

4P-01

ANTIOXIDAČNÉ VLASTNOSTI NIEKTORÝCH ANA-
LÓGOV RESVERATROLUFRANTIŠEK ŠERŠEŇ^a, MARTIN WALKO^b a DUŠAN
LOOS^c^a Chemický ústav, ^c Katedra organickej chémie, Prírodovedec-
ká fakulta, Univerzita Komenského, 842 15 Bratislava,^b Katedra organickej chémie, Ústav chemických vied, Príro-
dovedecká fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, 041 54
Košice, SR
sersen@fns.unba.sk

Resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihydroxystilben), (**I**) je fy-
toalexin, ktorý produkujú viaceré rastliny (napr. hrozno, euka-
liptus, smrek, Falia, moruša, arašidy a pod.). Najväčší obsah
resveratrolu sa našiel v šupkách červeného vína. Je známe, že
resveratrol má antikancerogénne, antivirálné, antioxidantné
vlastnosti, predlžuje život, má priaznivý vplyv na pečeň
a srdcovo-cievny systém^{1,2}. Preto je zaujímavé a možno aj
užitočné, syntetizovať analógy resveratrolu a skúmať ich
fyzikálno-chemické a biologické vlastnosti. Cieľom tejto
práce je zistiť antioxidantnú aktivitu diimínov: (4,4'-bis(2-
hydroxybenzylidenamino)difenylmetan (**II**), 4,4'-bis(2,4-
dihydroxybenzylidenamino)difenylmetan (**III**), 4,4'-bis(2,5-
dihydroxybenzylidenamino)difenylmetan (**IV**), 4,4'-bis(2,4-
dihydroxybenzylidenamino)difenyleter (**V**) a 4,4'-bis(2,5-
dihydroxybenzylidenamino)difenyleter (**VI**)), ktorých štruk-
túra je podobná štruktúre resveratrolu.

Látky boli pripravené podľa práce³. Antioxidantná aktivi-
ta bola otestovaná schopnosťou pripravených látok vychytávať
DPPH radikály. Test sa robil v metanolovom roztoku
DPPH (10⁻⁴ mol dm⁻³) meraním absorpcie pri 517 nm.
Antioxidantná účinnosť bola vyhodnotená pomocou hodnôt
SC₅₀, t.j. koncentrácie študovanej látky, ktorá spôsobí 50 %
pokles absorpcie pri 517 nm. Účinnosť vychytávania DPPH
radikálov študovanými látkami je prezentovaná v tabuľke I.

Tabuľka I

SC₅₀ hodnoty vychytávania DPPH radikálov

Látka	I	II	III
SC ₅₀ [μmol dm ⁻³]	26,37	neúčinná	neúčinná.
Látka	IV	V	VI
SC ₅₀ [μmol dm ⁻³]	4,11	neúčinná	1,43

Z tabuľky je zrejme, že deriváty s hydroxy skupinami
v polohách 2 a 5 vychytávajú DPPH radikály 6 až 18-krát
účinnejšie ako resveratrol. Na druhej strane deriváty
s hydroxy skupinami v polohách 2 a 4 vôbec nevychytávajú
DPPH radikály.

Práca bola podporovaná grantom MŠ SR VEGA č. 1/3411/06.

LITERATÚRA

1. Celotti, E. Ferrarini R., Zironib R., Lanfranco S., Conteb
L. S.: J. Chromatog., A 730, 47 (1996).
2. Soleas G. J., Diamandis E. P., Goldberg D. M.: Clinic.

Biochem. 30, 91 (1997).

3. Walko M., Víglašký V.: ChemZi 3/1, 213 (2007).

4P-02

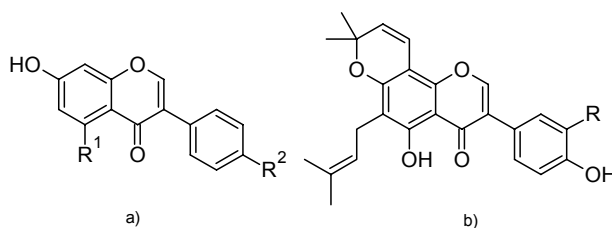
STANOVENÍ ISOFLAVONOIDŮ IMUNOAFINITNÍ
CHROMATOGRÁFÍ A HPLC-MS V ROSTLINNÉM
MATERIÁLU

ELENA A. PROKUDINA a OLDŘICH LAPČÍK

Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT
Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
elena.prokudina@vscht.cz

Isoflavonoidy jsou sekundární metabolity rostlin zajima-
vé z hlediska svých biologických účinků. Nejvýznamnějším
zdrojem isoflavonoidů jsou bobovité rostliny (Leguminosae),
ale jejich přítomnost byla zjištěna v řadě dalších taxonů^{1,2}.
Mimo čeledi Leguminosae jsou zastoupeny v nižších koncent-
racích, což klade vyšší nároky na analytické metody použité
při jejich detekci a identifikaci. Pro zakonzentrování
a přečištění rostlinných extraktů před analýzou pomocí
HPLC-MS navrženo použití imunoafinitní chromatografie
(IAC).

Imunosorbenty byly připraveny imobilizací Ig frakci
polyklonálních králičích protilátek proti vybraným isoflavo-
noidům (biochanin A, genistein, daidzein) na nosič Affi-Gel
10 (Bio-Rad laboratories)³. Byly stanoveny charakteristiky
imunosorbentů: kapacita (od 0,01 do 0,2 mg analytu na ml
sorbentu), výtěžek (recovery) a zjištěny optimální podmínky
eluce a vyvinut postup IAC. Vzorky přečištěné IAC byly
analyzovány pomocí HPLC-MS (Agilent Technologies) nebo
HPLC-DAD (Shimadzu). Jako modelová rostlina byla použita
pomerančovka jablkokvětá (*Maclura pomifera*, Moraceae),
známá obsahem prenylovaných derivátů genisteinu, jako jsou
pomiferin a osajin (obr. 1).

