

DOI: 10.18832/kp201719

Prenylované flavonoidy jako cenné biologicky aktivní látky chmele

Prenylated Flavonoids as Valuable Biologically Active Compounds from Hops

Jakub NEŠPOR, Vojtěch HANKO, Marcel KARABÍN, Lukáš JELÍNEK, Pavel DOSTÁLEK

Ústav biotechnologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6

Department of Biotechnology, University of Chemistry and Technology, Prague, Technická 5, Praha 6, 166 28, Czech Republic

e-mail: Pavel.Dostalek@vscht.cz

Recenzovaný článek / Reviewed Paper

Nešpor, J., Hanko, V., Karabín, M., Jelínek, L., Dostálek, P., 2017: Prenylované flavonoidy jako cenné biologicky aktivní látky chmele. Kvasny Prum. 63(4): 164–172

Chmelové hlávky obsahují řadu významných sloučenin, které jsou hojně používány v pivovarství, ale v poslední době roste zájem o využití chmele i k dalším účelům, zejména ve farmaceutickém průmyslu. Mezi sloučeniny chmele s farmaceutickým potenciálem patří i skupina prenylovaných flavonoidů, které vykazují řadu významných pozitivních účinků na lidské zdraví, a to zejména antikarcinogenních, kardiovaskulárních, antioxidačních, antimikrobiálních, protizánětlivých a estrogenních. V přehledném článku jsou prezentovány současné znalosti o jednotlivých biologických účincích, potenciálně využitelných ve farmaceutickém průmyslu.

Nešpor, J., Hanko, V., Karabín, M., Jelínek, L., Dostálek, P., 2017: Prenylated flavonoids as valuable biologically active compounds from hops. Kvasny Prum. 63(4): 164–172

Hop cones contain a number of important compounds, which are frequently used in the brewing industry. Recently, an increasing interest has been raised in using hops also for other purposes, particularly in the pharmaceutical industry. The group of prenylated flavonoids belongs to compounds with pharmaceutical potential. They display anticancer, cardiovascular, antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and oestrogenic effects, which have a positive impact on human health. This study presents the current knowledge about the biological effects exploitable in the pharmaceutical industry.

Nešpor, J., Hanko, V., Karabín, M., Jelínek, L., Dostálek, P., 2017: Prenylierte Flavonoide wie biologisch aktivwertvolle Stoffe des Hopfens. Kvasny Prum. 63(4): 164–172

Die Hopfendolden enthalten eine Reihe von bedeutenden Verbindungen, die häufig in der Brauindustrie angewandt sind, zur Zeit nimmt die Interesse über ihre Anwendung zu den anderen Zwecken zu, ins besonders in der pharmazeutischen Industrie. Unter den Verbindungen des Hopfens mit dem pharmazeutischen Potenzial gehört auch die Gruppe von prenylierten Flavonoiden, die eine Reihe von bedeutenden Wirkungen auf die menschliche Gesundheit, ins besondere Antikarzinogen-, Kardiovaskulär-, Antioxidant-, Antimikrobiol-, Antientzündung- und Östrogenwirkungen ausweisen. In dem übersichtlichen Artikel werden die zeitgenössischen Kenntnisse über einzelnen biologischen Wirkungen, die potenzielle Ausnutzung in der pharmazeutischen Industrie haben, angeführt.

Klíčová slova: chmel, biologická aktivita, xanthohumol, 8-prenylnaringenin, zdravotní účinky**Keywords:** hops, biological activity, xanthohumol, 8-prenylnaringenin, health effects

1 ÚVOD

Chmel otáčivý (*Humulus lupulus* L.) z čeledi konopovitých je rostlina, která je využívána k lékařským účelům více než 2000 let (Koetter a Biendl, 2010). Již ve starověku léčitelé používali chmel při léčbě malomocenství, zápachu nohou, proti zácpě a při čištění krve (Karabin et al., 2015). V 11. století popsal arabský léčitel Mesue protizánětlivé účinky chmele (Koetter a Biendl, 2010). Později, roku 1158, německá abatyše a bylinářka Hildegarda z Bingenu nepřímo potvrdila antimikrobiální vlastnosti chmele, když doporučila přidávání chmele do nápojů za účelem prodloužení jejich skladovatelnosti. Od 13. století se většina historických spisů zmiňuje převážně o využití chmele pro pivovarské účely. Dochovala se i řada lékařských dokumentů z tohoto období a v jednom z nejceněnějších, rukopisu z 15. století „Garden of Health“, je popsán pozitivní účinek chmele při léčbě ušní infekce (Karabin et al., 2015). V 16. století německý botanik Hieronymus Bock zdokumentoval první aplikace chmele v gynekologii, Paracelsus používal rostliny chmele při zlepšení trávení a italský lékař Matthioli uveřejnil informace o jeho močopudných účincích a podpůrné roli při tvorbě žlučových šťáv (Biendl, 2009; Koetter a Biendl, 2010). Od 19. století se chmel používal v rámci ototerapie při léčbě nespavosti v kombinaci s kozlíkem lékařským (Dimpfel a Suter, 2008). Důkaz estrogenních účinků vychází ze zkušenosti při sklizních chmele, jenž byl až do první poloviny minulého století sklizen a zpracováván výhradně ručně. Řada žen pracujících na sklizni si tehdy stěžovala na menstruační poruchy, které se objevily právě v době sklizně. V padesátých letech 20. století prokázali Koch a Heim silné estrogenní vlastnosti látek obsažených v chmelu (Koch a Heim, 1953). Proto se v současnosti chmel, nebo chmelové materiály speciálně obohacené o fytoestrogeny, používají v komerč-

1 INTRODUCTION

The common hops (*Humulus lupulus* L.) is a species in the Cannabaceae family. It has been used for medical purposes for more than 2000 years (Koetter and Biendl, 2010). The healers in ancient times used hops against leprosy, smelly feet, constipation and for blood cleansing (Karabin et al., 2015). The Arabian healer Mesue described the anti-inflammatory effects in the 11th century (Koetter and Biendl, 2010) and later in 1158, the German abbess and herbalist Hildegard von Bingen confirmed indirectly the antimicrobial properties of hops. She recommended a hops supplement in drinks for extending their shelf life. The historical records since the 13th century have mentioned the use of hops in brewing. A number of other medical reports from that time survived as well. The positive effect of hops in the treatment of ear infections has been described in one of the most precious manuscripts from the 15th century called 'Garden of Health' (Karabin et al., 2015). The botanist Hieronymus Bock described the first applications of hops in gynaecology in the 16th century; Paracelsus used hop plants for digestion improvement and the Italian doctor Matthioli published information about its diuretic effects and supporting role in the production of gall secrets (Biendl, 2009; Koetter and Biendl, 2010). Hops in combination with valerian was used in phytotherapy as a treatment for insomnia since the 19th century (Dimpfel and Suter, 2008). The evidence of oestrogenic effects comes from experiences during hops harvesting. Up until the first half of last century, hops was harvested exclusively by hands and exactly during the harvest time many women complained about menstruation disorders. Koch and Heim (1953) described the distinct oestrogenic properties in the fifties of the last century (Koch and Heim, 1953). Currently, hops or hop preparations enriched with phy-

ních potravinových doplňcích pro ženy při obtížích v menopauze, nebo při příznacích hormonálních poruch (Karabin et al., 2015).

Většina biologicky aktivních látek chmele se nalézá v chmelových hlávkách a patří mezi ně pryskyřice, silice i polyfenolové sloučeniny. Poslední zmiňované zahrnují i skupinu prenylovaných flavonoidů, které se v uplynulém desetiletí dostaly do popředí vědeckého zájmu, staly se tématem mnoha odborných studií a také součástí léčebných terapií. Jejich účinky je dnes možno úspěšně využívat v léčbě hormonálních poruch, nespavosti a mohou také hrát významnou roli v boji proti nádorovým onemocněním, případně zlepšovat funkci gastrointestinálního traktu (Zanoli a Zavatti, 2008).

2 CHARAKTERISTIKA CHMELOVÝCH PRENYLFLAVONOIDŮ

Prenylované flavonoidy jsou specifickou skupinou flavonoidů, která svou strukturou stojí na pomezí polyfenolů a chmelových pryskyřic, spolu s nimi produkované lupulinovými žlázkami na trichomech listenů. Zahrnují dvě podskupiny: chalkony a flavanony (obr. 1), lišící se pouze v cyklizaci uhlíkového skeletu (Karabin et al., 2015).

Nejhojněji zastoupenými a nejvýznamnějšími prenylovanými flavonoidy (obr. 1) v čerstvém chmelu jsou chalkony: xanthohumol, ((E)-1-[2,4-dihydroxy-6-methoxy-3-(3-methylbut-2-enyl)fenyl]-3-(4-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on) a desmethylxanthohumol ((E)-1-[2,4-dihydroxy-6-methoxy-3-(3-methylbut-2-enyl)fenyl]-3-(4-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-one). Ve stopových koncentracích byl prokázán výskyt nejméně 10 dalších prenylovaných nebo geranylovaných chalkonů a 9 prenylovaných nebo geranylovaných flavanonů (Stevens et al., 1997; Stevens a Page, 2004).

Přestože jsou xanthohumol a desmethylxanthohumol v čerstvém chmelu zastoupeny v mnohem vyšší míře než ostatní prenylflavonoidy, sledem izomeračních reakcí při zpracování chmele, případně výrobě piva, vznikají další biologicky významné sloučeniny, například z xanthohumolu vzniká isoxanthohumol. Ovšem jednou z nejdůležitějších izomeračních reakcí prenylflavonoidů je přeměna estrogeně neaktivního desmethylxanthohumolu na směs aktivních estrogenů 6-prenylnaringenin a 8-prenylnaringenin, obvyklý poměr je 3:2 ve prospěch 6-prenylnaringenin (Chadwick et al., 2006). Intenzita isomerační reakce se zvyšuje se vzrůstající teplotou a hodnotou pH. Při výrobě piva je obsah 8-prenylnaringenin závislý na odrůdě chmele, klimatu, podmínkách pěstování a skladování (Karabin et al., 2015). Bylo zjištěno, že koncentrace 8-prenylnaringenin v pivu odpovídá 10 – 20% z původního množství této látky ve chmelu (Tekel' et al., 1999).

