

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinářských a přírodních zdrojů
Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Etnobotanika a etnofarmakologie šumavských rostlin se speciálním
ohledem na hojení ran**

Diplomová práce

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: Ing. Jan Tauchen, Ph.D.

Konzultanti práce: doc. Ing. Adéla Fraňková, Ing. Tomáš Skala

Autor práce: Bc. Marek Žinčák

© 2023 ČZU v Praze

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Ing. Marek Žinčák

Výživa a potraviny

Název práce

Etnobotanika a etnofarmakologie šumavských rostlin se speciálním ohledem na hojení ran

Název anglicky

Ethnobotany and ethnopharmacology of plants from the Bohemerwald region with special emphasis on wound healing

Cíle práce

Obyvatelstvo Šumavy bylo, díky odlehlosti této lokality, poměrně výrazně závislé na alternativních zdrojích medicíny, konkrétně léčivých rostlinách. Vzhledem k typizaci zranění (různé úrazy, řezné a bodné rány apod.) obecně se hojněji vyskytujících v horských oblastech, je velice možné, že výraznou součástí šumavské folklorní medicíny bylo hojení ran za využití rostlin a jejich extraktů. Cílem této práce bude dle etnobotanické indikace vytipovat rostliny, které se na Šumavě k těmto účelům využívaly, pomocí in vitro technik popsat možné mechanismy účinku hojení ran těchto rostlin a nastínit, jaké rostlinné sekundární metabolity by za tuto aktivitu mohly být zodpovědné. Výsledky této studie by mohly být nápomocné při vývoji mastí/potravinových doplňků určených k urychlení hojení ran. Hypotéza: systematické testování rostlinného materiálu, který je využíván ve folklorní medicíně pro hojení ran může vést k objevu extraktů či jednotlivých látek s výraznou podporou hojení rad.

Metodika

Přehledová část práce bude zaměřena na shrnutí konvenčně využívaných léčebných postupů a možného využití rostlin při hojení ran, včetně nastínění mechanismu léčebného účinku. Rostlinné druhy pro následné testování budou vytipovány na základě jejich etnomedicinálních indikací spojených s tradičním využitím těchto rostlin při hojení ran (dle dostupné literatury a vědeckých databází WOS, Scopus, PubMed). Možné využití vybraných druhů pro indukcí hojení ran bude stanoveno pomocí in vitro metod (viz antimikrobiální aktivita). Rovněž bude nastíněno jaké látky jsou potenciálně zodpovědné za tento biologický účinek (viz stnovení alkaloidů dle Draggendorfova činidla a fenolických látek dle Folin-Ciocalteu činidla).

Tímto prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Etnobotanika a etnofarmakologie šumavských rostlin se speciálním ohledem na hojení ran vypracoval samostatně a použil pouze zdroje, které cituji a uvádím v příložené bibliografii. Jako autor diplomové práce prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 2. 4. 2023

podpis autora

Poděkování

Tímto bych rád poděkoval vedoucímu práce Ing. Janu Tauchenovi, Ph.D. za vloženu důvěru, rady, přátelský přístup a možnost pokračovat ve výzkumu, který jsem započnul v mé bakalářské práci. Dále bych rád poděkoval konzultantům Ing. Tomášovi Skalovi a doc. Ing. Adéle Fraňkové, Ph.D. za jejich konzultace, připomínky a rady, bez kterých by tato diplomová práce nevznikla.

Abstrakt

Mezi všemi organismy, které člověk využívá ve svůj prospěch, rostliny vynikají jako jedny z nejzásadnějších poskytovatelů přírodních zdrojů. Uplatnění rostlin zahrnuje jak praktické využití pro výrobu potravin, oděvů a léků, tak symbolické využití například v umění a literatuře. Rostliny se od nejstarších dob používají v lidové medicíně i moderním lékařství, kde poskytují širokou škálu biologicky aktivních látek využívaných v léčbě nemocí a zranění. Tyto látky se používají buď v surové formě bylinných drog nebo se z rostlinných zdrojů extrahují, a pokud je to možné i syntetizují, pro použití v moderní medicíně. Mnoho z těchto využívaných bylinných drog a moderních léčiv zahrnuje produkty sekundárního metabolismu, které jsou lidmi používány kvůli svým hojivým a mikrobiální účinkům.

Tato práce se zabývá charakterizací *in vitro* antimikrobiální a potencionální cytotoxické aktivity 9 vzorků léčivých rostlin z oblasti NP Šumava. Pro stanovení životaschopnosti buněčných linií HaCaT byl použit MTT test, který je založen na metabolické přeměně tetrazolium bromidu (MTT) na formazan. Ke stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) 7 vybraných patogenních mikroorganismů zahrnující rody *Streptococcus* a *Staphylococcus* byla použita mikrodiluční bujónová metoda.

V rámci experimentů byla prokázána antimikrobiální aktivita u všech testovaných rostlin. Nejcitlivějším testovaným mikroorganismem byl *S. epidermidis* CCM 4418, který byl inhibován 8 z 9 testovaných extraktů. Nejúčinnější spektrum účinku bylo pozorováno u extraktu z *Epilobium angustifolium*, který vykazoval nejnižší inhibiční koncentrace u 5 ze 7 testovaných patogenů. Tento extrakt taktéž vykázal nejnižší inhibiční koncentraci z celého testu ($IC_{80} = 128 \mu\text{g/ml}$). U zbylých rostlinných extraktů byla naměřena nízká antimikrobiální aktivita s MIC pohybující se v rozmezí 1024–2048 $\mu\text{g/ml}$. Výsledky MTT testu vykazovaly závislost mezi viabilitou testovaných buněk a koncentrací i dobou účinku extraktů. Extrakty při 24hodinovém působení podpořily aktivitu HaCaT buněk, nicméně při 72hodinovém působení extrakty průměrně snižovali viabilitu buněk nebo byl účinek srovnatelný s kontrolou. Nejmenší aktivita buněk u 24hodinové inkubace byla sledována u extraktu z *E. angustifolium* při koncentraci 256 $\mu\text{g/ml}$, kdy vykazovaná viabilita činila $95 \pm 10 \%$. Naopak největší aktivitu vykazovali buňky při nejnižších koncentracích všech 9 extraktů (2 a 4 $\mu\text{g/ml}$), kdy v některých případech šlo průměrně až o 40–50 % nárůst. Mezi nejvíce účinné extrakty ve zmíněných koncentracích patří *Clinopodium vulgare* ($164 \pm 43 \%$), *Melampyrum sylvaticum* ($169 \pm 53 \%$), *Knautia arvensis* ($158 \pm 40 \%$) a *Viola arvensis* ($154 \pm 33 \%$).

U 72hodinové inkubace byl pozorován silnější negativní vliv extraktů na aktivitu keratinocytů v závislosti na koncentraci. U hodnot 128 a 256 $\mu\text{g/ml}$ byl již zaznamenán výrazný negativní účinek 5 extraktů na proliferaci. Nejtoxičtěji se jeví extrakt z *E. angustifolium*, který při koncentraci 128 $\mu\text{g/ml}$ snížil viabilitu na $59\pm 2\%$ a při 256 $\mu\text{g/ml}$ na $42\pm 6\%$. Žádný z testovaných extraktů neměl při 72hodinové inkubaci průkazný pozitivní vliv na proliferaci testovaných keratinocytů.

Výsledky naznačují, že některé z testovaných rostlin by mohly být perspektivním zdrojem bioaktivních látek pro vývoj nových rostlinných léčiv. Nezbytný další výzkum v podobě *in vivo* testů a klinických studií by případně potvrdil, zda uvedené účinky jsou použitelné v lékařské praxi.

Klíčová slova: antimikrobiální, cytotoxicita, etnobotanika, hojení ran, lidové léčitelství

Abstract

Among all the organisms that humans used for their benefit, plants stand out as one of the most essential providers of natural resources. The uses of plants range from practical uses for food, clothing and medicine to symbolic uses in, for example, art and literature. Plants have been used in folk medicine since ancient times and also in modern medicine, providing a wide range of biologically active substances used in the treatment of diseases and injuries. These substances are either used in the crude form of herbal drugs or extracted from plant sources, and synthesised if possible, for use in modern medicine. Many of these utilized herbal drugs and modern medicines include products of secondary metabolism that are used by humans for their healing and microbial effect.

This work deals with the characterization of in vitro antimicrobial and potential cytotoxic activity of 9 medicinal plant samples from the Šumava NP area. The MTT assay, which is based on the metabolic conversion of tetrazolium bromide (MTT) to formazan, was used to determine the viability of HaCaT cell lines. The microdilution broth method was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of 7 selected pathogenic microorganisms including the genera *Streptococcus* and *Staphylococcus*. The experiments showed antimicrobial activity in all the tested plants. The most sensitive microorganism tested was *S. epidermidis* CCM 4418, which was inhibited by 8 of the 9 extracts tested. The most potent spectrum of action was observed for the extract of *Epilobium angustifolium*, which showed the lowest inhibitory concentrations for 5 of the 7 pathogens tested. This extract also showed the lowest inhibitory concentration of the whole test ($IC_{80} = 128 \mu\text{g/ml}$). Low antimicrobial activity was measured for the remaining plant extracts with MICs ranging from 1024-2048 $\mu\text{g/ml}$. The MTT assay results showed a relationship between the viability of the tested cells and the concentration and duration of action of the extracts. The extracts promoted the activity of HaCaT cells at 24 h exposure, however, at 72 h exposure, the extracts on average reduced cell viability or the effect was comparable to the control. The lowest cell activity at 24 hour incubation was observed for the *E. angustifolium* extract at a concentration of 256 $\mu\text{g/ml}$, when the reported viability was $95 \pm 10 \%$. On the other hand, the highest cell activity was observed at the lowest concentrations of all 9 extracts (2 and 4 $\mu\text{g/ml}$), with an average increase of 40-50 % in some cases. The most effective extracts in the mentioned concentrations include *Clinopodium vulgare* ($164 \pm 43\%$), *Melampyrum sylvaticum* ($169 \pm 53\%$), *Knautia arvensis* ($158 \pm 40\%$) and *Viola arvensis* ($154 \pm 33\%$). A stronger negative effect of the extracts on keratinocyte activity was observed for 72 h incubation as a

concentration dependent effect. At the values of 128 and 256 $\mu\text{g/ml}$, a significant negative effect of the 5 extracts on proliferation was already observed. The extract of *E. angustifolium* appeared to be the most toxic, decreasing viability to $59\pm 2\%$ at $128\mu\text{g/ml}$ and to $42\pm 6\%$ at $256\mu\text{g/ml}$. None of the tested extracts had a conclusive positive effect on the proliferation of the tested keratinocytes at 72 h incubation.

The results suggest that some of the tested plants could be a promising source of bioactive compounds for the development of new plant drugs. Further research in the form of in vivo tests and clinical trials would be necessary to eventually confirm whether these effects are applicable in medical practice.

Key words: antimicrobial, cytotoxicity, ethnobotany, wound healing, folk medicine

Obsah

1.	Úvod	1
2.	Cíl práce	3
2.1.	Hypotéza	3
3.	Literární rešerše	4
3.1.	Rostliny jako zdroj biologicky aktivních látek	4
3.2.	Tradiční léčitelství a etnobotanika v hledání nových biologicky aktivních látek a potencionálních léčiv	8
3.2.1.	Lidové léčitelství a ranhojičství	9
3.3.	Šumava	11
3.4.	Hojení ran	13
3.5.	Charakteristika vybraných šumavských rostlin využívaných při hojení ran	17
3.5.1.	Klinopád obecný (<i>Clinopodium vulgare</i> L.)	17
3.5.2.	Černýš lesní (<i>Melampyrum sylvaticum</i> L.)	18
3.5.3.	Chrastavec rolní (<i>Knautia arvensis</i> , subsp. <i>arvensis</i>)	19
3.5.4.	Podběl lékařský (<i>Tussilago farfara</i> L.)	21
3.5.5.	Violka rolní (<i>Viola arvensis</i> Murray)	22
3.5.6.	Vrbovka úzkolistá (<i>Epilobium angustifolium</i> L.)	23
3.5.7.	Světlík lékařský (<i>Euphrasia officinalis</i> L.)	25
3.5.8.	Zběhovec plazivý (<i>Ajuga reptans</i> L.)	26
3.5.9.	Devětsil lékařský (<i>Petasites hybridus</i> (L.) G. Gaertn. et Al.)	27
4.	Materiál a metodika	30
4.1.	Rostlinné vzorky	30
4.2.	Použité chemikálie	30
4.3.	Příprava vzorků	31
4.4.	Testované mikroorganismy	31
4.5.	Antimikrobiální aktivita	32
4.6.	Stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC)	32
4.7.	Kultivace a příprava keratinocytů	33
4.8.	MTT test životaschopnosti buněk	33
5.	Výsledky	35
5.1.	Antimikrobiální aktivita rostlinných extraktů	35
5.2.	Vliv extraktů na proliferaci keratinocytů	36
6.	Diskuse	40

7. Závěr.....	47
8. Bibliografie	48
9. Seznam tabulek.....	59
10. Seznam grafů.....	60

1. Úvod

Již od zrodu prvotních civilizací byla příroda zdrojem širokého spektra surovin, které člověku zajistili pokrytí základních i nadstandardních potřeb. Při vývoj těchto potřeb byla vždy zahrnuta snaha o přežití a tím i péče o lidské zdraví. Přírodní látky byli po dlouhou dobu jediným způsobem, jak případné zdravotní komplikace léčit. O pokročilém používání přírodních látek v terapeutickém ohledu a jeho rozvoji vypovídají díla autorů jak antické říše, tak středověká a novodobá literatura. S rozvojem medicíny, chemie a jiných přírodních věd bylo možno využité přírodní látky z rostlin izolovat a identifikovat jejich chemické složení, biologický účinek a přesné využití ve specifickém sektoru léčby nemocí (Mukherjee, 2010). Mezi významné izolované a identifikované látky patří hlavně produkty sekundárního metabolismu rostlin, mezi které patří například morfin, kodein, digitoxin, chinin, pilokarpin, kofein a kapsaicin. S nabývajícimi znalostmi farmakologů o účincích, složení a použití přírodních látek, se začaly formovat samostatné vědní obory, které dále napomáhají v honbě za novými potencionálními léčivy (Salmerón-Manzano, 2020). Mezi ně patří například farmakognozie, která se zabývá původem, získáváním a popisem účinků léčiv, a farmakodynamika, jejíž náplní je zkoumat působení léčiv na lidský a zvířecí organismus (Orhan, 2014).

Etnobotanika patří mezi důležitý vědní obor, který funguje jako most spojující přírodní a společenské vědy a zároveň razantně ovlivňuje dynamiku objevování nových rostlin a přírodních látek. Tento obor studuje jak vztah mezi lidmi a rostlinami, které dané kultury používají z rozličných důvodů, tak jejich ekologické, enviromentální a sociální souvislosti. V současných dobách se etnobotanika využívá jako cenný pomocník v rozvoji mnoha oblastí vědy, mezi které patří i farmakologie a medicína. Botanické sbírky etnobotaniků a systematické studium domorodých lékopisů hraje důležitou roli při objevování nových přírodních léčiv. S tímto souvisí i stále aktuálnější potřeba vědeckého výzkumu léčivých rostlin využívaných v lidových a domorodých medicínách celého světa (Qureshi, 2016). Kromě vysoce vyvinutých tropických ekosystémů, vyskytujících se okolo rovníku, se za kvalitní zdroj nových etnobotanických informací dají považovat také odlehlé horské oblasti, které mohou být z důvodů špatné dostupnosti nedostatečně prozkoumány. Za tyto oblasti lze považovat například rozličná euroasijská horská pásma zahrnující také pohoří Šumavy (Purohit, 2019).

Záznamy o šumavské lidové medicíně jsou velmi limitované a těžce dohledatelné, nicméně členitost zdejšího terénu, nedostupnost lékařských zařízení a pravděpodobnost zranění při práci v horském prostředí nám naznačuje, že tradice používání šumavských rostlin k léčbě nemocí a úrazů je stejně stará, jako první doložený záznam o kolonizaci této významné horské oblasti. Závislost na alternativní medicíně a zdejších léčitelích je v tomto kraji nesporná a v mnoha případech se mohlo jednat o jediný způsob, jak nemoc či zranění řešit. Vědění zdejších léčitelů tedy zahrnovalo jak botanické znalosti rostlinných druhů a jejich biologická aktivita na lidský organismus ve výsledně podané formě, tak jejich správná příprava a aplikace na konkrétní zdravotní problémy. Kromě častých chorob a nemocí se zdejší léčitelé museli hlavně vypořádat s úrazy a zraněními, které jsou ve zdejším prostředí častými nehodami.

Hojení ran lze vysvětlit jako náročný proces, při kterém dochází k nápravě a regeneraci poškozené tkáně. Jedná se o proces bezprostřední, neustálý, a zahrnuje řetězovou reakci organismem kontrolovaných kroků, které vzájemně souvisí s přítomností a aktivitou různých typů buněk v místě vzniku rány. I přes nepřetržitost zmíněného procesu se tento děj rozděluje do několika jednotlivých fází, které postupně či souběžně zajišťují správný postup léčby. První fáze spočívá v zástavě krvácení a následné zánětlivé reakci, poté následuje fáze proliferace, která je následována remodelizací tkáně. Finální proces způsobí tvorbu jizvy (Gonzalez, 2016). S hojením některých ran nám mohou pomoci i některé léčivé rostliny, které jsou využívány jak v lidovém léčitelství, tak v moderní medicíně. Výše zmíněné produkty sekundárního metabolitu rostlin mohou pomoci svými antimikrobiálními a hojivými účinky a tím proces hojení zrychlit (Shedoeva, 2019).

Z výše uvedených informací se tato práce zabývá popsáním etnobotanických a farmakologických informací o specifických šumavských rostlinách a jejich potencionálních hojivých a antimikrobiálních účincích. Diplomová práce se rovněž zaměřuje jak na stanovení antimikrobiální aktivity vůči vybraným mikrobiálním patogenům, které mohou být zodpovědné za infekci ran a tím pádem i zhoršení průběhu hojení, tak na otestování toxicity rostlinných extraktů na laboratorně kultivovaných keratinocytech a případného zjištění, jak výtažky mohou ovlivňovat životaschopnost a mitózu buněk v *in vitro* podmínkách.

2. Cíl práce

Cílem diplomové práce je otestovat *in vitro* antimikrobiální aktivitu extraktů z vybraných druhů planě rostoucích šumavských rostlin lidově využívaných jakožto hojivé medikamenty na mikroorganismech, které se mohou vyskytovat v infikovaných ranách. Cílem je taktéž otestování výše zmíněných extraktů na laboratorně kultivovaných keratinocytech a zjištění, zda rostlinné výtažky inhibují či stimulují mitózu pokožkových buněk.

2.1. Hypotéza

Sekundární metabolity, jakožto součást obranných mechanismů rostlin, často působí hojivě a antimikrobiálně. Na základě systematického screeningu rostlin šumavské oblasti s existujícím lidovým záznamem o léčivém a antimikrobiálním účinku lze usuzovat, že i některé fytochemicky neprobádané rostlinné extrakty mohou vykazovat antimikrobiální aktivitu a tím podpořit jak hojení zranění, tak léčbu infekce a zánětu. Tyto extrakty mohou být následně hypoteticky zavedeny do medicínální praxe jako potencionální látky podporující hojení ran.

3. Literární rešerše

3.1. Rostliny jako zdroj biologicky aktivních látek

Materiální kultura lidské společnosti je primárně založena na rostlinách, případně na jejich produktech. Blahodárný účinek mnoha druhů rostlin byl sledován, a poté i vyhledáván již od zrodu lidské kultury. Lidská kultura se od nepaměti potýká s neduhy, nemocemi a chorobami, které zhoršují, zkracují kvalitu lidského života či dokonce na životě ohrožují. Nicméně díky okolní přírodě a jejich plodů, které mimo to hrály velice důležitou roli v mnoha jiných odvětvích lidské činnosti, jako je například opatření potravy, stavebního materiálu a oděvů, se člověk minulý začal pomalu, ale jistě edukovat o reakcích lidského těla na aktivní látky obsažené v rostlinách, a začal je využívat ke zlepšení průběhu či léčení nemocí a zranění. Je důležité poznamenat, že tyto zkušenosti nebyly vždy pozitivní. Zběhlost v používání správných rostlinných druhů, ale i těch nesprávných, ovlivňovala lidské vědění a lidskou civilizaci a napomáhala k upevňování vztahů s přírodou.

Jak již bylo zmíněno výše, rostlinná diverzita zahrnuje 250 000 až 400 000 druhů, nicméně fytochemicky je probádána sotva pětina celkového počtu (Corlett, 2016). Ještě menší podíl zahrnuje rostliny, u kterých byla vědecky potvrzena jejich biologická aktivita. Díky těmto faktům lze vyvodit, že šance na objevení nových a chemicky zajímavých biologicky aktivních látek, které se dají využít v různých odvětvích průmyslu, jsou stále vysoké (Mukherjee, 2010). Tato aktivita může být využitelná mimo jiné také ve farmaceutickém průmyslu, kde se využívají buď přírodní látky v nezměněné formě, nebo jejich semisyntetické, případně syntetické varianty. Dnešní léčivé přípravky se získávají primárně synteticky, nicméně předlohou pro výrobu bylo mnohdy chemické složení léčivých rostlin. Tyto purifikované formy léčiv mohou mít lepší vlastnosti než jejich surové forma. Kupříkladu nať z tužebníku jilmového (*Filipendula ulmaria*), případně kůra z vrby (*Salix spp.*) je spojována s kyselinou salicylovou, klíčovou prekurzorovou molekulou, která přispěla k objevu kyseliny acetylsalicylové neboli aspirinu (Pierpoint, 1994). Mezi další takto objevené látky patří například cytostatikum paklitaxel z *Taxus brevifolia*, analgetikum morfin z *Papaver somniferum*, antimalarikum chinin z *Cinchona sp.*, stimulant a rekreační droga kokain z *Erythroxylum coca* a mitotický jed kolchicin z *Colchicum autumnale* (Bonati, 1980).