Obr. 1. a) R¹=OH, R²= OH genistein; R¹=H, R²=OH daidzein;
R¹=OH, R²=OCH₃ biochanin A; b) R=H osajin; R=OH pomiferin

Metoda byla dále použita ke stanovení isoflavonoidů ve
vybraných rostlinách čeledi Cannabaceae (*Cannabis sativa*
a *Humulus lupulus*) a Lamiaceae (*Scutellaria baicalensis*).

Práce vznikla za podpory projektů 525/06/0864 GA ČR
a MSM 6046137305.

LITERATURA

1. Macková Z., Koblovská R., Lapčík: Phytochemistry 67,
849 (2006).

2. Reynaud J., Guilet D., Terreux R., Lussignol M., Walchshofer N.: *Nat. Prod. Rep.* 67, 849 (2005).
3. Vanková R., Gaudinová A., Sussenbeková H., Dobrev P., Strnad M., Holík J., Lenfeld J.: *J. Chromatogr., A* 811, 77 (1998).

4P-03**VYHLEDÁVÁNÍ NOVÝCH LÁTEK S POTENCIÁLNÍM TERAPEUTICKÝM ÚČINKEM PRODUKOVANÝCH STREPTOMYCETAMI****MICHAL JÁGR^a, MIROSLAV PETŘÍČEK^a a VÁCLAV KRIŠTŮFEK^b**

^a *Mikrobiologický ústav AV ČR v. v. i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4,* ^b *Ústav půdní biologie AV ČR v. v. i., Na Sádkách 7, 370 05 České Budějovice*
 michaljagr@centrum.cz

Mikroorganismy rodu *Streptomyces* patří mezi volně žijící grampozitivní heterotrofní bakterie, které jsou významné z lékařského hlediska právě produkcí sekundárních metabolitů – antibiotik¹. Tyto organismy produkují až přes 60 % známých antibiotik. U dalších látek byly popsány insekticidní, herbicidní či antimykotické účinky². Vzhledem k vzrůstajícímu množství rezistentních patologických organismů je studium antimikrobiálních látek zaměřeno na získávání nových a účinnějších derivátů. Do intenzivně studované skupiny látek patří manumycinová antibiotika, na které byla v poslední době zaměřena pozornost díky zjištění jejich protizánětlivých a protirakovinných účinků^{3,4}.

V tomto projektu byly z vhodných půdních lokalit izolovány tři dosud neznámé kmeny streptomycet, které byly otestovány na přítomnost genového shluku nezbytného pro produkci manumycinů. Tyto kmeny (*Streptomyces* sp. 12/5, 12/13 a SOK 69) byly kultivovány v GYM médiu při 28 °C. Po 72 hodinách bylo mycelium odděleno centrifugací a supernatant byl nasycen NaCl a extrahován ethylacetátem. Mycelium bylo extrahováno acetonem. Oba dva extrakty byly vysušeny a analyzovány metodou TLC. Jednotlivé látky mající antimikrobiální účinky byly detegovány pod UV světlem a pomocí bioautografie na mikroorganismu *Bacillus subtilis*. Kmen *Streptomyces* sp. 12/5 produkoval dvě majoritní látky mající antimikrobiální účinky. V extraktech kmenů *Streptomyces* sp. 12/13 a SOK 69 bylo pokaždé zjištěno minimálně pět látek s biologickou aktivitou. Některé z těchto látek byly ze směsi izolovány pomocí flash chromatografie s normální i reverzní stacionární fází. Struktura získaných látek byla zkoumána pomocí metody HR-MS. Pro definitivní určení struktury jednotlivých látek budou provedena měření na NMR spektrometru.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA AV ČR A600660607 a projektu MŠMT ČR 2B06154.

LITERATURA

1. Demain A. L.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52, 455 (1999).
2. Suzuki H., Furusho Y., Higashi T., Ohnishi Y., Horinouchi S.: *J. Biol. Chem.* 281, 824 (2006).

3. Sattler I., Thiericke R., Zeeck A.: *Nat. Prod. Rep.* 1998, 221.
4. Subramanian S., Handa R.: *J. Postgrad. Med.* 50, 293 (2004).

4P-04**VLIV ANTIOXIDANTŮ NA POŠKOZENÍ DNA BUNĚČNÉ LINIE HL-60 CHELERYTHRINEM****MILENA MATEJOVIČOVÁ^a, MIROSLAV DVOŘÁK^a, IVA SLANINOVÁ^b, ZDENKA SLUNSKÁ^b a EVA TÁBORSKÁ^a**

^a *Biochemický ústav,* ^b *Biologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Kamenice 3, 660 25 Brno*
 matejovic@med.muni.cz

Chelerythrin (CHE) a sanguinarin (SA) jsou hlavní zástupci kvarterních benzo[c]phenanthridinových rostlinných alkaloidů. CHE a SA způsobují poškození DNA v buněčné kultuře HL-60¹, mechanismy jejich genotoxického působení však mohou být odlišné. Molekula SA, na rozdíl od CHE, interkaluje do struktury DNA, jak bylo prokázáno na různých buněčných liniích². Nejnovější data také potvrzují oxidativní poškození DNA pod vlivem SA³.