Jak již bylo řečeno, biosyntéza prenylflavonoidů probíhá v lupulinových žlázkách. Ty se nachází na trichomech listenů chmelových hlávek či přímo na chmelových listech (Stevens a Page, 2004). Biosyntetické dráhy flavonoidů jsou dnes již velmi dobře prostudovány na enzymové i genetické úrovni (Stevens a Page, 2004). Jsou obdobné syntéze α -hořkých kyselin, lišící se pouze ve vstupní aminokyselině, kterou v případě syntézy prenylflavonoidů předsta-

toestrogens are used as commercial food supplements for women with menopausal problems in or with hormonal disorders (Karabin et al., 2015).

Most of the biologically active substances of hops such as resins, essential oils and polyphenolic compounds were found in the hop cones. The polyphenolic compounds also include a group of prenylated flavonoids. These became the highest scientific interest and grew to be a topic of many professional studies and parts of medical therapies in last decade. Recently, the properties of prenylated flavonoids have been successfully used in the treatment of hormonal disorders and insomnia. They could also be used as a part of cancer treatment and they could improve the function of gastrointestinal tract (Zanoli and Zavatti, 2008).

2 CHARACTERISTICS OF HOP PRENYLATED FLAVONOIDS

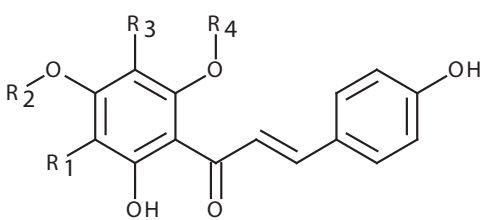
Prenyated flavonoids belong to a specific group of flavonoids which according to its structure between polyphenols and hop resin. They are synthesized in lupulin glands (glandular trichomes) placed on bracteoles. They are divided in two subclasses: chalcones and flavanones (Fig. 1) Which differ only in the cyclization of the carbon ring (Karabin et al., 2015).

The most frequent and most important prenylated flavonoids in fresh hops (Fig. 1) are the chalcones: xanthohumol ((E)-1-[2,4-dihydroxy-6-methoxy-3-(3-methylbut-2-enyl)fenyl]-3-(4-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on) and desmethylxanthohumol ((E)-1-[2,4-dihydroxy-6-methoxy-3-(3-methylbut-2-enyl)fenyl]-3-(4-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-one). At least ten other prenylated or geranylated chalcones and nine other prenylated or geranylated flavanones were found in trace concentrations (Stevens et al., 1997; Stevens and Page, 2004).

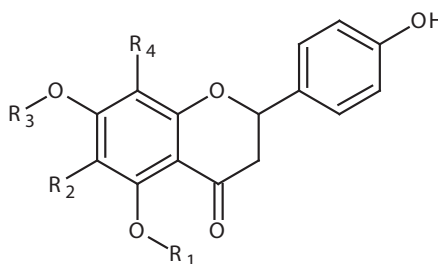
The fresh hops contain more xanthohumol and desmethylxanthohumol than any other prenylflavonoids. However by isomerisation during hops processing and beer production, further biologically relevant compounds are produced, for example xanthohumol turns into isoxanthohumol. One of the most important isomeric reactions of prenylflavonoids is a transformation of oestrogenic non-active desmethylxanthohumol to a mixture of active oestrogens 6-prenylnaringenin and 8-prenylnaringenin, usually in a 3 : 2 ratio (Stevens et al., 1997; Stevens and Page, 2004). The intensity of the isomeric reaction increases with elevating temperature at higher pH. The content of 8-prenylnaringenin during beer production depends on the variety of hops, the climate, the growing conditions and the storage (Karabin et al., 2015). It was found that the concentration of 8-prenylnaringenin in beer reaches from 10 to 20% of its original content in hops (Tekel' et al., 1999).

As mentioned above, the biosynthesis of prenylflavonoids takes place in the lupulin glands (glandular trichomes). These can be found on the bracteoles of the hop cones or directly on the hop bracts (Stevens and Page, 2004). Nowadays, the enzymatic and genetic aspects of the biosynthetic pathway of flavonoids are well known. (Stevens and Page, 2004). They are similar to syntheses of α -bitter acids and they differ only in the entering amino acid, which is, in case of prenylflavonoid synthesis, tyrosine (Stevens and Page, 2004). The first step in the biosynthesis of prenylflavonoids is a transamination and decarboxylation of the tyrosine. It results in p-cumaroylCoA, which condense with three other molecules of malonylCoA to chalconarigenin. The chalconsynthase (EC 2.3.1.74) enzyme catalyzes this reaction. The biosynthetic pathway of many flavonoids proceeds with enzymatic transformation of polyketide chalconarigenin to flavanon by means of chalconisomerase (EC 5.5.1.6). A similar isomerisation also proceeds as a non-enzymatic reaction, whereas two enantiomers (2R)-naringenin and (2S)-naringenin result. In the case of the

Významní zástupci prenylchalkonů Important prenylated chalcones	Významní zástupci prenylflavanonů Important prenylated flavanones
Xanthohumol: $R_1=Pn, R_2=H, R_3=H, R_4=CH_3$	Isoxanthohumol: $R_1=CH_3, R_2=H, R_3=H, R_4=Pn$
Desmethylxanthohumol: $R_1=Pn, R_2=H, R_3=H, R_4=H$	6-Prenylnaringenin: $R_1=H, R_2=Pn, R_3=H, R_4=H$
–	8-Prenylnaringenin: $R_1=H, R_2=H, R_3=H, R_4=Pn$



1



2

Obr. 1 Struktury významných prenylflavonoidů (1 – Chalkony, 2 – Flavanony); Pn = prenyl; H = vodík; CH₃ = methyl / Fig. 1 The structures of important prenylated flavonoids (1 – Chalcones, 2 – Flavanons); Pn = prenyl; H = hydrogen; CH₃ = methyl.

They are similar to syntheses of α -bitter acids and they differ only in the entering amino acid, which is, in case of prenylflavonoid synthesis, tyrosine (Stevens and Page, 2004). The first step in the biosynthesis of prenylflavonoids is a transamination and decarboxylation of the tyrosine. It results in p-cumaroylCoA, which condense with three other molecules of malonylCoA to chalconarigenin. The chalconsynthase (EC 2.3.1.74) enzyme catalyzes this reaction. The biosynthetic pathway of many flavonoids proceeds with enzymatic transformation of polyketide chalconarigenin to flavanon by means of chalconisomerase (EC 5.5.1.6). A similar isomerisation also proceeds as a non-enzymatic reaction, whereas two enantiomers (2R)-naringenin and (2S)-naringenin result. In the case of the

vuje tyrosin (Stevens a Page, 2004). Prvním krokem biosyntézy prenylflavonoidů je transaminace a dekarboxylace tyrosinu za vzniku p-kumaroylCoA, který dále kondenzuje společně s třemi molekulami malonylCoA za vzniku chalkonaringenininu. Tato reakce je katalyzována enzymem chalkonsyntázou (EC 2.3.1.74). Biosyntéza mnoha flavonoidů je dále vedena cestou enzymatické přeměny polyketidu chalkonaringenininu na flavanon za přičinění chalkonisomerázy (EC 5.5.1.6). Podobná isomerace probíhá také neenzymaticky za vzniku dvou enantiomerů, (2R)-naringenininu a (2S)-naringenininu. V případě biosyntézy xanthohumolu je však isomerace aromatického jádra na flavanon blokována prenylací a O-methylací, jež je katalyzována O-methyltransferázou (EC 2.1.1.42). Prenylové řetězce jsou na jádro napojovány díky prenyltransferáze (EC 2.5.1.58). Prenylací cyklu dimethylallyldifosfátem vzniká desmethylxanthohumol, který je následně methylován na hydroxylové skupině za vzniku xanthohumolu (Stevens a Page, 2004).

3 ZDRAVOTNÍ ÚČINKY PRENYLFLAVONOIDŮ

V poslední době se prenylované flavonoidy dostaly do popředí zájmu, a to zejména díky jejich pozitivnímu dopadu na lidské zdraví. Prenylové flavonoidy potlačují riziko vzniku řady závažných nemocí či zlepšují léčbu a jejich biologická aktivita úzce souvisí s jejich chemickou strukturou (Karabin et al., 2015).

3.1 Antikarcinogenní účinky

Studie provedené v posledních letech prokázaly ve chmelu existenci látek s antikarcinogenním potenciálem, mezi něž se řadí zejména polyfenolové sloučeniny. Například xanthohumol je schopen inhibovat tvorbu prokarcinogenů a zároveň indukovat enzymy podílející se na likvidaci karcinogenů či dokonce zamezit růstu nádoru jak v jeho rané, tak i v pokročilé fázi bujení (Karabin et al., 2015). V pokročilém stádiu růstu nádoru jsou flavonoidy schopny potlačit tento proces tím, že inhibují syntézu DNA a angiogenezi, na druhé straně pak indukují apoptózu nádorových buněk (Gerhauser, 2005a; Ramos, 2008). Flavonoidy jsou obecně schopny inhibovat proliferaci nádorových buněk, zastavit nádorový růst a aktivně se podílet na inhibici karcinogeneze (Ramos, 2008).

U xanthohumolu a některých dalších prenylovaných flavonoidů, jako například isoxanthohumolu, byla prokázána schopnost inhibice enzymů cytochromu P450, které transformují exogenní a endogenní prokarcinogeny do jejich aktivních forem – karcinogenů (Hodek et al., 2002; Moon et al., 2006). Ve studii Hendersona et al. (2000) bylo prokázáno, že koncentrace 10 μM xanthohumolu v myším séru téměř úplně inhibuje aktivitu enzymů 1A1 a 1B1 cytochromu P450. Enzym 1A2 byl inhibován z 90 % i 8-prenylnaringeninem a isoxanthohumolem (Henderson et al., 2000). Ve studii s lidskými jaterními buňkami (HepG2) byly prokázány antimutagenní účinky xanthohumolu již při koncentraci 0,01 μM , inhiboval přeměnu na prokarcinogenní látku 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f]chinolinu (IQ) a *tert*-butyl hydroperoxidu (t-BOOH), které jsou aktivovány enzymy cytochromu P450 (Ferk et al., 2010; Plazar et al., 2007). Tyto a další výsledky dokládají, že prenylflavonoidy jsou účinné selektivní inhibitory enzymů cytochromu P450 (Moon et al., 2006).

