



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

PŘÍPRAVKY S OBSAHEM KONOPÍ A BYLIN PROTI AKNĚ

COSMETICS PREPARATIONS AGAINST ACNE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Zuzana Měšťánková

VEDOUcí PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Andrea Němcová, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1526/2019 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Zuzana Měšťánková**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Andrea Němcová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Přípravky s obsahem konopí a bylin proti akné

Zadání bakalářské práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí úkoly:

- 1) literární rešerše zabývající se problematikou akné, průzkum trhu a zpracování souhrnu aktuálních informací o aktivních látkách používaných v přípravcích proti akné
- 2) stanovení a charakterizace aktivních látek z vybraných částí rostliny konopí a různých bylin
- 3) návrh a sledování účinku vybraných kosmetických výrobků proti bakterii *Propionibacterium acnes* a vybraným představitelům mikroorganismů

Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2020:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Zuzana Měšťánková
student(ka)

Ing. Andrea Němcová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Konopí je rostlina obsahující řadu aktivních látek, které lze využít v kosmetice a farmacii. Předmětem této bakalářské práce je znásobení aktivních látek pomocí smísení konopí s bylinami, které disponují protizánětlivými účinky. Teoretické část obsahuje popis stanovovaných antioxidantů a kanabinoidů. Experimentální část se zaměřuje na proměření obsahu těchto látek v extraktech, vytvořených ze suchých částí bylin a konopí odrůdy Ferimon. Práce je také zaměřena na přípravu krému s obsahem konopných a bylinných extraktů, které jsou zaměřeny na inhibici tvorby akné. Antimikrobiální účinek krémů a extraktů byl zkoumán na bakteriích *Propionibacterium acnes* a *Micrococcus luteus*. Z analýzy extraktů vyplývá, že největší množství aktivních látek obsahovala směs arniky horské a konopí, která vykazovala i dobrý antimikrobiální účinek proti oběma typům bakterií. Krémy vykazovaly nízký inhibiční efekt z důvodu nízkého obsahu aktivních látek.

ABSTRACT

Hemp is a plant containing a number of active substances that can be used in cosmetics and pharmacy. The subject of this bachelor thesis is the multiplication of active substances by mixing cannabis with herbs that have anti-inflammatory effects. The theoretical part contains a description of the determined antioxidants and cannabinoids. The experimental part focuses on measuring the content of these substances in extracts created from the dry parts of herbs and hemp variety Ferimon. The work is also focused on the preparation of a cream containing cannabis and herbal extracts, which are aimed at inhibiting the formation of acne. The antimicrobial effect of creams and extracts was investigated on bacteria *Propionibacterium acnes* and *Micrococcus luteus*. The analysis of the extracts shows that the largest amount of active substances contained a mixture of mountain arnica and hemp, which also showed a good antimicrobial effect against both types of bacteria. The creams showed a low inhibitory effect due to the low content of active substances.

KLÍČOVÁ SLOVA

Konopí, byliny, akné, aktivní látky, *Propionibacterium acnes*, kosmetické přípravky

KEYWORDS

Hemp, herbs, acne, active compounds, *Propionibacterium acnes*, cosmetic products

MĚŠŤÁNKOVÁ, Zuzana. *Přípravky s obsahem konopí a bylin proti akné*. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/123942>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Andrea Němcová.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně, a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala své vedoucí práce Ing. Andrei Němcové, Ph. D. za odborné vedení, cenné rady a čas. Dále bych chtěla poděkovat všem svým kolegům za pomoc a ochotu v průběhu mé práce. Velké díky patří mé rodině za jejich trpělivost a podporu v průběhu celého studia.

OBSAH

1	Úvod	7
2	Teoretická část	8
2.1	Vybrané byliny	8
2.1.1	Arnika horská (<i>Arnica Montana</i>)	8
2.1.2	Fenykl obecný (<i>Foeniculum vulgare</i>)	8
2.1.3	Konopí Ferimon (<i>Cannabis Ferimon</i>).....	8
2.1.4	Kontryhel obecný (<i>Alchemilla vulgaris</i>)	9
2.1.5	Pískavice řecké seno (<i>Trigonella foenum – graecum</i>)	10
2.1.6	Popenec břečťanolistý (<i>Glechoma hederacea</i>)	10
2.1.7	Řebříček obecný (<i>Achillea millefolium</i>).....	10
2.1.8	Třezalka tečkovaná (<i>Hypericum perforatum</i>)	10
2.2	Charakteristika aktivních přírodních látek	11
2.2.1	Polyfenoly	11
2.2.2	Flavonoidy.....	11
2.2.3	Kanabinoidy	11
2.3	Kožní mikroorganismy	12
2.3.1	<i>Propionibacterium acnes</i>	12
2.3.2	<i>Micrococcus luteus</i>	12
2.4	Kůže	13
2.4.1	Vrstvy kůže	13
2.4.2	Funkce kůže.....	13
2.4.3	Adnexální orgány	14
2.5	Akné	14
2.5.1	Faktory ovlivňující akné.....	14
2.5.2	Vznik akné.....	15
2.5.3	Projevy akné.....	15
2.5.4	Rozdělení akné	15
2.5.5	Léčba akné.....	16
2.5.6	Lokální léky.....	17
2.6	Kosmetické produkty	18
2.7	Použité metody k analýze	18
2.7.1	Extrakce.....	18

2.7.2	Diluční jamkový test	19
2.7.3	Chromatografie.....	19
2.7.4	UV-VIS spektrofotometrie.....	19
3	Cíl práce	20
4	Experimentální část.....	21
4.1	Chemikálie, použité přístroje a materiál	21
4.1.1	Chemikálie	21
4.1.2	Přístroje	21
4.1.3	Materiál	21
4.1.4	Příprava extraktů	22
4.1.5	Mikroorganismy	22
4.2	Stanovení celkových polyfenolů	22
4.3	Stanovení celkových flavonoidů	23
4.4	Stanovení antioxidační aktivity	24
4.5	Stanovení obsahu kanabinoidů pomocí HPLC	24
4.6	Stanovení antimikrobiální aktivity	25
4.7	Příprava pleťového krému	25
5	Výsledky a diskuze	27
5.1	Konopné a bylinné extrakty.....	27
5.2	Celkové polyfenoly a flavonoidy.....	27
5.3	Antioxidační aktivita	28
5.4	Obsah kanabinoidů.....	30
5.5	Antimikrobiální aktivita extraktů.....	31
5.6	Antimikrobiální aktivita krémů	33
6	Závěr.....	35
7	Literatura	37
8	Seznam zkratk	41
9	Přílohy	42

1 ÚVOD

Konopí je starobylou rostlinou, která je pěstována díky své nenáročnosti a možnosti ji zužitkovat celou. Rostlina se využívala v řadě průmyslových odvětví hlavně k výrobě vlákna a konopného oleje. Rozlišujeme dva typy konopí technické a medicínské, které se liší obsahem, nejznámějšího kanabinoidu, THC. Kanabinoidy jsou látky vyskytující se pouze v konopí, které dále obsahuje biologicky aktivní látky, které díky svým léčivým účinným mají potenciál ve farmacii a kosmetice. V dnešní době je pěstování a použití rostliny značně omezeno z důvodu jejího využívání pro své psychotropní účinky.

Rostliny byly zpracovány pro své léčivé účinky již od nepaměti, využívaly se k léčbě onemocnění a na základní hygienu, což je spojeno s počátkem kosmetiky. V dnešní době se lidé vrací k této tradiční medicíně, proto se začaly využívat byliny obsahující látky s léčivými, antibakteriálními a protizánětlivými vlastnostmi. Rostliny obsahují bioaktivní látky a vytváří se z nich přírodní kosmetika nebo produkty z nich vyrobené. Některé jsou zdrojem aromatických látek pro parfumerie a potravinářství.

Lidé využívají kosmetické produkty každodenně, jsou tvořeny látkami, které se dostávají do kontaktu s lidským tělem a využíváme je k očištění našeho těla. Krém je produkt, který se využívá k aplikaci na kůži nebo sliznici, je tvořen nejméně 10 % vody, která tvoří vnitřní dispergovanou fázi. Krém je tvořen léčivou látkou a krémovým základem. Rozlišujeme dva druhy krému a to oleokrém nebo hydrokrém.

Propionibacterium acnes je anaerobní grampozitivní bakterie, která je schopna účinně zasahovat proti nežádoucím patogenům, ale je i strůjcem řady infekcí a zánětů. Hraje roli při *acne vulgaris*, kdy přispívá k zánětlivé fázi daného onemocnění. Během puberty dochází k vyšší sekreci mazu, což způsobuje přemnožení *Propionibacterium acnes*, jeho činnost je narušena stěna folikulu. Poškozenou stěnou prostupují další bakterie do kůže a dochází ke vzniku akné. K léčbě tohoto onemocnění se používají různé prostředky, což mohou být kosmetické produkty obsahující extrakty z konopí nebo léčivých bylin.

Předložená bakalářská práce je zaměřena na charakterizaci aktivních látek v konopí odrůdy Ferimon a vybraných bylinách a jejich antioxidačních a antimikrobiálních účinků. Látky byly dále analyzovány za použití základních metod a aplikovány v kosmetickém produktu zaměřenému proti akné.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Vybrané byliny

Jsou plané rostliny, rostoucí ve volné přírodě. Byliny obsahují látky s léčivými účinky a používají se k léčení nebo mají širší využití. Některé jsou zdrojem aromatických látek pro parfumerie a potravinářství. Léčivky poskytují třísloviny, přírodní barviva, přadná vlákna a olej. Části léčivých rostlin jsou v průmyslu využívány jako surovina k izolaci účinných, chemicky čistých látek s terapeutickým účinkem [1].

2.1.1 Arnika horská (*Arnica Montana*)

Bylina je známá i pod názvem prha horská. Arnika dosahuje výšky 20-60 cm, je vytrvalou rostlinou. Oddenek je dlouhý, válcovitý, plazivého typu. Lodyha je přímá s jemným větvením. Listy mají 5-7 podélných žilek a vyrůstají ze spodní části rostliny, vytváří růžici, mají tvar vejčitý na jejichž vrcholu je čepel (tupá nebo špičatá). Květenství je tvořeno úbory, v průměru dosahuje 4-7 cm. Obal květenství je polokulovitý a dvouřadý. Oranžově žlutý květ je uchycen na chlupaté, vyklenuté květní stopce. Tyčinky jsou souprašné a semeníky jsou jednopouzdré a jsou vytvořeny ze dvou plodolistů. Plodem arniky je pětihranná válcovitá nažka žluté barvy. Bylina kvete od června do srpna. Rostlina se vyskytuje v Evropě, a to převážně v Portugalsku, Francii, Ukrajině, Norsku, Litvě a jižních Karpatech. Bylina zvyšuje krevní tlak a má hojivý, dezinfekční a protizánětlivý účinek. Arnika horská obsahuje pseudogujanolidy, flavonoidy, izomerní alkoholy a karotenoidy [1, 2].

2.1.2 Fenykl obecný (*Foeniculum vulgare*)

Fenykl obecný je dvouletá nebo vytrvalá bylina, dosahuje výšky 50-150 cm. Rozvětvená lodyha byliny je lysá, oblá a jemně žlábkovaná. Oddenek má více hlav a bývá převážně větvenovitý. Listy jsou dělené na dlouhé a nitkovité úkrojky, mají tvar trojhranné čepele. Květenství je typem okolík, tvořený ze 4-30 okolíků. Drobné květy jsou žluté, pětičetné a mají volné obaly. Rostlina kvete od července do září. Dva plodolisty tvoří spodní semeník. Plody jsou lysé dvounažky, hnědé nebo šedé barvy. Dvounažky mají podélné rýhy, které plod rozdělují svisle na dvě vně vypuklé nažky s pěti žebry. Druh se vyskytuje ve středomořské-orientální oblasti až po Indii. Fenykl je členěn na dva podruhy (azorský, sladký). Byliny se v lékařství využívá k uvolnění křečí hladkého svalstva, má dobré desinfekční účinky, je užitečnou při zánětu horních cest dýchacích, kdy napomáhá k uvolnění hlenu, její největší použití při nadýmání a křečí v břiše. Fenykl obecný obsahuje účinné látky, jako jsou flavonoidy, kumariny, organické kyseliny, vosky a další doprovodné látky. Léčivý potenciál mají i jeho silice, ve kterých je obsažen anetholem, fenchon, limonen, methylchavikol a další doplňkové látky [1, 2].

