

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality a bezpečnosti potravin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Antimikrobiální aktivita extraktů vybraných druhů  
léčivých rostlin**

**Diplomová práce**

**Bc. Kovandová Zuzana**

**Výživa a potraviny**

**Vedoucí práce: Ing. Pavel Nový, Ph.D.**

**© 2023 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Antimikrobiální aktivita extraktů vybraných druhů léčivých rostlin“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14. 4. 2023

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu práce Ing. Pavlu Novému, Ph.D. za velkou trpělivost, cenné rady a odbornou pomoc při zpracování této práce. Velký dík patří i mé rodině za podporu v průběhu celého studia.

# Antimikrobiální aktivita extraktů vybraných druhů léčivých rostlin

## Souhrn

Léčivé rostliny byly od pradávna využívány v tradiční medicíně pro léčbu různých onemocnění. Již naši předkové si uvědomovali potenciál, kterým určité rostliny oplývají a užitek, jaký mohou člověku v této oblasti poskytnout. Vzhledem ke vzrůstající rezistenci mikroorganismů na konvenční léčebné prostředky mohou rostliny poskytovat nové možnosti léčby i prevence některých onemocnění.

Cílem této práce tedy bylo vybrat léčivé rostliny, které se dříve nejen na českém území v tradiční medicíně hojně používaly a ověřit jejich antimikrobiální aktivitu.

Pro potřeby této práce bylo z herbáře autorů Jiří Janča a Josef A. Zentrich vybráno devět rostlin. U zvolených rostlin díky záznamům o tradičním užití existuje předpoklad mikrobiální inhibice, ale dle dohledatelných zdrojů není mnoho záznamů o provedených antimikrobiálních testech. Vodné, ethanolové a hexanové extrakty připravené ze sušených částí rostlin byly testovány *in vitro* bujónovou mikrodiluční metodou proti vybraným grampozitivním (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*) a gramnegativním bakteriím (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) a jedné kvasince (*Candida albicans*). Nejúčinnější extrakty byly následně podrobeny předběžné chemické analýze.

Z testovaných extraktů prokázaly antimikrobiální aktivitu pouze ethanolové, a to jen proti grampozitivním bakteriím. Největší inhibiční účinnost byla pozorována u bělotrnu kulatohlavého, u kterého byla stanovena hodnota minimální inhibiční koncentrace 128 µg/mL. U hexanových a vodných extraktů nebyla při testovaných koncentracích pozorována žádná inhibice. Chemická analýza prokázala ve všech extraktech tří testovaných rostlin (bělotrn kulatohlavý, rozchodník největší, řeřicha rumní) majoritní zastoupení především nasycených mastných kyselin. Z nich lze jmenovat laurovou, myristovou, palmitovou a stearovou. Kromě nasycených mastných kyselin zde velký podíl obzvláště v rozchodníku zaujímala mononenasycená olejová kyselina.

Na základě výsledků lze tedy potvrdit, že u všech rostlin vybraných na základě záznamů o používání v tradiční medicíně, byla prokázána antimikrobiální aktivita i při *in vitro* testování.

**Klíčová slova:** antibakteriální, antifungální, mikrodiluční metoda, minimální inhibiční koncentrace, tradiční medicína

# Antimicrobial activity of selected medicinal plants extracts

## Summary

Since ancient times, medicinal plants have been used in traditional medicine for the treatment of various ailments. Our ancestors were already aware of the potential that certain plants have and the benefits they can provide to humans in this area. With the increasing resistance of microorganisms to conventional treatments, medicinal plants may provide new possibilities for the treatment and prevention of certain diseases.

Therefore, the aim of this work was to select medicinal plants that were previously widely used in traditional medicine not only in the Czech Republic and to verify their antimicrobial activity.

For the purpose of this work, nine plants were selected from the herbarium of the authors Jiří Janča and Josef A. Zentrich. There is an assumption of microbial inhibition for the selected plants due to records of traditional use, but according to traceable sources there are not many records of antimicrobial tests performed. Aqueous, ethanol and hexane extracts prepared from dried plant parts were tested *in vitro* by broth microdilution against selected Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) and a yeast (*Candida albicans*). The most effective extracts were subsequently subjected to preliminary chemical analysis.

Out of the extracts tested, only the ethanol extracts showed antimicrobial activity, and only against Gram-positive bacteria. The highest inhibitory potency was observed for *Echinops sphaerocephalus*, for which a minimum inhibitory concentration of 128 µg/mL was determined. No inhibition was observed for the hexane and aqueous extracts at the concentrations tested. The chemical analysis showed a majority of mainly saturated fatty acids in all the extracts of the three plants tested (*Echinops sphaerocephalus*, *Hylotelephium maximum*, *Lepidium ruderale*). Of these, lauric, myristic, palmitic and stearic acids can be mentioned. In addition to saturated fatty acids, monounsaturated oleic acid was also a major contributor, especially in *Hylotelephium maximum*.

Thus, based on the result, it can be confirmed that all the plants selected on the basis of records of use in traditional medicine have been shown to have antimicrobial activity even in *in vitro* testing.

**Keywords:** antibacterial, antifungal, broth microdilution method, minimal inhibitory concentration, traditional medicine

# Obsah

1	Úvod.....	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	9
	Cíl práce.....	9
	Hypotéza .....	9
3	Literární rešerše .....	10
3.1	<b>Mikroorganismy a antimikrobiální aktivita.....</b>	<b>10</b>
3.1.1	Antimikrobiální aktivita rostlin .....	10
3.2	<b>Charakteristika testovaných mikroorganismů .....</b>	<b>11</b>
3.2.1	Grampozitivní bakterie .....	11
3.2.1.1	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
3.2.1.2	<i>Bacillus cereus</i> .....	12
3.2.1.3	<i>Enterococcus faecalis</i> .....	12
3.2.2	Gramnegativní bakterie .....	13
3.2.2.1	<i>Escherichia coli</i> .....	13
3.2.2.2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	14
3.2.3	Kvasinky .....	14
3.2.3.1	<i>Candida albicans</i> .....	14
3.3	<b>Testované rostliny .....</b>	<b>15</b>
3.3.1	Bělotrn kulatohlavý ( <i>Echinops sphaerocephalus</i> L.) .....	15
3.3.2	Bukvice lékařská ( <i>Betonica officinalis</i> L.) .....	16
3.3.3	Čertkus luční ( <i>Succisa pratensis</i> Moench.) .....	17
3.3.4	Drchnička rolní ( <i>Anagallis arvensis</i> L.).....	18
3.3.5	Chlupáček zední ( <i>Pilosella officinarum</i> Vaill.).....	19
3.3.6	Kohoutek luční ( <i>Silene flos-cuculi</i> L. Greuter & Burdet).....	20
3.3.7	Marunek barvířský ( <i>Cota tinctoria</i> (L.) J. Gay) .....	21
3.3.8	Rozchodník největší ( <i>Hylotelephium maximum</i> (L.) Holub).....	22
3.3.9	Řeřicha rumní ( <i>Lepidium ruderale</i> L.).....	23
3.3.10	Tabulka č. 1: Tradiční použití testovaných rostlin .....	24
4	Metodika.....	29
4.1	Použitá chemikálie, média a antibiotika .....	29
4.2	Použitá mikrobiální kultura .....	29
4.3	Rostlinný materiál.....	30
4.4	Příprava extraktů.....	30
4.5	Příprava média.....	31
4.6	Příprava testovaných roztoků o známé koncentraci .....	31
4.7	Příprava inokula .....	32

4.8	Příprava antibiotika.....	32
4.9	Testování pomocí mikrotitrační destičky.....	33
4.10	Vyhodnocení výsledků .....	33
4.11	Chemická analýza .....	34
5	Výsledky.....	35
5.1	Ethanolové extrakty .....	35
5.2	Hexanové extrakty .....	36
5.3	Vodné extrakty .....	36
5.4	Kontrolní antibiotikum.....	36
5.5	Chemické složení extraktů .....	38
6	Diskuze.....	39
6.1	Bělotrn kulatohlavý ( <i>Echinops sphaerocephalus</i> ).....	39
6.2	Bukvice lékařská ( <i>Betonica officinalis</i> ) .....	40
6.3	Čertkus luční ( <i>Succisa pratensis</i> Moench.).....	40
6.4	Drchnička rolní ( <i>Anagallis arvensis</i> ).....	41
6.5	Chlupáček zední ( <i>Pilosella officinarum</i> ).....	41
6.6	Kohoutek luční ( <i>Silene flos-cuculi</i> ) .....	42
6.7	Marunek barvířský ( <i>Cota tinctoria</i> ).....	42
6.8	Rozchodník největší ( <i>Hylotelephium maximum</i> ) .....	43
6.9	Řeřicha rumní ( <i>Lepidium ruderale</i> ) .....	43
7	Závěr .....	45
8	Literatura.....	46
9	Seznam použitých zkratk a symbolů .....	52

# 1 Úvod

Léčebná síla rostlin je lidstvu známa od nepaměti. Již před objevením mikroorganismů zodpovědných za vznik mnoha chorob byly rostliny člověkem využívány pro své hojivé účinky nejen při léčbě infekčních onemocnění (Ríos & Recio 2005).

Dle současných záznamů se však i v této době až 80 % populace při potížích i prevenci běžně obrací na léčebné účinky rostlin, a to především v zemích třetího světa. V těchto oblastech často nebývá moderní léčba dostupná a obyvatelům tak nezbyvá než spoléhat na účinnost rostlin. Díky zažité tradici je však znalost fytotherapie v těchto oblastech tak rozsáhlá, že často výrazně přesahuje poznatky moderní společnosti. Z důvodu ústního předávání z generace na generaci především v odlehlých oblastech však existuje riziko ztrát cenných informací (Mbuni et al. 2020).

Nabyté vědomosti právě díky záznamům o tradičním používání rostlin mohou být důsledkem dnes stále častější obliby rostlin při terapii onemocnění, a to i přes skutečnost, že jejich chemické složení stále nemusí být dokonale prozkoumáno. Především však v Jižní Americe se pomocí fytotherapie dosahuje pozitivních výsledků obzvláště v primární zdravotní péči.

Obrácení pozornosti směrem k rostlinám bude ale pravděpodobně do budoucna nutné v mnohem větším měřítku. Infekční onemocnění jsou v dnešní době příčinou velkého množství morbidit i mortalit. Jejich léčbu však ztěžuje stále častější mikrobiální rezistence na standardně používaná konvenční léčiva. Velkým rizikem je v tomto ohledu především schopnost některých bakterií přenášet geny s informací o rezistenci a tím přispívat ke vzniku multirezistentních mikroorganismů (Silva & Fernandes Júnior 2010).

Právě rostliny a rozmanité produkty jejich sekundárního metabolismu mohou být účinnou alternativou a způsobem, jak vznik rezistence u mikroorganismů omezit (Alonso et al. 2022).



## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

### **Cíl práce**

Cílem této diplomové práce je vybrat rostliny běžně se vyskytující na našem území, které by mohly vykazovat určitou antimikrobiální aktivitu, ale dosud nebyly dostatečně či vůbec testovány a podrobit je testování *in vitro*.

### **Hypotéza**

Díky dochovaným záznamům o tradičním využití těchto rostlin v medicíně lze předpokládat jejich potenciální antimikrobiální účinnost.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Mikroorganismy a antimikrobiální aktivita

„Jako mikroorganismy označujeme jednobuněčné nebo vícebuněčné organismy, které nejsou schopny tvořit funkčně diferenciované tkáně nebo pletiva“ (Šilhánková 2002). Velikost jejich buněk se pohybuje od desetin  $\mu\text{m}$  po desetiny  $\text{mm}$ . Základní dělení sestává ze dvou skupin – prokaryota a eukaryota.

Mikroorganismy jsou přirozenou součástí přírody i života člověka. Lze říci, že jsou esenciální pro zachování životního prostředí, kdy se významným způsobem podílejí například na rozkladných procesech v půdě či samočištění vodních zdrojů. Kromě prospěšných mikroorganismů je však i široká škála patogenních, které mohou negativně ovlivňovat zdraví člověka, zvířat i rostlin (Šilhánková 2002). I přes svou nevýraznou velikost mohou způsobovat mnohdy až devastující onemocnění a odolávat běžným medicínským postupům (Witkowska-Banaszczak & Długaszewska 2017).

V současné době hraje významnou roli rozvoj rezistence mikroorganismů na konvenční léčbu. Odhaduje se, že tato rezistence může být příčinou úmrtí milionů lidí ročně (Vanegas et al. 2021). Z tohoto důvodu roste potřeba náhrady standardních léčiv za nové látky s antimikrobiálním účinkem. Alternativou zde mohou být právě rostliny a látky v nich obsažené, které nejčastěji vznikají v důsledku sekundárního metabolismu (Alonso et al. 2022). Kromě rostlin produkují široké spektrum mikrobiálně inhibičních látek i další prokaryotické i eukaryotické mikroorganismy či vyšší organismy (Balouiri et al. 2016).

#### 3.1.1 Antimikrobiální aktivita rostlin

V tradiční medicíně byly rostliny od nepaměti používány k léčbě různých neduhů. Hojivý a protizánětlivý efekt některých rostlin byl lidem znám dlouho před objevením existence mikroorganismů. Některé z tradičně používaných rostlin si v populaci uchovaly oblibu a dodnes je možné v literatuře najít doporučení ohledně jejich užívání při konkrétních obtížích. V této souvislosti je možné jmenovat například užití brusinek při onemocnění močových cest nebo česneku a meduňky jako rostlin s širokou antimikrobiální působností (Ríos & Recio 2005).

Rostliny si pro svou ochranu vyvinuly velké množství různých obranných mechanismů, z nichž některé mají potenciál působit antimikrobiálně. Tyto složky mohou u mikroorganismů např. rozrušovat cytoplazmatickou membránu nebo ovlivňovat přenos látek. Mezi rostlinné komponenty s antimikrobiální aktivitou se řadí velké množství látek. Pro představu je možné jmenovat některé zástupce fenolických sloučenin (flavonoidy, tanniny, kumariny), terpeny či alkaloidy (Silva & Fernandes Júnior 2010).

## 3.2 Charakteristika testovaných mikroorganismů

Dánský lékař H. Ch. J. Gram odhalil potenciál barvitelnosti bakterií na základě jejich odlišné schopnosti udržet si barvivo, které je na ně aplikováno. Podržení tohoto barviva bylo zkoumáno za přítomnosti acetonu nebo alkoholu a za příčinu tohoto jevu je zodpovědná odlišná stavba grampozitivních a gramnegativních bakterií. Díky tomuto barvení je možné odlišit různé bakterie přítomné v jedné skupině (Votava 2005).

### 3.2.1 Grampozitivní bakterie

Stěna grampozitivních bakterií je v největší míře tvořena silnou peptidoglykanovou vrstvou, na niž jsou navázány polysacharidy a teichoová kyselina. Díky této kyselině jsou G<sup>+</sup> bakterie pravděpodobně schopné zadržovat barvivo ve své buňce (Šilhánková 2002). Po Gramově barvení se tyto mikroorganismy obarví tmavomodře. Mezi typické zástupce patří například stafylokoky, streptokoky, bacily, listerie či mikrokoky (Votava 2005).

V porovnání s gramnegativními bakteriemi dochází i k některým odlišným vlastnostem a odpovědím na antibiotika. G<sup>+</sup> bakterie jsou velmi citlivé na působení penicilinu, a naopak větší odolnost projevují proti streptomycinu a tetracyklinu. Zároveň jsou tyto bakterie odolnější proti vysoušení. Z hlediska produkce toxinů převažují u grampozitivních bakterií exotoxiny (Němec & Matoulková 2015).

#### 3.2.1.1 *Staphylococcus aureus*

Pojmenování *staphylococcus* je odvozeno od řeckých slov stafylé (hrozen) a kokkos (ovocné jádro). Pro *Staphylococcus aureus* je tedy typický výskyt ve shlucích připomínajících hrozny (Klaban 2011). Jedná se o grampozitivní nepohyblivou fakultativně anaerobní bakterii, která netvoří spory. *S. aureus* je typický svou schopností koagulovat plazmu, díky čemuž se jako jeden z mála stafylokoků ohrožujících lidský organismus řadí mezi koagulázapozitivní stafylokoky. Ostatní stafylokoky z této podskupiny jsou zvířecího původu (Votava 2003).

Tato bakterie se v lidské populaci vyskytuje velmi hojně bez toho, aby vykazovala patogenní působení. Udává se, že asi u 1/3 zdravých jedinců lze *S. aureus* nalézt na pokožce, sliznicích či ve vlasech. Jejich patogenita se však může lehce projevit při oslabení přirozených obranných mechanismů lidského organismu a následně mohou vzniknout povrchové hnisavé záněty, ale i rozsáhlé sepse. Nebezpečí však tato bakterie představuje i u potravin (Votava 2003; Görner & Valík 2004).

Bakterie se vyznačuje schopností tvorby velkého množství enterotoxinů, které se označují velkými písmeny abecedy. Pro potravinářství jsou nejdůležitější typy A až E. Tyto toxiny jsou silně rezistentní vůči vysokým teplotám a ani sterilizací nemusí vždy dojít k jejich eliminaci. Nejčastějším zdrojem stafylokoků v potravinách je kontaminace zprostředkovaná pracovníky v potravinářském provozu (Görner & Valík 2004). Alimentární onemocnění se v tomto případě nazývá stafylokoková enterotoxikáza. Ta se vyznačuje nevolností, zvracením, únavou či průjmem. Do 48 hodin obvykle dochází k uzdravení (Adams & Moss 2000).

*Staphylococcus aureus* se může objevit ve velkém množství různých potravin. Díky své odolnosti a přizpůsobivosti dokáže přežít v potravinách s nízkou hodnotou aktivity vody či

v potravinách s vyšším obsahem soli. Vyskytovat se může v masných, mléčných, cukrárenských výrobcích, ale i v omáčkách, přílohách či hotových jídlech. Jakmile zde překročí přijatelnou mez, je bakterie schopna vyprodukovat velké množství toxinu, které již může být pro člověka rizikové (Demnerová 2016).

### 3.2.1.2 *Bacillus cereus*

Bakterii *Bacillus cereus* je možné charakterizovat jako grampozitivní, pohyblivou fakultativně anaerobní tyčinku schopnou vytvářet spory. Tato bakterie se dostala do povědomí především v souvislosti s vážnými infekcemi oka a jako původce enterotoxikóz (Votava 2003).

Běžným výskytem bakterie je půda, z které se dostává na rostlinné i živočišné potraviny. Těmito potravinami mohou být polévky, mléčné produkty, masové pokrmy i zelenina. Až v případě pomnožení buněk *B. cereus* v potravinech na hodnoty  $10^5 - 10^6$  KTJ/g dochází k alimentárním otravám (Görner & Valík 2004).