Jednou z forem antikarcinogenních účinků prenylflavonoidů jsou jejich chemopreventivní vlastnosti, které pomáhají snižovat množství již vzniklých nádorů působením specifických enzymů. Jeden z těchto enzymů je NAD(P)H:chinonreduktasa, která katalyzuje redukci chinonu na hydrochinony, které jsou vhodnější pro následnou konjugaci, a tím dochází k snadnějšímu vyloučení těchto sloučenin z buněk. Bylo zjištěno, že xanthohumol a nejméně šest dalších prenylflavonoidů už v mikromolárních koncentracích několikanásobně zvýšily aktivitu chinon reduktasy v myších jaterních buňkách Hepa 1c1c7 (Miranda et al., 2000a). Koncentrace vyvolávající dvojnásobné zvýšení aktivity enzymu se pohybovala v rozmezí od 1,8 do 10,1 μM , přičemž účinnější v tomto směru byly prenylované chalkony. Flavonoidy bez prenylované nebo geranylované C-konce byly prakticky neúčinné (Miranda et al., 2000a).

Progresivní fáze karcinogeneze se vyznačují nekontrolovanou buněčnou proliferací, která je nezávislá na růstových faktorech, a takto nově vzniklé buňky odolávají apoptóze. Antikarcinogenní účinky prenylflavonoidů v progresivních fázích karcinogeneze jsou přičítány jejich schopnostem ovlivňovat syntézu DNA. *In vitro* testy potvrdily, že xanthohumol je schopný inhibovat lidskou DNA polymerázu, která je zodpovědná za iniciaci DNA syntézy. Tato schopnost byla prokázána i u isoxanthohumolu, ovšem v mnohem menší míře

biosynthesis of xanthohumol, however, prenylation and O-methylation steps inhibit the isomerisation of the aromatic ring, which is catalyzed by O-methyltransferase (EC 2.1.1.42). The prenylated chains are added to the ring by means of prenyltransferase (EC 2.5.1.58). By a prenylation of the ring by dimethylallyldiphosphate, desmethylxanthohumol results, which is subsequently methylated at the hydroxyl group to form xanthohumol (Stevens and Page, 2004).

3 HEALTH EFFECTS OF PRENYLATED FLAVONOIDS

Recently, the prenylated flavonoids became a matter of interest, particularly because of their positive impact on human health. They lower the risk of developing many severe diseases and improve the therapies. Their biochemical activities result from their chemical structure (Karabin et al., 2015).

3.1 Anticancer effects

The studies carried out on hops confirmed the presence of compounds (namely polyphenols) with anticancer properties. For instance, xanthohumol is able to inhibit the formation of pro-carcinogens and as well as induce enzymes, which can partake in the disposal of carcinogens or even stop the growth of tumours in their early as well as in advanced stages of the proliferation (Karabin et al., 2015). In the advanced stage of tumour growth, the flavonoids suppress the process by inhibiting the synthesis of DNA and angiogenesis and induce apoptosis (programmed cell death) of the tumour cells (Gerhauser, 2005a; Ramos, 2008).

Xanthohumol and some other prenylflavonoids such as isoxanthohumol are able to inhibit the cytochrome P450 enzymes that transform exogenous and endogenous pro-carcinogens to their active forms, carcinogens (Hodek et al., 2002; Moon et al., 2006). The study by Henderson et al. (2000) proved that a concentration of 10 μM of xanthohumol in a mouse serum inhibits any activities of 1A1 and 1B1 cytochrome P450 enzymes almost totally. The inhibition of 1A2 enzyme by 8-prenylnaringenin and isoxanthohumol was up to 90% (Henderson et al., 2000).

The study on human liver cells (HepG2) showed the antimutagenic effects of xanthohumol, which inhibited the transformation into pro-carcinogenic substances 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f]chinolin (IQ) and *tert*-butyl hydroperoxide (t-BOOH) already at the concentration of 0.01 μM . These pro-carcinogens are activated by human cytochrome P450 enzymes (Ferk et al., 2010; Plazar et al., 2007). These and further results demonstrated that prenylflavonoids act as powerful selective inhibitors of cytochrome P450 enzymes (Moon et al., 2006).

Other anticancer effects of prenylflavonoids are their chemopreventive properties. They help to lower the amount of already existing tumours due to specific enzymes. One of these enzymes is NAD(P)H quinone reductase, which catalyzes the reduction of quinone to hydroquinones. These are more suitable for a following conjugation and thereby for an easier exclusion of these compounds from the cells. Miranda et al. (2000a) found that xanthohumol and at least six other prenylflavonoids enhance the activity of quinone reductase Hepa 1c1c7 in liver cells of mice several fold, even at micro molar concentrations. Concentrations from 1.8 to 10.1 μM doubled the activity, whereas the prenylated chalcones were more effective. Flavonoids without the prenylated or geranylated C end were virtually ineffective (Miranda et al., 2000a).

An uncontrolled cell proliferation independent on growth factors is typical for a progressive carcinogenesis. The cells developed in this way are immune to apoptosis. In a progressive stage of carcinogenesis, the anticancer effects of prenylflavonoids result from their ability to influence the DNA synthesis. The *in vitro* tests confirmed the ability of xanthohumol to inhibit human DNA polymerase responsible for the initiation of DNA synthesis. This ability was proven also for isoxanthohumol, however, in far lesser extent (Gerhauser et al., 2002). Due to the modulation of a number of key elements such as caspases, BCL2 genes and tumour necrosis factor alpha (TNF- α), which partake in cell signal transductions involved in apoptosis (Deeb et al., 2010; Ramos, 2007), the prenylflavonoids also influence the activation of apoptotic processes of tumour cells (Araujo et al., 2011). Therefore, the most important hop flavonoid, xanthohumol, is able to inhibit *in vitro* and *in vivo* the growth of cancer cells or induce their apoptosis. The tests showed a reduction in the proliferation of leukemic cell lines (Benelli et al., 2012) as well as a reduction of proliferation in ovarian tumour (Drenzek et al., 2011), in mammary tumours

(Gerhauser et al., 2002). Prenylflavonoidy mají také vliv na aktivaci apoptotických (apoptóza – programovaná buněčná smrt) procesů nádorových buněk (Araujo et al., 2011) díky modulaci řady klíčových prvků podílejících se na buněčném přenosu signálů spojených s apoptózou (např.: kaspázy, Bcl-2 geny, faktor nádorové nekrózy alfa TN α) (Deeb et al., 2010; Ramos, 2007). Hlavní prenylflavonoid chmele xanthohumol tak může *in vitro* a *in vivo* inhibovat růst, nebo indukovat apoptózu různých rakovinných buněk. Pokusně již bylo prokázáno snížení proliferace buněčných linií leukemie (Benelli et al., 2012), nádoru vaječníků (Drenzek et al., 2011), prsu (Monteiro et al., 2008), tlustého střeva (Pan et al., 2005), prostaty (Deeb et al., 2010; Delmulle et al., 2006) a jater (Dorn et al., 2010).

3.2 Protizánětlivé účinky

Odhaduje se, že přibližně 18% všech případů rakoviny je spojeno s chronickými záněty (Gerhauser, 2009) obvykle způsobenými nadměrnou produkcí tkáňových aktivátorů zánětu, zejména prostaglandinů a oxidu dusnatého. Bylo prokázáno, že prenylflavonoidy inhibují klíčové enzymy účastnící se jejich biosyntézy (Gerhauser et al., 2002). Meziproduktem biosyntézy prostaglandinů je arachidonová kyselina, a proto i regulace její tvorby může mít významný vliv na vznik a rozvoj zánětu (Ferrandiz a Alcaraz, 1991). Většina prenylflavonoidů jsou účinnými inhibitory přeměny arachidonové kyseliny na prostaglandiny prostřednictvím inhibice genové exprese enzymu cyklooxygenasy-1 (COX-1), a cyklooxygenasy-2 (COX-2) (Gerhauser, 2005a). Na druhé straně isoxanthohumol za stejných podmínek tuto schopnost nevykazuje (Gerhauser et al., 2002) a 8-prenylaringenin inhiboval pouze COX-2, čímž zmírňoval zánět v myších makrofáziích (RAW 264,7) *in vitro* (Paoletti et al., 2009).

Jaderný transkripční faktor (NF- κ B) ovlivňuje regulaci exprese genů kódujících proteiny, které se podílejí na potlačení zánětu. Právě NF- κ B podporuje transkripci genů cyklooxygenasových enzymů, zejména indukovatelné formy COX-2 (Araujo et al., 2011; Ramos, 2008). *In vitro* bylo zjištěno, že xanthohumol a jiné prenylflavonoidy, například 8-prenylaringenin, silně inhibují aktivitu NF- κ B. Colgate a kol. (2007) zkoumali vliv xanthohumolu na inhibici NF- κ B v buněčných liniích BPH-1 (benigní hyperplazie prostaty), přičemž bylo prokázáno, že xanthohumol při koncentraci 20 μ M způsobil pokles aktivity NF- κ B o 42% (Colgate et al., 2007; Dorn et al., 2010; Paoletti et al., 2009).

V několika studiích bylo prokázáno, že prenylflavonoidy (xanthohumol a isoxanthohumol) mohou inhibovat tvorbu oxidu dusnatého a to přímou inhibicí syntázy oxidu dusnatého (iNOS) (Gerhauser, 2009). Na druhé straně bylo zjištěno, že 8-prenylaringenin indukuje genovou expresi iNOS, a tím i produkci oxidu dusnatého značně zvyšuje (Paoletti et al., 2009). Flavonoidy s větším počtem hydroxylových skupin jsou pouze slabě aktivní, ale metylace nebo acetylace hydroxylové skupiny jejich aktivitu zvyšuje (Mladenka et al., 2010).

3.3 Antioxidační účinky

Během normálního aerobního metabolismu běžně vznikají reaktivní formy kyslíku (ROS – Reactive Oxygen Species), jako jsou hydroxylové, superoxidové, hydroperoxidové radikály, ale i singletový kyslík nebo peroxidové anionty, způsobující oxidativní poškození DNA, proteinů a lipidů v buňkách (Cooke et al., 2003; Pietta, 2000; Ross a Kasum, 2002; Salvi et al., 2001). Prenylflavonoidy, které jsou účinnými antioxidanty, mohou tomuto poškození účinně bránit. Mechanismy účinku prenylflavonoidů lze rozdělit do tří hlavních skupin (Mladenka et al., 2010; Pietta, 2000).

