

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Sekundární metabolity z léčivých rostlin a koření s vlivem na  
metabolismus dietárních purinů**

**Diplomová práce**

**Autor: Bc. Jitka Šimonová**

**Vedoucí DP: prof. Ing. Rada Vojtěch CSc.**

**2009**

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Sekundární metabolity z léčivých rostlin a koření s vlivem na metabolismus dietárních purinů vypracovala samostatně apoužila jsem jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne: 15.3.2009

## Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala Katedře mikrobiologie, výživy a dietetiky. Zejména prof. Ing. Vojtěchu Radovi, CSc, který byl mým vedoucím práce. Dále Ing. Jaroslavu Havlíkovi, Ph.D, který mi velice ochotně poskytl podkladové materiály a věnoval mi svůj čas. Ráda bych také poděkovala Katedře chemie. Jmenovitě Ing. Kateřině Hejtmánkové za její pomoc.

Výzkum byl financován z grantu Grantové agentury České Republiky GA ČR 525/08/P503 a grantu Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy MSM 6046070901.

## **Autorský referát**

Dna a hyperurikémie jsou onemocnění postihující 1-2 % západní populace. Léčba chronické hyperurikémie spočívá obvykle v inhibici enzymu xanthin oxidázy. Zelenina, ovoce, koření a některé rostliny využívané v tradiční medicíně jsou zdrojem přírodních inhibitorů xanthin oxidázy.

Sledovali jsme vliv 102 extraktů z 33 rostlin využívaných v tradiční evropské a české medicíně proti dně na inhibici xanthin oxidázy (mikrobiální, EC 1.1.3.22). Inhibice byla vyjádřena v procentech při koncentraci 100 µg/mL. Osm (14,5%) z testovaných extraktů inhibovalo xanthin oxidázu z více než 30 procent. Nejaktivnější byly 20% EtOH extrakty z *Carum carvi* a *Crocus flavus*, dále metanol-dichlormetanové extrakty z *Lepidium meyenii*, *Caryophyllus aromaticus*, *Hypericum perforatum*, *Populus nigra* a *Sambucus nigra* a 80% EtOH extrakty z *Populus nigra*. Inhibice byla korelována s obsahem celkových fenolů. Korelační koeficient 0,4 ukázal na slabou závislost. Extrakty s nízkým obsahem fenolů a vysokým stupněm inhibice jako 20% EtOH extrakt *Carum carvi* jsou zajímavým objektem pro další návazný výzkum, neboť u látek jiných než fenolických nejsou inhibiční vlastnosti XO dostatečně popsány.

**Klíčová slova:** dna, hyperurikémie, xanthin oxidáza

## Abstrakt

Gout and hyperuricemia is a disease affecting 1-2% of Western populations. Treatment of chronic hyperuricemia usually involves use of inhibitors of xanthine oxidase enzyme of human purine metabolism. Vegetables, fruits, spices and some plants used in diet and traditional medicine as a source of natural xanthine oxidase inhibitors.

We tested xanthine oxidase inhibitory activity of 102 extracts of 33 plants used in traditional European and Czech medicine against gout and related symptoms on inhibition of xanthine oxidase (microbial, EC 1.1.3.22). Inhibition was expressed in percents of decrease enzymatic activity at concentration of the extract 100 mg/mL. Eight (14.5%) out of the extracts tested inhibited xanthine oxidase from more than 30 percent. The most active were 20% EtOH extracts of *Carum carvi* and *Crocus flavus*, methanol-dichlormethan extracts of *Lepidium meyenii*, *Caryophyllus aromaticus*, *Hypericum perforatum*, *Populus nigra* and *Sambucus nigra*, and 80% EtOH extracts from *Populus nigra*. The inhibition was correlated with the content of total phenols. Correlation coefficient 0,4 showed the weak dependence. Extracts with low content of phenols and a high degree of inhibition as 20% EtOH extract of *Carum carvi* is an interesting object for further follow-up research, as for substances other than non-phenolic XO inhibitory properties sufficiently described.

**Key words:** gout, hyperuricemia, xanthine oxidase

# Obsah

Obsah.....	6
1 Úvod.....	7
2 Cíl práce.....	8
3 Současný stav řešeného problému: souhrn literatury.....	9
3.1 Dna a hyperurikémie.....	9
3.2 Metabolismus purinů.....	12
3.3 Léčivé rostliny, koření a plodiny v tradiční léčbě dny.....	14
3.3.1 Léčba dny v Asii.....	15
3.3.2 Léčba dny v Americe.....	16
3.3.3 Léčba dny v Evropě.....	17
3.4 Rostlinné inhibitory xantin oxidázy.....	20
4 Materiál a metodika.....	23
4.1 Chemikálie.....	23
4.2 Příprava rostlinných extraktů.....	23
4.3 Extrakce.....	24
4.4 Příprava reakčních činidel.....	24
4.5 Měření aktivity xantin oxidázy.....	25
4.6 Stanovení celkových polyfenolů.....	25
5 Výsledky a diskuse.....	26
5.1 Výsledná aktivita rostlinných extraktů.....	26
p, stimuluje aktivitu enzymu z více než 10%; -, nesignifikantní, stimuluje do 10 %.....	29
5.2 Způsob extrakce a vliv na aktivitu.....	30
5.3 Korelace mezi obsahem celkových polyfenolů a aktivity.....	32
6 Závěr.....	36
7 Použitá literatura.....	37

# 1 Úvod

Dna a hyperurikémie jsou závažná onemocnění postihující ve vyspělých zemích 1-2 procenta populace. Na jejich vzniku a expresi se významně podílí životní styl a stravovací návyky jedince, rozhodující je zejména příjem dietárních purinů. Riziko propuknutí akutní dny lze snížit příslušnou nízko-purinovou dietou nebo příjmem látek omezujících činnost enzymu xantin oxidázy, hlavního enzymu podílejícího se na metabolismu purinů a jejich přeměně na kyselinu močovou v organismu. Xantin oxidáza je navíc enzym, který se podílí na vysoké produkci reaktivních forem kyslíku v těle a tedy vystavování tkání oxidativnímu stresu.

Některé potraviny jsou známy pro svůj inhibiční vliv na xantin oxidázu, který byl potvrzen v několika desítkách *in vivo* a *in vitro* studiích. Mezi chemickými látkami, jimž se tento efekt přisuzuje, jsou zejména flavonoidy, tanininy, fenolické kyseliny nebo stilbenoidy. Ty, přítomné v zelenině a ovoci mohou inhibicí xantin oxidázy snižovat množství volných radikálů v organismu, a především přispívat ke snížení metabolismu purinů a tedy riziku výskytu akutní dny. Mimo zeleninu a ovoce, tradiční medicína mnoha kultur využívala celou řadu rostlinných drog ke tlumení výskytu léčbě dny. Extrakty z těchto rostlin rovněž mohou být účinnými inhibitory xantin oxidázy.

## 2 Cíl práce

Cílem práce je přehledně shrnout a systematizovat prostředky bylinné medicíny tradičně využívané v České republice a Evropě na prevenci a léčbu dny, hyperurikémie a souvisejících symptomů a ověřit vliv těchto produktů a některých dalších běžných potravin, ovoce a zeleniny, na xantin oxidázu spektrofotometrickou metodou *in vitro*.

Takováto studie nebyla dle našich poznatků dosud publikována. Výsledky mohou sloužit jako dietární doporučení pro osoby postižené dnou nebo hyperurikémií a mohou sloužit jako základ pro potenciální vývoj funkčních potravin a potravních doplňků určených pro speciální dietu.



## 3 Současný stav řešeného problému: souhrn literatury

### 3.1 Dna a hyperurikémie

Dna je nemoc známá již z antiky (TERKELTAUB, 2006). Je často nazývána “Nemocí králů”, protože často postihovala především bohatší vrstvy obyvatelstva (ŠIROKÝ, 2005).

U mužů okolo věku 40 let je dna jednou z nejčastějších příčin zánětlivých onemocnění (NUKI, 2006) a trpí jí dvacetkrát častěji než ženy (ŠIROKÝ, 2005). Ve Spojených státech Amerických je postiženo 3,4 milionů mužů (KRAMER et CURHAN, 2002). U nás v České republice trpí zvýšenou koncentrací kyseliny močové v krvi přibližně 10 % populace (KŘÍŽOVÁ, 2004).

Dna a hyperurikémie jsou metabolické poruchy spojované s vysokou hladinou kyseliny močové v plazmě, což vede k ukládání krystalů soli kyseliny močové-nátrium urátu v kloubech a ledvinách a způsobuje zánět, dnovou artritidu a tvorbu ledvinových kamenů (KONG et al., 2004). Vysoká hladina v plazmě může být důsledkem nadprodukce kyseliny močové nebo jejím nedostatečným vylučováním ledvinami či kombinací obou těchto možností (MURUGAIYAH et CHAN, 2006). Ve většině studií jsou považovány za horní limit vzniku hyperurikémie hodnoty u mužů 420  $\mu\text{mol/L}$  a žen 360  $\mu\text{mol/L}$  (ŠEBESTA, 1991).

Koncentrace kyseliny močové v séru je závislá na věku, pohlaví, tělesné kondici a genetických předpokladech. Hladina je vyšší u lidí žijících ve městech než na venkově. Další pozitivní vliv na koncentraci má příslušnost k sociální třídě, váha, množství hemoglobinu, konzumace alkoholu, zejména piva (NUKI, 2006), případně prodělané chronické selhání ledvin (CHOI et al., 2004).

Epidemiologické studie ukazují významné rozdíly v hladinách urátu mezi etnickými skupinami, např. zvláště vysoké hladiny u Maurů a Polynésanů (NUKI, 2006).

Ačkoliv je známo, že dna je determinována geneticky, faktory životního prostředí jako je dieta, tuky a obezita, konzumace alkoholu a diuretik jsou využívány jako důležité determinanty, a existují důkazy o tom, že vysoký výskyt dny a hyperurikémie u náchylných etnických skupin vychází ze snížené schopnosti vylučování urátu ledvinami v reakci na purinové zatížení. Nedávné studie ukazují, že riziko rozvoje dny se zvýšilo téměř o 50 % u lidí konzumujících stravu s vysokým obsahem červeného masa a mořských plodů. Potraviny obsahující velké množství zeleniny bohatou na purin, nenesou stejné riziko a strava bohatá na

mléčné výrobky je spojena se sníženým rizikem vzniku dny, a to zřejmě z důvodu urikosurického účinku mléčných bílkovin (CHOI et al., 2004). Bylo prokázáno, že riziko vzniku dny závisí na množství konzumovaného alkoholu. Pivo, které obsahuje purinové báze, s sebou nese větší riziko vzniku dny než lihoviny se stejným obsahem alkoholu, ale přiměřená konzumace vína není spojena se zvýšeným rizikem pro rozvoj této nemoci (NUKI, 2006).

Klinicky probíhá dna ve čtyřech fázích - období asymptomatické hyperurikémie, období akutního dnového záchvatu, interkritické období, období chronické tofosní dny (NUKI, 2006).

75 % pacientů s dnou a hyperurikémií mají známky metabolických projevů (hypertenze, obezity, zvýšenou hladinu plazmatické glukózy nalačno, hypertriglyceridaemia a nízkou hladinu HDL cholesterolu. Hyperurikémie je spojena se vznikem inzulínové rezistence a horší prognózou pro pacienty se srdečním selháním, hypertenzí, cerebrovaskulárním onemocněním a glomerulonefritidou (NUKI, 2006).

Mezi hyperurikémií a předčasným úmrtím na kardiovaskulární choroby nalezneme souvislosti. Hladina urátu v séru se zdá být nezávislý rizikový faktor (a silný prediktor) pro úmrtí na kardiovaskulární choroby. Podle řady studií má sérum urát vliv na výskyt hypertenze u hyperurikemických potkanů po podání potassium oxonátu (KANG et al., 2005). Kromě toho, *in vitro* a *in vivo* studie naznačují, že vysoká hladina urátu v séru je přímo toxická pro glomerulární mikrovaskulaturu i arteriální endoteliální buňky a buňky hladké svaloviny. Léčba dny tak může být efektivní pro pacienty s hyperurikémií a hypertenzí nebo aterosklerózou (TERKELTAUB, 2006). Hyperurikémie často doprovází i chronická selhání srdce. Pravděpodobně redukuje schopnost vazodilatace a poškozuje periferní krevní oběh. Lze to vysvětlit zvýšeným množstvím xantin oxidázy, která katalyzuje redukci O<sub>2</sub> vedoucí ke vzniku volných kyslíkových radikálů a peroxidů vodíku a tím způsobuje poškození endotelu. V souvislosti s reperfučním poškozením se ukazuje, že tyto volné kyslíkové radikály, jsou hlavním činitelem poškození krevní cirkulace a tkání. Ukazuje se, že léčba allopurinolem zlepšuje periferní krevní zásobení a endoteliální dysfunkci u pacientů s druhým typem diabetes mellitus a střední hypertenzí (DOEHNER et al., 2002).

Rozlišuje se mezi akutním a chronickým projevem nemoci. Akutní dnová artritida je zpravidla prvním klinickým projevem dny. Vhodná léčba akutní fázi je spojena se sníženou délkou trvání útoku a snížení bolesti. V současné době je pro léčbu akutní dny k dispozici kolchicin, nesteroidní protizánětlivé léky (NSAID) a kortikosteroidy. Kolchicin inhibuje aktivaci leukocytů a jejich migraci. Je relativně kontraindikován u pacientů se selháním

ledvin. U pacientů s poruchou ledvin a rizikovými faktory pro gastrointestinální krvácení, NSAID představují vhodnou alternativu. Kortikosteroidy jsou účinné v akutní fázi dny a vynikající volbou léčby, kdy pacient není schopen přijmout drogu orálně nebo hrozí ledvinové či gastrointestinální krvácení. Přechod z akutní intermitentní dny v dnu chronickou trvá 10 i více let. Léčba chronické fáze zahrnuje antihyperurikémickou nebo urát- snižující terapii. Pro snížení urátu se používají dva druhy léčiv. Inhibitory xantin oxidázy blokující metabolické kroky při syntéze kyseliny močové, např. allopurinol a febuxostat a urikosurika, jako je probenecid, které zvýší vylučování kyseliny močové ledvinami. Mezi ostatní urikosurika patří sulfipyrazon a benzbromaron, které jsou ale málo rozšířené (KEITH et GILLILAND, 2007).

Allopurinol (1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-ol) je analogem purinu a po konverzi na oxypurinol inhibuje xantin oxidázu, která blokuje přeměnu xantinu na kyselinu močovou. Jde o látku nejčastěji používanou v reumatologii (KEITH et GILLILAND, 2007), ale jeho použití může mít za následek celou řadu negativních vedlejších účinků, jako jsou alergické reakce a přecitlivělost nebo nefropatie (KONG, et al. 2004).

Allopurinol je substrátem a specifickým silným inhibitorem xantin oxidázy, pro léčbu dny je využíván již řadu let (TAMTA et al., 2005). Mimo jiné allopurinol rychle navrácí endoteliální dysfunkci u kuřáků cigaret, což naznačuje, že xantin oxidáza hraje roli při endoteliální dysfunkci. Rizikovými faktory pro vznik endoteliální dysfunkce jsou kouření, hypertenze, diabetes mellitus. A právě i xantin oxidáza významně přispívá k dysfunkci endotelu způsobené kouřením tabáku. Pravděpodobně proto, že při nich vznikají volné kyslíkové radikály. Avšak orální podávání allopurinolu rychle navrácí odolnost cév (GUTHIKONDA et al., 2003).