2.1.3 Konopí Ferimon (*Cannabis Ferimon*)

Konopí vytváří samčí a samičí květenství na dvou odlišných rostlinách, tzv. se jedná o dvoudomou rostlinu. Je jednoletou rostlinou. Konopí může být jak jednodomé, tak i hermafoditní. U samčí rostliny nastává rychlejší dozrávání. Oddenek rostliny má kolmý směr růstu k povrchu země a má kulovitý tvar. Na podzemním stonku rostliny je bohatý systém vedlejších kořenů, které jsou důležité pro vývoj rostliny. Konopí je značně náročné na množství živin a vody v půdě. Stonek dosahuje výšky až 4 m a průměru 3 cm. Jednotlivé části stonku se liší tvarem, na spodu je stonek kulatý, poté je šestihranný a ve vrchní části je čtyřhranný. Bývá rozdělen do 7-15 internodií, jeho vnitřek je dutý. Ve struktuře stonku jsou vlákna

rozmístěna nepravidelně, primární vlákno se nachází ve vnějším kruhu lýkového svazku a sekundární uvnitř svazku. Vlákna konopí jsou pevné a méně elastické, využívají se na výrobu nití a provazů. Lichočetné listy jsou tvořené 3-13 lístky, které jsou protáhlé na okraji pilovité a na konci tvoří špičku. Květ se skládá z 5 okvětních lístku a 5 tyčinek. Květenství je uskupeno z lat, která vyrůstají na stopkách z úžlabí listů. Plod je jednosemenná nažka, která má vejčitý tvar. Šedozelené semeno obsahuje bílkoviny, vitamín E, bezdusíkaté látky, vlákninu a vysychavý olej, který se skládá z kyseliny linolové, linolenové. Dále rostlina obsahuje nesespecifické látky jako jsou sacharidy, aminokyseliny, proteiny, alkoholy, aldehydy, ketony, vitamíny, minerální látky a další dodatkové látky. Sekundární metabolity jsou zastoupeny silicemi, které jsou tvořeny terpeny, steroidy, nekanaboidovými fenoly, flavonoidními glykosidy, kanabinoidy. Látky v konopí mají farmakologické vlastnosti, používají se jako analgetikum, antikonvulzivum, stimulant chuti. Konopí je starobylou kulturní rostlinou, která se využívala k výrobě vlákna a konopného oleje. Nejprve se začala pěstovat ve Střední Asii, Číně a Indii, do Evropy se dostala o pár století později. Nyní jsou největšími pěstitele Chile, Čína, Francie, Španělsko, Německo, Velká Británie a Holandsko. Rostlinu konopí je možno celkově zužitkovat a také rozložit, je to přadná rostlina. V přírodě rostlina zabraňuje erozím, díky hlubokému kořenovému systému, kypří půdu, absorbuje těžké kovy z půdy, podporuje množení kolonií bakterií a zabraňuje růstu plevelů [3, 4, 5].

2.1.3.1 Druhy konopí:

- Konopí seté rozděluje se na dva poddruhy:
 - 1) Konopí plané je jednoletou rostlinou, která je nižšího vzrůstu, má silný, větvicí se stonek a malé listy. Odolává škůdcům a chorobám, je náročnější na prostředí.
 - 2) Konopí kulturní je rostlina vyššího vzrůstu, má méně větvený stonek a větší listy. Tento druh není tak odolný vůči škůdcům a je pěstitelsky náročnější.
- Konopí indické dosahuje výšky až 1,5 m. rostlina se vyznačuje dvanáctičetnými listy a značně větveným stonkem. Toto konopí se pěstuje v Indii, Afghánistánu, Turecku a severní Africe.
- Konopí rumištní je rostlina nižšího vzrůstu kolem 60 cm, má velké listy, které jsou v menším počtu a úzký stonek, který se skoro nevětví [5].

2.1.4 Kontryhel obecný (*Alchemilla vulgaris*)

Kontryhel obecný je vytrvalá 5-50 cm vysoká bylina, která má na většině míst chloupky. Bylina se vyznačuje krátkým, statným oddenkem, přímou lodyhou. Listy jsou zelenošedé, tvořeny 5-11 laloky a mají tvar dlaně, jeho okraje jsou zubovité. Vrcholičnaté květenství je tvořeno vidlany, u jejichž poslední větve proběhne změna na vijany. Květy jsou drobné stopkovité a mají žlutozelenou barvu. Květ se skládá ze 4 lístků, která ve spodní části srůstají v číšku. Tato bylina má čtyři tyčinky a semeníky uložené v číšce. Semeník obsahuje postranní čnělku na jejímž konci se nachází blizna. Jejím plodem je nažka. Kvetou v období od května do září. U kontryhele obecného se používá přízemní růžice s řapíky nebo kvetoucí nať. Kontryhel se převážně vyskytuje v mírném pásmu v Evropě, západní Asii, severní Africe, Americe a jihovýchodní Kanadě. Rostlina je využívána k zmírnění ženských chorob, problémům trávicího traktu, a proti zánětům. Sbírané části rostliny obsahují katechinové třísloviny, flavony, izoflavony, flavonoly a další doprovodné látky [2, 6].

2.1.5 Pískavice řecké seno (*Trigonella foenum – graecum*)

Pískavice řecké seno je jednoletá až 50 cm vysoká bylina z čeledi vikvovitých. Bylina má jednoduchou, přímou lodyhu se střídavými, trojčetnými listy. V úžlabí listů vyrůstají přisedlé kvítky žlutobílé barvy. Plodem je čárkovitý dlouhý lusk s 10-20 semeny. Kvete v červnu a červenci. Pochází ze středomoří, dozrává jen v teplých oblastech. U nás se využívá jako pícnina nebo k léčebným účelům. Její moučka se používá k vytvoření obkladů, které jsou užívány při různých zánětech kůže, na hemeroidy a do koupelí proti svědění. Dokáže také snížit cukr v krvi, pomáhá při zažívacích potížích a kožních onemocněních. Obsahuje alkaloid trigonelin, sliz, bílkoviny, flavonová barviva, saponin a další látky [6, 8].

2.1.6 Popenec břečťanolistý (*Glechoma hederacea*)

Popenec břečťanolistý je vytrvalá, nízká bylina. Plazící lodyha v uzlech zakořeňuje a vyrůstají z ní vedlejší lodyhy, které jsou vysoké 10-30 cm. Na lodyze jsou řepíkaté listy, které mají tvar ledvinovitý nebo srdčitý. Dva až tři fialové květy se na bylině objevují v úžlabí listů. Kalich má tvar trubkovitý, bývá obvykle chlupatý. Koruna se skládá ze dvou pysků a má fialovou barvu. Tyčinky jsou lysé. Plody popence jsou čtyři hladké tvrdky. Druh kvete od dubna do července. Roste hojně v lesích i na lukách. Je rozšířený skoro v celé Evropě a severní Asii. Bylina je používána při zažívacích potížích a má protizánětlivý účinek. Popenec obsahuje glechomin, pryskyřice, cholin, saponin, organické kyseliny a minerální soli [1, 6, 9].

2.1.7 Řebříček obecný (*Achillea millefolium*)

Řebříček obecný je 15-80 cm vysoká, vytrvalá bylina. Oddenek je plazivý, rozvětvený a skládá se z více hlav. Z chlupaté lodyhy vyrůstá větší množství listů, má tuhou strukturu. Listy jsou umístěny střídavě, jejich čepel je kopinatá, s úkrojky různého tvaru. Květenství je typu lata, které je složeno z malých úborů. Víceřadý zákrov má kuželovitý tvar a skládá se ze zelených a z černých listenů. Jazykovité květy jsou po pěti uspořádány v paprsku. Tyčinky byliny jsou souprašné a spodní semeníky jsou tvořeny ze dvou plodolistů. Plodem jsou nažky křídlovitého tvaru. Bylina roste v období od června do listopadu. Druh roste v Evropě, mírném pásu Asie, Severní Americe, jižní Austrálii a na Novém Zélandě. Bylina obsahuje silice, které jsou složeny z chamazulenu, pinenu, sabinenu, kafru, borneolu a dalších látek. Řebříček má protizánětlivé účinky, také napomáhá k zmírnění křečí a při poruchách zažívacího traktu [1, 6].

2.1.8 Třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum*)

Třezalka tečkovaná je 20-80 cm vysoká, vytrvalá bylina. Oddenek je dlouhý a značně rozvětvený. Lodyha je tvořena dvěma oblými, úzkými, lysými lištami, které jsou v horní části větvené. Podlouhlé listy mají vejčitou čepel, ve spodní části rostliny jsou přisedlé a v horní části jsou řepíkaté, prosvítavě tečkované siličnými nádržkami. Paprčité květy mají v průměru 15-35 mm, volné obaly, jsou tvořeny pěti lístky, na stopkách se vyskytují černé žlázy. Bylina má velké množství trojbraných tyčinek, trojpouzdrý semeník je vytvořen ze tří plodolistů, má tři volné čnělky. Rostlina kvete v období od června až do září. Druh se vyskytuje v Evropě, Asii, Severní a Jižní Americe, v Austrálii a na Novém Zélandě. Bylina se využívá na zmírnění depresí, melancholií a noční úzkosti, k nápravě zažívacího traktu, má hojivé a dezinfekční účinky. Třezalka obsahuje dianthrony, hypericinové skupiny, flavonoidy, bioflavonoidy, katechinové trísloviny a další doprovodné látky [1, 2].

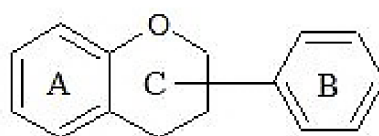
2.2 Charakteristika aktivních přírodních látek

2.2.1 Polyfenoly

Polyfenoly se řadí mezi silné antioxidanty, které napomáhají antioxidačním vitamínům a enzymům. Společně vytváří obranu proti oxidačnímu stresu, který je vyvolán přebytkem reaktivních forem kyslíku a dusíku. Jsou chemickou skupinou přírodních sloučenin s fenolickými strukturálními rysy, sloučeniny se mohou lišit ve stabilitě, biologické dostupnosti a fyziologických funkcích v lidském těle. Tyto látky jsou velmi rozšířenými produkty v rostlinné říši. Nachází se v ovoci, zelenině, celých zrnech, čaji, čokoládě, vínu a dalších potravinách. V současné době je známo 8000 fenolických struktur, z čehož jsou 4000 flavonoidy. Polyfenoly byly rozřazeny dle zdroje původu, biologické nebo chemické struktury. Polyfenoly napomáhají v prevenci proti degenerativním onemocněním (rakovina, kardiovaskulární nebo neurodegenerativní onemocnění) [10].

2.2.2 Flavonoidy

Flavonoidy se řadí mezi fenolické látky, jejich počet se udává na 4000. Jsou označovány jako rostlinné sekundární metabolity. U rostlin se významně podílí na řadě biologických procesů. Tyto látky fungují jako ochrana rostliny před UV zářením, fytopatogenním houbám a bakteriím, zodpovídají za aroma a zbarvení. Flavonoidy vykonávají řadu ochranných funkcí, interagují s nukleovými kyselinami nebo proteiny. Vykazují antimikrobiální a farmakologické vlastnosti, tyto vlastnosti jsou využívány v medicíně nebo zemědělství. V lidském těle mají vlastnosti antioxidační, protizánětlivé, antimutagenní a antikarcinogenní, proto jsou využívány k farmaceutickým, léčivým a kosmetickým aplikacím. Základní struktura flavonoidů je tvořena z 15 uhlíků (C6–C3–C6). Dané uhlíky tvoří dvě benzenová jádra, které spojuje heterocyklický pyran, což je vyobrazeno na Obrázek 1. Flavonoidy rozdělujeme do několika podskupin (záleží k jakému uhlíku kruhu C se připojuje kruh B), řadíme jsem anthokyany, flavony, flavanony, flavonoly a flavan-3-oly [10, 11, 12].



Obrázek 1: Základní struktura flavonoidů

2.2.3 Kanabinoidy

Kanabinoidy jsou terpenofenolika obsahující difenol a monoterpenovou skupinu. Bylo jich popsáno téměř sto a dělí se podle chemické struktury do dalších 10 strukturálních typů. Rozdíly jednotlivých kanabinoidů jsou v postranních řetězcích, které se liší počtem uhlíku, substituovanou karboxylovou nebo hydroxylovou skupinou, nebo počtem přítomných cyklů. Mezi tyto látky patří kanabidiol (CBD), kanabigerol (CBG), (-)-trans- Δ^9 -tetrahydrokanabinol (THC), kanabichromen (CBC), ze kterého vznikají předešlé tři sloučeniny, a kanabinol (CBN), který je produktem transformace THC. Do této skupiny látek se také řadí Δ^8 -tetrahydrokanabinol (Δ^8 THC), kanabidiarin (CBDV), tetrahydrokanabivarin (THCV). Kanabinoidy jsou sekundární metabolity a obvykle se v rostlině vyskytují v kyselé formě. Mezi kyseliny kanabinoidů se řadí kyselina Δ^9 -tetrahydrokanabinolová (THCA), kanabidiolová kyselina (CBDA), kanabigerolová kyselina (CBGA) a kanabichromenová

kyselina (CBCA). Kyseliny nevykazují psychotropní aktivitu, jejich karboxylová skupina není příliš stabilní. Pokud jsou kyseliny vystaveny světlu a teple, může vést k jejich dekarboxylaci, proto je možné v rostlině tyto kanabinoidy nalézt i v neutrální formě (THC, CBD nebo CBG). Účinek kanabinoidů je zprostředkován endokanabinoidním systémem, díky čemuž jsou ovlivněny různé procesy v těle [13, 14, 15].