Právě zmiňované rostliny, jakožto zdroj bioaktivních látek a samotného rostlinného materiálu, byli buď použity v jejich surové formě, nebo se dále kvalifikovanými lidmi zpracovávaly k výrobě potentnějších, kvalitnějších a trvanlivějších výrobků, které se následně přímo používali v různých odvětvích lidské kultury. Z potravinového a fytochemického pohledu jsou rostlinné primární a sekundární metabolity bohatým zdrojem látek, které vyvolávají mnoho zdraví prospěšných účinků u člověka i zvířat (Scalbert, 2011). Rostlinné potraviny, včetně zeleniny, ovoce, obilovin, semen, ořechů a luštěnin, mohou obsahovat stovky různých fytochemikálií, které se dají dále využít ve všemožných praxích. Tato praxe v zušlechťování účinků rostlinných fytochemikálií trvala mnohá staletí, nicméně právě díky této praxi se v pozdějších dobách mohlo ze znalostí léčivých účinků rostlin vyvinout lékařství jakožto plnohodnotný vědní obor. Botanika v tomto případě sloužila a stále slouží jako jedna z hlavních pomocných věd. S odstupem času se se od botaniky odpojila nová samostatná vědní disciplína, a to farmakologie neboli nauka o léčivech (Xiao, 2015).

S rozvojem moderních analytických metod, mezi které patří například plynová chromatografie (GC), kapalinová chromatografie (LC), hmotnostní spektrometrie (MS) a spektroskopie nukleární magnetické rezonance (NMR), se stala dostupnou izolace a purifikace sloučenin z rostlinných extraktů, taktéž stanovení struktury jednotlivých sloučenin a jejich kvantifikace (Harborne, 1984). Tyto pokročilé techniky nám pomáhali a stále pomáhají kvalitativně i kvantitativně identifikovat širokou škálu biologicky aktivních sloučenin, nyní známých taktéž jako fytochemikálie (Erb, 2020). Tyto chemické látky, včetně polyfenolů, alkaloidů, terpenů, saponinů, polysacharidů a jiných látek, se hojně využívají při výrobě léčiv a potravinových doplňků jako složky, které zdravým i nemocným lidem poskytují zdravotní prospěch, který je mnohdy nad rámec základní výživy (Sagandykova, 2018). Studie naznačují, že biologická funkce fytochemikálií je buď důsledkem synergických či aditivních účinků látek rostlinného charakteru a živin přítomných v rostlinných potravinách, nebo bioaktivní látky fungují sami o sobě, bez synergie s jinými látkami (například bioaktivní sloučeniny využívané jako rekreační drogy – tetrahydrokanabinol v *Cannabis sativa* či psilocybin z hub rodu *Psilocybe sp.*) (Zhang, 2019). Je taktéž známo, že již malá koncentrace fytochemikálie může mít razantní vliv na biologické procesy lidského těla. Tyto fytofarmaka mohou například zmírňovat některá onemocnění degenerativního rázu, mohou snižovat rizika určitých chorob či podpořit léčbu prokázanými protizánětlivými, antimikrobiálními, antioxidantními

či jinými účinky na lidský organismus. Je však důležité mít na paměti fakt, že velké množství biologicky aktivní látek je pro lidské ústrojí toxické a jejich požití může způsobit závažné zdravotní komplikace, otravu a případně i smrt. V mnoha případech tedy hraje zásadní roli, kolik fytochemikálií do těla vpravíme a kolik se organismus reálně přijme (Yoo, 2018).

Rostlinné látky lze rozdělit na dvě hlavní skupiny. Mezi první patří primární metabolity, což jsou látky, které jsou nezbytné k elementárnímu fungování rostliny jako takové. Jsou to látky potřebné ke stavbě a vývoji těla rostlin, což náleží mezi základní životní procesy (Salam, 2023). Mezi primární metabolity řadíme sacharidy, lipidy a základní proteinogenní aminokyseliny, dále pak nukleové kyseliny a některé deriváty. Sekundární metabolity jsou odvozeny od již zmíněných metabolitů primárních. Rostliny je dokážou v metabolismu hromadit a následně i vylučovat (Erb, 2020). Výše zmíněné sekundární metabolity rostlin jsou chemické sloučeniny, které se nepodílejí na hlavních procesech, jako je růst rostlin a reprodukce, nicméně některé z nich působí jako první obranná linie proti chorobám, predátorům, ultrafialovému záření, parazitům a jiným negativním vlivům (Pang, 2021). Mezi ně patří široké spektrum terpenů (např. limonen v *Citrus* spp. a menthol v *Mentha* spp.), fenolických a dusíkatých sloučenin, jako například rotenony v rostlinách čeledi *Fabaceae*, veratridiny v rostlinách zahrnující čeleď *Liliaceae* a *Melanthiaceae*, dále také pyrethryny či nikotin obsažen v *Nicotiana rustica* (Strnad, 2013). Kofein, vyskytující se zhruba v 60 druzích rostlin zahrnující *Coffea arabica*, funguje jako přírodní pesticid a alelopatická látka, což rostlinu chrání a zlepšuje její konkurenceschopnost vůči ostatním druhům, ale dle nových studií také dokáže zlepšit včelám paměť a tím i četnost a kvalitu opylení (Schuster, 2019; Wright, 2013). Také fytohormony hrají důležitou roli při obraně proti patogenům. Imunitní reakce rostlin zahrnující například *Zea mays* a *Jasminum* spp. při napadení využívá jak působení kyseliny salicylové, tak kyseliny jasmonové. Aktivace fytohormonálních drah těchto dvou kyselin zvyšuje šance rostlin na přežití i při napadení různorodými patogeny (Kouzai, 2016). Sekundární metabolity usnadňují také reprodukční procesy a napomáhají v mezidruhové konkurenci. Za zmínku stojí flavonoidy a karotenoidy, které rostliny využívají k produkci pigmentů a aromatické látky vyskytující se v silicích chrání při nežádoucím požeru a napomáhají k přilákání opylovačů (Stavenga, 2021).

Krom svých rolí „chránit a pomáhat“ rostlinám mají sekundární metabolity také zdraví prospěšné účinky na člověka i zvířata. V posledních desetiletích léčivé rostliny pomohly při vývoji léků a objevené fytochemikálie dokáží, jak pomoci v léčbě, tak snížit riziko mnoha lidských onemocnění, včetně kardiovaskulárních chorob, onemocnění jater a ledvin, cukrovky, rakoviny a neurodegenerativních poruch (CRAIG, 1997) .

3.2. Tradiční léčitelství a etnobotanika v hledání nových biologicky aktivních látek a potencionálních léčiv

Etnobotanika je vědní disciplína, která se zaměřuje na vztah mezi rostlinami a lidmi, kteří je všemožně využívají. Etnobotanika taktéž studuje rostliny určitého regionu a jejich praktické využití na základě tradičních znalostí místní kultury. Etnobotanik se tím pádem snaží zdokumentovat místní zvyky, které zahrnují praktické využití místní flory pro mnoho aspektů života, jako jsou rostliny používané jako potraviny, oděvní a stavební materiál, rekreační či ceremoniální drogy a neposlední řadě také léky (Qureshi, 2016). V lajkém pojetí etnobotanika zkoumá rostliny používané společnostmi v různých částech světa.

Již od doby „otce etnobotaniky“ Richarda Evansa Schultse se obor etnobotaniky rozrostl z pouhého získávání etnobotanických poznatků na jejich aplikaci v moderní společnosti, a to především směru objevování (Salmerón-Manzano, 2020) nových přírodních látek pro potravinový a farmaceutický průmysl. Rostliny sloužily od nepaměti jako první zdroj léků k léčbě nemocí. Člověk se o léčebném využití rostlin dozvěděl na základě pokusů, nicméně se tyto ústně předávané informace přirozeně předávali z jedné generace na druhou, což vedlo k rozvoji tradiční medicíny, která se uplatňuje v různých částech světa. Na základě předávaných osobních zkušeností lidé znali terapeutický potenciál léčivých rostlin, aniž by ale zdůvodnili jejich účinnost. Etnobotanické studie se tímto způsobem snaží o objevení nových rostlinných zdrojů, které lze cíleně využít k vyhledávání nových látek, což vede k vývoji nových léčivých přípravků pro léčbu jak méně závažných, tak komplikovaných onemocnění. V současné době se etnobotanika využívá majoritně k cílenému vyhledávání nových sloučenin a biologicky aktivních látek (Salmerón-Manzano, 2020). Například tropické oblasti jsou vysoce rostlinně, živočišně a mikrobiálně rozmanité, probíhající silný konkurenční boj a obecný tlak prostředí způsobuje mimo jiné také větší produkci sekundárních metabolitů, jakožto přirozených obranných látek, a tím pádem mohou tyto i jiné ekosystémy a jejich specifická diverzita hrát klíčovou roli při poskytování prvotních informací ve výzkumu nových bioaktivních látek (Mendelsohn, 1995). Etnobotanika tímto zkoumáním rozličných ekosystémů poskytla významné informace, které vedly k izolaci účinných látek z mnoha rostlin (Atanasov, 2021). Během posledních let byly z vyšších rostlin objeveny desítky nových účinných léčiv mezi které patří například objevení diosgeninu, který je

využíván k syntéze kortisonu, progesteronu a jiných steroidních produktů, pocházejícího z *Dioscorea deltoidea*; nového antiglaukomatika pilokarpinu z rostliny *Pilocarpus sp.*; izolování digitoxinu využívaném v léčbě srdečních selhání z *Digitalis purpurea* či objevení artheeteru, účinného antimalarika, izolovaného z *Artemisia annua* (Veeresham, 2012).

Koncept vývoje nových terapeutik z rostlin používaných v lidovém lékařském systému sahá až do počátku rozvoje moderního lékařství. Zatímco v některých případech existuje přímá vazba mezi tradičním použitím léčivých rostlin a jeho následným farmaceutickým využitím, v jiných případech se jedná o mnohem složitější vztah (Lewis, 1995). Mnoho lékařů z celého světa, zejména v zemích, kde jsou hluboce zakořeněny staré a tradiční postupy, jako je například Čína a Indie, má cenné informace o mnoha méně známých, dosud nedostatečně prozkoumaných planě rostoucích rostlinách, které tradiční léčitelé používají k léčbě nemocí a chorob širokého spektra (Kaushik, 2021). Kromě systému lidové medicíny Ayurveda, tradiční čínské a jihoamerické medicíny se v lidovém léčitelství po celém světě k léčbě chorobných stavů a nemocí používá řada rostlinných produktů, které jsou vždy specifické pro dané území a podnebí, ze kterého místní lidová medicína čerpá. Značné množství rostlin bylo vědecky prověřeno za účelem hodnocení jejich hojivé a mikrobiální aktivity na *in vitro* a *in vivo* studiích, ale potenciál většiny rostlin zůstává stále neprozkoumán (Chassagne, 2021). Tyto a jiné nasbírané informace nám ukazují fakt, že rostliny mohou být stále vysoce ceněným zdrojem nových aktivních látek určených jak k hojení zranění, tak k léčbě širokého spektra nemocí a chorob.

3.2.1. Lidové léčitelství a ranhojičství

Ve venkovských oblastech jsou zranění a dermatologická onemocnění jedním z nejčastějších důvodů, proč lidé vyhledávají lékařskou péči. Lidé na venkově se velmi často poraní při práci na poli či v lese, při dopravních nehodách či manipulaci s všemožnými předměty (Kintzl, 2020). Taktéž jsou časté rány způsobené ohněm, chladem, dále také chronické rány jako například bércové vředy, které jsou způsobené neléčeným onemocněním. Mnoho závažných zranění chronické podstaty se vyskytuje ve vyšším věku (Gould, 2015), kdy je jedinec mnohdy připoután na lůžko nebo je omezen na pohybu, a tím je i zhoršený přístup k lékařské péči. Lidové léčitelství je v tomto případě většinou uznávaným způsobem, jak léčit málo závažné

a chronické rány, nikoli u akutních stavů. Tento názor přetrvává i přes skutečnost, že tradiční medicína sloužila a mnohdy stále slouží jako hlavní zdroj péče o rány všemožných druhů v odlehlých oblastech, jako je například šumavský region.

Úrazy a chronická poranění mají tendenci být léčeny hlavně lokálně. Mezi nejefektivnější využití tradičních bylinných léčiv v odlehlých oblastech patří samoléčba, kdy bylinné medikamenty nabízejí levný a mnohdy efektivní způsob, jak léčit nemoci a rány. Tento způsob léčby je způsoben jak nedostatkem moderních léčiv, tak nepřístupností k moderním lékařským institucím. Tradiční léčba ran je tudíž používaná v mnoha případech a zdá se, že léčba neakutních ran proverenými rostlinnými medikamenty je mnohdy efektivnější než u léčby moderními způsoby (Monika, 2022).

Evropa má dlouhodobou tradici používání bylinných prostředků k léčbě ran. Například v Bulharsku a v jiných zemích jihovýchodní a střední Evropy se k hojení ran hojně používá kůra z *Fraxinus ornus*. Literatura popisuje chemické konstituenty jako hydroxykumariny a secoiridoidy, které mají prokázaný antimikrobiální, antioxidantní, protizánětlivý a hojivý účinky (Kostova, 2001). Mezi další běžné střeoevropské byliny používané v léčbě ran patří *Alchemilla vulgaris*, která má prokázané adstringentní a protizánětlivé účinky na rány. Tyto účinky jsou způsobeny fenolickými sloučeninami širokého spektra, mezi které patří hlavně taniny, fenolkarboxylové kyseliny a flavonoidy (Tasić-Kostov, 2019). Taktéž rostliny z rodu *Hypericum* spp. jsou běžně používané k podpoře hojení ran. Za tyto a jiné účinky zahrnující antimikrobiální, analgetické, protizánětlivé a antioxidantní působení, mohou specifické chemické komponenty zahrnující hyperforin, hyperisin a hyperozid, které prokázaně zkracují zánětlivou reakci organismu na ránu, zvětšují odolnost vůči infekci, zlepšují migraci fibroblastů a depozici kolagenu (Patočka, 2003). Za zmínku stojí také další rostliny z rodu *Matricaria* spp., *Calendula* spp., *Agrimonia* spp., *Salvia* spp. a dalších, které mají velmi podobné léčivé účinky na hojení ran (Shedoeva, 2019). Použití rostlin při léčbě se liší dle lokálních možností sběru výše zmíněných rostlin.

3.3. Šumava

Pod pojmem Šumava (německy *Böhmerwald*, anglicky *Bohemian forest*) nalezneme rozsáhlé pohoří na hranicích České republiky, Rakouska a německého Bavorska. Území Šumavy bylo v minulosti bez lidského osídlení až do 8. století. Hlavní důvod pomalé kolonizace byl způsoben neprostupným terénem tvořeného majoritně bučinami a jedlobučinami. Bezlesí nalezneme pouze na nejvyšších místech, na rašeliništích, v ledovcových karech nebo u vodních toků, případně na místech neumožňující sukcesi až do lesního stádia. Antropogenně tvořená bezlesí Šumavy, jako například pastviny a květnaté louky, se začaly utvářet až po kolonizaci prvními osadníky. Vegetace Šumavy se začala razantně měnit až od 18. století, kdy se v nižších a podnebně přívetivějších polohách začali kácet bučiny, které se poté používali v prvotních průmyslových oblastech jako palivové dřevo ve sklárnách. Okolo těchto pracovních zón se začali pomalu vytvářet osady a s tím se i rozšiřovalo bezlesí tvořené majoritně zemědělskými plochami. Díky této aktivní lidské disturbanci se les začal dynamicky využívat, což mělo kladný efekt na biodiverzitu šumavské krajiny v takovém měřítku, že lze bez nadsázky říct, že bez těchto zemědělských, průmyslových a pasteveckých disturbancí by na Šumavě nikdy nevznikla dnešní bohatá biodiverzita, která je domovem více živých organismů než za doby bez lidského osídlení (Vondruška, 2014; Žíla, 2005).

Mezi jeden z prvních doložených názvů pro šumavskou hornatinu je keltské označení *Gabreta*, což v překladu znamená „Pohoří kozorohů“. Tento název byl prvně uveden v mapě Klaudia Ptolemaiase, antického matematika a geografa. Název Šumava se údajně poprvé objevil v díle *Rerum Hungaricum decades*, který napsal v roce 1565 básník Antonio Bonfini. Pojem „Šumava“ dle literárních zdrojů pochází z praslovanského slova „šuma“, což znamená v překladu hustý les (Lutterer, 1996).

Historické zdroje o kolonizaci šumavského území se dají rozdělit na dvě strany. Z jižní, rakouské strany, popisují činy panovníka Odila Bavorského, který přivedl z města Reichenau mnichy řádu svatého Benedikta a okolo roku 741 postavil klášter v Nieder Altaich. Tento klášter se poté stal výchozím bodem a organizačním střediskem celé následné kolonizace bavorské strany šumavského území. V následujících letech až do roku 907 podle zdrojů vzniklo údajně až 120 nových osídlení. Základní kolonizace takzvaného Severního lesa byla dokončena koncem 12. století. Osídlování hvozdu se severní, „české strany“, začalo později, a to hlavně z kvůli tomu, že Slované usedlí

v úrodných oblastech Čech neměli o horskou oblast větší zájem. Jeden z prvních kroků ke kolonizaci Šumavy byl v polovině 11. století, kdy se Boleslav I. rozhodl osazovat branný lid v prostorách takzvaných hlavních zemských bran, mezi které patří úseky severního okraje českého hraničního hvozdu a prostory okolo nynějších Domažlic. Výraznější postup nastal ve 13. století, během kterého Rožmberkové založili cisterciácký klášter Vyšší Brod, který kolonizaci značně podpořil. Přemysl Otakar II. Začal ve stejných dobách s kolonizací okrajových částí českých zemí, v roce 1265 založil České Budějovice a v roce 1273 povýšil Sušici na královské město. Zcela zásadní význam pro kolonizaci měly také staré obchodní stezky vedoucí od Dunaje na sever. Podél těchto cest a v jejich blízkosti se usazovali zemědělci, uhlíři a později také skláři, kteří postupem času vytvářely nové osady (Laichter, 1938; Vondruška, 2014; Z historie Horské Kvildy, 2018).

Jak zajištěnost, tak obecný život na Šumavě nebyl v minulosti nikdy ideální. Vysokohorské osady, které měly daleko k větším městům, trpěly na nedostatek lékařských i jiných zařízení. Cesta byla mnohdy náročná a nebezpečná, navíc výprava k nejbližšímu doktorovi trvala mnoho hodin. Náročná zemědělská či lesní práce způsobovala obyvatelům úrazy a zranění, které se v případě neléčení mohly změnit v chronické, nebo život ztěžující trvalé následky. A proto člověk z těchto i jiných důvodů využíval přírodní bohatství Šumavy pro léčení svých zdravotních problémů (Procházka, 1992). Záznamy o využívání bylin na území Šumavy jsou dochovány jen v omezené míře. Mnohdy se jednalo buď o střežené rodinné informace, nebo o vědění zdejších léčitelů, kteří si své tajemství taktéž pečlivě střežili (Kintzl, 2020). O bohatém využívání šumavské flory k léčení však není žádný pochyb. Nicméně je třeba poznamenat, že na prostředí Šumavy se z etnobotanického hlediska zapomíná a případně budoucích průzkumů by mohla být zajímavým zdrojem nových přírodních látek.

První dohledatelné písemné informace o šumavských léčitelích pochází z 19. století. Karel Weishaupl byl velmi známý vysokohorský léčitel pocházející z Horské Kvildy. Jednalo se o léčitele, který se specializoval na zlomeniny pohybového aparátu (Kintzl, 2020). K dalším léčitelům patřil hajný Felix Nass (Topošumaví.cz, 2022), který působil v Bedřichově v během půlky 19. století. K proslulým léčitelům dnešní doby patřil František Ferda, který navazoval na staré tradice, a to hlavně v léčení rostlinami. Jednalo se o aktivního kněze, který se narodil ve Spáleném Poříčí. Měl údajně schopnost

stanovovat diagnózu pomocí „informačního pole“, díky kterému dokázal vyvodit příčinu a progresi onemocnění, a zároveň vybrat ty nevhodnější přírodní léky (Ferda, 2013).

3.4. Hojení ran

V minulé a současné době se neustále diskutuje o problematice chronických, akutních, zanícených a nehojících se ran, které jsou často spojeny se stále narůstajícím stárnutím populace a se zvyšující rezistencí mikroorganismů na již používaná antibiotika (Negut, 2018). Další z problémů je souvislost léčby ran u polymorbidních pacientů, u kterých je léčba časově náročnější, a s tím je spojena jak vysoká finanční, tak fyzická náročnost léčby (Lobmann, 2008). Zdravotnictví se čím dál více zaměřuje na léčbu pomocí nových, moderních metod za použití modernizovaných technologií a terapeutických materiálů. Nicméně práce osob z farmakologického průmyslu se mnohdy taktéž vrací do historie, kde se zjišťuje, jak probíhalo léčení a hojení ran v dobách minulých, a jak se postupem času rozvíjeli nové metody a prostředky k efektivní léčbě akutních a chronických ran. Prozkoumávají se například metody, které nejsou v současné době užívány v České republice jako součást léčby chronických ran. Výzkum se zaměřuje jak na invazivní i neinvazivní techniky, tak například i na různé metody využití vlhkého či suchého krytí (Kolimi, 2022). Mezi standartní postupy při léčbě ran patří udržování vlhkého prostředí pomocí vhodného obrazu či moderního krytí vytvořeného z alternativních materiálů, jako je například hydrogel, hydrokoloidní obvaz a pěnové krytí (Liang, 2021).