Na druhou stranu, některé studie ukazují, že allopurinol u některých pacientů vyvolává syndrom přecitlivělosti a Stevens-Johnsonův syndrom (HAMMER et al., 2001). Mezi další nežádoucí účinky allopurinolu patří hepatitida, nefropatie a alergické reakce. Hledání nových inhibitorů xantin oxidázy by prospělo nejen léčbě dny, ale i boji proti některým nemocem (NGUYEN et al., 2006). Nežádoucí účinky se mohou objevit až u 2 % pacientů léčených allopurinolem (KEITH et GILLILAND, 2007).

Nejzávažnější reakcí na léčbu allopurinolem je hypersenzitivní syndrom. Jeho projevy jsou vyrážka, horečka, progresivní selhání ledvin, v některých případech i smrt. Pacienti, u kterých se objeví reakce na allopurinol se mohou stát na allopurinol rezistentní. Febuxostat, nový nepurinový inhibitor xantin oxidázy, může být užitečnou alternativou léku u pacientů s

renální insuficiencí. Přestože se jedná o drahý lék, jeho využití u pacientů netolerantních k allopurinolu může být užitečné (KEITH et GILLILAND, 2007).

### 3.2 Metabolismus purinů

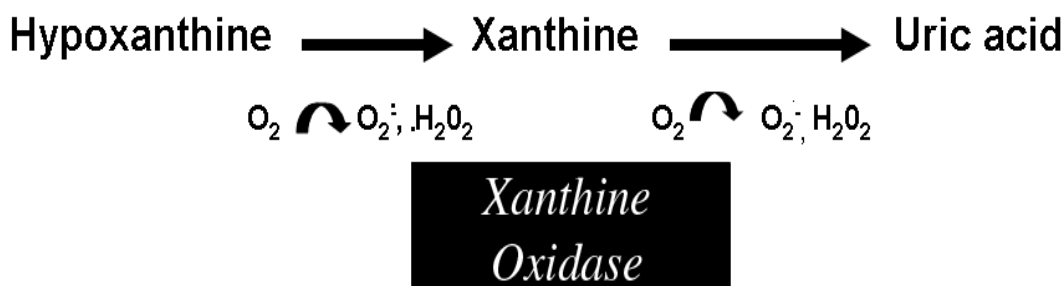
Dietární puriny jsou nebílkovinné dusíkaté látky přijímané v potravě (CARVER et WALKER, 1995). Adenin, guanin, xantin a hypoxantin jsou hlavní metabolicky aktivní puriny. Z těla se vylučují tak, že jsou oxidovány enzymem xantin oxidázou na kyselinu močovou (SARWAR et BRULÉ, 1991).

Puriny nepatří mezi esenciální živiny, v organismu se syntetizují *de novo*, využitelné jsou však i puriny přijímané v potravě. Jejich zdrojem jsou živočišné i rostlinné buňky, kde se vyskytují nejvíce ve formě nukleotidů, jako základních stavebních kamenů nukleových kyselin a energetických přenašečů, dále nukleosidů, kdy jsou vázány na pětiuhlíkaté cukry ribózu a deoxyribózu, případně i jako volné báze (SARWAR et BRULÉ, 1991).

#### **Xantin oxidáza**

Xantin oxidáza (XO) (1.1 3.22) patří do skupiny xantin oxidoreduktáz. U savců nalezneme nejvyšší koncentraci v játrech a střevech (BORGES et al., 2002). V malé míře se XO objevuje v mozku, placentě, srdci, kůži, svalech, děloze a vaječnicích (MARGOLIN et BEHRMAN, 1992). Hladina XO v krevním séru je zvýšená během hepatitidy. Vliv na koncentraci XO má i poranění mozku a stupeň jeho otoku. Různé studie spojují XO s tepelným stresem, respiračním syndromem, virovou infekcí, a hemoragickým šokem (DEW et al., 2005).

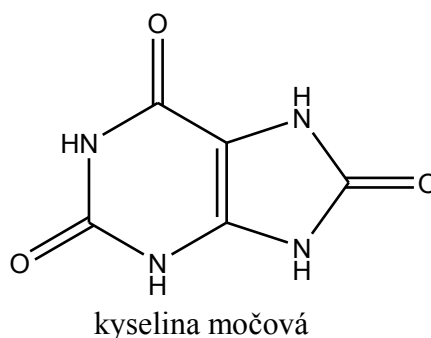
Xantin oxidáza je klíčovým enzymem pro lidský metabolismus purinových nukleotidů. Jeho hlavní funkcí je katalyzovat oxidaci hypoxantinu na xantin a později na kyselinu močovou. Tyto kroky jsou nevratné a vytváří se při nich superoxidové anionty. Kyselina močová u člověka dále nepodléhá žádnému jinému metabolismu a je vylučována ledvinami a trávicím traktem (ENOMOTO et al., 2002). Téměř 70% z denní produkce kyseliny močové je vylučováno ledvinami (MARANGELLA, 2005). V ledvinách podléhá filtraci, při které může být částečně reabsorbována nebo zcela vyloučena proximálním tubulem (ENOMOTO et al., 2002).



Obr.1 Oxidace hypoxantinu a xantinu na kyselinu močovou katalizovaná pomocí xantin oxidázy. Upraveno podle TERKELTAUB (2006).

Je známo, že řada vlivů diety, jako je hladovění a vysoký příjem tuků, bílkovin a nukleových kyselin, zvyšuje hladinu kyseliny močové v séru (CARVER et WALKER, 1995). Hlavními zdroji nukleových kyselin jsou maso, semena luštěnin, některé druhy mořských živočichů a zeleniny a potravinářské kvasnice (BRULÉ et al., 1988).

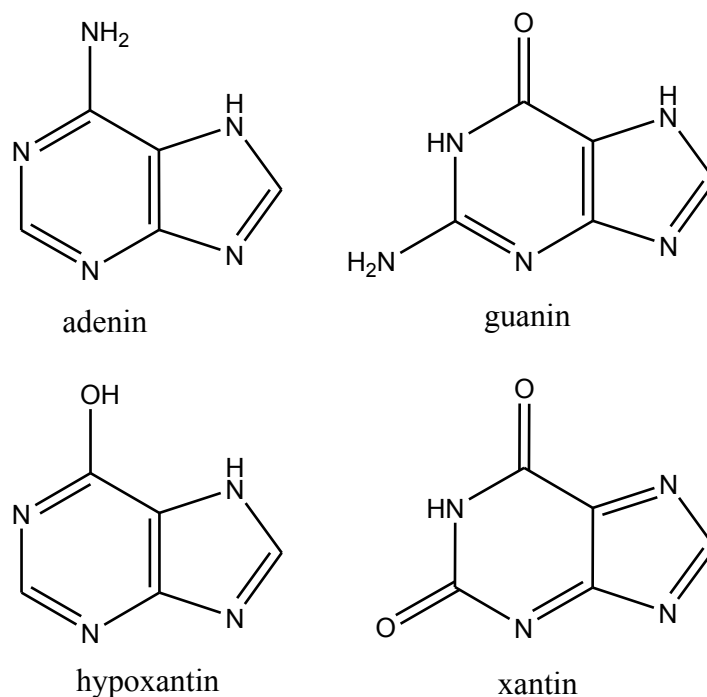
Kyselina močová je konečný produkt endogenního metabolismu purinu u člověka a vyšších opic. U většiny obratlovců je kyselina močová katabolizovaná pomocí jaterního enzymu urikázy na allantoin, oxid uhličitý a peroxid vodíku. Člověk a další čtyři rody hominidů (gorila, šimpanz, orangutan, gibbon) trpí nedostatkem urikázy (FRIEDMAN, et al. 1985). Celkem se vyloučí denně 2,4 - 4,8 mmol kyseliny močové (ŠEBESTA, 1991).



Obr. 2 Chemická struktura kyseliny močové.

Purinové báze (adenin, guanin, hypoxantin a xantin), a to i přes jejich biochemickou podobnost, jsou metabolizovány odlišně a mají různé urikogenní účinky u lidí a zvířat (BRULÉ et al., 1988). Vyšší urikogenní účinek byl zjištěn u adeninu a hypoxantinu než u guaninu a xantinu (CLIFFORD et al., 1976). Volný adenin má větší urikogenní schopnosti

než jeho nukleosidy nebo nukleotidy (BRULÉ et al., 1988). Způsob tepelné úpravy (dušení, pečení, vaření nebo grilování) masa, drůbeže a rybích výrobků mění obsah purinů a uvolňování volných bází (MACY et al., 1970).



Obr. 3 Purinové báze

### 3.3 Léčivé rostliny, koření a plodiny v tradiční léčbě dny

Použití léčivých rostlin v léčbě hyperurikémie a dny a je založeno na zkušenostech v lidovém lékařství a má velmi dlouhou tradici. Například historie užívání čaje sahá více než 5000 let do minulosti. Po vodě, je čaj nejvíce užívaný nápoj na světě. Konzumace čaje má obecně na organismus pozitivní vliv. Čajové komponenty včetně katechinů a theaflavinů prokazatelně potlačují XO *in vitro*. I některé další potraviny rostlinného původu, včetně léčivých bylin, koření, ovoce a zeleniny, jsou také schopny inhibovat XO *in vitro* (DEW et al., 2005).

Internetové databáze zmiňují 129 druhů rostlin patřících do 56 čeledí tradičně používaných pro léčbu revmatismu, zánětů kloubů a mnohé jsou indikovány právě na léčbu

dny např. *Apium graveolens* (Apiaceae), *Juniperus communis* (Cupressaceae), *Lactuca virosa* (Asteraceae), *Magnolia virginiana* (Magnoliaceae), *Mentha pulegium* (Lamiaceae), *Populus tremula* (Salicaceae), *Sambucus nigra* (Caprifoliaceae), *Trifolium repens* (Fabaceae), *Veratrum viride* (Liliaceae), *Zea mays* (Poaceae) (DUKE, 2008 příloha č. 2)

### 3.3.1 Léčba dny v Asii

Odvar z kůry stromu *Populus davidiana* (Salicaceae), který je známý v severní Číně, Koreji a sibiřských oblastí Ruska, se používá jako prostředek proti bolesti kloubů a jako protijed (WANG et al., 1999).

Indie, země s dlouhou historií tradičního lidového léčení, má řadu léčivých rostlin používaných při dně. Údajné léčebné účinky těchto tradičních prostředků jsou obvykle přičítány přítomnosti flavonoidů, triterpenoidů, alkaloidů, lignanů a některých dalších fenolů (HIO et al., 1985; COSTANTINO et al., 1992).

Listy protažilky *Gynura procumbens* (Merr.) (Compositae), jsou často podávány syrové s rýží. V jihovýchodní Asii, zejména v Indonésii, Malajsii a Thajsku, byla tradičně používají pro léčbu horečky, migrény, vysokého krevního tlaku a rakoviny (PERRY et METZGER, 1980). Nedávné farmakologické studie prokazují, že *G. procumbens* má protizánětlivé vlastnosti (LAM et al., 1998) a byla zjištěna aktivita na inhibici xantin oxidázy (ROSIDAH et al., 2008).

Tradiční indická medicína využívá druhy *Coccinia grandis* a *Vitex negundo* pro léčbu hyperurikémie a dny (UMAMAHESWARI et al., 2007).

V Indii je například druh *Pistacia integerrima* používán v tradiční medicíně jako analgetikum při revmatických bolestech ve formě léku 'habb-e-surjan' z Hamdardských laboratoří (ANSARI et ALI, 1996), který vykazuje i inhibiční účinky na xantin oxidázu.

Čínská medicína nedefinuje dnu jako takovou, podle teorie tradiční čínské medicíny (TCM), by klinické příznaky dny mohly být zařazeny do čtyř skupin: (1) bránění větru-vlhkosti-teplu, jde příznak, který by mohl být popsán jako akutní artritida a přerušované močení; (2) zástava krevního oběhu z poledníků, které vedou většinou k ankylózám způsobujícím přítomnost topi v kloubech a končetinách; (3) nefunguje-li qi ledvin, které se klinicky projevuje závratěmi, vleklým otokem, bolestmi a slabostí v zádech a kolenou v důsledku nefrolitydy, (4) nefunguje-li qi i jin, příznaky obvykle zahrnují pocit tíže, dysurii a ztuhlost svalů a: nebo kloubů. Na základě této klasifikace, je dosaženo účinné léčby těchto

poruch hlavně tím, že je správně využíváno léčivých rostlin používaných v TCM pro eliminaci horkosti a vlhkosti, pro aktivaci a obnovu krevního oběhu, jako diuretika a posilující prostředky. Pro první skupinu příznaků se nejčastěji používá *Achyranthes bidentata*, *Atractylodes lancea*, *Phellodendron amurense* a *Coix lachryma-jobi*. Pro aktivaci krevního oběhu se využívá *Artemisia anomala*, *Carthamus tinctorius*, *Ligusticum brachylobum* nebo *Lycopus europaeus*, jako diuretikum *Glechoma longituba* či *Polygonum cuspidatum* a jako posilující byliny jsou vhodné *Angelica sinensis* a *Cuscuta chinensis* (KONG et al., 2000).

Čínská léčivá bylina vněchlup popínavý, *Paederia scandens* (Rubiaceae), působí protizánětlivě, antirevmaticky a tiší bolest (LIU et al., 2004). Ermiao wan, složená z kůry *Phellodendron chinense* a kořenů *Atractylodes lancea*, je popisována jako účinný prostředek k eliminaci horkosti v průběhu akutní fáze dny. Její léčivé účinky při dně a hyperurikémii jsou zaznamenány ve Státním lékopise Čínské lidové republiky (KONG et al., 2004).

Jehličí zeravce, *Biota orientalis* (L.) Endl. (Cupressaceae), byly používány v čínské medicíně pro léčení dny, revmatismu, průjmů a chronických tracheitid (ZHU et al., 2004).

Palice z mechu *Palhinhaea cernua* (Lycopodiaceae) bývali používány po několik staletí tradiční čínské medicíny k léčbě revmatismu, kašle a hepatitidy. Byly rovněž popsány i účinky na tišení bolestí kloubů (JIAO et al., 2006).

*Chrysanthemum sinense* Sabine (Asteraceae) je jedním z populárních tradičních léků extenzivně používaných ve Vietnamu a v Číně. Květiny jsou používány pod názvem "Cuc Hoa Trang" pro léčbu horečky, revmatismu, zánětu, bolesti hlavy a poruchy zraku (DO, 2001).

Podávání 2,5 g "Xiao-Chai-Hu-Tang" (směs bylin např. ženšen a zázvor) dvakrát denně po dobu 5 dnů snižují XO aktivitu o 25 a 20% 1. a 5.den v uvedeném pořadí, v klinickém testu provedeném s 26 dobrovolníky (SARUWATARI et al., 2003).

### 3.3.2 Léčba dny v Americe

Rostliny jsou využívány domorodými obyvateli k léčbě dny, nebo onemocněních s podobnými symptomy jako je revmatismus a artritida. Řebříček obecný, *Achillea millefolium*, a vnitřní kůra topolu balzámového, *Populus balsamifera*, byly používány podobně jako čaj u kmene Irokézů k léčbě revmatismu (MOERMAN, 1986). V minulosti byla kůra používána také k léčbě dny a u kmene indiánů Čerokíjů k léčbě revmatismu, kteří



využívali tinkturu z pupenů. Čaj vyrobený z listů *Ledum groenlandicum* byl používán již Řeky k léčbě dny a byl používán i indiány v severní Americe (DUKE, 1986).

Historicky se používají i listy artyčoku, *Cynara scolymus* (Asteraceae), k léčbě nevolnosti, žloutenky, revmatických obtíží, dny a močových kamenů (WEGENER et FINTELMANN, 1999).

V Brazílii využívají v lidovém léčení rostliny rodu *Lychnospora* (Asteraceae) jako protizánětlivé a protirevmatické, dále jimi tiší bolesti (FILHA et al., 2006).

