikrobní a protiiinfekční (inhibuje anaerobní glykolýzu a aerobní dýchání), protirakovinné (indukce apoptózy a inhibice buněčného cyklu ve fázi G0/G1, inhibice fosforylace proteinů STAT3, faktorů transkripce), antidiabetické (inhibice enzymu  $\alpha$ -glukosidázy, pozitivní působení na endokrinní buňky

slinivky vedoucí ke zvýšené tvorbě inzulínu), antihyperlipidemické (snížení hladiny celkového, LDL a VLDL cholesterolu a triacylglycerolů a zvýšení hladiny HDL cholesterolu, zvyšováním transportu cholesterolu z arteriálního řečiště do jater), neuroprotektivní (inhibuje tvorbu kyslíkových radikálů v mozku) hepatoprotektivní (tlumí aktivitu alaninaminotransferázy, sorbitoldehydrogenázy, aspartátaminotransferázy,  $\gamma$ -glutamyltransferázy a také inhibuje peroxidaci lipidů a obnovuje hladinu glutathionu v játrech), antiurologické (významně snižuje koncentraci šťavelanu a fosforečnanu vápenatého v moči), antihyperurikemické (usnadňuje vylučování kyseliny močové střevy a ledvinami, čímž snižuje její hladinu v krvi), antitusické (bronchodilatace a snížení frekvence záchvatů kašle), protivředové (podporou růstu žaludeční sliznice), antiarytmické vlastnosti. Avšak špatná rozpustnost, nižší biodostupnost, kratší plazmatický poločas a rychlejší degradace v prostředí vyššího pH střev (pH 6,8 nebo vyšší) limitují farmaceutické použití a do budoucna jsou otázkami k řešení. Proto jsou vyvíjeny nové lékové systémy zlepšující rozpustnost, stabilitu, a uvolňování a zvyšují tak účinnost. (58; 59; 60)

### 3.2.5.3 Kyselina gallová

Chemicky: kyselina 3,4,5-trihydroxybenzoová

Kyselina gallová je fenolická kyselina. Nachází se v různých druzích ovoce, rostlin a v ořeších jako volná kyselina nebo ve formě gallotaninů. Patří mezi hydrolyzovatelné třísloviny. Po perorálním podání se rychle vstřebává a eliminuje, takže pro zvýšení biodostupnosti je vhodné upravit její strukturu nebo lékovou formu. Např. metylací hydroxylové a karboxylové skupiny vznikl derivát metyl-3-O-metylgallát, který vykazuje mnohem lepší protizánětlivé vlastnosti než kyselina gallová. Zavádění metylových skupin zvyšuje lipofilitu a vstřebávání, je ale nezbytné zvolit vhodná místa pro substituci nebo dostatečně malé substituenty, aby nedošlo k vymizení nebo oslabení účinku. Má významné protizánětlivé a antioxidační účinky, dále působí protinádorově, antibakteriálně, proti diabetu, obezitě a ischemii myokardu.

Hlavními mechanismy protizánětlivého účinku kyseliny gallové jsou inhibice aktivity NF- $\kappa$ B (nukleární faktor kappa B) a MAPK (mitogenem aktivovaná proteinkináza) a následná inhibice uvolňování zánětlivých faktorů (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ /6), chemokinů (CCL-2, ICAM-1, TIMP-1) a dalších mediátorů zánětu jako je COX-2 a NO. Také snižuje infiltraci zánětlivých buněk, čímž zlepšuje zánětlivou odpověď. Výhodou je selektivní cytotoxicita, protože pro zdravé buňky je kyselina

gallová téměř netoxická. Experiment *in vivo* na pokusných myších prokázal, že nízké dávky kyseliny gallové (do 200 mg/kg) jsou bezpečné a ani podávání 900 mg/kg po dobu 28 dní nezhoršilo zdravotní stav subjektů. Toxicita se projevila až při podávání vysokých dávek 2000 mg/kg. Kyselina gallová tedy neprokázala toxicitu na zvířatech nebo v klinických studiích, což ji činí potencionálně užitečnou pro dlouhodobé podávání při onemocněních souvisejících se zánětem. (61)

#### **3.2.5.4 Kyselina ellagová**

Chemicky: 2,3,7,8-tetrahydroxy-chromeno[5,4,3-cde]chromen-5,10-dion

Kyselina ellagová byla objevena v roce 1831 francouzským chemikem a lékárníkem Henri Braconnotem. Je dimerem kyseliny gallové. Deriváty kyseliny ellagové vznikají metylací, glykosylací nebo metoxylací jejích hydroxylových skupin, zatímco ellagotaniny jsou estery hexahydroxydifenové kyseliny nejčastěji s glukózou nebo kyselinou chinovou. Ellagotaniny jsou ve vodě rozpustné. Patří mezi hydrolyzovatelné třísloviny, v kyselém nebo zásaditém prostředí, v horké vodě nebo za přítomnosti enzymů uvolňují hexahydrodifenovou kyselinu, která spontánně přechází laktonizací na kyselinu ellagovou. Tento proces se děje například během průchodu trávicím traktem.

Kyselina ellagová má antivirové, antimutagení a protirakovinné účinky. Dosahuje dobrých výsledků v prevenci a léčbě několika typů rakoviny, včetně rakoviny tlustého střeva, rakoviny prsu, rakoviny prostaty, rakoviny kůže, rakoviny jícnu a osteogenního sarkomu. Falsaperla a kol. hodnotili účinky ellagové kyseliny v adjuvantní terapii chemoterapeutické léčby estramustinem a vinorelbinem u mužů s hormonálně refrakterním karcinomem prostaty. Pacienti užívající ellagovou kyselinu měli menší riziko rozvoje neutropenie než pacienti užívající jen samotnou chemoterapii (33,3 % vs. 74,9 %, v tomto pořadí,  $p < 0,05$ ). Gastrointestinální nežádoucí účinky byly v intervenční skupině také nižší.

Kyselina ellagová je považována za antioxidant. Antioxidační aktivita je také jednou z možností, které souvisí s jejími protirakovinnými, protizánětlivými a antiproliferativními účinky. (62; 63; 64)

### 3.2.5.5 Tellimagrandin I

Řadí se do skupiny ellagotaninů, které patří mezi hydrolyzovatelné třísloviny. Tellimagrandin I je velmi dobře vstřebáván z tenkého střeva, je substrátem a inhibitorem P-glykoproteinu. může tedy ovlivňovat distribuci léčiv v organismu. Bylo pozorováno, že má antibakteriální účinky. Snížením MIC  $\beta$ -laktamových antibiotik tellimagrandin I potencuje aktivitu proti MRSA (meticilin-rezistentní zlatý stafylokok). Inaktivuje aktivitu PBP (penicillin binding protein) 2 a 3 a snižuje tak riziko vzniku rezistence. Také prokázal antibakteriální účinek proti bakteriím *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. (65; 66) Zkoumalo se možné použití tellimagrandinu I v léčbě acne vulgaris. Výzkum ukázal antioxidační a protizánětlivou aktivitu a schopnost inhibovat aktivitu 5 $\alpha$ -reduktázy. 5 $\alpha$ -reduktáza metabolizuje testosteron na dihydrotestosteron (DHT) a nerovnováha mezi těmito dvěma látkami zapříčiňuje tvorbu acne vulgaris a benigní hyperplazie prostaty. (67) *In silico* byl zkoumán antivirotický účinek tellimagrandinu I. Ukázala se jeho aktivita jednak proti viru hepatitidy C, jednak proti SARS-CoV-2 RdRp proteinu. Tellimagrandin I by tak mohl být použit v léčbě COVID-19. (68)

### 3.2.5.6 Pedunculagin

Pedunculagin patří mezi ellagotaniny, hydrolyzovatelné třísloviny. Poskytuje široké spektrum léčebných účinků, které zahrnují protinádorové, antioxidační, gastroprotektivní, hepatoprotektivní a protizánětlivé působení. *In silico* bylo zaznamenáno, že inhibuje hlavní proteázu SARS-CoV-2 a zabraňuje tak množení viru. Výzkum odhalil potenciální schopnost rostlin bohatých na hydrolyzovatelné třísloviny léčit propuknutou nemoc COVID-19. (69)

### 3.2.5.7 Glukogallin

Chemicky: 1-O-galloyl-P-D-glukóza

Poprvé byl izolován v roce 1903 z *Rheum officinale* a syntetizován v roce 1918 Emilem Fisherem. Ukázalo se, že je klíčovým bioprekurzorem pro syntézu větších, složitějších hydrolyzovatelných tříslovin, jako jsou gallotaniny a ellagotaniny vyskytujících se v mnoha různých rostlinách. Je hlavní obsahovou látkou v plodech *Emblica officinalis* (Amalaki, Indický angrešt), která je po tisíciletí používána v tradiční indické Ájurvédské medicíně k léčbě diabetu. (70) Glukogallin zlepšuje zdraví pokožky podporou rozvoje kožní bariéry, hojení ran, hydratace a prostřednictvím protizánětlivých účinků. (71)

### 3.2.5.8 Bergenan

Pektinový polysacharid zvaný bergenan byl izolován z čerstvě nasbíraných zelených listů *Bergenia crassifolia* extrakcí vodným roztokem šťavelanu amonného. Ukázalo se, že součástí jeho sacharidového řetězce jsou zbytky kyseliny D-galakturonové (asi 80 %). Kromě toho obsahuje zbytky galaktózy, arabinózy a rhamnózy. Jejich celkový obsah je menší než 15 %. Bylo prokázáno, že vzorky bergenanu z listů bergenie odebrané v různých vegetačních obdobích (od července do září) se podstatně neliší ani složením monosacharidů, ani viskozitou jejich vodných roztoků. (72) Pektinové polysacharidy jsou známé pro své protizánětlivé a imunomodulační účinky. *In vitro* bylo pozorováno zvýšení produkce kyslíkových radikálů makrofágy a zintenzivnění fagocytózy. *In vivo* byla u pokusných myší hodnocena reakce jejich buněčné imunity na perorální podávání roztoku bergenanu po dobu tří týdnů. Byl zjištěn stimulační efekt na T – lymfocyty a byly prokázány imunostimulační vlastnosti bergenanu. Ani po dlouhodobém podávání bergenanu nebyly zaznamenány žádné projevy toxicity. (73)

### 3.2.5.9 Rododendrin

Chemicky: 4-(4-hydroxyfenyl)-2-butanyl- $\beta$ -D-glukopyranosid.

Glykosid rododendron (synonymum: betulosid) byl izolován z listů *B. crassifolia* v roce 1969. (53) Nachází se také v kůře *Betula pendula* nebo v listech *Rhododendrum aureum*. Vykazuje analgetické a protizánětlivé schopnosti. (74) Rododendrin redukuje tvorbu prozánětlivých mediátorů. Topická aplikace *in vivo* na kůži myšího ucha zmírnila probíhající zánětlivou reakci, což naznačuje možné využití v léčbě zánětlivých kožních onemocnění jako je např. psoriáza. (75)

### 3.2.5.10 Kyselina protokatechová

Chemicky: 3,4-dihydroxybenzoová kyselina.

Protokatechová kyselina je široce rozšířená přirozeně se vyskytující jednoduchá fenolická kyselina. Vyznačuje se širokým spektrem účinku. Byla popsána její antioxidační, antibakteriální, protirakovinná, protivředová, antidiabetická, antifibrotická, antivirová, protizánětlivá, analgetická, antiaterosklerotická, antihypertenzivní, hepatoprotektivní, nefroprotektivní, neurologická aktivita a působí i proti stárnutí. Výzkumy dokazují, že bezpečná terapeutická dávka je 100 mg/kg. (76)

**Tabulka 6:** Obsahové látky doposud izolované z *B. ciliata* (Haw.) Sternb. (1; 13; 77)

<b>Flavonoidy</b>	Kyselina protokatechová
Afzelechin	Kyselina p-hydroxybenzoová
Eriodiktyol 7-O- $\beta$ -D-glukopyranosid	<b>Chinony</b>
Kaempferol-3-O-arabinosid (juglalin)	Arbutin
Kaempferol-3-O-rutinosid (nikotiflorin)	Hydrochinon
Kaempferol-3-O-xylosylgalaktosid	6-O-p-hydroxybenzoylarbutin
Kaempferol-3-O-xylosylglukosid	6-O-protokatechylarbutin
Kvercetin-3-O- $\beta$ -D-xylopyranosid (reynoutrin)	<b>Ostatní fenolické látky</b>
Kvercetin-3-O- $\alpha$ -L-arbinofuranoxid (avicularin)	Bergenin
<b>Třísloviny</b>	Leukokyanidin
Epikatechin-3-O-gallát	Metylgallát
Katechin	4-O-galloylbergenin
Katechin-3-O-gallát	11-O-galloylbergenin
Katechin-7-O-glukosid	11-O-p-hydroxybenzoylbergenin
<b>Laktony</b>	11-O-protokatechylbergenin
Paashanolakton	11-O-(3,4-dihydroxybenzoyl)bergenin
<b>Fenolické kyseliny</b>	6-O-p-hydroxybenzoylparasorbosid
Kyselina gallová	<b>Steroly</b>
	$\beta$ -sitosterol
	$\beta$ -sitosterol-D-glukosid
	Sitoindosid

**Tabulka 7:** Obsahové látky doposud izolované *B. crassifolia* (L.) Fritsch (1; 78)

<b>Flavonoidy</b>	Glukogallin
Afzelechin	Katechin
Kaempferol-3-O-arabinosid	(+)-Katechin-3,5-di-O-gallát
Kaempferol-3-O-rutinosid (nikotiflorin)	(+)-Katechin-3-O-gallát
Kaempferol-3-O-xylosylgalaktosid	Kyselina ellagová
Kaempferol-3-O-xylosylglukosid	Kyselina galloylchinová (theogallin)
Kvercetin-3-O-arabinosid	Pedunkulagin
Kvercetin-3-O-galaktosid (hyperosid)	Tellimagrandin I
Kvercetin-3-O-glukosid (isokvercitrin)	2,4,6-Tri-O-galloyl- $\beta$ -d-glukóza
Kvercetin-3-O-rhamnosid (kvercitrin)	1,2,4,6-Tetra-O-galloyl- $\beta$ -d-glukopyranóza
Kvercetin-3-O-rutinosid (rutin)	<b>Laktony</b>
Kvercetin-3-O-xylosid	Paashanolakton
Kvercetin-3-O-xylosylgalaktosid	<b>Fenolické kyseliny</b>
Kvercetin-3-O-xylosylglukosid	Kyselina acetylsalicylová
<b>Třísloviny</b>	Kyselina fumarová
Ellagotaniny	Kyselina furankarboxylová

Kyselina gallová
Kyselina chinová
Kyselina chlorogenová
Kyselina jablečná
Kyselina protokatechová
Kyselina p-hydroxybenzoová
<b>Chinony</b>
Arbutin
Hydrochinon
Kyselina kaffeoylchinová
Kyselina monogalloylchinová
<b>Ostatní fenolické látky</b>
Bergapten
Bergenin
4-Metoxystyren
Norathyriol
Norbergenin
Pyrogallol
Rhododendrin
Trihydroxykumarin
2-O-Kaffeoylarbutin
6-O-Galloylarbutin
3,11-di-O-Galloylbergenin
4,11-di-O-Galloylbergenin
11-O-(p-hydroxybezoyl)bergenin
p-Galloyloxyfenyl-β-D-glukosid
<b>Steroly</b>
β-sitosterol
<b>Terpeny</b>
(E)-β-Damascenon
(E)-β-Damaskon
3-Thujen-2-on
Karyofylen
Cedranol
(E)-2-Decenol
Farnesol
Farnesyl aceton
Geraniol
Geranyl aceton
Hexahydrofarnesyl aceton

Ionon
Linalool
m-Mymen
Nerolidol
Fytol
p-Menth-1-en-4-ol
Prenol
Thymol
α-Bisabolol
α-Bisabololoxid B
α-Kadinol
α-Terpineol
β-Elemen
β-Eudesmol
δ-Kadinen
<b>Aldehydy</b>
2,4-Heptadienal
Benzaldehyd
Benzenacetaldehyd
Dekadienal
Dekanal
Dimethylcyklohexen acetaldehyd
(E)-2-decenal
(E)-2-nonenal
Nonanal
p-Menthenal
<b>Jiné</b>
Kyselina myristová
Kyselina pelargonová
Kyselina pentadekanová
Kyselina stearová
n-Cetylalkohol
n-Eikosanol
n-Hentriakontan
n-Heptakosan
n-Nonakosan
n-Pentakosan
Tetrametyl hexadecenol
Trimetyl dihydronaftalen
Trimetyl-3-metylen hexadekatetraen



### 3.3 Biologický účinek látek obsažených v druzích rodu *Bergenia*

#### 3.3.1 Antibakteriální aktivita

Bylo provedeno množství testů za použití různých extraktů *B. ciliata* pro zjištění její antibakteriální aktivity. Bylo pozorováno, že extrakty z kořenů a oddenků *B. ciliata* mají vyšší antibakteriální aktivitu ve srovnání s extrakty z listů. Metanolové extrakty *B. ciliata* vykazují široké spektrum antibakteriální aktivity, které je závislé na použité koncentraci. Bylo pozorováno, že extrakty z kořenů a listů vykazovaly účinek na G<sup>+</sup> i G<sup>-</sup> bakterie (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* a *Pseudomonas aeruginosa*). Tato studie ukázala, že *B. ciliata* by mohla selektivně inhibovat tyto bakterie. Antibakteriální aktivita vodných extraktů z oddenků *B. ciliata* byla studována na pěti bakteriálních organismech pomocí difúzní diskové metody. Značnou antibakteriální aktivitu vykazovaly vodné extrakty oddenků *B. ciliata* v koncentracích 300, 600 a 900 mg/ml. (13)

Nejsilnější protimikrobní aktivitu vykazovaly etylacetátové extrakty, zatímco vodné byly nejméně účinné. S aktivitou proti bakteriím a plísním korelovala hladina hydrochinonu, z čehož vyplynulo, že za protimikrobní účinek drogy z velké části odpovídá právě přítomnost hydrochinonu a jeho derivátu arbutinu. (79)

Extrakty z listů *B. crassifolia* pomáhají předcházet a léčit zubní kaz pomocí dvou mechanismů. Jednak přímo inhibují životaschopnost bakterií tvořících zubní plak, jednak snižují adhezi a tvorbu biofilmu. Díky tomu, že nejsou toxické pro epitelální buňky sliznice dutiny ústní, mohou být, zejména vodné extrakty z listů *B. crassifolia*, vhodnou alternativou chlorhexidinu jakožto antibakteriální složky ústních vod. (80)