U mnoha rostlin byla v minulosti zjištěna přínosná aktivita při hojení ran. V oblasti hojení ran pomocí léčivých rostlin lidstvo již provedlo rozsáhlý výzkum. Léčivé rostliny byly od pravěku první linií léčby úrazů, infekcí, nemocí a poranění. V průběhu tisíciletí se lidé naučili rozpoznávat a využívat botanické zdroje jak z blízkého okolí, tak s rozvojem obchodu i z celého světa (Ghosh, 2013). U mnoha těchto tradičních léčivých rostlin bylo potvrzeno, že poskytují léčebné účinky, nicméně tyto účinky nebyli často potvrzené v klinických studiích. Jedním z nečekaných výsledků následujících validačních studiích bylo zjištění, kolik léčivých rostlin dokáže syntetizovat ekvivalentní nebo blízké příbuzné sloučeniny. V důsledku tohoto zjištění není překvapivé, že mnoho biologických vlastností rostlin je společných i u nepříbuzných druhů rostlin. Sdílené jsou i biologické dráhy, na které sekundární metabolity rostlin působí. Mnoho z identifikovaných sloučenin působí

např. na mitogenní signální dráhy, protizánětlivé dráhy a dráhy angiogeneze (dráha podmiňující novotvorbu krevních kapilár) (Thangapazham, 2016). Ačkoliv pro většinu zdokumentovaných léčivých rostlin byly získány důkazy z analýz *in vitro* nebo *in vivo*, účinnost bioaktivních látek v rostlinách a mechanismus účinku používaného extraktu nebyl vždy ověřen (Ghosh, 2013). Existuje však značný seznam látek, u kterých jsou účinky dobře charakterizovány a byl u nich prokázán příznivě ovlivňující účinek na hojení ran. Mezi tyto bioaktivní látky patří například acemannan obsažen v *Aloe vera*, saflomin A z *Carthamus tinctorius*, polysacharidy z *Ganoderma lucidum*, Phthalidové laktony a alkaloidy z *Ligusticum striatum*, saponiny z *Panax ginseng*, salvianolové kyseliny ze *Salvia miltiorrhiza*, stilbenoidy ze *Stemona tuberosa* a mnoho dalších (Shedoeva, 2019). Mezi nejznámější rostliny prodávané na světových trzích jakožto přípravky na hojení ran patří produkty z pupečníku asijského (*Centella asiatica*), kurkumy dlouhé (*Curcuma longa*) a pivoňky dřevité (*Peonia suffruticosa*).

Kůže patří mezi největší orgány lidského těla, které fungují jako fyzická ochranná bariéra před invazí patogenních mikroorganismů a zároveň poskytuje správné podmínky pro růst prospěšných, komenzálních bakterií (Lee, 2006). Ochrana kůže proti nežádoucím mikroorganismům je zajištěna jak antimikrobiálním působením potu a kožního mazu, tak i kyselým pH kůže, které je v rozmezí 4 až 5,5 a také přítomnými saprofytickými mikroorganismy. Narušením rovnováhy mezi zmíněnými mikroorganismy může vést k různým kožním onemocněním a může také vyústit k nežádoucím chronickým stavům (Byrd, 2018).

Rána či poranění je definována jako poškození anatomické integrity a funkce kůže, sliznice či jiných tkání lidského těla. Integrita může být porušena v důsledku fyzikálního působení, někdy může být také spojená se ztrátou části tkání. Příčinou poruchy celistvosti může být taktéž působení chemických, termických nebo radiačních vlivů na povrch tkáně. Rány můžeme dále členit podle řady kritérií, nicméně nejzásadnější je dělení dle průběhu hojení, kdy rozlišujeme ránu akutní a chronickou (Robson, 2001). Akutní rána je brána jako defektovaná zdravá tkáň, která je výsledkem traumatu nebo operačního zákroku. Hojí se fyziologicky, v adekvátním čase a bez zásadnějších komplikací. Na druhou stranu chronická rána je v podstatě sekundárně se hojící rána, která vznikla v prostředí změněných tkání předchozím onemocněním. Doba hojení chronické rány je značně prodloužená a přirozený proces hojení je mnohdy narušený. V obecné rovině lze říci, že

jakékoliv formy poškození tkáně narušují homeostázu vnitřního prostředí, a z tohoto důvodu jsou vnitřním organismem spuštěny obranné fyziologické procesy jako je krvácení, aktivace koagulačního systému, zánětová odpověď a další na sebe navazující reakce (Velnar, 2009).

Rány se obecně hojí ve třech na sebe navazujících fázích. Tyto fáze jsou považovány za jedny z nejkomplicovanějších procesů v lidském organismu. Každá rána prochází fází exsudativní, proliferační a reparační (Velnar, 2009).

Exsudativní fáze neboli fáze zánětlivá, či inflamační, je proces, při kterém tělo ránu čistí a připravuje na regenerační procesy. Bývá aktivní většinou první 3 dny od vzniku poranění a objevuje se u všech typů ran. Hlavní roli v této fázi hrají makrofágy, což jsou buňky imunitní soustavy schopné fagocytózy. Dostatečné množství těchto buněk je stěžejní pro další postup hojení. První reakcí organismu na poranění je vazokonstrikce cév v místě rány, která způsobí zástavu krvácení. Po zástavě krvácení následuje vazodilatace, která napomáhá k migraci krevní plazmy, granulocytů a makrofágů do místa rány. Makrofágy poté fagocytují cizorodý materiál a choroboplodné zárodky. Výše zmíněné buňky uvolňují cytokiny, které podporují zánětlivé procesy, dále také proteolytické enzymy, které odstraňují poškozenou extracelulární matici, a v neposlední řadě také růstové faktory, které se podílí na tvorbě nové tkáně. Další z projevů inflamační fáze je otok a zarudnutí v oblasti zranění. Otok je projevem již zmíněného zvýšeného kapilárního tlaku a propustnosti kapilár. Krevní plazma při této fázi vstupuje do mimocévního prostoru, kde zvýšený tlak oxidu uhličitého a nedostatek kyslíku vede k tzv. tkáňové acidóze. Výsledkem je nabobtnání kolagenového vlákna a vznik otoku, během kterého dochází k dezinfekci prostředí rány. Exsudativní fáze je obvykle intenzivnější u otevřených ran, kde téměř pokaždé dochází k bakteriální kontaminaci a z tohoto důvodu je potřeba narůstající počet mikroorganismů v ráně redukovat (Robson, 2001; Guo, 2010).

Druhá etapa hojení rány, fáze proliferační, označována taktéž jako fáze granulační, nastupuje přibližně po dvou až třech dnech po poranění. Tato fáze v případě nekomplikovaného hojení pozvolna navazuje na předešlou fázi exsudativní a trvá několik dní (literatura popisuje dobu týdne až 10 dní). Proliferační fáze zahrnuje proces reepitelizace, angiogeneze (novotvorba krevních kapilár), fibroplazie (novotvorba vaziv) a kolagenové depozice. V této fázi hrají roli cytokiny a růstové faktory, které stimulují a regulují migrační procesy a proliferaci buněk zodpovědných za novotvorbu tkáně a cév.

Důležitými buňkami jsou fibroblasty, které produkují kolagen, který postupně zraje v pevná kolagenní vlákna, a proteoglykany, které vytváří gelovitou substanci vyplňující mimocévní prostor. V případě prezence nekrotické tkáně, mikroorganismů nebo hematomu, se migrační procesy fibroblastů zpomalují. Část fibroblastů se mění na myofibroblasty, které pomalu kontrahují (stahují) ránu. Dělením buněk se postupně vytváří kapilární klubička, která přerůstají do granulační tkáně. Tato granulační tkáň následně zarůstá přes poškozené sektory rány, vyplňuje a nahrazuje chybějící tkáň, a slouží jako základ pro následující epitelizaci. Během této fáze je potřeba podpořit proces granulace a ochránit novou tkáň před mechanickým poškozením a mikrobiální infekcí (Guo, 2010; Velnar, 2009).

Konečná fáze hojení, fáze epitelizace neboli reparační fáze, přichází při hojení bez komplikace již třetí až osmý den po poranění, a může trvat i několik týdnů. Tato fáze zahrnuje migraci, proliferaci a diferenciaci epiteliálních buněk za podpory růstových faktorů. V průběhu reparační fáze se zvyšuje pevnost a celistvost rány v důsledku dozrávání kolagenních vláken a granulační tkáně, která se pomalu přeměňuje na tkáň jizevnatou. Fibroblasty, které se diferencují na fibrocyty a myofibroblasty, ránu stahují, smršťují a stahují její okraje. Nové buňky vznikají z nepostižených epitelových buněk, případně z okrajů rány. Konečná fáze zahrnuje definitivní přestavbu nově vzniklé pokožky s jednotlivými vrstvami a jejími specifickými funkcemi. Strukturální změny probíhají i ve škáře. Výsledná jizevnatá tkáň je chudší na intracelulární vodu a dosahuje maximálně 80 % ze své původní tahové síly, proto je důležitá i péče o nově vzniklou jizvu, aby nedošlo k recidivě či mikrobiální infekci (Velnar, 2009; Guo, 2010; Marshall, 2018).

3.5. Charakteristika vybraných šumavských rostlin využívaných při hojení ran

3.5.1. Klinopád obecný (*Clinopodium vulgare* L.)

Klinopád obecný je vytrvalá, zhruba půl metru vysoká bylina z čeledi hluchavkovité (*Lamiaceae*). Jedná se o rostlinu v přímou nebo vystoupavou, na bázi dřevnatící, hustě bělavě chlupatou lodyhou. Květy jsou nahloučené, nafialovělé lichopřesleny, plodem jsou tvrdky. Jedná se o druh s převážně evropským areálem, ale lze ho najít i oblasti Malé Asie a Kavkazu. Klinopád roste ve světlých listnatých lesech a jejich lemech, případně na suchých křovinatých stráních. Je to druh, který je vázán hlavně na oblasti s bazickým podložím. Tato bylina je jediným zástupcem rodu klinopád na českém území, na Šumavě ji nalezneme i ve vyšších nadmořských výškách. Klinopád kvete od července do října (Štěpánková, 2000)

Klinopádová silice obsahuje hlavně monoterpeny a seskviterpeny. Chemický profil silice zahrnuje více než 30 komponentů. Mezi hlavní konstituenty silice patří thymol, c-terpinen, p-cymen, b-caryophyllen a germacren-D (Kılıç, 2013). Methanolové a vodné extrakty jsou bohaté na fenolové sloučeniny, blíže na kempferol, myricetin, apigenin, diosmetin, luteolin aj. Mezi dominantní fenolové sloučeniny ve vodném i methanolovém extraktu patří také kyselina rozmarýnová, elagová, ferulová a p-kumarová. Rostlina taktéž obsahuje několik specifických saikosaponinů, navývané clinoposaponiny, pro které byl tento rod mnohdy využíván (Bektašević, 2022; Sarikurkcü, 2015; Ventzislavov Barbaroc, 2015).

Klinopádu se lidově říká „divoká bazalka“ nebo nesprávně „marulka“. V minulosti se z něj získávalo hnědé a žluté barvivo, které se používalo na barvení oděvů. Mimo léčivých účinků se rostlina klinopádu taktéž vzácně používá k dochucování pokrmů, jako čerstvá přísada do salátových pokrmů. Z čerstvých listů se taktéž vyvařuje čaj (Rystonová, 2007). Ze zdrojů lze vyčíst, že hojivé účinky klinopádu byly pravděpodobně využívány během tureckých a bulharských válečných konfliktů 20. století k zákopovému léčení ran (Opalchenova, 1999). Tradiční používání této byliny lze také nalézt v lidové medicíně Bosny a Hercegoviny, Turecka, Chorvatska a několika dalších evropských a asijských států.

Moderní vědecké články a literární zdroje popisují následující biologické účinky rostliny *Clinopodium vulgare* zahrnující antihepatotoxickou aktivitu způsobena primárně clinoposaponiny; hojivý účinek, inhibiční účinek na růst bradavic, antivirový

a zklidňující účinek (Bektašević, 2022). Vodný extrakt vykazoval silnou protinádorovou aktivitu při testování *in vitro* na buněčných liniích lidského metastatického melanomu, epidermoidního karcinomu hrtanu a karcinomu plic. Karcinogenní účinek je primárně připisován uhlovodíku hentriacontanu (Dzhambazov, 2002). Vodný extrakt má také potenciál snižovat hladinu některých prozánětlivých citokinů a působí jako lapač volných radikálů. Obsažené terpeny (thymol, γ -terpinen aj.) mají významnou antioxidační aktivitu (Sarikurkcü, 2015). V neposlední řadě výzkumy prokázaly širokospektrální antibakteriální aktivitu ethanolového, ethylacetátového a acetonového extraktu (Opalchenova, 1999). Na celkové biologické aktivitě *C. vulgare* se významně podílí obsažené fenoly a flavonoidy.

3.5.2. Černýš lesní (*Melampyrum sylvaticum* L.)

Černýše jsou druhy jednoletých, hemiparazitických bylin s jednoduchým kořenovým systémem. Jedná se o rostliny, které parazitují na kořenech jiných rostlin. Rostlina ale má v listech chlorofyl, tudíž je schopna asimilace a parazitismus využívá jen jako nutriční „přílešnění“. Jedná se o druh velice proměnlivý. Mezi hostitelské rostliny patří rostliny z čeledi *Pinaceae*, *Fagaceae*, *Fabaceae*, *Rosaceae* aj. Černýš lesní je jednoletá bylina vyrůstající do velikosti 30 centimetrů, patřící do čeledi *Orobanchaceae* (zárázovitě). Má přímou, oblou lodyhu a kopinaté listy. Květy jsou žlutě zbarvené, plodem je tobolka. Roste v lesích, na lesních okrajích a vřesovištích. Nalezneme jej hlavně v severní Evropě, ale i za polárních kruhem, ve Skandinávii a v Pobaltí. Na šumavském území je velmi hojný. Černýš roste od dubna do září (Štech, 2000).

V nati černýše lesního lze nalézt široké spektrum fenolických kyselin a flavonoidů. Specificky se dle zdrojů píše o chlorogenové, kávové, vanilové a p-kumarové kyselině, flavanony (dominantně naringin a naringenin), katechiny, několik flavonů (za zmínku stojí deriváty luteolinu, apigeninu a kvercetinu) a flavonolů (kaempferol) (Galishchevskaya, 2010; Kaitera, 2016). Semena obsahují iridoid aukubin, který má prokázaný biologický účinek (Suh, 1991).

Možností vzniku názvu této rostliny je dle literárních zdrojů několik. Jedna z možností popisuje vznik slova v dobách nedokonalého čištění obilných zrn. Pokud se totiž do pšenice či žita přimíchala semena černýše, chléb byl následně zbarven do

černa (Rystonová, 2007). Druhým možným způsobem vzniku jména je skutečnost, že rostliny z rodu *Melampyrum* při sušení zčernají. Zčernání je způsobeno výše zmíněným iridoidním glykosidem aukubinem (Deyl, 1956). Rostliny tohoto rodu se v minulosti tradičně přimíchávaly do krmiva pro hospodářská zvířata. V tradiční medicíně se mimo *M. sylvestris* používají i jiné druhy, jako například *M. pratense* a *M. arvense*. Rakouská etnomedicína používá sušenou drogu tohoto rodu zevně nebo jako plnění do polštářů při léčbě dny a revmatismu. Rumunská lidová medicína rostlinu využívá k léčbě revmatických onemocnění a kožních infekcí. V Anglii byla rostlina tradičně doporučována ve formě odvaru při ledvinových potížích. Celkové tradiční aplikace této rostliny v tradiční medicíně silně naznačují její protizánětlivou aktivitu. Lidové léčitelství taktéž rostliny rodu *Melampyrum* používali také například při hypertonické nemoci, závratím a srdečním chorobám (Vogl, 2013a).

Nedávné studie připisují rostlinám rodu *Melampyrum* spektrum účinků na lidský organismus, nicméně specifický druh *M. sylvaticum* není dostatečně farmakologicky prostudován. Studie ukázaly antioxidační a inhibiční účinky na proteinkinázu C u druhu *M. pratense*. Tento druh dle výzkumů stimuluje receptory aktivované peroxizomovými proliferátory alfa a gama, které jsou dobře známé pro své protizánětlivé účinky (Vogl, 2013a). Uváděny jsou taktéž antimalarické, cytotoxické a leishmanicidní účinky surového methanolové extraktu z *M. arvense* (Kirmizibekmez, 2011). Další studie částečně ukázaly, že rostliny projevují kardiotonickou, hypotenzní, sedativní a antikonvulzivní aktivitu. Alkoholové extrakty studovaných druhů *M. bihariense* a *M. cristatum* působí antibakteriálně na patogenní mikroorganismy zahrnující *S. aureus*, *P. aeruginosa* a *C. albicans*. Články taktéž popisují protizánětlivý, antidiuretický, glykosurický efekt extraktů dvou výše zmíněných ethanolvých extraktů (Munteanu, 2012).

3.5.3. Chrastavec rolní (*Knautia arvensis*, subsp. *arvensis*)

Chrastavec rolní je luční, vytrvalá bylina, kterou klasifikujeme do čeledi zimolezovitých (*Caprifoliaceae*). Lodyha této medonosné rostliny je slabě vzpřímená, slabě rýhovaná a dorůstající výšky až 1,5 metru. Chrastavec má kulovitý kořen, ze kterého vyrůstají větevnaté oddenky. Na konci vegetativního období vyrůstá přízemní růžice, ze které další rok vyrostе nová lodyha. Drobné květy jsou fialovo-růžové

mnohokvětнатé strbouly, plodem je štětinatá nažka. Roste od června do září (Štěpánek, 1997).

Chemická kompozice chrastavce je velice komplexní a dostatečně prozkoumaná. Ethanolový extrakt zahrnuje fenolické kyseliny jako například kys. kryptochlorogenovou, chlorogenovou, dále pak flavony, flavonoidy, kumariny a taniny (Marijan, 2022). Mimo jiné se v alkoholovém extraktu nachází nepřehledné množství těkavých látek. Za zmínku patří limonen, camphor, cis-menthon, anisol a karvon (Kopyt'ko, 2020). Methanolový extrakt této rostliny obsahuje mimo výše zmíněné taktěž kyselinu vanilovou, ferulovou, gallovou, rozmarýnovou, p-kumarovou a jiné druhy jak ve volné formě, tak ve formě vázaných na estery a glykosidy (Moldoch, 2011). Fytochemické studie připravované v letech 2008 až 2010 v Rusku poukázaly taktěž na prezenci mnoha jiných sloučenin, mezi které patří například látky patřící do skupin steroidních a triterpenoidních saponinů, karotenoidů, ve vodě rozpustných polysacharidů a pektinů (Drozdova, 2011).

Rod *Knautia* byl objeven a pojmenován po německém lékaři a botanikovi Christopheru Knautovi. Nicméně podle jiných zdrojů se název shoduje s řeckým slovesem "κνᾶω", což znamená „škrábat“ a naznačuje použití tohoto druhu rostliny při kožních onemocněních. Ačkoliv se dnes aplikace této rostliny nepraktikuje, rostliny rodu *Knautia* mají za sebou značnou historii léčebného použití. Anglické pojmenování „Scabious“ vzniklo ve středověku, kdy se rostlina používala údajně na léčení svrabu (anglicky „scabies“) a mnoha dalších kožních potíží, včetně ekzémů a vředů, které byly způsobeny dýmějovým morem. Na léčení vředů byl taktěž používán odvar z kořenů. Z čerstvých i sušených nadzemních částí se vyráběla mast, která se zevně používala k ošetření řezných ran a popálenin. V tradiční ruské medicíně se „korostavnik“ odedávna používá jako expektorans, adstringens, protizánětlivý a antiseptický prostředek. Podobné použití vysvětlují lidové medicíny dalších států Evropy, jako je například Polsko, Maďarsko a Dánsko (Moldoch, 2011). Středověcí bylinkáři údajně používali chrastavec k pročištění myšlenek a navození klidových stavů.

U extraktů z *Knautia arvensis* byly pozorovány antiproteolytické, protizánětlivé, expektorační, antimikrobiální, diuretické, analgetické a antioxidační účinky, nicméně tato zjištění nejsou dostatečně vědecky prozkoumána

(Kopyt'ko, 2020; Karalija, 2017). Bylo zjištěno, že polysacharidy obsažené v *K. arvensis* mají protizánětlivou aktivitu. Methanolové extrakty výhonků z *K. sarajevensis*, které jsou velmi fylogeneticky blízké testované *K. arvensis*, byly středně účinné proti *S. aureus*, *P. aeruginosa* a *B. cereus* (Karalija, 2017). Prokázán byl také mírný diuretický účinek vodného extraktu (Marijan, 2022).

3.5.4. Podběl lékařský (*Tussilago farfara* L.)

Podběl lékařský je známá léčivá rostlina z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*). Jedná se o jediný druh rodu *Tussilago*. Tato vytrvalá léčivka má dlouhý plazivý oddenek, který je olistěn až po odkvětu lodyh. Lodyhy jsou 5 až 30 cm dlouhé, přímé, porostlé šupinovitými listy a zakončené jediným zlatožlutým úborem, který má v průměru 2-3 cm. Plodem je válcovitá nažka. Roste od března do dubna, v horských oblastech až do srpna (Bělohávková, 2004).