*B. cereus* bývá spojován s takzvaným „syndromem čínské restaurace,“ který spočívá v konzumaci jídel s rýží uchovávaných po několik hodin při pokojové teplotě. V těchto podmínkách při přítomnosti bakterie v potravinech dochází k intenzivní tvorbě toxinů (Rosenbaum et al. 2013). *Bacillus cereus* produkuje velké množství toxinů, enterotoxikózy ale vyvolávají pouze dva z nich – toxin emetický a průjmový. Toxiny se liší svými vlastnostmi i následnými projevy intoxikace. Emetický toxin je velmi stabilní proti vysoké teplotě i nízkému pH. Vyskytuje se spíše v potravinách s vyšším obsahem polysacharidů – typický je tedy pro rýži a těstoviny. Nástup zvracení a nevolnosti je velmi rychlý (zpravidla do 1-5 hodin po požití kontaminované potraviny). Tento stav může trvat i 1 den. Toxin průjmového syndromu je bílkovina a vyznačuje se větší citlivostí na vnější podmínky – především na působení vyšší teploty a proteolytických enzymů. Na přítomnost tohoto toxinu jsou rizikové především masné výrobky a omáčky. Koliky a vodnaté průjmy nastupují během 6-16 hodin po konzumaci a přetrvávají 6-24 hodin (Votava 2003).

*Bacillus cereus* je nebezpečný především z toho důvodu, že vytváří silně rezistentní spory, díky kterým je schopný přežívat na různých potravinách i v různém prostředí (Jovanovic et al. 2021). Přítomnosti bakterie *B. cereus* v potravinách nelze zamezit, je tedy třeba regulovat vnější podmínky a znemožnit bakterii v reprodukci. Je třeba věnovat pozornost především správnému skladování potravin a úpravě pokrmů (Votava 2003).

### 3.2.1.3 *Enterococcus faecalis*

Enterokoky označujeme jako grampozitivní fakultativně anaerobní koky s mírně protáhlým nebo oválným tvarem. Vyskytují se ve dvojicích, shlucích nebo krátkých řetězcích (Votava 2003). Enterokoky se dříve řadily do rodu *Streptococcus*, dnes jsou však zařazovány do samostatného rodu *Enterococcus*. Tyto bakterie jsou součástí střevní mikrobioty a mohou se přidávat i do probiotických preparátů. Enterokoky zároveň slouží jako indikátory fekálního znečištění (Klaban 2011).

*Enterococcus faecalis* je bakterie, která může být velmi často izolována z infikovaných ran. Nemusí se jednat jen o běžná zranění, ale i o spáleniny, vředy na nohou diabetiků či o infekci v ráně po chirurgickém ošetření. I přes hojné zastoupení této bakterie ve zraněních,

nejsou její patologické strategie dostatečně prozkoumány (Chong et al. 2017). Enterokoky netvoří toxiny, ale vylučují jiné produkty, které mohou hydrolyzovat kolagen a želatinu (želatinázy) nebo ovlivňovat neutrofilů. Zároveň produkují bakteriociny, čímž dokáží omezit konkurenční mikroorganismy a usnadnit kolonizaci. Enterokoky jsou zároveň opatřeny fimbriemi, díky kterým se mohou navázat na buňky epitelu (Votava 2003).

Virulence *E. faecalis* je však ovlivněna více faktory, mezi něž lze zařadit vliv prostředí, genetické prvky a dostupnost živin. *E. faecalis* je velmi nenáročná bakterie a dokáže přežít i v extrémních podmínkách (teplota, pH, nedostatek živin, vysoká koncentrace soli). Vyznačuje se i významnou rezistencí na působení antibiotik. Kromě zranění může být *E. faecalis* zodpovědný i za endokarditidy, bakteriémie, zánět zubní dřeně či infekce močových cest (Ali et al. 2022).

### 3.2.2 Gramnegativní bakterie

Buněčná stěna gramnegativních bakterií obsahuje stejně jako bakterie grampozitivní peptidoglykanovou vrstvu, ačkoli v tomto případě je o mnoho tenčí. Kyselina teichoová zde však není přítomná. Vnější membrána je u G- bakterií složena z velkého množství lipoproteinů a fosfolipidů (Šilhánková 2002). Za použití Gramova barvení získávají tyto bakterie červenou barvu. Předpokládá se, že v důsledku velkého zastoupení lipidů ve stěně G- bakterií může při užití alkoholu docházet ke vzniku pórů, jimiž se následně vyplavuje violeť použitá v prvním kroku Gramova barvení. Tyto mikroorganismy přijímají tedy barvu až z fuchsinu. Z typických zástupců lze jmenovat rody bakterií *Escherichia*, *Legionella*, *Salmonella* či *Pseudomonas* (Votava 2005).

G- bakterie se dále vyznačují významnou tvorbou endotoxinů a nízkou odolností k vysoušení. Z hlediska citlivosti k antibiotikům jsou v porovnání s G+ bakteriemi více odolné při použití penicilinu, ale naopak citlivější na streptomycin a tetracykline (Němec & Matoulková 2015).

#### 3.2.2.1 *Escherichia coli*

Bakterie *E. coli* se řadí mezi gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky. Lze ji označit za pohyblivou enterobakterii. Byla vyizolována r. 1885 lékařem Theodorem von Escherichia, od kterého následně obdržela i své pojmenování (Votava 2003). *E. coli* se používá jako modelový organismus ve studiích a obecně patří k nejprostudovanějším mikroorganismům. Tato bakterie je schopna zkvasit jednoduché cukry a přeměňovat je na organické kyseliny a plyn. Této schopnosti se využívá pro její detekci ve vodě nebo v potravinách (Šilhánková 2002).

*Escherichia coli* se označuje jako podmíněně patogenní mikroorganismus. Za normálních podmínek je běžně přítomným mikroorganismem v zažívacím traktu člověka a podílí se na správném fungování trávicího ústrojí. Může však dojít i k situaci, kdy se bakterie začne ve střevě chovat patogenně. Je-li *E. coli* mimo střevo, vyznačuje se patogenezí téměř vždy. U této bakterie se rozlišuje mnoho kmenů (enteropatogenní, enterotoxigenní, enteroinvazivní, enterohemoragické). Enterotoxigení *E. coli* produkuje dva druhy toxinů – termostabilní a termolabilní. Patogenní působení *Escherichia coli* ve střevě může vyvolat více druhů

onemocnění. Nejčastěji se jedná o průjmy, které mohou být v některých případech i krvavé (Votava 2003).

Zdrojem bakterie v potravinách jsou především tepelně neupravené živočišné produkty jako čerstvé mléko a výrobky z něj či syrové nebo nedostatečně tepelně opracované maso. Bakterie je vylučována trusem zvířat a může přecházet i do vody. Na potravinách rostlinného původu může být také bakterie přítomná, a to především z důvodu použití kontaminované vody či důsledkem kontaktu s fekáliemi (Demnerová 2016).

### 3.2.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

*P. aeruginosa* je gramnegativní nesporeující pohyblivá aerobní tyčinka. Tato bakterie se řadí mezi fluorescenční pseudomonády a produkuje modrozelený nebo žlutozelený pigment. V přírodě je velmi rozšířená – běžně je možné ji nalézt v půdě, vodě i na rostlinách. Často je možné se s bakterií *P. aeruginosa* setkat i v případě nozokomiálních nákaz (Klaban 2011).

*P. aeruginosa* je multirezistentní mikroorganismus s velkou schopností adaptability, který může být zodpovědný za vznik akutních i chronických infekcí. Především v otázce nemocničních nákaz se k němu váže vysoká morbidita a mortalita. Zvláště u pacientů s cystickou fibrózou je zastoupení dané bakterie v dýchacích cestách majoritní (Jurado-Martín et al. 2021).

Patogenní působení bakterie je dáno především tvorbou proteolytických enzymů, které jsou schopné štěpit kolagen a další struktury v organismu a tím poškozovat kapilární stěny. Z toxinů je pseudomonáda schopna tvořit cytotoxin, který se podílí na porušování membrán buněk. Vyvolat onemocnění je *P. aeruginosa* schopna v podstatě jen u lidí s porušenou imunitou nebo těžkým onemocněním. U zdravých jedinců obzvláště v již zmiňovaném nemocničním prostředí může docházet ke kolonizaci a následnému šíření nozokomiálních onemocnění (Votava 2003).

*P. aeruginosa* nezpůsobuje alimentární onemocnění a ani se primárně nevyskytuje v potravinách. Může být však přítomná například v čerstvém mléce nadojeném od krávy trpící mastitidou (Adams & Moss 2000).

## 3.2.3 Kvasinky

### 3.2.3.1 *Candida albicans*

Kvasinka *Candida albicans* z rodu *Candida* se řadí mezi nejvíce patogenní kandidy. Při pohledu do mikroskopu může nabývat různých podob v závislosti na prostředí, v kterém se právě nachází. *Candida albicans* se může vyskytovat v různých formách od oválných blastokonidií, kulatých chlamydokonidií až po hyfy a pseudohyfy. Z blastokonidií mohou následně začít pučit zárodečné klíčky. Všechny struktury *C. albicans* se barví grampozitivně (Votava 2003).

Tyto zárodečné klíčky jsou považovány za pravděpodobný faktor virulence společně se schopností *C. albicans* tvořit enzymy fosfolipázu a proteinázu. Udává se i velká schopnost adherence kvasinky k buňkám epitelu (Klaban 2011). Za adhezi jsou zodpovědné speciální

proteiny (adheziny), kterými jsou buňky *Candidy albicans* vybaveny. Kromě přilnutí k epitelovým buňkám jsou schopné adherovat i k dalším mikroorganismům nebo k abiotickým povrchům (Mayer et al. 2013). Za nejzávažnější je však považována schopnost kvasinky tvořit stabilní biofilmy. Tyto biofilmy jsou dobře známé například z nemocničního prostředí, kde jsou schopny úspěšně osidlovat různé druhy protetických prací (Nobile & Johnson 2015).

*C. albicans* je běžně přítomným mikroorganismem lidského mikrobiomu. Z hlediska kvasinek je zde nejrozšířenějším druhem. Za běžných podmínek nezpůsobuje hostiteli žádné obtíže a u člověka je možné ji najít zejména v močopohlavní a trávicí soustavě. Při oslabení organismu z důvodu stresu či narušené imunity může dojít k přemnožení této kvasinky a vzniku infekce (Nobile & Johnson 2015). Kandidózy, jak se vzniklé infekce označují, mohou být povrchové a méně problematické postihující například kůži či nehty. Je však možný i vznik velmi závažných onemocnění postihujících vnitřní orgány. Tento způsob propagace kvasinky se vyskytuje zejména u imunokompromitovaných jedinců a může vést až ke smrti (Šilhánková 2002). Za problematickou je však možné označit léčbu i u lehčích druhů kandidóz. Biofilmy, které *Candida albicans* tvoří, bývají silně rezistentní vůči konvenční antifungální léčbě (Nobile & Johnson 2015).

### 3.3 Testované rostliny

#### 3.3.1 Bělotrn kulatohlavý (*Echinops sphaerocephalus* L.)

Bělotrn kulatohlavý je vytrvalá rostlina z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*) s tuhou lodyhou a listy s bodlinkami tvarově podobnými pampeliškovým listům. Květenstvím tohoto bodláku je strboul. V České republice se přirozeně vyskytuje pouze v teplejších oblastech a lze ho najít u cest, na stráních či v příkopech (Janča & Zentrich 1994). Výška bělotrnu se pohybuje mezi 1,3-3 m a závisí na délce života rostliny (v pěstebních podmínkách a sklizení po 2 letech života bývá výška bělotrnu kolem 1,3-1,6 m). *Echinops sphaerocephalus* pravděpodobně původně pochází ze západní Asie a jižní Evropy (Horn et al. 2008).

Bělotrn je však hojněji pěstován uměle a využíván pro svá semena a jejich účinky. Významnými složkami jsou zde alkaoid echinopsin, hořčiny a glykosidy (Janča & Zentrich 1994). Plody bělotrnu jsou charakteristické vysokým množstvím olejů a nenasycených mastných kyselin, z nichž dominuje především kyselina linolová. Vysoká je zde i hladina tokoferolu. Z tohoto důvodu je bělotrn kulatohlavý považován za potenciální olejnatou plodinu budoucnosti (Horn et al. 2008).

Použití bělotrnu kulatohlavého v tradiční medicíně je značně rozsáhlé. „Základními indikacemi jsou svalové atrofie, periferní obrny, záněty nervů, různé neuralgie a poruchy vedení vzruchu nervovými vlákny“ (Janča & Zentrich 1994). Další užití může být odvislé i od použité dávky – nízká dávka drogy dokáže stimulovat srdeční sval, zatímco dávka vysoká může vyvolat křeče. K dalším účinkům lze připočítat i parasympatomimetické působení či kardiotonický efekt. Z hlediska antimikrobiálního využití byly nalezeny zmínky z České republiky a Afriky. „Odvar z celé nadzemní části se může použít k omývání nebo koupelím rukou a nohou při kožních zánětech, při některých ekzémech a značné zlepšení bylo pozorováno i při použití k léčbě lupénky“ (Janča & Zentrich 1994). S tímto výrokem koresponduje i tradiční využití

bělotrnu v Etiopii, kde byl uveden v seznamu rostlin s tradičním využitím pro léčbu zranění (Ayalew et al. 2022). V Keni pak záznamy o tradičním používání bělotrnu kulatohlavého hovoří v souvislosti s břišním tyfem (Bitew & Hymete 2019). Více viz Tabulka č. 1.

Studie o antimikrobiálním testování extraktů z rostliny *Echinops sphaerocephalus* nebyly nalezeny. Byly nalezeny pouze výzkumy věnující se testování *in vitro* extraktů z příbuzných druhů bělotrnu kulatohlavého. Diskovou metodou provedenou u ethanolových, methanolových, ethyl acetátových a acetonových extraktů rostlin *Echinops viscosus* a *Echinops microcephalus* se zjistila výrazná inhibiční aktivita především u ethanolových extraktů první jmenované rostliny. Rozdílly se však projevovaly i u použité části rostliny (list, květ) a testovaného mikroorganismu (Toroglu et al. 2012). Antimikrobiální aktivita různých druhů bělotrnů byla zmíněna i v review o rostlinách z rodu *Echinops*. Studie na *E. sphaerocephalus* nepoukazovala, avšak jemu příbuzné druhy v některých případech vykazovaly velmi dobrou antibakteriální účinnost. Významnou inhibicí se například v případě bakterie *Mycobacterium tuberculosis* vyznačoval éterový extrakt z kořene *E. giganteus*, kde byla hodnota minimální inhibiční koncentrace stanovena na 12 µg/mL (Bitew & Hymete 2019).

### 3.3.2 Bukvice lékařská (*Betonica officinalis* L.)

Bukvice lékařská (*Betonica officinalis*), která může být v literatuře uváděna i pod označením čistic lékařský (*Stachys officinalis* Trevis), se řadí mezi vytrvalé víceleté rostliny z čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Bukvice dorůstá až jednoho metru a její lodyha je pouze řídce listnatá a nevětvená. Vejčité listy po obvodu vroubkované jsou v horní části lodyhy přisedlé, nižší listy naopak výrazně řapíkaté. Květy se barví do růžových až fialových odstínů (Janča & Zentrich 1994). Bukvice lékařská běžně roste na loukách po celém světě. Ve větším měřítku je možné ji nalézt převážně v teplejších a zároveň vlhčích oblastech Evropy, jihozápadní Asie, Ameriky či v Africe (Šliumpaite et al. 2013).

Jako droga je u bukvice využívána nadzemní část, kterou je možné sbírat od začátku rozkvětu téměř celé léto. Z obsahových látek zde dominují trísloviny, silice s hořčinami, betain či cholin (Janča & Zentrich 1994). Velmi významné je zde i zastoupení fenolů – taninů, fenolových kyselin či flavonoidů. Kromě již zmíněných alkaloidů je v rostlině možné najít i trigonellin či stachydrin (Paun et al. 2017). U bukvice byla dále zaznamenána i významná antioxidační aktivita zprostředkovaná flavonoidy z listů a kořene. Nadzemní části zároveň obsahují kyselinu rosmarinovou, která je významným protizánětlivým faktorem (Vogl et al. 2013).

V tradiční medicíně se u bukvice uvádí široké využití. Kromě použití při obtížích trávicího traktu je její uplatnění významné i z hlediska neurologického. Bukvice lékařská může pozitivně působit při hypersenzitivní reakci centrální nervové soustavy, čehož lze využít například u depresí či mírné formy epilepsie (Janča & Zentrich 1994). O použití bukvice při léčbě epilepsie v tradiční medicíně se zmiňují i další dva evropské zdroje z Dánska a Německa (Jäger et al., 2006; Adams et al., 2012). Stejně tak použití nadzemní části při gastrointestinálních obtížích je možné nalézt i v dalších záznamech z různých zemí (Jarić et al. 2011; Vogl et al. 2013). Při kombinaci drogy z bukvice s řebříčkem působí směs hemostaticky. Pokud se zkombinuje s pastuší tobolkou je efekt ještě účinnější. V tomto druhém případě může



dojít až k dezintegraci močových kamenů. Tradiční využití bukvice lékařské s možnou antibakteriální aktivitou uvádí kromě českého zdroje i některé zahraniční. V herbáři léčivých rostlin se bukvice reprezentuje při použití u zánětu nosohltanu, bakteriálních zánětů či dermálního postižení plísní (Janča & Zentrlich 1994). Z dalších evropských zdrojů je možné vyčíst aplikaci extraktů k léčbě zranění (Cornara et al. 2014), ve studii z Bulharska je přímo zmíněn antiseptický účinek rostliny při stejném použití (Leporatti & Ivancheva 2003). Více viz Tabulka č. 1.

Při testování účinnosti extraktů rostliny *Betonica officinalis in vitro* byla zjištěna inhibice růstu bakterií *Bacillus subtilis* a *Pseudomonas aeruginosa*. Pro testování byla využita disková difuzní metoda (Paun et al. 2017).

### 3.3.3 Čertkus luční (*Succisa pratensis* Moench.)

Čertkus luční z čeledi štětkovitých (*Dipsacaceae*) je vytrvalá rostlina dorůstající do výšky přibližně 60 cm. Lodyha je lysá a nahoře větvená vidličnatě. Vzhled listů se liší podle místa, odkud vyrůstají. Přízemní listy jsou dlouhé 10-20 cm, úzké a s hladkým okrajem, zatímco listy lodyžní bývají oddálené, kopinaté a mohou být i mělce zubaté. Květenstvím čertkusu je strboul barvící se do fialových až tmavě modrých odstínů (Janča & Zentrlich 1994). Čertkus je původem ze západní Asie a Evropy (Witkowska-Banaszczak & Długaszewska 2017). Rostlina je nenáročná na kvalitu půdy, preferuje pouze větší vlhkost. Lze ji nalézt na loukách, pastvinách či lesních mýtinách (Janča & Zentrlich 1994).