#### 3.3.2 Antidiabetická aktivita

Extrakce a frakcionace metanolového extraktu *B. ciliata* vedla k izolaci dvou účinných látek epikatechin-3-O-gallát a katechin-3-O-gallát. Tyto sloučeniny vykazují na dávce závislé enzymové inhibiční aktivity proti krysí střevní  $\alpha$ -glukosidáze a pankreatické  $\alpha$ -amyláze. (81)

Etanolové extrakty z oddenků *B. ligulata* vykazují významný hypoglykemický účinek u diabetických potkanů. Z extraktu oddenku *B. ligulata* byl izolován (+)-afzelechin, antidiabetikum působící mechanismem inhibice  $\alpha$ -glukosidázy, zabraňuje tak štěpení sacharidů a snižuje vstřebávání glukózy v tenkém střevě. (47)

### 3.3.3 Protizánětlivá aktivita

Četné studie protizánětlivé aktivity prokázaly, že druhy rodu *Bergenia* mají potenciál tlumit odpověď organismu na zánět. (1) Například byl hodnocen protizánětlivý potenciál různých koncentrací metanolových extraktů z oddenků *B. ciliata*. Experiment byl proveden na dvou krysích modelech, první model simuloval akutní fázi zánětu (karagenanem a serotoninem vyvolaný otok tlapky) a druhý model simuloval pozdní chronickou fázi (granulom vyvolaný vložením bavlněné pelety pod kůži). Jako standard byl použit protizánětlivý *fenylbutazon* (100 mg/kg) a nesteroidní antiflogistikum. Maximální inhibice zánětlivé reakce byla zaznamenána při dávce 300 mg/kg extraktu. (82) V jiném experimentu byl na myších sledován vliv suchého extraktu z listů *B. crassifolia* (Fritsch) na imunitní odpověď. Extrakt zmírnil zánětlivý proces tím, že zabránil hromadění T-lymfocytů v oblasti zánětu a snižoval schopnost buněk produkovat prozánětlivé cytokiny. (83) Dále bylo zjištěno, že hypersenzitivní reakce pozdního typu se zvýšila u myší, kterým byl po dobu 3 týdnů podáván roztok bergenanu (2 mg/ml). Bylo pozorováno, že bergenan v koncentraci 100 ug/ml zvyšuje kapacitu lidských neutrofilů a stimuluje tvorbu kyslíkových radikálů myšími makrofágy *in vitro*. Bylo zjištěno, že bergenan zvyšuje spontánní adhezi leukocytů, ale nevykazuje cytotoxický účinek. Ukázalo se tedy, že bergenan má imunostimulační aktivitu ve vztahu k hypersenzitivní reakci pozdního typu *in vivo* a zvyšuje fagocytární aktivitu *in vitro*. (73)

Bergenin a jeho derivát norbergenin izolovaný z oddenků *B. stracheyi* v závislosti na podané dávce (5, 10, 20, 40 a 80 mg/kg) vykazují antiartritický účinek prostřednictvím modulace cytokinové rovnováhy Th1/Th2. Studie prokázala, že došlo k inhibici produkce prozánětlivých Th1 cytokinů (IL-2, IFN- $\gamma$  TNF- $\alpha$ ) a potenciaci protizánětlivých Th2 cytokinů (IL-4 a IL-5) v periferní krvi myší s artritidou. Přičemž antiartritický efekt norbergeninu byl při stejných dávkách ve srovnání s bergeninem vyšší. (84)

### 3.3.4 Antipyretická aktivita

Metanolový extrakt z oddenku *B. ciliata* byl hodnocen na potenciální schopnost normalizovat tělesnou teplotu a mírnit horečku vyvolanou kvasinkami u krys. Při podání perorálních dávek 100, 200 a 300 mg/kg došlo u všech koncentrací ke znatelnému poklesu tělesné teploty, přičemž délka antipyretického účinku závisela na podané dávce. Extrakt *B. ciliata* v dávce 300 mg/kg znatelně snížil tělesnou teplotu krys po dobu až pěti hodin po podání. U horečky

vyvolané kvasinkami pak extrakt znatelně snížil tělesnou teplotu krys po dobu až čtyři hodin od podání. Míra účinku závisela na podané dávce. Antipyretický účinek extraktu *B. ciliata* byl srovnatelný s účinkem paracetamolu v dávce 150 mg/kg, jakožto léku první volby při zvýšené tělesné teplotě. (85)

### 3.3.5 Antioxidační aktivita

Literatura uvádí, že metanolové a vodné extrakty z oddenků *B. ciliata* vychytávají volné radikály DPPH· (difenylpikrylhydrazyl) a ·OH (hydroxyl) a redukuje je za vzniku DPPH-H a vody. Při této reakci dochází ke zhášení volného radikálu fenolickou skupinou (antioxidantem). (86) Hendrychová stejnou metodou stanovovala antioxidační potenciál metanolových extraktů z rozemletých listů *B. ciliata*, *B. crassifolia* a *B. x ornata*. Nejvyšší antioxidační aktivitu vykazovaly zelené listy *B. crassifolia*. Další metodou, která byla použita pro stanovení antioxidační aktivity byla metoda FRAP (ferric reducing antioxidant power). Obě metody prokázaly signifikantní antioxidační aktivitu zejména metanolových extraktů jak z oddenků, tak z listů v inhibici peroxidace lipidů a potenciál bránit oxidativnímu poškození biomolekul, přičemž antioxidační aktivita metanolového extraktu byla vyšší (13; 20). Antioxidační aktivita obsahových látek v *B. crassifolia* klesá v tomto pořadí kyselina gallová > arbutin > kyselina ellagová > hydrochinon > kyselina askorbová. (54)

Dále byla analyzována schopnost extraktů chránit DNA před poškozením UV zářením. Zajímavým zjištěním bylo, že vodné extrakty vykazovaly mnohem vyšší potenciál chránit DNA před oxidačním stresem, ačkoli jako antioxidanty značně zaostávaly za svým metanolovým protějškem. (87)

Výzkumy ukázaly, že se na antioxidační aktivitě významně podílí přítomnost flavonoidů, které zhášejí kyslíkové radikály mnohem efektivněji než kyselina askorbová. Nejdůležitější funkcí flavonoidů je tak ochrana biologických redukčních činidel. Přednostně dojde k oxidaci flavonoidu. Vysoce reaktivní OH-skupina poskytuje volnému radikálu vodík a tím ho deaktivuje. Nově vznikající flavonoidní radikál je tak více stabilní a méně reaktivní. (88)

### 3.3.6 Antimalarická aktivita

Malárie je jednou z hlavních příčin nemocnosti a úmrtnosti v mnoha tropických a subtropických oblastech. Významnou aktivitu proti plazmodiím *in vitro* vykazoval etanolový

extrakt z listů *B. ciliata* v  $IC_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$ . Během testů *in vivo* byly použity různé koncentrace extraktů (250–1000 mg/kg), které vykazovaly značný chemosupresivní účinek již sedmý den po podání v závislosti na podané dávce. Jako standard byl použit chlorochin 5 mg/kg. Maximální chemosupresivní účinek extraktu (87,50%) byl pozorován v koncentraci 1000 mg/kg. Chlorochin vykazoval v podané dávce 96,82% chemosupresivní účinek. Podáním etanolového extraktu *B. ciliata* v koncentraci 750 a 1000 mg/kg se u testovaných myší významně zlepšuje střední doba přežití ( $23,4 \pm 2,7$  a  $24 \pm 6,7$  dnů) ve srovnání s kontrolní infikovanou skupinou, která vykazuje střední dobu přežití  $8,6 \pm 1,5$  dne. Studie informuje o značné *in vitro* a *in vivo* antimalarické aktivitě etanolového extraktu z listů *B. ciliata*. (1; 18)

### 3.3.7 Antitusická aktivita

Různé koncentrace arbutinu byly podávány myším, u kterých byl navozen kašel a bylo pozorováno, že dávka 200 mg/kg měla podobný účinek jako antitusikum kodein v dávce 30 mg/kg. (1) Výsledky studie Strapkové potvrdily, že arbutin podávaný v dávkách 50 a 100 mg/kg tělesné hmotnosti perorálně a intraperitoneálně je schopen tlumit kašlací reflex u neanestezovaných koček. Podání arbutinu v dávce 50 mg/kg p.o. a i.p. vyvolalo významné snížení počtu, intenzity a frekvence záchvatů kašle. Intenzita vynaloženého úsilí pro zakašláni byla ovlivněna méně významně. Z praktického hlediska je tato vlastnost výhodná, protože expektorace není nepříznivě ovlivněna. Celkově měl arbutin významnější vliv na kašel vyvolaný stimulací tracheobronchiální oblasti. Podobné výsledky ukázalo i podání arbutinu ve vyšší dávce. Zvýšení dávky arbutinu však neprokázalo adekvátní zvýšení jeho antitusické aktivity. Účinek arbutinu byl nejbližší kodeinu v dávce 10 mg/kg tělesné hmotnosti, ale byl menší. Při srovnání antitusické aktivity arbutinu s jiným neopioidním antitusikem dropropizinem lze konstatovat, že účinek arbutinu je silnější. (89)

### 3.3.8 Antihypertenzní aktivita

Antibradykininová aktivita extraktu z listů *B. crassifolia* podávaného perorálně v dávce 50 mg/kg, po dobu 14 dnů byla sledována u spontánně hypertenzních krys. Snížení systolického krevního tlaku bylo pozorováno po 3–6 hodinách (o 20–25 mmHg), snížení diastolického krevního tlaku s podobnými hodnotami bylo pozorováno po 1 hodině léčby. Enzym konvertující angiotenzin I přeměňuje hormon angiotenzin I na aktivní formu,

vazokonstriktor angiotenzin II, a tím nepřímo zvyšuje krevní tlak, protože způsobuje zúžení krevních cév. 70% etanolvý extrakt z oddenků *B. crassifolia* významně inhibuje enzym konvertující angiotensin I (IC<sub>50</sub> = 0,128 mg/ml) *in vitro*, a tak vykazuje antibradykininovou aktivitu. (1)

U pacientů s manifestovanou hypertenzí se na snížení krevního tlaku podílí přítomnost flavonoidu kvercetin. (44)

### 3.3.9 Litolytická aktivita

Byl hodnocen účinek vodného alkoholového extraktu *B. ciliata* na etylenglykolem navozenou urolitiázu v ledvinách u dospělých samic wistarských krys. Jako standard byl podáván Cyston (tradiční ájurvédský polykompozitní bylinný přípravek používaný pro zmírnění urologických obtíží, včetně nefrolitiázy) v dávce 150 a 300 mg/kg tělesné hmotnosti na den, p.o. po dobu 28 dní. Extrakt *B. ciliata* vykazoval vyšší renoprotektivní účinek než stejné dávky Cystonu.

Ve jiné studii byla hodnocena schopnost etanolvého, butanolového, etylacetátového extraktu a izolovaných fenolických sloučenin z listů *B. ciliata* rozpouštět experimentálně připravené ledvinové kameny tvořené šťavelanem vápenatým a fosforečnanem vápenatým na modelu *in vitro*. Izolovaná fenolická sloučenina z etylacetátové frakce listů vykazovala nejvyšší schopnost rozpouštět oba typy kamenů. Zároveň bylo zjištěno, že referenční standard Cyston je účinnější (48,48 %) ve srovnání s izolovanou fenolickou sloučeninou.

Saha a Verma ve své studii použili vodné alkoholové extrakty oddenků *B. ciliata*. Metodou *in vitro* zjistili schopnost extraktu lépe inhibovat nukleaci a agregaci krystalů monohydrátu šťavelanu vápenatého v závislosti na podané dávce než Cyston. Kromě toho extrakt zvýšil tvorbu dihydrátu šťavelanu vápenatého, tedy jejich hydrataci a rozpouštění, za významného zmenšení velikosti a počtu krystalů monohydrátu šťavelanu vápenatého. Výsledky studie poukazují na vynikající schopnost extraktu inhibovat krystalurii a možné využití k léčbě ledvinových kamenů. (13; 90; 91)

### 3.3.10 Antiulcerózní aktivita

V některých oblastech jihovýchodní Asie je *B. ciliata* v lidovém léčitelství používána pro léčbu žaludečních potíží. Experimentálně byla u krys hodnocena schopnost vodných a metanolvých extraktů z oddenku chránit žaludek před ulcerogenním působením etanolu/HCl, indometacinu

a schopnost zmenšovat vředové léze. Dávky 15, 30 a 60 mg/kg tělesné hmotnosti byly podávány 1 hodinu po podání ulcerogenního léčiva. Bylo zjištěno, že antiulcerózní aktivita je zprostředkována spíše cytoprotektivním účinkem posílením slizniční bariéry, než prevencí sekrece žaludeční kyseliny nebo úpravou pH a kyselosti. (92)

### **3.3.11 Protirakovinná aktivita**

Kvercetin může snižovat aktivitu nukleárního faktoru- $\kappa$ B, čímž snižuje angiogenezi (93), také se podílí na snížení exprese P-glykoproteinu, a tím i lékové rezistence. (94) Byla prokázána souvislost mezi konzumací čaje (nebylinného) a brokolice, což jsou hlavní zdroje kaempferolu v lidské populaci a snížením rizika vzniku rakoviny vaječníků o 40 %. (95)

Studie Mojžíšové a spol. uvádí, že kvercetin snižuje daunorubicinem navozenou toxicitu pro kardiomyoblasty, což ukazuje na možný přínos flavonoidů při snižování toxicity léků. (96)

Cytotoxicita metanolových a vodných extraktů z oddenků *B. ciliata* Byla testována v buněčných liniích pro rakovinu prsu, jater a prostaty. Míra toxicity obou extraktů závisela na použité koncentraci. Bergenie tedy vykazují antineoplastickou aktivitu a lze je potenciálně použít v prevenci vzniku rakoviny. (1)

### **3.3.12 Adaptogenní aktivita**

Adaptogenní aktivita rostlinných drog spočívá ve zvyšování odolnosti vůči různým zdrojům stresu a stabilizaci tělesných funkcí, aby byl organismus schopen lépe odolávat a přizpůsobovat se změněným podmínkám. V testu na běžícím pásu byly krysy po dobu 10 dnů krmeny 300 mg/kg extraktu z černých listů *B. crassifolia*. Pozorovaná doba běhu se zvýšila o 30 % oproti kontrolní skupině. Zlepšení výdrže bylo srovnatelné s krysami, kterým byl podáván 5 ml/kg extrakt z jiného adaptogenu *Eleutherococcus senticosus*. Podobně bylo pozorováno, že výdrž plavat u myší, kterým byl podáván nálev z fermentovaných listů *B. crassifolia* se zvýšila 2,2krát víc ve srovnání s kontrolou. Podobná studie pak odhalila, že se také výrazně zlepšila schopnost krysy odolávat velmi nízkým teplotám -15 °C (3 hodiny/den, 21 dnů) po podávání extraktů z černých listů bergenie. (1)

## 4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1 Chemikálie a pomocné látky

**Aceton** p.a., Penta (Chrudim, ČR)

**Etylacetát** p.a., VWR International S.A.S. (Paříž, Francie)

**Chlorid hlinitý** p.a., Lachema (Brno, ČR)

**Kyselina chlorovodíková** p.a., Lachema (Brno, ČR)

**Kyselina octová ledová** p.a., Penta (Chrudim, ČR)

**Metanol** p.a., Lachema (Brno, ČR)

**Metenamin** p.a., Penta (Chrudim, ČR)

**Síran sodný bezvodý** p.a., Penta (Chrudim, ČR)

### 4.2 Přístrojové vybavení

**Analytické váhy**, Sartorius A2005 (Německo)

**Vodní lázeň GFL**, typ 1042 (Německo)

**Pipetovací balónek**, Flip, Německo

**Spektrofotometr UV/VIS**, Shimadzu UV-1601 (Japonsko)

### 4.3 Rostlinný materiál

Pro vypracování diplomové práce byl použit materiál určený pro disertační práci Heleny Hendrychové. Vzorky červených a zelených listů druhů *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch, *Bergenia ciliata* (Haw.) Sternb. a *Bergenia x ornata* Stein. pocházely ze sběrů z října 2011, května 2012, října 2012 a května 2013 provedených v Lednici (173 m n.m.) v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy Univerzity v Brně. Výsev sledovaných rostlin proběhl v roce 2004 a výsadba v roce 2005. Vybrané druhy byly odborně identifikovány a označeny. Celkem bylo za celé sledované období nasbíráno 130 vzorků. Pro účely práce byl vybrán užší výběr 32 obsahově statisticky významných vzorků. Listy byly usušeny v sušárně při 40 a 50 °C a poté byly elektrickým mlýnkem rozmělněny na prášek o velikosti částic přibližně 0,1 mm. Do výsledných hodnot obsahu byla započítána ztráta sušením, která byla stanovena dle metodiky uvedené v Českém lékopise 2009. (20; 97)

**Tabulka 8:** Seznam vzorků zelených a červených listů vybraných druhů bergenií

Druh	Číslo vzorku	Barva listů	Termín sběru	Teplota sušení [°C]	Druh	Číslo vzorku	Barva listů	Termín sběru	Teplota sušení [°C]	
<i>B. crassifolia</i>	BCR 1	z	P 2011	40	<i>B. ciliata</i>	BCL 1	z	P 2011	40	
	BCR 2	z	P 2011	40		BCL 1	z	J 2012	50	
	BCR 3	z	P 2011	50		BCL 1	z	P 2012	50	
	BCR 1	z	J 2012	50		BCL 1	č	P 2012	50	
	BCR 2	z	J 2012	50		BCL 2	z	P 2012	50	
	BCR 3	z	J 2012	50		BCL 1	z	J 2013	50	
	BCR 4	z	J 2012	50		BCL 2	z	J 2013	50	
	BCR 1	z	P 2012	50		<i>B. x ornata</i>	BOR 1	z	P 2011	40
	BCR 2	z	P 2012	50	BOR 1		z	J 2012	50	
	BCR 2	č	P 2012	50	BOR 2		z	J 2012	50	
	BCR 3	z	P 2012	50	BOR 1		z	P 2012	50	
	BCR 3	č	P 2012	50	BOR 1		č	P 2012	50	
	BCR 5	z	P 2012	50	BOR 1		z	J 2013	50	
	BCR 5	č	P 2012	50	Použité zkratky:					
	BCR 6	z	P 2012	50	BCR – <i>B. crassifolia</i>		P – podzim			
	BCR 1	z	J 2013	50	BCL – <i>B. ciliata</i>		J – jaro			
	BCR 4	z	J 2013	50	BOR – <i>B. x ornata</i>					
	BCR 5	z	J 2013	50	z – zelené listy					
	BCR 6	z	J 2013	50	č – červené listy					

Byly zaznamenány níže uvedené podmínky sběru. Průměrné měsíční hodnoty meteorologických údajů (Tabulka 9) ze stanice hydrometeorologického ústavu ČR v Lednici (164 m n. m.) byly pro účely práce poskytnuty Zahradnickou fakultou Mendelovy univerzity v Brně.

