

SLUNEČNICE ROČNÍ (*Helianthus annuus* L.) – OBSAHOVÉ LÁTKY A BIOLOGICKÁ AKTIVITA

ZUZANA ŘEHÁKOVÁ, JANA KARLÍČKOVÁ
a LUDEK JAHODÁŘ

Katedra farmaceutické botaniky a ekologie, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
zuzana.rehakova@faf.cuni.cz,
jana.karlickova@faf.cuni.cz, ludek.jahodar@faf.cuni.cz

Došlo 14.8.06, přepracováno 9.7.07, přijato 15.9.07.

Klíčová slova: *Helianthus annuus*, slunečnice, metabolity, biologická aktivita

Obsah

1. Úvod
2. Látky izolované z květu slunečnice a jejich biologická aktivita
3. Látky izolované z pylu slunečnice a jejich biologická aktivita
4. Látky izolované z listů slunečnice a jejich biologická aktivita
5. Závěr

1. Úvod

Ekonomicky významná rostlina slunečnice roční patří bezesporu k nejvíce studovaným taxonům čeledi Asteraceae. Např. za rok 2005 specializovaná databáze Medline uvádí 65 původních prací, Chemical Abstracts téměř 200. Do roku 2005 bylo popsáno v rodu *Helianthus* na 140 chemických individuí, přesto je reálné setkávat se i nadále s novými výsledky v oblasti rostlinné fyziologie, biochemie, fytochemie a také při studiu biologické aktivity izolovaných metabolitů. Tím ovšem nechceme ubírat na významu experimentů v oblasti agrotechnologie, fytopatologie apod.

Slunečnice roční, *H. annuus*, čel. Asteraceae (hvězdnicovité), pochází z území Mexika až Peru¹, kde byla pěstována již před třemi tisíci lety². V Evropě byla od roku 1510 pěstována nejprve jako dekorativní a od 18. století jako rostlina užitková. Nyní je pěstována v řadě zemí, především v teplých oblastech mírného pásu a v subtropích. Je pojmenována na počest Helia, řeckého boha Slunce³. Semeno obsahuje až 70 % polovysychavého oleje s vysokou dietetickou hodnotou. Tvoří ho především triacylglyceroly s vázanými mastnými kyselinami – linolo-

vou (asi 60 %), olejovou (25 %), palmitovou (3–10 %), stearovou (1–10 %) a myristovou (pouze 0–0,2 %)⁴.

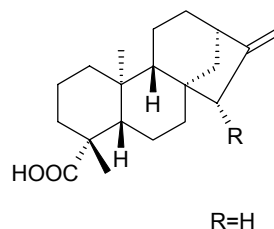
Olej je výborné potravinářské jakosti, zvláště vhodný k výrobě ztužených pokrmových tuků, stolních olejů, ke konzervaci ryb, ale také pro výrobu mýdel, laků a fermeží. Má využití i v dalších odvětvích průmyslu včetně farmaceutických technologií, kde slouží jako vehikulum injekčních přípravků, rozpouštědlo hydrofobních léčiv, přísada do mastí apod.

Byla provedena studie se slupkami nažek *H. annuus*, kde byly identifikovány fenolové látky, zejména kyselina chlorogenová a kyselina kávová. V různých polárních extraktech ze slupek byla potvrzena testy *in vitro* antioxidační aktivita^{5,6}.

Rostlina je využívána i v lidovém léčitelství, a to květní úbory ve formě odvaru či tinktury jako antineuralgikum a antipyretikum, při gastrointestinálních potížích a bronchiálních spasmech. Odvar je doporučován i zevně při zánětlivých kožních onemocněních. Tradiční medicína využívá olej i semena. Pokrutiny jsou velmi vydatným krmivem, neboť obsahují až 36 % bílkovin. Semena jsou bohatá na vitamin B₁ a B₂, niacin, železo, fosfor, draslík, síru, rostlinné tuky a proteiny^{1–3}.

2. Látky izolované z květů slunečnice

Z květenství slunečnice roční byly izolovány tyto látky: kyselina *ent*-kaur-16-en-19-ová (*I*), angelát grandiflorové kyseliny, kyselina eudesma-1,3,11(13)-trien-12-ová. Dále látky typu auronu, přesně 5-hydroxy-4,4',6-trimethoxyauronu⁸. V jazykovitých květech pak loliolidacetát⁹. Následně pak byla izolována kyselina grandiflorová, diterpen 7-oxotrachyloban-15 α ,19-diol, kyselina 15 α -hydroxytrachyloban-19-ová, germakranolidy niveusin B a 3-*O*-methylniveusin A, 15-hydroxy-deoxy-3-dehydrotrifruticin, 1,10-*O*-dimethyl-3-dehydroargofyllin B-diol, 3-oxo forma 1-*O*-methyl-4,5-dihydroniveusinu A, agropyllin A, 1-*O*-methyl-4,5-dihydroniveusin A, 4,5-dihydro-



I (kyselina *ent*-kaur-16-en-19-ová)

niveusin A a flavon nevadensin. Seskviterpeny izolované z květů vykazovaly silný účinek proti *Diabrotica virgifera virgifera*, červům napadající kořeny dospělé kukuřice⁵.

Byly zkoumány látky izolované z květního lůžka slunečnice, které vykazovaly antimikrobiální účinky. Byly to zejména terpenoidy – kyselina *ent*-kaur-16-en-19-ová, kyselina *ent*-trachyloban-19-ová a niveusin.

Kaurenová kyselina izolovaná z květů slunečnice se ukázala jako účinná proti larvám *Homeosa electellum*, *H. zea*, *H. virescens* a *Pectinophora gossypiella*.