Původní obyvatelé Čile, Paragvaje a Panamy aplikují na dnu, revmatismus nebo artritidu celou řadu bylin např. *Aralia nudicauli* (Araliaceae), *Arctium lappa* (Asteraceae), *Juniperus communis* a *Thuja occidentalis* (Cupressaceae), dále *Trifolium repens* (Fabaceae), *Mentha canadensis* (Lamiaceae), *Fragaria virginiana* (Rosaceae) a *Urtica dioica* (Urticaceae) (OWEN et JOHNS, 1999).

V Mexiku, zemi s více než 50 000 druhů rostlin, nalezneme m.j. *Flourensia cernua* D.C. (Asteraceae) s protizánětlivými účinky (GODOI et al., 2004), *Cucurbita foetidissima* Kunth (Cucurbitaceae), ovoce zmírňující bolesti revmatických kloubů a, *Juglans mollis* Englem. (Juglandaceae), jehož listy se aplikují při revmatismu (SALAZAR et al., 2008).

V Jižní Americe se pro léčbu nadměrné tvorby kyseliny močové tradičně využívá *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) (MURUGAIYAH et CHAN, 2006).

### 3.3.3 Léčba dny v Evropě

Konzumace třešní a výrobků z nich je prospěšná pro zdraví, především ke zmírnění artritických bolestí a dny. Klinických případy prokazují, že konzumace 227 g třešňových výrobků denně po dobu 3 dnů až 3 měsíců, snižuje hladinu plazmatického urátu na normální úroveň a zmírňuje artritické bolesti u tří pacientů (BLAU, 1950). Ale není známo, jaké látky v třešních by mohly být za tyto vlastnosti zodpovědné (JACOB et al., 2003).

V Evropě existuje celá řada herbářů léčivých rostlin sumarizujících historii využívání léčivých rostlin, kdy vzhledem ke kulturnímu vývoji a odklonu od alopatické medicíny tyto poznatky pomalu mizí. Tabulka č. 1 představuje rostliny s indikací léčby dny, revmatismu a podobných příznaků (JANČA et ZENTRICH, 1994). Zbývající část tabulky nalezneme v příloze. Podle našich poznatků zatím nebyl proveden screening inhibičních vlastností tradičních rostlin evropské medicíny proti XO.

Tabulka č. 1

Seznam druhů a čeledí rostlin České republiky podávaných vnitřně k léčbě dny a souvisejících příznaků.

Druhové jméno	Čeleď	Využívaný orgán rostliny	Indikace	Zdroj
<i>Actinidia chinensis</i> Planch.	Actinidiaceae	plod	posílení org., tlumí bolesti a otoky kloubů, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Apium graveolens</i> L.	Apiaceae	semena, listy, stonek	sedativní účinky, podporuje funkce ledvin	BREMNESS OVÁ, 2003
<i>Bellis perennis</i> L.	Asteraceae	květ	revmatismus, pomáhá při horečce, chřipce, kašli,	BODLÁK et al., 1995
<i>Beta vulgaris</i> L.	Chenopodiaceae	kořen	na krevní choroby, menstruační potíže protirevmatikum, detoxikant, protisklerotikum, zlepšuje mozkovou činnost	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Betula pendula</i> Rothm.	Betulaceae	list	močopudná, revmatologie, léčí zánět kostí, stimuluje funkci jater a sleziny	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Capsicum annuum</i> L.	Solanaceae	plod	zvyšuje tvorbu slin, periferní cirkulace krve, léčba svalových ztuhnutí, revmatických bolestí	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Carum carvi</i> L.	Apiaceae	semeno	léčba bronchitidy, tiší plynovou koliku, při ztrátě chuti, antiseptický účinek	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Caryophyllus aromaticus</i> L.	Myrtaceae	květní poupě	desinfekce, kloktadlo, protirevmatikum, tlumí bolestivost zubního nervu	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Coriandrum sativum</i> L.	Apiaceae	plod	funkce slinivky, antirevmatikum, povzbuzuje trávení, ošetření vředů	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Crocus sativus</i> L.	Iridaceae	blizny, čnělky	močové a zažívací potíže, sedativum, hypnotikum	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Daucus carota</i> L.	Apiaceae	kořen, semeno, nať	odolnost org., zlepšuje zrak, na revmatické bolesti kloubů	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Fragaria vesca</i> L.	Rosaceae	list, jahody	močopudná, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Helianthus tuberosus</i> L.	Asteraceae	hlíza, méně list, nať	dietní potravina, antirevmatikum, mírní žlučové koliky, odvodňovací účinek	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Hypericum perforatum</i> L.	Hypericaceae	kvetoucí nať	protizánětlivě	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Chamomilla recutita</i> Rauschert	Asteraceae	květní úbor	spasmolitikum, protibolestivý, antialergikum	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Juniperus communis</i> L.	Cupressaceae	plod, dřevo	antirevmatikum, bolesti žaludku	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Larix decidua</i> Mill.	Pinaceae	jehličí	nemoci pohlavního a močového ústrojí, masti, náplasti	JANČA et ZENTRICH, 1996

Tabulka č. 1  
pokračování

<b>Druhové jméno</b>	<b>Čeleď</b>	<b>Využívaný orgán rostliny</b>	<b>Indikace</b>	<b>Zdroj</b>
<i>Laurus nobilis</i> (L.)	Lauraceae	list	podpora metabolismu, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Lepidium meyenii</i> Walp.	Brassicaceae	kořen	zvyšuje plodnost, zlepšuje růst vlasů, antirevmatikum, snižuje krevní tlak	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Majorana hortensis</i> Moench.	Lamiaceae	listy	diuretikum, při nachlazení, zažívacích potížích, dně, revmatismu	BODLÁK et al., 1995
<i>Myristica fragrans</i> Houtt.	Myristicaceae	muškátový květ, oříšek	bronchitida, antirevmatikum, nadýmání	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Pimenta dioica</i> (L.) Merr.	Myrtaceae	plod	pomáhá při kolice, nadýmání, revmatických obtěžích	BREMNESS OVÁ, 2003
<i>Populus nigra</i> L.	Salicaceae	pupeny, popřípadě kůra	analgetikum při kloubním revmatismu, podporuje vylučování kys. močové, na horečnatá onemocnění, proti zánětům	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Primula veris</i> L.	Primulaceae	květ kořen	antirevmatikum, tiší bolesti kloubů, hlavy, při onemocněních krve	BODLÁK et al., 199
<i>Prunus domestica</i> L.	Rosaceae	plod	choroby jater, ledvin, krevního oběhu, při dně a revmatismu	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Ribes nigrum</i> L.	Crossulariaceae	plod, list, kořen	únava, stres, antirevmatikum, cévní onemocnění, záněty ledvin	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae	list	prokrvení trávicího traktu, zlepšení psychické a fyzické kondice, kardiotonikum, při bolestech revmatických kloubů	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Salix alba</i> L.	Salicaceae	kůra	analgetikum, antirevmatikum, choroby ledvin, snižuje dráždivost nervové soustavy	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Sambucus nigra</i> L.	Loniceraceae	květ, plod	potopudný, močopudný, nemoci cév, analgetikum při bolestech páteře, kloubů, mírně projímavý	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Symphytum officinale</i> L.	Boraginaceae	kořen, list	hojivé procesy, chrání sliznice, osteoporóza	JANČA et ZENTRICH, 1995
<i>Thuja occidentalis</i> L.	Cupressaceae	mladé větvičky	působení protirevmatické, antivirozní, protiplísňové	JANČA et ZENTRICH, 1997b
<i>Urtica dioica</i> L.	Urticaceae	list, nať, méně oddenek, květ	antianemikum, antisklerotikum, antirevmatikum, antidiabetikum, hojení ran staví krvácení, močopudná, zvyšuje aktivitu enzymů	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Viola odorata</i> L.	Violaceae	celá rostlina v době květu, jinak oddenek	vykašlávání hlenů, močopudná, antirevmatikum, hojení ran	JANČA et ZENTRICH, 1995b

### 3.4 Rostlinné inhibitory xantin oxidázy

Ačkoliv používání léčivých rostlin v oblasti prevence a léčby hyperurikémie a dny je založeno na zkušenostech z tradiční lidové medicíny, jejich využití v moderní medicíně je podloženo dostatkem vědeckých studií. Pozornost byla zaměřena na identifikaci jejich chemického složení látek, které mají schopnost inhibovat XO, a tím snižovat hladinu urátu (KONG et al., 2000). Potenciál přírodních produktů jako zdrojů antioxidantů s inhibičními vlastnostmi vůči XO je zřejmý a byl potvrzen u mnoha extraktů (RAMALLO et al., 2006). Inhibice xantin oxidázy je účinným terapeutickým přístupem k léčbě hyperurikémie, která vyvolává dnu, tvorbu ledvinových kamenů nebo ischemii myokardu (HAO et al., 1999).

#### **Polyfenoly**

Přírodní polyfenoly lze rozdělit do několika tříd podle jejich chemické struktury. Mezi důležité patří skupina flavonoidů (UYAMA, 2007).

Flavonoidy, jedna z nejpočetnějších a nejlépe prostudovaných skupin rostlinných polyfenolů, jsou dobře známy svými biologickými a farmakologickými účinky (UYAMA, 2007). Mezi pozitivní účinky řadíme protizánětlivé a antioxidační schopnosti (MIDDLETON, 1998). Dnes lze používat uměle vytvořené polymerické flavonoidy nebo amin-obsahující polymery flavonoidů. Umělé polymery flavonoidů vykazují mnohem vyšší antioxidační aktivitu než jejich monomery a účinně tlumí nemoci spojené s enzymy jako je např. xantin oxidáza, elastáza, hyaluronidáza a tyrosináza (UYAMA, 2007). Podle NAGAO et al. (1999) inhibují cyklooxygenázu a lipoxygenázu související se zánětem a nalezneme pozitivní vztah mezi příjmem flavonoidů v dietě a snížením počtu úmrtí na srdeční choroby. Mezi rostliny s obsahem fenolů lze zařadit *Rabdosia japonica* (MASUOKA et al., 2006), *Biota orientalis* (ZHU et al., 2004).

Další skupinou jsou kumariny (1,2-benzopyron) a jejich deriváty. Eskuletin významně tlumí aktivitu xantin oxidázy s inhibicí 83,44±2,76 % (IC<sub>50</sub> 10,84μM) *in vitro*. Allopurinol v tomto případě inhiboval z 99,43±2,23 % (IC<sub>50</sub> 1,07μM) (LIN et al., 2008).

Inhibiční vlastnosti rostlin a rostlinných látek lze zjišťovat několika možnými metodami *in vitro*. Například spektrofotometricky, měřením úbytku substrátu xantinu nebo častěji množstvím produktu, kyseliny močové, případně metodami HPLC, které eliminují maskující vliv ostatních složek matrice (NAGAO et al., 1999). Několik desítek studií sledovalo vliv

těchto produktů u pokusných zvířat *in vivo*. Při těchto metodách je třeba eliminovat činnost urikázy a uměle navodit stav hyperurikémie, která jinak u zvířat nenastává (UMAMAHESWARI et al., 2007).

OWEN et JOHNS (1999) testovali inhibiční vlastnosti 26 druhů patřících do 18 čeledí. 23 vzorků (88.5 %) vykazovalo inhibiční aktivitu, z nichž u pěti vzorků (19 %) byla inhibice XO vyšší než 50 % při koncentraci 100 µg/mL, mezi nimi *Achillea millefolium* L., *Larix laricina* (Duroi) K. Koch., *Ledum groenlandicum* Oeder., *Populus balsamifera* a *Veronica officinale* L. Průměrná inhibiční aktivita byla 25 %. Mezi rostlinami, které vykazovaly nízkou nebo žádnou inhibiční aktivitu (<3 %) patřily *Apocynum androsaemifolium* L., *Caulophyllum thalictroides* (L.)Michx., *Urtica dioica* L. Vzorkem s nejvyšší inhibicí byl metanolvý extrakt modřínu *Larix laricina* s inhibicí 86,33±0,46 % při výše zmíněné koncentraci. Následným měřením byla potvrzena pozitivní korelace mezi inhibičními vlastnostmi a obsahem fenolů ( $r = 0,52$   $P < 0,01$ ) a taninů ( $r = 0,59$   $P < 0,001$ ).

Celkem 122 léčivých rostlin a jejich metanolvých a vodních extraktů testovali na inhibici XO KONG et al. (2000). Ze 122 metanolvých extraktů, jich 69 ukazovalo inhibici při koncentraci 100 µg/ml, z toho 29 vyšší než 50 % ( $IC_{50} < 100$  µg/mL). Vodní extrakty vykazovaly aktivitu zhruba o polovinu nižší. Nejaktivnější byl extrakt z kůry skořicovníku *Cinnamomum cassia* (Lauraceae)  $IC_{50}$  18 µg/ml, dále květ listopadky *Chrysanthemum indicum* (Asteraceae),  $IC_{50}$  22 µg/mL. Mezi vodními extrakty měly nejvyšší aktivitu kořeny křídlatky *Polygonum cuspidatum* (Polygonaceae),  $IC_{50}$  38 µg/mL, přičemž hodnota  $IC_{50}$  pro pozitivní kontrolu allopurinolem byla v této studii 1,06 µg/mL.

Třináct (86 %) z 15 metanolvých extraktů rostlin studovaných SALAZAR et al. (2008) vykazovalo inhibici proti XO v rozmezí koncentrací od 10 do 100 µg/mL. Nejaktivnější byly při koncentraci 10 µg/mL extrakty získané z kořenů damiány *Turnera diffusa* Wild. (Turneraceae) s inhibicí 30,9±6,0 %, z listů *Cucurbita foetidissima* Kunth (Cucurbitaceae) s inhibicí 20,5±11,9 % a z kůry *Juglans mollis* Engelm. (Juglandaceae) s inhibicí 10,6±0,5 %.

FILHA et al. (2006) testovali 5 druhů rodu *Lychnophora* sp. a jeden druh rodu *Lychnophoriopsis* sp. na inhibiční vlastnosti XO. Z 22 extraktů 16 mělo inhibici větší než 38% při koncentraci 100 µg/mL. Nejaktivnější byly *Lychnophora ericoides*, *Lychnophora trichocarpha* a *Lychnophora staavioides* s inhibicí 78 %, 77 % resp. 66 %.

DEW et al. (2005) studovali účinek některých potravin a jejich složení s vlivem na aktivitu xantin oxidázy *in vitro*. Nejvyšší aktivitu proti xantin oxidáze měla brusinková šťáva, šťáva z hroznového vína a černý čaj.

UMAMAHESWARI et al. (2007) testovali vodní, metanolové a etanolové extrakty šesti druhů vybraných opět na základě etnofarmakologických indikací. Celkem z 18 vzorků jich 14 (77,78 %) inhibovalo XO, z čehož 10 (55,56 %) vykazovalo inhibici větší než 50 % při koncentraci 100 µg/mL. 13 vzorků (72,22 %) bylo aktivních při koncentraci 50µg/mL a 6 z nich (33,33 %) dosahovalo inhibice více jak 50 %. Při koncentraci 25µg/mL bylo aktivních 11 vzorků (61,11 %) a nadpoloviční aktivitu měly 3 vzorky (16,67 %) ( $IC_{50}<25$  µg/mL). Nejaktivnější ze všech vzorků s hodnotou  $IC_{50}$  menší než 10 µg/mL byly metanolové a vodní extrakty z kulčiby dávivé - *Strychnos nux-vomica* (6,8 a 7,75 µg/mL). Výsledky byly srovnatelné s allopurinolem, který dosahoval hodnoty  $IC_{50}$  6,75 µg/mL.