2.3 Kožní mikroorganismy

Na kůži se vyskytují miliardy mikroorganismů, které tvoří kožní mikrobiom, do něhož se zařazují rozmanitá společenstva bakterií, hub, roztočů a virů. Organismy poskytují ochranu před nemocem, ale mohou také způsobit zhoršení kožních lézí, podporovat různá onemocnění nebo zpomalovat hojení ran. Mikroorganismy jsou po těle člověka rozmístěny nerovnoměrně, jejich skladba podléhá ekologickým a individuálním změnám. Mikrobiom kůže je složen z nejméně 19 bakteriálních kmenů, mezi nejvíce zastoupenými jsou Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria a Bacteroidetes. Na kůži se vyskytují i houby, mezi které patří rody *Malassezia* a *Candida*. V mazových oblastech těla převažují mikroorganismy jako *Propionibacterium* a *Stafilococci*, na vlhkých místech *Corinebacteria* a na suchých místech se vyskytují smíšené populace bakterií, mezi nimiž dominují *β-Proteobacterie* a *Flavobacteriales* [16, 17, 18].

2.3.1 *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes je anaerobní grampozitivní pleomorfni tyčinka. Bakterie je schopna účinně zasahovat proti nežádoucím patogenům, ale je i strůjcem řady infekcí a zánětů a je považován za oportunní patogen. Tato bakterie uvolňuje lipázu, která rozkládá kožní maz na mastné kyseliny. Konečným produktem její fermentace je kyselina propionová, díky tomuto se udržuje kyselé pH v pilosebaceózním folikulu. *Propionibacterium acnes* přispívá k zachování vyrovnaného mikrobiomu. Tato bakterie tvoří část flóry v ústní dutině, velkém střevě, spojivkách a vnějším ušním kanálu, ale nejhojněji se vyskytuje na pokožce převážně v oblasti pilosebaceózní jednotky. Hraje roli při *acne vulgaris*, kdy přispívá k zánětlivé fázi daného onemocnění. Je spojována i se synovitidou, akném, pustulózou, hyperostózou, osteózou a sarkoidózou. Během puberty dochází k změně složení mazu, jeho vyšší sekreci, což může způsobovat ucpání mazových žláz. V této fázi se *Propionibacterium acnes* přemnoží, jeho činností je narušena stěna folikulu, což umožňuje vstup dalších bakterií do kůže a dochází ke vzniku akné. Zánět je ovlivněn *P. acnes*, která spolupracuje se složkami vnitřní imunity, a také produkcí řady aktivních látek ze strany bakterie (lipázy, proteázy, hyaluronidázy), které stimulují chemotaxi [19, 20, 21].

2.3.2 *Micrococcus luteus*

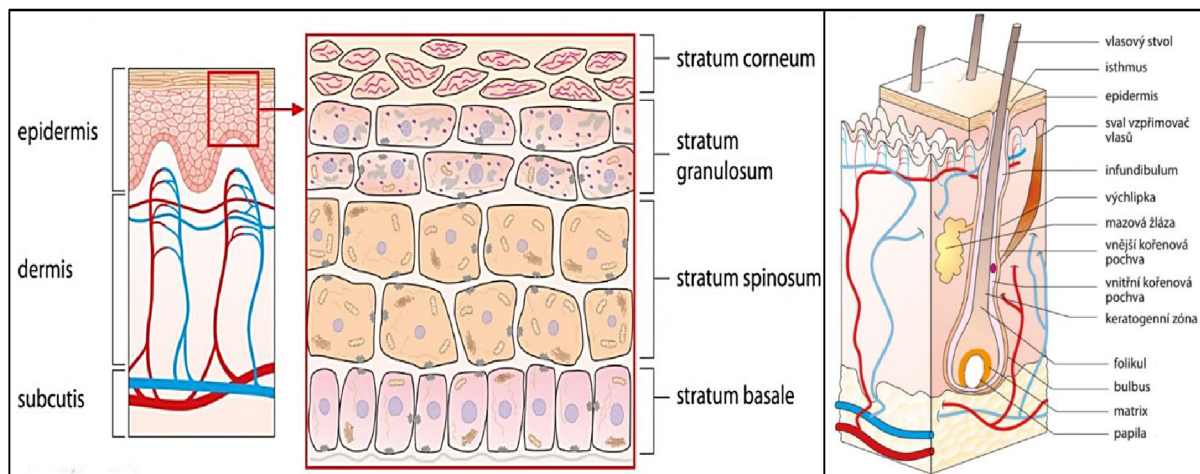
Aerobní grampozitivní bakterie z čeledi *Micrococcaceae*, je producentkou žlutého pigmentu. Vyskytuje se ve formě koků uspořádaných po dvou, v tetradách nebo shlucích. Genom *Micrococcus luteus* je jeden z nejmenších u aktinomycet, je sestaven z jednoho kruhového chromozomu o 2,5 milionů párů bází. Tato bakterie může být ve vzácných případech příčinou endokarditidy a je navržena jako patogenní organismus zodpovídající za bakteriemii, pneumonii a keratolýzu. Můžeme ji najít na pokožce savců, v potravinách, půdě, vzduchu a vodě [22, 23].

2.4 Kůže

Povrch těla je pokryt kůží, která v tělesných otvorech přechází ve sliznici. Kůže je největším orgánem o hmotnosti 3-4,5 kg a u dospělého člověka pokrývá plochu 1,6-1,8 m². Sílu kůže udává její tloušťka, která není ve všech částech těla totožná, pohybuje se v rozmezí 0,5-4 mm. Kůže se skládá ze tří částí a obsahuje adnexální orgány, jako jsou žlázy mazové, potní a apokrinní, vlasy a nehty. Orgán plní ochranné funkce, mezi něž jsou zahrnuty ochrana těla proti škodlivým látkám, mikroorganismům a UV záření. Významnou funkci poskytuje v oblasti udržování stálé tělesné teploty, což zprostředkovává prostřednictvím kožních cév a potních žláz. Receptory sloužící k vnímání tepelných, bolestných a mechanických počitků jsou uloženy v škáře a v podkožním vazivu, kde je uložen také tuk, který má funkci zásobní, mechanickou a izolační [24, 25].

2.4.1 Vrstvy kůže

Na povrchu kůže je lipidová bariéra, která je tvořena z oddělujících se buněk a je doplněna produkty z mazových a potních žláz. Brání vnitřní prostředí před mikrobiální, mykotickou i virovou infekcí. První vrstva kůže se nazývá pokožka, která je složena z mnohvrstevnatého dlaždicovitého epitelu. Nejsvrchnější buňky rohovatějí, odumírají a odlupují se, kdežto buňky hlubších vrstev se dělí, přičemž vytlačují starší buňky k povrchu. Proces obměnění trvá 25-28 dní. Sekundární vrstvu představuje škára, která obsahuje adnexální orgány, receptory, cévy a nervy. Škára představuje velmi pružnou, pevnou a vazivovou část kůže. V této vrstvě jsou uloženy papily, kde jsou nervová zakončení a terminální nervová tělíska (Meissnerova, Krauseova a Ruffiniho). Poslední vrstvou je podkožní vazivo, kde je uložen tuk, který slouží jako zásoba energie a jako ochrana svalů [24].



Obrázek 2: Vrstvy kůže a struktura vlasu [26]

2.4.2 Funkce kůže

Důležitou funkcí kůže je mechanická opora. Orgán je schopen vodní homeostáze, kdy voda prostupuje směrem k svrchní vrstvě kůže. V epidermis dochází k jejímu zadržení na rozhraní stratum granulosum a corneum. Voda se zde přeměňuje na plynnou formu a část je zachycena v korneocytech, zbytek je ponechán k výměně tekutin a plynů. Ochraňuje tělo před mikroorganismy (pomocí paměťových T buněk) a UV zářením. Dalším úkolem je udržování stálé tělesné teploty. V teplém prostředí dochází k rozšíření cév a rychlejšímu průtoku krve,

což zapříčiňuje rychlejší odvod tepla. V chladném prostředí dochází k opačnému procesu. Pro vnímání bolesti, tepla nebo mechanických počitků jsou v kůži umístěny řady smyslových receptorů, které jsou napojeny na nervovou síť. V kůži jsou zabudovány potní a mazové žlázy, které mají ochrannou funkci. Podkožní tukové vazivo má schopnost izolační, mechanickou a zásobní. V tuku jsou uloženy vitamíny A, D, E a K [24, 26, 27].

2.4.3 Adnexální orgány

Vlasy a chlupy vyrůstají z vlasových papil, které obsahují cévní kličku a nervy. Váčky určují velikost cibulky vlasu a ústí do něj mazové žlázy. Chlupy v nosu chrání jeho ústí před částicemi obsaženými ve vzduchu. Mazové žlázy jsou rozmístěny po celém těle kromě dlaní a plosce nosu. Kožní maz zvláčňuje pokožku a vyživuje vlasy, aby nedošlo k jejich vysychání a lámání. Potní žlázy se v největší míře vyskytují v podpaží, na čele, dlaních a ploskách noh. Pot je tvořen z 99 % vodou, 0,6 % chloridu sodného a organických látek. Vzniká při rychlejším průtoku krve, kdy ze žlázové buňky vytéká více plazmy, ta se mísí s tkáňovou tekutinou a v z této směsi vzniká v potních žlázách pot. Člověk za den dokáže vyprodukovat 0,5-10 l potu, produkce je ovlivněna prostředím. Dále mezi kožní orgány patří apokrinní a mléčné žlázy [24, 26].

2.5 Akné

Akné je zánětlivá choroba nejednotného charakteru, která postihuje pilosebaceózní folikul. Toto kožní onemocnění je jedno z nejčastějších u adolescentů. Léčba je velmi závislá na stavu pacienta a fázi daného onemocnění. Akné u každého pacienta má jinak závažný průběh, vážnější formy této nemoci po sobě zanechávají trvalé zjizvení kůže. Onemocnění se nejčastěji vyskytuje v oblasti obličeje (99 %), zad (60 %), hrudníku (15 %) a ramen. Přibližně po 11. roce života postihuje 80 – 100 % osob, odeznívá během 21-23 roku života. U více než 60 % jedinců, kteří trpí onemocněním, je prokázáno akné u jednoho či obou rodičů. Průběh a délku akné ovlivňuje suma veškerých vlivů prostředí. Mezi vlivy, ovlivňující průběh onemocnění, patří životní styl, duševní stav jedince, strava, léky, znečištění a klima vnějšího prostředí, kosmetické prostředky a jejich způsob použití [21, 28].

2.5.1 Faktory ovlivňující akné

Zevní faktor mající vliv na akné jsou léky, které jsou androgenně působící progestiny, kortikosteroidy, anabolické hormony i nehormonální léky (imunopresiva, léky k potlačení zhoubných nádorů, halogenidy, vitamin B12). Mezi další faktory dále řadíme nevhodnou kosmetiku, mechanické faktory, mezi něž patří škrábání, tření a nesprávné používání lékařských nebo domácích přístrojů. Zánět také způsobují reaktivní kyslíkové sloučeniny, které jsou obsaženy v polutantech v ovzduší, dále akné vyvolává kombinace tepla, vlhkosti a silného UV záření [21].

Tvorba akné je ovlivněna i vnitřními faktory, mezi které řadíme zvýšenou činnost mazových žláz. Zvýšená tvorba mazu je způsobena hlavně pohlavními hormony (androgeny), hormony podvěsku mozkového, štítnou žlázou a vlivem centrálního nervového systému. Dalším činitelem je hromadění zrohovatělých buněk u vývodu mazových žláz a ve folikulech, kdy dochází k ucpání vývodu a hromadění mazu. Mezi vnitřní faktory patří i genetická dispozice a psychosomatické souvislosti [21, 29].