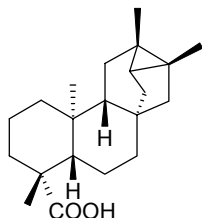
Testování cytotoxicity kaurenové kyseliny bylo provedeno na garnátech (IC_{50} 2,03 $\mu\text{g ml}^{-1}$, 16 $\mu\text{g ml}^{-1}$) a různých buněčných liniích (myši lymfatické leukémie, karcinomu prsu, plic, tlustého střeva, vaječníků, prostaty a kůže).

Kaurenová kyselina vykazovala také antifertilní aktivitu u primátů, protizánětlivé působení (test edému tlapy potkana), antiagregační aktivitu a antimikrobiální aktivitu proti *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* a *Mycobacterium smegmatis*¹⁰.

Další deriváty kauranových diterpenů *ent*-kauran-16 α -ol, *ent*-atisan-16 α -ol, *ent*-trachyloban-19-ová kyselina a *ent*-kaur-16-en-19-ová kyselina byly hodnoceny v biologickém testu využívajícího hmyzu parazitujícího na slunečnici (*Cochylis hospes*). Zjišťoval se počet nakladených vajíček v určitém čase a jeho ovlivnění testovanou látkou. Významný stimulující efekt na kladení vajíček vykazovaly deriváty *ent*-kauran-16 α -ol a *ent*-atisan-16 α -ol (cit.¹⁴).

Směs dvou diterpenových kyselin, kaurenové a angelátu grandiflorové kyseliny, se ukázala jako nejsilnější inhibitor růstu vláknitých stélek hub *Verticillium dahlie*, *Sclerotinium sclerotiorum*. Selektivním šlechtěním tak, aby bylo dosaženo většího množství těchto terpenoidů v slunečnici, může být vylepšena přirozená rezistence vůči houbovým patogenům¹¹.

Pyrek^{9, 12} izoloval *ent*-trachyloban-19-ovou kyselinu spolu s *ent*-kaur-16-en-19-ovou kyselinou. Dále izoloval z jazykovitých květů i estery těchto dvou kyselin s thuja-nolem. Kyselinu trachyloban-19-ovou považuje za majoritní diterpen, ostatní její deriváty jsou prezentovány jako minoritní doprovod těchto látek. Alfafafta⁸ izoloval 7-oxo-



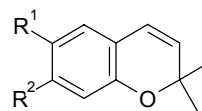
II (kyselina *ent*-trachyloban-19-ová)

trachyloban-15 α ,19-diol a kyselinu 15 α -hydroxy-trachyloban-19-ovou.

Dále byla z květů izolována kyselina eudesma-1,3,11

(13)-trien-12-ová (cit.⁸).

Z ethanolového extraktu úborových lůžek byly izolovány chromenové sloučeniny. Byly identifikovány jako demethoxyencekalin (6-acetyl-2,2-dimethylchromen, III) a demethylenekalin (6-acetyl-7-hydroxy-2,2-dimethylchromen, IV) (cit.¹³). U nich byla prokázána antitumorická aktivita hodnocená metodou papírového disku a testovaná na houbě *Pyricularia oryzae*. Ze suchého a rozemletého prášku úborových lůžek a semen byly následně připraveny hexanové, diethyletherové a ethyl-acetátové extrakty. Jejich antimikrobiální aktivita byla hodnocena na *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* a *Staphylococcus aureus*. Stejně výsledky vykazovaly také extrakty získané z květenství. Extrakty dalších rostlinných orgánů nevykazovaly takovou toxicitu na žádný z testovaných mikroorganismů. Kromě toho hexanové i diethyletherové extrakty úborových lůžek vykazovaly antitumorickou aktivitu proti *Cladosporium herbarum*. Struktury těchto izolovaných látek jsou velmi podobné strukturám prekocenu I a II (V, VI)¹³.



III (demethoxyencekalin): $R^1 = \text{CH}_3\text{CO}$, $R^2 = \text{H}$

IV (demethylenekalin): $R^1 = \text{CH}_3\text{CO}$, $R^2 = \text{OH}$

V (prekocen I): $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_3\text{O}$

VI (prekocen II): $R^1 = \text{CH}_3\text{O}$, $R^2 = \text{CH}_3\text{O}$

Bader izoloval tři bisdesmosidové triterpenoidní saponiny – helianthosid 1, 2 a 3 (cit.¹⁴).

Imunomodulační efekt u myši a antitumorový efekt na *in vivo* modelech byl prokázán u virgaureasaponinu E (cit.¹⁵).

Helianthosid je základní saponin izolovaný z *H. annuus* L. Je charakterizovaný jako bidesmosid echinocystové kyseliny. Cytotoxicita této látky testovaná na myších nádorových buňkách (linie P-815 a YAC-1) byla významná ve srovnání se saponiny izolovanými z jiných rostlin, naopak hemolytický index byl nízký¹⁶.

Z methanolového extraktu květů slunečnice byly získány steroly, triterpenové alkoholy a alkan-6,8-dioly. Tyto sloučeniny vykazují značnou protizánětlivou aktivitu proti působení 12-*O*-tetradekanoylforbol-13-acetátu (TPA), který způsobuje zánět u myši. Kromě toho alkan-6,8-diol projevuje inhibiční účinek na nádorový účinek TPA ve dvou stádiích zhoubného bujení na kůži myši.

3. Látky izolované z pylu slunečnice

Bylo popsáno složení lipidů v pylu rostliny slunečnice roční extrahovaných hexanem. Lipidy z extraktu obsahují několik skupin sloučenin: triterpeny, β -diketony, hydroxy-

ketony, β -dioxoalkany, alkanany, mastné kyseliny, estery a β -dioxoalkanové kyseliny¹⁷.