NGUYEN et al. (2006) testovali 288 extraktů připravených z 96 léčivých rostlin Vietnamu používaných k léčbě dny a podobných příznaků. Nejvyšší aktivitu vykazoval metanolový extrakt z *Chrysanthemum sinense* ( $IC_{50}$  5,1 µg/mL) z něhož bylo izolováno 28 látek s XO-inhibičními vlastnostmi mezi nimi flavonoidy diosmetin ( $IC_{50}$  0,13µM), jaceidin ( $IC_{50}$  0,15 µM) a acacetin ( $IC_{50}$  0,16 µM). Allopurinol byl použit jako pozitivní kontrola s hodnotou  $IC_{50}$  2,50 µM.

KONG et al. (2004) testovali *in vivo* vodní extrakty z tradiční čínské bylinné směsi Ermiao wan podávanou v dávce 840 mg/kg/den kůru korkovníku *Phellodendron chinense* (480 mg/kg/den) a extrakt z kořenů atraktylu *Atractylodes lancea* (340 mg/kg/den) Kontrolní skupině byl podáván allopurinol (10 mg/kg/den). Kontrolní skupina měla průměrnou hladinu kyseliny močové v séru 3,24 mg/mL. Po sedmi dnech byla stanovena hladina urátu. U skupiny léčené směsí Ermiao wan byla hladina kyseliny v séru  $3,39\pm 0,14$  mg/mL tedy srovnatelná s kontrolní skupinou léčenou allopurinolem ( $3,32\pm 0,11$  mg/mL). U skupiny léčené kůrou *P. chinense*  $4,14\pm 0,10$  mg/mL (27,7 %) a u skupiny *A. lancea*  $5,06\pm 0,15$ mg/mL (11,7 %), což i tak byla inhibice oproti skupině bez podání jakéhokoliv inhibitoru (5,73 mg/mL). YAN et al. (2008) zjišťovali inhibiční aktivitu u *Paedria scandens* (Lour.) Merrill (Rubiaceae) u myši v dávkách 4,5; 2,25 a 1,125 g/kg. Allopurinol byl podáván v množství 0,0285 g/kg. Skupina léčená allopurinolem měla průměrnou hladinu urátu  $12,1\pm 3,9$  mg/L (40% inhibice). Účinnost největší dávky *P. scandens* byla  $15,3\pm 5,4$  mg/L kyseliny močové v plazmě oproti skupině pouze s oxonátem ( $26,8\pm 6,1$  mg/L). ZHU et al. (2004) sledovali inhibici XO *in vivo* na myších u obvyklých, často se vyskytujících flavonoidů jako jsou quercetin a rutin. Po třech dnech léčby u myši odlišnými dávkami těchto fenolů snížily hladinu urátu. Při dávkách 100 mg/kg se hladina kyseliny močové snížila z původní

5,03±0,19 mg/dl na 3,52±0,08 mg/dL u quercetinu a u rutinu na 3,83±0,11 mg/dL, tedy významněji než u pozitivní kontrolní skupiny s allopurinolem (3,87±0,16 mg/dL).

## 4 Materiál a metodika

Na základě screeningu léčivých rostlin užívaných v České republice pro léčbu dny a souvisejících příznaků (Tab. 1) jsme otestovali 33 druhů rostlin patřících do 23 čeledí na jejich schopnost inhibovat aktivitu xantin oxidázy. Vzorčky rostlin pocházely z komerčních zdrojů nebo z lokalit přirozeného výskytu a byly sbírány v období od března do června roku 2008 z okolí Nymburka a Prahy.

### 4.1 Chemikálie

Enzym xantin oxidáza mikrobiálního původu v podobě lyofilizovaného prášku s aktivitou 10 j/mg, metanol (p.a.), dichlormetan (p.a.) od firmy Lach-Ner s.r.o, CZ. Xantin byl od firmy Sigma-Aldrich, CZ. Dimetylsulfoxid (DMSO) (p.a. Duchefa, Haarlem, NE), hydroxid sodný (NaOH) (Lach-Ner, s.r.o, CZ), kyselina ortho-fosforečná (p.a. 85%, Sigma-Aldrich, CZ). Pro přípravu pufru použitý dihydrogenfosforečnan draselný a hydrogenfosforečnan didraselný byl od firmy Lach-Ner s.r.o, CZ. Voda byla upravena deionizací systémem Millipore.

Pro stanovení polyfenolů bylo použito zkoumadlo Folin-Ciocalteovo (Penta, CZ), uhličitán sodný (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (Lach-Ner, CZ), monohydrát kyseliny gallové (Koch-Light laboratories LTD, Anglie) a destilovaná voda.

### 4.2 Příprava rostlinných extraktů

Z komerčních zdrojů ve formě koření pocházely vzorky *C. annuum*, *C. carvi*, *R. officinalis*, *L. nobilis* (Thymos, s.r.o, Slovensko), *M. hortensis*, *C. sativum*, *P. dioica* od firmy Kotányi, Rakousko, *C. aromaticus*, *J. communi* od výrobce Vitana, Česká republika a *M. fragrans* od firmy Pěkný-Unimex s.r.o, Česká republika. Ve formě čaje byly použity *H. perforatum*, *Ch. recutita* od firmy Leros s.r.o, Česká republika. Vzorek *L. meyenii* byl

dovezen z Peru. *A. chinensis*, *A. graveolens* a *B. vulgaris* byly zakoupeny v maloobchodní síti. Zbývající materiál byl obstarán sběrem z lokalit přirozeného výskytu.

Rostlinný materiál byl lyofilizován po dobu 24hod. Po vysušení rozemlet na mlýnku Waring (Waring Inc, US) pro následnou extrakci.

### 4.3 Extrakce

Metanol-dichlormetanové extrakty byly získány extrakcí v Soxhletu, rozpouštědlem metanol/dichlormetan v poměru 50/50 po dobu 4 h (50/50 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH).

Etanol-vodné extrakty byly získány macerací ve vodném etanolu v poměru s vodou 80/20 (20% EtOH) a v poměru 20/80 (80% EtOH) po dobu 24 h. Přefiltrované maceráty byly odpařeny *in vacuo* pomocí rotační vakuové odparky Laboratora 4000 (Heidolph, DE) při teplotách 40°C pro 50/50 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH a 80% EtOH a při 60°C pro 20% EtOH extrakty. Odpařené extrakty byly naředěny pomocí DMSO na koncentraci 51,2 mg/mL a skladovány ve skleněných vialkách v mrazícím boxu při teplotě -26°C do doby měření.

### 4.4 Příprava reakčních činidel

50 mM fosfátový pufr byl připraven rozpuštěním dihydrogenfosforečnanu draselného (6,8 g/l) a hydrogenfosforečnanu didraselného (8,7 g/L) a jejich následným smícháním na výsledné pH 7,5.

Základní roztok xantin oxidázy byl připraven rozpuštěním v 50 mM fosfátovém pufru v poměru 1 mg/mL, rozdělen po 100 µL a skladován v mrazáku při teplotě -26°C před dalším rozpuštěním. Před každým měřením byl enzym rozmražen a naředěn 1,4 mL pufru, tak aby vznikl pracovní roztok s 1,5 jednotkami/mL. Po dobu měření byl enzym uchováván na ledu.

Substrát o koncentraci 0,1 mM byl připraven navážením 1,52 mg xantinu (MW=152,11) zakápnutým 1 M NaOH a naředěným přibližně 90 mL deionizované vody. Pomocí kyseliny fosforečné bylo upraveno pH na hodnotu 7,5. Roztok byl přelit do 100 mL volumetrické baňky a doplněn po rysku.

Před měření bylo 12,8 µL rozmraženého rostlinného extraktu smícháno s 987,2 µL pufru. A poté ředěno ještě jednou v množství 100 µL extraktu a 900 µL pufru tak, aby vznikla pracovní koncentrace extraktu 655 µg/mL.



## 4.5 Měření aktivity xantin oxidázy

Aktivita xantin oxidázy byla měřena spektrofotometricky na Spectronic UNICAM (Chromspec s.r.o, CZ) a zpracována v programu Vision verze 1,23. Měření probíhala při vlnové délce 295 nm po dobu 4 minut. Byla zaznamenávána reakční křivka v cyklech 20 sekund, při pokojové teplotě. Reakční směs v kyvetě vznikla smícháním následujících výše popsáných pracovních roztoků v množství 125  $\mu\text{L}$  rostliného extraktu, 190  $\mu\text{L}$  pufru, 165  $\mu\text{L}$  rozpuštěného xantinu a 20  $\mu\text{L}$  enzymu. Finální koncentrace v kyvetě byly 100  $\mu\text{g/mL}$  suchého extraktu, 33  $\mu\text{M}$  xantinu a 0,018 j/mL enzymu v 50 mM fosfátovém pufru. Jako slepý pokus bylo použito 125  $\mu\text{L}$  rostliného extraktu, 210  $\mu\text{L}$  pufru a 165  $\mu\text{L}$  rozpuštěného xantinu. o aktivitě

UV absorbance vzniklé kyseliny močové byla měřena v jednorázových kyvetách (Plastibrand, DE). Aktivita XO je vyjádřena v procentech inhibice xantin oxidázy vypočítaných podle vztahu:

$$\% \text{ inhibice} = [1 - (A_s/A_c)] * 100$$

kde  $A_s$  je hodnota absorbance testovaného vzorku a  $A_c$  je hodnota absorbance slepého pokusu.

## 4.6 Stanovení celkových polyfenolů

100  $\mu\text{L}$  rostlinného extraktu v DMSO bylo napipetováno do 50 mL odměrné baňky. Extrakt byl naředěn cca 5 mL destilované vody. Dále bylo přidáno 2,5 mL Folin-Ciocalteova činidla, 7,5 mL 20% vodného roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a doplněno po rysku destilovanou vodou. Směs byla promíchána a po 2 hodinách byla proměřena absorbance roztoku při 765 nm proti slepému pokusu. Slepý pokus tvořilo 100  $\mu\text{L}$  DMSO místo rostlinného extraktu jinak stejný postup.

Výsledky byly vyhodnoceny metodou kalibrační přímky a vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny gallové.

## 5 Výsledky a diskuse

### 5.1 Výsledná aktivita rostlinných extraktů

Z celkového počtu 102 extraktů jich 55 (53,9 %) bylo aktivních proti xantin oxidáze. Osm vzorků (14,5 %) z nich mělo aktivitu větší než 30 %. Sem patřily 20% EtOH extrakty z kmínu *Carum carvi* a krokusu *Crocus flavus*, 50/50 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH extrakty z macy *Lepidium meyenii*, hřebíčku *Caryophyllus aromaticus*, třezalky *Hypericum perforatum*, topolu *Populus nigra* a bezu *Sambucus nigra* a 80% EtOH extrakty z *Populus nigra*. Nejvyšší aktivitu měl CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH extrakt z topolu *Populus nigra* (54,8±0,8 %), který se u nás používá jako analgetikum při kloubním revmatismu. Celková průměrná inhibice všech vzorků byla 4,47 % při koncentraci 100 µg/mL.

O něco nižší aktivitu v rozmezí 15–30 % měli všechny extrakty z listů *Rosmarinus officinalis* a *Ribes nigrum*. Oba etanolové extrakty byly v tomto rozmezí aktivní u *Larix decidua* a *Caryophyllus aromaticus*. Z etanolových vzorků dále dosahovaly zmíněné aktivity 20% EtOH *Salix* sp., 80% EtOH bobulí *Juniperus communis*, 20% EtOH *Daucus carota*, 80% EtOH *Viola* sp. Z metanol-dichlormetanových vzorků sem lze zařadit *Coriandrum sativum*, bobule *Juniperus communis*, *Crocus flavus*, *Larix decidua* a *Salix* sp.

Mezi extrakty bez aktivity patřily 20% EtOH z bobulí jalovce *Juniperus communis*, 50/50 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH z kmínu *Carum carvi*, 80% EtOH *Helianthus tuberosus*, 20% EtOH *Chamomilla recutita*. A všechny extrakty z kopřivy *Utica dioica* podobně jak publikovali OWEN et JOHNS (1999).

## Tabulka č. 2

## Výsledky XO inhibice

Druh	Extrakt	Inhibice (%)	Obsah polyfenolů (mg/mL)
<i>Carum carvi</i>	20% EtOH	48,2±41,0	0,2605
	80% EtOH	4,2±4,4	0,3005
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	p	0,0235
<i>Apium graveolens</i>	20% EtOH	-	0,02
	80% EtOH	-	0,133
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	--	0,743
<i>Laurus nobilis</i>	20% EtOH	-	0,6415
	80% EtOH	-	0,5445
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	2,9±1,9	0,268
<i>Beta vulgaris</i>	20% EtOH	-	0,034
	80% EtOH	-	0,026
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	-	0,224
<i>Actinidia chinensis</i>	20% EtOH	p	0,017
	80% EtOH	-	0,027
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	-	0,039
<i>Daucus carota</i>	20% EtOH	15,6±7,9	0,011
	80% EtOH	-	0,015
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	-	0,0215
<i>Juniperus communis</i> bobule	20% EtOH	p	0,056
	80% EtOH	26,0±1,7	0,0545
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	25,2±2,9	0,0735
<i>Crocus flavus</i>	20% EtOH	32,3±15,1	0,1415
	80% EtOH	-	0,064
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	19,4±0,2	0,1075
<i>Lepidium meyenii</i>	20% EtOH	6,4±8,0	0,0675
	80% EtOH	9,6±0,7	0,079
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	35,0±1,6	0,252
<i>Caryophyllus aromaticus</i>	20% EtOH	17,2±6,6	1,1045
	80% EtOH	25,1±29,8	1,8225
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	45,9±1,7	2,27
<i>Hypericum perforatum</i>	20% EtOH	10,8±1,9	0,6195
	80% EtOH	13,7±4,9	0,4995
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	34,0±2,6	0,766
<i>Helianthus tuberosus</i>	20% EtOH	p	0,015
	80% EtOH	p	0,0245
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	-	0,029
<i>Urtica dioica</i>	20% EtOH	p	0,147
	80% EtOH	-	0,192
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	p	0,3585
<i>Chamomilla recutita</i>	20% EtOH	p	0,1355
	80% EtOH	-	0,2925

50/50 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH

-

0,4045

Tabulka č. 2 pokračování

Druh	Extrakt	Inhibice (%)	Obsah polyfenolů (mg/mL)
<i>Majorana hortensis</i>	20% EtOH	p	0,7985
	80% EtOH	p	0,7685
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	p	0,6115
<i>Populus nigra</i>	20% EtOH	10,0±2,5	0,728
	80% EtOH	49,8±4,3	0,7625
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	54,8±0,8	0,971
<i>Myristica fragrans</i>	20% EtOH	p	0,202
	80% EtOH	4,8±6,8	0,5125
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	p	0,328
<i>Sambucus nigra</i>	20% EtOH	p	0,48
	80% EtOH	17,4±5,4	0,724
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	33,5±14,0	0,546
<i>Juniperus communis</i>	20% EtOH	-	0,247
	80% EtOH	-	0,5115
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	9,3±1,9	0,3755
<i>Rosmarinus officinalis</i>	20% EtOH	23,0±1,6	1,0825
	80% EtOH	17,9±4,9	0,5425
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	20,2±4,0	0,525
<i>Coriandrum sativum</i>	20% EtOH	13,9±4,7	0,1445
	80% EtOH	4,4±3,5	0,046
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	19,5±0,5	0,0875
<i>Ribes nigrum</i>	20% EtOH	17,7±1,6	0,055
	80% EtOH	15,9±4,9	0,7225
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	22,9±2,6	0,054
<i>Larix decidua</i>	20% EtOH	5,2±4,7	0,6115
	80% EtOH	16,1±0,5	0,8805
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	18,2±13,0	0,3125
<i>Prunus domestica</i>	20% EtOH	9,1±4,9	0,0265
	80% EtOH	-	0,1265
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	1,0±9,9	0,027
<i>Thuja occidentalis</i>	20% EtOH	-	0,2685
	80% EtOH	11,7±9,1	0,3765
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	-	0,084
<i>Capsicum annuum</i>	20% EtOH	-	0,072
	80% EtOH	11,2±0,0	0,108
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	1,0±1,2	0,1715
<i>Pimenta dioica</i>	20% EtOH	-	0,9545
	80% EtOH	14,7±3,5	0,4525
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	5,9±5,7	0,734
<i>Symphytum officinale</i>	20% EtOH	-	0,0505
	80% EtOH	4,5±3,9	0,2765
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	4,5±8,6	0,036

<i>Fragaria vesca</i>	20% EtOH	1,0±9,7	0,404
	80% EtOH	12,1±2,6	0,524
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	9,4±2,3	0,585

Tabulka č. 2 pokračování

Druh	Extrakt	Inhibice (%)	Obsah polyfenolů (mg/mL)
<i>Salix sp.</i>	20% EtOH	23,8±10,0	0,6815
	80% EtOH	6,3±2,3	1,266
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	18,9±0,6	0,806
<i>Viola sp.</i>	20% EtOH	-	0,002
	80% EtOH	19,2±0,0	0,01
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	p	0,12
<i>Belis sp.</i>	20% EtOH	-	0,177
	80% EtOH	-	0,2835
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	-	0,1865
<i>Betula pendula</i>	20% EtOH	-	0,304
	80% EtOH	12,1±12,6	0,423
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	8,1±6,5	0,4095
<i>Primula sp.</i>	20% EtOH	3,0±0,0	0,5865
	80% EtOH	-	0,239
	50/50 CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH	-	0,229
Allopurinol	30 µg/mL	86,1±2,7	
	10 µg/mL	64,2±13,3	
	2,5 µg/mL	51,4±0,8	

p, stimuluje aktivitu enzymu z více než 10%; -, nesignifikantní, stimuluje do 10 %.