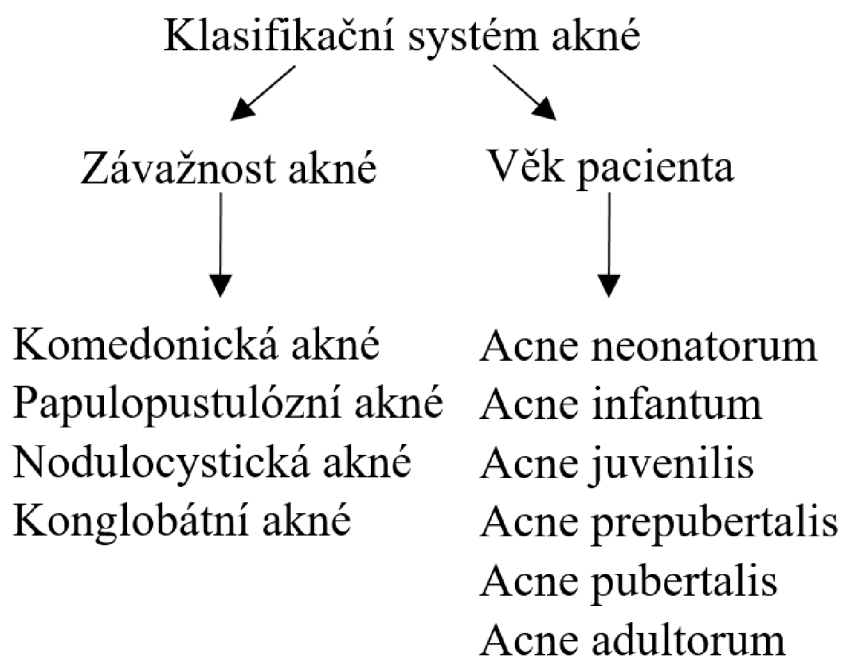
2.5.2 Vznik akné

Vznik akné je způsoben nahromaděním zrohovatělých buněk u vývodů folikulů mazových žláz, což vede k ucpaní vývodu. Ve folikulech se hromadí kožní maz, který není schopen procházet přes vrstvu zrohovatělých buněk na povrch kůže. Tento proces vede ke vzniku zánětu na kůži (miktokomedon). Po nahromaděním určitého množství mazu a zrohovatělých buněk dochází k vytvoření zátky neboli komedonu, který může být uzavřený (bílý) nebo otevřený (černý). Otevřené komedony jsou méně problematické, maz může být vytlačen na povrch kůže. Při uzavřené formě komedonů se ucpe mazová žláza, kde probíhá hromadění mazu. Ten je vhodným prostředím pro rozmnožování bakterie *Propionibacterium acnes*. Její kolonie zasahují folikuly, převážně jejich hlubší části z důvodu anaerobního prostředí. Pokud dojde k prasknutí folikulu, obsah může v okolí vyvolat zánětlivou reakci. Poté pozorujeme vznik hnisavých pupínek, vředů, cyst, neštoviček a dalších. Při těžkých zánětech může dojít k poškození folikulu mazové žlázy a vytvoření jizvy [28, 29].

2.5.3 Projevy akné

Komedony jsou rozděleny do tří skupin (otevřené a uzavřené, fistulující komedony). Vyskytují se nejčastěji ve střední části obličeje. Nejhorší formou jsou fistulující komedony, které jsou tvořeny dvěma a více ucpanými mazovými žlázami, mohou po sobě zanechávat jizvy. Další formou akné mohou být mírně vystouplé útvary, které se nazývají cysty. Mohou dosahovat průměru 7-15 mm a nevykazují žádné zarudnutí. Uvnitř cyst je sírovitý až voskovitý obsah. Vážnější formou akné jsou povrchové nebo hluboké léze, které jsou zánětlivé, vznikají z mikrokomedonů. Povrchové léze se rozdělují na papuly a pustuly. Z lézí povrchového typu mohou vzniknout velmi bolestivé noduly, které dosahují velikosti 0,5-1 cm v průměru [21].

2.5.4 Rozdělení akné



Obrázek 3: Schéma rozdělení akné

2.5.4.1 Pubertální akné

Toto onemocnění se vyskytuje u 35- 90 % adolescentů a u 15-20 % ve středně těžké až těžké formě. Onemocnění by se mělo utlumit do 21 roku života, ale jeho projevy mohou přetrvat až do dospělosti. Příznaky se nejvíce projevují ve věku 15-17 let a projevují se v oblasti bohaté na mazové žlázy (obličej, záda a hrud'). U této formy se vytváří otevřené a uzavřené komedony, papuly, pustuly a léze. Pokud má akné těžký průběh dochází ke vzniku nodulocystických lézí, u kterých může dojít k prasknutí. V tomto případě se tvoří jizvy a odtokové dutiny. U adolescentů akné způsobuje psychické problémy [30].

2.5.4.2 Akné dospělých

Toto akné se vyskytuje osob starších dvaceti pěti let. Vyskytuje se převážně u žen, které mají citlivější mazové žlázy na androgeny. Toto forma se projevuje, jako pokračování pubertálního akné nebo jde o návrat projevů. Příčinou vzniku onemocnění můžou být polycystické vaječníky, genetické predispozice a stresu. Tato forma se rozděluje na dva typy: perzistující akné, akné s pozdním nástupem. U první druh jsou typické zánětlivé papuly v horní části dolní čelisti a na krku, stav se zhoršuje při nadcházející menstruaci. U druhého případu akné postihuje převážně bradu a oblast kolem úst, u starších osob bývá převážně na trupu. Tato forma je rezistentní k léčbě [21].

2.5.5 Léčba akné

Léčba akné se dělí na léčbu lokální, systematickou a fyzikální. Jejím úkolem je nejprve zaměřena na zhojení vředů a puchýřků, poté se snaží o prevenci a zabránění zjizvení pokožky, a nakonec se snaží utlumit další vznik lézí. Pacienti podstupují terapii, do které je zahrnuta lékařská kosmetika a zdravá životospráva. Léčba se sestavuje na základě věku, závažnosti projevů na kůži a kvalitě života pacienta. Léčba bývá dlouhodobá a z pravidla kombinovaná, po její dobu je nutné dodržovat doporučené postupy. První výsledky terapie jsou znatelné po měsíci léčby a výraznější až po třech měsících [21].

2.5.5.1 Lokální léčba

Terapie je schopna zabránit tvorbě mikrokomedonů a komedonů, a tím i odvrátit obnovu choroby. Základem léčby je péče a ochrana pleti. Léčba se využívá v počátečním stádiu, u lehkých a středně těžkých forem akné, je také použita při celkové léčbě. Nejvyužívanějšími lokálními léky patří retinoidy, kyselina azelaová, antibiotika a benzoylperoxid [21, 31].

2.5.5.2 Celková léčba

Doba projevu účinku bývá závislá na druhu léčiv, ale většinou se dostavuje po měsíci nebo až po půl roce. Celková léčba se využívá, pokud nezabrala lokální léčba a u středně těžkých až těžkých forem akné. Při léčbě se nasazují perorální antibiotika, izotretinoin nebo antiandrogeny a kombinovaná perorální antikoncepce. Při léčbě se mohou dostavit nežádoucí účinky [21, 31].

2.5.5.3 Fyzikální léčba

Příkladem této léčby je fototerapie, u které je využito elektromagnetické záření se schopností netvořit ionty (UV, viditelné a IR záření). Ultrafialové záření B působí na keratinocyty, Langerhansovy buňky a ultrafialové záření A proniká hlouběji do škýry a aplikuje se na zánětlivé buňky. Proti množení *P. acnes* dobře působí modré světlo o vlnové délce 415 nm.

Pro nápravu poškozené kůže je vhodné červené spektrum (625-750 nm). Druhou možností jsou lasery, které se využívají k zastavení průběhu akné a k zmírnění dopadů akné na kůži (snížení červenání kůže a počtu jizev). Dalšími případy této léčby mohou být kryoterapie a kauterizace [21, 32].

2.5.5.4 Udržovací léčba

Tato léčba je prováděna pravidelně a dlouhodobě. Po její dobu trvání by se měl každodenně nebo obden aplikovat léčivý prostředek. Pomocí této terapie se předchází vzniku a opakovanému návratu akné [21].

2.5.6 Lokální léky

Na mírnou formu akné se nejprve aplikují retinoidy (adapalen, isotretinoin, tretinoin nebo tazaroten). Gelové přípravky s obsahem retinoidů se doporučují pacientům s mastnou pokožkou a krémy pro pacienty se suchou nebo citlivou pokožkou. Výsledky lokální léčby retinoidy by měly být viditelné po 6 týdnech, pokud nedochází ke zlepšení, tak se aplikují retinoidy v kombinaci s benzoylperoxidem, erytromycinem. U středních a těžkých forem se používá kombinace tretinoinu a antibiotik s vyšší silou a u těžkého cystického akné se preferuje orální léčba isotretinoinem [33].

Retinoidy jsou schopny snížit buněčnou proliferaci a diferenciaci, což má za následek snížení růstu folikulárních keratinocytů. Dále zabraňuje tvorbě nových komedonů, zánětlivých i nezápětlivých lézí a zlepšuje pronikání jiných léků. Tyto léky jsou odvozeny od vitamínu A, mezi základní retinoidy řadíme tretinoin, adapalen a izotretinoin, jsou dostupné ve formě krému, gelu nebo roztoku. Účinky retinoidů se projevují na molekulární úrovni a jsou zprostředkovány receptorem kyseliny retinové (RAR) a retinoidním X receptorem (RXR). Receptory mají tři podtypy α , β a γ , které se různě slučují s kyselinou retinovou. Využívají se při léčbě komedogenického akné a v kombinaci s dalšími léčivy se uplatňuje u všech forem akné. Jejich vlastnosti jsou důležité k udržovací a preventivní léčbě. Retinoidy snižují bakteriální rezistenci u antibiotik. Aplikace léků může být dlouhodobá a je přijatelná na celou postiženou plochu [21, 34, 35].

Kyselina azulaová je kyselina 9-dikarbonová, pomocí ní se léčí akné vulgaris, růžovka a hyperpigmentační choroby, jako je melasma. Na tuto kyselinu nevzniká mikrobiální rezistence. Její předností je komedolytický, antibakteriální a protizánětlivý účinek. Snížení počtu *P. acnes* je výsledkem její schopnosti redukovat tvorbu bakteriálních buněčných proteinů a má také antioxidační vlastnosti. Kyselina azulaová je vhodnější pro citlivější pokožku, v kombinované léčbě je vhodná pro středně těžké akné. Potlačuje tvorbu pigmentových skvrn a je využívána k dlouhodobé preventivní léčbě. Kyselina azulaová je dostupná ve formě 20% krému [21, 33, 34, 36].

Lokální antibiotika se aplikují v případě zánětlivých forem akné, snižují množství *Staphylococcus epidermidis* a *Propionibacterium acnes*. Antibiotika způsobují minimální podráždění pokožky, jejich nevýhodou je bakteriální rezistence. Kvůli rezistenci se antibiotika využívají jako monoterapeutika jen na krátkou dobu (3-4 týdny) nebo se kombinují se zinkem, benzoylperoxidem nebo retinoidy. Mezi základní lokální antibiotika řadíme erytromycin, klindamycin a kyselinu fusidovou. Antibiotika mají minimální vedlejší účinky, při zahájení

léčby se příptavek nejprve nanáší na malé plochy na krátkou dobu, postupně se plocha i doba aplikace zvyšuje. Antibiotika jsou dostupná jako alkoholický roztok, gel, pasta nebo krém [21, 34].

Benzoylperoxid je lipofilní lék, na který nevzniká mikrobiální rezistence. Používá na léčbu akné vulgaris, kdy má antimikrobiální účinek hlavně na *P. acnes* a růžovky. Účinek benzoylperoxidu se nejvíce projevuje v hloubce pilosebaceózních jednotek, zde se rozkládá na kyselinu benzoovou a peroxid vodíku, vytváří volné radikály, které jsou baktericidní. Benzoylperoxid je dostupný jako roztok, gel nebo krém o 1-5% koncentraci. Tento lék sloučí na krátkodobé promývání v kombinaci s lokálními retinoidy nebo kyselinou azelaovou, není příliš vhodný k monoterapii z důvodu, že vysušuje a dráždí pokožku [21, 33, 34, 36].

2.6 Kosmetické produkty

Kosmetický výrobek je látka nebo směs látek, která přichází do kontaktu s vnější částí lidského těla, zuby a sliznicí ústní dutiny. Jsou využívány k osobní hygieně (čištění, parfémování, ochrana, změna vzhledu, udržování). Kosmetické výrobky jsou používány lidmi všech věkových kategorií a jsou jimi využívány každodenně [37].

V této bakalářské práci byl vytvořen kosmetický produkt

Krémy jsou přípravky obsahující nejméně 10 % vody, která tvoří vnitřní dispergovanou fázi. Krém je tvořen léčivou látkou a krémovým základem. Podle vnitřní fáze rozlišujeme oleokrémy, které mají oleokrémový základ a jsou emulzní soustavou V/O a hydrokrémy, které mají hydrokrémový základ a jsou emulzní soustavou O/V. Oleokrémové základy jsou tvořeny 15 až 60 % vody. Mývají barvu od bílé do jemně žluté a svou strukturou se podobají kožnímu filtru. Hydrokrémové základy obsahují 50 až 90 % vody. Způsobují vysušování kůže a mají chladivý účinek na kůži. Při normální teplotě krémy vykazují polotuhou konzistenci a při tělesné teplotě jsou dobře roztíratelné po pokožce. Používají se na kůži nebo sliznici, která je zdravá, poraněná či patogenicky změněná [38, 39].