Při výzkumu se speciálním zaměřením na terpenoidní složky izolované z diethyletherového extraktu pylu bylo izolováno a charakterizováno 27 sloučenin, z toho 16 terpenoidních složek. Mezi nimi byly čtyři estery mastných kyselin a triterpenových alkoholů a jejich hydrolytické produkty, čtyři volné triterpenové alkoholy, čtyři diterpenové kyseliny, dvě sloučeniny odvozené od tokoferolu, čtyři estolidy, tři alkan-4,6-dioly, jedna β -dioxoalkanová kyselina a jeden alifatický keton. Dva methylestery estolidů byly nedávno připraveny polosynteticky z odpovídajících kyselin.

Hlavní složka obsažená v pylu *H. annuus* byl seko-triterpen, dále pak β -diketony jako hlavní skupina sloučenin. Bylo testováno třicet sloučenin na inhibiční efekt na EBV-EA (virus Epstein-Barrové – první antigen) vyvolaný TPA v Raji buňkách (EBV genom nesoucí lidské lymfoblastické buňky používané pro screeningové určení antitumorových promotorů) v *in vitro* experimentu. Jako referenční látka byl zvolen β -karoten. Inhibiční efekt 21 di- nebo polycyklických sloučenin byl stejný nebo silnější než β -karoten. Podle výsledků této studie se terpenoidní a lipidové struktury jeví jako vhodná potenciální chemopreventivní činidla typu antitumorových promotorů¹⁸.

Dále bylo izolováno z diethyletherového extraktu pylových zrn *H. annuus* šest rozvětvených 3,4-sekotirucallanových typů triterpenoidů (X) (cit.¹⁹).

Doprovodné látky lipidů pylu

Alifatické ketony

Z pylových zrn byla izolována celá řada β -diketonů, hlavní skupiny lipidů pylu. Jako majoritní sloučeniny byly stanoveny 4,6-diony a 6,8-diony, 10,12-diony potom jako minoritní. Délka uhlíkového řetězce jednotlivých sloučenin se pohybuje od 18 do 33 uhlíků. Podařilo se izolovat rovněž do té doby neznámé 1-fenylalkan-1,3-diony. Hlavní aromatický diketon je 1-fenylhexadeca-1,3-dion (cit.¹⁷).

β -Hydroxyketony

Majoritním β -ketonem je 4-hydroxynonadekan-6-on (cit.¹⁷).

Mezi izolovanými látkami byly alkyny typu 4-ol-6-on a jejich polohové isomery 6-ol-4-on, 5-ol-7-on a 6-ol-8-on a jejich polohové isomery 6-on-8-ol. Délka uhlíkového řetězce se pohybovala mezi C₁₉ až C₂₇. Byly izolovány také 1-fenyl-3-hydroxy-alkan-1-ony a jejich polohový isomer 1-ol-3-on s délkou alkanu od C₂₂ do C₂₇.

Dioly

Z pylových zrn se podařilo izolovat tři alkan-4,6-dioly: *syn*-nonadeca-4,6-diol, *syn*-henikosan-4,6-diol a *syn*-dokosan-4,6-diol (cit.¹⁸).

Schulz¹⁷ stanovil výše uvedené sloučeniny jako hlavní dioly pylu a izoloval z pylu další sloučeniny typu β -diolů. Majoritními sloučeninami jsou 4,6-dioly doprovázené

malými množstvími 5,7-, 6,8-, 10,12-diolů a 1-fenyl-1,3-diolu. Délka uhlíkatého řetězce se pohybuje od C₁₉ do C₂₅.

Alkany

Z pylových zrn bylo izolováno menší množství lineárních alkanů C₂₅, C₂₇, C₂₉, C₃₁ a C₃₃ (cit.¹⁷).

Mastné kyseliny

Byla izolována řada nasycených mastných kyselin od hexanové po nonakosanovou s výjimkou C₇ a C₂₇ kyselin. Nenasycené mastné kyseliny jsou reprezentovány kyselinami hexadec-9-enovou (9-16:1) a kyselinami kodové označenými 9-18:1, 11-18:1, 9,12-18:2, 18:3, 11-20:1, 11,14-20:2 a 13-22:1. Hlavní látkou je kyselina ikos-11-enová, všechny ostatní se vyskytují v menším nebo zanedbatelném množství¹⁷.

Estery mastných kyselin

Menší množství dodecyl-palmitátu, oktyl-ikosanoátu a oktyl-ikosadienoátu a menší množství methylesterů výše zmiňovaných mastných kyselin bylo izolováno z pylových zrn¹⁷.

Dále pak byly získány estery hydroxylovaných mastných kyselin estolidového typu: kyselina 18-(hexadekanoyloxy)oktadec-9-enová, její methyl a ethyl ester a kyselina 18-(oktadekanoyloxy)oktadec-9-enová a její methyl a ethyl ester (cit.^{17,18}).

β -Dioxoalkanové kyseliny

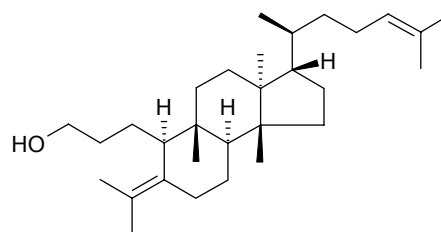
Z extraktu pylových zrn byly izolovány kyselina 14,16-dioxopentakosanová a celá řada dalších kyselin, jako 16,18-dioxoheptakosanová kyselina a 16,18-dioxoheptakosanová kyselina, dále pak $\Delta^{6,8}$ -, $\Delta^{10,12}$ - a $\Delta^{12,14}$ - β -dioxoalkadienové kyseliny. Délka uhlíkatého řetězce se pohybuje od C₂₄ do C₂₉ uhlíků¹⁸.