## 5.2 Způsob extrakce a vliv na aktivitu

Graf 1 zobrazuje vliv jednotlivých způsobů extrakce na inhibici/potenciaci XO.

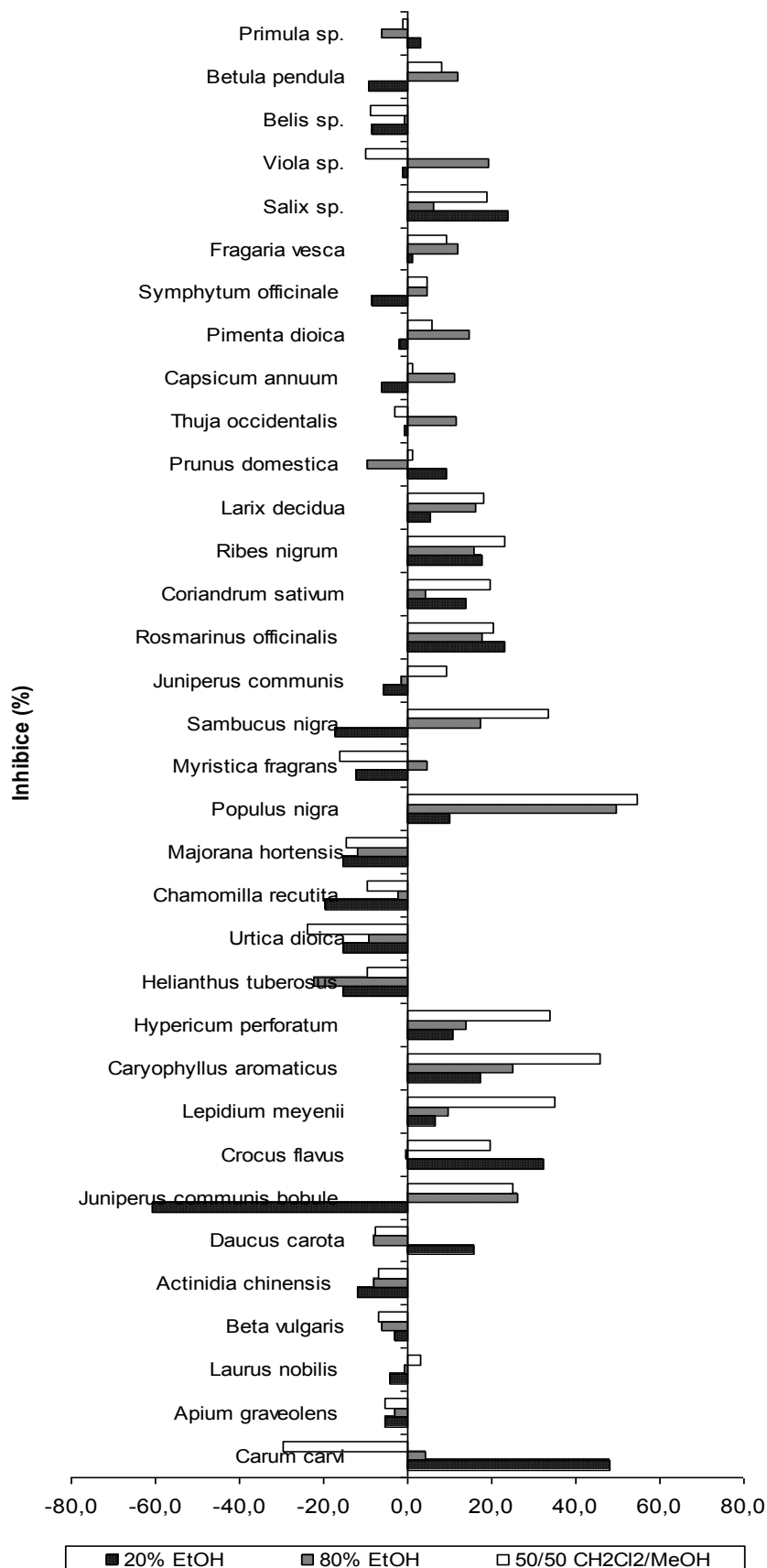
Při porovnání aktivity podle typů extraktů jsme zjistili, že nejaktivnější jsou ty získané pomocí  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ , následované 80% EtOH a nakonec 20% EtOH. I KONG et al. (2000) uvádí větší aktivitu metanolových macerátů než vodních. Ze skupiny  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  extraktů má nejvyšší aktivitu topolu *Populus nigra* ( $54,8 \pm 0,8$  %), stejně tak je nejaktivnější i ve skupině 80% EtOH ( $49,8 \pm 4,3$  %). Ze skupiny 20% EtOH je na prvním místě kmín *Carum carvi* s inhibicí  $48,2 \pm 41,0$  %.

Polarita rozpouštědla má vliv na extrahovatelnost aktivních látek. Při použití méně polárních rozpouštědel dochází k lepší extrahovatelnosti např. flavonoidů. 20% EtOH extrakty byly zařazeny z důvodů rozšířenosti v tradičních medicínských systémech světa, kdy je materiál obvykle extrahován slabou pálenkou. Extrakty byly tím více aktivní, čím nižší byla polarita rozpouštědla. Podobných výsledků dosáhl i OWEN et JOHNS (1999).

Některé z námi testovaných vzorků aktivitu XO potenciovaly a rychlost reakce byla v jejich případě vyšší. Stejný výsledek popisuje i DEW et al. (2005), který označuje kyselinu askorbovou a vitamin A za podporující činitele. Je tedy pravděpodobné, že vzorky s obsahem vitaminu A nebo askorbové kyseliny mají vyšší aktivitu než kontrolní vzorek.

Graf 1

Aktivita proti xantin oxidáze podle jednotlivých extraktů.



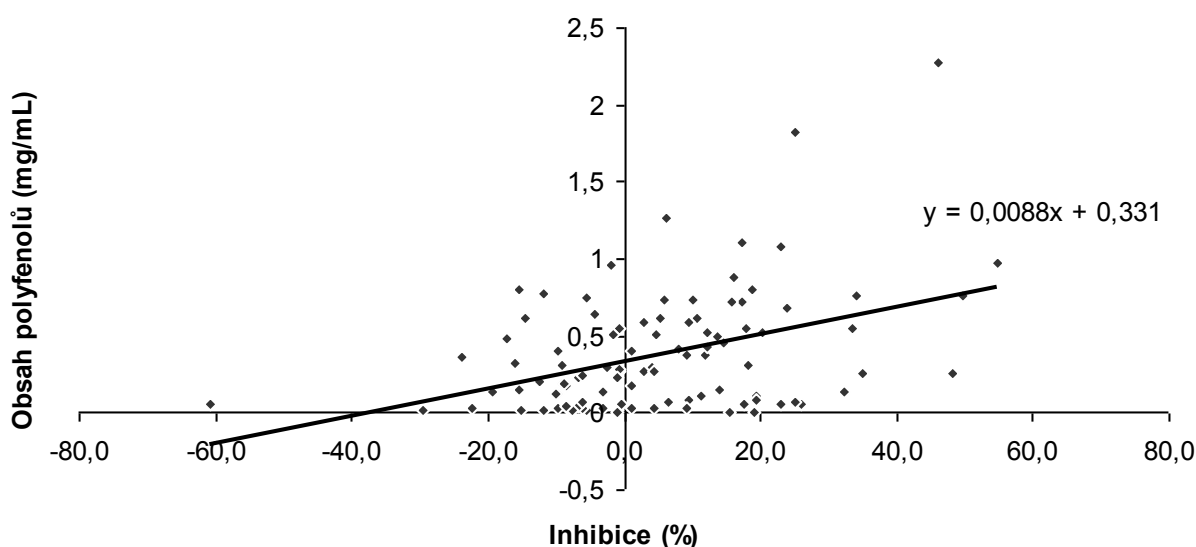
### 5.3 Korelace mezi obsahem celkových polyfenolů a aktivity

Vzájemný vztah mezi obsahem celkových polyfenolů a mírou inhibice znázorňuje graf 2.

Nejvíce polyfenolů obsahuje hřebíček *Caryophyllus aromaticus* (1,1045; 1,8225; 2,27 mg/mL), a současně má i vysokou aktivitu proti xantin oxidáze (45,9±1 %). Topol, *Populus nigra*, je znám vysokým obsahem polyfenolů 0,971 mg/mL a 0,7625 mg/mL a také se objevuje vysoká schopnost inhibovat XO.

Graf 2

Korelace mezi obsahem polyfenolů a aktivitou proti xantin oxidáze.



Korelační koeficient v našem měření dosáhl hodnoty 0,4068. OWEN et JOHNS (1999) uvádějí korelační koeficient aktivity rostlinných extraktů a obsahem polyfenolů  $r = 0,59$  s  $P < 0,001$ .

Mezi extrakty s vysokým obsahem polyfenolů a střední aktivitou proti XO patří 20% EtOH z *Rosmarinus officinalis* s množstvím polyfenolů 1,083 mg/mL. Střední inhibici u *R. officinalis* uvádí i DEW et al. (2005) s hodnotou  $IC_{50}$  20±1%. Dalšími extrakty jsou 50/50  $CH_2Cl_2/MeOH$  z *Hypericum perforatum* (0,766 mg/mL), 80% EtOH z bezu *Sambucus nigra* (0,724 mg/mL) a 80% EtOH z modřínu *Larix decidua* (0,881 mg/mL). Anthokyaniny



procyanidin B-2 (HATANO et al., 1990), procyanidin B-3, (+)-catechin (CHO et al., 1993) izolované z jehličí druhů *Larix* mají inhibiční vlastnosti proti xantin oxidáze (HIO et al., 1985).

Taniny a příbuzné polyfenoly, které se srážejí s proteiny a mukopolysacharidy, jsou hlavní složkou řady rostlinných léčiv. (LUCK et al., 1994). Na základě antioxidačních vlastností taninů jsou rostliny s jejich vysokým obsahem široce rozšířené v léčbě zánětlivých procesů a onemocnění ledvin (ZHU et al., 1997). Podle OWENA et JOHNSE (1999) inhibice XO u *Larix laricina* může být způsobena vysokým obsahem taninů z důvodů jejich nespecifické reakce s bílkovinným enzymem. To může vysvětlovat i inhibiční projevy *L. decidua* v našem měření. Pokud vyloučíme možnost, že za inhibici *L. laricina* jsou odpovědné taniny a jejich nespecifická vazba s enzymem, pak lze tuto reakci vysvětlit vlivem kumarinové kyseliny CHIANG et al., 1994).

Existují i extrakty, které i přes vysoké množství polyfenolů mají nízkou či žádnou aktivitu např. 80% EtOH z vrby *Salix* sp. 1,266, 20% EtOH a 80% EtOH z *Majorana hortensis* 0,7985 a 0,7685, 20% EtOH z nového koření *Pimenta dioica* 0,9545. Inhibiční schopnosti flavonoidů závisí na pozici substituentu (OH skupina) na uhlíkové kostře. Nejsilnější inhibiční vlastnosti mají podle HOORN et al. (2002) hydroxylové skupiny v pozici 5' a 7' na uhlíkové kostře flavonu. Slabší, ale přesto významný vliv mají i pozice 3' a 4'. Pokud jsou substituenty na všech 4 pozicích 5', 7', 3' a 4' projevuje se nejvyšší schopnost inhibovat XO. Tak je to např. v případě keamferolu, quercinu, apigeninu nebo luteolinu, který svou hodnotou IC<sub>50</sub> 0,75 μM předčí i allopurinol (IC<sub>50</sub> 6,2 μM).

Pokud rostliny obsahují vysoké množství flavonoidů, ale neprokazují aktivitu, je možné usuzovat na jiné umístění OH substituentů než jak uvádí HOORN et al. (2002).

Naopak do skupiny extraktů s nízkým množstvím polyfenolů, ale vysokou inhibiční schopností patří 20% EtOH z *Carum carvi* 0,2605, 20% EtOH z *Crocus flavus* 0,1415. Střední aktivitu má 50/50 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH *Lepidium meyenii* 0,252, 50/50 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH *Ribes nigrum* 0,054.

Objevují se i extrakty s minimálním obsahem polyfenolů, ale s inhibicí větší než 10%: 20% EtOH *Daucus carota* 0,011, 20% EtOH *Ribes nigrum* 0,055, 80% EtOH *Viola* sp. 0,01.

Do skupiny bez inhibice s velice malým obsahem polyfenolů spadá 20% EtOH *Helianthus tuberosus* 0,015, 80% EtOH z mrkve *Daucus carota* 0,015, 20% EtOH z kiwi *Actinidia chinensis* 0,017, 20% EtOH *Apium graveolens* 0,02, 80% EtOH *Beta vulgaris*

0,026. Neaktivní se jeví i *Prunus domestica*. Tuto doměnkou podporuje i KONG et al. (2000), který neobjevil aktivitu i dvou dalších druhů *Prunus armeniaca* L. a *Prunus persica* (L.) Batsch.

Výrazně zbarvené ovoce obsahuje velké množství fenolických složek především antokyaninů, které jsou zodpovědné za temně rudou nebo modrou barvu. JACOB et al. (2003) sem řadí třešně, borůvky, jahody, brusinky a další. Na rozdíl od džusu z třešní, který snižoval hladinu urátu v séru z původních  $214 \pm 13 \mu\text{M/L}$  na  $183 \pm 15 \mu\text{M/L}$  za pět hodin po požití, se kiwi jeví neaktivní. DEW et al. (2005) uvádí silnou inhibici u brusinkové šťávy. Jahody mírně snižují hladinu urátu v séru *in vivo* (JACOB et al., 2003). Což podporuje i naše inhibiční aktivita u jahodníku *F. vesca*, která se pohybuje okolo 10 %. Podobně i tvrzení, že botanik Karl von Linné si léčil dnové záchvaty konzumací většího množství lesních jahod, je založeno na reálném podkladu přítomnosti těchto biologicky aktivních látek v jahodách (HAVLÍK et RADA, 2007), ačkoliv JACOB et al. (2003) uvádí jen mírné snížení hladiny urátu.