- Pohlcování volných reaktivních forem kyslíkových radikálů
- Inhibice oxidačně-redukčních enzymů (schopnost inhibovat aktivitu lipoxygenas, xanthinoxidas a NADPH oxidasy)
- Chelatace dvojmocných kationtů kovů (dvojmocné kationty indukují enzymy, které se podílejí na tvorbě ROS).

Antioxidační aktivita flavonoidů je určována jejich chemickou strukturou, zejména hydroxylací aromatických kruhů. Bylo prokázáno, že rozhodující roli hrají hydroxylové skupiny na „C3“ a „C4“ pozicích na flavanovém skeletu (Lien et al., 1999). Nejvyšší antioxidační kapacitu vykazují xanthohumol a desmethylxanthohumol, zejména xanthohumol dosahoval v testech antioxidační kapacity (ORAC – Oxygen Radical Absorbance Capacity; SOAC – Singlet Oxygen Radical Absorbance Capacity; FRAP – Ferric Reducing Antioxidant Potential; SOD – Superoxide Dismutase Assay) nejvyšších hodnot (Bartmanska et al., 2013). Bylo experimentálně potvrzeno, že xanthohumol již při koncentraci 1 μ M je významně účinnější v absorpci hydroxylových (8,9 – násobně) a peroxylových (2,9 – násobně) ra-

(Monteiro et al., 2008), in colon cancer (Pan et al., 2005), in prostate tumour (Deeb et al., 2010; Delmulle et al., 2006) and in liver tumours (Dorn et al., 2010).

3.2 Anti-inflammatory effects

An estimated 18% of all cancer diseases involve chronic inflammation (Gerhauser, 2009) caused by excessive production of tissue activators, particularly of prostaglandins and nitric oxide. It was demonstrated that prenylflavonoids inhibit the key enzymes necessary for their biosynthesis (Gerhauser et al., 2002). The intermediate product of the prostaglandin biosynthesis is arachidonic acid. Therefore, the regulation of its production could have an impact on the development and progress of an inflammation (Ferrandiz and Alcaraz, 1991). Most flavonoids are effective inhibitors of the transformation of arachidonic acid to prostaglandins due to inhibition of the gene expression of cyclooxygenase-1 (COX-1) and cyclooxygenase-2 (COX-2) enzymes (Gerhauser, 2005a). On the other hand, isoxanthohumol did not show the same potential under the same conditions (Gerhauser et al., 2002). 8-prenylaringenin only inhibited COX-2 enzyme causing an *in vitro* moderation of inflammation in murine macrophages (RAW 264.7) (Paoletti et al., 2009).

A protein complex that controls the transcription of DNA – the nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells (NF- κ B) plays a key role in regulating the expression of protein-encoding genes involved in the inhibition of inflammation. The NF- κ B supports the gene transcription of cyclooxygenase enzymes, particularly those of an inducible form of COX-2 enzyme (Araujo et al., 2011; Ramos, 2008). The *in vitro* tests demonstrated that xanthohumol and other prenylflavonoids (e. g. 8-prenylaringenin) strongly reduces the activity of NF- κ B. Colgate et al. examined the influence of xanthohumol on the inhibition of NF- κ B in cell lines BPH-1 (benign prostatic hyperplasia). It was proven that xanthohumol in a concentration of 20 μ M decreased the activity of NF- κ B by 42% (Colgate et al., 2007; Dorn et al., 2010; Paoletti et al., 2009).

Several other studies confirmed that the prenylflavonoids (xanthohumol and isoxanthohumol) could prevent the formation of nitric oxide by a direct inhibition of nitric oxide synthase (iNOS) (Gerhauser, 2009). On the other hand, it was presented that 8-prenylaringenin induces a gene expression of iNOS and thereby enhancing considerably its production (Paoletti et al., 2009). Flavonoids with a higher number of hydroxyl groups are only mildly active, however, methylation or acetylation of their hydroxyl group increases their activity (Mladenka et al., 2010).

3.3 Antioxidation effects

The reactive forms of oxygen – Reactive Oxygen Species (ROS) such as hydroxyl, superoxide and hydroperoxyl radicals, and singlet oxygen and peroxide anions develop routinely in the course of regular aerobic metabolism. They trigger oxidative cell damage to DNA, proteins and lipids (Cooke et al., 2003; Pietta, 2000; Ross and Kasum, 2002; Salvi et al., 2001). Prenylflavonoids as powerful antioxidants could effectively prevent this damage. The mechanism of the antioxidant activity of prenylflavonoids can be divided into three main groups (Mladenka et al., 2010; Pietta, 2000).

- Absorbance of free reactive forms of oxygen radicals
- Inhibition of oxidation-reduction enzymes (ability to inhibit the activity of lipoxygenase, xanthinoxidase and NADPH-oxidase)
- Chelation of divalent metal cations (divalent cations induce enzymes involved in the formation of ROS).

The antioxidative activity of flavonoids is determined by their chemical structure, particularly by hydroxylation of the aromatic rings. It was proven that the hydroxyl groups in the C3 and C4 positions on the flavan skeleton are critical (Lien et al., 1999). The xanthohumol and desmethylxanthohumol have the highest antioxidative capacity. In particular, xanthohumol showed the best values in antioxidative capacity tests ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), SOAC (Singlet Oxygen Absorbance Capacity), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential) and SOD (Superoxide Dismutase Assay) (Bartmanska et al., 2013). The experiments confirmed that xanthohumol is considerably more effective in absorbance of hydroxyl radicals (8.9 folds) and peroxide radicals (2.9 folds) than the reference antioxidant E - TROLOX (a vitamin E derivative), even at a concentration of 1 μ M. Xanthohumol is also capable of absorbing superoxide radicals (Gerhauser et al., 2002). A number of enzymes, particularly NADPH oxidase, xanthinoxidase and lipoxygenase are involved in the production of ROS (Mladenka et al., 2010). The prenylflavonoids, espe-

dikálů než referenční antioxidant (derivát vitamínu E – TROLOX). Společně s tím byla prokázána schopnost xanthohumolu absorbovat superoxidové radikály (Gerhauser et al., 2002). Na produkci ROS se podílí celá řada enzymů, zvláště pak NADPH oxidasa, xanthinoxidasa a lipoxigenasy (Mladenka et al., 2010) a pro prenylflavonoidy byla prokázána schopnost tyto enzymy inhibovat, přičemž účinnější jsou prenylflavonoidy nasycené (Steffen et al., 2008).

Bivalentní kationty (např. Cu^{2+}) indukují přeměnu polynenasycených mastných kyselin v lipoproteinech na konjugované dieny a hydroperoxydy (Miranda et al., 2000b). Přeměna polynenasycených mastných kyselin je podmíněna přítomností lipoxigenas, enzymů zodpovědných za dioxygenaci lipidů a flavonoidy inhibují lipoxigenasy prostřednictvím redukce železa nebo jeho chelataci (Mladenka et al., 2010). Aktivita je silně závislá na hodnotě pH (Mladenka et al., 2010). Kromě toho xanthohumol a v menší míře i isoxanthohumol a 8-prenylnaringenin, snižují míru peroxidace lipidů definovanou číslem kyseliny thiobarbiturové (TBARS-test) a stejně tak inhibují oxidační tryptofanových aminokyselin (Miranda et al., 2000b).

3.4 Estrogenní a antiosteoporotické účinky

Strukturální podobnost prenylflavonoidů a estrogenů poskytuje prenylflavonoidům schopnost působit jako jejich agonisté nebo antagonisté (Chadwick et al., 2006). Jedním z neúčinnějších doposud identifikovaných fytoestrogenů je 8-prenylnaringenin, jemuž byla ve studiích *in vitro* prokázána schopnost napodobovat jeden z hlavních ženských hormonů 17- β -estradiol (Chadwick et al., 2006). Minimální koncentrace potřebná k dosažení 50% maxima estrogenního účinku (EC_{50}) byla pro 8-prenylnaringenin 4,4 μM , zatím co pro 17- β -estradiol byla hodnota EC_{50} stanovena na 0,82 μM (Milligan et al., 2002).

Estrogenní vlastnosti flavonoidů mají dvojí vysvětlení. Prvním z nich je schopnost specificky se vázat na estrogenní receptory, které existují ve dvou podtypech ER_α a ER_β (Milligan et al., 2002). 8-Prenylnaringenin vykazuje přibližně dvakrát větší schopnost vazby na ER_α než na ER_β , celkově je ovšem 8-prenylnaringenin asi 70krát méně účinný než 17- β -estradiol (Schaefer et al., 2003). I tak je však 8-prenylnaringenin nejsilnějším doposud známým fytoestrogenem. Naproti tomu xanthohumol nevykazoval afinitu ani k jednomu z receptorů ER (Milligan et al., 2002).

Druhým vysvětlením estrogenních účinků je schopnost flavonoidů působit jako efekty některých enzymů. Flavonoidy mohou inhibovat aktivitu aromatas, enzymů, které regulují hladinu estradiolu a dalších estrogenů v krvi, prostřednictvím jejich tvorby z androgenů na estrogeny (Monteiro et al., 2007). Monteiro a kol. (2007) prokázali, že všechny jimi testované prenylflavonoidy (8-prenylnaringenin, xanthohumol a isoxanthohumol) inhibují aktivitu aromatasy, inhibiční koncentrace (IC_{50}) byly pro látky v daném pořadí zjištěny na úrovni 0,08 μM ; 3,2 μM a 25,4 μM . Inhibice aromatas může mít pozitivní efekt vzhledem k rozvoji rakoviny prsu, jehož počátek je spojován s abnormálně vysokými hladinami aromatas v tkáni (Monteiro et al., 2007; van Duursen et al., 2013). Kromě toho 8-prenylnaringenin stimuluje tvorbu alkalické fosfatasy v buňkách endometriálního karcinomu, což vede k potlačení nežádoucí buněčné proliferace (Effenberger a Westendorf, 2009).