Terpenoidní složky pylu

Tuto skupinu metabolitů lze rozdělit na estery mastných kyselin a triterpenových alkoholů a diterpenové kyseliny.

Estery mastných kyselin a triterpenových alkoholů

Schulz¹⁷ a Ukiya¹⁸ izolovali terpen helianol (VIII), dále byl získán helianyl- oktanolát jako hlavní vyskytující se sloučenina. Tyto látky byly doprovázeny malým množstvím hexanoátu, dekanóátu a dodekanoátu.



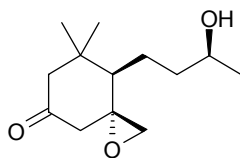
VIII (helianol)

Triterpenové alkoholy

Sekotirukallany

Byly izolovány triterpenový alkohol helianol (3,4-*seko*-19(10→9)-abeo-8 α ,9 β ,10 α -tirukalla-2,24-dien-3 β -ol) a jeho oktanoát jako jedna z majoritních triterpenových složek, která popřípadě může být doprovázena malým množstvím hexanoátu, dekanoátu a dodekanoátu, (24*S*)-24,25-dihydroxyhelianyl-3-oktanoát a jeho 24*R* epimer, 4 α ,5 α -epoxyhelianol a jeho 3-oktanoát, (24*S*)-4 α ,5 α :24,25-diepoxyhelianyl-3-oktanoát a jeho 24*R* epimer, (24*S*)-24,25-dihydroxy-4 α ,5 α -epoxyhelianyl-3-oktanoát a jeho 24*R* epimer¹⁸.

Dále pak sloučeniny odvozené od 3,4-*seko*-tirukallanu: sunpollenol (4-hydroxy-3,4-*seko*-19(10→9)-abeo-8 α ,9 β ,10 α -tirukall-24-en-3,5-oxid), (24*R*)-24,25-epoxy-sunpollenol a jeho 24*S* epimer, dehydro-(23*E*)-25-hydroxy-sunpollenol a (24*R*)-24,25-dihydroxysunpollenol a jeho 24*S* epimer¹⁹.



VII (tirukallol)

Pentacyklické triterpeny

- 1) skupina ursanu (α -amyrinu): Ukiya¹⁸ izoloval z pylových zrn α -amyrin,
- 2) skupina oleananová (β -amyrinu): Bader²⁰ izoloval bidesmosidy helianthosid 1, 2 a 3.

Diterpenové kyseliny

V diethyletherovém extraktu pylových zrn byly prokázány tyto látky: kyselina *ent*-kaur-16-en-19-ová, angelát kyseliny grandiflorové, kyselina grandiflorová a kyselina trachyloban-19-ová (cit.¹⁸).

Fytosteroly

Fytosteroly jsou terpenoidní alkoholy mající v organismu nejméně dvě funkce – jsou prekurzory pro syntézu ostatních steroidních látek a jsou důležitou složkou buněčných membrán, stabilizují je a účastní se řízení jejich propustnosti, k tomu je důležitá volnost C₃- β hydroxyskupiny pro interakci s fosfolipidy²¹.

Z extraktu pylových zrn byly dále izolovány β -sitosterol, stigmasterol (3,4,22,23-tetrahydro- β -sitosterol), isofukosterol (5,6,24,25-tetrahydro- β -sitosterol) a neophytadien¹⁷.

Kumariny

Murray²² uvádí přítomnost skopoletinu, jeho *O*-glukosidu a ayapinu.

Tokoferoly

Z extraktu pylových zrn byly izolovány α - a γ -tokoferol (cit.^{17,18}). Dále pak (5*S*)-3 α -acetyl-7 α -hydroxy-2,3,5-trimethyl-5-(4,8,12-trimethyltridekan-1-yl)-1,3 α ,5,6,7,7 α -hexahydro-4-oxainden-1-on a jeho 5*R* epimer¹⁸.

4. Látky izolované z listů slunečnice

Chemická studie listů slunečnice ukázala, že je tento druh bohatým zdrojem terpenoidů s širokým spektrem biologických účinků, včetně alelopatie (nepříznivý vliv jedné rostliny na druhou, způsobený produkty látkové výměny). Dichlormethanový extrakt suchých listů byl podroben chromatografii na tenké vrstvě za použití mobilní fáze hexan-aceton s rostoucí polaritou. Ze středně polární frakce bylo získáno 13 sloučenin. Izolace a objasnění struktury se týkalo těchto látek: bisnorseskviterpenu annuionu E (IX), 7,11-heliannanu (heliannuoly A (X), C, D (XI), F, G, H, I a L (XII) a dvou seskviterpenů (helibisabonol A (XIII) a helibisabonol B (XIV)). Navíc byly získány látky známé struktury, a to seskviterpenové laktony annulid E a leptokarpin (XV), 7,10-heliannanové heliannuoly D, F a I.

Biologické účinky těchto izolovaných sloučenin byly testovány bioanalýzou pšeničných koleoptilů (blanitý obal zárodku jednoděložných rostlin, chránící prvotní vzrostlý vrchol rostliny)²³. Z vodného extraktu celých listů byly izolovány a chemicky charakterizovány fenolické sloučeniny (deriváty benzoové kyseliny, kumariny a flavonoidy) a další terpenové deriváty např. (heliespirony).