Kromě flavonoidů DEW et al. (2005) označují theaflaviny za inhibitory XO. Tato vlastnost je spojována s přítomností gallových zbytků. Tuto doměnkou podporují i LIN et al. (2000), kteří tvrdí že mono- a digallátové sloučeniny theaflavinů jsou aktivnější než samotné theaflaviny. Podle DEW et al. (2005) má černý čaj, roibos, malinové listy a mátový čaj díky theaflavinům vysokou inhibiční aktivitu.

Některé prameny uvádějí jiný mechanismus působení čaje, kávy nebo konzumace čokolády na výskyt dny. Kofein, theobromin a theofylin, stimulační alkaloidy obsažené v těchto pochutinách, jsou strukturně metylxantiny a tedy puriny, jejichž metabolismus je mírně odlišný od metabolismu adeninu a guaninu a konečným produktem není kyselina močová, ale její methoxy-deriváty. Jak bylo experimentálně ověřeno na myších a *in vitro*, tyto látky mohou v organismu působit jako inhibitory xantin oxidázy a jejich zvýšený příjem může dokonce vést ke snižování hladiny sérové kyseliny močové (ETENG et al., 2000). Dalším mechanismem, který by mohl vést ke snižování hladiny kyseliny močové, je diuretický efekt těchto nápojů, případně vliv na snižování hladiny inzulínu, který renální exkreci urátu omezuje (HAVLÍK et RADA, 2007). Podle studie provedené CHOI et al. (2007) za efekt snižování hladiny urátu nemusí být zodpovědný právě kofein. Například kyselina chlorogenová, která silným antioxidantem, je přítomna ve významném množství a může zasahovat do metabolismus purinů.

KOGUCHI et al. (2002) prokázali, že dietární vláknina má vliv na vstřebávání purinů ve střevě. Pokusy na myších, kterým byla podávána RNA současně s několika typy vlákniny, ukázaly, že zejména chitin, chitosan a xantanová guma snižovaly procento vstřebaných purinů a zvyšovaly jejich fekální exkreci. Tyto polysacharidy vážou ve střevě purinové látky a omezují jejich vstřebávání.

Na základě řady studií rozdělují BORGES et al (2002) inhibitory xantin oxidázy na tři velké skupiny. První jsou dusíkaté heterocykly kam zařazuje deriváty purinu, pyrimidinu, benzotiazinonu, imidazolu a triazolu. Druhou skupinu tvoří kyslíkové heterocykly představované flavonoidy a jejich analogy, antokyanidiny, antokyaniny a jejich analogy, kumariny, xantony, a ellagovou kyselinou. Třetí skupinou jsou ostatní inhibitory kam náleží fenolické kyseliny a jejich analogy, antrachinony s analogy, benzofenony, hlavní analogy steroidů a stilbenů, propranolol a kyselina listová.

Účinek XO inhibitorů v případě použití *in vivo* se může lišit. Metabolity mají nejspíš rozdílnou aktivitu od původní složky. Určení aktivity *in vivo* podle dat získaných *in vitro* je velice obtížné. Např. *Ginkgo biloba* zvyšovala aktivitu XO v mozku u myši (ILHAN et al., 2004), ale DEW et al. (2005) objevili, že nemá na aktivitu XO vliv.

Hodnoty  $IC_{50}$  pro allopurinol byly v rozmezí 0,92 až 24,2  $\mu\text{M}$ . Drobné variace jsou výsledkem použité koncentrace substrátu, která ovlivňuje inhibici. Hodnota  $K_i$  by ale měla zůstat shodná i mezi studii. NGUYEN et al. (2006) udává její hodnotu 1,80  $\mu\text{M}$ .

Při našem měření byly použity tři různé koncentrace: 30  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$  a 2,5  $\mu\text{g/mL}$  a následná aktivita proti xantin oxidáze dosahovala 86,1 $\pm$ 2,7; 64,2 $\pm$ 13,3 a 51,4 $\pm$ 0,8 %, tedy  $IC_{50} < 2,5 \mu\text{g/mL}$  ( $IC_{50} < 18,4 \mu\text{M}$ ) Způsob inhibice vysvětluje MASSEY et al. (1974), kteří tvrdí, že je allopurinol substrátem pro enzym, který se silně váže na aktivní místo. Allopurinol je konkurenční XO inhibitor, reakcí s enzymem vzniká oxypurinol. Vazba na oxypurinol je reverzibilní. Přestože se inhibitor váže velmi pevně na enzym je inhibice závislá na čase, a proto trvá nějakou dobu než je enzym plně inhibován.

## 6 Závěr

Dna je jedna z nejrozšířenějších metabolických poruch u lidí. Je následkem hyperurikémie, která vede k ukládání krystalů kyseliny močové v kloubech a ledvinách, následně vyvolává dnovou artritidu. Hyperurikémie zároveň zvyšuje riziko vzniku hypertenze, rakoviny, cukrovky a obesity. Hladina kyseliny močové je klíčový faktor pro prevenci vzniku dny a ostatních nemocí.

Mnoho autorů projevuje zvýšený zájem o alopurinol, inhibitor XO. Bohužel 20% pacientů není schopno léčbu alopurinolem tolerovat a projevují se u nich negativní účinky v podobě zažívacích obtíží, narušení funkce kostní dřeně a hypersenzitivního syndromu. Proto je důležité hledat nové antihyperurikemické léky.

Existují však i určitá dietární doporučení, která radí konzumovat potravu bohatou na přírodní inhibitory xantin oxidázy a tím snížit nutnost příjmu allopurinolu. CHOI et al. (2004) doporučují snížit příjem potravy živočišného původu bohaté na puriny (mořské plody, maso), avšak toto opatření se netýká na purin bohaté zeleniny. Proteiny získané ze zeleniny mohou působit jako prevence před rozvojem dny. Stejně jako konzumace nízkotučných mléčných výrobků. Podobně i DEW et al. (2005) uvádějí některé potraviny, které snižují aktivitu xantin oxidázy. Jedná se především o šťávy z brusinek a modrého hroznového vína a černý čaj.

Objev potenciálních léčiv, která by byla schopná zasahovat do metabolismu purinů patří k novým přístupům v ovlivnění zánětlivých, bolestivých, revmatických a dalších chorob. Projevuje se zvýšený zájem o přírodní produkty vycházející z tradičního lidového léčitelství. Jako vhodné byliny pro takovou léčbu se z našeho šetření *in vitro* jeví topol, *Populus nigra*, kmín, *Carum carvi*, bez černý, *Sambucus nigra*, hřebíček, *Caryophyllus aromaticus* nebo šafrán *Crocus flavus*.

Fenoly mohou být v případě *in vivo* metabolizovány na produkty, které nemusí mít stejné vlastnosti jako fenoly výchozí. Naopak za inhibitor může sloužit pouze metabolit. Avšak širokému využití v humánní medicíně bude předcházet ještě mnoho prověřování a testů.

## 7 Použitá literatura

**Ansari, S. H., Ali, M.** Analgesic and anti-inflammatory activity of tetracyclic triterpenoids isolated from *Pistacia integerrima* galls. *Fitoterapia*. 1996. 67, 103-105.

**Blau, L. W.** Cherry diet control for gout and arthritis. *Texas Reports of Biology and Medicine*. 1950. 8, 309-311.

**Bodlák, J., Severa, F., Vančura, B.** Příroda léčí. Grant. 1995. ISBN 80-7296-012-1.

**Borges, F., Fernandes, E., Roleira, F.** Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. *Current Medicinal Chemistry*. 2002. 9, 195-217.

**Bremnessová, L.** Bylinář. Fortuna Print. 2003. ISBN 80-7321-074-6.

**Brulé, D., Sarwar, G., Savoie, L., Campbell, J., Van Zeggelaar, M.** Differences in uricogenic effects of dietary purine bases, nucleosides and nucleotides in rats. *Journal of Nutrition*. 1988. 118, 780-786.

**Carve, J. D., Walker, W. A.** Transmission of primary nocturnal enuresis and attention deficit hyperactivity disorder. *Nutritional biochemistry*. 1995. 6, 58-72.

**Clifford, A. J., Riumallo, J. A., Young, V. R., Scrimshaw, N. S.** Effect of oral purines on serum and urinary uric acid of normal, hyperuricemic and gouty humans. *Journal of Nutrition*. 1976. 106, 428-434.

**Costantino, L., Albasini, A., Rastelli, G., Benvenuti, S.** Activity of polyphenolic crude extracts as scavengers of superoxide radicals and inhibitors of xanthine oxidase. *Planta Medica*. 1992. 58, 342-344.

**Do, T. L.** Vietnames Medicinal Plants. Hanoi. Medicine Publisher. 2001. 604.

**Dew, T. P., Andrea, J. D., Morgan, M. R. A.** Xanthine Oxidase Activity in Vitro: Effects of Food Extracts and Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005. 53, 6510-6515.

**Doehner, W. Schoene, N., Rauchhaus, M., Leyva-leon, F., Pavitt, D. V., Reaveley, D. A., Schuler, G., Coats, A. J. S., Anker, S. D., Hambrecht, R.** Effects of Xanthine Oxidase Inhibition With Allopurinol on Endothelial Function and Peripheral Blood Flow in Hyperuricemic Patients With Chronic Heart Failure. *American Heart Association*. 2002.

**Duke, J. A.** Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases. [online] cit. 13. 1. 2008. 2008. Dostupné z <http://www.ars-grin.gov/duke/>.

**Duke, J. A.** Handbook of Northeastern Indian Medicinal plants. *Brittonia*. 1986. 508.

**Enomoto, A., Kimura, H., Cahiroungdua, A., Shigeta, Y., Jutabha, P., Cha, S. H., Hosoyamada, M., Takeda, M., Sekine, T., Igarashi, T., Matsuo, H., Kikuchi, Y., Oda, T., Ichida, K., Hosoya, T., Shimokata, K., Niwa, T., Kanai, Y., Endou, H.** Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature*. 2002. 23, 447-52.

**Eteng, M. U., Eyang, E. U., Akpanyung, E. O., Agiang, M. A., Aremu, C. Y.** Comparative effects of theobromine and cocoa extract on lipid profile in rats. *Nutrition Research*. 2000. 20, 1513-1517.

**Filha, Z. S. F., Vitolo, I. F., Fietto, L. G., Lombardi, J. A., Saúde-Guimarães, D. A.** Xanthine oxidase inhibitory activity of *Lychnophora* species from Brazil ("Arnica"). *Journal of Ethnopharmacology*. 2006. 107, 79-82.

**Friedman, T. B., Polanko, G. E., Appold, J. C.** On the loss of uricolytic activity during primate evolution: I. Silencing of urate oxidase in a hominoid ancestor. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 1985. 81, 653.

**Godoi, A. F., Vilegas, W., Godoi, R. H., Van Vaeck, L., Van Grieten, R.** Application of low pressure gas chromatography-ion trap mass spectrometry to the analysis of the essential oil of *Turnera diffusa* (Ward) Urb. *Journal of Chromatography A*. 2004. 1027, 127–130.

**Guthikonda, S., Sinkey, Ch., Barenz, T., Haynes, W. G.** Xanthine oxidase inhibition reverses endothelial dysfunction in heavy smokers. *American Heart Association*. 2003. 107, 416-421.

**Hammer, B., Link, A., Wagner, A., Bohm, M.** Hypersensitivity syndrome during therapy with allopurinol in asymptomatic hyperuricemia with a fatal outcome. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*. 2001. 126, 1331-1334.

**Hao, L., Meng, J. C., Cheng, Ch. H. K., Higa, T., Tanaka, J., Tan, R. X.** New Guaianolides and Xanthine Oxidase Inhibitory Flavonols from *Ajania fruticulosa*. *Journal of Natural Product*. 1999. 62, 1053-1055.

**Havlík, J., Rada, V.** Purinové látky v potravinách. *Potravinářská review*. 2007. 4, 20-24.

**Hoorn, D. E. C. V., Nijveldt, R. J., Leeuwen, P. A. M. V., Hofman, Z., M'Rabet, L., De Bont, D. B. A., Norren K.** Accurate prediction of xanthine oxidase inhibition based on the structure of flavonoids. *European Journal of Pharmacology*. 2002. 451, 111-118.

**Chiang, H. C., Juilo, Y., Lu, F. J.** Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Alsophila spinulosa* (Hook) Tryon. *Journal of Enzyme Inhibition*. 1994. 81, 61-71.

**Choi, H. K., Atkinson, K., Karlson, E. W., Willett, W., Curhan, G.** Purine-Rich Foods, Dairy and Protein Intake and the Risk of Gout in Men. *The New England Journal of Medicine*. 2004. 350, 1093-1103.

**Choi, H. K., Willett, W., Curhan, G.** Coffee Consumption and Risk of Incident Gout in Men. *Arthritis & Rheumatism*. 2007. 56, 2049–2055.

**Iio, M., Moriyama, A., Matsumoto, Y., Takaki, N., Fukumoto, M.** Inhibition of Xanthine oxidase by flavonoids by folate compounds and amethopterin. *Journal of Biological Chemistry*. 1985. 259, 12-15.

**Ilhan, A., Gurel, A., Armutcu, F., Kamisli, S., Iraz, M., Akyol, O., Ozen, S.** *Ginkgo biloba* prevents mobile phone-induced stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta*. 2004. 340, 153-162.

**Jacob, R. A., Spinozzi, G. M., Simon, V. A., Kelley, D. S., Prior, R. L., Hess-Pierce, B., Kader, A. A.** Consumption of Cherries Lowers Plasma Urate in Healthy Women. *The Journal of Nutrition*. 2003. 133, 1826-1829.

**Janča, J., Zentrich, J. A.** *Herbář léčivých rostlin 1*. Eminent. 1994. 288str. ISBN 80-85876-04-3.

**Janča, J., Zentrich, J. A.** *Herbář léčivých rostlin 2*. Eminent. 1995b. 288str. ISBN 80-85876-50-3.

**Janča, J., Zentrich, J. A.** *Herbář léčivých rostlin 3*. Eminent. 1995a. 288str. 80-85876-14-0.

**Janča, J., Zentrich, J. A.** *Herbář léčivých rostlin 4*. Eminent. 1996. 288str. ISBN 80-85876-20-5.

**Janča, J., Zentrich, J. A.** *Herbář léčivých rostlin 5*. Eminent. 1997. 216str. ISBN 80-85876-32-9.

**Janča, J., Zentrich, J. A.** *Herbář léčivých rostlin 6*. Eminent. 1998. 279str. ISBN 80-85876-45-0.

**Jiao, R. H., Ge, H. M., Shi, D. H., Tan, R. X.** An Apigenin-Derived Xanthine Oxidase Inhibitor from *Palhinhaea cernua*. *Journal of Natural Products*. 2006. 69, 1089-1091.

**Kang, D. H., Park, S. K., Lee, I. K., Johnson, R. J.** Uric acid-induced C-reactive protein expression: implication on cell proliferation and nitric oxide production of human vascular cells. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2005. 16, 3553-3562.



**Keith, M. P., Gilliland, W. R.** Updates in the Management of Gout. *The American Journal of Medicine*. 2007. 120, 221-224

**Koguchi, T., Nakajima, H., Wada, M., Yamamoto, Y., Innami, S., Maekawa, A., Tadokoro, T.** Dietary Fiber Suppresses Elevations of Uric acid and Allantoin in Serum and Urine Induced by Dietary RNA and Increases Its Wxcretion to Feces in Rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 2002. 48, 184-193.