U čertkusu se nejčastěji sbírá nať, a to v období léta nebo oddenek, u kterého je čas sběru brzy na jaře nebo naopak v pozdějších podzimních měsících. Ani jedna z těchto částí není dostatečně prozkoumána. Z obsahových látek je však možné uvést škrob, saponiny, sacharózu, glykosid scabiotin, tanin, kyselinu tannovou, hořčiny či stopy pryskyřice. Dále se uvádějí i látky s fytoncidním účinkem (Janča & Zentrlich 1994). Při analýze na HPLC bylo zjištěno i velké množství flavonoidů a fenolových kyselin. Z první skupiny je možné jmenovat například kaempferol 3-glukosid či naringenin, z druhé pak kávová či chlorogenová kyselina (Witkowska-Banaszczak & Długaszewska 2017).

Kvůli nedostatečnému prozkoumání čertkusu lučního je i jeho používání poměrně omezené. V herbáři léčivých rostlin uvádí Janča a Zentrlich (1994) možné vnější i vnitřní užití nati a oddenku. Při vnější aplikaci je možné použít rostlinu jako kloktadlo, při vnitřní například při obtížích dýchacích cest či pro podporu močopudných účinků. Velmi významné využití je v tradiční medicíně čertkusu přisuzováno v oblasti léčby možných bakteriálních infekcí. Vnější užití kořene je zaznamenáno u léčby mokvajícího ekzému (Witkowska-Banaszczak & Długaszewska 2017), na zranění se rostlina aplikovala například v Anglii (Wagner et al. 2017) a její hojivé účinky využívali lidé ve Španělsku (Gras et al. 2017). V českých zemích se uvádí využití čertkusu lučního u nehojících se ran a zánětlivých procesů (Janča & Zentrlich 1994). Ve středověku byl čertkus užíván jako všelék a měl přiznané antiseptické a adstringentní účinky (Witkowska-Banaszczak & Długaszewska 2017). Více viz Tabulka č. 1.

Extrakty z květů a listů rostliny *Succisa pratensis* byly podrobeny i laboratornímu testování antimikrobiální účinnosti *in vitro*. Testovaným vodným a methanolovým extraktům byly vystaveny 2 bakterie – *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa* a 2 kvasinky –

*Candida albicans* a *Trichophyton mentagrophytes*. Testovalo se mikrodiluční bujónovou metodou. Výrazná inhibice byla zaznamenána při použití vodného extraktu z listů čertkuse lučního proti bakterii *S. aureus*. Minimální inhibiční koncentrace zde byla stanovena na 18,75 mg/mL. Vodné extrakty obecně vykazovaly větší antibakteriální i antifungální aktivitu proti všem testovaným mikroorganismům, kdy se zde MIC pohybovala nejčastěji v rozmezí 37,5 – 75 mg/mL při použití listů i květů rostliny. Methanolový extrakt z listů měl výraznější inhibiční aktivitu pouze u bakterie *S. aureus* (MIC=37,5 mg/mL) a z listů i květů u kvasinky *T. mentagrophytes* (MIC=37,5 – 75 mg/mL) (Witkowska-Banaszczak & Długaszewska 2017).

### 3.3.4 Drchnička rolní (*Anagallis arvensis* L.)

Drchnička rolní z čeledi prvosenkovitých (*Primulaceae*) je drobná jednoletá rostlina dorůstající do výšky přibližně 20-30 cm. Lodyha je čtyřhranná a větevnatá a na ní jsou přisedlé listy vejčitého tvaru s černým tečkováním na rubu. Květy vyrůstají na dlouhé stopce, typickou barvou pětidílného kalichu je výrazná červená. Zabarvení se však může měnit v závislosti na pH půdy od modré až po jinak barevné odstíny (Janča & Zentrich 1994). *Anagallis arvensis* je rostlina původem ze severního mírného pásu Starého světa, která se dokázala následně aklimatizovat v Severní Americe a postupně se rozšířit až do Indie. Dnes je možné drchničku běžně nalézt na polích i loukách téměř po celém světě (Saqib & Janbaz 2021).

U drchničky rolní je využívána nať, která se sbírá v době květu rostliny, což bývá v letních měsících. Obsahovými látkami drogy jsou glykosidy, anagalisaponin, sapotoxin, třísloviny a primaverasin (enzym). V kořeni drchničky se nachází cyklamin, což je saponin s toxickými účinky. Kořen však není léčebně využíván (Janča & Zentrich 1994). Významná antimikrobiální inhibiční aktivita je připisována triterpenoidu Anagallisinu C (Soberón et al. 2017).

Drchnička rolní má v tradiční medicíně díky svým vlastnostem využití velmi široké a rozmanité. Drchničku je například možné v podobě nálevu či odvaru použít při problémech s kašlem jako expektorancium nebo naopak antitusikum (Leporatti & Ivancheva 2003; Leto et al. 2013; Saqib & Janbaz 2021). Více autorů se ve svých rešerších shoduje i v tradičním využití *Anagallis arvensis* při epilepsii (Janča & Zentrich 1994; Adams et al. 2012; Saqib & Janbaz 2021). I použití drchničky z důvodu léčby bakteriálních infekcí není zanedbatelné. Z nadzemní části rostliny je možné připravit mast, kterou lze použít především pro infikovaná zranění či pupínky. Z drogy je však možné připravit i nálev, u kterého je ale riziko toxicity při dlouhodobém používání. Nálev z drchničky je užíván při systémových infekčních onemocněních (López et al. 2011). V tuzemských podmínkách stojí za zmínku vnější užití nálevu na hnisavé a nehojící se rány či bércové vředy (Janča & Zentrich 1994). Záznamy o léčení různých forem zranění pak uvádějí anglický, bulharský a dva španělské zdroje (Wagner et al. 2017; Leporatti & Ivancheva 2003; López et al. 2011; Cavero et al. 2013). Jeden z těchto španělských zdrojů drchničce vyloženě připisuje antihemorhagické a antiseptické účinky (Cavero et al. 2013). Za zajímavé může být považováno i vnější použití šťávy z nadzemní části pro výplach očí při konjunktivitidě. Toto využití drchničky bylo nalezeno pouze v srbské odborné literatuře (Jarić et al. 2015). Více informací o tradičním využití viz Tabulka č. 1.

Testování antimikrobiální aktivity extraktů připravených z *Anagallis arvensis* bylo provedeno mnoho. Ve většině nalezených výzkumů byla vyzdvižována velmi účinná antifungální aktivita rostliny. Studie autorů López et al. (2011) informuje o velmi dobré účinnosti methanolového extraktu připraveného z nadzemní části *Anagallis arvensis* proti bakteriím *Bacillus subtilis* a *Escherichia coli*. Nejvýznamnější antimikrobiální aktivity však bylo dosaženo u téhož extraktu proti kvasince *Candida albicans*. Zde autoři uvádějí hodnotu minimální inhibiční koncentrace MIC = 0,31 mg/mL (López et al. 2011). Při použití ethanolového extraktu byla u *C. albicans* stanovena MIC = 1 µg/mL. Za látku s nejvýznamnější inhibiční aktivitou zde byl považován triterpenoid Anagallisin C (Soberón et al. 2017). V jiné studii byla zkoumána antifungální aktivita drchničky rolní v podobě vodného extraktu. Testováním *in vitro* byla prokázána inhibice *Helminthosporium sativum* a *Fusarium oxysporum* (Qasem 2011). Disková metoda prokázala dobrou antifungální aktivitu drchničky rolní i v další studii (Ali-Shtayeh & Abu Ghdeib 1999).

### 3.3.5 Chlupáček zední (*Pilosella officinarum* Vaill.)

Chlupáček zední je víceletá nedřevnatá rostlina z čeledi čekankovitých (*Cichoriaceae*). Dříve byla tato rostlina označována jako jestřábník chlupáček s latinským označením *Hieracium pilosella* L. Oddenek rostliny je plazivý a z něj v růžici vyrůstají podlouhlé vejčité celokrajné listy, které jsou na rubu chlupaté. Lodyha dorůstá do výšky asi 20 cm. Květenstvím chlupáčku je úbor s okvětními lístky zbarvenými do žluta. Plodem chlupáčku je nažka (Janča & Zentrich 1995). Jedná se o rostlinu mírného pásu vyskytující se na pastvinách, mýtinách či u cest. V některých částech světa je označována za silně invazivní druh (Willer et al. 2021).

Předmětem sběru u chlupáčku zedního je nadzemní část v květu. Nať se sbírá v průběhu léta. Z obsahových látek je možné jmenovat tríslovinu, hořčiny či flavonoidy. Dále je možné zde nalézt albumin, sliz, kumarin či tannovou kyselinu (Janča & Zentrich 1995). Právě díky flavonoidům, tanninům a polyfenolovým kyselinám (kávové a chlorogenové) by měla být v rostlině zaručena diuretická aktivita. Za protizánětlivý efekt by měla být zodpovědná kyselina salicylová a pravděpodobně také triterpenické alkoholy (Willer et al. 2021). Díky obsahu flavonoidů a fenolových kyselin je u chlupáčku vyzdvižována i antioxidační aktivita (Stanojević et al. 2008).

Tradiční využití chlupáčku zedního je velmi široké a rozšířené po celém světě. Kromě již zmíněného diuretického použití, jež bylo nalezeno ve dvou literárních zdrojích (Leporatti & Ivancheva 2003; Wright et al. 2007), bylo i tradiční užití chlupáčku při epilepsii zmíněno dvakrát – v Dánsku a Německu (Jäger et al. 2006; Adams et al. 2012). I adstringentní účinky byly rostlině připisovány ve více zdrojích napříč Evropou (Leporatti & Ivancheva 2003; Gras et al. 2017). Herbář léčivých rostlin dále poukazuje na protizánětlivé působení chlupáčku. Především při dermální aplikaci na místa postižená vředy, furunkly či jinými kožními afekcemi může být kašovitý obklad připravený z kvetoucí natě velmi prospěšný. Stejný zdroj poukazuje i na velmi hojné užívání této rostliny v Americe. Z hlediska možných antibakteriálních indikací je zde zmíněno vnitřní použití při střevních zánětech (Janča & Zentrich 1995). Španělský zdroj dále udává hojivé účinky rostliny (Gras et al. 2017) a literatura z Černé Hory použití při zraněních (Menković et al. 2011). Ojedinelá zmínka byla nalezena o použití při bolesti zubů na

území Estonska. V tomto případě se usušená rostlina rozdrtila a vykouřila nebo byla aplikována přímo na zub (Kalle & Sõukand 2021). O použití v dutině ústí se však zmiňuje i český zdroj. Zde se jednalo o použití rostliny ve formě kloktadla (Janča & Zentrich 1995). Zajímavé je i použití chlupáčku ve směsích. Při kombinaci s jitrocelem kopinatým nebo ostružiníkem jilmolistým se tato směs tradičně používala také jako kloktadlo. V tomto případě je zmíněn antiseptický účinek na bukalní sliznici. Po smíchání chlupáčku zedního s hlaváčem fialovým se naopak uvařil čaj a vnitřním podáním se přispívalo k léčbě planých neštovic a spalniček (Gras et al. 2018). Více viz Tabulka č. 1.

Studie zaměřené na *in vitro* testování extraktů z chlupáčku hovoří o jasné antibakteriální účinnosti. Hodnota MIC se velmi lišila v závislosti na použitém rozpouštědle. Nejlepších výsledků dosahovaly ethyl acetátové extrakty, které byly v hodnotách MIC konstantní u všech testovaných bakterií (MIC = 10,66 mg/mL). Naopak dichlormethanolové extrakty chlupáčku vykazovaly velmi různorodé spektrum inhibice (Stanojević et al. 2008). V další *in vitro* studii byl izolován flavonoid pocházející z rostliny *Hieracium pilosella* a na základě mikrodiuční metody byla stanovena minimální inhibiční koncentrace pro bakterii *Pseudomonas aeruginosa* (MIC = 125 µg/mL) (Gawrońska-Grzywacz et al. 2011).

### 3.3.6 Kohoutek luční (*Silene flos-cuculi* L. Greuter & Burdet)

Kohoutek je víceletá nedřevnatá rostlina z čeledi silenkovitých (*Silenaceae*). Lodyha je přímá, listy z ní vyrůstající kopinaté a vstříčné. Květy, které jsou dlouze stopkaté, se zabarvují do červena nebo výjimečně do bíla. Plodem rostliny je tobolka. Kohoutek, jak již jeho druhové jméno napovídá, je typickou rostlinou luk (Janča & Zentrich 1998). Vyhovují mu slunná a vlhká místa, kdy kromě louky jej můžeme nalézt i v blízkosti mokřadů, řek či v příkopech. Kohoutek luční se nejvíce vyskytuje v Evropě, východní Asii a severní a západní Africe. Pro jeho označení se používá mnoho synonym – jako nejčastější názvy se však kromě *Silene flos-cuculi* (L.) objevují i *Lychnis flos-cuculi* (L.) nebo *Coronaria flos-cuculi* (Maliński et al. 2014).

U kohoutku se pro léčebné účely sbírá kvetoucí nať. Dobou sběru jsou letní měsíce červen a červenec. Ve využívané části rostliny je možné najít saponiny, trísloviny a alkaloidy. Významné je zde i zastoupení kyseliny askorbové (vitamín C). V kohoutku se dále pravděpodobně vyskytují i látky s fytoncidním účinkem (Janča & Zentrich 1998). Konkrétní zastoupení látek uvádí ve svém review Maliński et al. (2014) jako phytoecdysteroidy, fenolické kyseliny, deriváty mastných kyselin či flavonoidy. Autoři hovoří o kohoutku jako o rostlině s potenciální léčebnou aktivitou. Z diethylových a ethyl acetátových extraktů kohoutku byly dále identifikovány některé polyfenolové složky, z nichž do popředí vystupovala kávová kyselina, luteolin či apigenin (Tomczyk 2008).

Terapeutické využití kohoutku se udává jako poměrně široké a zasahující do mnoha oblastí. Uvádí se například účinky hemoreologické, neuroprotektivní či antikoagulační. Kromě těchto vlastností se udává i schopnost zvýšit dráždivost hladké svaloviny dělohy nebo protizánětlivá aktivita (Maliński et al. 2014). O použití kohoutku z hlediska gynekologických obtíží hovoří i česká literatura. V herbáři léčivých rostlin je uvedeno tradiční využití kohoutku při silné menstruaci s odkazem na jeho schopnost tlumení děložního krvácení. Dále je možné použít kohoutek i při potížích s početím, a to u obou partnerů. Rostlina může být dále užitečná

i při respiračních onemocněních jako expektorancium nebo použita jako antirevmatikum (Janča & Zentrich 1998). Zcela odlišné tradiční využití kohoutku je pak uváděno v Itálii, kde se setkáváme s rostlinou při léčbě migrény, bolesti břicha či malárií (Leto et al. 2013). Antimikrobiální účinky jsou pak uváděny především v českém zdroji, kdy můžeme najít zmínky o použití kohoutku při hojení ran a jeho antibiotickém působení (Janča & Zentrich 1998). Více viz Tabulka č. 1.

O testování antimikrobiální aktivity extraktů připravených z kohoutku lučního se zmiňuje několik studií. Jedna ze studií uvádí pozitivní výsledky při použití extraktu na bakterie a houby – u bakterií bylo dosaženo baktericidního účinku, u hub fungistatického. Dále jsou uváděny antimikrobiální vlastnosti rostliny (Maliński et al. 2014). Pomocí mikrodiluční bujónové metody byla zjištěna antifungální aktivita methanolového extraktu kohoutku u některých druhů kvasinek. Testování bylo provedeno například u kvasinek *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* nebo některých druhů rodu *Aspergillus*. Získané hodnoty minimálních inhibičních koncentrací se lišily v závislosti na druhu kvasinky a části rostliny, z které byl extrakt připraven. Při použití celé nadzemní části rostliny pro přípravu extraktů byla hodnota MIC u všech kvasinek stanovena na 2,5 mg/mL (Maliński et al. 2021). Diskovou metodou u ethanolových, menthanolových a chloroformových extraktů *Coronaria flos-cuculi* byla zjištěna antibakteriální aktivita všech extraktů jen u 5 bakterií (mezi nimi byla např. i *E. coli*). Ostatní testované bakterie byly inhibovány pouze některým/popř. žádným z připravených extraktů (Yunusov et al. 2008).

### 3.3.7 Marunek barvířský (*Cota tinctoria* (L.) J. Gay)

Marunek neboli také rmen barvířský je trvalka z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*). Lodyha je přímá a stejně jako listy je roztroušeně chlupatá. Rostlina dorůstá do výšky asi 50 centimetrů. Listy jsou peřenosečné a podlouhlé. Květenstvím je úbor, který je umístěn na dlouhé stopce a v průměru měří kolem 3 cm. Květy mají zlatožlutou barvu, plodem je nažka. Rmen dává přednost slunným místům a běžně se může vyskytovat na mezích, stráních či náspech (Janča & Zentrich 1998). Synonymem k latinskému označení *Cota tinctoria* je název *Anthemis tinctoria*. Tato rostlina je rozšířena především v Evropě, střední Asii, severní Africe a na Kavkazu (Erik et al. 2022).

U marunku barvířského se sbírá a využívá nadzemní část v době květu. Droga však stále není dokonale prozkoumána. Jsou zde mimo jiné přítomné flavonoidy, hořčiny, silice, tanin či kumarin. Dále se zde vyskytují i některá barviva – žluté barvivo či xantofyly (Janča & Zentrich 1998).

Marunek barvířský má velice široké využití v tradiční medicíně zasahující do velkého množství různých odvětví. Z hlediska geografického jasně dominuje používání rostliny v Turecku. Kromě respiračních onemocnění (chřipka, nachlazení) je zde opakovaně zmíněno použití při bolesti v krku (Cakilcioglu et al. 2011; Gurağaç Dereli et al. 2018; Sargin 2021). Vzácností nebylo ani použití rmenu barvířského v případě jaterních komplikací – a to buď na podporu jaterní činnosti nebo přímo při hepatitidě (Janča & Zentrich 1998; Cakilcioglu et al. 2011; Jarić et al. 2015). V Turecku i v Rusku jsou pak shodné záznamy o využití rostliny u ikteru (žloutenky) (Cakilcioglu et al. 2011; Kolosova et al. 2022). Z hlediska přímého

antibakteriálního použití je však záznamů poskrovnu. V české literatuře se uvádí pouze příprava ústní vody, kde by se mohlo hovořit o zamýšleném antibakteriálním účinku (Janča & Zentrich 1998). Další příklady je možné nalézt v Tabulce č. 1.