**Tabulka 9:** Meteorologické údaje pro jednotlivá období sběru (20)

Období sběru	Průměrná teplota [°C]	Vodní srážky [mm]	Sluneční svit [hod]	Relativní vlhkost [%]
Říjen 2011	9,3	42,8	126,4	76,2
Květen 2012	11,1	16,9	213,9	59
Říjen 2012	10,8	39,7	130,6	82
Květen 2013	14,6	59,1	181,5	75



#### 4.4 Postup stanovení (98)

Celkové množství flavonoidů v listech vybraných druhů rodu *Bergenia* bylo stanoveno podle lékopisné metody pro stanovení obsahu flavonoidů v droze *Betulae folium*, která je uvedena v Českém lékopise 2017.

*Základní roztok.* 0,200 g práškované drogy se ve 100ml baňce s kulatým dnem smíchá s 1 ml roztoku *metenaminu R* (5 g/l), který zabraňuje tvorbě prokyanidinů, které by vytvářely barevné produkty, 20 ml *acetonu R* a 2 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a vaří se 30 min pod zpětným chladičem. Kapalina se zfiltruje přes chomáček vaty do 100ml baňky. Vata se přidá ke zbytku v baňce s kulatým dnem a dvakrát se extrahuje 20 ml *acetonu R*, pokaždé se vaří 10 min pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit při teplotě místnosti, kapalina se zfiltruje přes chomáček vaty a potom přes filtrační papír do odměrné baňky a zředí se *acetonem R* použitým k promytí baňky a filtru na 100,0 ml.

20,0 ml roztoku se převede do dělicí nálevky, přidá se 20 ml *vody R* a protřepává se jednou 15 ml a potom třikrát 10 ml *etylacetátu R*. Etylacetátové extrakty se spojí v dělicí nálevce, promyjí se dvakrát 50 ml *vody R*, extrakt se zfiltruje přes 10 g *síranu sodného bezvodého R* do 50ml odměrné baňky a zředí se *etylacetátem R* na 50,0 ml.

*Zkoušený roztok.* 10,0 ml základního roztoku se smíchá s 1 ml roztoku *chloridu hlinitého RS* a zředí se roztokem *kyseliny octové ledové R 5% (D/V)* v *metanolu R* na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok.* 10,0 ml základního roztoku se zředí roztokem *kyseliny octové ledové R 5% (V/V)* v *metanolu R* na 25,0 ml.

Po 30 min se měří absorbance zkoušeného roztoku v maximu při 425 nm za použití porovnávacího roztoku jako kontrolní tekutiny.

Obsah flavonoidů v procentech, vyjádřeno jako hyperosid ( $C_{21}H_{20}O_{12}$ ), se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A \cdot 1,25}{m}$$

v němž značí:

*A* – absorbanci roztoku při 425 nm;

*m* – hmotnost zkoušené drogy v gramech.

Specifická absorbance hyperosidu je 500.

## 5 VÝSLEDKY

**Tabulka 10:** Hodnoty navážek a naměřených absorbancí vybraných druhů rodu *Bergenia*

Druh	Vzorek	Barva listů	Termín sběru	Teplota sušení [°C]	Navážka [g]				Absorbance			
					m1	m2	m3	Průměr	A1	A2	A3	Průměr
<i>B. crassifolia</i>	BCR 1	z	P 2011	40	0,5999	0,6001	0,6000	<b>0,6000</b>	0,396	0,421	0,407	<b>0,408</b>
	BCR 2	z	P 2011	40	0,6002	0,6003	0,6003	<b>0,6003</b>	0,421	0,439	0,445	<b>0,435</b>
	BCR 3	z	P 2011	50	0,6003	0,6001	0,6001	<b>0,6002</b>	0,423	0,446	0,445	<b>0,438</b>
	BCR 1	z	J 2012	50	0,6000	0,6001	0,6000	<b>0,6000</b>	0,230	0,225	0,245	<b>0,233</b>
	BCR 2	z	J 2012	50	0,6000	0,6000	0,6000	<b>0,6000</b>	0,128	0,163	0,162	<b>0,151</b>
	BCR 3	z	J 2012	50	0,5996	0,6000	0,5996	<b>0,5997</b>	0,234	0,278	0,251	<b>0,254</b>
	BCR 4	z	J 2012	50	0,5999	0,6000	0,6003	<b>0,6001</b>	0,275	0,297	0,259	<b>0,277</b>
	BCR 1	z	P 2012	50	0,6000	0,6001	0,5999	<b>0,6000</b>	0,264	0,220	0,249	<b>0,244</b>
	BCR 2	z	P 2012	50	0,6003	0,6003	0,6002	<b>0,6003</b>	0,286	0,314	0,261	<b>0,287</b>
	BCR 2	č	P 2012	50	0,6000	0,6000	0,6001	<b>0,6000</b>	0,262	0,289	0,297	<b>0,283</b>
	BCR 3	z	P 2012	50	0,6004	0,6002	0,6002	<b>0,6003</b>	0,219	0,251	0,227	<b>0,232</b>
	BCR 3	č	P 2012	50	0,6002	0,6002	0,6001	<b>0,6002</b>	0,311	0,290	0,308	<b>0,303</b>
	BCR 5	z	P 2012	50	0,5996	0,5995	0,5995	<b>0,5995</b>	0,204	0,234	0,195	<b>0,211</b>
	BCR 5	č	P 2012	50	0,6000	0,5998	0,6002	<b>0,6000</b>	0,311	0,298	0,300	<b>0,303</b>
	BCR 6	z	P 2012	50	0,6001	0,6002	0,6002	<b>0,6002</b>	0,196	0,226	0,209	<b>0,210</b>
	BCR 1	z	J 2013	50	0,5998	0,5999	0,5998	<b>0,5998</b>	0,291	0,334	0,305	<b>0,310</b>
	BCR 4	z	J 2013	50	0,6001	0,6000	0,5999	<b>0,6000</b>	0,175	0,217	0,209	<b>0,200</b>
	BCR 5	z	J 2013	50	0,6001	0,6001	0,6000	<b>0,6001</b>	0,304	0,318	0,313	<b>0,311</b>
	BCR 6	z	J 2013	50	0,6001	0,6000	0,6001	<b>0,6001</b>	0,288	0,283	0,256	<b>0,276</b>
	<i>B. ciliata</i>	BCL 1	z	P 2011	40	0,5999	0,6000	0,5999	<b>0,5999</b>	0,308	0,313	0,312
BCL 1		z	J 2012	50	0,6002	0,6002	0,6002	<b>0,6002</b>	0,556	0,568	0,580	<b>0,568</b>
BCL 1		z	P 2012	50	0,5999	0,5998	0,5998	<b>0,5998</b>	0,315	0,304	0,297	<b>0,305</b>
BCL 1		č	P 2012	50	0,6001	0,6001	0,6000	<b>0,6001</b>	0,434	0,439	0,423	<b>0,432</b>
BCL 2		z	P 2012	50	0,5998	0,5999	0,5997	<b>0,5998</b>	0,379	0,396	0,377	<b>0,384</b>
BCL 1		z	J 2013	50	0,6000	0,6000	0,6001	<b>0,6000</b>	0,497	0,509	0,521	<b>0,509</b>
BCL 2		z	J 2013	50	0,5997	0,5998	0,5996	<b>0,5997</b>	0,405	0,413	0,382	<b>0,400</b>
<i>B. x ornata</i>	BOR 1	z	P 2011	40	0,6003	0,6003	0,6002	<b>0,6003</b>	0,235	0,254	0,219	<b>0,236</b>
	BOR 1	z	J 2012	50	0,6001	0,6001	0,6003	<b>0,6002</b>	0,395	0,410	0,416	<b>0,407</b>
	BOR 2	z	J 2012	50	0,6005	0,6005	0,6003	<b>0,6004</b>	0,533	0,543	0,529	<b>0,535</b>
	BOR 1	z	P 2012	50	0,6006	0,6005	0,6005	<b>0,6005</b>	0,207	0,224	0,217	<b>0,216</b>
	BOR 1	č	P 2012	50	0,6004	0,6005	0,6003	<b>0,6004</b>	0,256	0,273	0,264	<b>0,264</b>
	BOR 1	z	J 2013	50	0,5997	0,5998	0,5997	<b>0,5997</b>	0,350	0,380	0,359	<b>0,363</b>

**Tabulka 11:** Experimentálně stanovený obsah flavonoidů ve vybraných vzorcích, nejvyšší naměřené hodnoty jsou vyznačeny zeleně

Druh	Vzorek	Barva listů	Termín sběru	Teplota sušení [°C]	Obsah flavonoidů [%]				$\sigma$
					$x_1$	$x_2$	$x_3$	$\bar{x}$	
<i>B. crassifolia</i>	BCR 1	z	P 2011	40	0,8260	0,8760	0,8480	<b>0,8500</b>	0,0251
	BCR 2	z	P 2011	40	0,8768	0,9138	0,9268	<b>0,9058</b>	0,0259
	BCR 3	z	P 2011	50	0,8812	0,9292	0,9262	<b>0,9122</b>	0,0269
	BCR 1	z	J 2012	50	0,4784	0,4684	0,5094	<b>0,4854</b>	0,0214
	BCR 2	z	J 2012	50	0,2666	0,3406	0,3366	<b>0,3146</b>	0,0416
	BCR 3	z	J 2012	50	0,4874	0,5784	0,5224	<b>0,5294</b>	0,0459
	BCR 4	z	J 2012	50	0,5720	0,6190	0,5400	<b>0,5770</b>	0,0397
	BCR 1	z	P 2012	50	0,5493	0,4573	0,5183	<b>0,5083</b>	0,0468
	BCR 2	z	P 2012	50	0,5946	0,6546	0,5436	<b>0,5976</b>	0,0556
	BCR 2	č	P 2012	50	0,5466	0,6026	0,6196	<b>0,5896</b>	0,0382
	BCR 3	z	P 2012	50	0,4551	0,5221	0,4721	<b>0,4831</b>	0,0348
	BCR 3	č	P 2012	50	0,6480	0,6040	0,6410	<b>0,6310</b>	0,0236
	BCR 5	z	P 2012	50	0,4249	0,4889	0,4059	<b>0,4399</b>	0,0435
	BCR 5	č	P 2012	50	0,6473	0,6213	0,6253	<b>0,6313</b>	0,0140
	BCR 6	z	P 2012	50	0,4074	0,4704	0,4344	<b>0,4374</b>	0,0316
	BCR 1	z	J 2013	50	0,6070	0,6950	0,6360	<b>0,6460</b>	0,0448
	BCR 4	z	J 2013	50	0,3637	0,4517	0,4347	<b>0,4167</b>	0,0467
	BCR 5	z	J 2013	50	0,6333	0,6614	0,6513	<b>0,6487</b>	0,0142
BCR 6	z	J 2013	50	0,6009	0,5899	0,5339	<b>0,5749</b>	0,0359	
<i>B. ciliata</i>	BCL 1	z	P 2011	40	0,6410	0,6530	0,6500	<b>0,6480</b>	0,0062
	BCL 1	z	J 2012	50	1,1579	1,1819	1,2089	<b>1,1829</b>	0,0255
	BCL 1	z	P 2012	50	0,6556	0,6326	0,6186	<b>0,6356</b>	0,0187
	BCL 1	č	P 2012	50	0,9039	0,9149	0,8809	<b>0,8999</b>	0,0173
	BCL 2	z	P 2012	50	0,7903	0,8243	0,7863	<b>0,8003</b>	0,0209
	BCL 1	z	J 2013	50	1,0344	1,0614	1,0854	<b>1,0604</b>	0,0255
BCL 2	z	J 2013	50	0,8438	0,8608	0,7968	<b>0,8338</b>	0,0332	
<i>B. x ornata</i>	BOR 1	z	P 2011	40	0,4894	0,5294	0,4554	<b>0,4914</b>	0,0370
	BOR 1	z	J 2012	50	0,8537	0,8227	0,8667	<b>0,8477</b>	0,0311
	BOR 2	z	J 2012	50	1,1098	1,1008	1,1308	<b>1,1138</b>	0,0154
	BOR 1	z	P 2012	50	0,4666	0,4316	0,4506	<b>0,4496</b>	0,0175
	BOR 1	č	P 2012	50	0,5486	0,5676	0,5326	<b>0,5496</b>	0,0134
BOR 1	z	J 2013	50	0,7286	0,7926	0,7486	<b>0,7566</b>	0,0327	

## 5.1 Statistické zpracování výsledků (99, 100)

Všechna stanovení obsahu flavonoidů v jednotlivých vzorcích byla provedena ve třech opakováních. Ze získaných hodnot byl vypočítán aritmetický průměr  $\bar{x}$  a směrodatná odchylka  $\sigma$ . Pro statistické zhodnocení výsledků byl použit analytický test ANOVA. Výpočty průměrů, odchylek a stanovení analýzy rozptylu byly provedeny dle postupu uvedeného v knize Přehled statistických metod, Aplikovaná statistika a pomocí softwaru MS Excel.

### 5.1.1 Aritmetický průměr

Aritmetický průměr  $\bar{x}$  je definován jako součet všech naměřených údajů vydělený jejich počtem. Vypočet má tedy podobu:

$$\bar{x} = \frac{(x_1 + x_2 + \dots + x_n)}{n}$$

### 5.1.2 Rozptyl

Rozptyl  $\sigma^2$  je definován jako průměrná kvadratická odchylka měření od aritmetického průměru, přičemž při průměrování této odchylky dělíme číslem  $(n - 1)$ .

$$\sigma^2 = \frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

### 5.1.3 Směrodatná odchylka

Směrodatná odchylka  $\sigma$  je odmocninou z rozptylu. Měří rozptýlenost kolem průměrů, do jaké míry se naměřené hodnoty v souboru liší od průměrné hodnoty. Její funkce je definovaná vztahem:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$\bar{x}$  ... průměrná hodnota sledované veličiny

$\sigma^2$  ... rozptyl

$\sigma$  ... směrodatná odchylka

$x_i$  ... hodnota sledované veličiny

$n$  ... počet prvků (měření) ve skupině

#### 5.1.4 Analýza rozptylu

Aby bylo možné určit, jestli jsou rozdíly mezi naměřenými hodnotami obsahu flavonoidů v listech sbíraných v různých ročních obdobích statisticky významné, použila jsem jednofaktorovou analýzu rozptylu (ANOVA1). Daným faktorem byl obsah flavonoidů ve vybraných vzorcích, jehož změnu jsem testovala v závislosti na vybraných termínech sběru. Testována byla hypotéza, jestli se průměrná hodnota obsahu flavonoidů alespoň pro jedno období sběru lišila od ostatních. Výpočet byl založen na rozkladu rozptylů (míra kolísání hodnot kolem aritmetického průměru).

Pro vyhodnocení testu bylo nutné určit hypotézy, podle kterých bylo možné učinit závěr.

**Nulová hypotéza  $H_0$**  nám říká, že rozdíly  $\mu$  mezi naměřenými hodnotami flavonoidů ve vybraných vzorcích sbíraných ve zvolených termínech sběru nejsou statisticky významné.

$$H_0: \mu_1 \mu_2 \dots \mu_n$$

**Alternativní hypotéza  $H_A$**  tvrdí opak, tedy že alespoň pro jednu dvojici ročních období platí, že obsah flavonoidů je mezi nimi statisticky významný.

$$H_A: \mu_i \neq \mu_j$$

**Hladina významnosti  $\alpha$** , na které byl sledovaný faktor testován, byla zvolena 5 % ( $\alpha = 0,05$ ). Jedná se o chybu prvního druhu, při které může být nulová hypotéza nesprávně zamítnuta. Naopak při zvolení nízké hladiny významnosti se zvyšuje riziko vzniku chyby druhého druhu (nesprávné přijetí nulové hypotézy).

Pro vypočtení odhadu rozptylů bylo vypočteno **testové kritérium  $F$**  dle vzorce:

$$F = \frac{MST_r}{MSE} = \frac{\frac{SST_r}{k-1}}{\frac{SSE}{n-k}}$$

Kde  $F$  je stanoveno podílem  $MST_r$ , které vyjadřuje odhad rozptylu mezi skupinami a  $MSE$  vyjadřující hodnotu rozptylu uvnitř skupin. Pro jejich stanovení byl využit součet kvadrátů  $SST_r$  (Sum of Squares Treatment),  $SSE$  (Sum of Squares Error) vydělených jejich stupni volnosti, kde  $k$  je počet zkoumaných skupin a  $n$  je počet prvků (počet měření ve skupině).

Hodnota  $SST_r$  byla získána ze vzorce:

$$\sum_{i=1}^k n_i (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2$$

Kde  $k$  představuje počet skupin,  $n_i$  je počet prvků v dané skupině,  $\bar{x}_i$  je aritmetický průměr hodnot ve vybrané skupině a  $\bar{\bar{x}}$  je aritmetický průměr hodnot všech prvků.

Hodnota  $SSE$  byla stanovena vzorcem:

$$SSE = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$$

Kde  $k$  je počet skupin,  $n$  je počet prvků ve skupině,  $x_{ij}$  představuje hodnotu daného prvku ve skupině a  $\bar{x}_i$  je aritmetický průměr hodnot ve skupině.

Pro vyhodnocení testu bylo potřeba zjistit **kritickou hodnotu  $F_{crit}$** , která byla získána pomocí funkce obsažené v softwaru MS Excel. Funkce ve tvaru  $=F.INV(1 - hladina\ vyznamnosti; k - 1; n - k)$  byla porovnáována s testovým kritériem. V případě, že je hodnota testového kritéria větší než kritická hodnota, dochází k zamítnutí nulové hypotézy. Pravdivá je tedy alternativní hypotéza. To znamená, že existují statisticky významné rozdíly mezi alespoň jednou dvojicí testovaných skupin.