Další významnou schopností prenylflavonoidů snižovat dopady onemocnění osteoporózy, které je spojováno s progresivním poklesem hustoty kostní hmoty, přičemž hlavní příčinou tohoto onemocnění je nerovnováha mezi tvorbou kostních buněk a jejich resorpcí, ohroženy jsou především ženy po menopauze (Ming et al., 2012). Předpokládá se, že příjem flavonoidů s estrogenním potenciálem pozitivně působí při prevenci osteoporózy a ochraně zdravého stavu kostí, ale i při post-menopauzálním úbytku kostní hmoty. Mechanismus působení prenylflavonoidů stále ještě není zcela znám. Předpokládá se, že prenylflavonoidy mohou ovlivňovat genovou expresi kostních buněk – zvyšovat expresi osteoblastů (buňky zodpovědné za tvorbu kostí) a potlačovat expresi osteoklastů (kostní buňky účastníci se resorpce kostní tkáně). Bylo prokázáno, že 8-prenylnaringenin již v koncentraci 1 μM výrazně zvyšuje diferenciaci osteoblastů, a tím i mineralizaci dřenej potkaních kostních buněk *in vitro* (Ming et al., 2012). Jeong a kol. (2011) zkoumali schopnost xanthohumolu zvyšovat expresi a transkripci hlavního genu (RUNX2) osteoblastické diferenciaci (Jeong et al., 2011). Suh a kol. (2013) prokázali schopnost xanthohumolu k potlačení aktivátoru NF- κB , který mimo jiné také hraje hlavní roli v osteoklastogenezi (Suh et al., 2013). Humpel a kol. (2005) testovali *in vivo* vliv 8-prenylnaringenu na schopnost bránit ztrátě hustoty kostní hmoty po odebrání vaječníků krysím samicím a ukazuje se, že 8-prenylnaringenin působí proti ztrátě kostní hmoty, pomáhá proti úbytku hmotnosti tkáně vagíny a působí proti nežádoucím změnám vaginální sliznice (Humpel et al., 2005).

cially the saturated ones, are able to inhibit these enzymes (Steffen et al., 2008).

Divalent cations, such as Cu^{2+} induce the conversion of polyunsaturated fatty acids to conjugated dienes and hydroperoxides (Miranda et al., 2000b). The transformation of polyunsaturated fatty acids is only possible in the presence of lipoxigenases, which are responsible for the dioxygenation of lipids. Flavonoids inhibit lipoxigenases due to reduction of iron or due to its chelation (Mladenka et al., 2010). The activity strongly depends on the pH value (Mladenka et al., 2010). Furthermore, the xanthohumol and in lesser extent isoxanthohumol and 8-prenylnaringenin reduce the peroxidation of lipids defined by number thiobarbituric acid (TBARS-Assay). They also inhibit the oxidation of tryptophan amino acids (Miranda et al., 2000b).

3.4 Oestrogenic and antiosteoporotic effects

Prenylflavonoids and oestrogens have similar molecular structures. Therefore, they have a potential to act as agonists or antagonists (Chadwick et al., 2006). One of the currently most efficient identified phytoestrogens is 8-prenylnaringenin. It is able to substitute in *in situ* studies one of the most important female hormones – 17- β -estradiol (Chadwick et al., 2006). The lowest concentration needed to achieve the half-maximal oestrogenic effect – the EC_{50} value – was 4.4 μM for 8-prenylnaringenin, whereas the EC_{50} value for 17- β -estradiol was found to be 0.82 μM (Milligan et al., 2002).

There are two possible explanations for the oestrogenic properties of flavonoids. Firstly, they are able to bind specifically to oestrogen receptors ER_α and ER_β (Milligan et al., 2002). 8-prenylnaringenin has about twice as strong affinity to ER_α as to ER_β . However, totally is 8-prenylnaringenin about 70-times less effective than 17- β -estradiol (Schaefer et al., 2003). Even so, 8-prenylnaringenin is the most efficient of currently known phytoestrogens. The xanthohumol did not demonstrate any affinity either to ER_α or to ER_β (Milligan et al., 2002). Secondly, the flavonoids are able to act as effectors of particular enzymes. Flavonoids can inhibit the activity of aromatase – the enzyme regulating the level of estradiols and other oestrogens in the blood by means of their formation from androgens (Monteiro et al., 2007). Monteiro et al. (2007) demonstrated that all tested prenylflavonoids (8-prenylnaringenin, xanthohumol and isoxanthohumol) inhibit the activity of aromatase. The half-maximal inhibitory concentrations (IC_{50}) were as follow: $\text{IC}_{50} = 0.08 \mu\text{M}$ for 8-prenylnaringenin, $\text{IC}_{50} = 3.2 \mu\text{M}$ for xanthohumol and $\text{IC}_{50} = 25.4 \mu\text{M}$ for isoxanthohumol. The inhibition of aromatase could have a positive effect in breast cancer progression as the promotion of breast cancer is usually coupled with an extraordinary high level of aromatase in the tissue (Monteiro et al., 2007; van Duursen et al., 2013). Furthermore, the 8-prenylnaringenin stimulates the production of alkaline phosphatase in cells of endometrial carcinoma, which leads to the suppression of cell proliferation (Effenberger and Westendorf, 2009).

The other important ability of prenylflavonoids is to diminish the impact of osteoporosis – the progressive reduction of bone mass density. The main reason for osteoporosis is the imbalance between the production and resorption in bone tissue. Women after menopause are at the highest risk (Ming et al., 2012). Presumably, the intake of flavonoids with oestrogen potential acts not only as a prevention of osteoporosis and protection of healthy bones but also during a postmenopausal decrease in bone mass density. The function of flavonoids is not fully understood yet. Apparently, prenylflavonoids could influence a gene expression of bone cells. That means, they increase the expression of osteoblasts, which are responsible for the process of bone formation and suppress the expression of osteoclasts, which are responsible for the process of bone resorption. It was shown that 8-prenylnaringenin increases significantly the differentiation of osteoblasts already at a concentration of 1 μM and thereby the *in vitro* mineralisation of bone tissue in rats (Ming et al., 2012). Jeong et al. (2011) examined the ability of xanthohumol to enhance the expression and transcription of the main gene RUNX2, in the differentiation of osteoblasts (Jeong et al., 2011). Suh et al. (2013) demonstrated the ability of xanthohumol to inhibit the activator NF- κB , which plays among other things a main role in the genesis of osteoclasts (Suh et al., 2013). Humpel et al. (2005) tested the *in vivo* potential of 8-prenylnaringenin to prevent the loss of bone tissue density in female rats after removal of the ovaries. It seems that 8-prenylnaringenin successfully prevents the loss of bone tissue, defeats the decrease of vaginal tissue density and works against unwanted changes in the vaginal mucous membrane (Humpel et al., 2005).

3.5 Antimikrobiální a antivirové účinky

Flavonoidy mají širokou antimikrobiální aktivitu, byl potvrzen antibiologický účinek xanthohumolu proti mnoha bakteriím, virům, plísním a prvokům (Gerhauser, 2005b). Bylo zjištěno, že xanthohumol inhibuje růst grampozitivních bakterií *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus mutans*. *Staphylococcus aureus* je zodpovědný za vznik kožních zánětů a je schopen vyvolávat sepsi, dále může způsobit syndrom toxického šoku a zapříčinit vznik nekrotizující pneumonie (Gerhauser, 2005b). Bakterie *Streptococcus mutans* je mimo jiné součástí plaku na povrchu zubu a hraje významnou roli při vzniku a rozvoji zubního kazu (Gerhauser, 2005b). V rámci další studie bylo prokázáno, že xanthohumol vykazuje antibiologický vliv proti některým gramnegativním bakteriím v kombinaci s antibiotiky polymyxinem, ciprofloxacinem a tobramycinem (Natarajan et al., 2008).

Prenylflavonoidy účinně potlačují také replikaci houby rodu *Trichophyton* spp., způsobující plísňové onemocnění kůže. Nejsilnější antifungální účinky byly zjištěny u xanthohumolu a 6-prenylnaringenin (Gerhauser, 2005b). Xanthohumol kromě toho inhiboval replikaci prvoka *Plasmodium falciparum*, který zapříčiňuje vznik malarického onemocnění (Gerhauser, 2005b).

Antivirové účinky prenylflavonoidů byly objeveny v roce 1940 (Buckwold et al., 2004; Selway, 1986). Antivirová aktivita xanthohumolu v kombinaci s interferonem α -2b byla prokázána proti viru infekčního průjemového onemocnění skotu (Bovine Virus Diarrhoea – BVD E2), které vykazuje značnou podobnost s virem lidské hepatitidy C, dále pak proti virům pásového oparu (Herpes Simplex Virus – HSV 1 a HSV 2), cytomegaloviru (CMV) a rhinoviru (RHINO), (Buckwold et al., 2004; Zhang et al., 2010). U virů BVDV E2, HSV1 a HSV2 byly hodnoty antivirové aktivity xanthohumolu vyšší než u isoxanthohumolu, u virů RHINO a CMV tomu bylo naopak (Buckwold et al., 2004).

Také výzkum a vývoj použitelnosti prenylflavonoidů jako antivirotik při boji s HIV (Human Immunodeficiency Virus) zaznamenal velký posun. Wang a kol. (2004) úspěšně zkoumali aktivitu xanthohumolu na schopnost potlačit reverzní transkriptázu viru HIV-1, a tím potlačovat jeho replikaci *in vitro* (Wang et al., 2004).

3.6 Účinky související s civilizačními chorobami

Civilizační choroby, jako důsledek moderního životního stylu, dnes běžně postihují značnou část populace, zejména ve vyspělých zemích. Studie zaměřená na populační choroby dokládá, že flavonoidy snižují pravděpodobnost vzniku kardiovaskulárních nemocí (Hertog et al., 1993) a epidemiologická studie, v rámci které byl testován vliv flavonoidů *in vitro* na zvířatech, prokázala, že tyto látky mají příznivý vliv na potlačení projevů aterosklerózy, zejména pak na oxidaci lipoproteinů, agregaci krevních destiček a na vaskulární reaktivitu (Mladenka et al., 2010). Kardioprotektivní účinek flavonoidů lze přičíst jejich antioxidantní, antitrombotickým, protizánětlivým a hypolipidemickým vlastnostem a vyšší příjem flavonoidů představuje klíčovou roli při snížení rizika vzniku kardiovaskulárních chorob (Velayutham et al., 2008).