Fytochemický profil podbělu je již velmi podrobně prozkoumán. Mezi hlavní konstituenty v extraktu patří terpenoidy, které zahrnují seskviterpeny (například tussilagon, jeden z prvních prozkoumaných seskviterpenů v extraktu podbělu) a triterpeny (faradiol a izomer arnidiol) (Boucher, 2020). Mimo to také organické kyseliny (hlavně fenolické kyseliny, například kávová a chinová), flavonoidy (kaempferol a quercetin aj.), pyrrolidinové alkaloidy (senecionin a senkirkin), steroidy a jiné sloučeniny (Kang, 2016; Uysal, 2019). Za zmínku stojí polysacharidy, kterých může být v extraktu až okolo 20 %, dále také taniny, různé druhy aminokyselin a v neposlední řadě také stopové množství minerálů.

Lidová medicína tuto rostlinu nazývá lopušicí, koňským kopytem, mateřím líčkem či úbytníkem (Rystonová, 2007). Latinský název *Tussilago* vychází z latinského slova „*tussis*“, což znamená kašel a „*ago*“ neboli odhánět. Podběl byl používán již v antické říši, kdy Galenos předepisoval rostlinnou drogu při kašli, zahlenění a zánětu horních dýchacích cest. Ruská lidová medicína používá podběl jako podpůrnou léčbu při tuberkulóze. Dříve se používalo čerstvého podbělového listí na rány, což však mohlo způsobit sekundární infekci (Hoffmanová, 1991). Podběl bývá přimícháván do antiastmatických čajových směsí, a dokonce do bylinných cigaret (Korbelář, 1981). V tradiční čínské medicíně se květ, taktéž známý jako

„Kwandong Hwa“, používá na široké spektrum plicních neduhů. Podbělový květ se taktéž používá jako jarní přísada do salátů (Liu, 2020).

T. farfara má několik farmakologicky prozkoumaných účinků, konkrétně inhibiční aktivitu vůči syntáze oxidu dusnatého a antagonistickou aktivitu na receptory faktoru aktivující krevní destičky (Hwangbo, 2009). Farmakologická zkoumání rovněž ukázala, že *T. farfara* a jeho extrakty vykazují širokou škálu účinků na dýchací, kardiovaskulární a trávicí systém a antioxidační, protizánětlivé a neuroprotektivní účinky (Boucher, 2020; Liu, 2020). Za zmínku stojí, že experimenty *in vitro* prokázaly, že seskviterpenoid tussilagon úzce souvisí s některými farmakologickými účinky.

3.5.5. Viola rolní (*Viola arvensis* Murray)

Violka rolní je jednoletá bylina z čeledi violkovité (*Violaceae*). Jedná se rostlinu, která je součástí velmi variabilního komplexu *Viola tricolor* agg. Dorůstá výšky okolo 10 až 20 cm. Lodyhy jsou na jaře chlupaté, později lysé. Listy jsou jednoduché, řapíkaté. Květy jsou vonné jen u velkokvětých typů (subsp. *megalantha*) a mají světle žluto-bílou barvu s častými modrými skvrnami. Plodem je tobolka. Violku můžeme nalézt kvetoucí v období od dubna do září, a to hlavně jakožto polní plevel, případně na ruderalizovaných místech (Hoffmanová, 1991; Kirschner, 1990).

Kompozice silice ze sušené violky rolní zahrnuje dle zdrojů více než 20 sloučenin, které reprezentují zhruba 70 % obsahu silice. Mezi ně patří alifatické alkoholy, deriváty kyseliny shikimové, monoterpeny a seskviterpeny. Mezi hlavní obsažené těkavé látky patří 2-pentyl-furan a β -ionon. Nať z rostliny *V. arvensis* je dle odborných článků taktéž bohatá na sekundární metabolity zahrnující flavonoidy violanthin, quercetin, luteolin, apigenin a jiné (Anca, 2009), v kvetoucích částech lze najít vysoké koncentrace rutinu. Slizovité látky extrahovatelné z nati obsahují polysacharidy, fenolické sloučeniny zahrnují kávovou, p-kumarovou, protokatechovou, gentisovou, vanilkovou a salicylovou kyselinu spolu s jejím deriváty (Chandra, 2015). Za zmínku také stojí obsah karotenoidů violaxanthinů, alkaloidu violinu a glykosidu vilotusidu.

Violka rolní, lidově nazývaná maceška, sirotka, fialička, pětbolestí či koření srdečné, se používá již od antické říše (Rystonová, 2007). Řekové a Římané této droze říkali *phlox*, nicméně o komplexních léčivých účincích se nevědělo. Ve středověku se takzvaná *herba trinitatis* využívala do destilátů. Německý lékař Michael Bernhard Valentini připisoval této bylině „moc čistící a léčící“ a doporučoval ji vařit v mléce, ve víně nebo v pivě, a následnou nať pojídat (Hoffmanová, 1991). Přípravky z divokých macešek jsou zmiňovány v souvislosti s léčbou kožních onemocnění. Tyto indikace jsou k nalezení v knize „*Lehrbuch der Biologischen heilmittel*“ doktora Gerharta Madause (Madaus, 2016). Podobné účinky popisují například středověcí botanici Hieronimus Bock a Adam Lonicer.

Výše zmíněné chemické vlastnosti této rostliny podporují její diuretický, protizánětlivý a purogativní účinky. *In vitro* experimenty taktéž podpořili spasmogenní účinky hydromethanolového extraktu květů z *F. arvensis* na tenké střevo (Widy-Tyszewich, 2010) a cytotoxickou aktivitu izolovaných cyklotidů na několik druhů rakovinných buněk (Svangård, 2004). V neposlední řadě vědecké články popisují antitrombotický účinek dichlormethanolového extraktu a potentní antioxidantní účinek hydroethanolového extraktu (Goun, 2002). Slabá antimikrobiální aktivita byla potvrzena na *S. aureus*, *B. cereus*, *S. epidermidis* a *C. albicans*. *In vivo* experimenty popisují diuretickou aktivitu *violae tricoloris herba* a vliv několika druhů extraktů z *V. arvensis* na srdeční kontraktilitu myší (Chandra, 2015).

3.5.6. Vrbovka úzkolistá (*Epilobium angustifolium* L.)

Vrbovka úzkolistá je vytrvalá bylina z čeledi pupalkovitých (*Onagraceae*). Tato trvalka dorůstá výšky 200 cm, oddenky jsou dlouhé a plazivé, ze kterých vybíhají světle podzemní výběžky. Lodyha je jednoduchá, chudě větvená, načervenalá a na bázi nedřevnatá. Listy jsou podobné vrbovým, střídavě a čteně přisedající na lodyhu, mírně vlněné a lehce podvinuté. Čtyřčetné růžově purpurové květy jsou uspořádány v pyramidových hroznech. Plodem je dlouhá tobolka. Vrbovka roste v téměř celé Evropě, Asii, Severní Americe a jiných kontinentech. V České republice roste jak v planárním, tak v alpinském stupni, a to na lesních a lesu blízkých stanovištích. Jedná se o významný pionýrský druh (Smejkal, 1997).

Chemická kompozice vrbovky je již prozkoumána v několika studiích. Přibližně 250 rozdílných sekundárních metabolitů s možnými biologickými účinky lze nalézt v celé rostlině. Mezi hlavní komponenty patří polyfenoly, zvláště se jedná o ellagitaniny, flavonoidy a fenolické kyseliny. Mezi hlavní fenolické kyseliny patří kyselina gallová, kávová, chlorogenová, rozmarýnová, ellagová a skořicová. Mezi hlavní flavonoidy patří quercetin, myricetin, kaempferol a rutin (Kadam, 2018). Další důležitá skupina látek tvoří taniny, do kterých patří například oenothin B, který je s vrbovkou blízce spojován a je mu připisován jeden z hlavních biologických účinků rostliny (Nowak, 2022). Vrbovka taktéž obsahuje malé množství silice, ve které lze nalézt terpeny v různých poměrech. Mezi ně patří například anetol, β -bisabolene, α -caryophyllene, caryophyllene, eugenol, linalool, pelargol, a menthol. Mimo výše zmíněné lze v rostlině také nalézt lignany, několik mastných kyselin, kyselinu askorbovou a jiné, méně obsažené látky. (Nowak, 2022)

První zmínku o rodu *Epilobium* lze nalézt v jednom z dílů *Species Plantarum* od švédského předního botanika Carla Linného. Nejstarší důkazy o užívání *E. angustifolium* jako potravinu pochází z výsledků Velké Severní expedice, která se konala v letech 1733–1743 (Sõukand, 2020). Rostlina byla během této expedice nalezena u domorodých kamčatských kmenů Ainu, Koryak a Itelmen. Pro zmíněné kmeny byla vrbovka důležitou listovou zeleninou, kterou přidávaly k vařeným rybám nebo masu. Sběr mladých a nerozkvetlých stonků, které byly následně vařeny a podávány jako pokrm s jinými bylinami, praktikovali také domorodí obyvatelé Ameriky. Vrbovka se na severozápadě Severní Ameriky používá jako sladidlo, dává se do cukrovinek, zmrzliny a sirupů. Kmen Dena'ina používá rostlinu jako doplněk stravy pro psy a šťávu ze stonku přikládali na rány (Sõukand, 2020). V Rusku a v jiných státech východní Evropy se ze suchých fermentovaných listů připravuje takzvaný Ivanův čaj, který se podává při nespavosti spojené s bolestmi hlavy (Prakofjewa, 2020). Listy vrbovky bývají taktéž přidávány do bylinných směsí či nahrazovány za listy čajovníku.

Rostlině se díky chemickému složení připisuje všeobecný terapeutický a historicky široce vyhledávaný potenciál (Sõukand, 2020). Bylo prokázáno, že extrakty a některé izolované sloučeniny z *Epilobium* spp. mají antimikrobiální, antiproliferační, protizánětlivé, analgetické a antioxidační účinky (Kavaz Yüksel,

2021; Schepetkin, 2016). Dosud provedené *in vitro* a *in vivo* studie oenotheinu B odhalily jeho protinádorové, imunomodulační, protizánětlivé, protivirové účinky a efekt proti zvětšování prostaty (Kadam, 2018).

3.5.7. Světlík lékařský (*Euphrasia officinalis* L.)

Světlík lékařský je dvouděložná, jednoletá, kterou řadíme do čeledi zárazovovité (*Orobanchaceae*). Jedná se o hemiparazitickou, syntetizující rostlinu s lodyhou dorůstající do 30 cm, která je větvená, slabě žláznatě pýřitá a bohatě olistěná vejčitými listy. Květy jsou bílé se žlutou trubkou, spodní pysk květu má fialové žilkování. Květy jsou uspořádané do lichopřeslenů. Světlík nalezneme v téměř celé Evropě, hlavně na kyselých a vlhčích stanovištích. Preferuje louky, pastviny a rašeliniště. Kvetoucí nať můžeme sbírat od července do října (Smejkal, 1997).

Mezi nejčastěji popisované sloučeniny v extraktu z *Euphrasia officinalis* patří fenolové kyseliny (chlorogenová, kávová a ferulová kyselina), flavonoidy (cinarosid, cosmosiin, luteolin, rutin, apigenin a diosmetin), iridoidy jako aukubin a katalpol, a v neposlední řadě polysacharidy, alkaloidy a prokyanidiny (Petrichenko, 2006; Dimitrova, 2013). Rostlina obsahuje taktéž podíl esenciálního oleje, který obsahuje více než 70 konstituentů. Mezi nejčastěji popisované patří kyselina palmitová, thymol, kyselina myristová, linalool, anetol, kyselina linolenová, hexahydrofarnesyl aceton, alfa-terpineol, borneol a další terpeny či mastné kyseliny (Novy, 2015).

Světlík má mnoho lidových názvů. Mezi nejčastěji používané patří ambrožka, bradavník, kočičí len, umrlčí zvonečky či hledíček (Hoffmanová, 1991; Rystonová, 2007). Botanický název je odvozen z řeckého slova „*euphrosyne*“, což znamená radost. Dle Doktríny Signatur mají květy připomínat zdravé oko (Pandita, 2016). Lékař a botanik Pietro Andrea Mattioli popisuje účinky této rostliny ve své knize „Herbář neboli, Bylinář“ jako „zvláštní a principální na mdlé, nedůživé a nejasné oči, jakžby ji člověk koli požíval“. Mattioli doporučoval vyvařovat světlík ve víně pro nejsilnější účinek drogy (Mattioli, 2003). Anglický botanik a lékař Nicholas Culpeper využíval tuto rostlinu k posílení mozku a k „léčbě“ špatné paměti a závratí (Chance, 1953). Vodný extrakt je od nepaměti používán k léčbě očních potíží a byl používán jako jeden z prvních očních profylaxí. Čaj se předepisoval alergikům, kteří trpí na

sennou rýmu (Paduch, 2014). Za první alžbětinské éry se v Anglii světlík používal k výrobě vína a piva.

Dle vědeckých zdrojů byla v minulosti prokázána antioxidantní vliv chloroformového, ethanolového, ethyl acetátového a methanolového extraktu, výtažkům se taktéž částečně připisují protizánětlivé, antibiotické, antifungální a částečně protirakovinné účinky (Dimitrova, 2013; Teixeira, 2013). Rostlinný extrakt obecně vykazuje antioxidantní, antimikrobiální a protektivní efekt (Liu, 2018; Teixeira, 2013; Petrichenko, 2006). Farmakologické výzkumy dále připisují rostlině hepatoprotektivní, antiepileptické a antikatarální působení (Paduch, 2014). Esenciální olej taktéž inhibuje růst gram-negativních i gram-pozitivních bakterií (Novy, 2015). Za zmíněný široký rámec účinků mohou zmíněné polyfenoly, flavonoidy, alkaloidy a třísloviny.

3.5.8. Zběhovec plazivý (*Ajuga reptans* L.)

Zběhovec je druh dvouděložné, vytrvalé rostliny patřící do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). *Ajuga reptans* lze popsat jakožto trvalku s přízemní růžicí a nadzemními čtyřhrannými lodyhami, které dorůstají do velikosti 20 cm. Listy jsou vejčité kopinaté, s vroubkovaným okrajem. Plod zběhovce je tvrdka. Jedná se o velmi častý druh rostoucí v lesích a na lukách, podél potoků a na pastvinách. K naleznutí je zejména na humidních místech od nížin po horský stupeň. Je rozšířen jak v Evropě, tak v Severní Africe a Blízké Asii (Slavíková, 2000).

Mezi nejčastěji vypisované sloučeniny obsažené v methanolovém a ethanolovém extraktu patří široké množství flavonoidů, fenolických a iridoidních sloučenin. Z hlediska polyfenolů extrakt obsahuje majoritně hyperosid, isoquercitrin, rutin a quercitrin, dále také fenolové kyseliny jako kávová, p-kumarová a ferulová, a v neposlední řadě taktéž apigenin a luteolin. Iridoidní sloučeniny patří mezi 2. nejčastěji zastoupené látky v extraktu. Jako hlavní konstituent byl identifikován 8-O-acetylharpagid, který je obsahově následován harpagidem, isoquercitrinem a β -sitosterolem. Aukubin a katalpol je obsažen v malém množství. Mimo výše popsané se ve výtažku taktéž nachází fytosteroly, blíže se jedná o ergosterol, stigmasterol a brassicasterol (Esposito, 2020; Toiu, 2019).

Mezi alternativní, lidové názvy pro zběhovce řadíme pojmenování jako modrá kukačka, mořidlo, uprchlík či drábský traňk (Rystonová, 2007). Latinský název vznikl z řeckého slova „*agios*“, což je v překladu „člověk slabých údů“. Tento překlad vychází z tradičního používání drogy při bolestech končetin. V minulosti se rostlina zběhovce údajně používala v alchymii při výrobě kvintesencí, což alchymisté popisovali jako „pátý element“ (Hoffmanová, 1991). Nicholas Culpeper tuto rostlinu považoval za lék na rány a používal ji pro překonání kocoviny. Lidově se taktéž používal k utlumení halucinací vyvolaných nadměrnou konzumací alkoholu. Již v minulosti byla známa schopnost drogy zastavovat krvácení, za což jsou zodpovědné obsažené třísloviny. V rakouské lidové medicíně byl čaj z natě zběhovce používán při léčbě poruch souvisejících s dýchacími cestami (Vogl, 2013b). Česká lidová medicína používala alkoholový macerát ze zběhovce na léčení aftu a jiných ústních neduhů (Korbelář, 1981).

Rostliny rodu *Ajuga spp.* vykazují v *in vitro* testech antioxidační, antimikrobiální a antifungální aktivitu. Extrakty byly testovány na antioxidační potenciál pomocí různých metod (DPPH, TEAC, EPR) a výsledky ukázaly dobrou aktivitu v souladu s obsahem polyfenolů. Inhibice růstu mikroorganismů a kvasinek byla nejúčinnější u petroletherového extraktu *A. reptans*, zejména u *A. niger* a *C. albicans*. Etanolové extrakty *A. reptans* a *A. genevensis* projeví protizánětlivou aktivitu prostřednictvím snížení oxidačního stresu, fagocytózy a celkového počtu leukocytů (Goger, 2021; Toiu, 2019). Extrakty také mají potenciál inhibovat lipoxygenázu, acetylcholinesterázu a bytyrylcholinesterázu a v neposlední řadě projevují antipyretické účinky (Hailu, 2014; Riaz, 2007).

3.5.9. Devětsil lékařský (*Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn. et Al.)

Poslední testovanou rostlinou je devětsil lékařský, což je statná vlhkomilná rostlina z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*). Devětsil je až 50 cm vysoká trvalka se silným oddenkem, ze kterého již počátkem jara vyhání duté, masově červené, plstnaté a šupinaté lodyhy, které jsou zakončené mohutnými květy uspořádaných v hroznovitých úborech. Květy jsou purpurové až bledě růžové a výrazně aromatické. Listy nalezneme až po odkvětu, jsou dlouze řapíkaté s velkou, trojhranně srdčitou čepelí. Listy mohou mít rozpětí až 50 cm. Listy devětsilu patří mezi jedny s největších

v České republice. Rostlina roste přednostně na vápenatém podloží, na vlhkých, podmáčených horských a podhorských půdách, loukách, březích potoků a v říčních nivách, případně v příkopech a při okrajích cest. Areál rozšíření je téměř celoevropský, dále roste i v Asii (Korbelář, 1981; Štech, 2004).

Z fytochemického hlediska se rostliny rodu *Petasites* spp. považují za velice dobře prozkoumané. Mezi nejzajímavější biologicky aktivní látky se dají považovat seskviterpeny petasin a isopetasin, které se nachází jak v rhizomech, tak v kořenech a listech rostliny (Thomet, 2001). Mimo to rostlina obsahuje pyrrolizidinové alkaloidy, nejvíce zastoupené jsou senecionin a inteferrimin, dále také již notoricky známé látky ze skupiny flavonoidů (isoquercitrin, astragalin, quercetin), taniny, slizovité látky a triterpenoidní saponiny. Dále bylo v extraktu *Petasites hybridus* identifikováno více než 50 fenolických sloučenin (různé fenolické kyseliny, lignany). Chemický profil esenciálního oleje z rostliny zahrnuje okolo 40 látek, blíže se jedná fukinanolid, 7-epi-alfa-eudesmol, linalool, eremophilen a germakren D v oleji z nadzemní části, v silici z rhizomu a kořenů lze nalézt mimo výše zmíněných taktéž nonenal, 1-nonen a germacren D, α -bisabolol oxid, epi- β -santalen, α -santalen a jiné sloučeniny (Mihajilov-Krstev, 2020; Ożarowski, 2013).

Tuto zdatnou rostlinu nalezneme pod lidovými názvy jako jsou například lopuch, devesel, lopušice a koňské kopyto (Rystonová, 2007). Latinský název vznikl díky řeckému lékaři Dioscoridesovi, který ho pojmenoval „*petasos*“ neboli široký klobouk. Anglický název „butterbur“ vychází z faktu, že se dříve do listů devětsilu balilo máslo. Lidé taktéž v minulosti používali listy lopuchu a devětsilu jako ochranu před sluncem a deštěm. Při potížích močových cest nebo dráždivém kašli se prášek ze sušených oddenků povařil v odvaru z rýže, krupek nebo ovesných vloček. Proti chrapotu a kašli se vařil ve víně s medem. Kořen se v minulosti používal proti střevním parazitům a při morových ranách, o čemž svědčí jeho německý název „*Pestwurze*“, což znamená „morový kořen“. Druhá informace popisuje pálení oddenků, díky kterým dým nepříjemně páchnul a měl údajně „vykouřit“ přítomný mor (Korbelář, 1981; Kulinowski, 2022). Tyto středověké informace jsou podpořeny i v záznamech Matthioliho Herbáře, kde „prášek z oddenku rozpuštěný v bílém víně“ používá k léčbě moru a morovým zimnicím (Mattioli, 2003).