Testování extraktů rmenu barvířského *in vitro* ukázalo antibakteriální i antifungální aktivitu. Ve studii, kde byly připraveny 4 druhy extraktů – hexanový, acetonitrilový, methanolový a vodný, vykazoval největší inhibiční aktivitu extrakt s acetonitrilem. Takto připravený extrakt působil inhibičně na největší počet bakterií a na všechny testované kvasinky (lze zmínit například mikroorganismy *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* či *Candida albicans*) (Erik et al. 2022). Antibakteriální účinky se ukázaly i při použití diskové metody a následně potvrdily při testování pomocí mikrodiluční metody. V těchto případech byly použity methanolové a ethanolové extrakty proti různým druhům bakterií (Akgul & Saglikoglu 2005; Kunduhoğlu et al. 2011).

### 3.3.8 Rozchodník největší (*Hylotelephium maximum* (L.) Holub)

Rozchodník největší je víceletá nedřevnatá rostlina z čeledi tlusticovitých (*Crassulaceae*) (Janča & Zentrich 1996). Listy rostlin z čeledi *Crassulaceae* jsou běžně známé a používané pro své hojivé účinky (Menendez-Baceta et al. 2014). Rozchodník dorůstá do výšky asi  $\frac{3}{4}$  metru. Listy jsou vstřícné, podlouhlé a odstávající od lodyhy. Listy se dále vyznačují větší tloušťkou. Barva květů přechází od žluté po zelenou. Rozchodník největší často roste na méně hostinném podloží – je možné jej nalézt na skalách, kamenitých stezkách či suchých půdách. Preferuje teplejší nížiny, ale může se vyskytovat i v podhorských oblastech (Janča & Zentrich 1996). *Hylotelephium* je také známý jako *Sedum telephium* (Karunakaran et al. 2020).

Sbíranou částí je u rozchodníku největšího list. „Droga obsahuje dva glykosidy flavonového typu, určité množství tříslovin, sacharidy, vitamín C, karoten, vápenaté soli, organické kyseliny.“ (Janča & Zentrich 1996). Zda jsou v listech obsažené i alkaloidy se zatím nepodařilo prokázat. Jejich přítomnost však může být ovlivněná podložím, na kterém rozchodník roste (Janča & Zentrich 1996). Za své léčivé vlastnosti vděčí rozchodník přítomnosti různých fenolových derivátů (Karunakaran et al. 2020).

Tradiční použití listu rozchodníku největšího se zdá být dle literatury poměrně jednoznačné. S velkým předstihem zde dominuje využití rostliny z pohledu dermálních obtíží, a to především na Pyrenejském poloostrově. Kromě tohoto využití je však možné najít zmínku například o analgetickém působení (Gras et al. 2017). Rozchodníku je přisuzováno i kardiotonické či hemostatické působení, čehož bylo využíváno zejména obyvateli Ruska. Rozchodník největší zde byl používán i jako biogenní stimulant (Janča & Zentrich 1996). Kožní defekty, na které je možné rostlinu použít, mohou ale nemusí mít souvislost s bakteriální infekcí. Více zdrojů uvádí použití na popáleniny (Calvo et al. 2011; Caverio et al. 2011; Menendez-Baceta et al. 2014), dále například na opařenou pokožku či mozoly (Menendez-Baceta et al. 2014). O antiseptických či hojivých účincích se však zmiňuje nejvíce zdrojů. Nejčastěji autoři v literatuře uvádějí vnější aplikaci rostliny v různých podobách na zranění (Janča & Zentrich 1996; Menković et al. 2011; Calvo et al. 2011; Caverio et al. 2011, 2013). Srbský a španělský zdroj pak dále shodně uvádějí aplikaci rostliny při ulceracích (Menendez-Baceta et al. 2014; Jarić et al. 2015). Více informací viz Tabulka č. 1.

Studie na testování extraktů z rozchodníku *in vitro* ukazují na průkaznou antimikrobiální inhibici. Diskovou metodou byla zjištěna inhibice bakterií *Staphylococcus aureus* a *Klebsiella pneumoniae* (Karunakaran et al. 2020). Při testování ethanolových extraktů bujónovou mikrodiluční metodou byla stanovena minimální inhibiční koncentrace pro testované bakterie: pro *Staphylococcus aureus* (MIC = 3,1 mg/mL), *Pseudomonas aeruginosa* (MIC = 3,1 mg/mL) a *Escherichia coli* (MIC = 12,5 mg/mL) (Plastun et al. 2018).

### 3.3.9 Řeřicha rumní (*Lepidium ruderale* L.)

Řeřicha rumní (jinak také známá jako řeřicha drtič) je jednoletá až dvouletá rostlina z čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*). Dorůstá do výšky asi 25 cm a vzhledově připomíná keřík. Lodyha řeřichy je přímá, může být lysá nebo chlupatá. Horní i dolní listy se liší tvarem i přítomností řapíků. Květy jsou drobné a celokrajné, plodem řeřichy jsou šešulky. Řeřicha je nenáročná na podloží. Lze ji najít u cest, ve zdech či na rumišťích. Lidové pojmenování „drtič“ získala řeřicha díky své schopnosti rozbít močové konkrementy (Janča & Zentrich 1996).

Sbíranou a využívanou částí řeřichy rumní je nadzemní část. Široké využití nachází rostlina v potravinářském průmyslu, kdy může být pěstována i jako zelenina. Disponuje však i léčivými vlastnostmi. Kromě minerálních látek (především vápník a draslík) a vitamínů (B, C) se v řeřiše nachází i sloučeniny síry či alkaloidy (Janča & Zentrich 1996). Alkaloidy se v rostlině vyskytují ve značném množství, saponiny zde naopak téměř nejsou detekovatelné. Z dalších látek zde můžeme najít steroidy či taniny (Macías Alonso et al. 2020).

Tradiční využití řeřichy drtiče v českých zemích lze rozdělit dle vnitřní či vnější aplikace drogy. Vnitřní užití v podobě nálevu, odvaru či tinktury se uvádí například při srdečních obtížích či svírání hrudníku. Takto připravená řeřicha by však měla být nápomocná i pro zvýšení chuti k jídlu a následnému trávení přijaté potravy (Janča & Zentrich 1996). V Turecku se můžeme setkat se záznamy o užívání rostliny při halitóze (zápach z úst) (Polat & Satil 2012), v Severní Americe pak řeřicha mohla sloužit jako prostředek určený k posílení nervové soustavy (Castañeda et al. 2022). Z pohledu antibakteriálního působení jsou záznamy z Mexika o využívání řeřichy při bakteriálních infekcích, a to především u gastrointestinálně lokalizovaných (Macías Alonso et al. 2020). Česká literatura pak udává použití i na infikovanou pleť s hnisavými vřidky. Zde se doporučuje čerstvě vylisovaná šťáva z rostliny pro vnější použití (Janča & Zentrich 1996).

*In vitro* testování zaměřené na patogeny způsobující mastitidu u dojných krav odhalilo potenciál využití řeřichy díky zjištěné antibakteriální účinnosti. Studie pracovala s příbuzným druhem řeřichy rumní, a tedy rostlinou *Lepidium virginicum*. Nejprve byla provedena disková metoda, následně bujónová mikrodiluční metoda. Největší inhibiční aktivitu prokázal ethanolový extrakt připravený z nadzemní části řeřichy. Tento extrakt prokázal inhibiční aktivitu proti 86 % bakterií, které byly vyizolovány od nemocných krav. Citlivost na extrakt se projevila i u jinak silně rezistentní bakterie *E. coli* (Macías Alonso et al. 2020).

### 3.3.10 Tabulka č. 1: Tradiční použití testovaných rostlin

Název rostliny	Tradiční použití	Použitá část	Způsob použití	Země užití	Zdroj
Bělotrn kulatohlavý ( <i>Echinops sphaerocephalus</i> L.)	Kožní záněty, ekzémy, lupénka	Nadzemní část	Vnější - odvar (koupel)	Česká republika	(Janča & Zentrich 1994)
	Zranění	Neuvedeno	Vnější - dermální použití	Etiopie	(Ayalew et al. 2022)
	Břišní tyfus	Kořen, list, stonek	Neuvedeno	Keňa	(Bitew & Hymete 2019)
	Svalové atrofie, periferní obrny, záněty nervů, neuralgie, poruchy vedení vzruchu, parasympatomimetikum, obrny, úrazy, kardiotonikum	Semena	Vnitřní - injekce, tinktura	Česká republika	(Janča & Zentrich 1994)
	Neuvedeno	Neuvedeno	Neuvedeno	Švýcarsko	(Dal Cero et al. 2014)
Bukvice lékařská ( <i>Betonica officinalis</i> , <i>Stachys</i> off.)	Bércové vředy, bakteriální záněty, postižení pokožky plísní	Nadzemní část	Vnější - odvar	Česká republika	(Janča & Zentrich 1994)
	Kašel, zánět nosohltanu, poruchy trávicího traktu - zanícená sliznice (krvavé průjmy, úplavice), dyspepsie, astma, rakovina, deprese, mírná epilepsie	Nadzemní část	Vnitřní - odvar, prášek, tinktura	Česká republika	(Janča & Zentrich 1994)
	Zánětlivá zranění (antiseptický efekt)	Nadzemní část	Vnější - výluh, nálev	Bulharsko	(Leporatti & Ivancheva 2003)
	Zranění	Květ	Vnější - olejové extrakty	Itálie	(Cornara et al. 2014)
	Diuretikum, hepatoprotektivum, podpora činnosti žlučníku	List	Vnitřní - výluh, nálev	Itálie	(Leporatti & Ivancheva 2003)
	Epilepsie	Nadzemní část	Vnitřní - nálev, výluh (s medem)	Dánsko	(Jäger et al. 2006)
	Gastrointestinální trakt a respirační ústrojí, nervový systém, plet', gynekologické obtíže	Nadzemní část	Vnitřní - čaj; vnější - obklad, koupel	Rakousko	(Paun et al. 2017)
	Respirační ústrojí, gastrointestinální trakt, nervový systém, plet', gynekologické obtíže	Neuvedeno	Vnitřní - čaj; vnější - zábaly, koupel	Neuvedeno	(Vogl et al. 2013)
	Bolesti břicha z důvodu chladu, gynekologické obtíže, pro bezproblémové těhotenství	List, semeno	Neuvedeno	Srbsko	(Jarić et al. 2011)
	Mírné sedativum, neuralgie, úzkosti, diarreha, expektorancia (kašel, bronchitida, astma)	Nadzemní část	Neuvedeno	Černá Hora	(Adams et al. 2012)
Polyaltróza, dna chodidel, bolest kyčlí, snížená hybnost končetin	Kořen, květ	Vnitřní - vařené kořeny, květy v cukru	Neuvedeno	(Adams et al. 2009)	
Epilepsie	Neuvedeno	Vnitřní	Německo	(Adams et al. 2012)	
Bolest hlavy, povzbuzovač, vyvolávač kýchání	Neuvedeno	Neuvedeno	Španělsko	(Gras et al. 2017)	



Název rostliny	Tradiční použití	Použitá část	Způsob použití	Země užití	Zdroj
Čertkus luční ( <i>Succisa pratensis</i> Moench.)	Respirační ústrojí, diuretikum, závratě, zánětlivé procesy	Nadzemní část, oddenek	Vnitřní - nálev (nať), odvar (oddenek), tinktura	Česká republika	(Janča & Zentrich 1994)
	Kloktadlo, nehojící se rány, zánětlivé procesy, alergický ekzém	Nadzemní část, oddenek	Vnější - nálev (nať), odvar (oddenek), tinktura	Česká republika	(Janča & Zentrich 1994)
	Všeléč (ve středověku i léčba moru), bolest zubů	Nadzemní část	Vnější	Neuvedeno	(Witkowska-Banaszczak & Długaszewska 2017)
	Mokvající ekzém, pohmožděliny	Kořen	Vnější	Neuvedeno	(Witkowska-Banaszczak & Długaszewska 2017)
	Protijed, hojivý efekt, diaforetikum (podpora pocení)	Neuvedeno	Neuvedeno	Španělsko	(Gras et al. 2017)
	Zranění, vyrážka	Neuvedeno	Neuvedeno	Velká Británie	(Wagner et al. 2017)
	Malárie Epilepsie	Neuvedeno Neuvedeno	Vnitřní Vnitřní	Evropa Německo	(Adams et al. 2011) (Adams et al. 2012)
Drchnička rolní ( <i>Anagallis arvensis</i> L.)	Hnisavé a nehojící se rány, bércové vředy, kloktadlo	Nadzemní část	Vnější - odvar	Česká republika	(Janča & Zentrich 1994)
	Konjunktivitida	Nadzemní část	Vnější - šťáva	Srbsko	(Jarić et al. 2015)
	Abscesy, horečka, zranění	Neuvedeno	Neuvedeno	Velká Británie	(Wagner et al. 2017)
	Zranění (antihemorhagické a antiseptické účinky)	Celá rostlina, nadzemní část, květ	Vnější - obklad, nálev, výluh, mast s voskem a olivovým olejem	Španělsko	(Cavero et al. 2013)
	Dermatologické obtíže, zranění	Nadzemní část	Vnější - mast, vnitřní - nálev, výluh	Španělsko	(López et al. 2011)
	Diuretikum, antitusikum, zánětlivá zranění	Nadzemní část	Vnitřní - nálev, výluh	Bulharsko	(Leporatti & Ivancheva 2003)
	Hemostatikum, žaludeční a střevní obtíže (těžké průjmy), svědění, lehké poruchy jater a ledvin, neuralgie, epilepsie	Nadzemní část	Vnitřní - odvar, tinktura	Česká republika	(Janča & Zentrich 1994)
	Diuretikum, adstringencium, antitusikum, expektorancium, stimulace sekrece žláz	Okvětní část	Vnitřní - výluh, nálev	Itálie	(Leporatti & Ivancheva 2003)
	Epilepsie	Neuvedeno	Vnitřní	Německo	(Adams et al. 2012)
	Bolest hlavy Expektorancium	Neuvedeno List	Neuvedeno Vnitřní - nálev, výluh	Španělsko Itálie	(Gras et al. 2017) (Leto et al. 2013)

Název rostliny	Tradiční použití	Použitá část	Způsob použití	Země užití	Zdroj
	Artritida, rakovina, edém, infekce močového traktu, deprese, tuberkulóza, mánie, záškrt, epilepsie, dna, vzteklna, lepra, melancholie, kapavka, pohlavní nemoci, respirační onemocnění (astma, bronchitida, kašel)	Neuvedeno	Neuvedeno	Pákistán	(Saqib & Janbaz 2021)
	Spasmolytikum, spasmogen, bronchorelaxant, hypotenzivum	Neuvedeno	Neuvedeno	Pákistán	(Saqib & Janbaz 2021)
	Bolest v krku	Nadzemní část	Lokální aplikace rozdrčených rostlin	Itálie	(De Natale & Pollio 2007)
	Dermatologické obtíže (připomínající dermatofytózy)	Celá rostlina	Neuvedeno	Palestina	(Ali-Shtayeh & Abu Ghdeib 1999)
Chlupáček zední ( <i>Pilosella officinarum</i> , <i>Hieracium pilosella</i> )	Akutní gastritida, podpora chuti k jídlu, hemostatikum, bronchitida, zánět horních cest dýchacích	Nadzemní část (kvetoucí)	Vnitřní - odvar	Česká republika	(Janča & Zentrich 1995)
	Kloktadlo, moučnivka, vředy, furunkly, kožní afekce, hemostatikum	Nadzemní část (kvetoucí)	Vnější - odvar, obklad	Česká republika	(Janča & Zentrich 1995)
	Střevní záněty, jaterní komplikace, bronchiální obtíže, horečka, diarrhea, úprava menstruace, šedý zákal, zlepšení zraku	Nadzemní část (kvetoucí)	Vnitřní - čaj, prášek, vnější - kloktadlo, obklady, koupel	Amerika	(Janča & Zentrich 1995)
	Diuretikum, adstringencium	Nadzemní část	Vnitřní - výluh, nálev	Bulharsko	(Leporatti & Ivancheva 2003)
	Diuretikum, adstringencium, antipyretikum, antiflogistikum	Nadzemní část	Vnitřní - výluh, nálev	Itálie	(Leporatti & Ivancheva 2003)
	Epilepsie	Nadzemní část	Vnitřní - svařené s vínem	Dánsko	(Jäger et al. 2006)
	Zranění, diabetes mellitus	Nadzemní část	Vnější - výplachy; vnitřní - bylinný čaj	Černá Hora	(Menković et al. 2011; Gras et al. 2017)
	Epilepsie	Neuvedeno	Vnitřní	Německo	(Adams et al. 2012)
	Malárie	Neuvedeno	Vnější	Evropa	(Adams et al. 2011)
	Adstringencium, hojivé účinky, detergent	Neuvedeno	Neuvedeno	Španělsko	(Gras et al. 2017)
Onemocnění močových cest, dermatologické obtíže, střevní a žaludeční obtíže	Neuvedeno	Neuvedeno	Neuvedeno	(Willer et al. 2021)	
	Bolest zubů	Celá rostlina	Rozdrcení suché rostliny a vykouření, popř. implementace přímo na zub	Estonsko	(Kalle & Sõukand 2021)
	Diuretikum	Nadzemní část	Neuvedeno	Neuvedeno	(Wright et al. 2007)