Antidiabetická aktivita prenylflavonoidů je zapříčiněna inhibicí aktivity α -glukosidasy (Liu et al., 2014), enzymu který řídí postprandiální (objevující se po jídle) hladinu glukosy v krvi, čímž brání nadměrné absorpci glukosy v tenkém střevu, a tím zmírňuje hyperglykemii. Prenylflavonoidy tak mají potenciál při léčbě *diabetes mellitus* 2. typu (Havsteen, 2002). Liu a kol. (2014) zkoumali mechanismy inhibičních účinků xanthohumolu na α -glukosidasu a předpokládá se, že mechanismus inhibice se skládá z vazby xanthohumolu na enzym a indukci změny v jeho konformaci, navíc navázání xanthohumolu na enzym výrazně snižuje jeho hydrofobicitu (Liu et al., 2014). Rozvoj diabetu 2. typu je spojen také s dalším enzymem (aldolasová reduktasa), který snižuje hladinu D-glukosy přeměnou na D-sorbitol. Aldolasová reduktasa je klíčovým enzymem v metabolické dráze polyolů (sorbitol-aldolasové reduktasy) a hraje důležitou roli v rozvoji degenerativní komplikace při diabetu, zejména v poškození cév na sítnici, ledvin a nervů a již byla prokázána schopnost prenylflavonoidů na indukci aktivity tohoto enzymu (Liu et al., 2014).

Legette a kol. (2013) zkoumali účinek perorálního podávání xanthohumolu na biomarkery metabolického syndromu, což je soubor rizikových faktorů spojovaných s obezitou, včetně aterogenní dyslipidémie, inzulínové rezistence, poruchy glukosové tolerance, hypertenze, pro-zánětlivých a pro-trombotických stavů u obezích samců potkanů. Bylo prokázáno, že podávání xanthohumolu v koncentraci 16,9 μ M/kg tělesné hmotnosti mělo pozitivní vliv na metabolismus glukosy a potlačení většiny negativních projevů spojených s obezitou (Legette et al., 2014; Legette et al., 2013).

3.5 Antimicrobial and antiviral effects

Flavonoids have a wide antimicrobial activity. Gerhauser (2005b) confirmed the antibiotic effect of xanthohumol against many bacteria, viruses, moulds and protozoa (Gerhauser, 2005b). Further, it was found that xanthohumol inhibits the growth of Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans*. *Staphylococcus aureus* can inflict skin inflammation, is able to evoke a sepsis and can cause toxic trauma syndrome and necrotizing pneumonia (Gerhauser, 2005b). *Streptococcus mutans* is a component of dental plaque and plays an important role in the creation and development of caries (Gerhauser, 2005b). Another study confirmed that xanthohumol is effective against some Gram-negative bacteria in combination with antibiotics such as polymyxine, ciprofloxacin and tobramycin (Natarajan et al., 2008).

Prenylflavonoids inhibit successfully the replication of the fungus *Trichophyton* spp., which cause skin mycoses. Xanthohumol and 6-prenylnaringenin have the most effective antifungal impact (Gerhauser, 2005b). Xanthohumol also inhibited a replication of the protozoa *Plasmodium falciparum*, which causes malaria (Gerhauser, 2005b).

The antiviral effects of prenylflavonoids were discovered in 1940 (Buckwold et al., 2004; Selway, 1986). The antiviral activity of xanthohumol in conjunction with interferon α -2b against the Bovine Virus Diarrhoea (BVD E2), which causes infectious diarrhoea in cattle, was demonstrated. This virus has a considerable similarity to a virus of human hepatitis. Additionally, xanthohumol works against the shingles virus (Herpes Simplex Virus – HSV 1 and HSV 2), cytomegalovirus (CMV) and rhinovirus (RHINO) (Buckwold et al., 2004; Zhang et al., 2010). The antiviral activity values for BVDV E2, HSV1 and HSV2 viruses were higher for xanthohumol than for isoxanthohumol; for RHINO and CMV viruses the succession was reversed (Buckwold et al., 2004).

The use of prenylflavonoids as an antiviral drug in the fight against HIV (Human Immunodeficiency Virus) has also made huge progress. Wang et al. (2004) tested successfully the *in vitro* ability to suppress the reverse transcriptase of HIV-1 virus. This holds back its replication (Wang et al., 2004).

3.6 Effects related to civilization diseases

Civilization diseases are the consequences of a modern life style. Currently, they affect a large part of the population, particularly in developed countries. The study dealing with lifestyle diseases shows that flavonoids reduce the incidence of cardio-vascular diseases (Hertog et al., 1993). The *in vitro* effects of flavonoids in the epidemiologic study on animals demonstrated their favourable influence on reducing the symptoms of atherosclerosis. Furthermore, they reduce the oxidation of lipoproteins, the aggregation of thrombocytes and the vascular reactivity (Mladenka et al., 2010). The cardio-protective effects of flavonoids can be attributed to their antioxidant, anti-thrombotic, anti-inflammatory and hypolipidemic properties. Therefore, a higher intake of flavonoids could play a key role in reducing the risk of cardio-vascular diseases (Velayutham et al., 2008).

Prenylflavonoids also have a potential to mend the Type 2 *Diabetes mellitus* (Havsteen, 2002). The anti-diabetic activity of prenylflavonoids is based on the inhibition of α -glucosidase activity (Liu et al., 2014). This enzyme controls the postprandial glucose level in blood and restrains an excess of glucose absorption in the small intestine, which results in a reduction of hyperglycemia. Liu et al. (2014) examined the pathway of inhibitory effects of xanthohumol on α -glucosidase. Presumably, the xanthohumol binds to the enzyme and induce a change in its conformation. The bonding of xanthohumol on α -glucosidase also reduces significantly its hydrophobicity (Liu et al., 2014). In addition, the progress of Type 2 diabetes depends on the aldose-reductase enzyme, which decreases the level of D-glucose by its transformation to D-sorbitol. Aldose-reductase is a key enzyme in the metabolic pathway of polyols (the sorbitol-aldolase-reductase pathway). It plays an important role in degenerative complications in diabetes, such as damage of the retinal blood vessels, the kidneys and the nervous system. Prenylflavonoids are capable of inducing the activity of the aldose-reductase enzyme (Liu et al., 2014).

Legette et al. (2013) studied the effect of a peroral administration of xanthohumol on a biomarker of metabolic syndrome (a summary of risk factors linked to obesity including an atherogenic dyslipidemia, an insulin resistance, a malfunction of glucose tolerance, hypertension, pro-inflammatory and pro-thrombotic conditions) in obese rats. It was proven that an intake of xanthohumol at a concentration of 16.9 μ M/kg body weight influences positively the glucose metabolism and suppresses most of the negative manifestations of obesity (Legette et al., 2014; Legette et al., 2013).

3.7 Ostatní prokázané pozitivní účinky

Kromě popsaných biologických aktivit, vykazují prenylflavonoidy další pozitivní zdravotní účinky, například antiaterogenní (Makino et al., 2013), antikoagulační a antiagregační (Guerrero et al., 2005), ovlivňují anticholinesterasovou aktivitu, čehož se využívá při terapeutické léčbě Alzheimerovy choroby (Ding et al., 2013) a byly jim již prokázány i další neuroprotektivní aktivity *in vitro* (Oberbauer et al., 2013). Kromě toho pak prenylflavonoidy ovlivňují jaterní expresi genů, které řídí tvorbu, metabolismus a distribuci hormonů štítné žlázy (Radovic et al., 2010), dále pak působí proti svalové atrofii (Mukai et al., 2012).

Některé prenylflavonoidy (xanthohumol, isoxanthohumol a 8-prenylnaringenin) mají také potenciál pro použití při léčbě kožních chorob, včetně atopického ekzému, kontaktní dermatitidy, nebo při pigmentových poruchách (Chen et al., 2014).

3.8 Toxicita

Kromě pozitivních účinků chmelových prenylflavonoidů je pro jejich využití v humánní medicíně nezbytné věnovat pozornost i potenciální toxicitě. Xanthohumol je velmi zajímavá látka s protinádorovými účinky, proto je velmi důležité, aby vedle těchto účinků, měl i velmi nízkou toxicitu vůči normálním buňkám (Dorn et al., 2010; Hudcova et al., 2014). *In vitro* bylo zjištěno, že koncentrace do 100 μM nemají žádné negativní účinky na zdravé lidské hepatocyty a inhibiční koncentrace (IC_{50}) růstu nádorových buněk je o 1 až 2 řády nižší než u normálních zdravých buněk (Dorn et al., 2010). Hussong a kol. 2008 sledovali vliv přídatku xanthohumolu (0,5%) do stravy na plodnost potkanů po dobu 28 dní, pomocí žaludeční sondy. Bylo zjištěno, že dávka 100 mg/kg neměla žádné negativní účinky, ovšem již při koncentraci 1000 mg/kg se projevil slabé hepatotoxické účinky a mírné ovlivnění vývoje prsních žláz samic (Hussong et al., 2005).

V poslední době byl kladen důraz na studium toxicity 8-prenylnaringeninu, který je již součástí potravinových doplňků dostupných na trhu. V nedávné době byly provedeny klinické studie u žen po menopauze s cílem vyhodnotit bezpečnost chmelového extraktu obohaceného o xanthohumol a 8-prenylnaringenin (van Breemen et al., 2014). Výsledky testů toxicity byly velmi slibné, jelikož nebyla zjištěna žádná akutní toxicita a ani žádné negativní účinky na tvorbu pohlavních hormonů nebo na srážlivost krve (van Breemen et al., 2014). Milligan a kol. (2002) uvádějí negativní dopady 8-prenylnaringeninu *in vivo* na funkci dělohy a ovlivnění vývoje vaginální mitózy u myši při dávce 15,9 mg/kg, která ovšem výrazně překračuje běžné dávky při aplikaci potravinových doplňků, kde se dávka pohybuje okolo 100 $\mu\text{g/g}$ jedné pilulky podané jednou denně (Milligan et al., 2002). Bez ohledu na počet studií *in vitro* (Effenberger a Westendorf, 2009; Tokalov et al., 2004), *in vivo* a již provedených klinických studií (van Breemen et al., 2014), jsou tedy zapotřebí další epidemiologické a klinické studie 8-prenylnaringeninu pro zjištění všech zdravotních účinků a zejména toxicity, která prozatím není plně objasněna.

PODĚKOVÁNÍ

Tato studie vznikla za podpory Technologické agentury České republiky v rámci projektu TE02000177 „Centrum pro inovativní využití a posílení konkurenceschopnosti českých pivovarských surovin a výrobků“.