Mezi zdokumentované biologické účinky extraktů z *Petasites spp.* a jeho izolovaných složek patří protizánětlivé, neuroprotektivní, spasmolytické, antihypertenzní nebo protirakovinné účinky (Tzoneva, 2021). Nejrozsáhlejší preklinický a klinický výzkum farmakologické aktivity extraktů z rostlin devětsilu (blíže pak petasinu, S-petasinu a iso-petasinu) se týká jejich antimigrenózních účinků (Thomet, 2001). Biologická účinnost výtažků z nadzemních částí rostlin také úzce souvisí s jejich klinickým použitím u alergické rýmy a astmatu (Ożarowski, 2013). *In vivo* a *in vitro* experimenty protizánětlivé aktivity odhalili například inhibici prostaglandinů a leukotrienů v kožních fibroblastech a leukocytech, a inhibici produkce a uvolňování cytokinů a dalších prozánětlivých mediátorů (Kulinowski, 2022; Mihajilov-Krstev, 2020).

4. Materiál a metodika

4.1. Rostlinné vzorky

Pro tento experiment byly vybrány rostlinné vzorky, které mají dle využitých knižních a odborných zdrojů hojivý, antimikrobiální, zklidňující či stahující účinek na zevní rány. Sběr rostlinného materiálu probíhal výhradně na území Šumavy v období od května do srpna 2022. Celkem bylo nasbíráno 9 vzorků z 9 druhů rostlin. Botanická identifikace byla provedena za pomoci Ing. Karla Boublíka, Ph.D. z katedry ekologie FŽP ČZU. Rostliny byly vyhledávány, sbírány a zpracovávány za optimálních podmínek (vegetační období rostliny, počasí, lokalita). Pro sběr byly vybrány pouze důležité části rostlin, které mají léčivé indikace dle odborné literatury – *herba* (nať) a *rhizoma* (oddenek). Nasbíraný rostlinný materiál byl pečlivě rozříděn, vyčištěn, svázan do prodyšných snopků, převezen na katedru kvality a bezpečnosti potravin ČZU, kde byl materiál usušen v laboratorní sušičce při teplotě nepřesahující 40 °C. Rostliny byly během sušení kontrolovány kvůli riziku rozvoje nežádoucích patogenů. Usušený rostlinný materiál byl poté oddělen a uložen ve slisovaných zipových sáčkách pro zajištění optimálních skladovacích podmínek.

4.2. Použité chemikálie

80% methanol byl použit jako extrakční činidlo (Penta, Praha, ČR), dimethylsulfoxid byl použit k rozpuštění a ředění extraktů (Lach-Ner, Neratovice, ČR). Jako kultivační médium u testování minimální inhibiční koncentrace (MIC) byl použit Mueller-Hinton bujón (OXOID, Brno, ČR), u testu viability buněk a při práci s keratinocyty byl použit Sabourad dextrose agar (SDA), RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, ČR), Dulbecco's Modified Eagle Medium (Biowest, FR), fosfátový pufr PBS (Biowest, FR), Akutáza (Biowest, FR) a 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyl-2H-tetrazolium bromid (MTT) (Sigma-Aldrich, Praha, ČR). Penamecilin a tetracyklin byli vybrány jako referenční antibiotika (Sigma-Aldrich, Praha, ČR).

4.3. Příprava vzorků

Usušené rostlinné vzorky byly nejprve zhomogenizovány v elektrickém mlýnku (IKA, DE) a přesunuty do zásobních zkumavek. Následně bylo odebráno 2 g sušené byliny, ke které bylo přidáno 25 ml 80 % methanolu. Směs se umístila na 24 hodin do třepačky k podpoření extrakce. Poté byly extrakty zcentrifugovány a výsledný macerát byl přefiltrován přes filtrační papír. Filtrát byl kvantitativně převeden do zvážených odparných baněk a odpařován po dobu 30 minut na vakuové odparce (Heidolph, DE) pro odpaření methanolu. Výsledný čistý extrakt usazený v baňkách byl skladován v temnu a chladu. K přípravě zásobních roztoků, které se následně používali u stanovení MIC a viability buněk, byla vždy část rostlinných extraktů odebrána do mikrozkuhavky (Eppendorf, ČR) a rozpuštěna v DMSO na koncentraci 51,2 mg/ml.

4.4. Testované mikroorganismy

Antibakteriální aktivita byla testována na 7 bakteriálních kmenech, jmenovitě se jedná o *Staphylococcus epidermidis* CCM 50, *Staphylococcus epidermidis* CCM 4418, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus saprophyticus* CCM 2727, *Staphylococcus lugdunensis* CCM 4069, *Streptococcus pyogenes* CCM 4425. Testované mikroorganismy byly získány z American Type Culture Collection (ATCC) a z Czech Collection of Microorganisms (CCM).

Tabulka 1: Seznam sbíraných a analyzovaných rostlin

Český název	Latinský název	Čeleď	Sbíraná část	Herbářová položka
Klinopád obecný	<i>Clinopodium vulgare L.</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>herba</i>	[MZ001]
Černýš lesní	<i>Melampyrum sylvaticum L.</i>	<i>Orobanchaceae</i>	<i>herba</i>	[MZ002]
Chrastavec rolní	<i>Knautia arvensis, subsp. arvensis.</i>	<i>Caprifoliaceae</i>	<i>herba</i>	[MZ003]
Podběl lékařský	<i>Tussilago farfara L.</i>	<i>Asteraceae</i>	<i>herba</i>	[MZ004]
Violka rolní	<i>Viola arvensis Murray</i>	<i>Violaceae</i>	<i>herba</i>	[MZ005]
Vrbovka úzkolistá	<i>Epilobium angustifolium L.</i>	<i>Onagraceae</i>	<i>herba</i>	[MZ006]
Světlík lékařský	<i>Euphrasia officinalis L.</i>	<i>Orobanchaceae</i>	<i>herba</i>	[MZ007]
Zběhovce plazivý	<i>Ajuga reptans L.</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>herba</i>	[MZ008]
Devěsíl lékařský	<i>Petasites hybridus (L.) G. Gaertn. et Al.</i>	<i>Asteraceae</i>	<i>rhizoma</i>	[MZ009]

4.5. Antimikrobiální aktivita

Pro stanovení antimikrobiální aktivity vyjádřené jako minimální inhibiční koncentrace (MIC) bylo pro vybrané bakterie využito mikrodiluční metody dle CLSI (CLSI 2008, 2009). MIC je nejnižší možná koncentrace, při níž je z 80 % inhibovaný nárůst daného zkoumaného mikroorganismu. Experiment byl proveden v 4 nezávislých opakováních, poslední opakování bylo dodatečně z důvodu lepší interpretace výsledků provedeno ve 2 technických opakováních.

4.6. Stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC)

Připravené zásobní roztoky rostlinných extraktů o koncentraci 51,2 mg/ml byly nejprve zředěny v Muller-Hinton bujónu (MHB) na požadovanou základní koncentraci 4096 µg/ml. Následně byly extrakty dvojnásobně a sériově naředěny multikanálovou pipetou v koncentracích od 16 do 2048 µg/ml do 96 jamkových mikrotitračních destiček obsahující MHB. Ve stejných koncentracích byly taktéž naředěny kontrolní antibiotika.

Destičky byly následně inokulovány bakteriemi v konečné hustotě 0,5 McF (1,5 x 10⁸ KTJ/ml, KTJ = kolonie tvořící jednotka). Na inokulaci byl použit inokulační ježek. Použité inokula byla připravena z jednodenních („overnight“) bakteriálních kultur

kultivovaných v MBH při teplotě 37 °C. Stupeň inhibice růstu vybraných bakterií byl hodnocen po 24 hodinách kultivace při 37 °C pomocí multidetekčního readru Synergy H1 (BioTek, USA) při vlnové délce 512 nm. Za minimální inhibiční koncentraci byla považována nejnižší koncentrace, která inhibovala růst bakterií o 80 % ve srovnání s kontrolou nárůstu. Jako pozitivní kontrola byly použity antibiotika penamecilin a tetracyklin. Poslední sloupec každé destičky obsahoval pouze čisté médium a fungoval jako kontrola nárůstu. Každé opakování rovněž obsahovalo destičku, která se neočkovala a fungovala jako kontrola čistoty.

4.7. Kultivace a příprava keratinocytů

Kultivace keratinocytů proběhla v řízených podmínkách laboratorního inkubátoru (teplota 37 °C, atmosféra s obsahem 5 % CO₂), v kultivačních lahvích T75 s polopropustnou membránou. Jako médium bylo použito Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) s vysokým obsahem glukózy. Obsažen byl také pyruvát, L-glutamin, 10 % FBS a antibiotika penicilin a streptomycin. Kultivační médium bylo měněno každých 48-96 hodin v závislosti na hustotě a rychlosti dělení buněk. Příprava keratinocytů k testování zahrnuje také přepasážování buněk. Při tomto procesu bylo nejprve odsáto kultivační médium z lahve a buňky byly následně promyty médiem Phosphate Buffered Saline z důvodu odstranění zbytků využitého kultivačního média. Následně bylo ke keratinocytům přidáno zhruba 10 ml roztoku pro oddělování buněk Akutáza, který šetrně uvolní buňky z povrchu kultivačních lahví. Celý proces probíhá při pokojové teplotě a po dobu 45-60 minut, v závislosti na množství enzymu. Po uvolnění většiny buněk byla suspenze centrifugována (5 minut, 1500 rpm), supernatant vylit a buňky byly opět rozředěny do nových lahví s čistým médiem.

4.8. MTT test životaschopnosti buněk

Viabilita buněk byla měřena ve dvou časových intervalech, a to po 24 a 72 hodinách po působení extraktů. Životaschopnost byla měřena pomocí MTT testu pro vyhodnocení cytotoxicity využitých rostlinných extraktů ředěných v DMSO. Ředění probíhalo technicky stejně jako u stanovení MIC, nicméně použité koncentrace extraktů byly v rozmezí od 2 do 256 µg/ml média. Rostlinné extrakty byly nejdříve naředěny separátně, v prázdných mikrotitračních destičkách, ze kterých se poté odebíralo 50 µl do destiček

s buňkami. Kromě experimentálních skupin byla zařazena i kontrolní skupina, která obsahovala pouze médium (DMEM).

Oddělené buňky byly nejprve zkontrolovány a spočítány pod mikroskopem a následně byly napipetovány do 96 jamkových destiček o koncentraci 150 000 buněk/ml média (200 μ l/jamka). Po 24 h inkubaci určené k opětovné adhezi buněk bylo nejprve odsáto médium, a následně přidáno nových 50 μ l média, do kterého bylo poté přidáno 50 μ l média s příslušným obsahem sériově zředěného rostlinného extraktu.

Po uplynutí časového intervalu (24 nebo 72 h) se odstranilo médium a do prázdných destiček bylo následně přidáno 200 μ l roztoku MTT, které bylo zředěno v PBS na koncentraci 600 μ g/ml. Následovala inkubace po dobu 3 až 4 hodin, kdy došlo k metabolické přeměně MTT na krystaly formazanu. Po uplynutí inkubace byl roztok MTT vyjmut, jamky promyty 200 μ l PBS média, a nakonec bylo přidáno 200 μ l DMSO, který fialové formazanové krystaly uvolnil z buněk a rozpustil. Destičky se přesunuly na 15 minut do třepačky, která roztok v jamkách zamíchala. V poslední řadě byly destičky opticky změřeny na multidetekčním readru při vlnové délce 530 nm.

5. Výsledky

Dle výsledků uvedených v subkapitolách 5.1 a 5.2 lze shrnout, že *E. angustifolium* projevilo největší antimikrobiální aktivitu vůči testovaným patogenům, a zároveň působilo nejvíce cytotoxicky na testované buňky HaCaT. Největší průměrný pozitivní účinek na viabilitu buněk lze pozorovat u vzorků *M. sylvaticum* a *C. vulgare* při 24hodinové inkubaci. Tyto vzorky zároveň vykazují jedny z nejslabších antimikrobiálních aktivit. Za nejtoxičtější extrakt u 72hodinové inkubace lze považovat *H. hybridus*.

5.1. Antimikrobiální aktivita rostlinných extraktů

Výsledky ukázaly odlišné schopnosti extraktů inhibovat růst vybraných zástupců patogenních mikroorganismů v porovnání s vybranými antibiotiky (Tabulka 2). Nejcitlivějším testovaným mikroorganismem byl *S. epidermidis* CCM 4418, který byl inhibován 8 z 9 testovaných extraktů. Nejúčinnější spektrum účinku bylo pozorováno u extraktu z *Epilobium angustifolium*, který vykazoval nejnižší inhibiční koncentrace u 5 ze 7 testovaných patogenů. Tento extrakt taktéž vykázal nejnižší inhibiční koncentraci z celého testu, a to u *S. epidermidis* CCM 4418 ($IC_{80} = 128\mu\text{g/ml}$). Extrakty z *Petasites hybridus* a *Euphrasia officinalis* jako jediné projevily inhibiční účinek u všech testovaných mikroorganismů. U zbylých rostlinných extraktů se MIC pohybuje v rozmezí 1024–2048 $\mu\text{g/ml}$.

Obecně slabý antimikrobiální účinek na testované patogenní mikroorganismy byl zjištěn u extraktů z *Viola arvensis*, *Knautia arvensis*, *Melampyrum sylvestris* a *Ajuga reptans*.

Tabulka 2 - Antimikrobiální aktivita vybraných rostlinných extraktů

MIC ₈₀ extraktu/ATB [μg/ml]	Testovaný mikroorganismus						
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
	CCM 50	CCM 4418	ATCC 25923	ATCC 29213	CCM 2727	CCM 4069	CCM 4425
<i>C. vulgare</i>	2048	1024	1024	x	x	1024	1024
<i>M. sylvaticum</i>	x	2048	x	x	x	1024	1024
<i>K. arvensis</i>	x	2048	x	x	x	2048	2048
<i>T. farfara</i>	x	2048	2048	2048	x	2048	2048
<i>V. arvensis</i>	x	x	x	x	x	2048	2048
<i>E. angustifolium</i>	512	128	512	512	512	1024	2048
<i>E. officinalis</i>	1024	1024	1024	2048	2048	1024	2048
<i>A. reptans</i>	x	2048	x	x	x	2048	2048
<i>P. hybridus</i>	1024	1024	2048	2048	2048	1024	2048
tetracyklin	128	32	16	16	16	16	1024
penamecilin	16	16	16	32	32	16	16

Pozn: x = MIC > 2048 μg/ml

5.2. Vliv extraktů na proliferaci keratinocytů

Test cytotoxické aktivity devíti rostlinných extraktů byl proveden proti buněčné linii HaCaT v koncentrační řadě 16 až 256 μg/ml a ve dvou dobách inkubace. MTT test byl použit za účelem stanovení, zda extrakty mohou ovlivnit proliferaci buněk. Výsledky v grafech 1 až 4 jsou vyjádřeny jako průměr ± SD z pěti nezávislých experimentů.

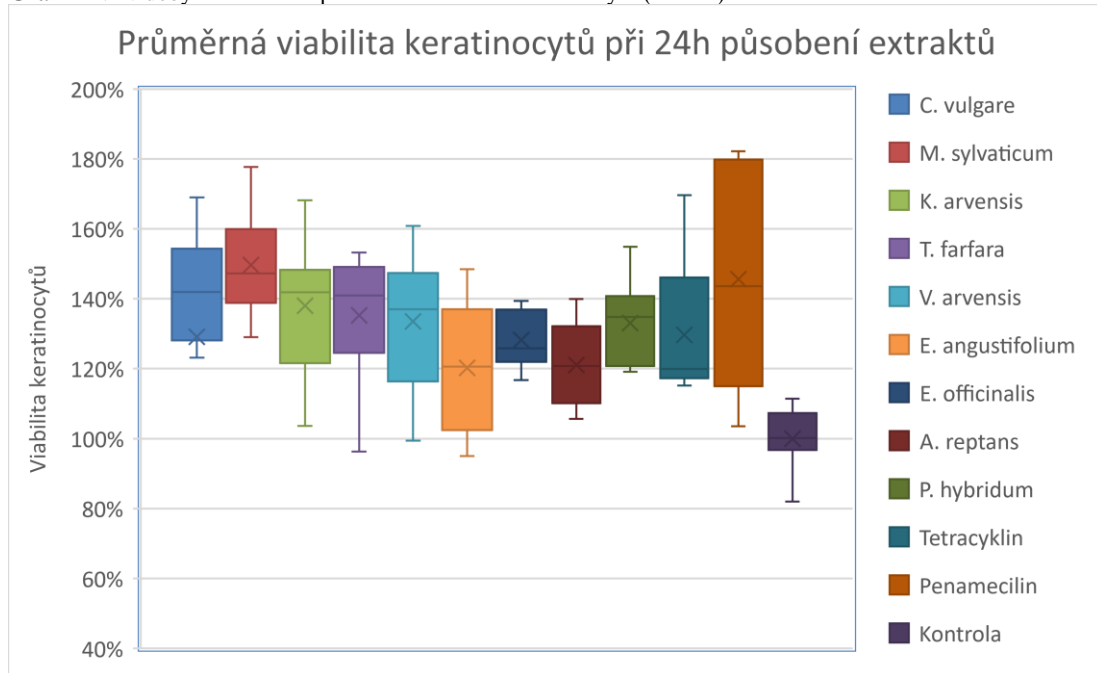
V rámci testování byly zvoleny dvě inkubační doby (24 a 72 hodin), které měly ověřit, zda existuje možná závislost mezi viabilitou testovaných buněk a dobou účinku extraktů. Z dat ve grafech 1 a 2 lze pozorovat, že extrakty při 24hodinovém působení průměrně podpořili proliferaci buněk, ale při 72hodinovém působení extrakty průměrně snižovali viabilitu buněk nebo byl účinek srovnatelný s kontrolou. Dá se tedy předpokládat, že doba účinku může ovlivnit životaschopnost buněk, a tím pádem dokáže i hypoteticky podpořit hojení ran a proliferaci.

Vliv závislosti koncentrace jednotlivých typů extraktů na viabilitu keratinocytů je zobrazena ve grafech 3 a 4. Z dat ve grafu 3 lze pozorovat, že přítomnost extraktů při 24hodinové inkubaci pozitivně ovlivnila aktivitu buněk, nicméně rostoucí koncentrace extraktů způsobovali postupné snižování pozitivního efektu na testované

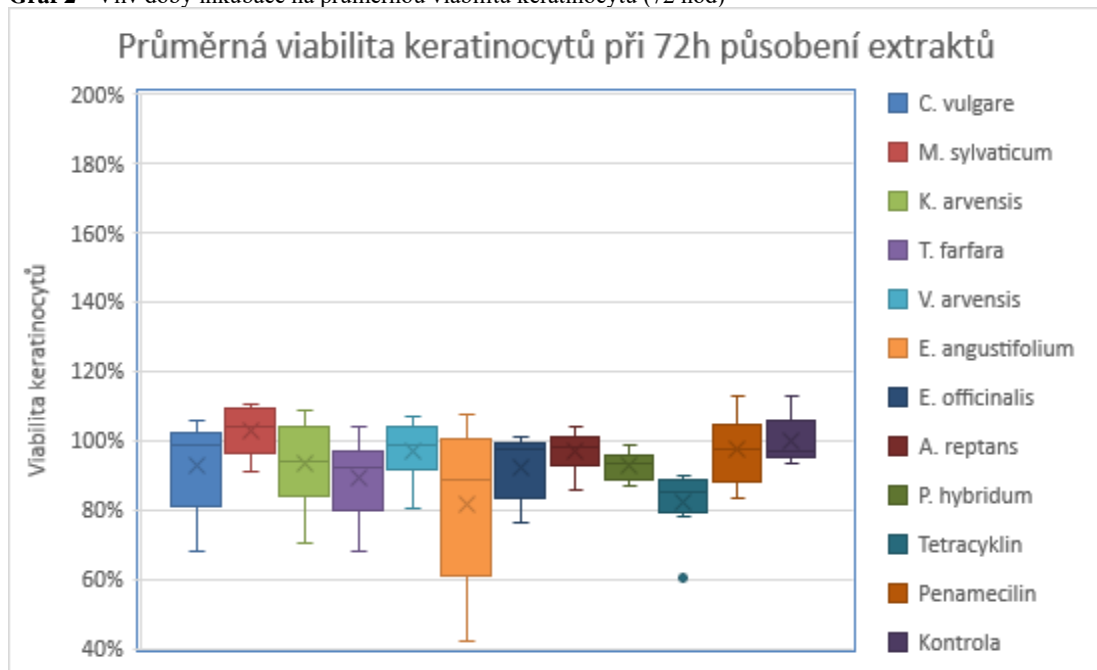
keratinocyty. Nejmenší aktivita buněk byla sledována u extraktu z *E. angustifolium* při koncentraci 256 µg/ml, kdy vykazovaná viabilita činila 95±10 % ve srovnání s kontrolou. Naopak největší aktivitu vykazovali buňky při nejnižších koncentracích všech 9 extraktů (2 a 4 µg/ml), kdy v některých případech šlo průměrně až o 40-50 % nárůst ve srovnání s kontrolou. Je třeba však vzít v potaz i naměřenou směrodatnou odchylku, která je u této doby inkubace i v řádech desítek procent. Mezi nejvíce účinné extrakty ve zmíněných koncentracích patří *Clinopodium vulgare*, *Melampyrum sylvaticum*, *Knautia arvensis* a *Euphorbia officinalis*.

U 72hodinové inkubace byl pozorován silnější negativní vliv extraktů na aktivitu keratinocytů v závislosti na koncentraci (Graf 4). U hodnot 128 a 256 µg/ml byl již zaznamenán výrazný negativní účinek 5 extraktů na proliferaci. Nejtoxičtěji se jeví extrakt z *E. angustifolium*, který při koncentraci 128 µg/ml snížil viabilitu na 59±2 %, při 256 µg/ml na 42±6 %, což již lze považovat za výrazný cytotoxický účinek při kterém byla inhibována aktivita buněk o polovinu ve srovnání s kontrolou (IC₅₀). Tato aktivita negativně koreluje s výše zmíněným antimikrobiálním účinkem *E. angustifolium*. Slabší cytotoxické účinky lze pozorovat také u *C. vulgare* a *T. farfara*. Žádný z testovaných extraktů neměl při 72hodinové inkubaci průkazný pozitivní vliv na proliferaci testovaných keratinocytů.