Cílem práce bylo ověřit vliv klimatických podmínek na obsah flavonoidů, proto byly pro porovnání vybrány nejprve skupiny na základě kombinace roku a ročního období a následně samostatně roky a roční období. V případě, že dojde k průkazu statistické významnosti, bude proveden Bonferroniho test pro zjištění, mezi kterými skupinami tento statistický význam platí.

Pro případ kritéria rok:období sběru byly naměřené hodnoty rozříděny do skupin Podzim 2011, Jaro 2012, Podzim 2012 a Jaro 2013. Pro kritérium období byly zvoleny skupiny Podzim, Jaro. Pro kritérium rok byly stanoveny skupiny 2011, 2012 a 2013.

Pro statistické výpočty byly použity výpočetní nástroje softwaru Excel. Výstupem jsou následující tabulky 9 a 10, které jsou platné pro rostlinu *Bergenia crassifolia* pro zkoumané kritérium rok:období sběru. Ty jsou zde uvedeny jako vzorový příklad.

**Tabulka 12:** Výstupní tabulka mezivýpočtů ANOVA ze softwaru MS Excel

Skupiny	Počet prvků ve skupině	Součet	Průměr	Rozptyl
1	9	8.004	0.889333	0.001384
2	12	5.7192	0.476600	0.011756
3	24	12.9546	0.539775	0.007163
4	12	6.8588	0.571567	0.010710

**Tabulka 13:** Vyhodnocení ANOVA ze softwaru MS Excel

Zdroj variability	Součet čtverců odchylek	Počet stupňů volnosti	Rozptyl	Testové kritérium	P-hodnota	Kritická hodnota
Mezi skupinami	1.025184	3	0.341728	42.823480	0	2.779114
Uvnitř skupin	0.422936	53	0.007980			
Celkový	1.448120	56				

Všechny hodnoty  $F$  a  $F_{crit}$  pro zkoumaná kritéria jsou uvedeny v následujících tabulkách podle vybraných druhů.

**Tabulka 14:** Vyhodnocení ANOVA testu pro druh *Bergenia crassifolia*

Zkoumané kritérium	$F$	$F_{crit}$	$F > F_{crit}$
Rok a období sběru	42.823480	2.779114	ANO
Období sběru	7.377729595	4.016195288	ANO
Rok	58.95799074	3.168245967	ANO

**Tabulka 15:** Vyhodnocení ANOVA testu pro druh *Bergenia ciliata*

Zkoumané kritérium	$F$	$F_{crit}$	$F > F_{crit}$
Rok a období sběru	16.74267468	3.159907598	ANO
Období sběru	22.45494779	4.380749555	ANO
Rok	2.968219084	3.554557146	NE

**Tabulka 16:** Vyhodnocení ANOVA testu pro druh *Bergenia x ornata*

Zkoumané kritérium	$F$	$F_{crit}$	$F > F_{crit}$
Rok a období sběru	30.9357942	3.343888681	ANO
Období sběru	52.53528553	4.493998418	ANO
Rok	1.452766207	3.682320344	NE

Vyhodnocením metodou ANOVA byl potvrzen vliv kritéria rok:období sběru ve všech případech, proto bylo dále provedeno zkoumání vlivu roku a období zvlášť. V případě ročního období byl opět potvrzen vliv tohoto kritéria ve všech případech. Avšak v případě kritéria rok byl zjištěn statisticky významný vliv pouze u druhu *Bergenia crassifolia*.

#### 5.1.5 Bonferroniho korekce

Poté, co byla zjištěna mezi jednotlivými kritérii statisticky významná rozdílnost v obsahu flavonoidů, bylo nutné určit, mezi kterými dvojicemi vybraných kritérií se tento rozdíl nachází. Pomocí Bonferroniho korekce jsem stanovila, mezi kterými roky byly rozdíly v obsahu flavonoidů statisticky významné. Tento test ale není možné aplikovat na kritérium období sběru, protože je tvořeno množinou pouze dvou skupin, tudíž by došlo jen k potvrzení již zjištěného závěru testu ANOVA.

Bonferroniho korekce na základě počtu testů upravila **hladinu významnosti  $\alpha^B$**  podle následujícího vzorce:

$$\alpha^B = \frac{\alpha}{\text{počet testů}}$$

díky tomu došlo k individuálnímu zpřesnění testu. Upravená hladina významnosti byla porovnávána s hodnotou p získanou pomocí MS Excel.

V situacích, kdy byla hodnota p menší než hladina významnosti, nebyly rozdíly mezi výběrovými průměry důsledkem výběrové chyby, takže lze očekávat, že průměrné hodnoty byly pro jednotlivé roky odlišné. Tedy že rozdíly byly statisticky významné.



**Tabulka 17:** Ukázkový výstup Bonferroniho korekce pro roky 2011 a 2012 z MS Excel

	2011	2012
Střední hodnota	0.8893333333	0.5187166667
Odchylka	0.00138393	0.009313925429
Pozorování	9	36
Rozptyl	0.007838577442	
Hypotetický střední rozdíl	0	
Stupně volnosti	43	
t statistika	11.23240017	
P(T<=t) s jedním chvostem	0	
t kritická s jedním chvostem	1.681070646	
P(T<=t) s dvěma chvosty	0	
t kritická s dvěma chvosty	2.016692173	

V následující tabulce je uveden celkový přehled vztahů statistické významnosti mezi jednotlivými roky. Mezi dvojicemi označenými symbolem ✓ byly zjištěny statisticky významné rozdíly.

**Tabulka 18:** Přehled vztahů statistické významnosti mezi jednotlivými roky

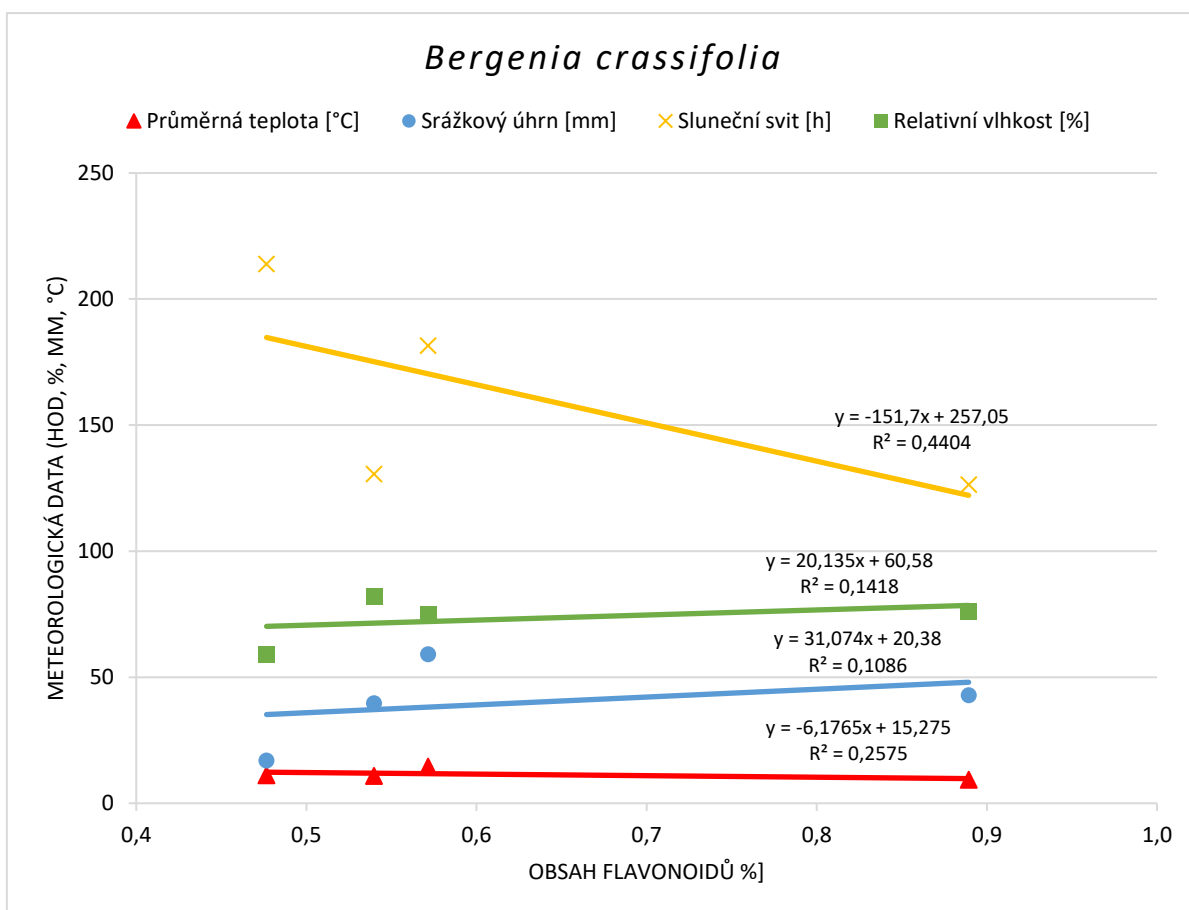
Roky	2011	2012	2013
2011		✓	✓
2012	✓		
2013	✓		

Na základě výsledků statistické analýzy dat můžeme tvrdit, že na obsahu flavonoidů se významně podílí vliv období sběru. Dále bylo zjištěno, že vlivy roku 2011 se oproti rokům 2012 a 2013 měřitelným způsobem podílely na obsah flavonoidů u druhu *Bergenia crassifolia*.

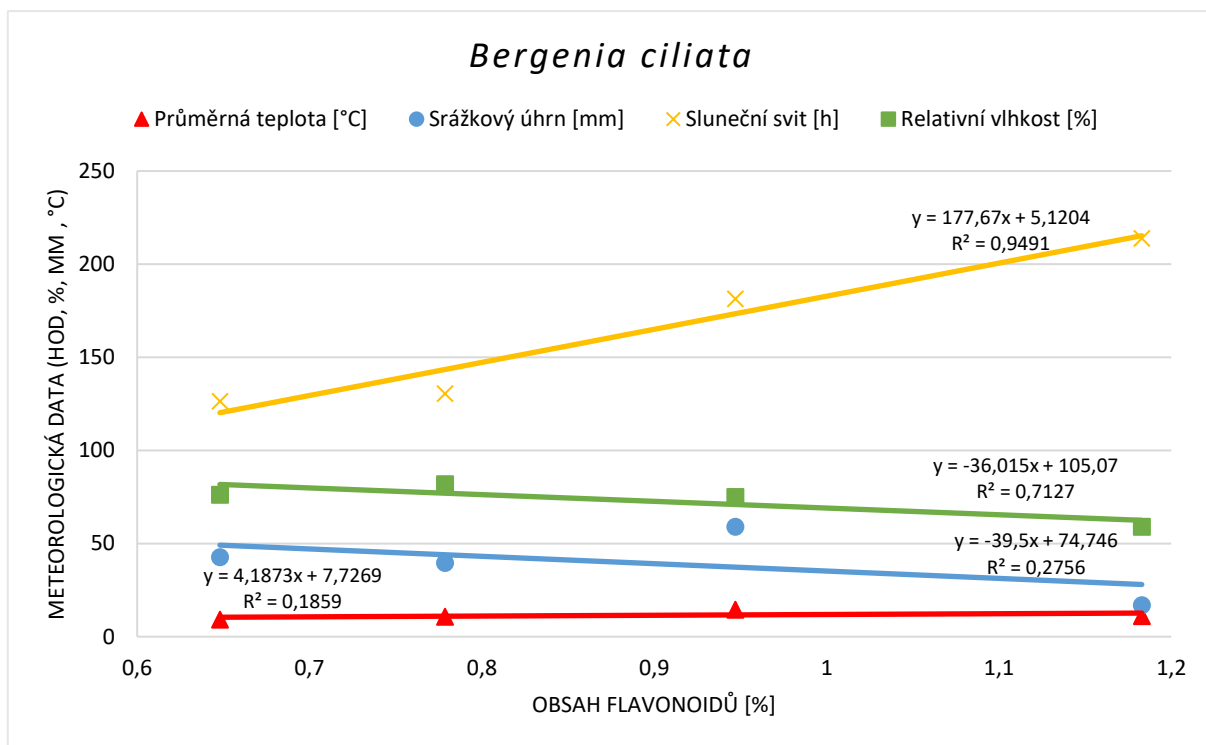
Součástí mé práce bylo porovnat obsah flavonoidů s meteorologickými podmínkami v době sběru. Získaná data jsem proto porovнала s poskytnutými údaji z meteorologické stanice v Lednici.

**Tabulka 19:** Vstupní hodnoty pro grafické znázornění závislosti obsahu flavonoidů na meteorologických podmínkách v období sběru

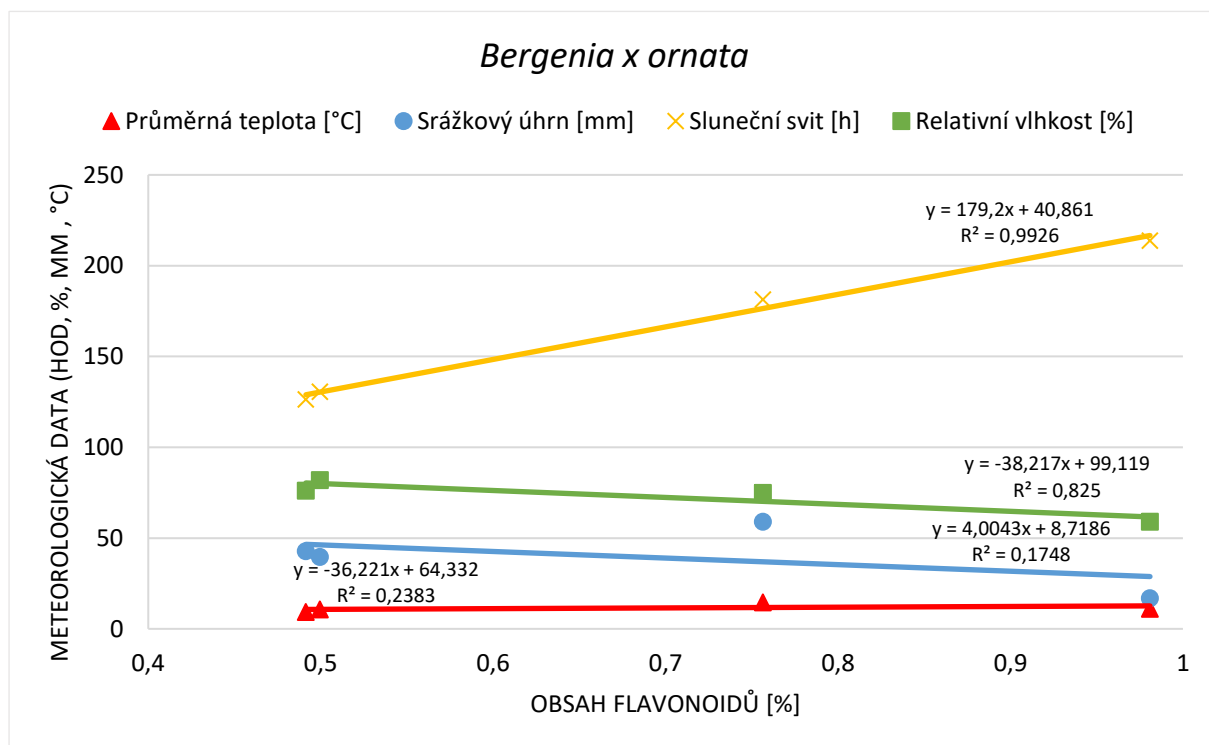
Období sběru	Průměrná teplota [°C]	Srážkový úhrn [mm]	Sluneční svit [h]	Relativní vlhkost [%]	Průměrný obsah flavonoidů [%]		
					BCR	BCL	BOR
P 2011	9,3	42,8	126,4	76,2	0,8893	0,6480	0,4914
J 2012	11,1	16,9	213,9	59	0,4766	1,1829	0,9809
P 2012	10,8	39,7	130,6	82	0,5398	0,7786	0,4996
J 2013	14,6	59,1	181,5	75	0,5716	0,9471	0,7566



**Obrázek 9:** Závislost obsahu flavonoidů *B. crassifolia* na meteorologických podmínkách sběru za sledovaná období z let 2011 až 2013.



**Obrázek 10:** Závislost obsahu flavonoidů *B. ciliata* na meteorologických podmínkách sběru za sledovaná období z let 2011 až 2013.

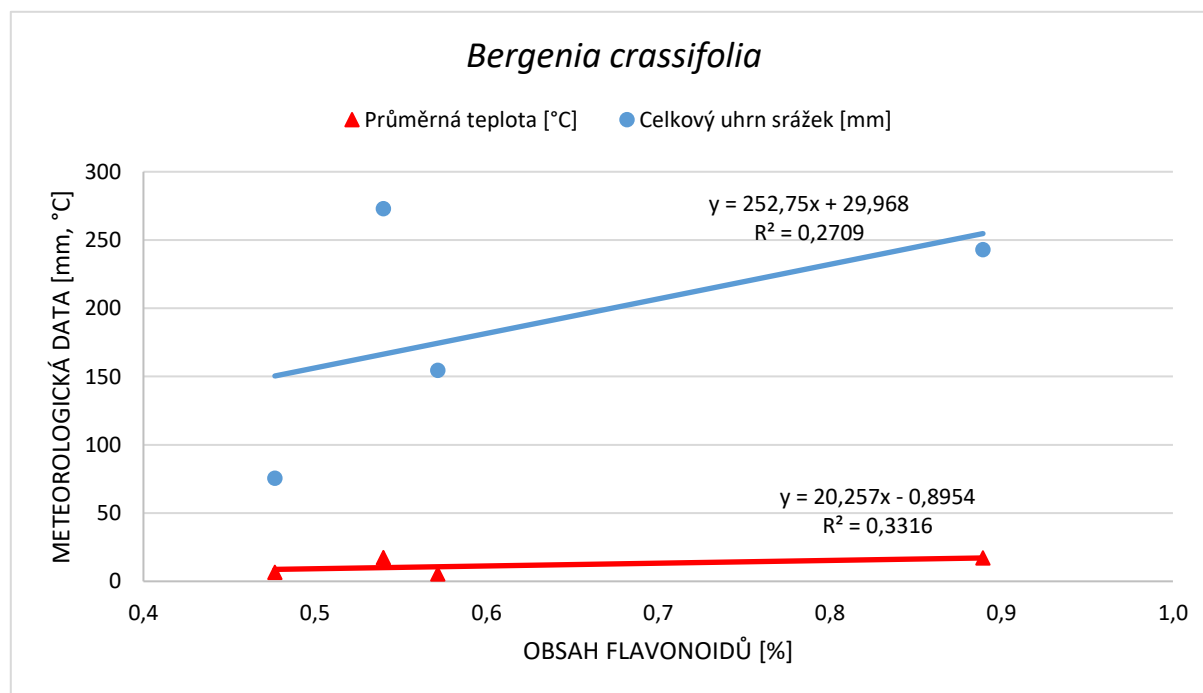


**Obrázek 11:** Závislost obsahu flavonoidů *B. x ornata* na meteorologických podmínkách sběru za sledovaná období z let 2011 až 2013.