Název rostliny	Tradiční použití	Použitá část	Způsob použití	Země užití	Zdroj
Kohoutek luční ( <i>Silene flos-cuculi</i> , <i>Lychnis flos-cuculi</i> )	Hojení ran, bércové vředy, revmatismus	Nadzemní část (kvetoucí)	Vnější - koupel	Česká republika	(Janča & Zentrich 1998)
	Antibiotikum, bronchitida, tlumení děložního krvácení (silné menstruace), expektorancium, antirevmatikum, podpora fertility	Nadzemní část (kvetoucí)	Vnitřní - tinktura	Česká republika	(Janča & Zentrich 1998)
	Migréna, malárie, bolesti břicha	Květ (flower)	Vnitřní - nálev, výluh (přidané do vína)	Itálie	(Leto et al. 2013)
Marunek barvířský ( <i>Cota tinctoria</i> , <i>Anthemis tinctoria</i> )	Výplach úst, bolavá a oteká kolena	Nadzemní část (kvetoucí)	Vnější - ústní voda, koupel	Česká republika	(Janča & Zentrich 1998)
	Anthelminthikum, podpora jaterní činnosti	Nadzemní část (kvetoucí)	Vnitřní	Česká republika	(Janča & Zentrich 1998)
	Epilepsie	Neuvedeno	Vnitřní	Německo	(Adams et al. 2012)
	Malárie	Neuvedeno	Vnitřní - ve víně, vnější - v olivovém oleji	Evropa	(Adams et al. 2011)
	Horečka, onemocnění plic	Květ	Vnitřní - výluh, nálev	Turecko	(Özdemir & Alpınar 2015)
	Kardiovaskulární onemocnění	Květ	Vnější - nálev (koupel)	Turecko	(Özdemir & Alpınar 2015)
	Bolest břicha, bolest v krku, bronchitida	Nadzemní část	Vnitřní - nálev, výluh	Turecko	(Gürağaç Dereli et al. 2018)
	Revmatismus, nachlazení, ateroskleróza	Květ	Vnitřní - nálev, výluh (čaj)	Turecko	(Gürağaç Dereli et al. 2018)
	Diabetes, antispasmodikum, rakovina, hepatitida, ikterus, indigesce, bolest v krku	Květ	Vnitřní - nálev, výluh	Turecko	(Cakılcıoğlu et al. 2011)
	Chřipka	Květ	Vnitřní - nálev, výluh	Turecko	(Sargin 2021)
Ikterus	Neuvedeno	Neuvedeno	Rusko	(Kolosova et al. 2022)	
Hepatální komplikace	Nadzemní část	Vnitřní - čaj	Srbsko	(Jarić et al. 2015)	
Rozchodník největší ( <i>Hylotelephium maximum</i> , <i>Sedum maximum</i> )	Hemostatikum, kardiotonikum, biogenní stimulator, hojivé účinky, diuretikum	List	Vnitřní - nálev	Česká republika	(Janča & Zentrich 1996)
	Zranění (hojivý účinek), hemoroidy, bércové vředy	List	Vnější - nálev, čerstvá šťáva	Česká republika	(Janča & Zentrich 1996)
	Zranění	List	Vnější - obklad	Černá Hora	(Menković et al. 2011)
	Protizánětlivé a hojivé účinky, osvěžovač, analgetikum	Neuvedeno	Neuvedeno	Španělsko	(Gras et al. 2017)

Název rostliny	Tradiční použití	Použitá část	Způsob použití	Země užití	Zdroj
	Zranění (antihemoragické, antiseptické účinky), dermakologické obtíže (spáleniny, furunkly)	List, nadzemní část	Vnější - přímá aplikace	Španělsko	(Cavero et al. 2013)
	Kožní infekce, zranění, popáleniny	List	Vnější - přímá aplikace	Španělsko	(Calvo et al. 2011)
	Zranění, popáleniny, pupínky	List, nadzemní část	Vnější - přímá aplikace, mast	Španělsko	(Cavero et al. 2011)
	Ulcerace, hemoroidy	List	Vnější	Srbsko	(Jarić et al. 2015)
	Kůže - popáleniny, akné, ulcerace, idiopatické kožní poruchy, zranění, infikované rány, opařeniny, mozoly	List	Vnější - mast, drcené/řezané listy	Španělsko	(Menendez-Baceta et al. 2014)
	Diuretikum, podpora krvevorbny, trávení, podpora chuti k jídlu, chronická bronchitida, furunkulóza, srdeční obtíže, svírání hrudníku	Nadzemní část	Vnitřní - nálev, odvar, tinktura	Česká republika	(Janča & Zentrich 1996)
Řeřicha rumní ( <i>Lepidium ruderale</i> )	Ekzémy, hnisavé vřidky na pleť	Nadzemní část	Vnější - koupel, šáva	Česká republika	(Janča & Zentrich 1996)
	Bakteriální infekce (např. gastrointestinální)	Nadzemní část	Vnitřní - nálev, výluh	Mexiko	(Macías Alonso et al. 2020)
	Halitóza	List	Vnitřní - čerstvý listu	Turecko	(Polat & Satil 2012)
	Posílení nervové soustavy	Neuvedeno	Neuvedeno	Severní Amerika	(Castañeda et al. 2022)

## 4 Metodika

### 4.1 Použité chemikálie, média a antibiotika

Macerace testovaných rostlin:

- 96% ethanol (VWR International s. r. o., Stříbrná Skalice, CZ)
- n-Hexane (VWR International s. r. o., Stříbrná Skalice, CZ)
- Destilovaná voda

Ředění vzniklých extraktů:

- 96% ethanol (VWR International s. r. o., Stříbrná Skalice, CZ)
- n-Hexane (VWR International s. r. o., Stříbrná Skalice, CZ)
- Tween (VWR International s. r. o., Stříbrná Skalice, CZ)
- Dimethylsulfoxid (DMSO) (VWR International s. r. o., Stříbrná Skalice, CZ)

Použitá kultivační média:

- Mueller-Hinton broth (MHB) (Oxoid, Basingstoke, UK)
- Sabouraud Dextrose broth (SDB) (Oxoid, Basingstoke, UK)

Použitá antibiotika:

- Tetracyklin (Sigma-Aldrich, Praha, CZ)
- Tioconazol (Sigma-Aldrich, Praha, CZ)

Barvivo:

- Bromthiazolová modř (MTT) (Sigma-Aldrich, Praha, CZ)

### 4.2 Použité mikrobiální kultury

Pro testování antimikrobiální aktivity extraktů byly vybrány grampozitivní bakterie (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*), gramnegativní bakterie (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) a jedna kvasinka (*Candida albicans*).

Všechny zmíněné mikroorganismy pocházely ze sbírkových kmenů American Type Culture Collection (ATCC).

Přesné označení mikroorganismů bylo následující:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 292 13
- *Bacillus cereus* ATCC 1177
- *Enterococcus faecalis* ATCC 292 12
- *Escherichia coli* ATCC 269 22
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 278 53
- *Candida albicans* ATCC 102 31

### 4.3 Rostlinný materiál

Pro testování antimikrobiální aktivity bylo vybráno těchto 9 rostlin: Běloutrn kulatohlavý (*Echinops sphaerocephalus* L.), Bukvice lékařská (*Betonica officinalis* L.), Čertkus luční (*Succisa pratensis* Moench.), Drchnička rolní (*Anagallis arvensis* L.), Chlupáček zední (*Pilosella officinarum*), Kohoutek luční (*Silene flos-cuculi*), Marunek barvířský (*Cota tinctoria*), Rozchodník největší (*Hylotelephium maximum*) a Řeřicha rumní (*Lepidum ruderales*). Tyto rostliny byly nasbírány v období předpokládaného nejvyššího obsahu účinných látek, podle doporučení uvedených v herbářích (Janča & Zentrich 1994, 1995, 1996, 1998). Vzorky byly usušeny ve stínu při teplotě nepřesahující 40 °C a uchovány v suchu a temnu pro následné zpracování.

### 4.4 Příprava extraktů

Usušené a oscilačním mlýnem (Retsch GM 200) homogenizované vzorky byly po dobu 24 hodin macerovány ve vybraných rozpouštědlech o různé polaritě (ethanol, hexan, voda). Rostliny byly smíchány s rozpouštědlem v poměru 1:30 (například 10 g rostliny a 300 ml rozpouštědla). Macerace probíhala na laboratorní třepačce. Po uplynulé době byly z macerátu odstraněny pevné části rostlin pomocí hrubé filtrace přes tkaninu a následně podtlakovou filtrací přes nylonový membránový filtr s průměrem pórů 0,45 µm. V případě extraktů se silným zákalem byl tento zákal předem odstraněn odstředěním. Použití mezikroku v podobě odstředivky bylo typické především pro vodné extrakty.

Přefiltrovaný macerát byl následně odpařen za použití odparné baňky a vakuové rotační odparky při teplotě 40°C. Dosušení získaného extraktu probíhalo v exsikátoru.

Získané extrakty byly posléze převedeny do mikrozkušavek typu safe-lock, opatřeny popisným štítkem a zabezpečeny parafilmem. Takto připravené mikrozkušavky byly skladovány při -18 °C.

Tabulka č. 2: Výtěžnost extraktů

Extrakt testovaných rostlin	Sušný vzorek [g]	Výtěžnost [g]	Výtěžnost [%]
Běloutrn kulatohlavý	EtOH	10	0,11
	Hexan	15	0,06
	H <sub>2</sub> O	10	0,31
Bukvice lékařská	EtOH	10	0,85
	Hexan	15	0,22
Čertkus luční	EtOH	10	0,97
	Hexan	15	0,1
	H <sub>2</sub> O	10	2,5
Drchnička rolní	EtOH	8	0,51
	Hexan	12	0,08
	H <sub>2</sub> O	5,5	0,58
Chlupáček zední	EtOH	10	0,98
	Hexan	15	0,39
	H <sub>2</sub> O	10	2,64
Kohoutek luční	EtOH	10	0,31
Marunek barvířský	EtOH	10	0,1
Rozchodník největší	EtOH	10	1,54
Řeřicha rumní	H <sub>2</sub> O	7	2,21
	EtOH	10	0,73

#### 4.5 Příprava média

Pro testování antibakteriální aktivity extraktů vybraných rostlin byl použit bujón MHB, pro testování kvasinek bujón SDB. Obě bujónová média byla připravena dle návodu výrobce smícháním odpovídajícího množství destilované vody a sypkého přípravku a přivedeny k varu. Následně byly uvařené bujóny sterilovány v autoklávu při teplotě 121 °C. Takto připravená média byla následně uchovávána v chladničce pro pozdější použití.

#### 4.6 Příprava testovaných roztoků o známé koncentraci

Zamražené extrakty v pevné formě byly rozmrazeny a rozpuštěny v odpovídajících rozpouštědlech. Použitá rozpouštědla se u jednotlivých extraktů lišila. Ethanolové extrakty byly rozpuštěny v 96 % ethanolu, u hexanových byla z důvodu vysoké těkavosti hexanu zvolena směs hexanu a tweenu v poměru 2:1. Pro ředění vodných extraktů byl použit dimethylsulfoxid (DMSO). V případě obtížného rozpuštění pevného extraktu v rozpouštědle byla využita ultrazvuková lázeň (Bandelin Sonorex Digitec), která usnadnila homogenizaci. Pokud nebylo dosaženo žádaného výsledku ani tímto způsobem, byl extrakt společně s rozpouštědlem převeden do mikrozkušavky s kulatým dnem o objemu 2 mL a homogenizován pomocí kulového mlýnu (Retsch MM 200).

Rozpuštěním extraktu v rozpouštědle byl připraven zásobní roztok o koncentraci 102,4 mg/mL a rozpipetován do mikrozkušavek. Tyto mikrozkušavky byly popsány, zabezpečeny parafilmem a uloženy do -18 °C.

Před vlastním testováním byly zásobní roztoky ředěny v odpovídajícím kultivačním médiu v poměru 1:100 na koncentraci 1 024 µg/mL.

#### 4.7 Příprava inokula

Zásobní inokulum bylo založeno pro každý mikroorganismus před samotným zahájením testování antimikrobiální aktivity extraktů. Do sterilních zkumavek o objemu 15 mL bylo sterilní stříkačkou odebráno 10 mL bujónového média (MHB, příp. SDB) a následně jinou sterilní stříkačkou zaočkováno příslušnými mikroorganismy ze sbírkových kmenů. Takto připravená inokula byla kultivována při teplotě 37 °C do druhého dne. Po uplynutí odpovídající doby byly zkumavky se zásobními inokuly přesunuty do lednice a zde skladovány při teplotě 4 °C pro pozdější použití.

Před každým jednotlivým testováním bylo třeba připravit čerstvé inokulum. Příprava inokula probíhala vždy 24 hodin před plánovaným zahájením testování antimikrobiální aktivity na mikrotitrační destičce. Ze zásobního inokula bylo odebráno pár kapek roztoku obsahujícího bakterie (popř. kvasinky) a společně s 5 mL MHB (popř. SDB) napipetováno do sterilních 10 mL zkumavek. Zkumavky byly následně umístěny do inkubátoru s nastavenou teplotou 37 °C a inkubovány do druhého dne.

Pro samotné testování bylo třeba inokulum standardizovat, aby bylo možné dosáhnout předepsané koncentrace mikroorganismů v médiu, která je stanovena na  $1-2 \times 10^8$  CFU/mL. Tohoto množství bylo dosaženo pomocí měření denzity ve sterilní zkumavce s 10 mL média MHB (příp. SDB), do které bylo postupně v malých dávkách přidáváno připravené inokulum. Cílem bylo zvýšit denzitu zaočkovaného bujónu oproti čistému o 0,5 McFarland zákalového standardu (Matuschek et al. 2014), což odpovídá přibližně  $1-2 \times 10^8$  CFU/mL u bakterií (Qaiyumi 2007) a  $1-2 \times 10^6$  CFU/mL u kvasinek (Espinel-Ingroff & Cantón 2007).

Výsledné inokulum připravené tímto způsobem bylo následně použito pro zaočkování mikrotitračních destiček. Každá jamka (kromě jamek určených pro kontrolu čistoty) byla inokulem zaočkována dvakrát pomocí inokulačního „ježka“, takže výsledná koncentrace inokula v čerstvě zaočkovaných destičkách byla  $5 \times 10^5$  u bakterií (Qaiyumi 2007) a  $5 \times 10^3$  u kvasinek (Espinel-Ingroff & Cantón 2007).

#### 4.8 Příprava antibiotika

Příprava antibiotika podléhala zjištěné citlivosti mikroorganismů uvedené v tabulce (CLSI 2013). Pro bakterie byl zvolen Tetracyklin, pro kvasinku Tioconazol. Antibiotikum bylo vyjmuté z lednice, naváženo do mikrozkušavky a rozpuštěno v ethanolu na požadovanou koncentraci. Následně byla část odebrána a ředěna s odpovídajícím médiem v poměru 1:100. Takto připravené antibiotikum sloužilo jako kontrola správné inhibice mikroorganismů.



## 4.9 Testování pomocí mikrotitrační destičky

Před samotným zahájením testování bylo víčko mikrotitrační destičky popsáno fixem dle aktuálního schématu plánovaného testování. Čtyři rohové jamky nebyly pro testování využívány nikdy z důvodu pravděpodobného zvýšeného vysychání média a možnosti ovlivnění výsledků. Dva sloupce (nejčastěji krajní) byly vždy využity pro pozitivní kontrolu nárustu a kontrolu čistoty. Jamky ve sloupci kontroly čistoty byly naplněny pouze 100  $\mu\text{L}$  média a sloužily jako potvrzení čistoty použitého média. U kontroly kvality byly jamky s čistým médiem zaočkovány inokulem a sloužily jako pozitivní kontrola mikrobiálního růstu.

Jednotlivé jamky mikrotitrační destičky byly naplněny 100  $\mu\text{L}$  odpovídajícího média, pouze jamky se zamýšlenou nejvyšší koncentrací testovaného extraktu či antibiotika byly ponechány prázdné. Do těchto jamek bylo napipetováno 200  $\mu\text{L}$  testovaného extraktu o koncentraci 1 024  $\mu\text{g/mL}$ . V případě antibiotika byla koncentrace upravena dle testovaného mikroorganismu a jeho citlivosti na tuto látku danou tabulkami (CLSI 2013). Z každé jamky obsahující 200  $\mu\text{L}$  tekutiny bylo 100  $\mu\text{L}$  odebráno a přeneseno do jamky následující, která již obsahovala 100  $\mu\text{L}$  čistého média. Po smísení bylo tedy dosaženo koncentrace poloviční. Následně bylo opět 100  $\mu\text{L}$  odebráno a přeneseno do další jamky. Tímto postupem bylo docíleno postupného snižování koncentrace účinné látky (extraktu či antibiotika) na polovinu oproti koncentraci v předešlé jamce. 100  $\mu\text{L}$  odebraných z posledních jamek bylo zlikvidováno. Rozsah testovaných koncentrací extraktů se pohyboval v rozmezí 1 024 – 2  $\mu\text{g/mL}$ .

Takto připravená mikrotitrační destička byla následně zaočkována inokulem. Každá jamka (vyjma kontroly čistoty) byla dvakrát zaočkována pomocí inokulačního „ježka“ a připraveného inokula. Následně byly destičky inkubovány při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. V případě kvasinky byla doba inkubace 48 hodin.

Testování antimikrobiální aktivity bylo vždy realizováno ve třech opakováních. V případě zjištěné inhibiční koncentrace byly odpovídající extrakty podrobeny opakovanému testování na mikrotitračních destičkách. Výsledné hodnoty MIC (příp.  $\text{IC}_{50}$ ) byly následně zprůměrovány.

## 4.10 Vyhodnocení výsledků

Účinnost všech extraktů byla nejprve hodnocena okem a následně měřením zákalu pomocí čtečky mikrotitračních destiček Synergy microplate reader H1 (BioTek) při vlnové délce 512 nm. Na základě výsledků byly stanoveny hodnoty minimální inhibiční koncentrace (MIC), popřípadě  $\text{IC}_{50}$ .

Hodnota MIC je definována jako nejnižší koncentrace určité látky, která dokáže v definovaném čase zabránit růstu mikroorganismů. Nejčastěji se tato hodnota udává v  $\mu\text{g/mL}$  nebo  $\text{mg/L}$  (EUCAST 2000). Hodnota  $\text{IC}_{50}$  je definována jako koncentrace inhibující alespoň 50 % testovaných mikroorganismů (de Menezes et al. 2021).

Při vizuálním hodnocení antimikrobiální účinnosti extraktů byla jako hodnota MIC stanovena vždy hodnota odpovídající jamce s nejnižší koncentrací bez viditelného bakteriálního/kvasinkového zákalu. Pro vyhodnocování tří opakování byl použit princip modus-medián. Princip modus popisuje způsob vyhodnocování výsledků v případě, kdy byla

hodnota MIC ve dvou opakováních shodná a ve třetí se lišila maximálně o 1 řád, tak hodnotitel zaznamenal hodnotu nejčastější. Princip mediánu hovoří o stavu, kdy se hodnota MIC v každém ze 3 opakování lišila vždy o 1 řád, pak se výsledná hodnota MIC řídila prostřední zjištěnou hodnotou.

Pomocí čtečky mikrotitračních destiček bylo možné ověřit hodnotu MIC stanovenou okem. Ve výsledcích přístroje Reader se jednalo o nejnižší testovanou koncentraci, která inhibuje  $\geq 80\%$  mikrobiálního nárůstu v porovnání s pozitivní kontrolou. Při inhibici růstu mikroorganismů  $\geq 50\%$ , ale  $< 80\%$  byla stanovena hodnota IC<sub>50</sub>.

V případě vytvoření přirozeného zákalu extraktu v době inkubace a znemožnění odečtení správného výsledku okem ani pomocí Readeru bylo použito barvivo MTT. Jestliže se v jamkách mikrotitrační destičky kromě přítomnosti zákalu vyskytovaly i vitální bakteriální buňky, došlo k metabolizaci indikátorového barviva a změně zabarvení média ze žluté barvy na fialovou.