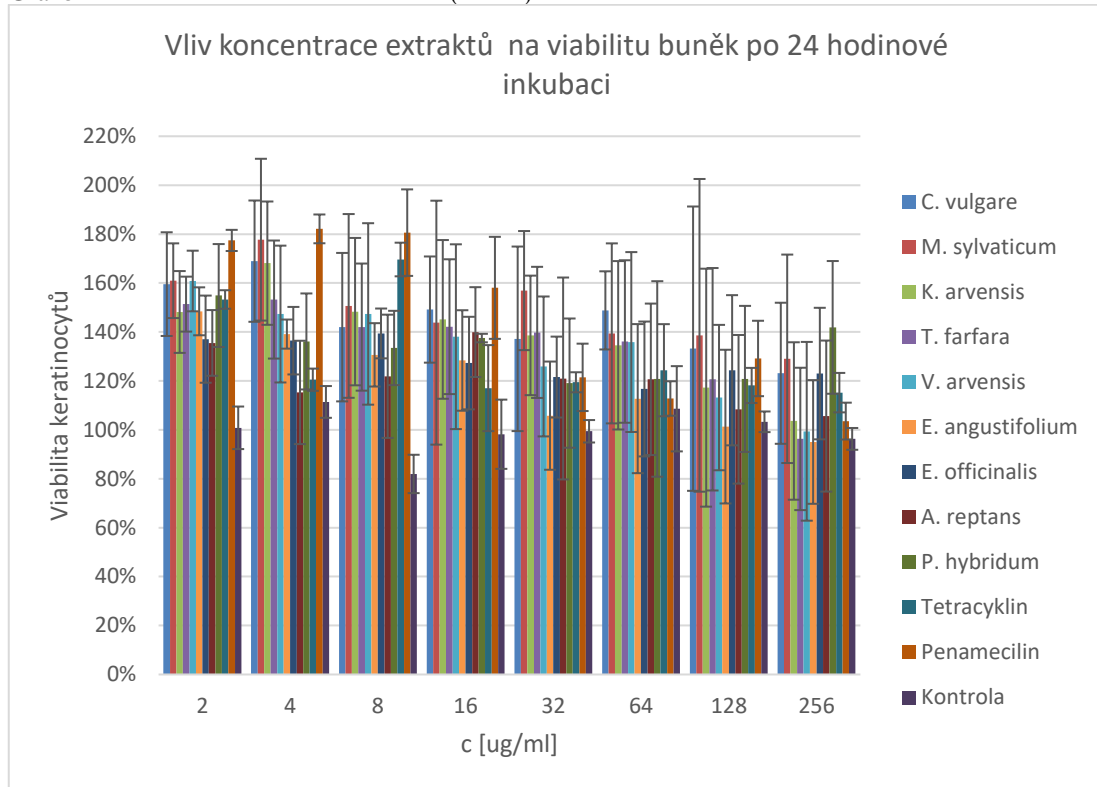
Graf 1 - Vliv doby inkubace na průměrnou viabilitu keratinocytů (24 hod)



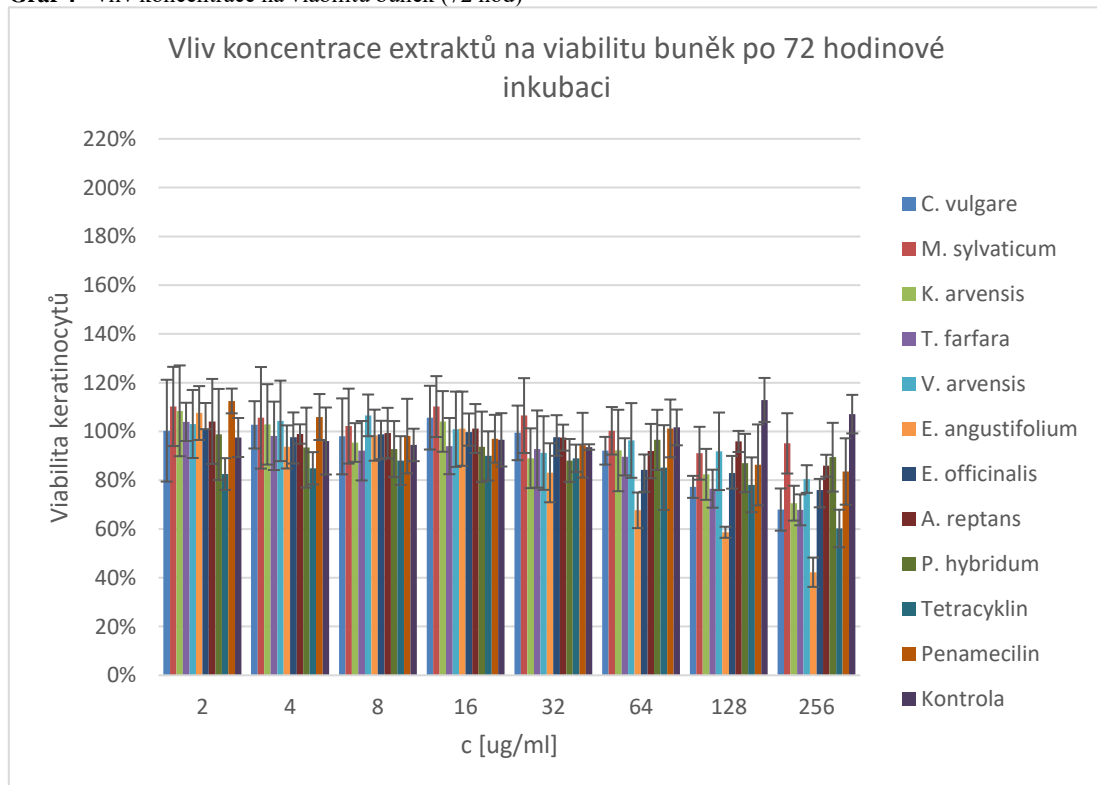
Graf 2 - Vliv doby inkubace na průměrnou viabilitu keratinocytů (72 hod)



Graf 3 – Vliv koncentrace na viabilitu buněk (24 hod)



Graf 4 - vliv koncentrace na viabilitu buněk (72 hod)



6. Diskuse

Vytypovaný soubor 9 testovaných rostlin byl vybrán na základě jejich vědecky podpořených antimikrobiálních a proliferačních účinků na lidský organismus a tradičního použití k léčbě infekčních a dermatologických onemocnění. Antimikrobiální aktivita vybraných extraktů byla otestována pomocí mikrodiluční metody, nicméně jejich účinek vůči vybranným patogenním mikroorganismům byl ve většině případů slabý. Nedostatečná aktivita u některých rostlinných vzorků mohla být způsobena například zvoleným časem sběru, kdy nejvíce biologicky aktivních látek se v rostlině nachází během slunečného poledne. Mezi další proměnné patří výběr části používané rostliny, podmínky skladování a rozdílné složení obsahových látek v dané části rostliny (Tanko, 2005). Důležitým aspektem je taktéž správná příprava vzorků, která může v negativním případě razantně ovlivnit výsledky experimentu. Tento aspekt zahrnuje jak správnou laboratorní praxi, tak výběr správně extrakční metody, ideálního extrakčního činidla, správných parametrů při zpracování vzorků a výsledné skladování extraktů (Selvakumar, 2010).

Pokud je autorovi této práce známo, je to poprvé, co byla otestována jak *in vitro* antimikrobiální aktivita MeOH extraktu z *Clinopodium vulgare*, *Melampyrum sylvaticum* a *Knautia arvensis*, tak jejich cytotoxické působení na HaCaT buňky pomocí MTT testu.

Extrakty byly testovány na 6 vybraných druhů patogenních gram-pozitivních bakterií rodu *Staphylococcus* a 1 druhu streptokoku, *Streptococcus pyogenes*. Vybrané patogeny jsou původcem mnoha forem infekcí a onemocnění (Guo, 2017). *S. aureus* způsobuje povrchové kožní léze, lokalizované abscesy a jiné závažnější kožní infekce. Spolu se *S. epidermidis* je *S. aureus* hlavní příčinou infekce chirurgicky ošetřených ran a do těla vložených zdravotnických přístrojů (Rupp, 1994). *S. saprophyticus* primárně způsobuje infekce močových cest a je původcem cystitidy, uretritidy, septicémie a infekce ran (Widerström, 2012). Impetigo a růže u dětí je způsobena primárně mikroorganismem *S. pyogenes*, který je mimo i to původcem infekcí dýchacích cest a kůže (Ibrahim, 2016). V poslední řadě *S. lugdunensis* je spojován s celou řadou infekcí, včetně kardiovaskulárních infekcí a infekcí kůže a měkkých tkání (furunkly, celulitity a abscesy) (Heldt Manica, 2017). Na druhou stranu je třeba zmínit, že zástupci rodu *Staphylococcus* se přirozeně nachází na kůži a ve sliznicích, kde napomáhají například upravovat pH prostředí a fungují jako imunitní bariéra, která chrání před nepříznivými vlivy okolí

a škodlivými patogeny. Obecně největší hustota stafylokoků je k nalezení v potních žlázách a na sliznicích obklopujících tělní otvory (Otto, 2014).

Výsledné minimální koncentrace všech rostlinných extraktů se pohybovali v rozmezí 1024-2048 µg/ml až na případ jednoho vzorku, kdy *E. angustifolium* dokázalo ve srovnání s ostatními vzorky úspěšně inhibovat růst mikroorganismů v relativně nižších koncentracích, a to v rozmezí 128 až 512 µg/ml. Za výslednou aktivitu může být zodpovědný jak vysoký obsah flavonoidů, taninů a fenolů. Mezi intenzivně zkoumanou sloučeninu v *E. angustifolium* patří například ellagitanin oenothein B, který taktéž projevuje silnou antimikrobiální a antioxidační aktivitu. Zhao et al. (2020) zkoumal antimikrobiální účinek oneotheinu B z *Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis* na 3 druzích *S. aureus*. Oenothein B vykazoval silné antimikrobiální a baktericidní účinky proti různým kmenům *S. aureus* již při nízkých koncentracích, kdy MIC byla v rozmezí 0,25 – 0,5 mg/ml a MBC v rozmezí 1,00 – 2,00 mg/ml (Zhao, 2020) .

Výsledky z MTT testu negativně korelují s antimikrobiální aktivitou extraktu z vrbovky. Při 72hodinové inkubaci byl pozorován cytotoxický účinek dvou nejvyšších koncentrací, 128 a 256 µg/ml. Zágorska-Dziok a kolektiv uvádějí, že ethanolové extrakty *E. angustifolium* v koncentracích od 10 do 1000ug/ml nevykazovaly žádnou cytotoxickou aktivitu vůči kožním buňkám, ale naopak výrazně zvyšovali proliferaci v závislosti na použité dávce. Při testované koncentraci c = 1000 µg/ml se viabilita testovaných HaCaT pohybovala od 135 do 145 % (Zagórska-Dziok, 2021). Tato aktivita může souviset s přítomností derivátů kyseliny gallové a kávové, což jsou sloučeniny s potvrzenou schopností zlepšovat proliferaci a regeneraci kožních buněk. Proces hojení ran mohou taktéž usnadňovat obsažené flavonoidy, třísloviny a fenoly (Nowak, 2022). Tyto výsledky jsou v přímém rozporu s výsledkem v této práci. Rozličnost výsledků může být způsobena jak vybranou metodou testování, tak odlišným zpracováním a kvalitou rostlinného materiálu či kvalitnější a přesnější laboratorní praxí.

Extrakt z klinopádu vykazoval slabou antimikrobiální aktivitu u 5 ze 7 testovaných mikroorganismů. Dle výzkumu Stefanovicové a kolektivu z roku 2012 vykazovaly extrakty z *C. vulgare* rozličnou úroveň antibakteriální aktivity v závislosti na extrakčním činidle. Ethylacetátový a acetonový extrakt působil lépe než ethanolový. Testované bakterie ve většině případů vykazovaly citlivost při 10 až 20 mg/ml. U nejcitlivějšího, a i námi testovaného *S. aureus* 25923 se hodnoty pohybovaly v intervalu od 0,62 do 2,5 mg/ml, což i

přes výběr jiného extrakčního činidla koreluje s našimi výsledky (Stefanovic, 2012). Methanol je často upřednostňován vzhledem k vyšší účinnosti extrakce ve srovnání s ethanolem (Eloff, 1998), nicméně v tomto případě měl lepší výsledky zmíněný ethanolový extrakt. Výběr více druhů extrakčních činidel s odlišnými polaritami by mohl lépe prozkoumat jaké druhy bioaktivních látek mohou za antimikrobiální působení.

Tato práce zahrnuje vůbec první popsání vlivu MeOH extraktu *C. vulgare* na působení HaCaT buněk. Pozitivní vliv na keratinocyty lze pozorovat pouze u 24hodinové periody, a to v koncentracích od 2 do 16 µg/ml. Působení vodného extraktu z *in vitro* kultivovaných a divokých rostlin *C. vulgare* na HaCaT buňkách je sledován ve studii Petrovy a kolektivu z roku 2023, která sledovala účinek extraktů na nádorové buněčné linie. Jedná se o jediný dohledatelný článek popisující použití extraktů z oddělených květů, stonků a listů *C. vulgare* na HaCaT buňky při dvou inkubačních dobách (24 a 48 hodin). Koncentrace 1000 µg/ml měla za následek snížení viability HaCaT buněk na 10-15 % u všech typů extraktů a u obou dob kultivace. Koncentrace 250 µg/ml při 24hodinové inkubaci způsobila pouze minimální negativní efekt na viabilitu buněk a hodnoty se pohybovali okolo 100 %, u 48hodinové inkubace byl účinek extraktu ze stonků a květů divokých rostlin silnější, nicméně viabilita buněk se stále pohybovala okolo 90 % (Petrova, 2023).

Antimikrobiální účinky extraktu z *Melampyrum sylvaticum* lze zařadit jako jedny z nejslabších v této práci, nicméně použitý výtažek byl schopen jako jeden ze 2 extraktů inhibovat, jak růst *S. lugdunensis*, tak *Streptococcus pyogenes* z 80 % při koncentraci 1024 µg/ml. Jedná se zároveň o první *in vitro* antimikrobiální test příslušného druhu rodu *Melampyrum*. Nejčastěji sledovanými druhy s potencionálními antimikrobiálními a antifungálními účinky jsou *M. arvense* a *M. cristatum*. Ve výzkumu Munteanu a kol. z roku 2012 se stanovovala antibakteriální a antimykotická aktivita tinktur z *M. cristatum*, *M. arvense* a *M. biharensis* pomocí difuzní a ředící metody. Všechny tři ethylalkoholové tinktury inhibovaly růst *S. aureus* a *C. albicans* do ředění 1/8 (Munteanu, 2012). Antimikrobiální účinky extraktů z rodu *Melampyrum* jsou dohledatelné jen ve velmi omezeném množství, a proto by měla být provedena hlubší studie v tomto směru.

Potencionální cytotoxické účinky extraktu z rostliny rodu *Melampyrum* jsou omezeně popsány v práci Kirmizibekmez a kol. z roku 2011, kdy byl sledován antiprotozoální účinek *M. arvense* a jeho metabolitů. V tomto článku byl taktéž sledován cytotoxický účinek některých ze sekundárních metabolitů obsažených v *M. arvense* a mezi zkoumanými

sloučeninami pouze apigenin ($IC_{50} = 57,5 \mu\text{g/ml}$), luteolin ($16,2 \mu\text{g/ml}$) a fytosterol ($49,8 \mu\text{g/ml}$) vykazoval mírnou cytotoxicitu vůči L6 myoblastech získaných z kosterního svalstva krys (Kirmizibekmez, 2011). Methanolový extrakt z *M. sylvaticum* ($c = 2\text{--}32 \mu\text{g/ml}$) popsáný v této práci naopak projevuje při 24hodinové inkubaci pozitivní účinek ($158 \pm 43 \%$) na aktivitu HaCaT buněk. Jedná se zároveň o první popsáný účinek extraktu *M. sylvaticum* na viabilitu keratinocytů. U 72hodinové inkubace je vliv koncentrace na viabilitu buněk slabý a extrakt se nejví jako cytotoxický. Bližší prozkoumání jak fytochemického profilu extraktu, tak bioaktivních účinků sekundárních metabolitů obsažených v *M. sylvaticum* by mohlo pomoci k pochopení jeho působení na testované HaCaT buňky.

Knautia arvensis je z hlediska sledování biologických účinků v *in vitro* podmínkách stále neprozkoumaná. Tato práce popisuje jak první dohledatelný test potencionálního antimikrobiálního účinku tohoto druhu, tak první test cytotoxicity methanolového extraktu. Antimikrobiální účinek lze zařadit jako slabý, nicméně další zkoumání odlišných částí rostliny by mohli napomoci k pochopení biologických účinků extraktu. V minulosti se v lidové medicíně používal přednostně sušený kořen, který se následně mlel na prášek. Na nehojící se rány, ekzémy a vyrážky se přikládala výluh z listových růžic (Janča, 1995). Ani jedna zmiňovaná část rostliny nebyla v této práci přímo použita, proto lze usuzovat, že biologicky účinek použité celé natě je odlišný.

Dle článku Moldocha a kol. z roku 2011 se v MeOH extraktu nachází značné množství fenolických sloučenin, mezi které patří také deriváty kyseliny kávové, chlorogenové a chinové, které mají prokázané hojivé účinky a vliv na proliferaci (Moldoch, 2011; Song, 2008; Moghadam, 2017; Genc, 2022). Ačkoliv lze účinek extraktu z *K. arvensis* na HaCaT buňky považovat za pozitivní (v rozmezí $c = 2\text{--}16 \mu\text{g/ml}$ se průměrná viabilita po 24hodinové inkubaci pohybovala na $152 \pm 35 \%$), neexistuje žádná studie, která by tyto účinky potvrdovala. Případné dodatečné *in vitro* a *in vivo* testy by mohly tuto skutečnost objasnit.

Antimikrobiální účinek silice z *Tussilago farfara* byl testován v článku Boucherové a kolektivu (2020). Antibakteriální účinek byl sledován u několika z patogenů zahrnující také v této práci testovaný *S. aureus*, který byl výsledně silicí z 50 % inhibován při $c = 368 \mu\text{g/ml}$ (Boucher, 2020). Dle autora je za antibakteriální účinek silice zodpovědná obsažená kyselina laurová, která již v minulosti projevila antimikrobiální účinek na gram pozitivní bakterie (Ouattara, 1997). Ethanolový extrakt *T. farfara* testovaný ve článku Kačániové a kol. (2013)

vykazoval u patogenu *S. epidermidis* 4418 hodnotu $MIC_{50} = 191,85 \mu\text{g/ml}$ (Kacaniova, 2013). Námí použitý extrakt byl u tohoto patogenu neúčinný ($MIC > 2048 \mu\text{g/ml}$).

Evaluace viability buněk pomocí MTT testu byla také použita v článku Kang a kol. (2015), kde byl zkoumán cytoprotektivní účinek sloučenin obsažených v květech *T. farfara* (Kang, 2016). Významný účinek proti oxidačnímu stresu projevilo 9 popsaných sloučenin, zatímco 2 vybrané sloučeniny vykazovaly také proliferační aktivitu v testu životaschopnosti buněk. Jedná se 1-[(4*S*)-3,4-dihydro-4-hydroxy-2,2-dimethyl-2*H*-1-benzopyran-6-yl]-ethanon, který byl v tomto článku popsán vůbec poprvé, a mimo to také trans-skořicová kyselina, u které již byl v minulosti pozorován pozitivní účinek na migraci fibroblastů (Viana, 2021). Podpora viability HaCaT buněk byla v našem případě u 24hodinové inkubace a koncentrací 2 až 16 $\mu\text{g/ml}$ v průměru $147 \pm 34 \%$, což i přes vysokou hodnotu směrodatné odchylky lze považovat za pozitivní vliv na aktivitu buněk.

U violky rolní se antimikrobiální účinek i přes výše zmíněný potencionální biologický účinek a tradiční použití neprojevil. Slabý účinek byl stanoven pouze u *S. lugdunensis* a *S. pyogenes*. Pro srovnání, v článku Banaszczakové a kol. (2005) bylo testováno několik typů extraktů druhu *V. tricolor*, který je stejně jako *V. arvensis* součástí taxonomicky složitěho komplexu *Viola tricolor* agg., na vybrané mikroorganismy zahrnující jak gram-pozitivní, tak gram-negativní patogeny. Všechny testované přípravky vykazovaly antimikrobiální aktivitu vůči testovaným mikroorganismům. vodný a etanolový extrakt vykazovaly významnou inhibiční aktivitu ($MIC = 0,15 - 1,25 \text{ mg/ml}$) proti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis* a *Candida albicans* (Witkowska-Banaszczak, 2005).

Zvyšující se viabilita buněk s klesající koncentrací fenolických látek obsažených ve MeOH extraktu *V. arvensis* byla pozorována v případě článku Kučerové a kol. (Kucekova, 2013). Při 3denní inkubaci test životaschopnosti zobrazil, že v případě 25 $\mu\text{g/ml}$ byla viabilita zachována na 97,5 %, zatímco při 100 $\mu\text{g/ml}$ se viabilita HaCaT snížila na 21,38 %. Ve srovnání s našimi výsledky (128 $\mu\text{g/ml} = 92 \pm 16 \%$) se jedná o velmi rozdílný účinek na používané HaCaT buňky. Rozdíl ve výsledku mohl být způsoben tím, že extrakt byl zředěn v kultivačním médiu tak, aby se dosáhlo zředění obsažených fenolových sloučenin na předem definované koncentrace (100, 75, 50 a 25 μg fenolů/ml média).