LITERATURA / REFERENCES

- Araujo, J. R., Goncalves, P., Martel, F., 2011: Chemopreventive effect of dietary polyphenols in colorectal cancer cell lines. *Nutrition Research*, 31(2): 77–87.
- Bartmanska, A., Tronina, T., Poplonski, J., Huszcza, E., 2013: Bio-transformations of prenylated hop flavonoids for drug discovery and production. *Current Drug Metabolism*, 14(10): 1083–1097.
- Benelli, R., Vene, R., Ciarlo, M., Carlone, S., Barbieri, O., Ferrari, N., 2012: The AKT/NF-kappa B inhibitor xanthohumol is a potent anti-lymphocytic leukemia drug overcoming chemoresistance and cell infiltration. *Biochemical Pharmacology*, 83(12): 1634–1642.
- Biendl, M., 2009: Hops and health. *Tech. Q. - Master Brew. Assoc. Am.*, 46(2):1-7. doi:10.1094/TQ-1046-1092-0416-1001
- Buckwold, V. E., Wilson, R. J. H., Nalca, A., Beer, B. B., Voss, T. G., Turpin, J. A., Buckheit, R. W., Wei, J. Y., Wenzel-Mathers, M., Walton, E. M., Smith, R. J., Pallansch, M., Ward, P., Wells, J.,

3.7 Other positive effects confirmed

Besides the biologic activities described above, prenylflavonoids have further positive health effects such as their anti-allergic (Makino et al., 2013), anti-coagulative and anti-aggregation properties (Guerrero et al., 2005). They also influence the activity of the anticholinesterase enzyme, which can be applied in a therapeutic treatment of Alzheimer disease (Ding et al., 2013). Prenylflavonoids also have neuroprotective activities *in vitro* (Oberbauer et al., 2013) and they influence a gene expression in liver that controls the production, metabolism and distribution of thyroid hormones (Radovic et al., 2010). They can also be used against muscle atrophy (Mukai et al., 2012). Additionally, some flavonoids such as xanthohumol, isoxanthohumol and 8-prenylnaringenin have potential in the treatment of skin diseases, including atopic eczema and contact dermatitis or in pigment defects (Chen et al., 2014).

3.8 Toxicity

Apart from the positive effects of hop prenylflavonoids when used in human medicine, it is also necessary to pay attention to their potential toxicity. Xanthohumol is an interesting substance with anti-tumour activity. Nevertheless, it is very important to know about the toxicity against the normal cells (Dorn et al., 2010; Hudcova et al., 2014). It was found that concentrations up to 100 μM *in vitro* have any negative effects on healthy human hepatocytes and the inhibition concentration IC_{50} for the growth of tumour cells was by 1 to 2 order of magnitude lower than for normal healthy cells (Dorn et al., 2010). Hussong et al. (2008) followed the influence of food supplements of xanthohumol on rat fertility by means of a stomach probe over 28 days and it was 0.5%. It was demonstrated that an amount of up to 100 mg/kg body weight did not have any negative impact, however, mild hepatotoxic effects and slight changes in the development of mammary glands in females was proven already at a concentration of 1000 mg/kg body weight (Hussong et al., 2005).

Currently, the studies about the toxicity of 8-prenylnaringenin are emphasized because 8-prenylnaringenin is already available on the market as a part of nutrition supplements. Recently, several clinical studies in women were carried out in order to evaluate the safety of hop extracts enriched with xanthohumol and 8-prenylnaringenin (van Breemen et al., 2014).

The results of the toxicity tests were very promising as no acute toxicity, no negative effects on the production of sexual hormones and no blood clotting was discovered (van Breemen et al., 2014). Milligan et al. (2002) observed *in vitro*, a negative impact of 8-prenylnaringenin at a concentration of 15.9 mg/kg body weight on the uterus function and its affection of development the mitosis of vaginal cells in rats. Nevertheless, this dosage is much higher than the usual concentration in food supplements, which is about 100 $\mu\text{g/g}$ per tablet taken once a day (Milligan et al., 2002). Regardless of the number of *in vitro* and *in vivo* studies (Effenberger a Westendorf, 2009; Tokalov et al., 2004) and clinical studies already carried out (van Breemen et al., 2014), further epidemiologic and clinical studies are necessary to evaluate all the health impacts and in particular the not yet fully clarified toxicity of 8-prenylnaringenin.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Technologic Agency of the Czech Republic (TE CR) within the framework of project TE02000177 – „Centre for the Innovative Use and Strengthening of the Competitiveness of Czech Brewery Raw Materials and Products“.

Translated by Eva Paterson

- Chuvala, L., Sloane, S., Paulman, R., Russell, J., Hartman, T., Ptak, R., 2004: Antiviral activity of hop constituents against a series of DNA and RNA viruses. *Antiviral Research*, 61(1): 57–62.
- Colgate, E. C., Miranda, C. L., Stevens, J. F., Bray, T. M., Ho, E., 2007: Xanthohumol, a prenylflavonoid derived from hops induces apoptosis and inhibits NF-kappaB activation in prostate epithelial cells. *Cancer Letters*, 246(1–2): 201–209.
- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., Lunec, J., 2003: Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *Faseb Journal*, 17(10): 1195–1214.
- Deeb, D., Gao, X., Jiang, H., Arbab, A. S., Dulchavsky, S. A., Gautam, S. C., 2010: Growth Inhibitory and Apoptosis-inducing Effects of Xanthohumol, a Prenylated Chalone Present in Hops, in Human Prostate Cancer Cells. *Anticancer Research*, 30(9): 3333–3339.

- Delmulle, L., Bellahcene, A., Dhooge, W., Comhaire, F., Roelens, F., Huvaere, K., Heyerick, A., Castronovo, V., De Keukeleire, D., 2006: Anti-proliferative properties of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus* L.) in human prostate cancer cell lines. *Phytomedicine*, 13(9–10): 732–734.
- Dimpfel, W., Suter, A., 2008: Sleep improving effects of a single dose administration of a valerian/hops fluid extract. *European Journal of Medical Research*, 13(5): 200–204.
- Ding, X., Ouyang, M. A., Liu, X., Wang, R. Z., 2013: Acetylcholinesterase inhibitory activities of flavonoids from the leaves of ginkgo biloba against brown planthopper. *Journal of Chemistry*, 2013: doi.org/10.1155/2013/645086.
- Dorn, C., Weiss, T. S., Heilmann, J., Hellerbrand, C., 2010: Xanthohumol, a prenylated chalcone derived from hops, inhibits proliferation, migration and interleukin-8 expression of hepatocellular carcinoma cells. *International Journal of Oncology*, 36(2): 435–441.
- Drenzek, J. G., Seiler, N. L., Jaskula-Sztul, R., Rausch, M. M., Rose, S. L., 2011: Xanthohumol decreases Notch1 expression and cell growth by cell cycle arrest and induction of apoptosis in epithelial ovarian cancer cell lines. *Gynecologic Oncology*, 122(2): 396–401.
- Effenberger, K. E., Westendorf, J., 2009: Hop-Derived Phytoestrogens Alter Osteoblastic Phenotype and Gene Expression. *Beer in Health and Disease Prevention*: 735–745.
- Ferk, F., Huber, W. W., Filipic, M., Bichler, J., Haslinger, E., Misik, M., Nersesyan, A., Grasl-Kraupp, B., Zegura, B., Knasmüller, S., 2010: Xanthohumol, a prenylated flavonoid contained in beer, prevents the induction of preneoplastic lesions and DNA damage in liver and colon induced by the heterocyclic aromatic amine amino-3-methyl-imidazo[4,5-f]quinoline (IQ). *Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 691(1–2): 17–22.
- Ferrandiz, M. L., Alcaraz, M. J., 1991: Antiinflammatory Activity and Inhibition of Arachidonic-Acid Metabolism by Flavonoids. *Agents and Actions*, 32(3–4): 283–288.
- Gerhauser, C., 2005a: Beer constituents as potential cancer chemopreventive agents. *European Journal of Cancer*, 41(13): 1941–1954.
- Gerhauser, C., 2005b: Broad spectrum antiinfective potential of xanthohumol from hop (*Humulus lupulus* L.) in comparison with activities of other hop constituents and xanthohumol metabolites. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(9): 827–831.
- Gerhauser, C., 2009: Phenolic Beer Compounds to Prevent Cancer. *Beer in Health and Disease Prevention*: 669–684.
- Gerhauser, C., Alt, A., Heiss, E., Gamal-Eldeen, A., Klimo, K., Knauft, J., Neumann, I., Scherf, H. R., Frank, N., Bartsch, H., Becker, H., 2002: Cancer chemopreventive activity of Xanthohumol, a natural product derived from hop. *Molecular Cancer Therapeutics*, 1(11): 959–969.
- Guerrero, J. A., Lozano, M. L., Castillo, J., Benavente-Garcia, O., Vicente, V., Rivera, A., 2005: Flavonoids inhibit platelet function through binding to the thromboxane A(2) receptor. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 3(2): 369–376.
- Havsteen, B. H., 2002: The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96(2–3): 67–202.
- Henderson, M. C., Miranda, C. L., Stevens, J. F., Deinzer, M. L., Buhler, D. R., 2000: In vitro inhibition of human P450 enzymes by prenylated flavonoids from hops, *Humulus lupulus*. *Xenobiotica*, 30(3): 235–251.
- Hertog, M. G. L., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H., Katan, M. B., Kromhout, D., 1993: Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart-disease – the Zutphen Elderly Study. *Lancet*, 342(8878): 1007–1011.
- Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M., 2002: Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*, 139(1): 1–21.
- Hudcova, T., Bryndova, J., Fialova, K., Fiala, J., Karabin, M., Jelinek, L., Dostalek, P., 2014: Antiproliferative effects of prenylflavonoids from hops on human colon cancer cell lines. *Journal of the Institute of Brewing*, 120(3): 225–230.
- Humpel, M., Isaksson, P., Schaefer, O., Kaufmann, U., Ciana, P., Maggi, A., Schleuning, W. D., 2005: Tissue specificity of 8-prenylnaringenin: Protection from ovariectomy induced bone loss with minimal trophic effects on the uterus. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 97(3): 299–305.
- Hussong, R., Frank, N., Knauft, J., Ittrich, C., Owen, R., Becker, H., Gerhauser, C., 2005: A safety study of oral xanthohumol administration and its influence on fertility in Sprague Dawley rats. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(9): 861–867.
- Chadwick, L. R., Pauli, G. F., Farnsworth, N. R., 2006: The pharmacognosy of *Humulus lupulus* L. (hops) with an emphasis on estrogenic properties. *Phytomedicine*, 13(1–2): 119–131.
- Chen, W., Becker, T., Qian, F., Ring, J., 2014: Beer and beer compounds: physiological effects on skin health. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 28(2): 142–150.
- Jeong, H. M., Han, E. H., Jin, Y. H., Choi, Y. H., Lee, K. Y., Jeong, H. G., 2011: Xanthohumol from the hop plant stimulates osteoblast differentiation by RUNX2 activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 409(1): 82–89.
- Karabin, M., Hudcova, T., Jelinek, L., Dostalek, P., 2015: Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. *Biotechnology Advances*, 33(6): 1063–1090.
- Koetter, U., Biendl, M., 2010: Hops (*Humulus lupulus*): A review of its historic and medicinal uses. *HerbalGram*, 87: 44–57.
- Koch, W., Heim, G., 1953: Hormone in Hopfen und Bier. *Brauwissenschaft*, 8: 152–153.
- Legette, L., Karnpracha, C., Reed, R. L., Choi, J., Bobe, G., Christensen, J. M., Rodriguez-Proteau, R., Purnell, J. Q., Stevens, J. F., 2014: Human pharmacokinetics of xanthohumol, an antihyperglycemic flavonoid from hops. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(2): 248–255.
- Legette, L. L., Luna, A. Y. M., Reed, R. L., Miranda, C. L., Bobe, G., Proteau, R. R., Stevens, J. F., 2013: Xanthohumol lowers body weight and fasting plasma glucose in obese male Zucker fa/fa rats. *Phytochemistry*, 91: 236–241.
- Lien, E. J., Ren, S. J., Bui, H. Y. H., Wang, R. B., 1999: Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(3–4): 285–294.
- Liu, M., Yin, H., Liu, G., Dong, J. J., Qian, Z. H., Miao, J. L., 2014: Xanthohumol, a Prenyated Chalcone from Beer Hops, Acts as an alpha-Glucosidase Inhibitor in Vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(24): 5548–5554.
- Makino, T., Kanemaru, M., Okuyama, S., Shimizu, R., Tanaka, H., Mizukami, H., 2013: Anti-allergic effects of enzymatically modified isoquercitrin (alpha-oligoglucosyl quercetin 3-O-glucoside), quercetin 3-O-glucoside, alpha-oligoglucosyl rutin, and quercetin, when administered orally to mice. *Journal of Natural Medicines*, 67(4): 881–886.
- Milligan, S., Kalita, J., Pocock, V., Heyerick, A., De Cooman, L., Rong, H., De Keukeleire, D., 2002: Oestrogenic activity of the hop phyto-oestrogen, 8-prenylnaringenin. *Reproduction*, 123(2): 235–242.
- Ming, L. G., Ge, B. F., Wang, M. G., Chen, K. M., 2012: Comparison between 8-prenylnaringenin and naringenin concerning their activities on promotion of rat bone marrow stromal cells' osteogenic differentiation in vitro. *Cell Proliferation*, 45(6): 508–515.
- Miranda, C. L., Aponso, G. L. M., Stevens, J. F., Deinzer, M. L., Buhler, D. R., 2000a: Prenyated chalcones and flavanones as inducers of quinone reductase in mouse Hepa 1c1c7 cells. *Cancer Letters*, 149(1–2): 21–29.
- Miranda, C. L., Stevens, J. F., Ivanov, V., McCall, M., Frei, B., Deinzer, M. L., Buhler, D. R., 2000b: Antioxidant and prooxidant actions of prenylated and nonprenyated chalcones and flavanones in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9): 3876–3884.
- Mladenka, P., Zatloukalova, L., Filipicky, T., Hrdina, R., 2010: Cardiovascular effects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(6): 963–975.
- Monteiro, R., Calhau, C., Silva, A. O. E., Pinheiro-Silva, S., Cuerreiro, S., Gartner, F., Azevedo, I., Soares, R., 2008: Xanthohumol inhibits inflammatory factor production and angiogenesis in breast cancer xenografts. *Journal of Cellular Biochemistry*, 104(5): 1699–1707.
- Monteiro, R., Faria, A., Azevedo, I., Calhau, C., 2007: Modulation of breast cancer cell survival by aromatase inhibiting hop (*Humulus lupulus* L.) flavonoids. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 105(1–5): 124–130.
- Moon, Y. J., Wang, X. D., Morris, M. E., 2006: Dietary flavonoids: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolism. *Toxicology in Vitro*, 20(2): 187–210.
- Mukai, R., Horikawa, H., Fujikura, Y., Kawamura, T., Nemoto, H., Nikawa, T., Terao, J., 2012: Prevention of Disuse Muscle Atrophy by Dietary Ingestion of 8-Prenylnaringenin in Denervated Mice. *Plos One*, 7(9): 1–11.
- Natarajan, P., Katta, S., Andrei, I., Ambati, V. B. R., Leonida, M., Haas, G. J., 2008: Positive antibacterial co-action between hop (*Humulus lupulus*) constituents and selected antibiotics. *Phytomedicine*, 15(3): 194–201.