Z polární frakce listů *H. annuus* cv. Stella a SH-222 byly izolovány apokarotenoidy annuion F [(1*R*,5*R*,6*S*,9*R*)-6,13-dihydroxy-3-oxo-5,6-dihydro- β -ionol] a G [(3*R*,5*R*,7*R*)-3,5-dihydroxy-6,7-dehydro-5,6-dihydro- β -ionol]. Řada apokarotenoidů, sloučenin s počtem uhlíků menším než 40, ale se strukturou značně podobnou karotenům, se vyskytuje v podobě rostlinných olejů a často je zodpovědná za vůni rostlin²⁴.

Terpeny

Seskviterpeny

Heliannany

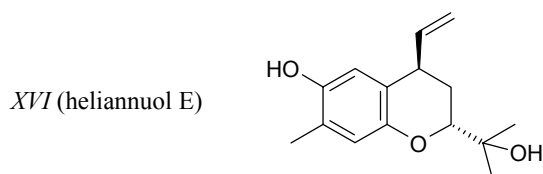
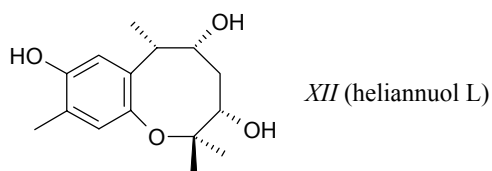
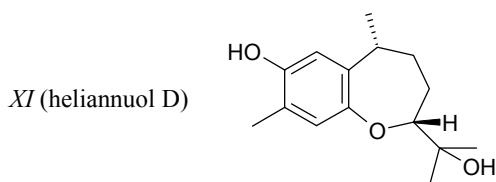
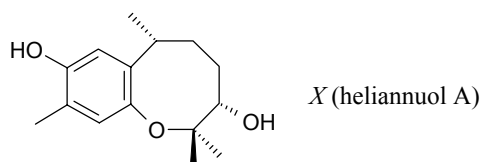
Heliannany představují typ seskviterpenů izolovaných z nadzemních částí slunečnice roční a mořských hub (*Haliclona fascigera*). Je pro ně typický substituovaný aromatický kruh kondenzovaný s heterocyklem různé velikosti obsahujícím kyslík. Vzhledem k nové struktuře a fytotoxickým vlastnostem některých členů této skupiny byly studovány z hlediska vztahu mezi strukturou a aktivitou (SRA studie).

Heliannuol A (X) byl prvním heliannanem uvedeným v literatuře. Byl izolován z listů slunečnice roční. Překvapivě žádné jiné heliannuoly nebyly izolovány z žádné jiné nadzemní části této rostliny. Nicméně základní skelet heli-

annanu byl izolován později z mořské houby *Haliclona fascigera*.

Tyto látky lze rozdělit na základě chemické struktury na 4 skupiny:

1. 7,11-heliannany (cit.^{23,25,26,27,28}): heliannuol A (cit.^{23,26,28}) (X), heliannuol C, D (XI), F, H, I a L (XII), heliannuol G (cit.^{23,27}) a jeho 8 epimer (heliannuol H (cit.²⁷) a heliannuol K (cit.²⁷)),
2. 7,10-heliannany: heliannuol B (cit.^{25,26,28}) a jeho 8,9-dihydroderivát heliannuol D (cit.^{25,26,28}), 8-oxo-heliannuol D (heliannuol F (cit.^{25,27})), a 7,8 epimery 7,8-epoxyheliannuolu B (heliannuol I (cit.^{25,27}) a heliannuol J (cit.^{25,27,29})),
3. 8,11-heliannany: heliannuol C (cit.^{25,26,28}),
4. 8,10-heliannany: heliannuol E (XVI) (cit.^{25,30}).



Byla hodnocena biologická aktivita 11 heliannuolů (izolovaných ze slunečnice) bioanalýzou jednoděložných a dvouděložných rostlin na Petriho miskách. Jako standard sloužil herbicid Logran®. Bioanalýza byla prováděna na semenech hlávkového salátu (*Lactuca sativa*), řeřichy (*Lepidium sativum*), cibule (*Allium cepa*), pšenice (*Triticum aestivum*) a ječmene (*Hordeum vulgare*). Klíčivost semen a délka kořenů i výhonků byly určeny Welchovým testem.

Zjistilo se, že heterocyklické sloučeniny heliannuol A (X) a C jsou aktivní, zatímco sloučeniny s otevřeným kruhem helibisabonol A (XIII) a B (XIV) jsou neaktivní. Pří-

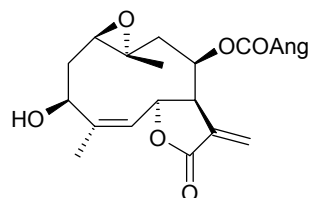
tomnost heterocyklu je tedy rozhodující pro účinnost. Většina heliannuolů je aktivní u dvouděložných nebo jednoděložných druhů. Klíčovou roli hraje rovněž velikost kruhu. Účinnost při bioanalýze na Petriho miskách klesá v pořadí osmičlenný > sedmičlenný > šestičlenný kruh. To platí rovněž pro bioanalýzu pšeničných koleoptilů. Rovněž poloha hydroxyskupiny má vliv na účinnost. Sloučeniny, které mají hydroxyskupinu na heterocyklu (7,11-heliannuoly a 8,11-heliannuoly), jsou aktivnější než ty, které mají hydroxyskupinu na isopropylové skupině (7,10-heliannuoly). Rovněž klíčovou roli hraje stereochemie chirálního centra. Při porovnání efektu heliannuolu G a jeho epimeru na C-8 heliannuolu H byly zjištěny velké rozdíly mezi účinnostmi obou sloučenin.