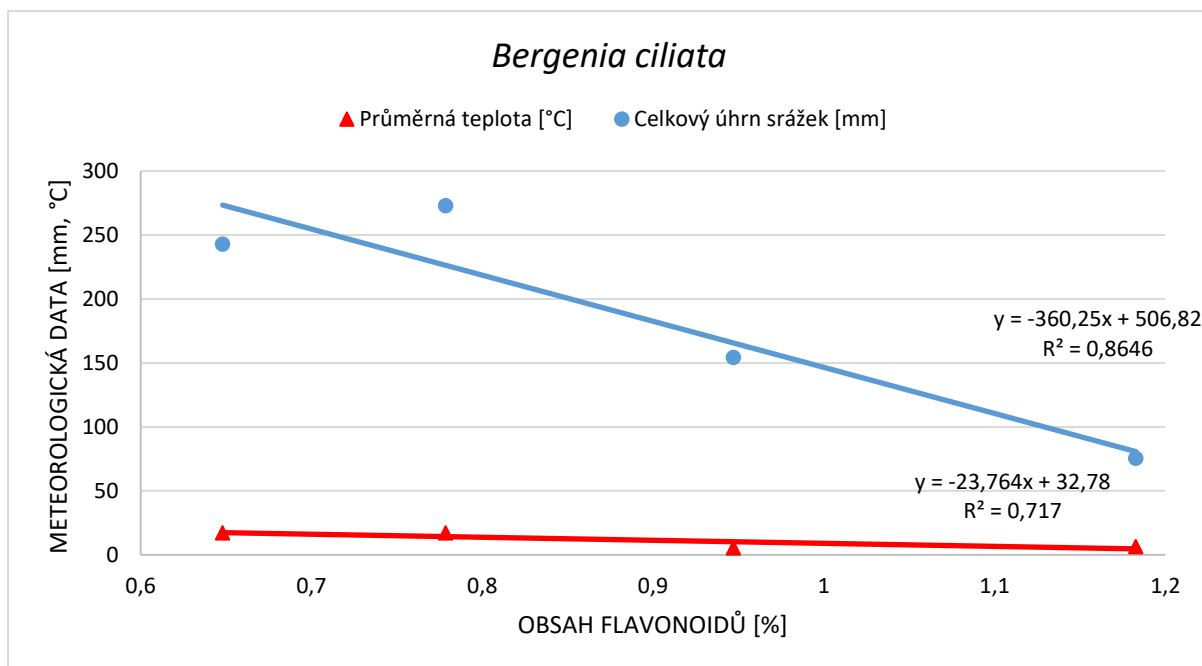
Pro stanovení vlivu meteorologických podmínek na obsah flavonoidů jsou důležité nejen podmínky v době sběru, ale během celé vegetační sezóny. Vybrané druhy bergénií kvetou v zeměpisných podmínkách České republiky do konce dubna. (101, 102) Po odkvětu dochází k tvorbě nových listů. Sběr listů probíhal v měsících květen a říjen, proto jsem průměrné obsahy flavonoidů porovnávala s průměrnými teplotami a celkovým úhrnem srážek od ledna do května pro jarní sběr a od června po říjen pro podzimní sběr.

**Tabulka 20:** Vstupní hodnoty pro grafické znázornění závislosti obsahu flavonoidů na meteorologických podmínkách vegetační sezóny v *B. crassifolia*, *B. ciliata* a *B. x ornata*.

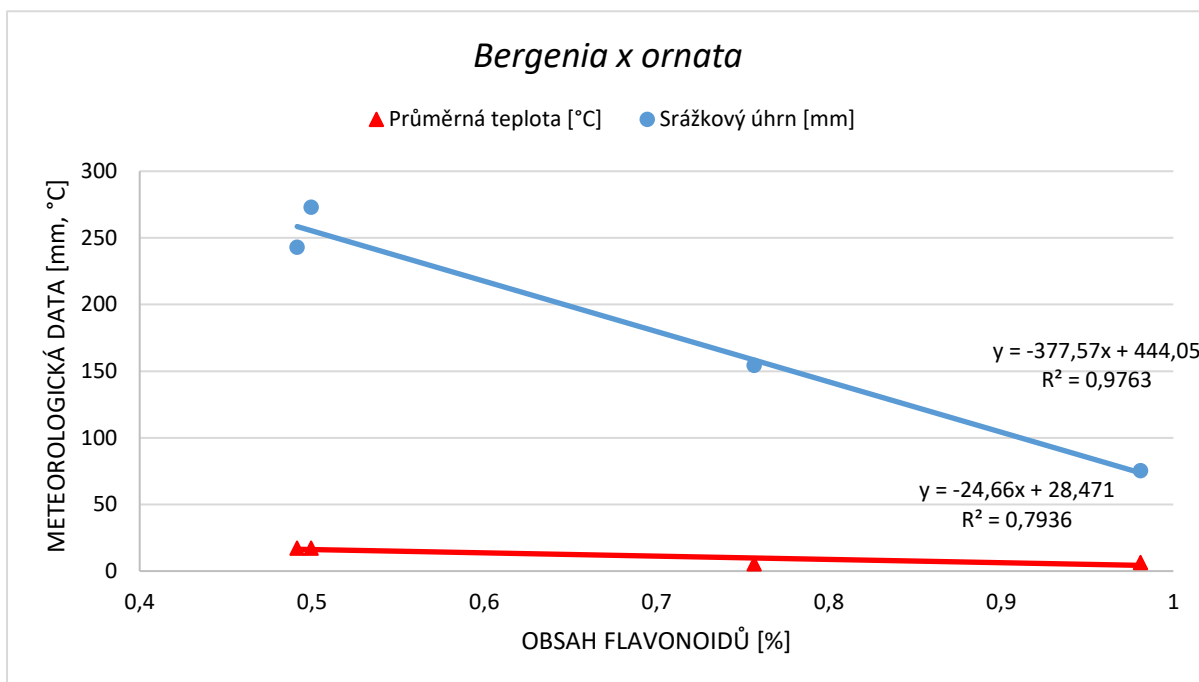
Doba sběru	Vegetační období [měsíce]	Průměrná teplota [°C]	Celkový úhrn srážek [mm]	Průměrný obsah flavonoidů [%]		
				BCR	BCL	BOR
P 2011	VI-X	17,2	243	0,8893	0,6480	0,4914
J 2012	I-V	6,6	75,5	0,4766	1,1829	0,9809
P 2012	VI-X	17,3	273	0,5398	0,7786	0,4996
J 2013	I-V	5,5	154,5	0,5716	0,9471	0,7566



**Obrázek 12:** Závislost obsahu flavonoidů v *B. crassifolia* na meteorologických podmínkách vegetační sezóny za sledovaná období z let 2011 až 2013.



**Obrázek 13:** Závislost obsahu flavonoidů v *B. ciliata* na meteorologických podmínkách vegetační sezóny za sledovaná období z let 2011 až 2013.

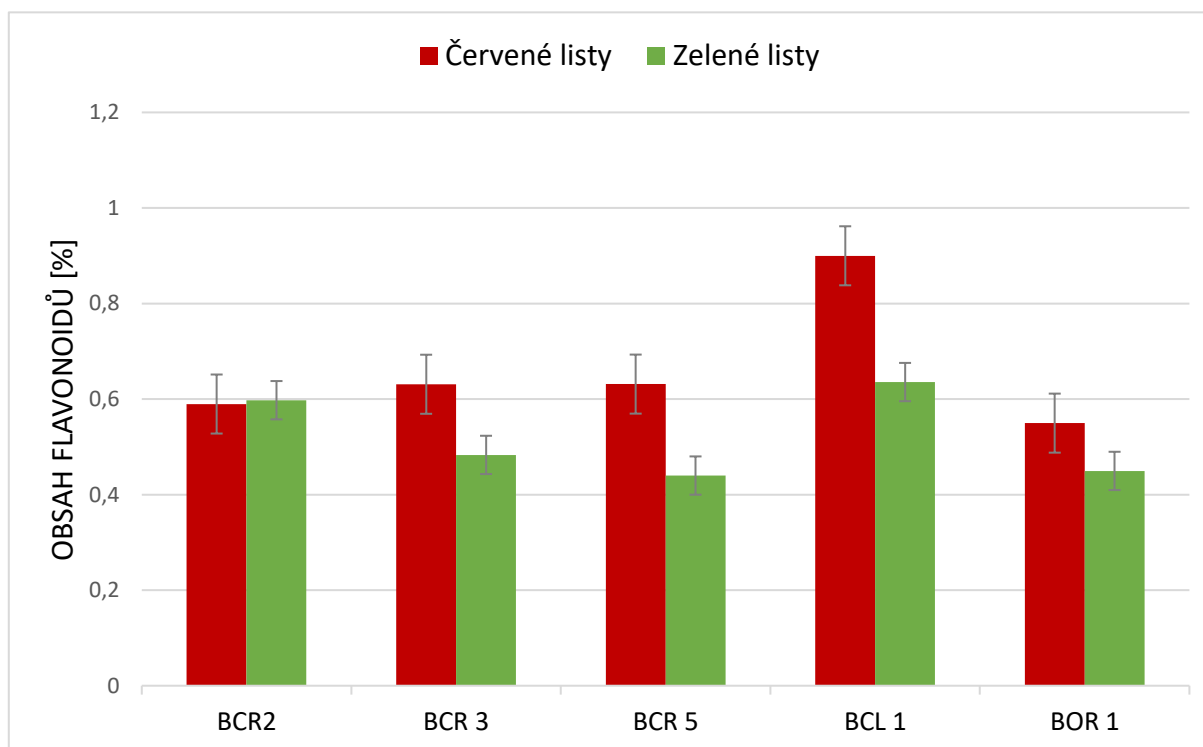


**Obrázek 14:** Závislost obsahu flavonoidů v *B. x ornata* na meteorologických podmínkách vegetační sezóny za sledovaná období z let 2011 až 2013.

Literatura uvádí, že červené listy listových drog obsahují více flavonoidů v porovnání se zelenými (103), proto jsem se rozhodla výsledný obsah porovnat. Červené i zelené listy pocházely z vybraných rostlin z podzimního sběru z října 2012 (P 2012)

**Tabulka 21:** Hodnoty obsahu flavonoidů v zelených a červených listech u druhů *B. crassifolia*, *B. ciliata* a *B. x ornata* z podzimního sběru z roku 2012

P 2012	Červené listy					Zelené listy				
vzorek	BCR2	BCR 3	BCR 5	BCL 1	BOR 1	BCR2	BCR 3	BCR 5	BCL 1	BOR 1
$x_1$	0,5466	0,6480	0,6473	0,9039	0,5486	0,5946	0,4551	0,4249	0,6556	0,4666
$x_2$	0,6026	0,6040	0,6213	0,9149	0,5676	0,6546	0,5221	0,4889	0,6326	0,4316
$x_3$	0,6196	0,6410	0,6253	0,8809	0,5326	0,5436	0,4721	0,4059	0,6186	0,4506
$\bar{x}$	<b>0,5896</b>	<b>0,6310</b>	<b>0,6313</b>	<b>0,8999</b>	<b>0,5496</b>	<b>0,5976</b>	<b>0,4831</b>	<b>0,4399</b>	<b>0,6356</b>	<b>0,4496</b>
$\sigma$	0,0382	0,0236	0,0140	0,0173	0,0175	0,0556	0,0348	0,0435	0,0187	0,0175



**Obrázek 15:** Průměrný obsah flavonoidů v listových extraktech červených a zelených listů *B. crassifolia* (BCR 2, 3 a 5), *B. ciliata* (BCL 1) *B. x ornata* (BOR 1) vyjádřené v procentech.

## 6 DISKUSE

Druhy rodu *Bergenia* jsou víceleté byliny, které jsou pro léčebné účely využívány především v tradičních medicínách Číny, Indie a Ruska. Rostlinné sekundární metabolity jsou významnou součástí výživy, definují její kvalitu a zároveň představují i důležitý zdroj léčiv. Výzkum je soustředěn hlavně na fenolické látky, z nich nejvíce na flavonoidy, pro množství zdraví prospěšných účinků na lidský organismus. Působí antioxidantním, protizánětlivým, antibakteriálním, protinádorovým účinkem a mimo jiné snižují hladinu krevního cukru a normalizují krevní tlak. V rostlině pak plní především obrannou funkci a chrání ji před nepříznivými vlivy prostředí. Produkce a hromadění v rostlinách tedy nezávisí pouze na vnitřních faktorech a vývojovém stádium rostliny, ale mohou být značně ovlivněny také vnějšími faktory, jako je světlo, teplota, poranění, škůdci, technika pěstování, propustnost půdy a její hloubka. Rostliny obecně rostou rychleji a vykazují vyšší výnosy v méně stresujícím prostředí, ale na druhé straně působení biotických a abiotických stresových faktorů indukuje tvorbu sekundárních metabolitů tedy i flavonoidů. (104)

V této práci byly podle obsahu flavonoidů hodnoceny tři druhy rostlin rodu *Bergenia* – *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch, *Bergenia ciliata* (Haw.) Sternb. a *Bergenia x ornata* Stein.. Hybrid *B. x ornata* byl co do obsahu flavonoidů hodnocen vůbec poprvé. Sledována byla závislost mezi obsahem flavonoidů a klimatickými podmínkami v době sběru a během vegetační sezóny. Obsah flavonoidů byl stanovován ve 32 vzorcích. Výsledné hodnoty jsou průměrem ze tří paralelních stanovení.

Výsledky mnou provedeného stanovení (Tabulka 11) ukázaly, že ze všech vzorků měla nejvyšší obsah flavonoidů *B. ciliata* ( $1,1829 \pm 0,0255$  %) z jarního sběru 2012. Nejméně flavonoidů naopak obsahovala *B. crassifolia* s obsahem  $0,3146 \pm 0,0416$  % z jara téhož roku. *B. x ornata* měla nejvyšší naměřenou hodnotu obsahu flavonoidů  $1,1138 \pm 0,0154$  % na jaře 2012. Druh *B. crassifolia* obsahoval nejvíce flavonoidů v podzimních listech z roku 2011 ( $0,9122 \pm 0,0296$  %).

Obsah flavonoidů v *B. crassifolia* se napříč různými studiemi liší. Například Kovaleva a kol. v listech sbíraných v Tverské oblasti (135 m n.m.) naměřili  $2,89 \pm 0,11$  % a v Moskevské oblasti

(156 m n.m.)  $2,39 \pm 0,09$  % flavonoidů. (105) Jiné literární zdroje uvádí obsah flavonoidů  $0,76 \pm 0,5$  % v jarních listech pocházejících z Finska nebo  $0,81 \pm 0,04$  % v jarních listech z botanické zahrady Korvínovy univerzity v Budapešti (315 m n.m.). (106) Listy *B. ciliata* pocházející z Nathia galli, Khyber Pakhtunkhwa, v Pakistánu (2410 m n. m.) pak podle Phull a kol. obsahovaly  $1,546 \pm 0,087$  % flavonoidů. (107)

Bylo zjištěno, že biosyntéza fenolických sloučenin se zvyšuje s vyšší nadmořskou výškou jako reakce na vyšší environmentální stres. Studie Srivastavové (108) však odhalila, že tomu tak není u všech fenolických sloučenin. Je však obtížné posoudit, zda je to způsobeno významným posunem v biosyntetických drahách, nebo jde pouze o zavádějící údaj vyplývající ze skutečnosti, že jedna proměnná se mění s nadmořskou výškou, zatímco jiná nikoli. A proto by porovnání obsahu flavonoidů ve větší populaci vzorků bergénií z různých nadmořských výšek a vzájemných korelačních vztahů mohlo být předmětem dalšího výzkumu.

Z výsledků testu ANOVA vyplývá, že období sběru ovlivnilo obsah flavonoidů u všech zkoumaných druhů. Literatura uvádí, že nejvhodnějším obdobím pro sběr listových drog bohatých na flavonoidy jsou jarní měsíce. (109; 110) Tomuto tvrzení odpovídají naměřené hodnoty obsahu flavonoidů u *B. ciliata* a *B. x ornata*. U *B. crassifolia* se však toto tvrzení nepotvrdilo, jelikož hodnoty flavonoidů obsažených v podzimních listech byly vyšší než na jaře.

Dále z ANOVA testu a následné Bonferroniho korekce vyplývá, že průběh vegetační sezóny roku 2012 a 2013 ovlivnil obsah flavonoidů u všech zkoumaných druhů, ale v roce 2011 významně ovlivnil pouze *B. crassifolia* (Tabulka 18). Výsledky testu ale mohly být zkresleny malým počtem vzorků, které jsem měla pro ostatní zkoumané druhy k dispozici.

Grafy na obrázcích 9-11 naznačují trend závislosti obsahu flavonoidů na klimatických podmínkách v době sběru. Dle zjištěných dat, byla u druhů *B. ciliata* ( $R^2 = 0,9491$ ) a *B. x ornata* ( $R^2 = 0,9926$ ) patrná pozitivní korelační závislost mezi obsahem flavonoidů a počtem hodin slunečního svitu. Závislost mezi obsahem flavonoidů a rostoucí délkou a intenzitou slunečního svitu dokládá např. studie zabývající se vlivem slunečního svitu na obsah flavonoidů v listech čajovníku, která zároveň zmiňuje významný vliv ultrafialové složky světelného záření, která stimuluje tvorbu flavonoidů (111), nebo práce Idris a kol. která dává rovněž do souvislosti vyšší



koncentraci flavonoidů v listech *Moringa oleifera* s větší mírou intenzity světla. (112) U *B. crassifolia* měl tento faktor vliv menší a z grafu (Obrázek 9) vyplývá, že vyšší počet hodin slunečního svitu se projevil poklesem obsahu flavonoidů. U *B. x ornata* ( $R^2 = 0,825$ ) a *B. ciliata* ( $R^2 = 0,7127$ ) byla také zjištěna souvislost mezi obsahem flavonoidů a relativní vlhkostí vzduchu, kdy se obsah flavonoidů s klesající vlhkostí vzduchu zvyšoval. U *B. crassifolia* tato závislost příliš významná nebyla. Jak bylo prokázáno korelačními analýzami, obsah sekundárních metabolitů je závislý na aktuálních klimatických podmínkách, zejména na vzdušné vlhkosti a počtu hodin slunečního svitu. Teplota ani celkový úhrn srážek v měsíci sběru obsah flavonoidů příliš neovlivnil.