Extrakt ze světlíku vykazoval nízký inhibiční účinek u všech testovaných patogenů. Pro srovnání, článek Teixeiry a Silvy (2013) popsal antimikrobiální účinek infuze

a hydroethanolové extraktu *E. rostkoviana* (synonymum pro *E. officinalis*) na vybraných bakteriích, které zahrnovali také *S. aureus* a *S. epidermidis*. Extrakt dokázal viditelně inhibovat růst při 0.5 a 1.0 mg/ml, což podporuje výsledky v této práci i přes fakt, že se nejednalo o methanolový extrakt (Teixeira, 2013). Druhá práce popisuje antimikrobiální účinek světlíkové silice, kdy testovaný *S. aureus* a *S. epidermidis* byl viditelně inhibován při koncentraci 512 µg/ml (Novy, 2015).

Jediný dohledatelný článek popisující testování extraktu z *E. officinalis* na buňkách je výzkum Paducha a kol. (2014), kdy pomocí MTT testu zkoumali heptanový, ethanolový a ethyl acetátový extrakt a jejich vliv na epitelální buňky lidské rohovky. Ukázalo se, že biologický účinek závisí na koncentraci i použitém extrakčním rozpouštědle. Heptanové extrakty, na rozdíl od extraktů v ethanolu a ethylacetátu, byly toxické pro epitelální buňky v nízkých koncentracích (25 µg/ml) a nevykazovaly účinky na vychytávání volných radikálů (Paduch, 2014).

Zběhovcový extrakt vykazoval nejnižší mikrobiální účinek z celého testu, kdy u 3 ze 7 patogenů byla MIC stanovena na 2048 µg/ml. Článek Toiu a kol. (2019) popisuje antimikrobiální aktivitu MeOH a EtOH extraktů z *A. reptans* u sledovaného *S. aureus* v rozmezí 1,56 a 0,78 mg/ml (Toiu, 2019). Tento rozdílný výsledek může být způsoben například kvalitnějším rostlinným materiálem, který obsahoval více fenolických sloučenin a tím pádem mohl lépe inhibovat růst mikroorganismů, nebo preciznější laboratorní praxí.

Průměrná viabilita HaCaT buněk po 24hodinovém působení extraktu vykazovala hodnotu 121 ± 26 %. Extrakt *A. reptans* a jeho hlavní sloučeniny (mezi které patří hlavně fenylypropanoidy a iridoidy), byly dle článku (Esposito, 2020) schopny snížit hladinu reaktivních forem kyslíku v nádorových buněčných liniích zahrnující melanom, karcinom děložního hrdla a jiné. Nicméně jeho antioxidační účinek je v praxi významně omezen, a to hlavně kvůli špatné rozpustnosti ve vodě a biologické dostupnosti extraktu.

Oddenkový extrakt z *P. hybridus* dokázal slabě inhibovat všechny testované patogeny. Články podporující možný antimikrobiální účinek sice existují v teoretické rovině, nicméně praktické *in vitro* testy prokazují spíše slabý nebo žádný inhibiční účinek na patogeny. Mihajilov-Krstev a kolektiv testoval antimikrobiální aktivitu listové a oddenkové silice extrahované z *P. hybridus* subsp. *ochroleucus* na 20 patogenním bakteriálním kmenům pomocí mikrodiluční metody, nicméně ani jedna ze silic nevykazovala antimikrobiální

aktivitu. Dokonce bylo pozorováno, že některé kmeny rostou v přítomnosti esenciálních olejů lépe, což ale nebylo statisticky ověřeno (Mihajilov-Krstev, 2020).

Průměrná viabilita extraktu při 24hodinové inkubaci se pohybovala v rozmezí 133 ± 23 %, lze tedy předpokládat, že by extrakt mohl mít pozitivní vliv na proliferaci keratinocytů. U 72hodinové inkubace se průměrné hodnoty viability pohybovali pod úrovní 100 % a tudíž nelze předpokládat pozitivní účinek na životaschopnost HaCaT buněk při delším působení extraktu. Extrakt z *H. hybridus* použitý ve studii Tzonevy a kol., která prvně popisovala možné protirakovinné účinky kořenového extraktu s 15 % obsahem petasinů, vykazoval nízkou cytotoxicitu proti nenádorovým buněčným liniím L929, u kterých byla stanovená $IC_{50} = 1252 \mu\text{g/mL}$ (Tzoneva, 2021).

7. Závěr

Dle výsledků vykazuje extrakt z *E. angustifolium* nejslibnější výsledky z hlediska MIC, nicméně antimikrobiální aktivita negativně koreluje s cytotoxickými účinky, který tento MeOH výtazek taktéž má. U této rostliny se tudíž musí v případě zavedení extraktu či izolovaných látek do klinické praxe s těmito cytotoxickými účinky počítat. U extraktů z *C. vulgare* a *M. sylvaticum* byla zjištěna nízká MIC a zároveň u testu viability extrakty vykazovali průměrně pozitivní vliv na proliferaci HaCaT buněk. Důkladnější chemické analýzy a *in vivo* studie by mohli více osvětlit jejich účinnost a napomohli by k vývoji nových potencionálních agens pro podporu hojení ran.

Výsledky experimentů přispěly k porovnání a případnému vyvrácení lidových znalostí s vědeckými znalostmi a pomohli vyvrátit nelogické a zastaralé indikace rostlinných extraktů. Výsledky této práce taktéž pomohly porovnat popsané účinky rostlinných bioaktivních látek ve vědeckých člancích a dokazují, že některé druhy rostlin mají vědecky potvrzenou účinnost, která by mohla být v budoucnu využita ve vývoji nových léčivých prostředků. Případné *In vivo* experimenty mohou pomoci vyvrátit či potvrdit účinky sledované v *in vitro* testech, a tím mohou napomoci potencionálnímu využití nových rostlinných látek ve fytoterapii a různých oblastech medicíny.

8. Bibliografie

ANCA, Toiu, Verite PHILIPPE, Oniga ILIOARA a Tamas MIRCEA, 2009. Composition of essential oils of *Viola tricolor* and *V. arvensis* from Romania. *Chemistry of Natural Compounds*. **45**(1), 91-92. ISSN 0009-3130. Dostupné z: doi:10.1007/s10600-009-9244-y

ATANASOV, Atanas G., Sergey B. ZOTCHEV, Verena M. DIRSCH a Claudiu T. SUPURAN, 2021. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*. **20**(3), 200-216. ISSN 1474-1776. Dostupné z: doi:10.1038/s41573-020-00114-z

BEKTAŠEVIĆ, Mejra, Olivera POLITEO, Marin ROJE a Mladenka JURIN, 2022. Polyphenol Composition, Anticholinesterase and Antioxidant Potential of the Extracts of *Clinopodium vulgare* L. *Chemistry & Biodiversity*. **19**(5), 1-13. ISSN 1612-1872. Dostupné z: doi:10.1002/cbdv.202101002

BĚLOHLÁVKOVÁ, R., ed., 2004. Tussilago L. – podběl. In: SLAVÍK, B., J. ŠTĚPÁNKOVÁ a J. ŠTĚPÁNEK. *Květena České republiky* 7. 1. Praha: Academia, s. 293-294. ISBN 80-200-1161-7.

BONATI, A., 1980. Medicinal plants and industry. *Journal of Ethnopharmacology*. **2**(2), 167-171. ISSN 03788741. Dostupné z: doi:10.1016/0378-8741(80)90011-2

BOUCHER, Marie-Anne, Héloïse CÔTÉ, André PICHETTE, Lionel RIPOLL a Jean LEGAULT, 2020. Chemical composition and antibacterial activity of *Tussilago farfara* (L.) essential oil from Quebec, Canada. *Natural Product Research*. **34**(4), 545-548. ISSN 1478-6419. Dostupné z: doi:10.1080/14786419.2018.1489384

BYRD, Allyson L., Yasmine BELKAID a Julia A. SEGRE, 2018. The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*. **16**(3), 143-155. ISSN 1740-1526. Dostupné z: doi:10.1038/nrmicro.2017.157

CORLETT, Richard T., 2016. Plant diversity in a changing world: Status, trends, and conservation needs. *Plant Diversity*. **38**(1), 10-16. ISSN 24682659. Dostupné z: doi:10.1016/j.pld.2016.01.001

CRAIG, WINSTON J., 1997. Phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association*. **97**(10), 199-204. ISSN 00028223. Dostupné z: doi:10.1016/S0002-8223(97)00765-7

DIMITROVA, M., L. HRISTOVA, E. DAMIANOVA, Y. YORDANOVA, N. PETROVA a V. KAPCHINA-TOTEVA, 2013. ANTIOXIDANT ACTIVITY AND SECONDARY METABOLITES IN DIFFERENT EXTRACTS OF *EUPHRASIA OFFICINALIS* L. GROWING IN BULGARIA. *Science & Technologies*. (1), 128-132.

DROZDOVA, I. L. a N. N. DENISOVA, 2011. Proceedings of the Scientific and Applied Conference with International Participation Celebrating the 75th Anniversary of the Perm State Pharmaceutical Academy. *Perm*. 203-204.

DZHAMBAZOV, Balik, Sashka DASKALOVA, Adriana MONTEVA a Nikola POPOV, 2002. In Vitro Screening for Antitumour Activity of *Clinopodium vulgare* L. (Lamiaceae) Extracts. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. **25**(4), 499-504. ISSN 0918-6158. Dostupné z: doi:10.1248/bpb.25.499

ELOFF, J.N., 1998. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants?. *Journal of Ethnopharmacology*. **60**(1), 1-8. ISSN 03788741. Dostupné z: doi:10.1016/S0378-8741(97)00123-2

ERB, Matthias a Daniel J. KLIEBENSTEIN, 2020. Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. *Plant Physiology*. **184**(1), 39-52. ISSN 0032-0889. Dostupné z: doi:10.1104/pp.20.00433

ESPOSITO, Tiziana, Francesca SANSONE, Giulia AURIEMMA, Silvia FRANCESCHELLI, Michela PECORARO, Patrizia PICERNO, Rita P. AQUINO a Teresa MENCHERINI, 2020. Study on Ajuga reptans Extract: A Natural Antioxidant in Microencapsulated Powder Form as an Active Ingredient for Nutraceutical or Pharmaceutical Purposes. *Pharmaceutics*. **12**(7), 1-23. ISSN 1999-4923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics12070671

FERDA, František, 2013. *Páter František Ferda nám--*. 1. [Brno]: Lynx. ISBN 978-808-6787-671.

GHOSH, Prasanta Kumar a Anjali GABA, 2013. *Phyto-Extracts in Wound Healing*. **16**(5), 760-820. ISSN 1482-1826. Dostupné z: doi:10.18433/J3831V

GONZALEZ, Ana Cristina de Oliveira, Tila Fortuna COSTA, Zilton de Araújo ANDRADE a Alena Ribeiro Alves Peixoto MEDRADO, 2016. Wound healing - A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. **91**(5), 614-620. ISSN 0365-0596. Dostupné z: doi:10.1590/abd1806-4841.20164741

GOULD, Lisa, Peter ABADIR, Harold BREM et al., 2015. Chronic Wound Repair and Healing in Older Adults: Current Status and Future Research. *Journal of the American Geriatrics Society*. **63**(3). ISSN 00028614. Dostupné z: doi:10.1111/jgs.13332

GOUN, Elena A, V.M PETRICHENKO, S.U SOLODNIKOV, T.V SUHININA, Martin A KLINE, Glenn CUNNINGHAM, Chi NGUYEN a Howard MILES, 2002. Anticancer and antithrombin activity of Russian plants. *Journal of Ethnopharmacology*. **81**(3), 337-342. ISSN 03788741. Dostupné z: doi:10.1016/S0378-8741(02)00116-2

GUO, Geyong, Jiaying WANG, Yanan YOU, Jiaqi TAN a Hao SHEN, 2017. Distribution characteristics of Staphylococcus spp. in different phases of periprosthetic joint infection: A review. *Experimental and Therapeutic Medicine*. **13**(6), 2599-2608. ISSN 1792-0981. Dostupné z: doi:10.3892/etm.2017.4300

HARBORNE, J. B., 1984. Methods of Plant Analysis. *Phytochemical Methods*. Dordrecht: Springer Netherlands, 1-36. ISBN 978-94-010-8956-2. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-009-5570-7_1

HELDT MANICA, Lucas a Philip COHEN, 2017. Staphylococcus lugdunensis Infections of the Skin and Soft Tissue: A Case Series and Review. *Dermatology and Therapy*. **7**(4), 555-562. ISSN 2193-8210. Dostupné z: doi:10.1007/s13555-017-0202-5

HOFFMANOVÁ, Eva a František S. JEBAVÝ, 1991. *Rostliny v domácí lékárně*. 1. Knihupectví u Podléšky.

HWANGBO, Cheol, Hyun Sun LEE, Juhee PARK, Jongseon CHOE a Jeong-Hyung LEE, 2009. The anti-inflammatory effect of tussilagone, from Tussilago farfara, is mediated by the induction of heme oxygenase-1 in murine macrophages. *International Immunopharmacology*. **9**(13-14), 1578-1584. ISSN 15675769. Dostupné z: doi:10.1016/j.intimp.2009.09.016

- CHANCE, Burton, 1953. Seventeenth Century Ophthalmology as Gleaned from Works of Nicholas Culpeper Physician-Astrologer (1616-1653). *Journal of the History of Medicine and Allied Sciences*. Oxford University Press, **8**(2), 197-209.
- CHANDRA, Deepak, Gunjan KOHLI, Kundan PRASAD, G. BISHT, Vinay Deep PUNETHA, K.S. KHETWAL, Manoj Kumar DEVRANI a H.K. PANDEY, 2015. Phytochemical and Ethnomedicinal Uses of Family Violaceae. *Current Research in Chemistry*. **7**(2), 44-52. ISSN 19965052. Dostupné z: doi:10.3923/crc.2015.44.52
- CHASSAGNE, François, Tharanga SAMARAKOON, Gina PORRAS et al., 2021. A Systematic Review of Plants With Antibacterial Activities: A Taxonomic and Phylogenetic Perspective. *Frontiers in Pharmacology*. **11**. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2020.586548
- IBRAHIM, Joe, Jonathan EISEN, Guillaume JOSPIN, David COIL, Georges KHAZEN, Sima TOKAJIAN a Feng GAO, 2016. Genome Analysis of Streptococcus pyogenes Associated with Pharyngitis and Skin Infections. *PLOS ONE*. **11**(12). ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0168177
- JANČA, Jiří a Josef Antonín ZENTRICH, 1995. *Herbář léčivých rostlin*. 1. Praha: Eminent. ISBN 80-858-7604-3.
- KACANIOVA, Miroslava, Hleba LUKAS, Petrova JANA, Felsociova SONA, Pavelkova ADRIANA, Bobková ALICA a Cubon JURAJ, 2013. Antimicrobial activity of Tussilago farfara L. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. **2**, 1343-1350.
- KADAM, Prasad, Manohar PATIL a Kavita YADAV, 2018. A Review on Phytopharmacopial Potential of Epilobium angustifolium. *Pharmacognosy Journal*. **10**(6), 1076-1078. ISSN 09753575. Dostupné z: doi:10.5530/pj.2018.6.181
- KANG, Unwoo, Jiyoun PARK, Ah-Reum HAN et al., 2016. Identification of cytoprotective constituents of the flower buds of Tussilago farfara against glucose oxidase-induced oxidative stress in mouse fibroblast NIH3T3 cells and human keratinocyte HaCaT cells. *Archives of Pharmacal Research*. **39**(4), 474-480. ISSN 0253-6269. Dostupné z: doi:10.1007/s12272-016-0730-z
- KARALIJA, Erna, Sanja ČAVAR ZELJKOVIĆ, Petr TARKOWSKI, Edina MURATOVIĆ a Adisa PARIĆ, 2017. The effect of cytokinins on growth, phenolics, antioxidant and antimicrobial potential in liquid agitated shoot cultures of Knautia sarajevensis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. **131**(2), 347-357. ISSN 0167-6857. Dostupné z: doi:10.1007/s11240-017-1288-2
- KILIÇ, Ömer, Mehmet Ali KUTLU a Fethi Ahmet ÖZDEMİR, 2013. Essential Oil Composition of Clinopodium vulgare L. subsp. arundanum (Boiss.) Nyman from Bingöl (Turkey). *International Journal of Secondary Metabolite*. **4**(3), 11-14. ISSN 2148-6905. Dostupné z: doi:10.21448/ijsm.356245
- KINTZL, Emil a Jan FISCHER, 2020. Dávní šumavští léčitelé. In: *Zmizelá Šumava*. Zlín: Kniha Zlín, s. 76-77. Stream. ISBN 978-80-7662-062-9.
- KIRMIZIBEKMEZ, Hasan, Irem ATAY, Marcel KAISER, Reto BRUN, Michelle M. CARTAGENA, Néstor M. CARBALLEIRA, Erdem YESILADA a Deniz TASDEMİR, 2011. Antiprotozoal activity of Melampyrum

- arvense and its metabolites. *Phytotherapy Research*. **25**(1), 142-146. ISSN 0951418X. Dostupné z: doi:10.1002/ptr.3233
- KOLIMI, Praveen, Sagar NARALA, Dinesh NYAVANANDI, Ahmed Adel Ali YOUSSEF a Narendar DUDHIPALA, 2022. Innovative Treatment Strategies to Accelerate Wound Healing: Trajectory and Recent Advancements. *Cells*. **11**(15). ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells11152439
- KOPYT'KO, Ya. F., T. D. DARGAEVA a T. D. RENDYUK, 2020. Composition of the Field Scabious (*Knautia arvensis* L.). *Pharmaceutical Chemistry Journal*. **54**(7), 725-733. ISSN 0091-150X. Dostupné z: doi:10.1007/s11094-020-02263-2
- KORBELÁŘ, Jaroslav a Zdeněk ENDRIS, Jindřich KREJČA, 1981. *Naše rostliny v lékařství*. 1. Praha: Avicenum. ISBN 08-092-81.
- KOSTOVA, I., 2001. *Fraxinus ornus* L. *Fitoterapia*. **72**(5), 471-480. ISSN 0367326X. Dostupné z: doi:10.1016/S0367-326X(00)00340-3
- KOUZAI, Yusuke, Mamiko KIMURA, Yurie YAMANAKA et al., 2016. Expression profiling of marker genes responsive to the defence-associated phytohormones salicylic acid, jasmonic acid and ethylene in *Brachypodium distachyon*. *BMC Plant Biology*. **16**(1). ISSN 1471-2229. Dostupné z: doi:10.1186/s12870-016-0749-9
- KUCEKOVA, Zdenka, Jiri MLCEK, Petr HUMPOLICEK a Otakar ROP, 2013. Edible flowers — antioxidant activity and impact on cell viability. *Open Life Sciences*. **8**(10), 1023-1031. ISSN 2391-5412. Dostupné z: doi:10.2478/s11535-013-0212-y
- LEE, Seung Hun, Se Kyoo JEONG a Sung Ku AHN, 2006. An Update of the Defensive Barrier Function of Skin. *Yonsei Medical Journal*. **47**(3). ISSN 0513-5796. Dostupné z: doi:10.3349/ymj.2006.47.3.293
- LEWIS, Walter H. a Memory P. ELVIN-LEWIS, 1995. Medicinal Plants as Sources of New Therapeutics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. **82**(1). ISSN 00266493. Dostupné z: doi:10.2307/2399976
- LIANG, Yongping, Jiahui HE a Baolin GUO, 2021. Functional Hydrogels as Wound Dressing to Enhance Wound Healing. *ACS Nano*. **15**(8), 12687-12722. ISSN 1936-0851. Dostupné z: doi:10.1021/acsnano.1c04206
- LIU, Cong, Hongwei WU, Lixia WANG, Hanyan LUO, Yaqi LU, Qiong ZHANG, Liying TANG a Zhuju WANG, 2020. *Farfarae Flos*: A review of botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*. **260**, 1-19. ISSN 03788741. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2020.113038
- LOBMANN, Ralf, 2008. The influence of polymorbidity, revascularization, and wound therapy on the healing of arterial ulceration. *Vascular Health and Risk Management*. **4**, 683-689. ISSN 1178-2048. Dostupné z: doi:10.2147/VHRM.S2186
- LUTTERER, Ivan a Rudolf ŠRÁMEK, 1996. *Zeměpisná jména v Čechách, na Moravě a ve Slezsku: slovník vybraných zeměpisných jmen s výkladem jejich původu a historického vývoje*. Havlíčkův Brod: Tobiáš. ISBN 80-858-0850-1.