Heliannuoly A, C, D, G byly testovány standardní fytochemickou zkouškou STS (standard target species), která pracuje s pšeničnými koleoptily a zachycuje mimo jiné i antimikrobiální a antifungální efekt. Významná inhibice byla prokázána u heliannuolu A a D (cit.²⁵).

Seskviterpenové laktony

Macías²³ navíc získal látky známé struktury, a to seskviterpenové laktony annuolid E a leptokarpin (XV), což je 4,5-dehydroagrofyllin B.

Macías³¹ izoloval z listů dimerní seskviterpenový laktón helivypolid G, v kterém jsou spojeny dva seskviterpenové laktony spirocyklickým dihydropyranovým kruhem. Podařilo se ho získat ze středně polární frakce listů *H. annuus* var. Stella. Surový extrakt byl rozdělen na koloně silikagelu a dále čištěn HPLC, mobilní fáze byla hexan/acetón. Helivypolid G byl izolován jako nažloutlá amorfni látka³¹.



COAng = angeloyl

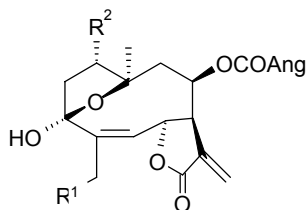
XV (leptokarpin)

Melek³² identifikoval z listů agrofyllin A jako hlavní germakrolid a agrofyllin B, niveusin a 4,5-dihydroniveusin A jako minoritní.

Ze slunečnice roční byl již dříve izolován biologicky aktivní furanoheliangolid, který byl identický s niveusinem C (XVII) (cit.³³) izolovaným z *H. niveus* a z *H. maxmilliani*. Z ethanolového extraktu mladých listů a vrcholových částí stonků byly získány tři seskviterpenové laktony - známá látka niveusin B, nový germakranolid tifruticinového typu a 3-ethoxyniveusin B. K určení struktury byla využita IČ, ¹H a ¹³C NMR a MS spektra^{34,35}.

Chemická analýza pryskyřičných glandulárních trichomů z povrchu listů vedla k izolaci šesti seskviterpenových laktónů separací HPLC. Kromě známých heliangolidů

dů niveusinu C, 15-hydroxy-3-dehydrodeoxyfruticin (autorem též zvaný annuithrin), argophyllinu B, byly objeveny a charakterizovány nové germakranolidy odvozené od niveusinu typu A (1-methoxy-4,5-dihydroniveusin A, 1,2-anhydridoniveusin A, 1,2-anhydro-4,5-dihydroniveusin A). K určení jejich struktury byla využita ^1H a ^{13}C NMR a MS spektra³⁵.



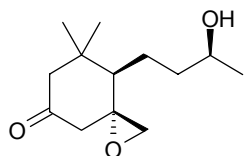
$\text{R}^1 = \text{H}$ $\text{R}^2 = \text{OH}$, $\text{COAng} = \text{angeloyl}$

XVII (niveusin C)

Seskviterpenové laktony (germakranolidy) z listů slunečnice vykazovaly antimikrobiální aktivitu testovanou na bakteriích a houbách. Niveusin B vykazoval vyšší inhibiční účinek proti bakteriím (MIC: $15 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *Bacillus brevis*, $50 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *Proteus vulgaris*, $95 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *Eremothecium ashbyi*), zatímco jeho ethoxy derivát vykazoval vyšší účinnost proti houbám (MIC: $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *B. brevis*, $85 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *P. vulgaris*, $65 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *E. ashbyi*) než deoxyfruticin (MIC: $35 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *B. brevis*, $87 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *P. vulgaris*, $98 \mu\text{g ml}^{-1}$ pro *E. ashbyi*). Rovněž byl proveden test s ovesnými koleoptily na lineární růstovou redukci: ta byla 80 % (± 6) pro niveusin B, 57 % (± 9) pro jeho ethoxyderivát a 61 % (± 6) pro deoxyfruticin.

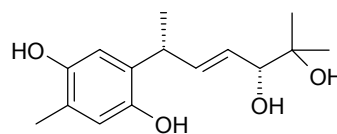
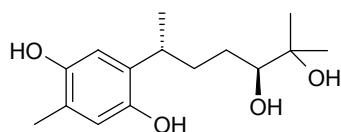
Norseskviterpeny

Z listů slunečnice roční byly izolovány bisnorseskviterpeny – annuolidy: annuionon A, jeho 7,8-dihydroderivát annuionon B, annuionon C, annuionon E (IX), annuionon F [(1*R*,5*R*,6*S*,9*R*)-6,13-dihydroxy-3-oxo-5,6-dihydro- β -ionol], annuionon G [(3*R*,5*R*,7*R*)-3,5-dihydroxy-6,7-didehydro-5,6-dihydro- β -ionol] (annuoiny jsou také řazeny mezi apokarotenoidy) a tři seskviterpeny bisabolonového typu: helibisabolon A (XIII), helibisabolon



IX (annuionon E)

XIII (helibisabolon A)



XIV (helibisabolon B)

B (XIV) a norbisabolon helinorbisabolon^{25, 36–38}.

Dále bylo izolováno šest bioaktivních norseskviterpenů z čerstvých listů slunečnice roční varieta SH-222[®] a VYP[®]. Tři nové typy bisnorseskviterpenů annuionony A-C a norbisabolon helinorbisabolon vykazovaly potenciální alelopatický účinek na jednoděložné rostlinné druhy. Mannův-Whitneyův test byl prováděn s těmito látkami na semenech hlávkového salátu (*Lactuca sativa*), řeřichy (*Lepidium sativum*), cibule (*Allium cepa*) a ječmene (*Hordeum vulgare*). Byla zjišťována klíčivost a délka kořene. Potenciální alelopatická aktivita byla zaznamenána u klíčení jednoděložných rostlin (*A. cepa*, *H. vulgare*) u tří bisnorseskviterpenů a norbisabolonu³⁶.