Porovnáním průměrných obsahů flavonoidů zkoumaných druhů bergénií s meteorologickými podmínkami jednotlivých vegetačních období, jako je průměrná teplota a celkový úhrn srážek, pak byl u *B. ciliata* (Obrázek 13) a *B. x ornata* (Obrázek 14) patrný významný vliv těchto faktorů. V reakci na vyšší environmentální stres v podobě klesající teploty a množství srážek se u výše jmenovaných druhů obsah flavonoidů zvyšoval. Vliv sucha na zvýšení obsahu flavonoidů dokládá i studie Abreu a Mazzafera (113). U *B. crassifolia* (Obrázek 12) se průměrná teplota a množství srážek na obsahu podílely minimálně, což naznačuje, že by mohla být vůči těmto klimatickým vlivům odolnější anebo se na množství flavonoidů v listech podílely jiné faktory např. jejich stáří. Listy *B. ciliata* a *B. x ornata* jsou citlivé na přemrznutí. Mrazem spálené listy jsou na jaře nahrazeny novými. *B. crassifolia* má listy odolnější, které zimu přežijí, takže výsledný obsah flavonoidů mohla ovlivnit i volba listů během sběru. Reifenrath a Müller (114) např. uvádějí, že mladé listy *Sinapis alba* jsou ve srovnání se starými listy účinněji chráněny před UV zářením právě i díky vyššímu obsahu flavonoidů. Tuto teorii by však bylo potřeba ověřit dalším zkoumáním. Také je potřeba zmínit nepříliš vhodné podmínky pěstování, protože v místě svého původního výskytu rostou bergénie spíše v polostínu na severních nebo severozápadních horských svazích a v řídkých lesích, tedy ne na přímém slunci. (7)

Dále jsem nejvyšší naměřené hodnoty obsahu flavonoidů ve vzorcích BCR3 sbíraných v říjnu 2011 a BCL1 a BOR2 z května 2012 porovnávala s příslušnými hodnotami obsahu celkových polyfenolů naměřenými Hendrychovou. (20) Ze srovnání vyplynulo, že vzorkům s nejvyšším obsahem flavonoidů odpovídal také nejvyšší obsah polyfenolů.

Jak vyplývá z grafu na obrázku 15 červené listy z podzimního sběru 2012 obsahovaly více flavonoidů než zelené. Literatura uvádí, že tvorbou sekundárních metabolitů, tedy i flavonoidů, se rostlina brání vnějším negativním vlivům. Červenání listů bergenie v podzimních měsících je důsledkem působení stresorů jako je pokles teploty, zkracování dne a tím i nižší intenzity slunečního světla. To je následně impulzem k zastavení tvorby chlorofylu. Naopak se zvyšuje tvorba antokyanů, které způsobují zabarvení listů. Antokyany sdílejí společnou biochemickou dráhu s flavonoidy (obrázek 4). Jejich prekurzory jsou flavonoly, mezi které patří i kaempferol a kvercetin, flavonoidy prokazatelně přítomné jak v *B. crassifolia* tak v *B. ciliata* (1). Vyšší obsah flavonoidů v červeně zbarvených listech dokládá například studie porovnávající zelené, žluté a červené listy *Cymbidium sinense*. (103) Z výsledků mé práce tedy vyplývá, že za účelem vyššího obsahu flavonoidů by červené listy mohly být při podzimním sběru preferovány. Pro ověření této teorie by však bylo vhodné další zkoumání.

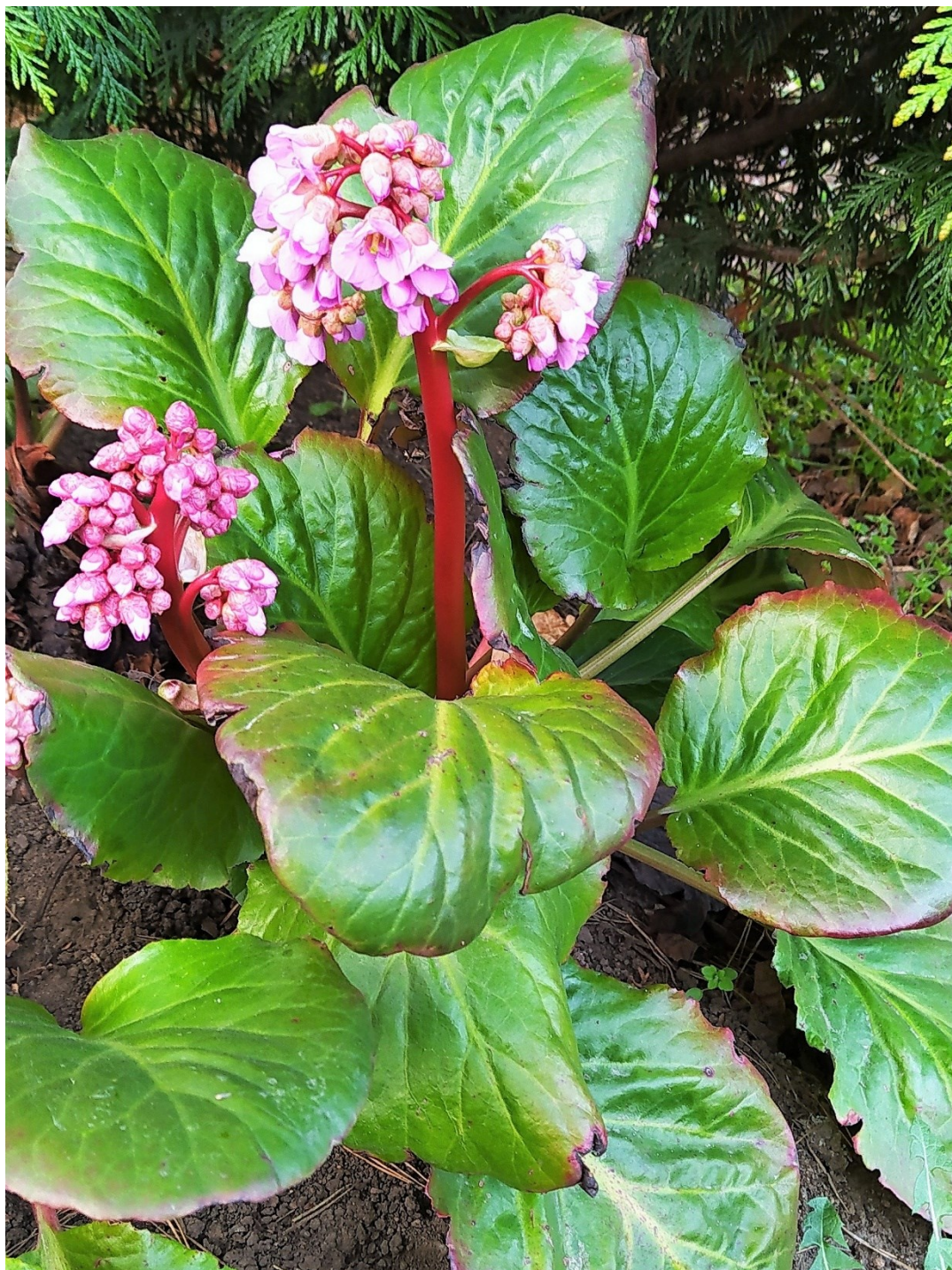
## 7 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo stanovit obsah flavonoidů v listech vybraných druhů rodu *Bergenia*. Byly srovnávány druhy *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch, *Bergenia ciliata* (Haw.) Sternb. a *Bergenia x ornata* Guill., která vznikla zkřížením prvních dvou druhů.

Výsledky mohou být interpretovány následovně:

- Nejvyšší obsah flavonoidů byl naměřen ve druhu *Bergenia ciliata* ( $1,1829 \pm 0,0255$  %)
- Množství flavonoidů v listech ovlivňuje u všech vybraných druhů délka slunečního svitu a vzdušná vlhkost. U *B. ciliata* a *B. x ornata* obsah flavonoidů prokazatelně ovlivnila i teplota a množství srážek v průběhu vegetační sezóny. *B. crassifolia* byla těmito faktory ovlivněna v menší míře.
- Nejvhodnějším obdobím sběru listů za účelem co nejvyššího obsahu flavonoidů lze u *B. ciliata* a *B. x ornata* považovat jarní měsíce. Pro sběr *B. crassifolia* se jeví jako nejvhodnější období podzimu.
- Červené listy z podzimního sběru vykazovaly vyšší obsah flavonoidů než zeleně zbarvené.
- Nejvyšší naměřené hodnoty obsahu flavonoidů odpovídaly nejvyšším naměřeným hodnotám polyfenolů stanovovaných Hendrychovou.

## 8 OBRÁZKOVÁ PŘÍLOHA



**Obrázek 16:** *Bergenia crassifolia* v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici 14.4. 2022.



**Obrázek 17:** *Bergenia crassifolia* v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici 29.4. 2022.



**Obrázek 18:** *Bergenia crassifolia* v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici 29.4. 2022.



**Obrázek 19:** Detail *Bergenia ciliata* v botanické zahradě Mendelovy univerzity v Lednici – nové jarní listy a květní pupeny mezi loňskými, fermentovanými a mrazem spálenými listy 14.4. 2022.