Cílem práce bylo zjistit, zda jedním z mechanismů genotoxicity CHE může být také oxidativní stres. Buňky HL-60 o hustotě 10⁶/ml byly inkubovány s CHE (3 μg ml⁻¹) po dobu 60 min v kultivačním médiu. Při sledování vlivu antioxidantů předcházela 30 min inkubace se zkoumanou látkou. Flavonoid baicalin, kyselina kávová a Trolox měly v kultuře HL-60 protektivní účinek na poškození DNA peroxidem vodíku, které jsme sledovali metodou analýzy komet. Po ukončení kultivace se zkoumanými látkami byly buňky resuspendovány ve fosfátovém pufru s 10 mM EDTA, pH 7,4 a přidány do roztoku agarózy s nízkou teplotou tání. Alikvóty suspenze byly aplikovány na podložní mikroskopická skla. Po ztuhnutí gelu byly imobilizované buňky lyzovány a podrobeny denaturaci v alkalickém roztoku. Po neutralizaci jsme provedli elektroforézu denaturované DNA imobilizovaných buněk v Tris-borátovém pufru, pH 8,4 (15 min za konstantního napětí 1 V cm⁻¹). Po obarvení dusičnanem stříbrným jsme sledovali podíl DNA v ohonu komet, odpovídající poškození s dvouřetězcovými zlomy.

Poškození DNA způsobené CHE odpovídalo 63% DNA v ohonu komet. Všechny aplikované antioxidanty snižovaly poškození DNA (Trolox 50 %, baicalin 40 %, kyselina kávová 54 % DNA v ohonu). Na základě těchto údajů je možné předpokládat, že oxidativní stres je jedním z mechanismů, kterým CHE způsobuje poškození DNA v buněčné kultuře HL-60.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR 525/08/0819.

LITERATURA

1. Dvořák M., Matejovičová M., Slaninová I., Slunská Z., Tábořská E.: *VI International Comet Assay Workshop, Warszawa, Poland, September 22-24 2005*, Abstract.
2. Slaninová I., Slanina J., Tábořská E.: *Cytometry* 71A, 700 (2007).

3. Matkar S.S., Wrishchnik L.A., Hellmann-Blumberg U.: *Chemico-Biological Interactions* 172, 63 (2008).

4P-05**ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF *Nigella sativa* SEED QUINONES**

HANA TESAŘOVÁ^a, KATEŘINA HALAMOVÁ^a, PETR MARŠÍK^b, PŘEMYSL LANDA^b, MARIE PŘIBYLOVÁ^b, BLANKA SVOBODOVÁ^a, and LADISLAV KOKOŠKA^a

^aDepartment of Crop Sciences and Agroforestry, Institute of Tropics and Subtropics, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Prague 6 - Suchbátka, Czech Republic, ^bLaboratory of Plant Biotechnologies, Joint Laboratory of Institute of Experimental Botany AS CR, v.v.i. and Research Institute of Crop Production, v.v.i., Rozvojova 263, 165 02 Prague 6 - Lysolaje, Czech Republic
kokoska@its.czu.cz

Dithymoquinone (DTQ), thymohydroquinone (THQ) and thymoquinone (TQ) have previously been identified as main quinone constituents of *Nigella sativa* L. seeds, whereas TQ is considered to be main quinone constituent responsible for biological activities of the plant¹. In our study, we aimed to compare antioxidative effects of TQ, THQ and DTQ.

TQ was purchased from Sigma-Aldrich (CZ). DTQ and THQ were synthesized from TQ according to the previously described methods^{2,3}. Antioxidative activity of all compounds was evaluated *in vitro* using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) free radical scavenging method⁴. The structures of DTQ (**I**), THQ (**II**) and TQ (**III**) are shown in Fig. 1.

The results of antioxidative assay showed that the best DPPH scavenging activity was produced by THQ (IC₅₀=2.4 µg ml⁻¹), which exhibited stronger antioxidative action than the inhibitory effect achieved by both reference compounds trolox (IC₅₀=3.7 µg ml⁻¹) and ascorbic acid (IC₅₀=2.6 µg ml⁻¹), suggesting highly potent antioxidative properties of this compound. In contrast, TQ (IC₅₀= 170 µg ml⁻¹) possessed only weak antioxidative effect and DTQ showed no antioxidative activity in range of inhibitory concentrations tested.

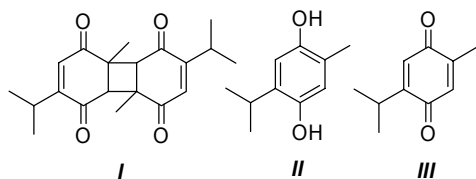


Fig. 1. Chemical structures of main quinones of *N. sativa* seeds

This research was supported by Czech Science Foundation (Project No. 525/08/1179).

REFERENCES

1. Ali B. H., Blunden G.: *Phytother. Res.* 17, 299 (2003).
2. Smith L. I., Tess R. W. H.: *J. Am. Chem. Soc.* 66, 1323 (1944).

3. El-Dakhakhny M.: *Planta Med.* 11, 465 (1963).
4. Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C.: *LWT-Food Sci. Technol.* 28, 25 (1994).

4P-06**INDUKOVANÁ FYTOEXTRAKCIA KADMIA Z KONTAMINOVANEJ PŮDY**

JANA ŠVIKRUHOVÁ, ALŽBETA HEGEDŮSOVÁ, PETER BOLEČEK a ONDREJ HEGEDŮS

Katedra chémie FPV UKF v Nitre, Tr. A. Hlinku 1, 949 74 Nitra, SR

jsvikruhova@ukf.sk

Oblasť južného Slovenska je najvýraznejším producentom zeleniny v rámci územia SR. Hlavným zdrojom prívodu kadmia v strave sú obilniny, zelená listová zelenina a zemiaky¹. Kadmium je prevažne sorbované na povrchu agregátov v ľahko rozpustných formách, čím sa zvyšuje riziko prieniku kadmia do agroekosystému. Fytoremediácia využíva rastliny na úpravu environmentálnych problémov spôsobených človekom. Fytoextrakcia ako jedna z fytoremediálnych techník využíva rastliny (hyperakumulátory) na odstránenie kontaminantov z pôd, sedimentov alebo vody v rastlinnej biomase. Tento proces sa častejšie využíva na odstraňovanie ťažkých kovov. Je to proces efektívnejší, finančne menej nákladný ako procesy založené na odstraňovaní pôdy ťažkou technikou².