Heliespirany

Macías³⁹ izoloval z vodného extraktu čerstvých listů vyšlechtěné slunečnice varieta SH-222[®] bioaktivní (potenciální alelopatické činidlo) spirosekviterpen heliespiron A.

Flavonoidy

Flavonoidy tvoří početnou skupinu žlutých nebo oranžových rostlinných látek – deriváty fenylchromanu. Základem jejich struktury je chroman s arylem v poloze 2 (flavany), 3 (isoflavany) nebo 4 (neoflavany).

Flavonoidy jsou látky vyskytující se pouze v rostlinné říši, a to nejčastěji ve formě flavanů. Jednotlivé flavonoidy se od sebe dále liší počtem a polohou hydroxyskupin na aromatických kruzích, přítomností dvojných vazeb a vazbou cukrů nebo organických kyselin. V rostlinném organismu se vyskytují jako glykosidy nebo volný genin.

Macías⁴¹ izoloval z listů slunečnice roční flavonoidy typu chalkonů kukulkanin B a heliannon A. Z listů slunečnice roční byly izolovány látky typu flavanonů heliannon B a heliannon C a také látka typu flavanolů tambulin⁴⁰.

5. Závěr

Cílem tohoto článku byla snaha shrnout všechny dosud izolované látky z rostliny *Helianthus annuus* a jejich biologické účinky včetně alelopatie.

Taxon *H. annuus* je znám široké veřejnosti zejména jako surovina pro výrobu oleje vynikající potravinářské jakosti. Je zvláště vhodný k výrobě ztužených pokrmových tuků, stolních olejů, ke konzervaci ryb, ale také pro výrobu mýdel, laků a fermeží. Využívá se i v dalších odvětvích průmyslu včetně farmaceutických technologií^{5,6}. Kromě semen byly z hlediska obsahových látek prozkoumány

zejména listy a květy. Rostlina je také odedávna využívána v lidovém léčitelství^{1–3}. Jako většina rostlin z čeledi Asteraceae obsahuje také seskviterpenové laktony, které mají fotosenzibilizující schopnost (např. 1,2-anhydro-4,5-dehydroniveusin apod.)⁷, ale jejich množství v rostlině je téměř zanedbatelné.

Do oblasti fytochemie tento taxon přináší celou řadu struktur v jiných rostlinách dosud nepopsaných látek. Typově se však nevymyká chemotaxonomickým charakteristikám Asteraceae. Mnohé z izolovaných látek vykazují nadějnou biologickou účinnost.

Z úborů slunečnice roční byla izolována celá řada látek s bohatými biologickými účinky. Látky typu terpenoidů izolované z květů *H. annuus* vykazují nejrůznější biologické účinky, zejména antimikrobiální. Jde především o terpenoidy – kyselinu ent-kaur-16-en-19-ovou, kyselinu trachyloban-19-ovou a niveusin. Kaurenová kyselina měla dále účinky cytotoxické, protizánětlivé a antifertilní¹⁰. Z ethanolového extraktu úborových lůžek byly izolovány sloučeniny typu chromenů. Byla u nich prokázána významná antimykotická účinnost. Ze suchého jemného prášku úborových lůžek a semen byly následně připraveny hexanové, diethyletherové a ethyl-acetátové extrakty se značnou antimikrobiální a antimykotickou aktivitou¹³.

Imunomodulační efekt a antitumorový efekt na *in vivo* modelech byl prokázán u virgaureasaponinu E (cit.¹⁵). Cytotoxická účinnost byla dále prokázána u helianthosidu, saponinu, izolovaného z květů *H. annuus*¹⁶.

Z methanolového extraktu květů *H. annuus* byly získány steroly, triterpenové alkoholy a alkan-6,8-dioly. Tyto sloučeniny projevují značnou protizánětlivou účinnost proti 12-*O*-tetradekanoylforbol-13-acetátu (TPA), který způsobuje zánět u myši. Kromě toho alkan-6,8-diol vykazuje inhibiční účinek na karcinogen TPA ve dvou stádiích zhoubného nádorového bujení na kůži myši.

Dále byla popsána celá řada látek izolovaných z pylu. Byl zkoumán inhibiční efekt proti EBV-EA. Dle výsledků této studie se terpenoidní a lipidové struktury izolované z pylu slunečnice roční jeví jako vhodná potenciální chemopreventivní činidla typu protirakovinových promotorů¹⁸.

Chemická studie listů *H. annuus* ukázala, že jsou bohatým zdrojem nejrůznějších látek, zejména pak terpenoidů se širokým spektrem biologických aktivit, včetně alelopatie. Seskviterpenové laktony (germakranolidy) z listů slunečnice projevovaly antimikrobiální účinnost testovanou na bakteriích a houbách²⁵.

Výjimečné postavení taxonu ve výživě člověka je a bude jistě hlavním důvodem dalšího výzkumu jeho metabolomu a proteomu. Následné hodnocení biologické aktivity jejich složek může přinést i podporu pro další známá etnobotanická a etnofarmakologická fakta, či nové poznatky využitelné ve farmakoterapii.

Práce byla podporována grantem GAUK 118/2006/B BIO.