- Oberbauer, E., Urmann, C., Steffenhagen, C., Bieler, L., Brunner, D., Furtner, T., Humpel, C., Baumer, B., Bandtlow, C., Couillard-Despres, S., Rivera, F. J., Riepl, H., Aigner, L., 2013: Chroman-like cyclic prenylflavonoids promote neuronal differentiation and neurite outgrowth and are neuroprotective. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(11): 1953–1962.
- Pan, L., Becker, H., Gerhauser, C., 2005: Xanthohumol induces apoptosis in cultured 40-16 human colon cancer cells by activation of the death receptor- and mitochondrial pathway. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(9): 837–843.
- Paoletti, T., Fallarini, S., Gugliesi, F., Minassi, A., Appendino, G., Lombardi, G., 2009: Anti-inflammatory and vascularprotective properties of 8-prenylapigenin. *European Journal of Pharmacology*, 620(1–3): 120–130.
- Pietta, P. G., 2000: Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7): 1035–1042.
- Plazar, J., Zegura, B., Lah, T. T., Filipic, M., 2007: Protective effects of xanthohumol against the genotoxicity of benzo(a)pyrene (BaP), 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) and tert-butyl hydroperoxide (t-BOOH) in HepG2 human hepatoma cells. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 632(1–2): 1–8.
- Radovic, B., Hussong, R., Gerhauser, C., Meinl, W., Frank, N., Becker, H., Kohrle, J., 2010: Xanthohumol, a prenylated chalcone from hops, modulates hepatic expression of genes involved in thyroid hormone distribution and metabolism. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54: 225–235.
- Ramos, S., 2007: Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18(7): 427–442.
- Ramos, S., 2008: Cancer chemoprevention and chemotherapy: Dietary polyphenols and signalling pathways. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(5): 507–526.
- Ross, J. A., Kasum, C. M., 2002: Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*, 22: 19–34.
- Salvi, A., Carrupt, P. A., Tillement, J. P., Testa, B., 2001: Structural damage to proteins caused by free radicals: assessment, protection by antioxidants, and influence of protein binding. *Biochemical Pharmacology*, 61(10): 1237–1242.
- Selway, J. W. T., 1986: Antiviral activity of flavones and flavans. *Progress in clinical and biological research*, 213: 521–526.
- Schaefer, O., Humpel, M., Fritze, K. H., Bohlmann, R., Schlemming, W. D., 2003: 8-Prenyl naringenin is a potent ER alpha selective phytoestrogen present in hops and beer. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 84(2–3): 359–360.
- Steffen, Y., Gruber, C., Schewe, T., Sies, H., 2008: Mono-O-methylated flavanols and other flavonoids as inhibitors of endothelial NADPH oxidase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 469(2): 209–219.
- Stevens, J. F., Ivancic, M., Hsu, V. L., Deinzer, M. L., 1997: Prenylflavonoids from *Humulus lupulus*. *Phytochemistry*, 44(8): 1575–1585.
- Stevens, J. F., Page, J. E., 2004: Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health! *Phytochemistry*, 65(10): 1317–1330.
- Suh, K. S., Rhee, S. Y., Kim, Y. S., Lee, Y. S., Choi, E. M., 2013: Xanthohumol modulates the expression of osteoclast-specific genes during osteoclastogenesis in RAW264.7 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 62: 99–106.
- Tekel, J., De Keukeleire, D., Rong, H. J., Daeseleire, E., Van Peteghem, C., 1999: Determination of the hop-derived phytoestrogen, 8-prenyl naringenin, in beer by gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12): 5059–5063.
- Tokalov, S. V., Henker, Y., Schwab, P., Metz, P., Gutzeit, H. O., 2004: Toxicity and cell cycle effects of synthetic 8-prenyl naringenin and derivatives in human cells. *Pharmacology*, 71(1): 46–56.
- van Breemen, R. B., Yuan, Y., Banuvar, S., Shulman, L. P., Qiu, X., Alvarenga, R. F. R., Chen, S. N., Dietz, B. M., Bolton, J. L., Pauli, G. F., Krause, E., Viana, M., Nikolic, D., 2014: Pharmacokinetics of prenylated hop phenols in women following oral administration of a standardized extract of hops. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(10): 1962–1969.
- van Duursen, M. B. M., Smeets, E. E. J. W., Rijk, J. C. W., Nijmeijer, S. M., van den Berg, M., 2013: Phytoestrogens in menopausal supplements induce ER-dependent cell proliferation and overcome breast cancer treatment in an in vitro breast cancer model. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 269(2): 132–140.
- Velayutham, P., Babu, A., Liu, D. M., 2008: Green tea catechins and cardiovascular health: An update. *Current Medicinal Chemistry*, 15(18): 1840–1850.
- Wang, Q., Ding, Z. H., Liu, J. K., Zheng, Y. T., 2004: Xanthohumol, a novel anti-HIV-1 agent purified from hops *Humulus lupulus*. *Antiviral Research*, 64(3): 189–194.
- Zanoli, P., Zavatti, M., 2008: Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(3): 383–396.
- Zhang, N., Liu, Z. W., Han, Q. Y., Chen, J. H., Lv, Y., 2010: Xanthohumol enhances antiviral effect of interferon alpha-2b against bovine viral diarrhoea virus, a surrogate of hepatitis C virus. *Phytotherapy*, 17(5): 310–316.

Do redakce došlo / Manuscript received: 19/04/2017
Přijato k publikování / Accepted for publication: 08/06/2017