**Kong, L. D., Cai, Y., Huang, W. W., Cheng, Ch. H. K., Tan, R. X.** Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000. 199-207.

**Kong, L. D., Yang, Ch., Ge, F., Wang, H. D., Guo, Y. S. A.** Chinese herbal medicine Ermiao wan reduces serum uric acid level and inhibits liver xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004. 93, 325-330.

**Kramer, H. M., Curhan, G.** The association between gout and nephrolithiasis: the National Health and Nutrition Examination Survey III, 1988-1994. *American Journal of Kidney Disease*. 2002. 40, 37-42.

**Křížová, J.** Dna. 2004. [online] cit. 15. 1. 2008. *Ordinace.cz*. Dostupné z <http://www.ordinace.cz/clanek/dna/>

**Lam, S. K., Idris, A., Bakar, Z. A. A., Ismail, R.** *Gynura procumbens* and blood pressure in the rat. *Asia Pacific Journal of Pharmacology*. 1998. 13, 14–15.

**Lin, J. K., Chen, P. C., Ho, C. T., Lin-Shiau, S. Y.** Inhibition of xanthine oxidase and suppression of intracellular reactive oxygen species in HL-60 cells by theaflavin-3,3'-digallate, (-)-epigallocatechin-3-gallate, and propyl gallate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000. 48, 2736-2743.

**Liu, J., Liang, J. Y., Xie, T.** Development of iridoids in recent years. *Strait Pharmaceutical Journal*. 2004. 16, 14-8.

**Luck, G., Liao, H., Murray, N. J., Grimmer, H. R., Warminski, E. E., Williamson, M. P. Liley, T. H., Haslam, E.** Polyphenols, astringency and proline-rich proteins. *Phytochemistry*. 1994. 37, 357-371.

**Macy, R. L., Naumann, H. D., Bailey, M. E.** Water-soluble flavor and odor precursors of meat. 3 Changes in nucleotides, total nucleosides and bases of beef, pork, and lamb during heating. *Journal of Food Science*. 1970. 35, 78-80.

**Marangella, M.** Uric acid elimination in the urine: pathophysiological implications. *Contributions to Nephrology*. 2005. 147, 32-48.

**Margolin, Y., Behrman, H. R.** Xanthine oxidase and dehydrogenase activities in rat ovarian tissues. *American Journal of Physiology*. 1992. 262, 173-178.

**Massey, V., Komai, H., Palmer, G., Elion, G. B.** On the mechanism of inactivation of xanthine oxidase by allopurinol and other pyrazolo[3,4-d]pyrimidines. *Journal of Biological Chemistry*. 1974. 245, 2837-2844.

**Masuoka, N., Isobe, T., Kubo, I.** Antioxidants from *Rabdosia japonica*. *Phytotherapy research*. 2006. 20, 206-213.

**Moerman, D. E.** Medicinal plants of Native America. *Technical Reports*. 1986. 19.

**Murugaiyah, V., Chan, K. L.** Antihyperuricemic Lignans from the leaves of *Phyllanthus niruri*. *Planta Medica*. 2006. 72, 1262-1267.

**Middleton, J. E.** Effects of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1998. 439, 175.

**Nagao, A., Seki, A., Kobayashi, H.** Inhibition of Xanthine Oxidase by Flavonoids. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 1999. 63, 1787-1790.

**Nuki, G.** Gout. *Elsevier*. 2006. 34, 417-423.

**Nguyen, M. T. T., Awale, S., Tezuka, Y., Ueda, J., Tran, G. L., Kadota, S.** Xanthine Oxidase Inhibitors from the Flowers of *Chrysanthemum sinense*. *Planta Medica*. 2006. 72, 46-51.

**Owen, P. L., Johns, T.** Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*. 1999. 64, 149-160.

**Perry, L. M., Metzger, J.** Medicinal Plants of East and Southeast Asia: Attributed Properties and Uses. *Economic Botany*. 1980. 94.

**Ramallo, I. A., Zacchino, S. A., Furlan, L. E.** A Rapid TLC Autographic Method for the Detection of Xanthine Oxidase Inhibitors and Superoxide Scavengers. *Phytochemical Analysis*. 2006. 17, 15-19.

**Rosidah, Yam, M. F., Sadikun, A., Asmawi, M. Z.** Antioxidant Potential of *Gynura procumbens*. *Pharmaceutical Biology*. 2008. 9, 616-625.

**Salazar, R., Pozos, M. E., Cordero, P., Perez, J., Salinas, C., Waksman, N.** Determination of the Antioxidant Activity of Plants from Northeast Mexico. *Pharmaceutical Biology*. 2008. 46, 166–170.

**Saruwatari, J., Nakagawa, K., Shindo, J., Nachi, S., Echizen, H., Ishizaki, T.** The in-vivo effects of sho-saiko-to, a traditional Chinese herbal medicine, on two cytochrome P450 enzymes (1A2 and 3A) and xanthine oxidase in man. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2003. 5, 1553-1559.

**Sarwar, G., Brulé, D.** Assessment of the uricogenic potential of processed foods based on the nature and quantity of dietary purines. *Progress in Food and Nutrition Science*. 1991. 15, 159-181.

**Šebesta, I.** Dědičné poruchy metabolismu purinů a pyrimidinů. Avicenum, Praha. 1991. 343str.

**Šíroky, J.** Dna-nemoc králů. *Medicina*. 2005.

**Tamta, H.; Thilagavathi, R.; Chakraborti, A. K.; Mukhopadhyay, A. K. J.** 6-(N-benzoylamino) purine as a novel and potent inhibitor of xanthine oxidase: inhibition mechanism and molecular modeling studies. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2005. 20, 317.

**Terkeltaub, R. M. D.** Gout in 2006. *Bulletin of the 82 NYU Hospital for Joint Diseases*. 64, 82-86.

**Umamaheswari, M., Asokkumar, K., Somasundaram, A., Sivashanmugam, T., Subhadradevi, V., Ravi, T. K.** Xanthine oxidase inhibitory activity of some Indian medical plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007. 109, 547-551.

**Uyama, H.** Artificial Polymeric Flavonoids: Synthesis and Applications. *Macromolecular bioscience*. 2007. 7, 410-422.

**Wang, X., Wang, Q., Xu, G J., and Xu, L. S.** Advances in the research of constituents and pharmacology of *Populus L.* *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa*. 1999. 11, 65-74.

**Wegener, T., Fintelmann, V.** Pharmacological properties and therapeutic profile of artichoke (*Cynara scolymus L.*) *Wien Medizinische Wochenschrift*. 1999. 149, 241-247.

**Zhu, M., Phillipson, J. D., Greengrass, P. M., Bowery, N. E., Cai, Y.** Plant polyphenols: biologically active compounds or non-selective binders to protein? *Phytochemistry*. 1997. 44, 441-447.

**Zhu, J. X., Wang, Y., Kong, L. D., Yang, Ch., Zhang, X.** Effects of *Biota orientalis* extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004. 93, 133-140.

## Seznam zkratek

NSAID	nesteroidní protizánětlivé léky
XO	xantin oxidáza
TCM	tradiční čínská medicína
HPLC	High Performance Liquid Chromatography, vysoce účinná kapalná chromatografie
DMSO	dimetylsulfoxid
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	dichlormetan
MeOH	metanol
EtOH	etanol
NaOH	hydroxid sodný
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	uhličitan sodný

## Přílohy

Příloha č. 1 Seznam druhů a čeledí rostlin České republiky podávaných vnitřně k léčbě dny a souvisejících onemocnění (revmatismus apod.).

Druhové jméno	Čeleď	Využívaná část rostliny	Indikace	Zdroj
<i>Actinidia chinensis</i> Planch.	Actinidiaceae	plod	posílení org., tlumí bolesti a otoky kloubů, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Aegopodium podagraria</i>	Apiaceae	oddenek, list	zvyšuje vylučování solí kys. močové a chloridů (antirevmatikum, dna, diuretikum)	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Ajuga reptans</i> L.	Lamiaceae	kvetoucí nať	snižuje krevní tlak, mírně protirevmatický	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertner	Betulaceae	list, kůra	průjmy, kloktadlo, střevní záněty, antirevmatikum, baktericidní účinky	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Alpinia officinarum</i> Hance.	Zingiberaceae	kořen, oddenek	angina pectoris, antirevmatikum, zlepšuje látkovou výměnu	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Alsinula media</i> L.	Stellariaceae	kvetoucí nať	diuretikum, na kožní choroby, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Apium graveolens</i> L.	Apiaceae	kořen, list	antirevmatikum, proti močovým kaménkům, choroby ledvin, špatné trávení	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Archangelica officinalis</i> Hoffm.	Apiaceae	kořen, méně plod	antirevmatikum, zpevňuje cévní stěny, tlumí menstruační bolesti, stimuluje činnost srdce	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Armeniaca vulgaris</i> LAM.	Rosaceae	zralý plod, méně květ, list	vliv na činnost jater, antirevmatikum, protiprůjmový účinek	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Armoracia rusticana</i> Gaertner	Brassicaceae	kořen	odhlehluje průdušky, normalizuje střevní mikroflóru, tlumí revmatické bolesti	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Aronia melanocarpa</i> Elliot.	Rosaceae	plod	poruchy činnosti štít. žlázy, kardiologie, revmatologie,	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Avena sativa</i> L.	Poaceae	plod, sláma	při fyzickém i psychickém vyčerpání, antirevmatikum, krevní oběh, dietetikum	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Ballota nigra</i> L.	Lamiaceae	list, kvetoucí nať	kinetózy, dna, kloubní obtíže	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Barosma betulina</i> Bart. Et Wend.	Rutaceae	list	Urologické antiseptikum, antirevmatikum, hojení ran	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Belamcanda chinensis</i> L.	Iridaceae	oddenek, list	endokrinní poruchy, při nemocech ledvin a močových cest, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1998

Příloha č 1  
pokračování

<b>Druhové jméno</b>	<b>Čeleď</b>	<b>Využívaná část rostliny</b>	<b>Indikace</b>	<b>Zdroj</b>
<i>Beta vulgaris</i> L.	Chenopodiaceae	kořen	na krevní choroby, menstruační potíže protirevmatikum, detoxikant, protisklerotikum, zlepšuje mozkovou činnost	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Betula pendula</i> Rothm.	Betulaceae	list	močopudná, revmatologie, léčí zánět kostí, stimuluje funkci jater a sleziny	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Bidens tripartita</i> L.	Asteraceae	kvetoucí nať	podpora látkové výměny, antirevmatikum, antialergikum	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Borago officinalis</i> L.	Boraginaceae	kvetoucí nať	ochrana sliznic, kloktadlo, na hojení ran, revmatologie, antidepresivum	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Calluna vulgaris</i> (L.) Hill.	Ericaceae	nať, květ	urologie, otoky, protiprůjmový, antirevmatikum, dna, prohlubuje spánek, gynekologie	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Cannabis sativa</i> L.	Cannabaceae	plod, nať	při bronchitidě, zelený zákal, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Capsicum annum</i> L.	Solanaceae	plod	zvyšuje tvorbu slin, periferní cirkulace krve, léčba svalových ztuhnutí, revmatických bolestí	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Caryophyllus aromaticus</i> L.	Myrtaceae	květní poupě	desinfekce, kloktadlo, protirevmatikum, tlumí bolestivost zubního nervu	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Cerasus avium</i> (L.) Moench.	Rosaceae	plod, zřídka stopky, květ, list	Antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Cichorium intybus</i> L.	Cichoriaceae	kořřen, nať	obklad na bolavé klouby, růst vlasů, výplach očí, podpora látkové výměny	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	Asteraceae	květ, nať	cytostatikum, léčba nádorů, proti revmatismu a artróze	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Cnicus benedictus</i> L.	Asteraceae	nať	desinfekce, antiseptikum, zlepšuje vylučování kys. močové, močopudná, zlepšuje trávení	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Cochlearia officinalis</i> L.	Brassicaceae	nať	na záněty dásní, antirevmatikum, tlumí záněty v plicích	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronq.	Asteraceae	kvetoucí nať	močopudný, antirevmatikum, proti dně, bronchitidě	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Coriandrum sativum</i> L.	Apiaceae	plod	funkce slinivky, antirevmatikum, povzbuzuje trávení, ošetření vředů	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Crocus sativus</i> L.	Iridaceae	blizny, čnělky	močové a zažívací potíže, sedativum, hypnotikum	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Cucumis sativus</i> L.	Cucurbitaceae	nezralé plody, semena, nať	antirevmatikum, čistí játra, žlučník, krev	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	Rosaceae	plod, semena	antirevmatikum, ochrana před zánětem	JANČA et ZENTRICH, 1995b

Příloha č. 1  
pokračování

<b>Druhové jméno</b>	<b>Čeleď</b>	<b>Využívaná část rostliny</b>	<b>Indikace</b>	<b>Zdroj</b>
<i>Cynoglossum officinale</i> L.	Boraginaceae	nať brzy po rozkvětu	na bolesti kloubů při revmatismu	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Daucus carota</i> L.	Apiaceae	kořen, semeno, nať	odolnost org., zlepšuje zrak, na revmatické bolesti kloubů	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Dipsacus sylvestris</i>	Dipsacaceae	nať, kořen	antirevmatikum, močopudná, na rozpraskanou kůži, ekzémy	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Echium vulgare</i> L.	Boraginaceae	kvetoucí nať	antirevmatikum, při křečových žilách,	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Equisetum arvense</i> L.	Equisetaceae	nať	antisklerotikum, léčba plicních chorob, urologické léčivo, antirevmatikum, na žaludeční obtíže	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Eupatorium cannabinum</i> L.	Asteraceae	kvetoucí nať bez tuhých lodých, list	čistí krev, antirevmatikum, imunostimulant, hojení ran, rozpadání močových kamének	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim.	Rosaceae	květ	antirevmatikum, tlumí průjmy, krvácení, bolesti hlavy	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Fragaria vesca</i> L.	Rosaceae	list, jahody	močopudná, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Fraxinus excelsior</i> L.	Olivaceae	list	antirevmatikum, dna, projímadlo, omývání nehojících se ran	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Galium verum</i> L.	Rubiaceae	kvetoucí nať	urologie, snižuje chuť k jídlu, antirevmatikum, na kožní záněty	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Fabaceae	oddenek	podpora vykašlávání, bakteriostatikum, protizánětlivý účinek, antirevmatikum, gynekologikum, podpora trávení	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Helianthus tuberosus</i> L.	Asteraceae	hlíza, méně list, nať	dietní potravina, antirevmatikum, mírní žlučové koliky, odvodňovací účinek	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Herniaria glabra</i> L.	Illecebraceae	nať	vyučování chloridů, močoviny, kys. močové	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Hippophaë rhamnoides</i> L.	Eleagnaceae	plod, olej, listy, větve	regenerace popálenin, tlumí bolesti, hojí rány, protisklerotikum, léčí plicní, kloubní, jaterní potíže, při revmatismu odbourává škodlivé metabolity	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	Saururaceae	nať	detoxikant, zvyšuje diurezu	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Hypericum perforatum</i> L.	Hypericaceae	kvetoucí nať	protizánětlivé účinky	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Chamomilla recutita</i> Rauschert	Asteraceae	květní úbor	spasmolitikum, proti bolesti, antialergikum	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Juniperus communis</i> L.	Cupressaceae	plod, dřevo	antirevmatikum, na bolesti žaludku	JANČA et ZENTRICH, 1995b