V našej práci sme sa zamerali na elimináciu kadmia z kontaminovanej pôdy práve technikou indukovanej fytoextrakcie, ktorá využíva cheláty alebo iné reagenty na zvýšenie mobilizácie kovov. Ako chelatačnú látku sme použili EGTA – kyselinu etylén-bis(oxy-etylén-nitrilo)-tetraoctovú. Kadmium bolo pridané do pôdy v dvoch rôznych koncentráciách 5 a 15 mg kg⁻¹. Stanovenie obsahu kadmia v pôde a rastline kukurice sa vykonalo na atómovom absorpčnom spektrofotometri. Potvrdil sa štatisticky významný rozdiel v obsahu Cd v nadzemnej časti rastliny po prídavku 5 mg Cd kg⁻¹ a prídavku chelatačného činidla 6 a 12 mmol EGTA kg⁻¹ oproti kontrolnému variantu.

Táto práca vznikla za podpory grantu VEGA č. 1/4370/07.

LITERATÚRA

1. Hegedúsová A., Jomová K., Vollmannová A., Tóth T.: *Phytopedon* 2003, 2.
2. Turan M., Esringu A.: *Plant Soil Environmental.* 53, 7 (2007).

4P-07

**OBSAH ISOCHINOLÍNOVÝCH ALKALOIDŮ
V *Stylophorum lasiocarpum* BĚHEM VEGETAČNÍHO
OBDOBÍ****KRISTÝNA PĚNČÍKOVÁ, JANA SUCHOMELOVÁ
a EVA TÁBORSKÁ***Biochemický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita,
Kamenice 5, 638 00 Brno
taborska@med.muni.cz*

Stylophorum lasiocarpum (Oliv.) Fedde je víceletá bylina z čeledi *Papaveraceae* pocházející z centrální a jižní Číny, kde je po staletí využívána v lidové medicíně. Kořeny rostliny jsou jedním z mála rostlinných zdrojů makarpinu, který je pokládán za potenciálně velmi perspektivní fluorescenční sondu v průtokové cytometrii^{1,2}. Jsou v nich obsaženy i další minoritní benzo[c]fenanthridinové alkaloidy (KBA), jež jsou v poslední době předmětem výzkumu. V dalším studiu jsme se proto zaměřili na zjištění obsahu alkaloidů v nadzemní části a plodech. Současně jsme sledovali změny obsahu alkaloidů v nadzemních i podzemních částech v měsíčních intervalech v průběhu vegetace.

V nadzemní části je hlavním alkaloidem koptisin (0,23 až 0,39 %). Obsah KBA sanguinarinu, chelerythrinu a chelirubinu je ve srovnání s koptisinem velmi nízký (0,001 až 0,07 %). Další minoritní KBA nebyly v nati prokázány. Zastoupení alkaloidů v průběhu vegetace se měnilo. Obsah koptisinu u jednoletých rostlin byl nejvyšší v červenci (0,39 %) a v průběhu další vegetace klesal. Naproti tomu nejvyšší koncentrace KBA byly nalezeny ve vzorcích sbíraných ke konci vegetace. Obsah sanguinarinu se v průběhu vegetace zvýšil více než 100krát. Rovněž v plodech je nejvíce zastoupeným alkaloidem koptisin (1,69 %). Je provázen sanguinarinem a stylopinem.

Obsah alkaloidů v kořenech je podstatně vyšší než v nadzemní části. Hlavním alkaloidem je opět koptisin (0,86 až 0,95 %), z benzofenanthridinových alkaloidů jsou nejvíce zastoupeny sanguinarin a makarpin. Ve srovnání s nati je zastoupení alkaloidů v kořeni v průběhu vegetace poměrně stabilní.

Závěr: hlavním alkaloidem všech částí rostliny je koptisin. Obsah kvartérních benzo[c]nathridinových alkaloidů v nadzemní části i v plodech je nízký. Tyto části rostliny nejsou tedy pro izolaci KBA perspektivní. V kořenech byla potvrzena relativně vysoká koncentrace makarpinu v průběhu celého vegetačního období, přestože hlavním alkaloidem kořene je koptisin. Kořeny *S. lasiocarpum* lze tedy pokládat za jeden z možných rostlinných zdrojů pro izolaci alkaloidu makarpinu.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR č. 525/08/0819.

LITERATURA

1. Suchomelová J., Bochořáková H., Paulová H., Musil P., Táborská E.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 44, 1 (2007).
2. Slaninová I., Slanina J., Táborská E.: *Cytom., Part A.* 71A, 9 (2007).