**Obrázek 20:** *Bergenia ciliata* v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici 14.4. 2022.



**Obrázek 21:** Květ *Bergenia x ornata* v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici 14.4. 2022.



**Obrázek 22:** *Bergenia x ornata* v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici 14.4. 2022.

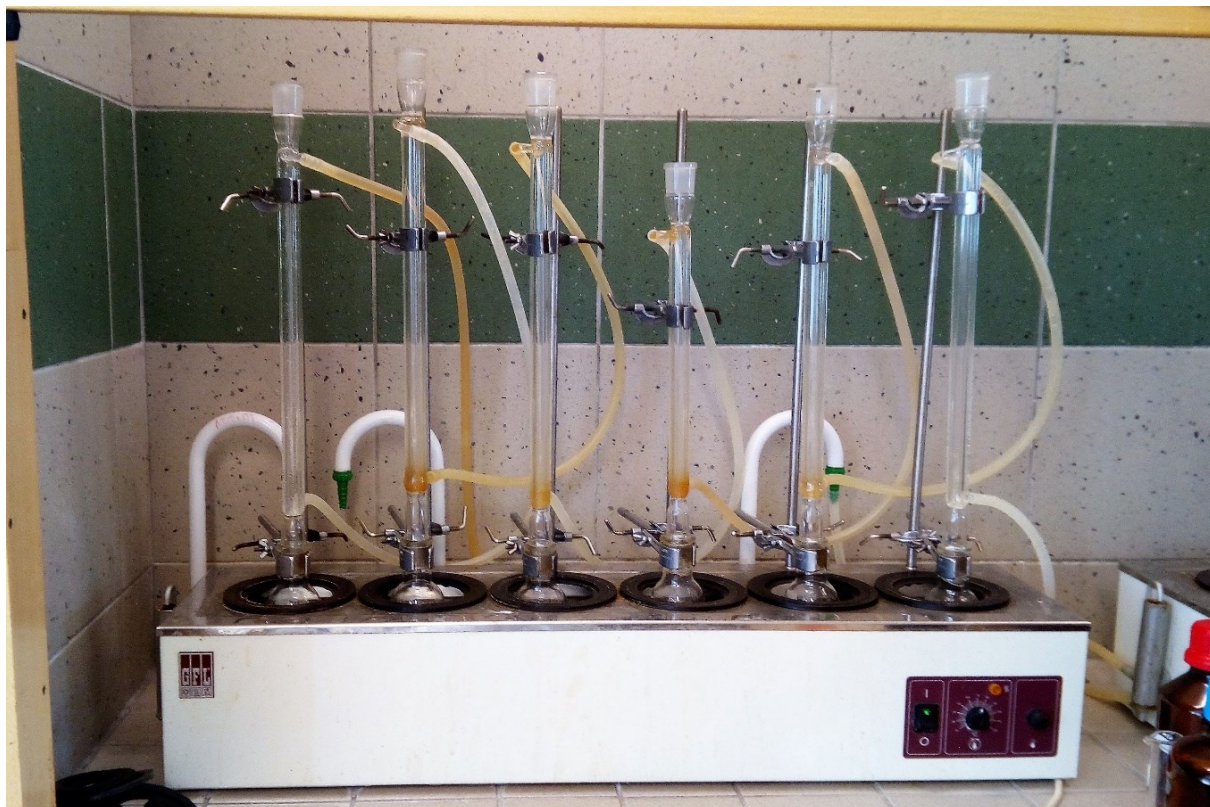


**Obrázek 24:** Usušené listy *Bergenia crassifolia*.

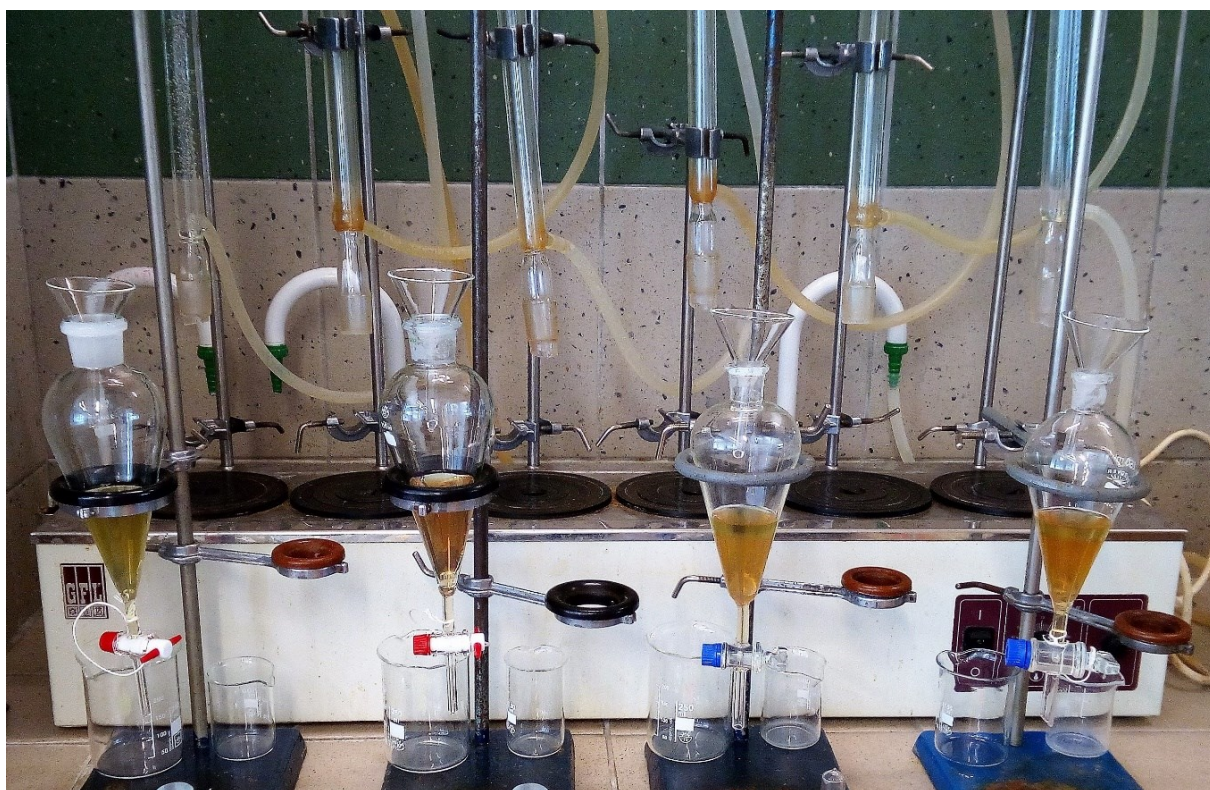


**Obrázek 23:** Usušené listy *Bergenia crassifolia*.

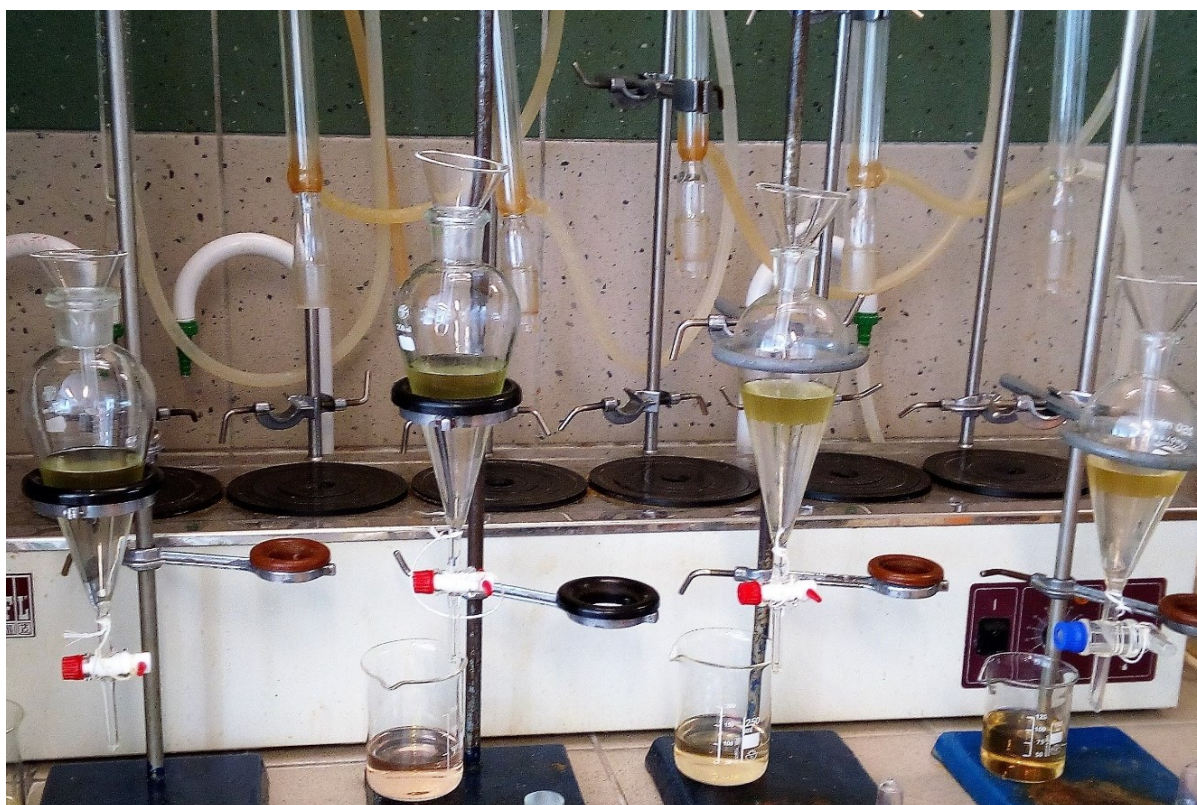




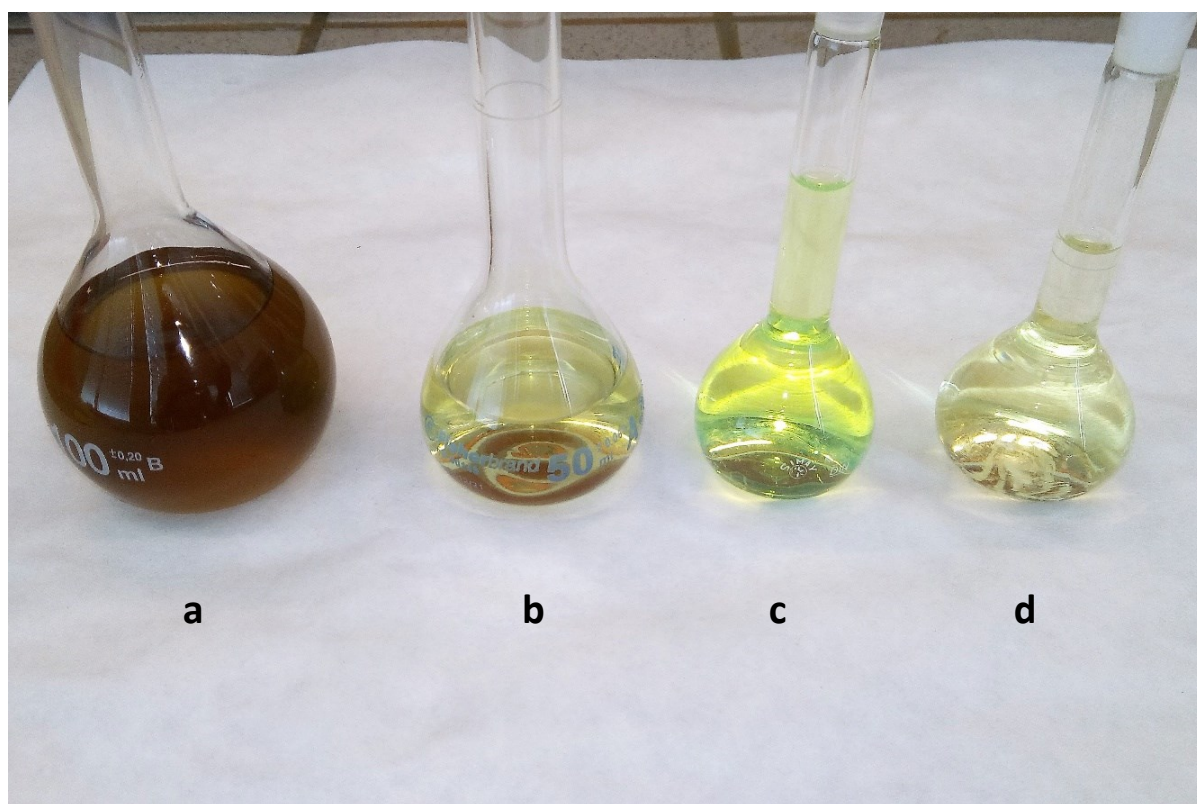
**Obrázek 25:** Příprava základního roztoku na vodní lázni pod zpětným chladičem.



**Obrázek 26:** Zfiltrovaný extrakt v dělicí nálevce po přidání etylacetátu před prvním protřepáním.



**Obrázek 27:** Oddělení horní acetátové vrstvy od spodní vodné vrstvy po protřepání.



**Obrázek 28:** a – extrakt; b – základní roztok; c – zkoušený roztok; d – porovnávací roztok

## 9 CITOVANÁ LITERATURA

1. **KOUL B. et al.** Bergenia Genus: Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology. *Molecules*. 2020, **25**(23), 5555.
2. **POKHREL P. et al.** A short glimpse on promising pharmacological effects of Bergenia ciliata. *Journal of Applied Pharmaceutical Research*. 2014, **2**(1), 1-6.
3. **NAIR R., SELLATURAY S., SRIPRASAD S.** The history of ginseng in the management of erectile dysfunction in ancient China (3500-2600 BCE). *Indian journal of urology*. 2012, **28**(1), 15-20.
4. **POWO.** *Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew.* [Online] [Citace: 10. 4 2022.] <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:331394-2>.
5. **UHER J.** Bergenia – trvalka do stinných zákoutí. *Zahradnictví*. 2011, **9**(5), 38-41.
6. **YEO P. F.** A Revision of the Genus Bergenia Moench. (Saxifragaceae). *Kew Bulletin*. 1966, 20(1), 113-148.
7. **MALANKINA E. L.** *Lekarstvennyje rastenija na priusadebnom uchastke: uchebnoe posobie*. Moskva: INFRA-M, 2015, 134-136.
8. **MALANKINA E. L.** *Lekarstvennyje i ehfirnomaslichnyje rastenija. Uchebnik. Studentam VUZov*. Moskva: INFRA-M, 2016, 190-193.
9. **Ministerstvo zdravookhraneniija Rossijskoj Federacii.** *Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii XIV izdanie*. Moskva: Federalnaja ehlektronnaja medicinskaja biblioteka, 2018, **4**, 5875-5879.
10. **MALANKINA E. L.** Greeninfo. [Online] [Citace: 13. 3 2022.] <https://www.greeninfo.ru/grassy/bergenia.html>.
11. **ARMITAGE A. M.** *Herbaceous perennial plants: A Treatise on Their Identification, Culture, and Garden Attributes 2nd Edition*. Chicago: Ball Publishing, 1989.
12. **SHIKOV A. N. et al.** Medicinal Plants of the Russian Pharmacopoeia; their history and applications. *Journal of ethnopharmacology*. 2014, **154**(3), 481-536.
13. **CHOPRA V. L., VISHWAKARMA R. A.** *Plants for wellness and vigour*. New Delhi: New India Publishing Agency, 2018, 207-230.
14. **BHUTIYA R. K.** *Ayurvedic Medicinal Plants of India*. Jodphur: Scientific Publishers India, 2011. **1**, 76-77.
15. **BURNIE G. et al.** *Botanika Ilustrovaný abecední atlas 10 000 rostlin z celého světa s návodem, jak je pěstovat*. Praha: Slovart, 2007, 140.

16. **UNIYAL S. K., SINGH K., JAMWAL P., LAL B.** Traditional use of medicinal plants among the tribal communities of Chhota Bhangal, Western Himalaya. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*. 2006, **2**(1), 14.
17. **RUBY K., DWIVEDI J., CHAUHAN R.** Pashanbheda a golden herb of himalaya: a review. *International Journal of Pharmacy Review & Research*. 2012, **15**(2), 24-30.
18. **WALTER N., BAGAI U., KALIA S.** Antimalarial activity of *Bergenia ciliata* (Haw.) Sternb. against *Plasmodium berghei*. *Parasitology research*. 2013, **112**(9), 3123-3128.
19. **MISHRA P., CHAUDHARY N., RANJAN A.** PASHANBHED. Tata 1mg. [Online] [Citace: 19. 3. 2022.] <https://www.1mg.com/ayurveda/pashanbhed-224>.
20. **HENDRYCHOVÁ H.** *Fytochemická studie jednotlivých taxonů rostlin rodu Bergenia (disertační práce)*. Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2015.
21. **SALMINEN J.-P. et al.** Rapid profiling of phenolic compounds of green and fermented *Bergenia crassifolia* L. leaves by UPLC-DAD-QqQ-MS and HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. *Natural Product Research*. 2014, **28**(19), 1530-1533.
22. **Royal Society of Chemistry.** Chalcone; CSID=553346. ChemSpider. [Online] [Citace: 10. 4. 2022] <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.553346.html>.
23. **Royal Society of Chemistry.** Chromane; CSID=120093. ChemSpider. [Online] [Citace: 6. 4. 2022.] <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.120093.html>.
24. **Royal Society of Chemistry.** Flavan; CSID=84973. ChemSpider. [Online] [Citace: 6. 4. 2022.] <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.84973.html>.
25. **Royal Society of Chemistry.** Isoflavan; CSID=437833. ChemSpider. [Online] [Citace: 6. 4. 2022.] <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.437833.html>.
26. **Royal Society of Chemistry.** Neoflavan; CSID=3052294. ChemSpider. [Online] [Citace: 6. 4 2022.] <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3052294.html>.
27. **GROTEWOLD E. (Ed.).** *The Science of Flavonoids*. New York: Springer, 2006.
28. **TOMKO J. et al.** *Farmakognózia*. Martin: Osveta, 1999, 424.
29. **SPILKOVÁ J. et al.** *Farmakognozie*. Praha: Karolinum, 2016, 346.
30. **KEROLETSWE N., MAJINDA R. R. T., MASESANE I.** A New 3-Prenyl-2-flavene and Other Extractives from *Baphia massaiensis* and Their Antimicrobial Activities. *Natural Product Communications*. 2018, **13**(4), 435-438.
31. **SEYED M. N. et al.** *Recent Advances in Natural Products Analysis*. Elsevier, 2020, 85-97.

32. **PANCHE A. N., DIWAN A. D., CHANDRA S. R. et al.** Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*. 2016, **5**, e47.
33. **KOREC R. et al.** Effects of the neoflavonoid coutareagenin, one of the antidiabetic active substances of *Hintonia latiflora*, on streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats. *Arzneimittelforschung*. 2000, **50(2)**, 122-128.
34. **SLANINA J., TÁBORSKÁ E.** Příjem, biologická dostupnost a metabolismus rostlinných polyfenolů u člověka. *Chemické listy*. 2004, **98**, 239-245.
35. **WINKEL-SHIRLEY B.** Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology and Biotechnology. *American Society of Plant Physiologists*. 2001, **126(2)**, 486.
36. **CASSIDY A., MINIHANE A. M.** The role of metabolism (and the microbiome) in defining the clinical efficacy of dietary flavonoids. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2017, **105(1)**, 10-22.
37. **HUBÍK J. et al.** *Obecná farmakognosie II*. Praha: SPN, 1989, 31.
38. **McANLIS G. T. et al.** Absorption and antioxidant effects of quercetin from onions, in man. *European journal of clinical nutrition*. **53(2)**, 92-96.
39. **Royal Society of Chemistry.** Kaempferol; CSID=4444395. Chemspider [Online] [Citace: 10. 4. 2022] <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4444395.html>.
40. **GARDE-CEDRÁN T., GONZALO-DIAGO A.** *Kaempferol: biosynthesis, food sources and therapeutic uses*. New York: Nova Publishers, 2016, 246.
41. **CHEN A. Y., CHEN Y. C.** A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. *Food Chemistry*. 2013, **138(4)**, 2099-2107.
42. **National Center for Biotechnology Information.** Compound Summary for CID 5280343, Quercetin. PubChem. [Online] [Citace: 10. 4. 2022] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Quercetin>.
43. **DABEEK W. M., MARRA M. V.** Dietary Quercetin and Kaempferol: Bioavailability and Potential Cardiovascular-Related Bioactivity in Humans. *Nutrients*. 2019, **11(10)**, 2288.
44. **MARUNAKA Y. et al.** Actions of Quercetin, a Polyphenol, on Blood Pressure. *Molecules*. 2017, **22(2)**, 209.
45. **Royal Society of Chemistry.** Afzelechin; CSID=390672. Chemspider. [Online] [Citace: 10. 4. 2022] <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.390672.html>.
46. **REDDY U. D. CH. et al.** High Pressure Liquid Chromatographic Determination of Bergenin and (+)-Afzelechin from Different Parts of Paashaanbhed (*Bergenia ligulata* Yeo). *Phytochemical analysis*. 1999, **10**, 44-47.

47. **SAIJO J. et al.** Alpha-glucosidase inhibitor from *Bergenia ligulata*. *Journal of Oleo Science*. 2008, **57**(8), 431-435.
48. **GAO M., XIAO H.** Activity-Guided Isolation of Antioxidant Compounds from *Rhizophora apiculata*. *Molecules*. 2012, **17**(9), 10675-10682.
49. **Royal Society of Chemistry.** Eriodictyol; CSID=389606. Chemspider. [Online] [Cite: 10. 4 2022.] <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.389606.html>.
50. **DENG Z. et al.** Pharmacological Activity of Eriodictyol: The Major Natural Polyphenolic Flavanone. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2020, **2020**, 11.
51. **DESHPANDE R. R. et al.** In silico molecular docking analysis for repurposing therapeutics against multiple proteins from SARS-CoV-2. *European Journal of Pharmacology*. 2020, **886**, 173430.
52. **LEY J. P. et al.** Evaluation of bitter masking flavanones from Herba Santa (*Eriodictyon californicum* (H. and A.) Torr., Hydrophyllaceae). *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005, **53**(15), 6061-6066.
53. **SHIKOV A. N. et al.** *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch – Pharmacology and phytochemistry. *Phytomedicine*. 2014, **21**(12), 1534-1542.
54. **POZHARITSKAYA O. N. et al.** Separation and evaluation of free radical-scavenging activity of phenol components of green, brown, and black leaves of *Bergenia crassifolia* by using HPTLC-DPPH\* method. *Journal of separation science*. 2007, **30**(15), 2447-2451.
55. **BOO Y. C.** Arbutin as a Skin Depigmenting Agent with Antimelanogenic and Antioxidant Properties. *Antioxidants*. 2021, **10**(7), 1129.
56. **AKZHIGITOVA Z. H. et al.** Phytochemical Study of *Bergenia crassifolia*. *Chemistry of natural compounds*. 2020, **56**(5), 912-914.
57. **POP C., VLASE L., TAMA S. M.** Natural Resources Containing Arbutin. Determination of Arbutin in the Leaves of *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch. acclimated in Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2009, **37**(1), 129-132.
58. **DU G. H.** Bergenin. *Natural Small Molecule Drugs from Plants*. Singapore: Springer, 2018, 379-384.
59. **ALLABY M.** *A Dictionary of Plant Sciences* (4. ed). Oxford: Oxford University Press, 2019, 416.
60. **MEHTA S. et al.** A Fresh Look on Bergenin: Vision of Its Novel Drug Delivery Systems and Pharmacological Activities. *Future Pharmacology*. 2022, **2**(1), 64-91.

61. **BAI J. et al.** Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021, **133**, 110985.
62. **BREWER E.** *Ellagic acid: food sources, potential role in human health and antioxidant effects*. New York: Nova Publishers, 2016, 153
63. **SHARIFI-RAD J. et al.** Ellagic Acid: A Review on Its Natural Sources, Chemical Stability, and Therapeutic Potential. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2022, **2022**, 3848084
64. **FALSAPERLA M. et al.** Support Ellagic Acid Therapy in Patients with Hormone Refractory Prostate Cancer (HRPC) on Standard Chemotherapy Using Vinorelbine and Estramustine Phosphate. *European Urology*. 2005, **47**(4), 449-454.
65. **SALIH E. et al.** Hydrolyzable tannins (ellagitannins), flavonoids, pentacyclic triterpenes and their glycosides in antimycobacterial extracts of the ethnopharmacologically selected Sudanese medicinal plant *Combretum hartmannianum* Schweinf. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2021, **144**, 112264.
66. **SHIOTA S. et al.** Mechanisms of action of corilagin and tellimagrandin I that remarkably potentiate the activity of beta-lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiology and immunology*. 2004, **48**(1), 67-73.
67. **YIN J., HWANG I. H., LEE M. W.** Anti-acne vulgaris effect including skin barrier improvement and 5 $\alpha$ -reductase inhibition by tellimagrandin I from *Carpinus tschonoskii*. *BMC complementary and alternative medicine*. 2019, **19**(1), 323.
68. **SAHA S. et al.** Discovering Potential RNA Dependent RNA Polymerase Inhibitors as Prospective Drugs Against COVID-19: An in silico Approach. *Frontiers in pharmacology*. 2021, **12**, 634047.
69. **KHALIFA I. et al.** Tannins inhibit SARS-CoV-2 through binding with catalytic dyad residues of 3CL<sup>pro</sup>: An in silico approach with 19 structural different hydrolysable tannins. *Journal of food biochemistry*. 2020, **44**(10), e13432.
70. **PUPPALA M.** The Isolation and Characterization of  $\beta$ -Glucogallin as a Novel Aldose Reductase Inhibitor from *Emblica officinalis*. *PloS ONE*. 2012, **7**(4), e31399.
71. **KIM H. G. et al.**  $\beta$ -Glucogallin isolated from *Fusidium coccineum* and its enhancement of skin barrier effects. *Applied Biological Chemistry*. 2020, **63**(1), 77.
72. **GOLOVCHENKO V. V. et al.** Structural Study of Bergenan, a Pectin from *Bergenia crassifolia*. *Bioorganicheskaja Khimiia*. 2007, **33**(1), 54-63.
73. **POPOV S. V. et al.** Immunostimulating activity of pectic polysaccharide from *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch. *Phytotherapy research: PTR*. 2005, **19**(12), 1052-1056.