#### 4.11 Chemická analýza

Chemická analýza byla provedena pouze u extraktů, u kterých byla stanovena při předešlém *in vitro* testování na mikrotitrační destičce MIC alespoň 256  $\mu\text{g/mL}$ . Analyzovány byly tedy ethanolové extrakty z rostlin bělotrn kulatohlavý (*Echinops sphaerocephalus*), rozchodník největší (*Hylotelephium maximum*) a řeřicha rumní (*Lepidium ruderale*).

Pro chemickou analýzu vzorků bylo 50  $\mu\text{g}$  odpařeného extraktu z výše uvedených rostlin rozpuštěno v 1 mL 96% ethanolu a přepipetováno do vialky. Měření probíhalo na plynovém chromatografu 7890A (Agilent, Santa Clara, California, USA) s hmotnostním detektorem typu kvadrupól 5975C (Agilent, Santa Clara, California, USA). Plynový chromatograf byl vybaven nepolární kapilární kolonou HP5-MS (Agilent, Santa Clara, California, USA).

Vzorky o objemu 1  $\mu\text{L}$  byly nastříknuty do inletu vyhřátého na 250 °C ve splitovém poměru 12:1. Nosným plynem bylo helium s konstantním průtokem 1 mL/min. Teplotní program pece byl nastaven na počátečních 60 °C po dobu 3 min., poté byla teplota zvyšována rychlostí 3 °C/min až do 231 °C, potom udržována dalších 10 min konstantní. Celková analýza tedy trvala 70 min. Měření probíhalo ve „full-scan“ módu při ionizační energii 70 eV. Identifikace složek byla následně provedena porovnáním hmotnostních spekter a retenčních indexů se záznamy uvedenými v databázi Národního institutu pro standardy a technologie (Linstrom & Mallard 1996).

## 5 Výsledky

Testování bylo podrobena 9 rostlin, z nichž byly připraveny ethanolové, hexanové a vodné extrakty. Kvůli nedostatku rostlinného materiálu nebyly ze všech rostlin připraveny všechny druhy extraktů, ethanolové rozpouštědlo však bylo použito ve všech případech. Tyto extrakty také vykazovaly největší antimikrobiální aktivitu (viz Tabulka č. 2).

Mikrobiální inhibice se však projevovala pouze u grampozitivních bakterií. Žádný z extraktů neinhiboval růst testovaných gramnegativních bakterií ani kvasinky. U *Candidy albicans* byl nárůst odečítán po 24 i 48 hodinách, ale již při první kontrole byly všechny jamky s extraktem a zaočkované kvasinkou okem viditelně zarostlé.

### 5.1 Ethanolové extrakty

Ethanolové extrakty se projevíly jako nejučinnější z hlediska inhibice vybraných mikroorganismů. Různá míra inhibice byla zaznamenána u grampozitivních bakterií *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus faecalis* (MIC = 128-1024  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Celkem 5 rostlinných extraktů bylo účinných proti všem G+ bakteriím, 2 extrakty proti dvěma G+ bakteriím a pouze proti jedné bakterii vykazovaly účinnost i zbylé dva ethanolové extrakty. U některých extraktů nebylo možné při testovaných koncentracích zaznamenat hodnotu MIC, nicméně mírná antimikrobiální aktivita byla pozorována a následně ověřena pomocí čtecího zařízení Reader. Účinek byl posléze stanoven jako hodnota IC<sub>50</sub>.

U gramnegativních bakterií *Escheria coli* a *Pseudomonas aeruginosa* ani u kvasinky *Candida albicans* nebyla zaznamenána žádná inhibice, a to ani MIC ani IC<sub>50</sub>.

#### **Bacillus cereus**

U bakterie *Bacillus cereus* všechny ethanolové extrakty jednotlivých rostlin vykazovaly určitou míru antimikrobiální účinnosti. U většiny extraktů bylo možné tuto inhibici vyjádřit pomocí hodnoty MIC (minimální inhibiční koncentrace). Pouze u dvou rostlin mohla být stanovena jen hodnota IC<sub>50</sub> (alespoň 50 % inhibovaných mikroorganismů ve vzorku).

Proti bakterii *B. cereus* se jako nejučinnější projevil extrakt připravený z bělotrnu kulatohlavého. V tomto případě byla stanovena MIC = 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . O řád vyšší hodnota (MIC = 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) byla naměřena u extraktu z rozchodníku největšího. Shodné hodnoty MIC = 512  $\mu\text{g}/\text{mL}$  vykazovaly extrakty připravené z drchničky, chlupáčku a řeřichy. Nejvyšší měřená koncentrace MIC = 1024  $\mu\text{g}/\text{mL}$  byla následně stanovena u dvou extraktů – bukvice a čertkus. Pouze mírná antimikrobiální aktivita byla pozorována u rostlin kohoutek luční a marunek barvířský, u nichž byla shodně prokázána hodnota IC<sub>50</sub> = 1024  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

#### **Staphylococcus aureus**

Nárůst bakterie *S. aureus* byl inhibován celkem 7 použitými extrakty rostlin. Jako neúčinné se projevíly pouze dva ethanolové extrakty připravené z čertkusu lučního a kohoutku lučního, u kterých se nepodařilo stanovit hodnotu MIC ani IC<sub>50</sub>. Všechny ostatní extrakty vykazovaly antimikrobiální aktivitu, kterou bylo možné stanovit jako MIC, u některých z nich byla následně díky přístroji Reader možné určit až o několik řádů nižší hodnotu IC<sub>50</sub>.

Největší antibakteriální účinnost proti *S. aureus* prokázaly extrakty připravené z bělotrnu, rozchodníku a řeřichy. V těchto případech byla stanovena MIC = 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Nižší mírou

inhibice disponovala bukvice lékařská, jež vykazovala hodnotu MIC = 512 µg/mL. Nejvyšší stanovovanou inhibiční koncentrací (MIC = 1024 µg/mL) shodně prokázaly drchnička, chlupáček a marunek. U všech těchto extraktů byla posléze stanovena i hodnota IC<sub>50</sub>, která se pohybovala v rozmezí 256-512 µg/mL.

### **Enterococcus faecalis**

V případě inhibice bakterie *E. faecalis* se opět osvědčilo 7 rostlin. Celková antibakteriální aktivita ethanolových extraktů byla u tohoto mikroorganismu nejslabší v porovnání s předešlými bakteriemi.

U třech rostlin (drchnička, chlupáček a řeřicha) byla stanovena MIC = 512 µg/mL. U ostatních čtyřech, kterými jsou bukvice, kohoutek, marunek a rozchodník, je možné antibakteriální účinnost označit hodnotou MIC = 1024 µg/mL. U rozchodníku a řeřichy byla naměřena i IC<sub>50</sub> = 256 µg/mL. Extrakt z čertkusy inhiboval min. 50 % mikroorganismů při koncentraci 1024 µg/mL.

## **5.2 Hexanové extrakty**

Dle výsledků v tabulce nevykazovaly hexanové extrakty žádnou inhibiční aktivitu na vybraný vzorek bakterií a kvasinku. V první fázi testování byla však jistá antimikrobiální aktivita zaznamenána u extraktu drchničky proti bakterii *Staphylococcus aureus*. Tato inhibice byla okem viditelná a následně potvrzena měřením optické denzity. Při opakovaném testování již ale antimikrobiální aktivita hexanového extraktu drchničky rolní nebyla potvrzena.

## **5.3 Vodné extrakty**

U vodných extraktů nebyla zaznamenána žádná inhibiční aktivita vybraných extraktů. Spíše zde byl naopak zaznamenán velmi silný nárůst bakterií i kvasinky. Při testování na mikrotitrační destičce byl pozorován nejsilnější zákal v porovnání s ethanolovými a vodnými extrakty. V případě vodných extraktů užitých u bakterie *Pseudomonas aeruginosa* bylo po 24hodinové inkubaci zřetelně viditelné modré zbarvení kolonií.

## **5.4 Kontrolní antibiotikum**

Pro bakterie bylo pro kontrolu správnosti testování použito antibiotikum Tetracyklin s 99 % čistotou. Kromě bakterie *B. cereus*, pro kterou nejsou mezní hodnoty MIC stanoveny, vycházely všechny výsledné hodnoty v souladu s tabulkovými hodnotami (CLSI 2013).

U kvasinky *C. albicans* byl za kontrolní antibiotikum zvolen Tioconazol.

Tabulka č. 3: Výsledky mikrodiluční metody

Etrakt testovaných rostlin		<i>B. cereus</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>C. albicans</i>	
		MIC μg/mL	IC <sub>50</sub> μg/mL	MIC μg/mL	IC <sub>50</sub> μg/mL	MIC μg/mL	IC <sub>50</sub> μg/mL	MIC μg/mL	IC <sub>50</sub> μg/mL	MIC μg/mL	IC <sub>50</sub> μg/mL	MIC μg/mL	IC <sub>50</sub> μg/mL
Bělotrn kulatohlavý ( <i>Echinops sphaerocephalus</i> )	EtOH	128	-	256	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hexan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H <sub>2</sub> O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bukvice lékařská ( <i>Betonica officinalis</i> )	EtOH	1024	-	512	-	1024	-	-	-	-	-	-	-
	Hexan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Čertkus luční ( <i>Succisa pratensis Moench.</i> )	EtOH	1024	-	-	-	-	1024	-	-	-	-	-	-
	Hexan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H <sub>2</sub> O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Drchnička rolní ( <i>Anagallis arvensis</i> )	EtOH	512	-	1024	256	512	-	-	-	-	-	-	-
	Hexan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H <sub>2</sub> O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chlupáček zední ( <i>Pilosella officinarum</i> )	EtOH	512	-	1024	512	512	-	-	-	-	-	-	-
	Hexan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H <sub>2</sub> O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kohoutek luční ( <i>Silene flos-cuculi</i> )	EtOH	-	1024	-	-	1024	-	-	-	-	-	-	-
Marunek barvířský ( <i>Cota tinctoria</i> )	EtOH	-	1024	1024	256	1024	-	-	-	-	-	-	-
Rozchodník největší ( <i>Hylotelephium maximum</i> )	EtOH	256	-	256	-	1024	256	-	-	-	-	-	-
	H <sub>2</sub> O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Řeřicha rumní ( <i>Lepidium ruderale</i> )	EtOH	512	-	256	-	512	256	-	-	-	-	-	-
ATB	-	0,0625	-	0,12	-	8	-	0,5	-	8	-	16	-

MIC – minimální inhibiční koncentrace, IC<sub>50</sub> – inhibice nejméně 50 % mikroorganismů, ATB – pro bakterie Tetracyklin, pro *C. albicans* Tioconazol

## 5.5 Chemické složení extraktů

Analýza byla provedena pouze u extraktů, které projevily největší míru inhibice ( $MIC \leq 256 \mu\text{g/mL}$ ) při předešlém testování *in vitro*. Tato analýza byla spíše předběžná, protože byla provedena pouze pomocí plynového chromatografu na koloně s nepolární stacionární fází. Následně byly identifikovány nejčastěji zastoupené složky.

U extraktu z bělotrnu kulatohlavého (*Echinops sphaerocephalus*) bylo identifikováno celkem 84,18 % zastoupených látek. Nejvíce se ve vzorku vyskytovaly mastné kyseliny laurová (36,10 %), palmitová (21,73 %), myristová (9,62 %) a olejová (7,05 %).

Z extraktu rozchodníku největšího bylo identifikováno 81,47 % látek, z nichž dominovaly mastné kyseliny v pořadí palmitová (29,89 %), laurová (20,32 %), olejová (12,01 %), myristová (7,63 %), a stearová (7,08 %).

U extraktu řeřichy rumní (*Lepidium ruderale*) bylo celkem identifikováno 69,53 % obsahových látek. Největší zastoupení zde zaujímaly mastné kyseliny palmitová (27,67 %), laurová (10,89 %), myristová (5,80 %), a olejová (6,70 %). Tento extrakt byl jediný, ve kterém byl naměřen i benzylnitril, a to ve velmi významném množství 9,38 %.

Tabulka č. 4: Chemická analýza vzorků

Identifikované složky	RI	RI (lit.)	Zastoupení v %			Identifikace
			<i>Echinops sphaerocephalus</i>	<i>Hylotelephium maximum</i>	<i>Lepidium ruderale</i>	
Neidentifikovaná látka I.	895	-	-	2,32	-	MS, RI
Benzyl nitril	1147	1143	-	-	<b>9,38</b>	MS, RI
Neidentifikovaná látka II.	1151	-	-	-	2,12	MS, RI
Octanoic acid	1177	1176	1,52	-	-	MS, RI
Nonanoic acid	1273	1280	0,78	-	-	MS, RI
n-Decanoic acid	1370	1368	0,95	-	-	MS, RI
Benzene,	1376	1377	-	-	2,31	MS, RI
(isothiocyantomethyl)-						
Dodecanoic acid	1570	1574	<b>36,10</b>	<b>20,32</b>	<b>10,89</b>	MS, RI
Neidentifikovaná látka III.	1575	-	-	1,88	1,88	MS, RI
Tetradecanoic acid	1765	1767	<b>9,62</b>	<b>7,63</b>	<b>5,80</b>	MS, RI
Neidentifikovaná látka IV.	1848	-	3,75	-	-	MS, RI
Hexahydrofarnesyl acetone	1849	1845	-	-	2,73	MS, RI
Neidentifikovaná látka V.	1785	-	-	2,33	-	MS, RI
Neophytadiene	1842	1840	-	0,95	-	MS, RI
Pentadecanoic acid	1865	1869	-	0,72	-	MS, RI
Hexadecanoic acid, methyl ester	1928	1928	1,03	-	-	MS, RI
9-Hexadecenoic acid	1950	1948	-	1,20	-	MS, RI
Plamitoleic acid	1953	1949	0,81	-	-	MS, RI
n-Hexadecanoic acid	1968	1967	<b>21,73</b>	<b>29,89</b>	<b>27,67</b>	MS, RI
Hexadecanoic acid, ethyl ester	1995	1995	1,43	0,79	-	MS, RI
Neidentifikovaná látka VI.	2046	-	-	-	4,99	MS, RI
Neidentifikovaná látka VII.	2065	-	-	0,83	-	MS, RI
Phytol	2118	2122	-	0,88	-	MS, RI
Oleic Acid	2147	2143	<b>7,05</b>	<b>12,01</b>	<b>6,70</b>	MS, RI
Octadecanoic acid	2165	2167	3,16	<b>7,08</b>	4,05	MS, RI
<b>Identifikováno celkem</b>			<b>84,18</b>	<b>81,47</b>	<b>69,53</b>	

RI – retenční index složky, RI (lit.) – retenční index z literatury, MS – hmotnostní spektrometrie

## 6 Diskuze

Rostliny jsou již od pradávna používány pro své léčivé vlastnosti v tradiční medicíně. Především v dnešní době, kdy se setkáváme s častou rezistencí některých mikrobiálních druhů na konvenční léčbu, mohou být rostliny možností volby. Produkty jejich sekundárního metabolismu mohou být spolehlivým zdrojem antimikrobiálního působení. Nezastupitelné místo však rostliny zaujímají i v primární prevenci (Silva & Fernandes Júnior 2010).

Z 9 léčivých rostlin, které byly vybrány pro testování antimikrobiální aktivity, projevíly určitou míru mikrobiální inhibice všechny. Antimikrobiální aktivitu vykazovaly ale pouze ethanolové extrakty, a to jen v případě gram pozitivních bakterií. Míra inhibice se lišila v závislosti na testované rostlině a druhu mikroorganismu. Extrakty vodné ani hexanové při testovaných koncentracích neprojevily žádnou antimikrobiální aktivitu.

### 6.1 Bělotrň kulatohlavý (*Echinops sphaerocephalus*)

Studie o testování antimikrobiální aktivity rostliny *Echinops sphaerocephalus* nebyly dohledány, což by mohlo svědčit o prvním oficiálním testování bělotrny kulatohlavého *in vitro* a zjištění inhibiční aktivity.

V literatuře je ovšem možné najít záznamy o jiných druzích rodu *Echinops*. Z rostlin *Echinops viscosus* subsp. *bithynicus* a *Echinops microcephalus* byly připraveny ethyl acetátové, acetonové, methanolové a ethanolové extrakty, které byly následně testovány pro potenciální antimikrobiální aktivitu pomocí diskové difuzní metody. Výraznou aktivitu projevíly použité extrakty především u gram pozitivní bakterie *S. aureus* (Toroglu et al. 2012). I při našem testování vykazovala rostlina z rodu *Echinops* významnou inhibiční aktivitu proti této bakterii. Pro ethanolový extrakt zde byla stanovena MIC = 256 µg/mL. Výsledky ovšem není možné porovnat z důvodu použití odlišných *in vitro* metod. Toroglu et al. (2012) dále uvádějí inhibiči gram negativní bakterie *E. coli*, což se však při našem testování potvrdit nepodařilo.

I přes nižší účinnost při inhibici *S. aureus* však autoři studie ethanolové rozpouštědlo celkově považují za nejúčinnější pro extrakci největšího množství antimikrobiálně působících látek z těchto rostlin. Připouští však významné rozdíly v antimikrobiální aktivitě i u takto rodově příbuzných rostlin. Tato skutečnost může vysvětlovat i dosažení odlišných výsledků v antimikrobiálních testech realizovaných autory zmiňované studie a testováním, které bylo provedeno jako podklad pro tuto závěrečnou práci.

V další studii, která se zabývala výzkumem rostlin z rodu *Echinops*, byla antimikrobiální aktivita testována spíše okrajově. Významnější účinnost udávají autoři studie pouze v souvislosti s bakterií *Mycobacterium tuberculosis*, kdy v závislosti na zvoleném druhu a části rostliny prokazovaly éterové a methanolové extrakty inhibiči stanovenou na hodnotu MIC 12 a 32 µg/mL. Antimikrobiální aktivita proti bakterii *B. cereus*, u které byla našim testováním stanovena MIC 128 µg/mL, byla v této studii zmíněna jen v souvislosti se silicemi rostliny *Echinops kebericho*. Extrakty této ani jiné rostliny rodu *Echinops* ale nebyly podrobeny testování na zmíněnou bakterii (Bitew & Hymete 2019).

Díky dobrým výsledkům, kterých ethanolový extrakt vykazoval při našem testování při inhibici bakterií *S. aureus* a *B. cereus*, byl extrakt podroben analýze na plynovém

chromatografu. Analýzou bylo zjištěno především významné zastoupení mastných kyselin, z nichž dominovaly laurová, palmitová, stearová či olejová.