2.7 Použité metody k analýze

2.7.1 Extrakce

Extrakce je metoda, která se využívá k uvolnění jedné látky ze směsi ve vhodném rozpouštědle na základě rozdílů rozpustnosti. Při provádění dané metody u pevných látek dochází k uvolnění jedné látky, přičemž ostatní zůstávají v pevném stavu. K vytvoření extraktů se jako vyluhovadlo může použít voda nebo ethanol převážně 60%. Ethanol je schopen rozpustit většinu terapeutických látek nacházejících se v určitých částech byliny, má conservační účinky a díky němu jsou extrakty stálé a nerozkládají se. Maceraci řadíme mezi periodické extrakční metody, pomocí ní můžeme připravit nálevy, odvary, tinktury a extrakty. V oblasti farmacie se macerace používá na vyluhování rostlinných léčivých složek do určité kapaliny, pevná složka je poté od kapaliny oddělena filtrací. Macerace se rozlišuje na krátkodobou (30 min) a dlouhodobou (7 dní), jednostupňovou nebo vícestupňovou. U dlouhodobé macerace probíhá proces 3-7 dní, po tuto dobu se směs částí bylin s vyluhovadlem promíchává. Po 4-5 dnech se již nezvyšuje obsah extrahovaných látek. Nádoba, ve které se směs nachází, je během macerace ponechává na tmavém místě [39, 40, 41].

2.7.2 Diluční jamkový test

Diluční jamkové testy se používají na zjištění nárůstu kultury po 24 hodinách. Vhodně naředěná kultura a látka působící vůči mikroorganismům je napipetovaná na mikrotitrační destičku s 96 jamkami. Pomocí přístroje ELISA readeru se proměří hodnoty absorbancí v čase 0 a 24 hod. výsledky jsou porovnány s kontrolními jamkami.

2.7.3 Chromatografie

Chromatografie je separační metoda, při níž dochází k rozdělení směsi mezi mobilní a stacionární fázi dle afinity jednotlivých složek směsi k daným fázím. Složky, které mají vyšší afinitu ke stacionární fázi, se opožďují a díky tomu dochází k separaci. Stacionární a mobilní fáze jsou vzájemně nemísitelné. Při kapalinové chromatografii je mobilní fáze kapalinou a výrazně se podíl na separaci. Složky vzorku interagují s mobilní i stacionární fází. Dle stacionární fáze rozdělujeme kapalinovou chromatografii na kolonovou, papírovou a tenkovrstvou. HPLC je vysokoúčinná kapalinová chromatografie, využívá se na analýzu iontů, látek polárních i nepolárních, málo těkavých, tepelně nestabilních a vysokomolekulárních. Její nevýhodou je obtížnější instrumentace. O vysoké účinnosti HPLC rozhoduje stacionární fáze, která je složena z částic o stejném tvaru a velikosti, a rovnoměrně vyplňuje kolonu. U HPLC je pomocí čerpadla poháněna mobilní fáze a díky němuž lze dosáhnout vysokého tlaku. Naměřená data jsou získána pomocí počítače, který zpracovává signál získaný z detektoru. Detektory jsou velmi citlivé a dokážou rozlišit jednotlivé látky [42, 43].

2.7.4 UV-VIS spektrofotometrie

UV-VIS absorpční spektrofotometrie je metoda založena na útlumu elektromagnetického záření absorpční látkou. Záření má formu fotonů a pohybuje se v rozhraní vlnové délky 180-780 nm. Po ozáření vzorku dochází k absorpci záření molekulami látky, což způsobí excitaci vazebných a nevazebných elektronů, intenzita zářivého toku je tím oslabena. Při měření pozorujeme intenzitu dopadající na vzorek s intenzitou záření, které ze vzorku vychází, tyto hodnoty jsou zaznamenány spektrofotometrem a dostáváme tak hodnotu absorbance. Při kvalitativní analýze vytváříme absorpční spektrum, z kterého získáváme absorpční maximum dané látky při určité vlnové délce. Absorpční spektrum se porovnává se spektry standardů, absorpční maximum se může využít k další analýze, metoda je nejcitlivější ve vlnové délce absorpčního maxima. Při kvantitativní analýze se využívá Lambert Beerův zákon, který znázorňuje závislost absorbance na koncentraci analytu. Ze vztahu vyplývá, že absorbance je dále závislá na absorpčním molárním koeficientu a délce absorpční vrstvy [44, 45].

3 CÍL PRÁCE

Cílem práce je stanovení vybraných aktivních látek z různých bylin a technického konopí a možnost jejich aplikace do kosmetických výrobků určených proti akné.

V rámci práce budou řešeny následující dílčí úkoly:

- 1) literární rešerše zabývající se problematikou akné, průzkum trhu a zpracování souhrnu aktuálních informací o aktivních látkách používaných v přípravcích
- 2) stanovení a charakterizace aktivních látek z vybraných částí rostliny konopí a různých bylin
- 3) návrh a sledování účinku vybraných kosmetických výrobků proti bakterii *Propionbacterium acnes* a vybraným představitelům mikroorganismů

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Chemikálie, použité přístroje a materiál

4.1.1 Chemikálie

ABTS, Sigma-Aldrich (SRN)
BHI médium, Himedia (IND)
Dusitan sodný, p.a., Lachema (ČR)
Ethanol, p.a., LachNer (ČR)
Ethanol pro UV-VIS, Lachema (ČR)
Folin-Ciocalteu činidlo, Serva (SRN)
Glycerin bezvodý, p.a., Lach-Ner (ČR)
Hydroxid sodný, p.a., Lach-Ner (ČR)
Chlorid hlinitý, p.a., Lach-Ner (ČR)
Katechin, Sigma-Aldrich (SRN)
Kyselina gallová, Sigma-Aldrich (SRN)
Peroxisíran draselný, p.a., Sigma-Aldrich (SRN)
Nutrient Broth (NB), Himedia (Indie)
Trolox, Sigma-Aldrich (SRN)
Uhlíčan sodný, p.a., LachNer (ČR)

4.1.2 Přístroje

Analytické váhy, Boeco (SRN)
Automatické pipety o různém rozsahu objemu - Discovery (SRN) a Biohit (Německo)
Biohazard box, model Airstream, třída II - ESCO, Biotech (Německo)
ELISA reader BioTek Elx808, BioTek (Německo)
Mikrovlnný rozkladný systém Milestone 1200 s karuselem na 6 vzorků (USA)
Sestava HPLC/PDA/MS, ThermoFinnigan SURVEYOR, Thermo Fischer (USA)
Spektrofotometr VIS, Helios δ , Unicam (GB)
Ultrazvukový homogenizátor Sonopuls HS3200, Bandeline (Německo)
Třepačka IKA Yelow Line (SRN)
Vodní lázeň EL-20, Merci a.s. (ČR)
Vortex, TK35, Kartell spa (USA)
Běžné laboratorní sklo a vybavení

4.1.3 Materiál

Tabulka 1: Použité byliny k vytvoření extraktů

Bylina	Využitá část rostliny	Výrobce
Arnika horská	Květ	Iva Gežová
Fenykl obecný	Plod	Iva Gežová
Konopí Ferimon	Směs (květ, nať)	Kostelní Myslová u Telče
Kontryhel obecný	Nať	Iva Gežová
Pískavice řecké seno	Plod	D N M company s.r.o.
Popenec břechťanolistý	Nať	Valdemar Grešík, Natura s.r.o.
Řebříček obecný	Nať	Iva Gežová
Třezalka tečkovaná	Nať	Iva Gežová

4.1.4 Příprava extraktů

Pro přípravu extraktů bylo na předvážkách naváženo 5 g vybraných bylin. Navážky byly přemístěny do Erlenmeyerových baněk, do kterých bylo přidáno 50 nebo 100 ml 60% roztoku ethanolu. Vzorky byly umístěny na třepačku, kde byly promíchávány po dobu jednoho týdne. Extrakty byly podrobeny filtraci přes gázu a byly uchovány v tmavých skleněných nádobkách nebo v prachovnicích na místě bez přístupu světla. U extraktů směsí bylo naváženo 2,5 g konopí a 2,5 g určité byliny a tato navážka byla vsypána do Erlenmeyerovy baňky. Další kroky byly totožné s postupem přípravy bylinných extraktů.

4.1.5 Mikroorganismy

Mikroorganismy využitě při antimikrobiálních testech byly získány v České sbírce mikroorganismů (Czech Collection of Microorganisms, CCM) Brno. Pro tyto testy byly použity grampozitivní bakterie:

- *Propionibacterium acnes* CCM 3437
- *Micrococcus luteus* CCM 1569

Kultivace u *Propionibacterium acnes* se prováděla v centrifugační zkumavce, která byla naplněna 15 ml BHI media. Do zkumavky byl přidán 1 ml dlouhodobě uchované kultury a byla daným médiem dolita po okraj. Tento postup byl prováděn z důvodu zajištění anaerobních podmínek. U kultivace bakterie *Micrococcus luteus* bylo použito 50 ml NB media v Erlenmeyerově baňce, která byla zaočkována náležitou kulturou. Kultivace bakterií probíhala na temperované třepačce při 37°C po dobu 24 hodin. Práce s mikroorganismy byla vždy prováděna v laminárním boxu.

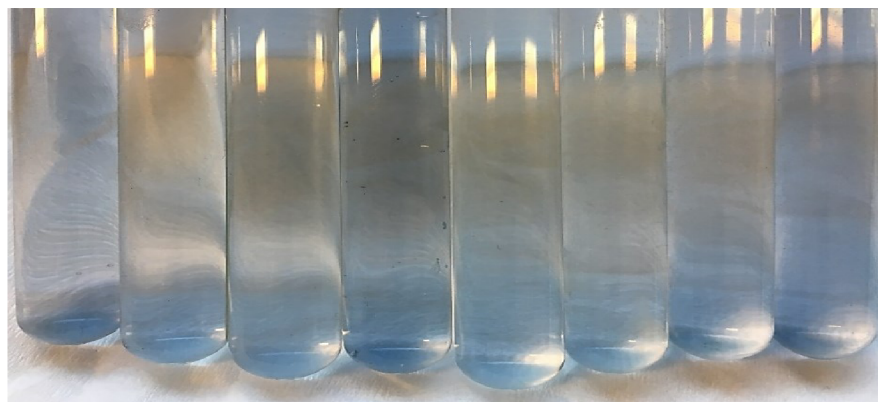
Tabulka 2: Složení medií pro dané mikroorganismy

Bakterie	Medium	Složky	Množství [g]
<i>Micrococcus luteus</i>	NB	Pepton	10
		Hovězí extrakt	10
		NaCl	5
<i>Propionibacterium acne</i>	BHI	Hovězí srdce	250
		Telecí mozek	200
		Pepton	10
		NaCl	5
		Na ₂ HPO ₄	2,5
		Dextróza	2

4.2 Stanovení celkových polyfenolů

Pro stanovení celkové polyfenolů se využívá spektrofotometrická metoda, která je založena na mechanismu přenosu elektronů. Fenolové anionty redukují Folin-Ciocalteuovo činidlo, což způsobuje vznik modře zbarvených produktů. Do zkumavky byl napipetován 1 ml desetkrát zředěného Folin-Ciocalteuova činidla, 1 ml destilované vody a 50 µl vzorku. Směs byla promíchána a ponechána k inkubaci na 5 minut. Poté byl přidán 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného a po 15 minutách byla změřena absorbance při vlnové délce 750 nm. Intenzita modrého zbarvení vzorku odpovídala koncentraci celkových polyfenolů v něm

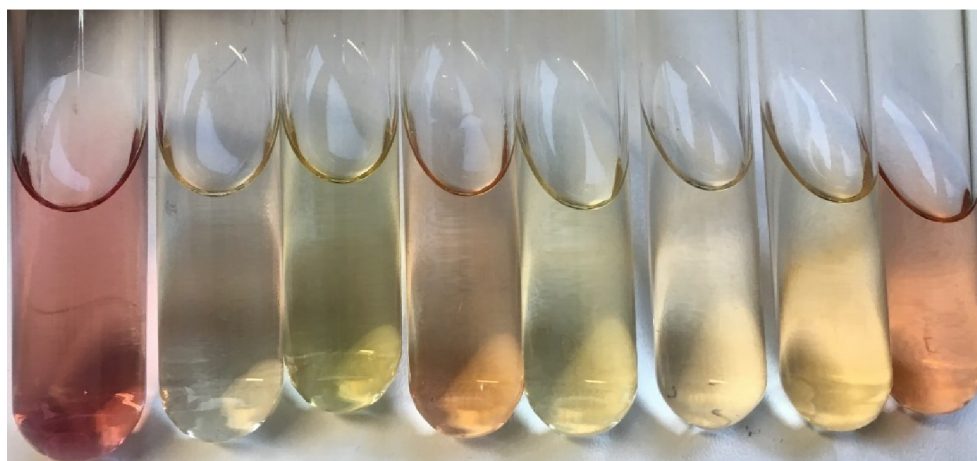
obsažených. Příprava slepého vzorku byla totožná, jen extrakt z bylin byl nahrazen 60% roztokem ethanolu pro UV-VIS. Koncentrace vzorků byla stanovena na základě kalibrační křivky, k jejímuž vytvoření se použil standard kyseliny gallové v koncentračním rozmezí 0,2–0,6 mg/ml.