74. **KIM M. H. et al.** Rhododendrin, an analgesic/anti-inflammatory arylbutanoid glycoside, from the leaves of *Rhododendron aureum*. *Archives of pharmacal research*. 2011, **34**(6), 971-978.
75. **JEON Y. J. et al.** Rhododendrin ameliorates skin inflammation through inhibition of NF- $\kappa$ B, MAPK, and PI<sub>3</sub>K/Akt signaling. *European Journal of Pharmacology*. 2013, **714**(1-3), 7-14.
76. **KAKKAR S., BAIS S.** A review on protocatechuic Acid and its pharmacological potential. *ISRN pharmacology*. 2014, **2014**, 952943.
77. **KHAN M. Y., KUMAR V.** Phytopharmacological and Chemical Profile of *Bergenia ciliata*. *Scholar Science Journals*. 2016, **6**(5), 90-98.
78. **WAGNER H., BLADT S.** *Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas, 2nd ed.* Berlin: Springer, 1996, 195.
79. **ŻBIKOWSKA B. et al.** Antimicrobial and Antiradical Activity of Extracts obtained from Leaves of Five Species of the Genus *Bergenia*: Identification of Antimicrobial Compounds. *Microbial Drug Resistance*. 2017, **23**(6), 771-780.
80. **LIU Y. et al.** Anti-biofilm Activities from *Bergenia crassifolia* Leaves against *Streptococcus mutans*. *Frontiers in microbiology*. 2017, **8**, 1738.
81. **BHANDARI N. A. et al.** Glucosidase and amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.). *Food chemistry*. 2008, **106**(1), 247-252.
82. **SINHA S. et al.** Evaluation of anti-inflammatory potential of *Bergenia ciliata* Sternb. rhizome extract in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2001, **53**(2), 193-196.
83. **CHURIN et al.** Effect of *Bergenia crassifolia* extract on specific immune response parameters under extremal conditions. *Ekspierimental'naia i klinicheskaia farmakologija*. 2005, **68**(5), 51-54.
84. **NAZIR N. et al.** Immunomodulatory effect of bergenin and norbergenin against adjuvant-induced arthritis--a flow cytometric study. *Journal of ethnopharmacology*. 2007, **112**(2), 401-405.
85. **SINHA S. et al.** Evaluation of antipyretic potential of *Bergenia ciliata* Sternb. rhizome extract. *Pharmacy and Pharmacology Communications*. 2000, **6**(12), 549-551.
86. **SHILOVA I. et al.** Antioxidant properties of *Bergenia crassifolia* extract. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2006, **40**(11), 620-623.
87. **VENKATADRI R. et al.** Evaluation of Antioxidant Activities of *Bergenia ciliata* Rhizome. *Records of Natural Products*. 2010, **4**(1), 38-48.



88. **PÍSECKÁ A.** *Biologická aktivita flavonoidů. (diplomová práce).* Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. 2006.
89. **STRAPKOVÁ A., JAHODÁŘ L., NOSÁL'OVÁ G.** Antitussive effect of arbutin. *Die Pharmazie.* 1991, **46**(8), 611-612.
90. **BYAHATTI V. V., PAI K. V., D'SOUZA M. G.** Effect of Phenolic Compounds from *Bergenia ciliata* (Haw.) Sternb. leaves on Experimental kidney stones. *Ancient science of life.* 2010, **30**(1), 14-17.
91. **SAHA S., VERMA R. J.** Inhibition of calcium oxalate crystallisation in vitro by an extract of *Bergenia ciliata*. *Arab Journal of Urology.* 2013, **11**(2), 187-192.
92. **KAKUB G., GULFRAZ M.** Cytoprotective effects of *Bergenia ciliata* Sternb, extract on gastric ulcer in rats. *Phytotherapy research: PTR.* 2007, **21**(12), 1217-1220.
93. **SHAJI S. K. et al.** Nuclear factor- $\kappa$ B plays an important role in Tamarixetin-mediated inhibition of matrix metalloproteinase-9 expression. *European journal of pharmacology.* 2021, **893**, 173808.
94. **SINGH A. et al.** Quercetin acts as a P-gp modulator via impeding signal transduction from nucleotide-binding domain to transmembrane domain. *Journal of biomolecular structure & dynamics.* 2020, **1-9**
95. **GATES M. A. et al.** A prospective study of dietary flavonoid intake and incidence of epithelial ovarian cancer. *International journal of cancer.* 2007, **121**(10), 2225-2232.
96. **MOJŽIŠOVÁ G. et al.** Effect of flavonoids on daunorubicin-induced toxicity in H9c2 Cardiomyoblasts. *Phytotherapy Research: PTR.* 2009, **23**(1), 136-139.
97. **Ministerstvo zdravotnictví České republiky.** *Český lékopis 2017 - Doplněk 2020, 1. díl.* Praha: Grada, 2020, 141.
98. **Ministerstvo zdravotnictví České republiky.** *Český lékopis 2017 - Doplněk 2020, 4. díl.* Praha: Grada, 2020, 4225.
99. **HENDL J.** *Přehled statistických metod 4. vydání.* Praha: Portál, 2012, 736.
100. **SKALSKÁ H.** *Aplikovaná statistika. 1. vyd.* Hradec Králové: Gaudeamus, 2013, 233.
101. **UHER J.** *Bergenia crassifolia.* Taxon Web. [Online] [Citace: 23. 4. 2022] <http://www.taxonweb.cz/t/694>.
102. **UHER J.** *Bergenia ciliata.* Taxon Web. [Online] [Citace: 23. 4. 2022] <http://www.taxonweb.cz/t/1763>.
103. **GAO J. et al.** Comparative Metabolomic Analysis Reveals Distinct Flavonoid Biosynthesis Regulation for Leaf Color Development of *Cymbidium sinense* 'Red Sun'. *International journal of molecular sciences.* 2020, **21**(5), 1869.

104. **CAO Y. et al.** Seasonal Variation in Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Leaves of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja. *Forests*. 2019, **10**(8), 624.
105. **KOVALEVA T. Yu. et al.** Phenolic Compounds and Biological Activity of Badan (*Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch) Leaves Growing in Russia. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 2020, **11**(5), 368-374.
106. **ÁROK R. et al.** Phytochemical comparison and analysis of *Bergenia crassifolia* L. (Fritsch.) and *Bergenia cordifolia* Sternb. *European Chemical Bulletin*. 2012, **1**, 31-34.
107. **PHULL A. R. et al.** Antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities of green synthesized silver nanoparticles from crude extract of *Bergenia ciliata*. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016, **2**(1), 31-36.
108. **SRIVASTAVA N.** Evaluation of quantitative variation of secondary metabolites in *Bergenia ciliata* (Haw.) using high performance thin layer chromatography. *The Journal of Biomedical Research*. 2014, **28**(4), 328-331.
109. **LAI J.-X. et al.** Seasonal variation of flavonoid metabolites in leaves of Liquidambar formosana 'Nanlinhong' trees revealed by UPLC-ESI-MS/MS. *Brazilian Journal of Botany*. 2021, **44**(3), 575-586.
110. **GUO Y. et al.** Temporospacial Flavonoids Metabolism Variation in Ginkgo biloba Leaves. *Frontiers in Genetics*. 2020, **11**, 589326.
111. **JIN J. et al.** Screening the Key Region of Sunlight Regulating the Flavonoid Profiles of Young Shoots in Tea Plants (*Camellia sinensis* L.) Based on a Field Experiment. *Molecules*. 2021, **26**(23), 7158.
112. **IDRIS A. et al.** An Effect of Light Intensity on the Total Flavonoid and Phenolic Content of *Moringa Oleifera*. *Journal of Tomography System and Sensor Application*. 2019, **2**(1), 19-24.
113. **ABREU N. de, MAZZAFERA P.** Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2005, **43**(3), 241-248.
114. **REIFENRATH K., MÜLLER C.** Species-specific and leaf-age dependent effects of ultraviolet radiation on two Brassicaceae. *Phytochemistry*. 2007, **68**(6), 875-885.

## 10 SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obrázek 1:</b> Mapa světa zobrazující geografické rozšíření druhů <i>Bergenia</i> , zeleně jsou zobrazeny areály přirozeného výskytu, fialově pak oblast, kam byly druhy introdukovány. ....	3
<b>Obrázek 2:</b> Struktura chalkonu .....	12
<b>Obrázek 3:</b> Struktura chromanu, flavanu, isoflavanu a neoflavanu .....	12
<b>Obrázek 4:</b> Schéma hlavních biochemických drah vedoucí k syntéze flavonoidů a dalších polyfenolů.....	15
<b>Obrázek 5:</b> Struktura kaempferolu .....	17
<b>Obrázek 6:</b> Struktura kvercetinu .....	18
<b>Obrázek 7:</b> Struktura (+)-afzelechinu .....	19
<b>Obrázek 8:</b> Struktura eriodiktyolu.....	19
<b>Obrázek 9:</b> Závislost obsahu flavonoidů <i>B. crassifolia</i> na meteorologických podmínkách sběru za sledovaná období z let 2011 až 2013.....	45
<b>Obrázek 10:</b> Závislost obsahu flavonoidů <i>B. ciliata</i> na meteorologických podmínkách sběru za sledovaná období z let 2011 až 2013. ....	46
<b>Obrázek 11:</b> Závislost obsahu flavonoidů <i>B. x ornata</i> na meteorologických podmínkách sběru za sledovaná období z let 2011 až 2013.....	46
<b>Obrázek 12:</b> Závislost obsahu flavonoidů v <i>B. crassifolia</i> na meteorologických podmínkách vegetační sezóny za sledovaná období z let 2011 až 2013 .....	47
<b>Obrázek 13:</b> Závislost obsahu flavonoidů v <i>B. ciliata</i> na meteorologických podmínkách vegetační sezóny za sledovaná období z let 2011 až 2013 .....	48
<b>Obrázek 14:</b> Závislost obsahu flavonoidů v <i>B. x ornata</i> na meteorologických podmínkách vegetační sezóny za sledovaná období z let 2011 až 2013 .....	48
<b>Obrázek 15:</b> Průměrný obsah flavonoidů v listových extraktech červených a zelených listů <i>B. crassifolia</i> (BCR 2, 3 a 5), <i>B. ciliata</i> (BCL 1) <i>B. x ornata</i> (BOR 1) vyjádřené v procentech. ....	49
<b>Obrázek 16:</b> <i>Bergenia crassifolia</i> v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici 14.4. 2022 .....	55
<b>Obrázek 17:</b> <i>Bergenia crassifolia</i> v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici 29.4. 2022.....	56

<b>Obrázek 18:</b> <i>Bergenia crassifolia</i> v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici 29.4. 2022. ....	56
<b>Obrázek 19:</b> Detail <i>Bergenia ciliata</i> v botanické zahradě Mendelovy univerzity v Lednici – nové jarní listy a květní pupeny mezi ložskými, fermentovanými, mrazem spálenými listy 14.4. 2022 .....	57
<b>Obrázek 20:</b> <i>Bergenia ciliata</i> v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici 14.4. 2022 .....	57
<b>Obrázek 21:</b> Květ <i>Bergenia x ornata</i> v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici 14.4. 2022 .....	58
<b>Obrázek 22:</b> <i>Bergenia x ornata</i> v botanické zahradě Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici 14.4. 2022 .....	58
<b>Obrázek 23:</b> Usušené listy <i>Bergenia crassifolia</i> .....	59
<b>Obrázek 24:</b> Usušené listy <i>Bergenia crassifolia</i> .....	59
<b>Obrázek 25:</b> Příprava základního roztoku na vodní lázni pod zpětným chladičem .....	60
<b>Obrázek 26:</b> Zfiltrovaný extrakt v dělicí nálevce po přidání etylacetátu před prvním protřepáním .....	60
<b>Obrázek 27:</b> Oddělení horní acetátové vrstvy od spodní vodné vrstvy po protřepání. ....	61
<b>Obrázek 28:</b> a – extrakt; b – základní roztok; c – zkoušený roztok; d – porovnávací roztok...	61

## 11 SEZNAM TABULEK

<b>Tabulka 1:</b> Původní druhy rodu <i>Bergenia</i> a jejich původ .....	5
<b>Tabulka 2:</b> Taxonomicky významné znaky původních druhů .....	5
<b>Tabulka 3:</b> Pojmenované hybridy .....	6
<b>Tabulka 4:</b> Taxonomicky významné znaky hybridů.....	6
<b>Tabulka 5:</b> Léčebné použití různých druhů rodu <i>Bergenia</i> .....	11
<b>Tabulka 6:</b> Obsahové látky doposud izolované z <i>B. ciliata</i> (Haw.) Sternb.....	26
<b>Tabulka 7:</b> Obsahové látky doposud izolované <i>B. crassifolia</i> (L.) Fritsch .....	26
<b>Tabulka 8:</b> Seznam vzorků zelených a červených listů vybraných druhů bergenií.....	35
<b>Tabulka 9:</b> Meteorologické údaje pro jednotlivá období sběru .....	35
<b>Tabulka 10:</b> Hodnoty navážek a naměřených absorbancí vybraných druhů rodu <i>Bergenia</i> ...	37
<b>Tabulka 11:</b> Experimentálně stanovený obsah flavonoidů ve vybraných vzorcích, nejvyšší naměřené hodnoty jsou vyznačeny zeleně.....	38
<b>Tabulka 12:</b> Výstupní tabulka mezivýpočtů ANOVA ze softwaru MS Excel.....	42
<b>Tabulka 13:</b> Vyhodnocení ANOVA ze softwaru MS Excel .....	42
<b>Tabulka 14:</b> Vyhodnocení ANOVA testu pro druh <i>Bergenia crassifolia</i> .....	42
<b>Tabulka 15:</b> Vyhodnocení ANOVA testu pro druh <i>Bergenia ciliata</i> .....	42
<b>Tabulka 16:</b> Vyhodnocení ANOVA testu pro druh <i>Bergenia x ornata</i> .....	42
<b>Tabulka 17:</b> Ukázkový výstup Bonferroniho korekce pro roky 2011 a 2012 z MS Excel .....	44
<b>Tabulka 18:</b> Přehled vztahů statistické významnosti mezi jednotlivými roky .....	44
<b>Tabulka 19:</b> Vstupní hodnoty pro grafické znázornění závislosti obsahu flavonoidů na meteorologických podmínkách v období sběru.....	45
<b>Tabulka 20:</b> Vstupní hodnoty pro grafické znázornění závislosti obsahu flavonoidů na meteorologických podmínkách vegetační sezóny v <i>B. crassifolia</i> , <i>B. ciliata</i> a <i>B. x ornata</i> .....	47
<b>Tabulka 21:</b> Hodnoty obsahu flavonoidů v zelených a červených listech u druhů <i>B. crassifolia</i> , <i>B. ciliata</i> a <i>B. x ornata</i> z podzimního sběru z roku 2012 .....	49

## 12 ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakognozie a farmaceutické botaniky

**Autorka:** Almíra Marková

**Školitel:** doc. PharmDr. Lenka Tůmová, CSc.

**Název diplomové práce:** Hodnocení obsahu flavonoidů u různých druhů rostlin rodu *Bergenia*

Původně asijský rod *Bergenia* z čeledi Saxifragaceae zahrnuje 32 doposud popsáných druhů a mnoho hybridů, které vznikly jejich vzájemným křížením. Listy i oddenky bergenií jsou hojně využívány v lidovém léčitelství Číny, Indie, Mongolska a Ruska. Bergenie jsou bohaté na široké spektrum obsahových látek. Mezi nejvýznamnější sekundární metabolity patří třísloviny, arbutin, bergenin, ale také flavonoidy. Droga je ceněna pro své litolytické, antioxidační, protizánětlivé, antipyretické či antitusické vlastnosti.

Cílem této práce bylo stanovení obsahu flavonoidů v červených a zelených listech vybraných druhů *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch, *Bergenia ciliata* (Haw.) Sternb. a *Bergenia x ornata* Guill. a jejich vzájemné porovnání v závislosti na době sběru a klimatických podmínkách. Vzorky pocházely z botanické zahrady Zahradnické fakulty Mendelovy Univerzity v Lednici. Obsah flavonoidů byl stanovován spektrofotometricky.

Nejvyšší obsah flavonoidů byl naměřen u druhu *B. ciliata* ( $1,1829 \pm 0,0255$  %). Množství flavonoidů v listech ovlivnila u všech vybraných druhů délka slunečního svitu a vzdušná vlhkost. U *B. ciliata* a *B. x ornata* obsah flavonoidů prokazatelně ovlivnila i teplota a množství srážek v průběhu vegetační sezóny. *B. crassifolia* byla těmito faktory ovlivněna v menší míře. Za nejvhodnější období sběru listů pro získání co nejvyššího obsahu flavonoidů lze u *B. ciliata* a *B. x ornata* považovat jarní měsíce. Pro sběr listů *B. crassifolia* se jako nejvhodnější jeví období podzimu. Obsah flavonoidů v červených listech z podzimního sběru byl vyšší než v listech zeleně zbarvených.

**Klíčová slova:** *Bergenia*, listy, sekundární metabolity, flavonoidy, období sběru

## 13 ABSTRACT

**Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové**

**Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany**

**Author:** Almíra Marková

**Supervisor:** Assoc. Prof. PharmDr. Lenka Tůmová, CSc.

**Title of diploma thesis:** Evaluation of flavonoids content in various species of *Bergenia* genus

Originally an Asian genus *Bergenia* from the family Saxifragaceae includes 32 species described so far and many hybrids that were created by crossing them. The leaves and rhizomes of *Bergenia* used widely in folk medicine of China, India, Mongolia, and Russia are rich in a wide range of chemical constituents. The most important secondary metabolites of this plant are tannins, arbutin, bergenin, but also flavonoids. The drug is valued for its litholytic, antioxidant, anti-inflammatory, antipyretic, or antitussive properties.

This work aimed to determine flavonoid content in red and green leaves of *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch, *Bergenia ciliata* (Haw.) Sternb. and *Bergenia x ornata* Guill. and their comparison with each other depending on the harvest period and climatic conditions. The samples were obtained from the botanical garden of the Faculty of Horticulture of Mendel University in Lednice. Flavonoid content was determined spectrophotometrically.

The highest flavonoid content was measured in *B. ciliata* ( $1.1829 \pm 0.0255$  %). The amount of flavonoids in leaves was affected by the length of sunlight and humidity in all selected species. In *B. ciliata* and *B. x ornata* the flavonoid content was also shown to be influenced by temperature and rainfall during the growing season. *B. crassifolia* was less affected by these factors. The spring months are the most suitable for leaf harvesting to maximize flavonoid content in *B. ciliata* and *B. x ornata*. For *B. crassifolia*, autumn seems to be the most suitable season for leaf harvest. The flavonoid content of the red leaves from the autumn harvest was higher than of the green ones.

**Keywords:** *Bergenia*, leaves, secondary metabolites, flavonoids, harvesting season