4P-08

FYTOCHEMICKÉ STUDIUM *Macleaya cordata***PAVEL KOSINA^a, EVA VRUBLOVÁ^a, JANA
SUCHOMELOVÁ^b, JIŘÍ GRUZ^c, MILAN KOLÁŘ^d,
KATHRIN TSCHIRNER^e, JITKA VOSTÁLOVÁ^a,
JITKA ULRICHOVÁ^a a VILÍM ŠIMÁNEK^a***^a Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, ^b Biochemický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita, Komenského náměstí 2, 662 43 Brno, ^c Laboratoř růstových regulátorů UP a AV ČR, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc, ^d Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, ^e Phytobiotics Futterzusatzstoffe GmbH, Rosengasse 9, 65343 Eltville, Německo
kosina@tunw.upol.cz*

Macleaya cordata (*Papaveraceae*) je známa z tradiční čínské medicíny pro své protizánětlivé a antimikrobiální účinky. Je pěstována jako zdroj kvarterních benzo[c]fenanthridinových alkaloidů (KBA) sanguinarinu (SG) a chelerythrinu (CH) (*Macleaya cordata* extract, CAS 112025-60-2) (cit.¹). Fytochemické studie *M. cordata* se soustředily výhradně na alkaloidovou frakci nadzemní části rostliny. Cílem práce bylo stanovení alkaloidů a fenolových látek v nadzemní části *M. cordata* pěstované v Číně a Německu, květech a semenech čínské provenience. Komplexní extrakty byly testovány na antimikrobiální aktivitu ve srovnání s SG, CH a jejich dihydroderiváty. Alkaloidy byly stanoveny metodou HPLC s UV detekcí², fenolové kyseliny metodou HPLC-MS (cit.³) umožňující stanovení volných a esterově vázaných forem. Hlavními alkaloidy byly SG, CH, allokryptopin a protopin, z fenolů kyselina *p*-hydroxybenzoová a ferulová. U komplexních extraktů korelovala jejich antimikrobiální aktivita s obsahem KBA.

Tato práce vznikla za podpory grantů MSM 6198959216, GA ČR 525/07/0871 a GA ČR 525/08/0819.

LITERATURA

1. Dvořák Z., Kubáň V., Klejdus B., Hlaváč J., Vičar J., Ulrichová J., Šimánek V.: *Heterocycles* 68, 2403 (2006).
2. Suchomelová J., Bochořáková H., Paulová H., Musil P., Táborská E.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 44, 283 (2007).
3. Ayaz F.A., Hayirlioglu-Ayaz S., Gruz J., Novak O., Strnad M.: *J. Agric. Food Chem.* 53, 8116 (2005).

4P-09**STABILITA EXTRAKTU *Scutellaria baicalensis* IN VITRO****HANA PAULOVÁ^a, HANA BOCHOŘÁKOVÁ^a, MARIE NOVÁKOVÁ^b a EVA TÁBORSKÁ^a**^a *Biochemický ústav Lékařské fakulty MU, Univerzitní kampus, 625 00 Brno,* ^b *Fyziologický ústav Lékařské fakulty MU, Komenského nám. 2, 662 43 Brno*
hpaulova@med.muni.cz

Scutellaria baicalensis Georgi (šišák bajkalský) je rostlina pocházející z Východní Asie. Patří k nejvýznamnějším léčivým rostlinám používaným v přírodní medicíně ve východoasijské populaci. Nejčastěji se k léčebným účelům užívá sušený kořen nebo se aplikují extrakty připravené z kořene. V tradiční čínské medicíně se *Scutellaria baicalensis* používá při léčení alergií, hypertenze, bakteriálních a virových infekcí, hepatopatií, aterosklerozy. Terapeutická aktivita kořene je spojována s přítomností flavonoidů, přičemž hlavní obsahovou látkou je baicalin vykazující výraznou biologickou aktivitu¹⁻³. V současné době se zabýváme studiem protektivních účinků flavonoidů *Scutellaria baicalensis* při ischemicko-reperfučním poškození myokardu potkana.

V naší práci jsme se zaměřili na posouzení stability extraktu *Scutellaria baicalensis* v pufrovaných vodných roztocích v rozsahu pH 3–9 (včetně pH 7,4) při dlouhodobém skladování. Porovnány byly i jiné podmínky skladování (–80 °C a –20 °C). Složení extraktu bylo sledováno pomocí HPLC s elektrochemickou detekcí, hodnocen byl obsah hlavního flavonoidu baicalinu. U standardu baicalinu byla sledována také jeho stabilita při inkubačních teplotách 25 °C a 37 °C. Hodnocení bylo provedeno v různých pH podobně jako u extraktu. Byla potvrzena degradace baicalinu, která je závislá na pH a teplotě, a na základě výsledků jsou diskutovány možnosti dlouhodobého uchovávání vzorků před vlastní analýzou.

Tato práce byla řešena jako součást výzkumného záměru VVZ MŠMT 0021622402

LITERATURA

1. Zhao Y., Li H., Gao Z., Gong Y., Xu H.: *Eur. J. Pharmacol.* 536, 192 (2006).
2. Chan F. L., Choi H. L., Chen Z. Y., Chen, Chan P. S. F., Juany Y.: *Cancer Lett.* 160, 219 (2000).
3. Bochořáková H., Paulová H., Slanina J., Musil P., Tábořská E.: *Phytother. Res.* 17, 640 (2003).

4P-10**ALGINATE HYDROGEL MATRICES FOR IMMOBILIZATION OF THE PROTEINS AND CELLS IN THE DESIGN OF IMPLANTABLE GLUCOSE BIOSENSOR****ZUZANA KRONEKOVÁ^a, MARTIN DANKO^a, DUŠAN CHORVÁT, JR.^{a,b}, IGOR KRUPA^a, BENNY MOTRO^c, SHULAMIT MICHAELI^c, TASSOS ECONOMOU^d, and IGOR LACÍK^{a*}**^a *Polymer Institute of the Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 842 36 Bratislava, Slovakia,* ^b *Polymer Institute of the Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 842 36 Bratislava, Slovakia,* ^c *Bar-Ilan University, Ramat Gan, Israel,* ^d *Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Iraklio-Crete, Greece*
igor.lacik@savba.sk, zuzana.kronekova@savba.sk

Alginates belong to the group of polysaccharides that are natural products of marine brown algae. Alginate hydrogel is formed by action of divalent cations (most frequently calcium and barium) under the physiological conditions, which promotes utilization of alginate gels in immobilization of living cells and enzymes¹.