Obrázek 4: Zkumavky jednotlivých vzorků u stanovení celkových polyfenolů

4.3 Stanovení celkových flavonoidů

Ke stanovení celkových flavonoidů se využívá reakce hlinitých iontů s flavonoidy v bazickém prostředí. Vznikají oranžově-žluté komplexy, které jsou spektrometricky proměřeny při vlnové délce 510 nm. Do zkumavky bylo napipetováno 0,2 ml 1M roztoku dusičnanu sodného a 1,5 ml destilované vody, poté bylo přidáno 0,5 ml vzorku. Směs byla promíchána a ponechána k inkubaci 5 minut. Dále bylo přidáno 0,2 ml 10% roztoku chloridu hlinitého a po 5 minutách bylo přidáno 1,5 ml 1M roztok hydroxidu sodného a 1 ml destilované vody. Poslední inkubace trvala 15 minut, po níž byla změřena absorbance při vlnové délce 510 nm. Příprava slepého vzorku byla totožná, jen extrakt z bylin byl nahrazen 60% roztokem ethanolu pro UV-VIS. Koncentrace vzorků byla stanovena z kalibrační křivky standardu katechinu v koncentračním rozmezí 0,0375–0,3 mg/ml.



Obrázek 5: Zkumavky jednotlivých vzorků u stanovení celkových flavonoidů

4.4 Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita se stanovuje pomocí metody TEAC, u které dochází k zhášení syntetických kation-radikálů ABTS•+ (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové kyseliny) vzorkem. V 10 ml odběrné baňce bylo ABTS rozpuštěno v destilované vodě, aby vznikl roztok o koncentraci 7 mM. K tomuto roztoku byl přidán peroxodisíran draselný o koncentraci 2,45 mM a baňka byla doplněna destilovanou vodou po rysku. Odměrná baňka byla obalena alobalem a ponechána 12 hodin ve tmě při pokojové teplotě. Během této doby vznikly kation-radikály ABTS•+. Před proměřováním vzorků byl roztok ABTS•+ zředěn ethanolem pro UV-VIS na absorbanci 0,7 (\pm 0,02) při vlnové délce 734 nm, jako blank byl použit ethanol pro UV-VIS. Výsledná absorbance vzorku byla stanovena pomocí vztahu:

$$A = A_0 - A_1 \quad (1)$$

Absorbance byla měřena spektrofotometricky při vlnové délce 734 nm. Pro stanovení absorbance substrátu A_0 byl smíchán 1 ml ABTS•+ a 10 μ l destilované vody. Po promíchání byla změřena absorbance. U absorbance vzorku A_1 byl smíchán 1 ml ABTS•+ a 10 μ l připraveného vzorku. Směs byla promíchána a po uplynulých 10 minutách byl měřen pokles absorbance. Antioxidační aktivita byla stanovena z kalibrační křivky standardu Troloxu v koncentračním rozmezí 0,04–0,4 mg/ml. Roztok Troloxu o koncentraci 0,4 mg/ml byl připraven v 10 ml odměrné baňce rozpuštěním 4 mg této látky v 60% roztoku ethanolu pro UV-VIS. Trolox byl zředěn na jednotlivé koncentrace pro vytvoření kalibrační křivky. Poté probíhal přípravný proces jako u vzorků, kdy k jednotlivým zředěním byl přidán 1 ml ABTS•+ a po 10 minutách byla měřena absorbance. Výsledná absorbance byla stanovena na základě rozdílu absorbance substrátu a Troloxu.

4.5 Stanovení obsahu kanabinoidů pomocí HPLC

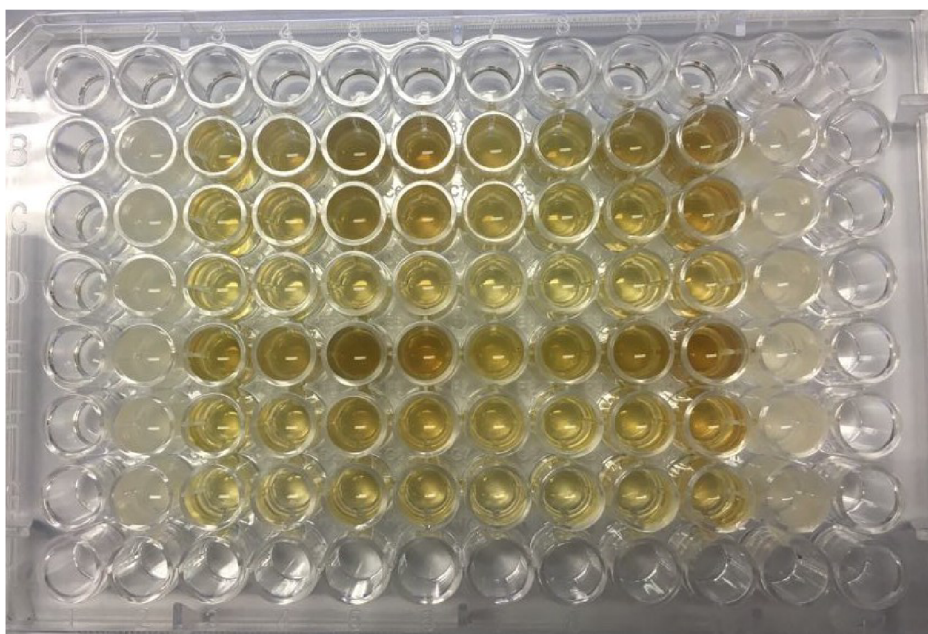
Extrakt konopí byl zředěn v poměru 1:99 ethanolem pro HPLC, poté byl vzorek přefiltrován přes jednorázový filtr. Byla použita kolona Kinetex o rozměrech 4,6 x 150 mm v níž je stacionární fáze modifikovaný silikagel s částicemi alkylových řetězců oktadecylů (C18). Mobilní fáze A se skládala z čistého methanolu pro HPLC a mobilní fáze B z demineralizované vody (Milli-Q). Průtok byl nastaven na 800 μ l/min a analýza se prováděla při teplotě 40°C. Vzorek byl dávkován po 20 μ l pomocí dávkovací smyčky. Analýza konopného vzorku probíhala za podmínek gradientové eluce. Podmínky jsou uvedeny v Tabulka 3. Pomocí maxim absorbance standardů byla určena vlnová délka pro detekci kanabinoidů. Měření bylo prováděno spektrofotometricky při vlnových délkách 210, 220, a 280 nm. K identifikaci a stanovení kanabinoidů byla sestavena kalibrační křivka v koncentračním rozmezí 0–25 μ g/ml. Pro vytvoření byl použit směsný roztok kanabinoidů, který obsahuje standardy kanabichromenu (CBC), kanabidiolu (CBD), kanabigerolu (CBG) a kanabinolu (CBN).

Tabulka 3: Složení mobilní fáze při gradientové eluci

Čas [min]	Mobilní fáze A [%]	Mobilní fáze B [%]
0	80	20
4	80	20
9	100	0
10	100	0
11	80	20
13	80	20

4.6 Stanovení antimikrobiální aktivity

Pro stanovení antimikrobiální aktivity byla využita mikrotitrační destička. Do jednotlivých jamek první řady bylo napipetováno 100 μ l bylinného extraktu nebo krému, další řady obsahovaly 50 μ l sterilované vody. Z první řady bylo odebráno 50 μ l vzorku a postupně bylo prováděno ředění. Poté bylo přidáno 150 μ l zředěné kultury, která se kultivovala 24 hodin. Jako slepý vzorek byl použit 60% roztok ethanolu a zředěná kultura. Spektrofotometricky pomocí ELISA readeru byla změřena absorbance v čase 0 a po 24 hodinové kultivaci při 37°C. Měření bylo prováděno při vlnové délce 630 nm.



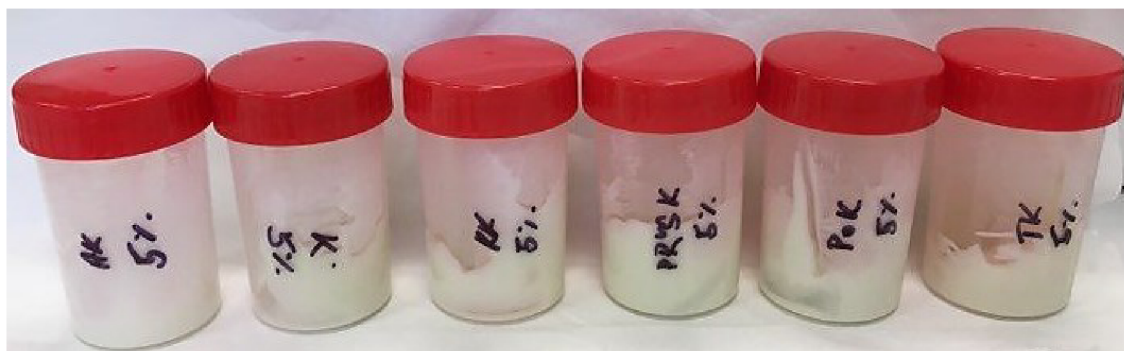
Obrázek 6: Diluční jamkový test s bylinnými extrakty

4.7 Příprava pleťového krému

Příprava krému byla rozdělena na dvě části, kdy byla nejdříve vytvořena olejová fáze a poté k této fázi byla přidána vodní fáze. V první části byly nachystány všechny komponenty, které jsou uvedeny v Tabulka 4, do kádinky. Kádinka s jednotlivými složkami byla vložena do vodní lázně, která měla teplotu 75°C. Směs byla míchána do doby, kdy získala bílou barvu a homogenní texturu. V druhé části byla vodní fáze za pokojové teploty postupně vmíchávána do olejové fáze. Po uplynutí 2 minut bylo viditelné zhutnutí krému, což značilo končení procesu. Do pleťového krému byly poté vmíchány extrakty z konopí a bylin. Jejich množství odpovídalo 1 % nebo 5 % celkového obsahu krému.

Tabulka 4: Složení krému

Složky	Množství [%]	Fáze
HIPEgel Aqua	6,0	Olejová
Hroznový olej	1,0	
Destilovaná voda	9,0	
Glycerin	5,0	
Síran hořečnatý	1,0	
Destilovaná voda	78,0	Vodní



Obrázek 7: Krémy s obsahem konopí a bylin

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Konopné a bylinné extrakty

Extrakty byly připraveny podle kapitoly 4.1.4 pro osm bylin a dále bylo vytvořeno sedm směsí jednotlivých bylin s konopím odrůdy Ferimon v poměru 1:1. Celkem bylo připraveno patnáct extraktů, které se uchovávaly v tmavých lahvičkách. Vzorek byl dále analyzován nebo byl přidán do kosmetického přípravku.

Obecný tvar rovnice lineární regrese:

$$y = ax + b \quad (2)$$

Tabulka 5: Rovnice lineární regrese

Typ látek	a	b
Celkové polyfenoly	0,826	0,1386
Celkové flavonoidy	2,9137	-0,0377
Antioxidační aktivita	0,0013	0,0329
CBD + CBG	770 937	
CBC	404 310	

Tabulka 6: Zkratky názvů bylin

Názvy bylin	Zkratky
Arnika horská	AH
Fenykl obecný	FO
Konopí Ferimon	KF
Kontryhel obecný	KO
Pískavice řecké seno	PŘS
Popenec břechťanolistý	PB
Řebříček obecný	ŘO
Třezalka tečkovaná	TT

5.2 Celkové polyfenoly a flavonoidy

Extrakty z bylin a ze směsí bylin a konopí byly proměřeny spektrofotometricky dle postupu v kapitole 4.2 a 4.3, čímž byl stanoven obsah celkových polyfenolů a flavonoidů. Veškeré vzorky byly proměřeny třikrát. Výsledná absorbance byla získána z průměru naměřených absorbancí. Získaná absorbance byla dosazena do rovnice kalibrační křivky (2). Poté byla získána celková koncentrace těchto antioxidantů, která byla přepočítána na 1 g suchého podílu bylin a směsí bylin a konopí. Výpočty byly provedeny v programu MS Excel. Všechny hodnoty jsou uvedeny v tabulce 7 a 8. Hodnoty pro rovnice lineární regrese jsou uvedeny v tabulce 5.

Množství celkových polyfenolů bylo vztaženo na kyselinu gallovou, která byla použita jako standard, řadíme ji mezi zástupce polyfenolů. U extraktů byla výsledná koncentrace celkových polyfenolů přepočtena na 1 g sušené rostliny. U sušených forem rostlin se zvyšuje obsah celkových polyfenolů z důvodu dekarboxylace látek, které se přeměňují na účinnější formy.

V tabulce 7 jsou uvedeny hodnoty i směrodatné odchylky celkových polyfenolů v extraktech z bylin. Nejvyšší naměřená hodnota byla u extraktu třezalky tečkované, kdy koncentrace celkových polyfenolů dosahovala $38,63 \pm 3,57$ mg/g a nejmenší byla u fenyklu obecného, u kterého výsledná hodnota byla $1,78 \pm 0,12$ mg/g.