LITERATURA

- Valíček P., Hlava B., Holubová K., Hušák S., Kokoška L., Matějka V., Michl J., Pavel L., Polesný Z., Wróblewska E., Zelený V.: *Užitkové rostliny tropů a subtropů*, 2. vydání, str. 127. Academia, Praha 2002.
- Hendrych R.: *Systém a evoluce vyšších rostlin*, str. 371. SNP, Praha 1977.
- Bremness L.: *Bylinář*, str. 76. Fortuna Print, Praha 2004.
- Bruneton J.: *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*, str. 135. Technique & Documentation-Lavoisier, Paris 1995.
- De Leonardis A., Macciola V., Di Domenico N.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 107, 220 (2005).
- Český lékopis 2002*, 3. díl, str. 2812. Grada Publishing, Praha 2002.
- Jahodář L., Klečáková J.: *Chem. Listy* 93, 320 (1999).
- Alfatafta A. A., Mullin C. A.: *Phytochemistry* 31, 4109 (1992).
- Pyrek J. St.: *J. Nat. Prod.* 47, 822 (1984).
- Ghisalberti E. L.: *Fitoterapia* 68, 303 (1997).
- Picman A. K., Schneider E. F., Gershenzon J.: *Bioch. Systematics Ecol.* 18, 325 (1990).
- Pyrek J. St.: *Tetrahedron* 26, 5029 (1970).
- Satoh A., Utamura H., Ishizuka M., Endo N., Tsuji M., Nishimura H.: *Biosci. Biotech. Biochem.* 60, 664 (1996).
- Morris B. D., Foster S. P., Grugel S., Charlet L. D.: *J. Chem. Ecol.* 31, 89 (2005).
- Plohmann B., Bader G., Hiller K., Franz G.: *Pharmazie* 52, 12 (1997).
- Bader G., Plohmann B., Hiller K., Franz G.: *Pharmazie* 51, 6 (1996).
- Schulz S., Arsene C., Tauber M., McNeil N. J.: *Phytochemistry* 54, 325 (2000).
- Ukiya M., Akihisa T., Tokuda H., Koike K., Takayasu J., Okuda H., Kimura Y., Nikaido T., Nishino H.: *J. Agric. Food Chem.* 51, 2949 (2003).
- Ukiya M., Akihisa T., Tokuda H., Koike K., Kimura Y., Asano T., Motohashi S., Nikaido T., Nishino H.: *J. Nat. Prod.* 66, 1476 (2003).
- Bader G., Zieschang M., Wagner K., Grundemann E., Hiller K.: *Planta Med.* 57, 471 (1991).
- Bell E. A., Cherlwood B. V.: *Secondary Plant Products*. Springer Verlag, Berlin 1980.
- Murray R. D. H., Méndez J., Brown S. A.: *The Natural Coumarins: Occurrence Chemistry and Biochemistry*. J. Wiley and Sons, Chichester 1982.
- Macías F. A., Torres A., Galindo J. L. G., Varela R. M., Álvarez J. A., Molinillo J. M. G.: *Phytochemistry* 61, 687 (2002).
- Macías F. A., López A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *Phytochemistry* 65, 3057 (2004).
- Macías F. A., Molinillo J. M. G., Chinchilla D., Galindo J. C. G.: *Allelopathy* 16, 103 (2004).
- Macías F. A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *Phytochemistry* 34, 669 (1993).

27. Macías F. A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *J. Nat. Prod.* 62, 1636 (1999).
28. Macías F. A., Molinillo J. M. G., Varela R. M., Torres A., Fronczek F. R.: *J. Org. Chem.* 59, 8261 (1994).
29. Macías F. A., Oliva R. M., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *Phytochemistry* 52, 613 (1999).
30. Macías F. A., Varela R. M., Torres A.: *Tetrahedron Lett.* 40, 4725 (1999).
31. Macías F. A., López A., Varela R. M., Molinillo J. M. G., Alves P. L. C. A., Torres A.: *Tetrahedron Lett.* 45, 6567 (2004).
32. Melek F. R., Gage D. A., Gershenzon J., Marby T. J.: *Phytochemistry* 24, 1537 (1985).
33. Spring O., Albert K., Gradmann W.: *Phytochemistry* 20, 1883 (1981).
34. Spring O., Albert K., Hager A.: *Phytochemistry* 21, 2551 (1982).
35. Spring O., Benz T., Ilg M.: *Phytochemistry* 28, 745 (1989).
36. Macías F. A., Torres A., Galindo J. L. G., Varela R. M., Álvarez J. A., Molinillo J. M. G.: *Phytochemistry* 48, 631 (1998).
37. Macías F. A., López A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *Phytochemistry* 65, 3057 (2004).
38. Macías F. A., López A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *Tetrahedron Lett.* 37, 7023 (2003).
39. Macías F. A., López A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G.: *Tetrahedron Lett.* 39, 427 (1998).
40. Macías F. A., López A., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G., Castellano D.: *Phytochemistry* 45, 683 (1997).

Z. Řeháková, J. Karličková, and L. Jahodář
(*Department of Pharmaceutical Botany and Ecology, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové*):
Sunflower – Substances and Their Biological Activity

The sunflower is a rich source of compounds with various biological activities such as plant-growth regulatory, anti-inflammatory, antimicrobial, inhibitory in Epstein-Barr virus (EBV) activation, etc.). These compounds were isolated from different parts of sunflowers (leaves, radial flowers, pollen). Sesquiterpene lactones (germacranolides) isolated from leaves of sunflower have shown antimicrobial activities. Sterols, triterpenic alcohols and alkane-6,8-diols showed significant anti-inflammatory and cancerogenic effects against some phorbol tetradecanoate derivatives. In addition, the terpenoids and lipids isolated from the sunflower pollen exhibited potent inhibitory effects on EBV antigen induction.