Alginate gels are also utilized for immobilization of the glucose binding protein (GBP) either in a free form or produced in living mammalian cells inside the glucose sensing chamber, which is one of the main tasks in the implantable glucose biosensor design within the IP 6EU P. Cézanne project. This contribution reports on strategies used in terms of selection of the gelling conditions used for the alginate hydrogel formation and covalent and physical entrapment of the GBP. The mechanical and chemical stability of formed hydrogels under physiological conditions, diffusion and optical properties were analyzed. These properties seem to be suitable to meet the requirements for protein and cell immobilization as well as for the overall biosensor design.

This work was supported by the Sixth Framework Program of the EU, IP-031867, P. Cézanne and by the Slovak Research and Development Agency under the contract No APVV- 51-033205.

REFERENCES

1. Zimmermann H., Zimmermann D., Reuss R., Feilen P. J., Manz B., Katsen A., Weber M., Ihmig F. R., Ehrhart F., Gessner P., Behringer M., Steinbach A., Wegner L. H., Sukhorukov V. L., Vásquez J. A., Schneider S., Weber M. M., Volke F., Wolf R., Zimmermann U.: *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 16, 491 (2005).
2. Kuneš J., Hrabálek A., Pour M., Pilař M., Waisser K., Odlerová Ž.: *Zh. Org. Chim. (J. Org. Chem. Russ.)* 34, 786 (1998).

4P-11**RECIPROCAL EFFECT OF Se AND Cd ON *Sinapis alba* SEEDLINGS****MARIANNA MOLNÁROVÁ and AGÁTA FARGAŠOVÁ***Department of Ecosozology and Physiotactics, Faculty of Natural Sciences, Comenius University in Bratislava, Mlynská dolina B2, 842 15 Bratislava, Slovak Republic*
molnarova@fns.uniba.sk; fargasova@fns.uniba.sk

Many heavy metals are essential for living organisms. These microelements can be toxic in higher concentrations. Researchers focused to study of individual metal toxicity, but metals in environment interact among themselves, too. Essentiality of selenium and its physiological role in plants remains

controversial yet¹. Terrestrial plants prefer selenium in the form of selenate as a source of selenium. Cd is not essential element for plants; however it is effectively absorbed by roots as well as by leaves. Moreover, chlorophyll content is indicator of critical level of Cd in plants².

The aim of our study was assessment of two heavy metals interaction: Se and Cd. From our previous experiments we chose three concentrations of each element, at which inhibition of root growth was approximately 25 %, 50 % and 75 %; and we combined Se and Cd each other. Tested metals were used Na₂SeO₄ and CdCl₂ · 2.5 H₂O, compounds in concentrations reflected following metal content (mg l⁻¹): Se 10.4, 20.1 and 31.3; Cd 71.4, 142.8 and 219.1. Comparison was done between effects of individual metals and their pair combinations and interactions were expressed as additivity, synergism, resp. antagonism³. When metal reciprocal effect is higher than 100 % antagonism occurred and this interaction type was prevailing for root growth in all Se combinations with Cd concentration 142.8 and 219.1 mg l⁻¹. The strongest antagonistic effect on root growth (137.7 %) indicated combination Cd(142.8) + Se(31.3). Se also reduced Cd effect on photosynthetic pigments production and for combination Cd(219.1) + Se(10.4) reached calculated A value³ 226 % for chlorophyll *a*, 195 % for chlorophyll *b*, and 226 % for total carotenoids.

The project was supported by the Scientific Grant Agency of Slovak Republic, VEGA Grant No. 1/4361/07.

REFERENCES

1. Kabata-Pendias A., Pendias H., in the book: *Trace Elements in Soils and Plants*, pp.365. CRC Press, Boca Raton 1992.
2. Burton K. W., King J. B., Morgan E.: *Water Air Soil Pollut.* 27, 147 (1986).
3. Wang J., Zhang M., Xu J., Wang Y.: *Wat. Res.* 29, 209 (1995).

4P-12

IMUNOCHEMICKÉ METODY PRO STANOVENÍ EQUOLU

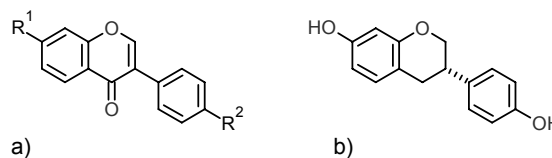
PETRA LANKOVÁ, LUCIE BUKÁČKOVÁ, ELENA A. PROKUDINA a OLDŘICH LAPČÍK

*Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
petra.lankova@vscht.cz*

Equol je fyziologicky významný metabolit vznikající působením dosud neidentifikovaných střevních bakterií na daidzein a formononetin – isoflavony vyskytující se v soje a dalších bobovitých rostlinách. Vykazuje estrogenní aktivitu, která je dokonce silnější než u jeho prekurzorů. Přeměna daidzeinu na equol probíhá pouze u 30–50 % lidské populace.

V této studii jsme vyvinuli metody nepřímé kompetitivní ELISA pro stanovení equolu v biologickém materiálu (krev, moč). Jako imunogeny byly použity konjugáty equolu s hovězím sérovým albuminem vázané na nosič prostřednictvím karboxymethyletherových můstků v polohách C7 a C4'. Konjugáty stejných haptenu s ovalbuminem byly použity k imobi-

lizaci. Jednotlivé ELISA metody byly optimalizovány testováním různých koncentrací protilátek a potahovacích antigenů, upřesněním reakčního času a využitím blokovacích činidel. Křížové reakce jednotlivých imunoanalytických metod s dalšími isoflavony jsou v přijatelném rozmezí (do 0,6 %) a ovlivnění molekulami s jinou strukturou je zanedbatelné.