U extraktů tvořených směsí bylin a konopí můžeme pozorovat zvýšení koncentrací celkových polyfenolů, což nám potvrzuje srovnání výsledků obou typů extraktů. U většiny vzorků s konopím došlo k nárůstu celkových polyfenolů nejméně o 10 mg/g. V tabulce 8 jsou uvedeny hodnoty i směrodatné odchylky celkových polyfenolů. Extrakt směsi arniky horské s konopím vykazuje nejvyšší hodnotu, která byla $42,15 \pm 4,10$ mg/g a nejmenší hodnota byla u směsi fenyklu obecného s konopím, kdy dosahovala $12,40 \pm 1,11$ mg/g.

Množství celkových flavonoidů bylo vztaženo v ekvivalentech Katechinu, který byl použit jako standard, řadíme ho mezi zástupce flavonoidů. U extraktů byla výsledná koncentrace celkových flavonoidů přepočtena na 1 g sušené rostliny. Flavonoidy jsou podskupinou polyfenolů, díky této skutečnosti můžeme srovnat výsledky z tabulky 7 a 8, kdy hodnoty flavonoidů by měli být menší než hodnoty polyfenolů. Po srovnání hodnot v uvedených tabulkách je zřejmé z obrázku 8 a 9, že podmínka byla splněna.

V tabulce 7 jsou uvedeny hodnoty i směrodatné odchylky celkových flavonoidů v extraktech z bylin. Nejvyšší naměřená hodnota byla u extraktu arniky horské, kdy koncentrace celkových flavonoidů dosahovala $39,24 \pm 2,68$ mg/g a nejmenší naměřená koncentrace byla u řebříčku obecného, u kterého hodnota byla $1,26 \pm 0,07$ mg/g.

V tabulce 8 jsou uvedeny hodnoty i směrodatné odchylky celkových flavonoidů. Extrakt směsi arniky horské s konopím vykazuje nejvyšší hodnotu, která byla $23,29 \pm 2,15$ mg/g a nejmenší hodnota byla u směsi pískavice řecké seno s konopím, kdy dosahovala $3,76 \pm 0,10$ mg/g. Při srovnání extraktů bylin, které měli nižší hodnoty koncentrací celkových flavonoidů, s konopnobylinnými extrakty, můžeme pozorovat nárůst jejich koncentrací. Pokud srovnáme extrakty bylin s vyššími hodnotami koncentrací celkových flavonoidů s konopnobylinnými extrakty, můžeme pozorovat, že jeden díl konopí nenahradí koncentraci celkových flavonoidů jednoho dílu dané byliny, ale z konopí se během extrakce uvolnily jiné fenolycké látky.

5.3 Antioxidační aktivita

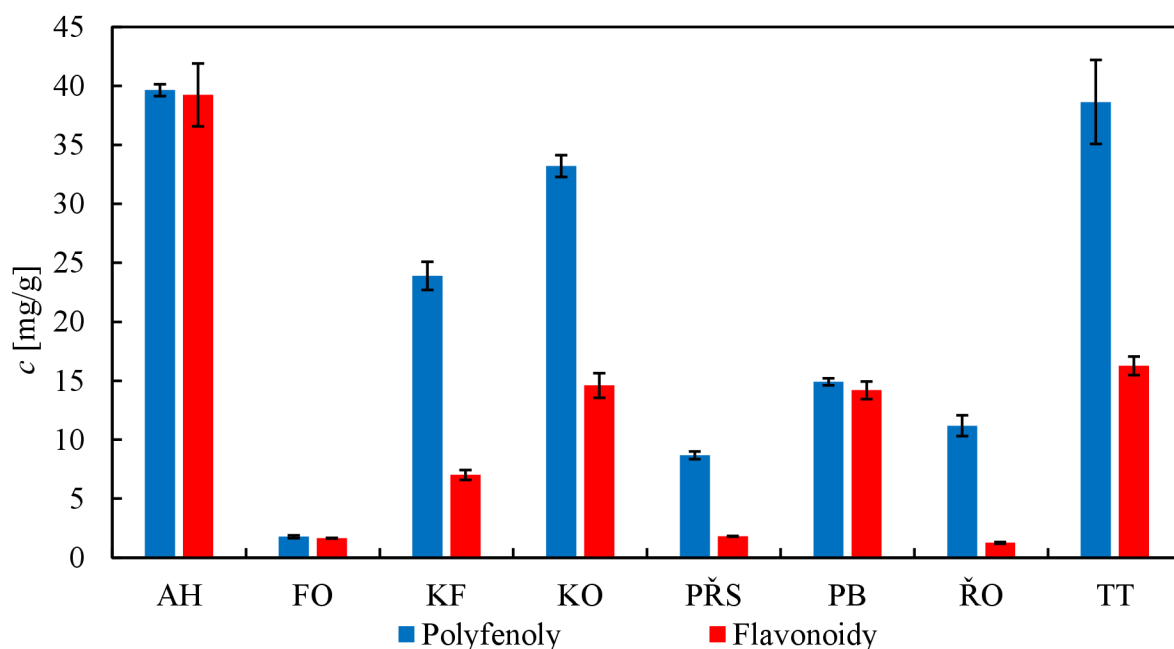
Extrakty z bylin a ze směsi bylin a konopí byly proměřeny spektrofotometricky dle postupu v kapitole 4.4, čímž byla stanovena antioxidační aktivita obou typů extraktů. Veškeré vzorky byly proměřeny třikrát. Výsledná absorbance byla získána z průměru naměřených absorbancí. Získaná absorbance byla dosazena do rovnice kalibrační křivky (2), díky čemuž byla získána konečná hodnota antioxidační aktivity, která byla přepočítána na 1 g suchého podílu bylin nebo konopnobylinné směsi. Výpočty byly provedeny v programu MS Excel. Všechny hodnoty jsou uvedeny v tabulce 7 a 8. Hodnoty pro rovnice lineární regrese jsou uvedeny v tabulce 5.

Antioxidační aktivita byla vztažena na množství standardu Troloxu. Na stanovení antioxidační aktivity byla zvolena metoda TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).

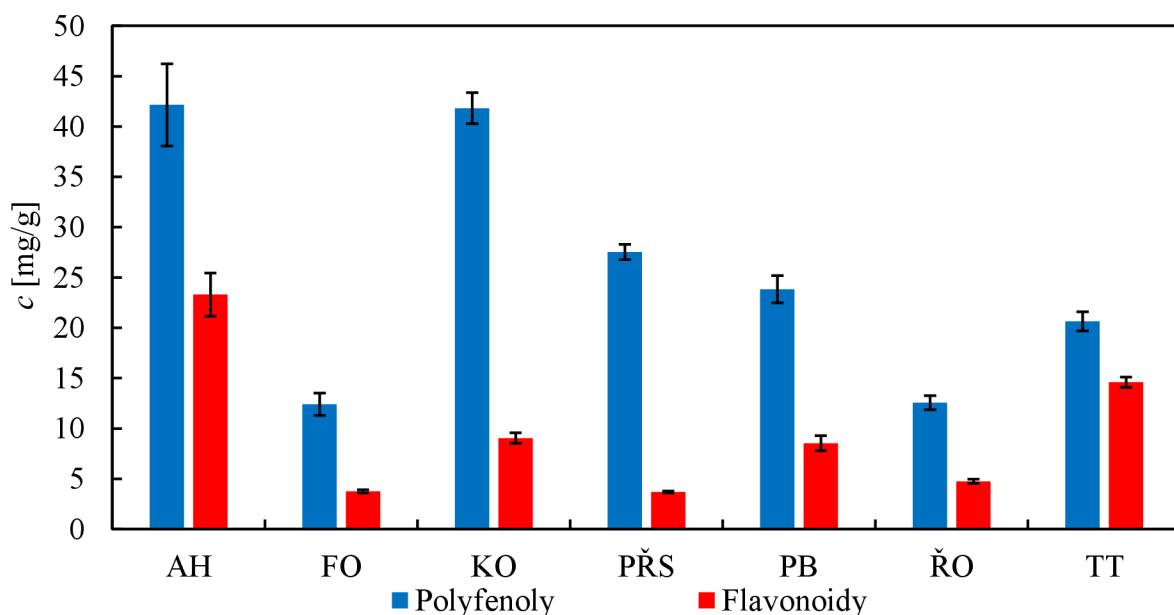
V tabulce 7 jsou uvedeny hodnoty i směrodatné odchylky antioxidační aktivity extraktů z bylin. Nejvyšší naměřená hodnota byla u extraktu kontryhele obecného, kdy antioxidační aktivita

dosahovala $51,08 \pm 0,31$ mg/g a nejmenší hodnota byla u fenyklu obecného, kdy dosahovala $2,75 \pm 0,02$ mg/g.

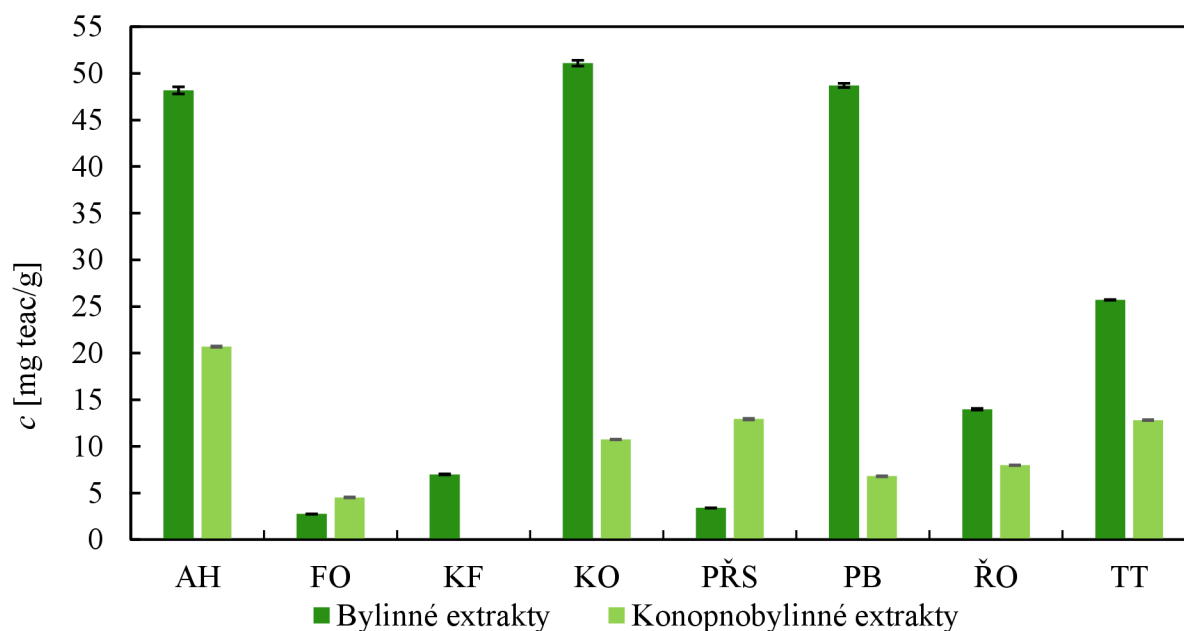
V tabulce 8 jsou uvedeny hodnoty i směrodatné odchylky antioxidační aktivity. Extrakt směsi arniky horské s konopím vykazuje nejvyšší hodnotu, která byla $20,70 \pm 0,08$ mg/g a nejmenší hodnota byla u směsi fenyklu obecného s konopím, kdy dosahovala $4,52 \pm 0,04$ mg/g. Na výsledcích můžeme sledovat, při srovnání bylinných extraktů s konopnobylinnými extrakty došlo u většiny k snížení antioxidační aktivity nejméně o polovinu.



Obrázek 8: Grafické znázornění obsahu celkových polyfenolů a flavonoidů ve vzorcích z bylin



Obrázek 9: Grafické znázornění obsahu celkových polyfenolů a flavonoidů v konopnobylinných vzorcích

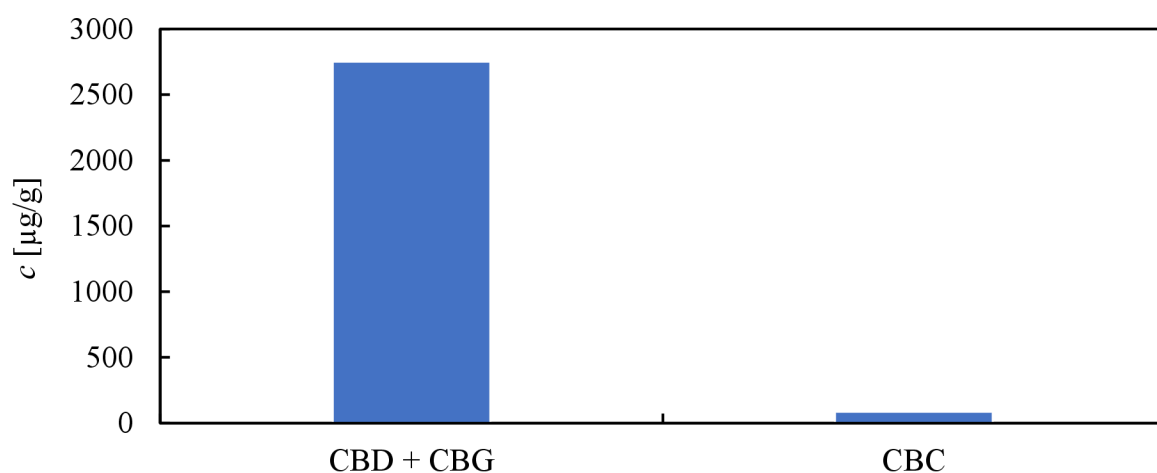


Obrázek 8: Grafické znázornění antioxidační aktivity vzorků

5.4 Obsah kanabinoidů

Obsah kanabinoidů byl proměřen u extraktu konopí odrůdy Ferimon, stanovení proběhlo podle postupu v kapitole 4.5. Rovnice lineární regrese kalibračních křivek pro CBD, CBG a CBC jsou uvedeny v tabulce 5. Do těchto rovnic lineární regrese byly dosazeny aritmetické průměry integrovaných ploch pod chromatografickou křivkou daného analytu, které byly vyhodnoceny pomocí programu Xcalibur. Výsledná koncentrace kanabinoidů přítomných v extraktu konopí je vztažena na 1 g sušené rostliny. Zpracování výsledku proběhlo v programu Xcalibur a MS Excel.