Z těchto kyselin by právě kyselina olejová a laurová mohly být zodpovědné za určitou míru antimikrobiální aktivity testovaného extraktu z bělotrnu. V nalezených studiích byl potvrzen inhibiční efekt na různé bakterie. Proti bakterii *S. aureus* byla například stanovena MIC = 1 000 µg/mL (Dilika et al. 2000). Významná antimikrobiální inhibice proti *S. aureus* (MIC = 256 µg/mL) byla však stanovena i u kyseliny laurové (Lalouckova et al. 2021). Ostatní nasycené mastné kyseliny však neprojevily žádné antimikrobiální působení (Ouattara et al. 1997).

Přítomnost mastných kyselin v rostlině zmiňuje ve své studii i Horn et al. (2008), kde je rostlina *E. sphaerocephalus* uváděna jako potenciální olejnatá plodina budoucnosti. Autoři zde odkazují především na velké zastoupení linolenové kyseliny v semenech rostliny. Tato kyselina by zde měla pokrývat více než 70 % zastoupení všech mastných kyselin.

## 6.2 Bukvice lékařská (*Betonica officinalis*)

Extrakt připravený z bukvice lékařské prokázal při našem testování inhibiční aktivitu proti všem grampozitivním bakteriím. U *B. cereus* a *E. faecalis* byl však účinný pouze v nejvyšší použité koncentraci 1 024 µg/mL, u *S. aureus* v koncentraci 512 µg/mL. Pro porovnání výsledků ovšem nebyly nalezeny studie, kde by byly extrakty této rostliny podrobeny testování mikrodiluční metodou.

Paun et al. (2017) ovšem ve své studii uvádí testování extraktů *B. officinalis* diskovou difuzní metodou proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím. Hydroalkoholový extrakt se ukázal být účinný při inhibici G+ bakterie *Bacillus subtilis* a G- *Pseudomonas aeruginosa*. Druhá zmíněná bakterie byla testována i pro potřeby této práce. Ačkoli při našem výzkumu nebylo použito hydroalkoholové rozpouštědlo pro přípravu extraktů, antimikrobiálního účinku nebylo dosaženo u vodného ani ethanolového extraktu z bukvice lékařské.

## 6.3 Čertkus luční (*Succisa pratensis* Moench.)

Při testování čertkusu lučního, který byl ve Středověku používán jako všelék, byla zjištěna pouze mírná inhibice. Antimikrobiální aktivita byla stanovena u ethanolového extraktu proti *B. cereus* pouze v nejvyšší koncentraci, u bakterie *E. faecalis* bylo možné stanovit pouze IC<sub>50</sub>. Záznamy o testování extraktů této rostliny proti výše jmenovaným rostlinám nebyly nalezeny, proto by se zde mohlo jednat o první potvrzení inhibiční aktivity čertkusu lučního proti těmto bakteriím.

Witkowska-Banaszczak & Długaszewska (2017) ve své studii prezentují výsledky provedené bujónové mikrodiluční metody u vodného a methanolového extraktu proti *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* a *T. mentagrophytes*. První tři zmíněné mikroorganismy byly testovány i pro potřeby této práce, ale ani při nejvyšší testované koncentraci 1 024 µg/mL nebyla prokázána inhibiční aktivita. Ačkoli Witkowska-Banaszczak & Długaszewska (2017) zmiňují antimikrobiální aktivitu, byla naměřena velice slabá. V závislosti na použité části



rostliny (listy nebo květy), použitím rozpouštědla a testovaném mikroorganismu se hodnoty MIC pohybovaly v rozmezí 18 750 – 150 000+  $\mu\text{g/mL}$ . Nejnižší stanovená MIC = 18 750  $\mu\text{g/mL}$  byla detekována pouze v jednom případě, a to u bakterie *S. aureus* při použití vodného extraktu připraveného z listů čertkusy.

#### 6.4 Drchnička rolní (*Anagallis arvensis*)

Na rozdíl od předešlých zmíněných rostlin existuje mnoho studií o testování drchničky rolní proti různým druhům mikroorganismů. Všechny nalezené studie se shodují především na výrazné antifungální aktivitě rostliny. Antifungální aktivita proti *C. albicans* při nejvyšší testované koncentraci 1 024  $\mu\text{g/mL}$  však v této práci prokázána nebyla. López et al. (2011) ve své studii ale uvádí velmi dobrou účinnost methanolového extraktu proti stejné kvasince, kdy byla stanovena MIC = 312  $\mu\text{g/mL}$ .

Antifungální aktivita proti *C. albicans* byla potvrzena i autory Soberón et al. (2017) nejprve diskovou metodou a následně mikrodiluční metodou. Ve druhém kroku již však byly sledovány pouze jednotlivé složky extraktu, kdy byla nejvyšší inhibiční aktivita připsána triterpenoidu saponinu Anagallisinu C.

Výzkum autorů Ali-Shtayeh a Abu Ghdeib (1999) vycházel z tradičního používání rostlin v Pákistánu při dermatologických obtížích. Vodný extrakt *Anagallis arvensis* nejprve prokázal inhibici *Microsporium canis*, *Trichophyton mentagrophytes* a *Trichophyton violaceum*, kterou autoři vyjadřovali v procentech a následně provedli mikrodiluční metodu. Zde se výsledné hodnoty MIC pohybovaly od 15 – 25  $\mu\text{g/mL}$  v závislosti na testovaném mikroorganismu uvedeném výše.

O antibakteriální účinnosti se opět zmiňuje López et al. (2011), v jehož výzkumu je uvedena inhibice *B. subtilis* (MIC = 1 250  $\mu\text{g/mL}$ ) a *E. coli* (MIC > 2 500  $\mu\text{g/mL}$ ) methanolovými extrakty. *E. coli* byla podrobena testování i v našem výzkumu, počáteční koncentrace extraktu ale byla zvolena nižší a inhibiční efekt nebyl pozorován. López et al. (2011) testoval vodné a methanolové extrakty i proti bakteriím *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa*, ale nezaznamenal žádný antibakteriální efekt extraktů. Náš výzkum však při použití ethanolového extraktu prokázal měřitelnou inhibici nejen u výše jmenované bakterie *S. aureus* (MIC = 1 024  $\mu\text{g/mL}$ ), ale i u *B. cereus* a *E. faecalis* (shodně MIC = 512  $\mu\text{g/mL}$ ).

#### 6.5 Chlupáček zední (*Pilosella officinarum*)

Pomocí diskové metody již antibakteriální účinnost chlupáčku zedního potvrdili Frey a Meyers (2010). Testováním vodných extraktů proti vybraným grampozitivním a gramnegativním bakteriím byla pozorována inhibice alespoň u bakterie *S. aureus*.

Obsáhlejší analýza byla ale provedena kolektivem autorů kolem Stanojević et al. (2008), kdy byly testovány čtyři druhy extraktů (methanolový, dichlormethan methanolový, dichlormethanový a ethyl-acetátový) proti šesti bakteriím a jedné houbě. Nejlepších výsledků v celkovém měřítku bylo dosahováno použitím ethyl-acetátového extraktu. U všech

testovaných mikroorganismů (mezi nimiž se vyskytovaly i námi testované bakterie *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*) byla stanovena MIC = 10,66 mg/mL. Při našem testování bylo také dosaženo inhibice bakterie *S. aureus*, a to již při koncentraci 1 024 µg/mL. U zbylých dvou bakterií však inhibice při námi použitých koncentracích ( $\leq 1\ 024\ \mu\text{g/mL}$ ) pozorována nebyla.

## 6.6 Kohoutek luční (*Silene flos-cuculi*)

Kohoutek luční byl podroben rozsáhlému testování kolektivu autorů Yunusov et al. (2008). Z rostliny byly připraveny ethanolové, methanolové a chloroformové extrakty a diskovou difuzní metodou testovány proti 20 mikroorganismům. Všechny bakterie, s kterými jsme pracovali při našem výzkumu, byly obsaženy i v tomto vzorku. Pouze *E. coli* však byla při dané diskové metodě inhibována všemi jmenovanými extrakty. *P. aeruginosa* a *S. aureus* pak byly ovlivněny pouze některými z použitých extraktů, a naopak u bakterií *B. cereus* a *E. faecalis* nebyla pozorována inhibice růstu ani u jednoho z použitých extraktů. Právě u *E. faecalis* jako u jediné bakterie však byla při našem testování sledována inhibiční aktivita a bylo možné stanovit hodnotu MIC = 1 024 µg/mL. Velmi mírná inhibice byla pozorována i u *B. cereus*, kde však bylo možné naměřit pomocí optické denzity alespoň hodnotu IC50 při koncentraci extraktu 1 024 µg/mL.

Potencionální antifungální aktivitou se ve své práci zabývali Maliński et al. (2021). Připravené methanolové extrakty testované proti 6 houbám (mezi nimi i *C. albicans*) byla zjištěna velká variabilita v závislosti na použité části rostliny. Všechny naměřené hodnoty MIC se však pohybovaly v rozmezí 1 250 – 2 500 µg/mL. Pro *C. albicans* zde při všech testováních byla stanovena hodnota vyšší. Při našem testování jsme však od začátku pracovali s nižšími koncentracemi, což by mohlo být důvodem, proč nebylo dosaženo žádné inhibiční aktivity.

## 6.7 Marunek barvířský (*Cota tinctoria*)

Ohledně marunku barvířského je možné v literatuře najít několik zdrojů zmiňujících se o testování extraktů v *in vitro* podmínkách. Autoři Akgul a Saglikoglu (2005) například uvádějí nejprve testování extraktů připravených pomocí různě polárních rozpouštědel proti vybraným gram pozitivním a gram negativním bakteriím. Provedenou diskovou metodou byla zjištěna inhibiční účinnost především u *S. aureus* a *P. aeruginosa*. Tyto bakterie byly následně podrobeny i testování na mikrotitrační destičce za použití dichlormethanolového extraktu. U obou mikroorganismů byla následně stanovena MIC = 1 250 µg/mL. I při našem testování byla pozorována inhibiční aktivita ethanolového extraktu proti *S. aureus* (MIC = 1 024 µg/mL), růst *P. aeruginosa* však ovlivněn nebyl.

Ještě lepších výsledků však bylo dosaženo ve studii Kunduhoğlu et al. (2011). Zde autoři uvádějí velmi dobré výsledky při použití ethanolových extraktů u *S. aureus* (MIC = 250/500 µg/mL), *B. subtilis* (MIC = 500 µg/mL), *E. coli* (MIC = 125 µg/mL) a *C. albicans* (MIC > 1 000 µg/mL). U *S. aureus* se projevil rozdíl v odlišné použité části rostliny, kdy ethanolový extrakt stonku vykazoval větší inhibiční aktivitu než extrakt připravený z květu.

Ačkoli i v naší studii byla testována *E. coli* při použití ethanolového extraktu, tak nebylo dosaženo žádného účinku ani při nejvyšší testované koncentraci 1 024 µg/mL.

Erik et al. (2022) podrobil testování G+ i G- bakterie a některé houby při použití hexanových, acetonitrilových, methanolových a vodných extraktů. U *S. aureus* a *B. cereus* byla následně stanovena MIC = 274 µg/mL a to u použitého acetonitrilového extraktu marunku barvířského. I při našem testování byla pozorována inhibiční aktivita proti bakterii *B. cereus*, tu však bylo možné vyjádřit pouze jako IC<sub>50</sub> = 1 024 µg/mL). Erik et al. (2022) dále uvádí hodnotu MIC = 2 195 µg/mL v případě kvasinky *C. albicans*. V našem testování jsme však tak vysoké výchozí koncentrace extraktů nepoužívali, i proto u nás nemusela být inhibice pozorovatelná. Zároveň stejně jako při našem testování ani v této studii nebyla potvrzena inhibice *E. coli*, a to při žádné použité koncentraci. Pravděpodobně jako první jsme však úspěšně otestovali aktivitu ethanolového extraktu proti *E. faecalis* a stanovili MIC = 512 µg/mL.

## 6.8 Rozchodník největší (*Hylotelephium maximum*)

O antimikrobiálním testování rozchodníku největšího nebylo nalezeno příliš mnoho zdrojů. Plastun et al. (2018) podrobili testování ethanolové a hydroalkoholové extrakty dvou příbuzných druhů *Sedum maximum* a *Sedum telephium* proti bakteriím *S. aureus*, *E. coli* a *P. aeruginosa*. Zjištěná hodnota MIC se následně pohybovala od 1 500 – 25 000 µg/mL. Nejhorší z testování vycházela *E. coli*, u níž byla nejnižší hodnota MIC stanovena pouze na 12 500 µg/mL. Ani při našem testování nebylo dosaženo žádné antimikrobiální aktivity u této bakterie, ačkoli nejvyšší použitou koncentrací v našich pokusech bylo pouze 1 024 µg/mL.

Při testování proti *S. aureus* a *P. aeruginosa* se ve studii nejnižší koncentrace 1 500 µg/mL vyskytují při použití ethanolového extraktu z obou rostlin. U hydroalkoholového extraktu bylo této hodnoty dosaženo pouze u extraktu z rostliny *S. maximum*.

Při našem testování však byla pozorována významná inhibiční aktivita proti G+ bakteriím *B. cereus* a *S. aureus*, kdy byla v obou případech stanovena MIC = 256 µg/mL. Díky těmto hodnotám byl extrakt z rozchodníku podroben předběžné chemické analýze na nepolární koloně. Ta prokázala významné zastoupení především nasycených mastných kyselin s největším zastoupením palmitové (29,89 %) a laurové (20,32 %). Právě laurová kyselina by mohla mít významný podíl na antimikrobiálním účinku extraktu. Pomocí mikrodiluční metody byla stanovena shodná míra inhibice (MIC = 256 µg/mL) proti *S. aureus* (Lalouckova et al. 2021).

## 6.9 Řeřicha rumní (*Lepidium ruderale*)

Ani u řeřichy rumní nebylo nalezeno mnoho studií zabývajících se jejím potencionálním antimikrobiálním účinkem. Macías Alonso et al. (2020) ve své studii zkoumal aktivitu *Lepidium virginicum*, jejíž název je veden jako jedno z možných synonym *Lepidium ruderale*. Při mikrodiluční metodě prokázal ethanolový extrakt inhibici šesti mikroorganismů, z nichž největší antimikrobiální účinek (MIC = 6 000 µg/mL) byl pozorován u *Proteus vulgaris* a

*Salmonella* spp. Bakterie *S. aureus* a *E. coli* se pak ukázaly být méně citlivé a byla u nich stanovena MIC = 10 000/resp. 8 000 µg/mL).

Při našem testování však ethanolové extrakty prokázaly mnohem větší antimikrobiální aktivitu, kdy v případě bakterií *B. cereus* a *E. faecalis* byla stanovena MIC = 512 µg/mL. Ještě o polovinu nižší hodnota (MIC = 256 µg/mL) byla následně stanovena u *S. aureus*. Z důvodu zjištěné inhibiční aktivity ethanolového extraktu při *in vitro* testování byla následně i u řeřichy provedena předběžná chemická analýza složení. I zde bylo zjištěno majoritní zastoupení nasycených mastných kyselin s největším zastoupením kyseliny palmitové (27,69 %) a laurové (10,89 %). I zde by tedy mohla být kyselina laurová příčinou antimikrobiálního působení extraktu (Lalouckova et al. 2021).

Tento extrakt byl ale jediný, ve kterém byl naměřen ve velmi významné míře benzyl nitrile (9,38 %). Benzyl nitrile je těkavá látka, která se v rostlině vytváří, je-li vystavena stresu a rostlina se tímto způsobem snaží chránit (Liao et al. 2020).

## 7 Závěr

Výsledky této práce ukázaly, že všechny testované rostliny projevily určitou míru antimikrobiální aktivity proti vybraným mikroorganismům. Podařilo se tedy potvrdit hypotézu, že tyto rostliny vybrané na základě záznamů o používání v tradiční medicíně, mají prokazatelný antimikrobiální účinek.

Inhibice byla pozorována u všech ethanolových extraktů proti veškerým testovaným grampozitivním bakteriím (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*). Gramnegativní bakterie (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) ani kvasinka (*Candida albicans*) nebyly testovanými koncentracemi žádných extraktů inhibovány.

Jako nejúčinnější ethanolové extrakty z hlediska antimikrobiální aktivity byly vyhodnoceny extrakty připravené z bělotrnu kulatohlavého (*Echinops sphaerocephalus*), rozchodníku největšího (*Hylotelephium maximum*) a řeřichy rumní (*Lepidium ruderale*). U těchto extraktů byla následně provedena i předběžná chemická analýza jejich složení. Tou bylo zjištěno majoritní zastoupení nasycených mastných kyselin ve všech vzorcích, z nichž se ve všech extraktech vyskytovaly kyseliny laurová, myristová, palmová a olejová v různých poměrech. Z těchto mastných kyselin by právě kyselina laurová mohla být zodpovědná za pozorovanou antimikrobiální aktivitu extraktů.

Chemická analýza extraktů byla ale provedena jen na nepolární koloně a identifikace byla omezena pouze na nejvíce zastoupené složky. Při navazujících výzkumech by proto mohlo být přínosné komplexní zhodnocení extraktů i z hlediska zastoupených polárních látek.