- MADAUS, Gerhard, 2016. *Lehrbuch der biologischen Heilmittel*. 2. Hildesheim: Olms.
- MARIJAN, Marijan, Jasna JABLAN, Lejsa JAKUPOVIĆ, Mario JUG, Eva MARGUÍ, Rogerta DALIPI, Emanuele SANGIORGI a Marijana ZOVKO KONČIĆ, 2022. Plants from Urban Parks as Valuable Cosmetic Ingredients: Green Extraction, Chemical Composition and Activity. *Agronomy*. **12**(1), 1-14. ISSN 2073-4395. Dostupné z: doi:10.3390/agronomy12010204
- MATTIOLI, Pietro Andrea, 2003. *Herbář, neboli, Bylinář*. V Praze: Levné knihy KMa. ISBN 80-730-9095-3.
- MENDELSON, Robert a Michael J. BALICK, 1995. The value of undiscovered pharmaceuticals in tropical forests. *Economic Botany*. **49**(2), 223-228. ISSN 0013-0001. Dostupné z: doi:10.1007/BF02862929
- MIHAJLOV-KRSTEV, Tatjana, Boris JOVANOVIĆ, Bojan ZLATKOVIĆ et al., 2020. Phytochemistry, Toxicology and Therapeutic Value of *Petasites hybridus* Subsp. *Ochroleucus* (Common Butterbur) from the Balkans. *Plants*. **9**(6), 1-15. ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants9060700
- MOLDOCH, Jaroslaw, Barbara SZAJWAJ, Milena MASULLO, Lukasz PECIO, Wieslaw OLESZEK, Sonia PIACENTE a Anna STOCHMAL, 2011. Phenolic Constituents of *Knautia arvensis* Aerial Parts. *Natural Product Communications*. **6**(11), 1627-30. ISSN 1934-578X. Dostupné z: doi:10.1177/1934578X1100601117
- MONIKA, Prakash, Mathikere Naganna CHANDRAPRABHA, Annapoorni RANGARAJAN, P. Veena WAIKER a Kotamballi N. CHIDAMBARA MURTHY, 2022. Challenges in Healing Wound: Role of Complementary and Alternative Medicine. *Frontiers in Nutrition*. **8**. ISSN 2296-861X. Dostupné z: doi:10.3389/fnut.2021.791899
- MUKHERJEE, PK, P VENKATESH a S PONNUSANKAR, 2010. Ethnopharmacology and integrative medicine - Let the history tell the future. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. **1**(2), 100-108. ISSN 0975-9476. Dostupné z: doi:10.4103/0975-9476.65077
- MUNTEANU, F., 2012. Antimicrobial activity of *Melampyrum cristatum*, *Melampyrum bihariense* and *Melampyrum arvense* tinctures. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **6**(40), 2808-2812. ISSN 1996-0816. Dostupné z: doi:10.5897/AJPP12.404
- NEGUT, Irina, Valentina GRUMEZESCU a Alexandru GRUMEZESCU, 2018. Treatment Strategies for Infected Wounds. *Molecules*. **23**(9). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules23092392
- NOVY, Pavel, Hana DAVIDOVA, Cecilia Suqued SERRANO-ROJERO, Johana RONDEVALDOVA, Josef PULKRABEK a Ladislav KOKOSKA, 2015. Composition and Antimicrobial Activity of *Euphrasia rostkoviana* Hayne Essential Oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. **2015**, 1-5. ISSN 1741-427X. Dostupné z: doi:10.1155/2015/734101
- NOWAK, Anna, Joanna ZIELONKA-BRZEZICKA, Magdalena PERUŻYŃSKA a Adam KLIMOWICZ, 2022. *Epilobium angustifolium* L. as a Potential Herbal Component of Topical Products for Skin Care and Treatment—A Review. *Molecules*. **27**(11). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules27113536

OPALCHENOVA, G. a D. OBRESHKOVA, 1999. Antibacterial Action of Extracts of *Clinopodium vulgare* L. Curative Plant. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. **25**(3), 323-328. ISSN 0363-9045. Dostupné z: doi:10.1081/DDC-100102177

ORHAN, Ilkay Erdogan, 2014. Pharmacognosy: Science of natural products in drug discovery. *BiolImpacts*. **4**(3), 109-110. ISSN 2228-5660. Dostupné z: doi:10.15171/bi.2014.001

OTTO, Michael, 2014. Staphylococcus colonization of the skin and antimicrobial peptides. *Expert Review of Dermatology*. **5**(2), 183-195. ISSN 1746-9872. Dostupné z: doi:10.1586/edm.10.6

OUATTARA, Blaise, Ronald E SIMARD, Richard A HOLLEY, Gabriel J.-P PIETTE a André BÉGIN, 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*. **37**(2-3), 155-162. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1605(97)00070-6

OŻAROWSKI, Marcin, Jędrzej PRZYSTANOWICZ a Artur ADAMCZAK, 2013. Phytochemical, pharmacological and clinical studies of *Petasites hybridus* (L.) P. Gaertn., B. Mey. & Scherb. A review. *Herba Polonica*. **59**(4), 108-128. ISSN 0018-0599. Dostupné z: doi:10.2478/hepo-2013-0028

PADUCH, Roman, Anna WOŹNIAK, Piotr NIEDZIELA a Robert REJDAK, 2014. Assessment of Eyebright (*Euphrasia Officinalis* L.) Extract Activity in Relation to Human Corneal Cells Using In Vitro Tests. *Balkan Medical Journal*. **33**(1), 29-36. ISSN 21463123. Dostupné z: doi:10.5152/balkanmedj.2014.8377

PANDITA, Deepu, Anu PANDITA a Shanu PANDITA, 2016. Is "The Doctrine of Signatures" Signature Sequences designed By God?. *International Journal of Scientific and Research Publications*. **6**(11), 568-572.

PANG, Zhiqiang, Jia CHEN, Tuhong WANG, Chunsheng GAO, Zhimin LI, Litao GUO, Jianping XU a Yi CHENG, 2021. Linking Plant Secondary Metabolites and Plant Microbiomes: A Review. *Frontiers in Plant Science*. **12**. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2021.621276

PATOČKA, Jiří, 2003. The chemistry, pharmacology, and toxicology of the biologically active constituents of the herb *Hypericum perforatum* L. *Journal of Applied Biomedicine*. **1**(2), 61-70. ISSN 1214021X. Dostupné z: doi:10.32725/jab.2003.010

PETROVA, Maria, Lyudmila DIMITROVA, Margarita DIMITROVA et al., 2023. Antitumor and Antioxidant Activities of In Vitro Cultivated and Wild-Growing *Clinopodium vulgare* L. Plants. *Plants*. **12**(8), 1-16. ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants12081591

PIERPOINT, W.S., 1994. Salicylic Acid and its Derivatives in Plants: Medicines, Metabolites and Messenger Molecules. *Advances in Botanical Research Volume 20*. Elsevier, 163-235. Advances in Botanical Research. ISBN 9780120059201. Dostupné z: doi:10.1016/S0065-2296(08)60217-7

PRAKOFJEWA, Julia, Raivo KALLE, Olga BELICHENKO, Valeria KOLOSOVA a Renata SÖUKAND, 2020. Re-written narrative: transformation of the image of Ivan-chaj in Eastern Europe. *Heliyon*. **6**(8). ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2020.e04632

- PROCHÁZKA, František, 1992. *Šumavský herbář*. 1. Vimperk: Nakladatelství Tiskárny Vimperk. ISBN 80-900-8078-2.
- PUROHIT, Aditya N., 2019. Biodiversity in Mountain Medicinal Plants and Possible Impacts of Climatic Change. *Mountain Biodiversity*. Routledge, **2019**, 267-273. ISBN 9780429342585. Dostupné z: doi:10.4324/9780429342585-22
- QURESHI, Rahmatullah, Shahina A. GHAZANFAR, Hassan OBIED, Viliana VASILEVA a Mohammad A. TARIQ, 2016. Ethnobotany: A Living Science for Alleviating Human Suffering. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. **2016**, 1-3. ISSN 1741-427X. Dostupné z: doi:10.1155/2016/9641692
- ROBSON, Martin C., David L. STEED a Michael G. FRANZ, 2001. Wound healing: Biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Current Problems in Surgery*. **38**(2), 1-140. ISSN 00113840. Dostupné z: doi:10.1067/msg.2001.111167
- RUPP, M. a G. ARCHER, 1994. Coagulase-Negative Staphylococci: Pathogens Associated with Medical Progress. *Clinical Infectious Diseases*. **19**(2), 231-245. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1093/clinids/19.2.231
- RYSTONOVÁ, Ida, 2007. *Průvodce lidovými názvy rostlin i jiných léčivých přírodnin a jejich produktů*. 1. Praha: Academia. ISBN 978-80-200-1332-3.
- SAGANDYKOVA, Gulyaim N., Paweł P. POMASTOWSKI, Roman KALISZAN a Bogusław BUSZEWSKI, 2018. Modern analytical methods for consideration of natural biological activity. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. **109**, 198-213. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2018.10.012
- SALAM, Uzma, Shakir ULLAH, Zhong-Hua TANG, Ahmed A. ELATEEQ, Yaseen KHAN, Jafar KHAN, Asif KHAN a Sajid ALI, 2023. Plant Metabolomics: An Overview of the Role of Primary and Secondary Metabolites against Different Environmental Stress Factors. *Life*. **13**(3). ISSN 2075-1729. Dostupné z: doi:10.3390/life13030706
- SALMERÓN-MANZANO, Esther, Jose Antonio GARRIDO-CARDENAS a Francisco MANZANO-AGUGLIARO, 2020. Worldwide Research Trends on Medicinal Plants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. **17**(10). ISSN 1660-4601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph17103376
- SARIKURKCU, Cengiz, Mehmet Sabih OZER, Bektas TEPE, Elif DILEK a Olcay CEYLAN, 2015. Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities of acetone, methanol and water extracts of *Clinopodium vulgare* L. subsp. *vulgare* L. *Industrial Crops and Products*. **76**, 961-966. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2015.08.011
- SCALBERT, Augustin, Cristina ANDRES-LACUEVA, Masanori ARITA, Paul KROON, Claudine MANACH, Mireia URPI-SARDA a David WISHART, 2011. Databases on Food Phytochemicals and Their Health-Promoting Effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **59**(9), 4331-4348. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf200591d

- SELVAKUMAR, R., 2010. Good Laboratory Practices. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. **25**(3), 221-224. ISSN 0970-1915. Dostupné z: doi:10.1007/s12291-010-0077-z
- SHEDOEVA, Aleksandra, David LEAVESLEY, Zee UPTON a Chen FAN, 2019. Wound Healing and the Use of Medicinal Plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. **2019**, 1-30. ISSN 1741-427X. Dostupné z: doi:10.1155/2019/2684108
- SCHUSTER, Julius a Ellen S. MITCHELL, 2019. More than just caffeine: psychopharmacology of methylxanthine interactions with plant-derived phytochemicals. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. **89**, 263-274. ISSN 02785846. Dostupné z: doi:10.1016/j.pnpbp.2018.09.005
- SLAVÍKOVÁ, Z., ed., 2000. Ajuga L. – zběhovec. In: SLAVÍK, B., J. CHRTEK a J. ŠTĚPÁNKOVÁ. *Květena České republiky 6*. 1. Praha: Academia, s. 557-561. ISBN 80-200-0306-1.
- SMEJKAL, M., ed., 1997. Chamerion (Rafin.) Rafin. In: SLAVÍK, B., J. CHRTEK a P. TOMŠOVIC. *Květena České republiky 5*. 1. Praha: Academia, s. 95-99. ISBN 80-200-0590-0.
- SÖUKAND, Renata, Giulia MATTALIA, Valeria KOLOSOVA et al., 2020. Inventing a herbal tradition: The complex roots of the current popularity of *Epilobium angustifolium* in Eastern Europe. *Journal of Ethnopharmacology*. **247**. ISSN 03788741. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2019.112254
- STAVENGA, Doekele G., Hein L. LEERTOUWER, Bettina DUDEK a Casper J. VAN DER KOOI, 2021. Coloration of Flowers by Flavonoids and Consequences of pH Dependent Absorption. *Frontiers in Plant Science*. **11**. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2020.600124
- STEFANOVIC, Olgica, Ivana RADOJEVIC, Sava VASIC a Ljiljana COMIC, 2012. Antibacterial Activity of Naturally Occurring Compounds from Selected Plants. *Antimicrobial Agents*. InTech, **2012**(1), 1-24. ISBN 978-953-51-0723-1. Dostupné z: doi:10.5772/33059
- STRNAD, Miroslav, 2013. Sekundární metabolismus a obranné reakce rostlin. In: *Laboratoř růstových regulátorů: Univerzita Palackého v Olomouci & Ústav experimentální botaniky AV ČR* [online]. Olomouc [cit. 2023-04-13]. Dostupné z: http://www.rustreg.upol.cz/_materials/fyziologie_rostlin/Kap.13-sek_metabol_obrana.pdf
- SUH, Nan-Joo, Chang-Koo SHIM, Min Hwa LEE, Shin Keun KIM a Il-Moo CHANG, 1991. Pharmacokinetic Study of an Iridoid Glucoside: Aucubin. *Pharmaceutical Research*. **08**(8), 1059-1063. ISSN 07248741. Dostupné z: doi:10.1023/A:1015821527621
- SVANGÅRD, Erika, Ulf GÖRANSSON, Zozan HOCAOGLU, Joachim GULLBO, Rolf LARSSON, Per CLAESON a Lars BOHLIN, 2004. Cytotoxic Cyclotides from *Viola tricolor*. *Journal of Natural Products*. **67**(2), 144-147. ISSN 0163-3864. Dostupné z: doi:10.1021/np0301011
- ŠTECH, M., ed., 2000. *Melampyrum L. – černýš*. In: SLAVÍK, B., J. CHRTEK a J. ŠTĚPÁNKOVÁ. *Květena České republiky 6*. 1. Praha: Academia, s. 412-428. ISBN 80-200-0306-1.
- ŠTĚPÁNEK, J., ed., 1997. *Knautia L. – chrastavec*. In: SLAVÍK, B., J. CHRTEK a P. TOMŠOVIC. *Květena České republiky 5*. 1. Praha: Academia, s. 543-554. ISBN 80-200-0590-0.

ŠTĚPÁNKOVÁ, Jana, 2000. Clinopodium L. - klinopád. In: B., Slavík, Chrtek J. JUN. a Štěpánková J., ed. *Květena české republiky 6. 1.* Praha: Academia, s. 649-651. ISBN 80-200-0306-1.

TANKO, Hakibu, Danielle Julie CARRIER, Lijun DUAN a Ed CLAUSEN, 2005. Pre- and post-harvest processing of medicinal plants. *Plant Genetic Resources*. **3**(2), 304-313. ISSN 1479-2621. Dostupné z: doi:10.1079/PGR200569

TASIĆ-KOSTOV, Marija, Ivana ARSIĆ, Dragana PAVLOVIĆ, Sanja STOJANOVIĆ, Stevo NAJMAN, Sonja NAUMOVIĆ a Vanja TADIĆ, 2019. Towards a modern approach to traditional use: in vitro and in vivo evaluation of *Alchemilla vulgaris* L. gel wound healing potential. *Journal of Ethnopharmacology*. **238**. ISSN 03788741. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2019.03.016

TEIXEIRA, Rafaela a Luís R. SILVA, 2013. Bioactive compounds and in vitro biological activity of *Euphrasia rostkoviana* Hayne extracts. *Industrial Crops and Products*. **50**, 680-689. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2013.08.035

THANGAPAZHAM, Rajesh L., Shashwat SHARAD a Radha K. MAHESHWARI, 2016. Phytochemicals in Wound Healing. *Advances in Wound Care*. **5**(5), 230-241. ISSN 2162-1918. Dostupné z: doi:10.1089/wound.2013.0505

THOMET, Olivier A.R, Ulrich N WIESMANN, Andreas SCHAPOWAL, Christian BIZER a Hans-Uwe SIMON, 2001. Role of petasin in the potential anti-inflammatory activity of a plant extract of *Petasites hybridus*. *Biochemical Pharmacology*. **61**(8), 1041-1047. ISSN 00062952. Dostupné z: doi:10.1016/S0006-2952(01)00552-4

TOIU, Anca, Andrei MOCAN, Laurian VLASE, Alina Elena PÂRVU, Dan Cristian VODNAR, Ana-Maria GHELDIU, Cadmiel MOLDOVAN a Iliora ONIGA, 2019. Comparative Phytochemical Profile, Antioxidant, Antimicrobial and In Vivo Anti-Inflammatory Activity of Different Extracts of Traditionally Used Romanian *Ajuga genevensis* L. and *A. reptans* L. (Lamiaceae). *Molecules*. **24**(8), 1-21. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules24081597

Topošumaví.cz, 2022. In: *Výcházkový okruh hajného Nasse* [online]. [cit. 2023-04-16]. Dostupné z: <https://www.toposumavi.cz/posumavi/fr.asp?tab=venkov21RPO&id=447&burl=&pt=TT>

TZONEVA, Rumiana, Veselina UZUNOVA, Tihomira STOYANOVA, Borislava BORISOVA, Albena MOMCHILOVA, Roumen PANKOV a Liliana MASLENKOVA, 2021. Anti-cancer effect of *Petasites hybridus* L. (Butterbur) root extract on breast cancer cell lines. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. **35**(1), 853-861. ISSN 1310-2818. Dostupné z: doi:10.1080/13102818.2021.1932594

VEERESHAM, Ciddi, 2012. *Natural products derived from plants as a source of drugs*. **3**(4), . ISSN 2231-4040. Dostupné z: doi:10.4103/2231-4040.104709

VELNAR, T, T BAILEY a V SMRKOLJ, 2009. The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research*. **37**(5), 1528-1542. ISSN 0300-0605. Dostupné z: doi:10.1177/147323000903700531

VIANA, Rodrigo da Silva, Fernanda Lima Torres de AQUINO a Emiliano BARRETO, 2021. Effect of trans-cinnamic acid and p-coumaric acid on fibroblast motility: a pilot comparative study of in silico

- lipophilicity measure. *Natural Product Research*. **35**(24), 5872-5878. ISSN 1478-6419. Dostupné z: doi:10.1080/14786419.2020.1798664
- VOGL, S., A. G. ATANASOV, M. BINDER et al., 2013a. The Herbal Drug *Melampyrum pratense* L. (Koch): Isolation and Identification of Its Bioactive Compounds Targeting Mediators of Inflammation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. **2013**(4), 1-10. ISSN 1741-427X. Dostupné z: doi:10.1155/2013/395316
- VOGL, Sylvia, Paolo PICKER, Judit MIHALY-BISON et al., 2013b. 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**(3), 750-771. ISSN 03788741. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2013.06.007
- WIDERSTRÖM, M., J. WISTRÖM, A. SJÖSTEDT a T. MONSEN, 2012. *Coagulase-negative staphylococci: update on the molecular epidemiology and clinical presentation, with a focus on Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus saprophyticus*. **31**(1), 7-20. ISSN 0934-9723. Dostupné z: doi:10.1007/s10096-011-1270-6
- WIDY-TYSZIEWICH, Ewa a Irena MATLAWSKA, 2010. *Assessment report on Viola tricolor L. and/or subspecies Viola arvensis Murray (Gaud) and Viola vulgaris Koch (Oborny), herba cum flore*. 1. Amsterdam: European Medicines Agency. ISBN 10.2478/s11535-013-0212-y.
- WITKOWSKA-BANASZCZAK, Ewa, Wiesława BYLKA, Irena MATLAWSKA, Olga GOŚLIŃSKA a Zygmunt MUSZYŃSKI, 2005. Antimicrobial activity of *Viola tricolor* herb. *Fitoterapia*. **76**(5), 458-461. ISSN 0367326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.fitote.2005.03.005
- WRIGHT, G. A., D. D. BAKER, M. J. PALMER, D. STABLER, J. A. MUSTARD, E. F. POWER, A. M. BORLAND a P. C. STEVENSON, 2013. Caffeine in Floral Nectar Enhances a Pollinator's Memory of Reward. *Science*. **339**(6124), 1202-1204. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1228806
- XIAO, Jianbo, 2015. Phytochemicals in medicine and food. *Phytochemistry Reviews*. **14**(3), 317-320. ISSN 1568-7767. Dostupné z: doi:10.1007/s11101-015-9407-3
- YOO, Sunyong, Kwansoo KIM, Hojung NAM a Doheon LEE, 2018. Discovering Health Benefits of Phytochemicals with Integrated Analysis of the Molecular Network, Chemical Properties and Ethnopharmacological Evidence. *Nutrients*. **10**(8). ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu10081042
- ZAGÓRSKA-DZIOK, Martyna, Aleksandra ZIEMLEWSKA, Tomasz BUJAK, Zofia NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA a Zofia HORDYJEWICZ-BARAN, 2021. Cosmetic and Dermatological Properties of Selected Ayurvedic Plant Extracts. *Molecules*. **26**(3). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26030614
- ZHANG, Lijuan, Carlos VIRGOUS a Hongwei SI, 2019. Synergistic anti-inflammatory effects and mechanisms of combined phytochemicals. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. **69**, 19-30. ISSN 09552863. Dostupné z: doi:10.1016/j.jnutbio.2019.03.009
- ZHAO, Lichao, Aidi ZHOU, Zitao LIU, Jian XIAO, Yu WANG, Yong CAO a Li WANG, 2020. Inhibitory mechanism of lactoferrin on antibacterial activity of oenothlein B: isothermal titration calorimetry

and computational docking simulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **100**(6), 2494-2501. ISSN 0022-5142. Dostupné z: doi:10.1002/jsfa.10271

9. Seznam tabulek

Tabulka 1: Seznam sbíraných a analyzovaných rostlin	32
Tabulka 2 - Antimikrobiální aktivita vybraných rostlinných extraktů	36

10. Seznam grafů

Graf 1 - Vliv doby inkubace na průměrnou viabilitu keratinocytů (24 hod)	38
Graf 2 - Vliv doby inkubace na průměrnou viabilitu keratinocytů (72 hod)	38
Graf 3 – Vliv koncentrace na viabilitu buněk (24 hod)	39
Graf 4 - vliv koncentrace na viabilitu buněk (72 hod).....	39