Příloha č. 1  
pokračování

<b>Druhové jméno</b>	<b>Čeleď</b>	<b>Využívaná část rostliny</b>	<b>Indikace</b>	<b>Zdroj</b>
<i>Laurus nobilis</i> (L.)	Lauraceae	list	podpora metabolismu, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Lepidium meyenii</i> Walp.	Brassicaceae	kořen	zvyšuje plodnost, zlepšuje růst vlasů, antirevmatikum, snižuje krevní tlak	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Levisticum officinale</i> Koch	Apiaceae	oddenek s kořeny, nať, plody	močopudný, podporuje vylučování nežádoucích solí, vylučuje kys. močovou	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Lithospermum officinale</i> L.	Boraginaceae	semena	dna, močové kaménky, hyperfunkce štítné žlázy	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Lonicera periclymenum</i> L.	Loniceraceae	květ	antiastmatikum, lehce projímá, detoxikant, proti průjmům, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Lychnis flos-cuculi</i> L.	Silenaceae	kvetoucí nať	tlumí děložní krvácení, antibiotikum, antirevmatikum, hojení ran	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Lysimachia nummularia</i> L.	Primulaceae	kvetoucí nať	posiluje org., antirevmatikum, kloktadlo, hojí rány	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Medicago sativa</i> L.	Fabaceae	květ, semeno	antirevmatikum, zlepšuje metabolismus, přispívá trávení	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Mentha piperita</i> L.	Lamiaceae	list, kvetoucí nať	antiseptikum, tlumí nadýmání, aromaterapie, antirevmatikum, na kožní nemoce	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Monarda didyma</i> L.	Lamiaceae	list, kvetoucí nať	antirevmatikum, podpora trávení, na zánět průdušek	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Myristica fragrans</i> Houtt.	Myristicaceae	muškátový květ, oříšek	bronchitida, antirevmatikum, nadýmání	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Onosis spinosa</i> L.	Fabaceae	kořen	antirevmatikum, léčba dny, látková výměna	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.	Lamiaceae	mladé nekvetoucí vrcholky větviček	urologie, zvyšuje množství vyloučených chloridů a kys. močové	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Oxycoccus palustris</i> Pers.	Vacciniaceae	plod, list	antirevmatikum, protizánětlivý, protiprůjmový, snižuje horečku	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Padus avium</i> Mill.	Rosaceae	plod	proti průjmům, kašli, antirevmatikum, proti dně, na vředy	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Petasites officinalis</i> Moench.	Asteraceae	oddenek	močopudný, při astmatu, horečnatých chorobách, protirevmatický	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Peumus boldus molina</i> L.	Monimiaceae	list	podpora tvorby žluči, vylučování kys. močové	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Fabaceae	lusk bez semen	diuretikum, antirevmatikum, kožní choroby	JANČA et ZENTRICH, 1995b

Příloha č. 1  
pokračování

<b>Druhové jméno</b>	<b>Čeleď</b>	<b>Využívaná část rostliny</b>	<b>Indikace</b>	<b>Zdroj</b>
<i>Physalis alkekengi</i> L.	Solanaceae	zralý plod	antirevmatikum, odstraňuje kys. močovou, dna	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Pilosella officinarum</i> Schultz.	Cichoriaceae	kvetoucí nať	protizánětlivý	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Pinus sylvestris</i> L.	Pinaceae	pupeny	desinfekce, pro odkašlávání, protirevmatické, protizánětlivé a proti bolestivé účinky	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Polygonatum odoratum</i> (Mill.) Druce	Liliaceae	oddenek	močopudný, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Polygonum aviculare</i> L.	Polygonaceae	kvetoucí nať	detoxikant, na rozpad moč. kaménků, podpora metabolismu, antirevmatikum, antibiotikum	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Populus nigra</i> L.	Salicaceae	pupeny, popřípadě kůra	analgetikum při kloubním revmatismu, podporuje vylučování kys. močové, na horečnatá onemocnění, proti zánětům	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Prunella vulgaris</i> L.	Lamiaceae	nať	srážlivost krve, hojí rány, tlumí kloubní a svalové bolesti, při gastritidě,	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Prunus domestica</i> L.	Rosaceae	plod	choroby jater, ledvin, krevního oběhu, při dně a revmatismu	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Pyrethrum parthenium</i> (L) Smith	Asteraceae	kvetoucí nať	proti horečce, zmírňuje bolesti, protirevmatikum, kloktadlo, na záněty, koliky	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Ribes nigrum</i> L.	Crossulariaceae	plod, list, kořen	únava, stres, antirevmatikum, cévní onemocnění, záněty ledvin	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Rosa damascena</i> Mill.	Rosaceae	okvětní plátky	protiprůjmový účinek, kloktadlo, posiluje játra, plíce, antirevmatikum, kosmetika	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae	list	prokrvení trávicího traktu, zlepšení psychické a fyzické kondice, kardiotonikum, při bolestech revmatických kloubů	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Salix alba</i> L.	Salicaceae	kůra	analgetikum, antirevmatikum, choroby ledvin, snižuje dráždivost nervové soustavy	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Sambucus nigra</i> L.	Loniceraceae	květ, plod	potopudný, močopudný, nemoci cév, analgetikum při bolestech páteře, kloubů, mírně projímavý	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Santalum album</i> L.	Santalaceae	bílé či červené dřevo	aromaterapie, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Scorzonera hispanica</i> L.	Cichoriaceae	kořen	kloubní bolesti, při poruchách enzymatických funkcí a látkové výměny, při snížené tvorbě moči	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgh.	Lamiaceae	kořen		JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Silene vulgaris</i> (Moench.)	Silenaceae	kvetoucí nať	močopudná, proti průjmům, hojení ran, léčba revmatu a ekzémů	JANČA et ZENTRICH, 1996

Příloha č. 1  
pokračování

<b>Druhové jméno</b>	<b>Čeleď</b>	<b>Využívaná část rostliny</b>	<b>Indikace</b>	<b>Zdroj</b>
<i>Sinapis alba</i> L.	Brassicaceae	semeno	prokrvení pokožky, sliznic, peristaltika střev, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Smilax medica</i> Schlecht. Et Cham.	Smilacacea	kořen	vliv na metabolismus, antirevmatikum, tuberkulostatikum	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Solanum dulcamara</i> L.	Solanaceae	konečky větviček	antibiotikum, metabolikum, protizánětlivý, protirevmatikum, nádorová onemocnění	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Solanum melongena</i> L.	Solanaceae	plod	antibiotikum, snižuje cholesterol, protirevmatikum, bolesti kloubů	JANČA et ZENTRICH, 1994
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	Rosaceae	plod, méně květ	antirevmatikum, zvyšuje diurézu, ovlivňuje vylučování žluče	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Symphytum officinale</i> L.	Boraginaceae	kořen, list	hojivé procesy, chrání sliznice, osteoporóza	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Tabebuia impetiginosa</i> (Mart. Ex DC.) Standley	Bigoniaceae	kůra	protinádorový, na astma, při revmatických potížích, ekzémy	JANČA et ZENTRICH, 1998
<i>Tanacetum vulgare</i> L.	Asteraceae	nať	antiparazitikum, antibiotikum, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Taraxacum officinale</i> Web. et Wig.	Cichoriaceae	kořen, kořen s natí, list	podpora trávení, poruchy ledvin, snižuje hladinu krevního cukru, antirevmatikum, funkce žlučníku, jater	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Thuja occidentalis</i> L.	Cupressaceae	mladé větvičky	působení protirevmatické, antivirozní, protiplísňové	JANČA et ZENTRICH, 1997
<i>Trifolium pratense</i> L.	Fabaceae	květní hlávka	antirevmatikum, průjmy, cukrovka	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Tussilago farfara</i> L.	Asteraceae	květ, list	záněty sliznic, na astma, ekzémy, protikřečový, antirevmatikum,	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Urtica dioica</i> L.	Urticaceae	list, nať, méně oddenek, květ	antianemikum, antisklerotikum, antirevmatikum, antidiabetikum, hojení ran staví krvácení, močopudná, zvyšuje aktivitu enzymů	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Veronica officinalis</i> L.	Scrophulariaceae	nať	snižuje cholesterol, při bronchitidě, čistí krev, antirevmatikum	JANČA et ZENTRICH, 1996
<i>Viola odorata</i> L.	Violaceae	celá rostlina v době květu, jinak oddenek	vykašlávání hlenů, močopudná, antirevmatikum, hojení ran	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Viola tricolor</i> L.	Violaceae	kvetoucí nať	antirevmatikum, podpora látkové výměny, protialergen, kožní nemoce, prokrvení oční sítnice	JANČA et ZENTRICH, 1995a
<i>Viscum album</i> L.	Loranthaceae	list	snižuje krevní tlak, regulace vylučování žluči, antisklerotikum, antirevmatikum, křečové žíly, bércové vředy	JANČA et ZENTRICH, 1995b
<i>Yucca filamentosa</i> L.	Agavaceae	kořen, list	detoxikant, revmatoidní artritida, choroby střev	JANČA et ZENTRICH, 1998

Příloha č. 2 Seznam druhů a čeledí rostlin podávaných k léčbě dny a souvisejících příznaků vyplývající z internetových databází. Upraveno podle DUKE (2008).

*Adenanthera pavonina* (Fabaceae)  
*Aegopodium podagraria* (Apiaceae)  
*Ajuga chamaepitys* (Lamiaceae)  
*Anemone palmata* (Ranunculaceae)  
*Angelica atropurpurea* (Apiaceae)  
*Apium graveolens* (Apiaceae)  
*Aralia racemosa* (Araliaceae)  
*Arctium lappa* (Asteraceae)  
*Artocarpus altilis* (Moraceae)  
*Asparagus officinalis* (Liliaceae)  
*Betula lenta* (Betulaceae)  
*Bidens tripartitus* (Asteraceae)  
*Brassica napus* (Brassicaceae)  
*Cacalia descomposita* (Asteraceae)  
*Caesalpinia sp.* (Fabaceae)  
*Cananga odorata* (Annonaceae)  
*Capparis spinosa* (Capparaceae)  
*Chaenomeles sinensis* (Rosaceae)  
*Chlorophora tinctoria* (Moraceae)  
*Clematis terniflora* (Ranunculaceae)  
*Colchicum autumnale* (Liliaceae)  
*Colchicum candidum* (Liliaceae)  
*Colchicum luteum* (Liliaceae)  
*Cordia obliqua* (Boraginaceae)  
*Cymbopogon jwarancusa* (Poaceae)  
*Dendropemon rostratus* (Loranthaceae)  
*Dodonaea viscosa* (Sapindaceae)  
*Ecbolium linneanum* (Acanthaceae)  
*Equisetum arvense* (Equisetaceae)  
*Eryngium sp.* (Apiaceae)

*Erythroxylum coca* (Erythroxylaceae)  
*Euphorbia antiquorum* (Euphorbiaceae)  
*Filipendula hexapetala* (Rosaceae)  
*Flacourtia sepiaria* (Flacourtiaceae)  
*Fragaria virginiana* (Rosaceae)  
*Fraxinus oxycarpa* (Oleaceae)  
*Gentiana villosa* (Gentianaceae)  
*Gmelina arborea* (Lamiaceae)  
*Gnaphalium luteo-album* (Asteraceae)  
*Guaiacum coulteri* (Zygophyllaceae)  
*Guaiacum officinale* (Zygophyllaceae)  
*Guaiacum sanctum* (Zygophyllaceae)  
*Hyoscyamus albus* (Solanaceae)  
*Hyoscyamus niger* (Solanaceae)  
*Iberis amara* (Brassicaceae)  
*Ilex aquifolium* (Aquifoliaceae)  
*Ilex opaca* (Aquifoliaceae)  
*Juniperus communis* (Cupressaceae)  
*Lactuca intybacea* (Asteraceae)  
*Lactuca virosa* (Asteraceae)  
*Linum usitatissimum* (Linaceae)  
*Lithospermum officinale* (Boraginaceae)  
*Luisia teres* (Orchidaceae)  
*Magnolia virginiana* (Magnoliaceae)  
*Melaleuca leucadendron* (Myrtaceae)  
*Menispermum canadense* (Menispermaceae)  
*Mentha pulegium* (Lamiaceae)  
*Menyanthes trifoliata* (Menyanthaceae)  
*Michelia champaca* (Magnoliaceae)  
*Mollugo cerviana* (Molluginaceae)  
*Momordica balsamina* (Cucurbitaceae)  
*Momordica charantia* (Cucurbitaceae)  
*Montrichardia arborescens* (Araceae)  
*Morinda citrifolia* (Rubiaceae)

*Moringa oleifera* (Moringaceae)  
*Musa paradisiaca* (Musaceae)  
*Myroxylon pereirae* (Flacourtiaceae)  
*Ocimum basilicum* (Lamiaceae)  
*Ononis spinosa* (Fabaceae)  
*Orthosiphon spiralis* (Lamiaceae)  
*Pachyrhizus erosus* (Fabaceae)  
*Paris quadrifolia* (Liliaceae)  
*Periploca sepium* (Asclepiadaceae)  
*Peucedanum cervaria* (Apiaceae)  
*Philodendron laciniatum* (Araceae)  
*Philodendron radiatum* (Araceae)  
*Philodendron speciosum* (Araceae)  
*Phragmites australis* (Poaceae)  
*Physalis alkekengi* (Solanaceae)  
*Polygala senega* (Polygalaceae)  
*Polygonatum odoratum* (Liliaceae)  
*Polygonum cuspidatum* (Polygonaceae)  
*Populus balsamifera* (Salicaceae)  
*Populus tremula* (Salicaceae)  
*Prunella vulgaris* (Lamiaceae)  
*Ranunculus arvensis* (Ranunculaceae)  
*Ranunculus muricatus* (Ranunculaceae)  
*Rhododendron chrysanthum* (Ericaceae)  
*Rhododendron ponticum* (Ericaceae)  
*Ribes rubrum* (Grossulariaceae)  
*Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae)  
*Ricinus communis* (Euphorbiaceae)  
*Rubus idaeus* (Rosaceae)  
*Salix alba* (Salicaceae)  
*Sambucus canadensis* (Caprifoliaceae)  
*Sambucus nigra* (Caprifoliaceae)  
*Saponaria officinalis* (Caryophyllaceae)  
*Sassafras albidum* (Lauraceae)

*Schinus molle* (Anacardiaceae)  
*Schinus terebenthifolius* (Anacardiaceae)  
*Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae)  
*Smilax china* (Smilacaceae)  
*Solanum torvum* (Solanaceae)  
*Spilanthes oleracea* (Asteraceae)  
*Stachys palustris* (Lamiaceae)  
*Talauma mexicana* (Magnoliaceae)  
*Tamus communis* (Dioscoreaceae)  
*Tanacetum vulgare* (Asteraceae)  
*Taxodium mucronatum* (Taxodiaceae)  
*Tetraclinis articulata* (Cupressaceae)  
*Teucrium chamaedrys* (Lamiaceae)  
*Thuja occidentalis* (Cupressaceae)  
*Tinospora cordifolia* (Menispermaceae)  
*Tinospora crispa* (Menispermaceae)  
*Tinospora sinensis* (Menispermaceae)  
*Trewia nudiflora* (Euphorbiaceae)  
*Tribulus alatus* (Zygophyllaceae)  
*Trifolium arvense* (Fabaceae)  
*Trifolium repens* (Fabaceae)  
*Tylophora indica* (Asclepiadaceae)  
*Urginea maritima* (Liliaceae)  
*Urtica dioica* (Urticaceae)  
*Urtica parviflora* (Urticaceae)  
*Veratrum album* (Liliaceae)  
*Veratrum viride* (Liliaceae)  
*Vitis tiliifolia* (Vitaceae)  
*Zantedeschia aethiopica* (Araceae)  
*Zea mays* (Poaceae)  
*Zingiber aromaticum* VALETON (Zingiberaceae)  
*Zingiber officinale* (Zingiberaceae)