## 8 Literatura

- Adams M, Alther W, Kessler M, Kluge M, Hamburger M. 2011, January 27. *Malaria in the renaissance: Remedies from European herbals from the 16th and 17th century*. Elsevier Ireland Ltd.
- Adams M, Berset C, Kessler M, Hamburger M. 2009, January 30. *Medicinal herbs for the treatment of rheumatic disorders-A survey of European herbals from the 16th and 17th century*.
- Adams M, Schneider SV, Kluge M, Kessler M, Hamburger M. 2012, August 30. *Epilepsy in the Renaissance: A survey of remedies from 16th and 17th century German herbals*.
- Adams MR, Moss MO. 2000. *Food microbiology*, 2th edition. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Akgul C, Saglikoglu G. 2005. Antibacterial activity of crude methanolic ex-tract and its fractions of aerial parts of *Anthemis tinctoria*. Page *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*.
- Ali IAA, Cheung GSP, Neelakantan P. 2022, December 1. *Transition metals and Enterococcus faecalis: Homeostasis, virulence and perspectives*. John Wiley and Sons Inc.
- Ali-Shtayeh MS, Abu Ghdeib SI. 1999. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes *Antimyzetische Aktivität von Pflanzenextrakten gegen Dermatophyten*. Page *mycoses*.
- Alonso AM, Reyes-Maldonado OK, Puebla-Pérez AM, Arreola MPG, Velasco-Ramírez SF, Zúñiga-Mayo V, Sánchez-Fernández RE, Delgado-Saucedo JI, Velázquez-Juárez G. 2022. GC/MS Analysis, Antioxidant Activity, and Antimicrobial Effect of *Pelargonium peltatum* (Geraniaceae). *Molecules* **27**. MDPI.
- Ayalew H, Tewelde E, Abebe B, Alebachew Y, Tadesse S. 2022, July 15. *Endemic medicinal plants of Ethiopia: Ethnomedicinal uses, biological activities and chemical constituents*. Elsevier Ireland Ltd.
- Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. 2016, April 1. *Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review*. Xi'an Jiaotong University.
- Bitew H, Hymete A. 2019. The genus *Echinops*: Phytochemistry and biological activities: A review. *Frontiers in Pharmacology* **10**. Frontiers Media S.A.
- Cakilcioglu U, Khatun S, Turkoglu I, Hayta S. 2011. Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazig-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology* **137**:469–486.
- Calvo MI, Akerreta S, Cavero RY. 2011. Pharmaceutical ethnobotany in the Riverside of Navarra (Iberian Peninsula). *Journal of Ethnopharmacology* **135**:22–33.
- Castañeda R, Cáceres A, Velásquez D, Rodríguez C, Morales D, Castillo A. 2022, January 30. *Medicinal plants used in traditional Mayan medicine for the treatment of central nervous system disorders: An overview*. Elsevier Ireland Ltd.
- Cavero RY, Akerreta S, Calvo MI. 2011. Pharmaceutical ethnobotany in the Middle Navarra (Iberian Peninsula). *Journal of Ethnopharmacology* **137**:844–855.
- Cavero RY, Akerreta S, Calvo MI. 2013. Medicinal plants used for dermatological affections in Navarra and their pharmacological validation. *Journal of Ethnopharmacology* **149**:533–542.
- Chong KKL et al. 2017. *Enterococcus faecalis Modulates Immune Activation and Slows Healing during Wound Infection*. *Journal of Infectious Diseases* **216**:1644–1654. Oxford University Press.

- CLSI. 2013. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement, CLSI document M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institut, Wayne, PA, USA.
- Cornara L, La Rocca A, Terrizzano L, Dente F, Mariotti MG. 2014. Ethnobotanical and phytomedical knowledge in the North-Western Ligurian Alps. *Journal of Ethnopharmacology* **155**:463–484. Elsevier Ireland Ltd.
- Dal Cero M, Saller R, Weckerle CS. 2014. The use of the local flora in Switzerland: A comparison of past and recent medicinal plant knowledge. *Journal of Ethnopharmacology* **151**:253–264.
- de Menezes BB, Frescura LM, Duarte R, Villetti MA, da Rosa MB. 2021. A critical examination of the DPPH method: Mistakes and inconsistencies in stoichiometry and IC50 determination by UV–Vis spectroscopy. *Analytica Chimica Acta* **1157**. Elsevier B.V.
- De Natale A, Pollio A. 2007. Plants species in the folk medicine of Montecorvino Rovella (inland Campania, Italy). *Journal of Ethnopharmacology* **109**:295–303.
- Demnerová K. 2016. Laboratoř mikrobiologického zkoumání potravin I. Vysoká škola chemicko-technologická, Praha.
- Dilika F, Bremner PD, Meyer JJM. 2000. Antibacterial activity of linoleic and oleic acids isolated from *Helichrysum pedunculatum*: a plant used during circumcision rites. *Page Fitoterapia*.
- Erik İ, Bozdal G, Sener SÖ, Korkmaz B, Karaoğlu ŞA, Terzioğlu S, Yayli N. 2022. Antimicrobial and lipase inhibition of essential oil and solvent extracts of *Cota tinctoria* var. *tinctoria* and characterization of the essential oil. *Turkish Journal of Chemistry* **46**:1234–1244. TUBITAK.
- Espinel-Ingroff A, Cantón E. 2007. Antifungal Susceptibility Testing of Yeast. Page in Schwalbe R, Steele-Moore L, Goodwin C. A, editors. *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- EUCAST. 2000. Terminology relating to methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.
- Frey FM, Meyers R. 2010. Antibacterial activity of traditional medicinal plants used by Haudenosaunee peoples of New York State. Available from <http://rsb.info.nih.gov/ij/>.
- Gawrońska-Grzywacz M, Krzaczek T, Nowak R, Los R, Malm A, Cyranka M, Rzeski W. 2011. Biological activity of new flavonoid from *Hieracium pilosella* L. *Central European Journal of Biology* **6**:397–404.
- Görner F, Valík Ľ. 2004. Aplikovaná mikrobiológia potravín: princípy mikrobiológie potravín, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho povodu, ktorých zárodky sú prenášané potravinami I. Malé centrum, Bratislava.
- Gras A, Garnatje T, Ibáñez N, López-Pujol J, Nualart N, Vallès J. 2017. Medicinal plant uses and names from the herbarium of Francesc Bolòs (1773–1844). *Journal of Ethnopharmacology* **204**:142–168. Elsevier Ireland Ltd.
- Gras A, Parada M, Rigat M, Vallès J, Garnatje T. 2018. Folk medicinal plant mixtures: Establishing a protocol for further studies. *Journal of Ethnopharmacology* **214**:244–273. Elsevier Ireland Ltd.

- Gürağaç Dereli FT, İlhan M, Küpeli Akkol E. 2018. Discovery of new antidepressant agents: In vivo study on *Anthemis wiedemanniana* Fisch. & Mey. *Journal of Ethnopharmacology* **226**:11–16. Elsevier Ireland Ltd.
- Horn G, Kupfer A, Kalbitz J, Gerdelbracht HJ, Kluge H, Eder K, Dräger B. 2008. Great globe thistle fruit (*Echinops sphaerocephalus* L.), a potential new oil crop. *European Journal of Lipid Science and Technology* **110**:662–667.
- Jäger AK, Gauguin B, Adersen A, Gudiksen L. 2006. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat epilepsy and convulsions. *Journal of Ethnopharmacology* **105**:294–300.
- Janča J, Zentrich JA. 1994. *Herbář léčivých rostlin 1. díl*. EMINENT, Praha.
- Janča J, Zentrich JA. 1995. *Herbář léčivých rostlin 2. díl*. EMINENT, Praha.
- Janča J, Zentrich JA. 1996. *Herbář léčivých rostlin 4. díl*. EMINENT, Praha.
- Janča J, Zentrich JA. 1998. *Herbář léčivých rostlin 6. díl (doplňk)*. EMINENT, Praha.
- Jarić S, Mačukanović-Jocić M, Djurdjević L, Mitrović M, Kostić O, Karadžić B, Pavlović P. 2015. An ethnobotanical survey of traditionally used plants on Suva planina mountain (south-eastern Serbia). *Journal of Ethnopharmacology* **175**:93–108. Elsevier Ireland Ltd.
- Jarić S, Mitrović M, Djurdjević L, Kostić O, Gajić G, Pavlović D, Pavlović P. 2011. Phytotherapy in medieval Serbian medicine according to the pharmacological manuscripts of the Chilandar Medical Codex (15-16th centuries). *Journal of Ethnopharmacology* **137**:601–619.
- Jovanovic J, Ornelis VFM, Madder A, Rajkovic A. 2021. *Bacillus cereus* food intoxication and toxicoinfection. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **20**:3719–3761. Blackwell Publishing Inc.
- Jurado-Martín I, Sainz-Mejías M, McClean S. 2021, March 2. *Pseudomonas aeruginosa*: An audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors. MDPI AG.
- Kalle R, Sõukand R. 2021. The name to remember: Flexibility and contextuality of preliterate folk plant categorization from the 1830s, in Pernau, Livonia, historical region on the eastern coast of the Baltic Sea. *Journal of Ethnopharmacology* **264**. Elsevier Ireland Ltd.
- Karunakaran G, Jagathambal M, Kumar GS, Kolesnikov E. 2020. *Hylotelephium telephium* Flower Extract-Mediated Biosynthesis of CuO and ZnO Nanoparticles with Promising Antioxidant and Antibacterial Properties for Healthcare Applications. *JOM* **72**:1264–1272. Springer.
- Klaban V. 2011. *Ekologie mikroorganismů: ilustrovaný lexikon biologie, ekologie a patogenity mikroorganismů* První vydání. Galén, Praha.
- Kolossova V, Pashkova T, Muslimov M, Sõukand R. 2022, January 10. Historical Review of Ethnopharmacology in Karelia (1850s–2020s): Herbs and healers. Elsevier Ireland Ltd.
- Kunduhoglu B, Pilatin S, Caliskan F, Kunduhoglu B. 2011. Antimicrobial screening of some medicinal plants collected from eskisehir, Turkey.
- Lalouckova K, Skrivanova E, Rondevaldova J, Frankova A, Soukup J, Kokoska L. 2021. In vitro antagonistic inhibitory effects of palm seed crude oils and their main constituent, lauric acid, with oxacillin in *Staphylococcus aureus*. *Scientific Reports* **11**. Nature Research.
- Leporatti ML, Ivancheva S. 2003. Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *Journal of Ethnopharmacology* **87**:123–142. Elsevier Ireland Ltd.



- Leto C, Tuttolomondo T, La Bella S, Licata M. 2013. Ethnobotanical study in the Madonie Regional Park (Central Sicily, Italy) - Medicinal use of wild shrub and herbaceous plant species. *Journal of Ethnopharmacology* **146**:90–112.
- Liao Y, Zeng L, Tan H, Cheng S, Dong F, Yang Z. 2020. Biochemical Pathway of Benzyl Nitrile Derived from l -Phenylalanine in Tea (*Camellia sinensis*) and Its Formation in Response to Postharvest Stresses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **68**:1397–1404. American Chemical Society.
- Linstrom P.J. and Mallard W.G. 1996. NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD. Available from <https://www.nist.gov/> (accessed April 2023).
- López V, Jäger AK, Akerreta S, Cavero RY, Calvo MI. 2011. Pharmacological properties of *Anagallis arvensis* L. (“scarlet pimpernel”) and *Anagallis foemina* Mill. (“blue pimpernel”) traditionally used as wound healing remedies in Navarra (Spain). *Journal of Ethnopharmacology* **134**:1014–1017.
- Macías Alonso M, López Salazar JC, Osegueda Robles S, Córdova Guerrero I, Ledezma García F, Marrero JG. 2020. In vitro antimicrobial activity of mexican plants on bovine mastitis bacteria: Preliminary studies. *Bioscience Journal* **36**:183–190. Universidade Federal de Uberlandia.
- Maliński MP, Budzianowski J, Kikowska M, Derda M, Jaworska MM, Mlynarczyk DT, Szukalska M, Florek E, Thiem B. 2021. Two ecdysteroids isolated from micropropagated *lychnis flos-cuculi* and the biological activity of plant. *Molecules* **26**. MDPI AG.
- Maliński MP, Michalska AD, Tomczykowa M, Tomczyk M, Thiem B. 2014. Ragged Robin (*Lychnis flos-cuculi*) - A plant with potential medicinal value. *Sociedade Brasileira de Farmacognosia*.
- Matuschek E, Brown DFJ, Kahlmeter G. 2014. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection* **20**. Blackwell Publishing Ltd.
- Mayer FL, Wilson D, Hube B. 2013, February 15. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. Taylor and Francis Inc.
- Mbuni YM, Wang S, Mwangi BN, Mbari NJ, Musili PM, Walter NO, Hu G, Zhou Y, Wang Q. 2020. Medicinal plants and their traditional uses in local communities around cherangani hills, western Kenya. *Plants* **9**. MDPI AG.
- Menendez-Baceta G, Aceituno-Mata L, Molina M, Reyes-García V, Tardío J, Pardo-De-Santayana M. 2014. Medicinal plants traditionally used in the northwest of the Basque Country (Biscay and Alava), Iberian Peninsula. *Journal of Ethnopharmacology* **152**:113–134. Elsevier Ireland Ltd.
- Menković N, Šavikin K, Tasić S, Zdunić G, Stešević D, Milosavljević S, Vincek D. 2011. Ethnobotanical study on traditional uses of wild medicinal plants in Prokletije Mountains (Montenegro). *Journal of Ethnopharmacology* **133**:97–107.
- Němec M, Matoulková D. 2015. *Základy obecné mikrobiologie*. Masarykova univerzita, Brno.
- Nobile CJ, Johnson AD. 2015, October 15. *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. Annual Reviews Inc.
- Ouattara B, Simard RE, Holley RA, J-P Piette G, Begin A. 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *Page International Journal of Food Microbiology*.

- Özdemir E, Alpinar K. 2015. An ethnobotanical survey of medicinal plants in western part of central Taurus Mountains: Aladaglar (Nigde - Turkey). *Journal of Ethnopharmacology* **166**:53–65. Elsevier Ireland Ltd.
- Paun G, Neagu E, Moroeanu V, Ungureanu O, Cretu R, Ionescu E, Elena Tebrencu C, Ionescu R, Stoica I, Radu GL. 2017. Phytochemical analysis and in vitro biological activity of *Betonica officinalis* and *Salvia officinalis* extracts. *Page Romanian Biotechnological Letters*.
- Plastun VO, Raikova S V., Durnova NA, Zaraeva N V., Golikov AG. 2018. Comparative Analysis of the Antimicrobial Activity of Extracts from Two Stonecrop Species (*Sedum Maximum* L. Hoffm. and *S. Telephium* L.). *Pharmaceutical Chemistry Journal* **51**:918–921. Springer New York LLC.
- Polat R, Satil F. 2012. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Edremit Gulf (Balıkesir - Turkey). *Journal of Ethnopharmacology* **139**:626–641.
- Qaiyumi S. 2007. Macro- and Microdilution Methods of Antimicrobial Susceptibility Testing. Page in Schwalbe R, Steele-Moore L, Goodwin C. A, editors. *Antifungal Susceptibility Testing of Yeast*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Qasem JR. 2011. Parasitic Weeds of Jordan View project Endophytic fungal entomopathogens for multiple use in sustainable agriculture View project. Page Article in *Allelopathy Journal*. Available from <https://www.researchgate.net/publication/273446606>.
- Ríos JL, Recio MC. 2005, August 22. Medicinal plants and antimicrobial activity. Elsevier Ireland Ltd.
- Rosenbaum A, Papaliadis D, Alley RM, Lisella J, Flaherty M. 2013. *Bacillus cereus* Fasciitis: A Unique Pathogen and Clinically Challenging Sequela of Inoculation Case Report.
- Saqib F, Janbaz KH. 2021. Ethnopharmacological basis for folkloric claims of *Anagallis arvensis* Linn. (Scarlet Pimpernel) as prokinetic, spasmolytic and hypotensive in province of Punjab, Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology* **267**. Elsevier Ireland Ltd.
- Sargin SA. 2021, January 30. Potential anti-influenza effective plants used in Turkish folk medicine: A review. Elsevier Ireland Ltd.
- Šilhánková L. 2002. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii 3. Academia, Praha.
- Silva NCC, Fernandes Júnior A. 2010. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* **16**:402–413. Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP/UNESP).
- Šliumpaite I, Venskutonis PR, Murkovic M, Ragažinskiene O. 2013. Antioxidant properties and phenolic composition of wood betony (*Betonica officinalis* L., syn. *Stachys officinalis* L.). *Industrial Crops and Products* **50**:715–722.
- Soberón JR, Sgariglia MA, Pastoriza AC, Soruco EM, Jäger SN, Labadie GR, Sampietro DA, Vattuone MA. 2017. Antifungal activity and cytotoxicity of extracts and triterpenoid saponins obtained from the aerial parts of *Anagallis arvensis* L. *Journal of Ethnopharmacology* **203**:233–240. Elsevier Ireland Ltd.
- Stanojević LP, Stanković MZ, Nikolić VD, Nikolić LB. 2008. Anti-oxidative and antimicrobial activities of *Hieracium pilosella* L. extracts. *Journal of the Serbian Chemical Society* **73**:531–540. Serbian Chemical Society.
- Tomczyk M. 2008. Preliminary phytochemical investigation of *Lychnis flos-cuculi* herbs. *Journal of Natural Medicines* **62**:473–475.

- Toroglu S, Keskin D, Vural C, Kertmen M, Cenet M. 2012. Comparison of Antimicrobial Activity of *Echinops viscosus* Subsp. *Bithynicus* and *E. microcephalus* Leaves and Flowers Extracts from Turkey. Kahramanmaras.
- Vanegas D, Abril Novillo A, Khachatryan A, Jerves Andrade L, Peñaherrera E, Cuzco N, Wilches I, Calle J, Fabián L-T. 2021. Validation of a method of broth microdilution for the determination of antibacterial activity of essential oils. *BMC Research Notes* **14**. BioMed Central Ltd.
- Vogl S et al. 2013. Ethnopharmacological in vitro studies on Austria's folk medicine - An unexplored lore in vitro anti-inflammatory activities of 71 Austrian traditional herbal drugs. *Journal of Ethnopharmacology* **149**:750–771.
- Votava M. 2005. Lékařská mikrobiologie obecná - 2. přepracované vydání. NEPTUN, Brno.
- Votava M et al. 2003. Lékařská mikrobiologie speciální. NEPTUN, Brno.
- Wagner CS, De Gezelle J, Robertson M, Robertson K, Wilson M, Komarnytsky S. 2017. Antibacterial activity of medicinal plants from The Physicians of Myddvai, a 13th century Welsh medical manuscript. *Journal of Ethnopharmacology* **203**:171–181. Elsevier Ireland Ltd.
- Willer J, Zidorn C, Juan-Vicedo J. 2021, December 5. Ethnopharmacology, phytochemistry, and bioactivities of *Hieracium* L. and *Pilosella* Hill (Cichorieae, Asteraceae) species. Elsevier Ireland Ltd.
- Witkowska-Banaszczak E, Długaszewska J. 2017. Essential oils and hydrophilic extracts from the leaves and flowers of *Succisa pratensis* Moench. and their biological activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **69**:1531–1539. Blackwell Publishing Ltd.
- Wright CI, Van-Buren L, Kroner CI, Koning MMG. 2007, October 8. Herbal medicines as diuretics: A review of the scientific evidence.
- Yunusov SY, Mamadalieva NZ, Egamberdieva D, Lafont R, Girault JP. 2008. Phytoecdysteroids and antibacterial activity of the plant *Coronaria flos-cuculi*. *Page Chemistry of Natural Compounds*.

## 9 Seznam použitých zkratk a symbolů

ATB – antibiotikum

č. – číslo

DMSO – dimethylsulfoxid

GC – plynová chromatografie

IC<sub>50</sub> – koncentrace inhibující alespoň 50 % mikroorganismů

MHB – Mueller-Hinton Broth

MIC – minimální inhibiční koncentrace

např. – například

příp. – případně

popř. – popřípadě

resp. – respektive

SDB – Sabouraud Dextrose Broth

tzn. – to znamená