Obr. 1. a) R¹=OH, R²= OH daidzein; R¹=OH, R²=OCH₃ formononetin, b) equol

Práce vznikla s podporou projektů GA ČR 303/08/0958 a MSM 60460137305.

4P-13

TESTOVÁNÍ BIOLOGICKÉ AKTIVITY HUMINOVÝCH LÁTEK Z RŮZNÝCH ZDROJŮ NA VYŠŠÍCH ROSTLINÁCH

BARBORA ANTOŠOVÁ, JAROMÍR NOVÁK, JOSEF KOZLER a JAROSLAV KUBÍČEK

*Výzkumný ústav anorganické chemie, a.s., Revoluční 1521/84, 400 01 Ústí nad Labem
barbora.antosova@vuanch.cz*

Huminové látky (HS) se uplatňují v zemědělství jako nespecifické rostlinné stimulatory ke zvýšení výnosů a zlepšení kvality produkce¹. Příznivě ovlivňují fotosyntézu, dýchání, enzymatickou činnost, příjem vody a živin. HS lze aplikovat do půdy i formou postřiků na list.

Stimulační aktivita HS u vyšších rostlin je závislá na vlastnostech HS, které se mohou výrazně lišit podle jejich zdrojů a zůsoby izolace. Pro testování biologické aktivity (BA) HS byly použity roztoky humátu draselného (HK). Roztoky HK byly ze surovin připraveny alkalickou extrakcí

Tabulka I

Relativní přírůstky zárodečných kořenů kukuřice při působení HS různého původu v časových intervalech. Kontrola – 100 %.

Výchozí surovina	Časové intervaly [h]		
	0-48	0-72	0-96
Oxyhumolit, Vršany	127	139	146
Oxyhumolit, lom Jiří, Sokolov	128	170	170
Uhlí, lom Družba, Sokolov	236	238	240
Oxyhumolit, lom Václav u Duchcova	148	148	145
Rašelina, Světlík	145	132	136
Lignit, Mikulčice	228	271	244
Černozem, Radovesice	146	140	136

a čištěny sedimentací a odstředěním. BA byla testována na klíčících semenech kukuřice. Kořeny o délce cca 2 cm byly ponořeny do živného roztoku obohaceného o HS o koncentraci 100 mg l⁻¹ (cit.²).

Laboratorní metoda testování BA HS pomocí klíčících rostlin umožňuje v relativně krátké době stanovit stimulační účinnost připravených preparátů.

Řešeno s podporou Ministerstva průmyslu a obchodu ČR, evidenční číslo projektu: FT-TA/038.

LITERATURA

- MacCarthy P., Rice J. A., v knize: *Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health*, (Senesi N., Miano T. M., ed.), s. 1209–1223. Elsevier, Amsterdam 1994.
- Antošová B., Novák J., Kozler J., Kubíček J., Kimmerová I., v knize: *Reactive and Functional Polymers Research Advances*, (Matheus I. Barroso, ed.), s. 191–203. Nova Science Publishers 2007.

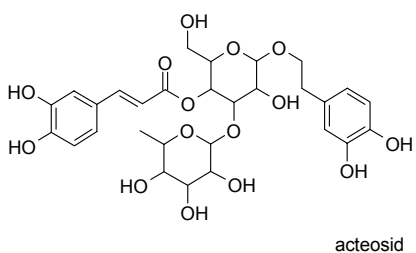
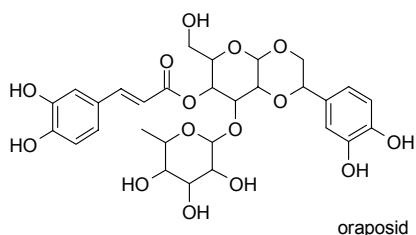
4P-14

IDENTIFIKACE NOVÝCH PŘÍRODNÍCH LÁTEK V *Orobancha flava* POMOCÍ 1D a 2D NMR SPEKTROSKOPIE

ALEXANDER POPA^a a IGOR POPA^b

^a Slovanské gymnázium Olomouc, tř. Jiřího z Poděbrad 13, 771 11 Olomouc, ^bLaboratoř růstových regulátorů, Univerzita Palackého v Olomouci a Ústav experimentální botaniky AV ČR, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc

Identifikace nových přírodních látek v rostlinách je jedním ze základních úkolů fytochemie. Některé druhy *Orobanchaceae* využívá tradiční lidová medicína pro jejich antimikrobiální, protizánětlivé a laxativní účinky, spojované mimo jiné s přítomností fenylypropanoidních glykosidů s antioxidační aktivitou. Závažná devětsilová *Orobancha flava* však doposud nebyla podrobena fytochemické analýze. Podarilo se nám nově izolovat a identifikovat struktury dvou fenyly-



propanoidních glykosidů (oraposid, acteosid) v methanolicém extraktu lodyhy a podzemních částí záruzy devětsilové. Látky byly separovány pomocí HPLC-MS a identifikovány na základě NMR studia: 1D (¹H, ¹³C, APT), 2D (COSY, HMQC, HMBC exp.) s přiřazením ¹H a ¹³C signálů.

Výzkum byl proveden za podpory Grantu MŠMT č. 2E06029 „STM Morava“ v rámci národního programu, výzkumu II-Lidské zdroje.

4P-15

SEZÓNÍ DYNAMIKA AKTIVITY ENZYMU RUBISCO A PIGMENTŮ XANTOFYLOVÉHO CYKLU SMRKU A BUKU POD VLIVEM ZVÝŠENÉ KONCENTRACE CO₂

JIŘÍ KALINA^a, MARIE DUCIUCOVÁ^a, MARTINA KOŠVANCOVÁ^b a OTMAR URBAN^b

^a KF, PřF, Ostravská univerzita v Ostravě, 30. dubna 22, 701 03 Ostrava 1, ^b LEFR, ÚSBE AV ČR, Poříčí 3b, 603 00 Brno

jiri.kalina@osu.cz

K hlavním faktorům prostředí, které významně ovlivňují růst a vývoj rostlin, je ozářenost a koncentrace CO₂ ([CO₂]) v atmosféře, o které se v poslední době hovoří hlavně v souvislosti se změnami globálních klimatických podmínek.

Kultivace studovaných dřevin – buk (*Fagus sylvatica* L.) a smrk (*Picea abies* [L.] Karst.) (věk 8 let) – byla prováděna v lamelových kultivačních sférách na EEP AVČR Bílý Kříž v atmosféře s přirozenou [CO₂] (375 μmol(CO₂) mol⁻¹) a dvojnásobnou [CO₂] (700 μmol(CO₂) mol⁻¹). Cílem experimentu bylo stanovit změny aktivity a množství enzymu Rubisco a změny pigmentů xantofylového cyklu (antheraxantin – A, violaxantin – V, zeaxantin – Z).

V průběhu roku 2007 byly provedeny tři odběry (květen, červenec a září) rostlinného materiálu. Maximální rychlost karboxylace *in vivo* – $V_{C_{max}}$ byla stanovena pomocí otevřeného gazometrického systému Li-6400 (LiCor, USA). Pro stanovení aktivity, resp. množství enzymu Rubisco *in vitro* byla využita spektrofotometrická metoda (UV-VIS, Unicam, Anglie). Stanovení deepoxidačního poměru (DEPS = (Z+A)/(V+A+Z)) a poměrů pigmentů xantofylového cyklu (V/VAZ, A/VAZ a Z/VAZ) bylo provedeno pomocí HPLC systému (TSP Analytical, USA).

Změny maximální rychlosti karboxylace *in vivo* ($V_{C_{max}}$) v průběhu vegetační sezóny byly zjištěny následovně. Zatímco listnatý buk lesní dosahuje maximálních hodnot $V_{C_{max}}$ v průběhu léta, u jehličnatého smrku ztepilého (1 rok staré jehlice) dochází v průběhu vegetační sezóny k postupnému poklesu hodnot $V_{C_{max}}$. Tento postupný pokles souvisí zejména s translokací dusíku do mladých listových pletiv.

Pomocí spektrofotometrického stanovení bylo zjištěno, že množství enzymu Rubisco v průběhu sezóny narůstá, přičemž obsah enzymu Rubisco v jehlicích smrku je přibližně dvojnásobný oproti listům buku. Aktivita enzymu Rubisco je u smrků vystavených zvýšené [CO₂] na začátku sezóny větší, v červenci stejná a na konci sezóny menší oproti rostlinám

kultivovaných v přirozené [CO₂]. Naproti tomu aktivita enzymu Rubisco buků vystavených zvýšené [CO₂] je potlačena již v letních měsících.

Rostliny vystavené zvýšené [CO₂] mají DEPS mírně vyšší oproti rostlinám kultivovaných v přirozené [CO₂] již od letních měsíců, zatímco na začátku sezóny byly hodnoty DEPS téměř stejné. Byla zaznamenána rozdílná odezva množství A v průběhu sezóny u buku a smrku na vysokou ozářenost.

Tato práce byla vypracována v rámci projektu GA ČR r. č. 522/06/0930 „Změny aktivity a obsahu enzymu Rubisco při působení zvýšené koncentrace CO₂“.

4P-16

STUDIUM AUXINŮ POMOCÍ IMUNOAFINITNÍ EXTRAKCE A UPLC-MS/MS

**ALEŠ PĚNČÍK, JAKUB ROLČÍK a MIROSLAV
STRNAD**

*Laboratoř růstových regulátorů, Univerzita Palackého &
Ústav experimentální botaniky AV ČR, Šlechtitelů 11, 783 71
Olomouc
alespencik@seznam.cz*

Nejdůležitějším zástupcem auxinů – skupiny rostlinných hormonů ovlivňujících dlouhivý růst buněk, větvení kořenů či ohyb rostlin za světlem (fototropismus) je kyselina 3-indolyloctová (IAA). Třebaže jsou její biosyntéza a metabolismus již dlouho usilovně studovány, mnohé otázky zůstávají nezodpovězeny. Na vině je složitost rostlinného materiálu, snadná degradovatelnost analytu a jeho velmi nízká koncentrace pohybující se často na úrovni desítek fmol v 1 g čerstvé hmoty.

Pro analýzu IAA a jejích derivátů jsme proto vyvinuli komplexní analytický protokol, který zahrnuje nejenom moderní instrumentální analytickou koncepci (HPLC nebo UPLC s navazující tandemovou hmotnostní detekcí), ale též polyspecifickou imunoafinitní purifikaci. Vzorek, jehož hmotnost se pohybuje mezi 10 až 50 mg, je v prvním kroku extrahován fosfátovým pufrem a přečištěn pomocí SPE. Po methylovaní je vzorek purifikován imunoafinitní extrakcí, za níž následuje finální analýza. Široká specifita použitých polyklonálních protilátek umožňuje kvantifikovat celou řadu derivátů indolu se substitucí v poloze 3: 3-indolylacetonitril, 3-indolylacetamid, 3-indolylethanol a tzv. konjugáty IAA s těmito aminokyselinami: Ala, Asp, Gly, Glu, Leu, Phe, Trp a Val. Limit detekce se pohybuje od 0,2 fmol do 10 fmol.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT České republiky MSM 6198959216.