V extraktu konopí byly detekovány tři kanabinoidy kanabidiol, kanabigerol a kanabichromen. Na rozdělení kanabinoidů CBD a CBG v našich laboratorních podmínkách nebyla k dispozici dostatečně citlivá metoda. Spektra těchto látek jsou si velmi podobná a jejich retenční časy se liší nepatrně. V grafu vytváří směsný pík, podle kterého můžeme jen odhadovat, kterého kanabinoidu mohlo být v extraktu více. Výsledná hodnota je kombinací koncentrací těchto dvou látek. Extrakt konopí obsahoval 2753 $\mu\text{g/g}$ kanabidiolu a kanabigerolu. Obsah kanabichromenu v konopném extraktu je oproti CBD a CBG značně nižší jeho hodnota dosahuje 87 $\mu\text{g/g}$. Výsledné hodnoty obsahu kanabinoidů jsou uvedeny v tabulce 9. Ostatní kanabinoidy nebyly detekovány.



Obrázek 9: Výsledný obsah kanabinoidů v konopném vzorku

5.5 Antimikrobiální aktivita extraktů

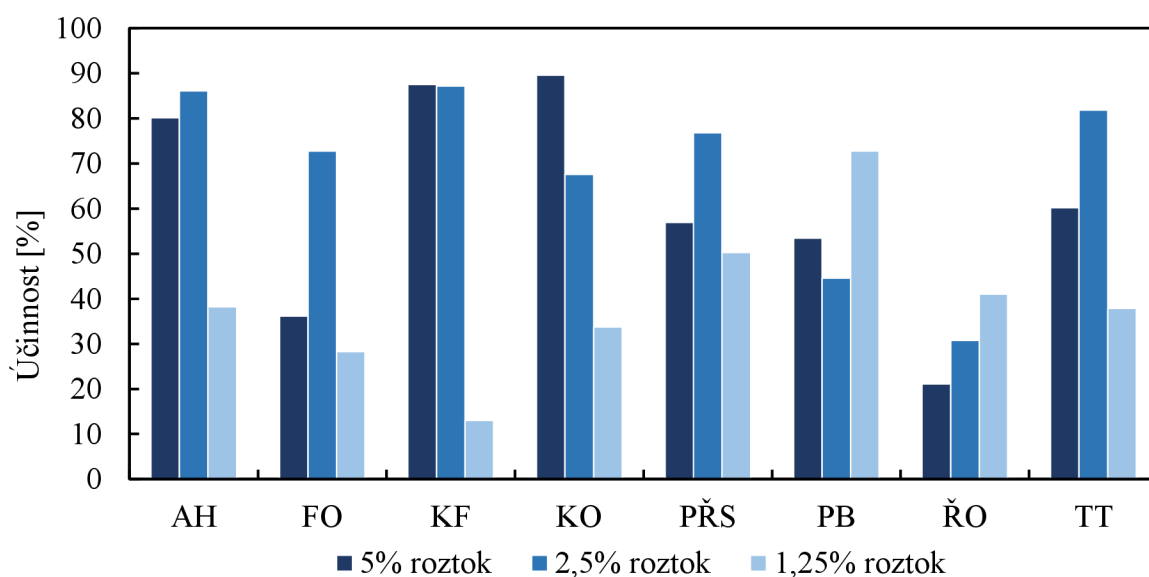
Antimikrobiální aktivita byla určena podle postupu v kapitoly 4.6., proměřovány byli bakterie *Micrococcus luteus* a *Propionibacterium acnes*, které jsou zástupci grampozitivních bakterií. Jamkový diluční test byl zvolen u bakterie *P. acnes*, aby byla použita mikrotitrační destička k zabránění přístupu kyslíku k bakterii, který její růst zpomaluje. Destička byla balena do uzavíratelného sáčku, ze kterého byl odstraněn kyslík, růst bakterie byl poté bezproblémový.

Účinnost inhibice růstu bakterie určíme tak, že porovnáme hodnoty nárůstu u extraktů a u čisté kultury. Pokud extrakt má nižší hodnotu nárůstu než čistá kultura, znamená to, že daný extrakt inhibuje růst mikroorganismu. Výsledné hodnoty jsou převedeny na procenta a jsou uvedeny v tabulce 10 a 11.

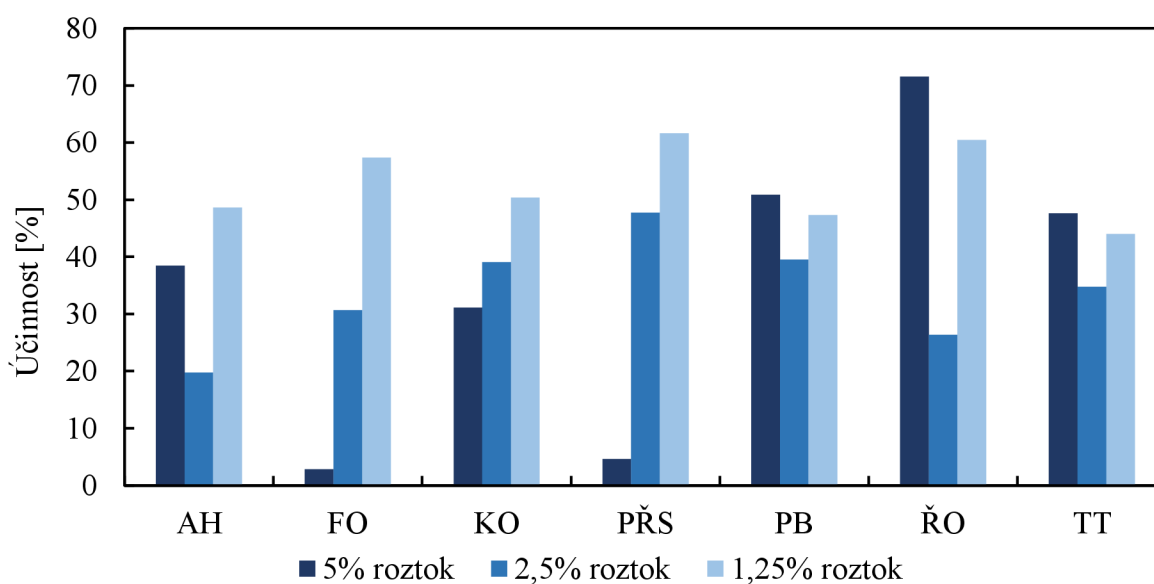
U bakterie *P. acnes* v případě 5% extraktů z bylin byl nejmenší nárůst daného mikroorganismu oproti blanku u extraktu kontryhele obecného, kdy růst bakterie se snížil o 89,61 %, nejmenší inhibice probíhala u extraktů řebříčku obecného, kdy nárůst mikroorganismu byl snížen jen o 21,13 % a fenyklu obecného o 36,13 %. U 2,5% extraktů byly nejúčinnější extrakty byliny arniky horské, konopí Ferimon a třezalky tečkované, které vykazovaly nejvyšší snížené nárůstu a to až nad 80 % oproti čisté kultuře, nejmenší účinnost pak měl roztok řebříčku obecného s 30,73 %. U 1,25% extraktů již účinnost na inhibici růstu byla nižší z důvodu menšího obsahu aktivních látek a hodnoty se výrazně od sebe nelišily. Hodnota, která se odchylovala, byla u roztoku popence břechťanolistého s 72,76 %. U konopnobylinných extraktů, které byly 5%, nejmenší nárůst bakterie vykazoval roztok řebříčku obecného s 71,5 %. Dva roztoky u těchto extraktů se výrazně lišily svou nízkou účinností, mezi tyto roztoky patří fenykl obecný s 2,8 % a pískavice řecké seno s 4,6 %. U 2,5% extraktů se hodnoty míry inhibice pohybovaly v intervalu od 26 do 47 %, vzorek, který do tohoto intervalu nezapadal, byl roztok arniky horské s účinností 19,8 %. Poslední druh extraktů měl velmi podobné hodnoty účinnosti, nejlepší výsledek vykazoval roztok pískavice řecké seno s 61,6 % a nejhorší byl u třezalky tečkované s 44 %. Veškeré hodnoty jsou znázorněny na obrázku 10 a 11.

U bakterie *Micrococcus luteus* byl nejlepší 5% bylinný extrakt řebříčku obecného, který dosahoval inhibice růstu 86,34 %, mezi méně účinné se zařadil roztok třezalky tečkované se 14,1 %. U 2,5% extraktů byly rozdíly účinnosti minimální, pohybovaly se v intervalu

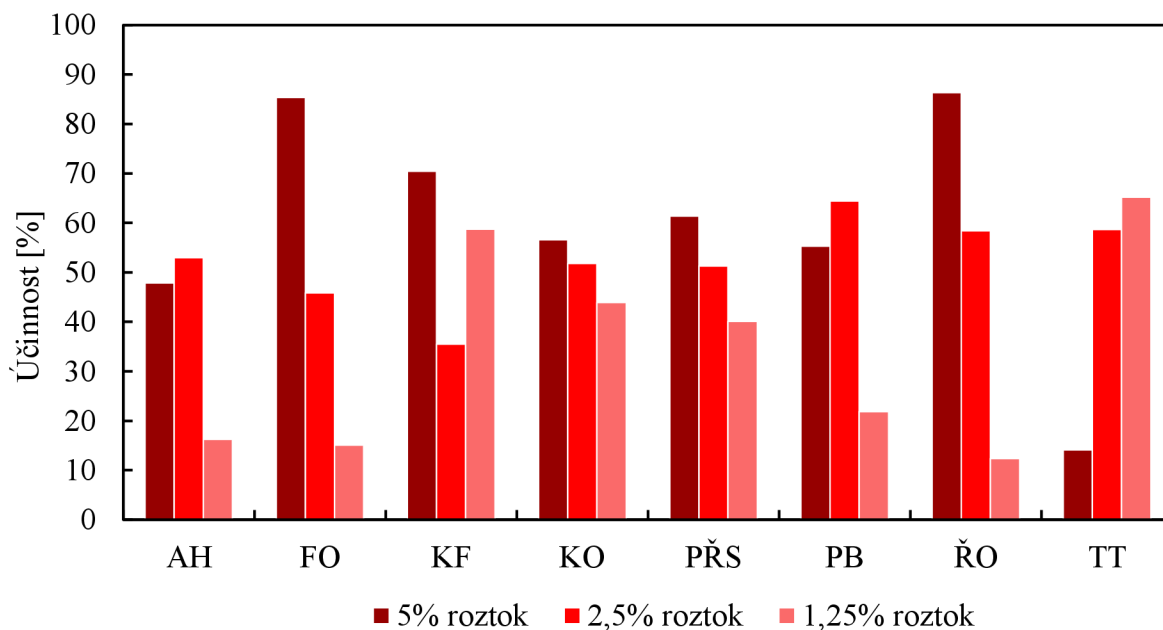
od 51 do 65 %, 2,5% roztoky konopí Ferimon a fenyklu obecného měly menší míru inhibice než 51 %. U poslední skupiny extraktů si nejlépe vedl roztok třezalky tečkované s 65,17 % a nejnižší účinnost vykazoval roztok řebříčku obecného s 12,35 %. Konopnobylinné extrakty měly v jednotlivých skupinách vyrovnanou účinnost proti růstu bakterie. U těchto roztoků byl nárůst bakterie proti nárůstu u čisté kultury obvykle menší o 80 %. U 5% extraktů si nejlépe vedla arnika horská, tento extrakt snížil nárůst bakterie o 87 % proti blanku a nejméně účinný roztok byl řebříček obecný, u kterého inhibice růstu dosahovala hodnoty 62,84 % a u 2,5% roztoků měl nejvyšší účinnost extrakt popence břechťanolistého, u něhož se snížil nárůst bakterie 89,07 %, nejvyšší nárůst byl poté u extrakt arniky horské, u níž se nárůst bakterie snížil jen o 70,55 %. Veškeré hodnoty jsou znázorněny na obrázku 12 a 13.



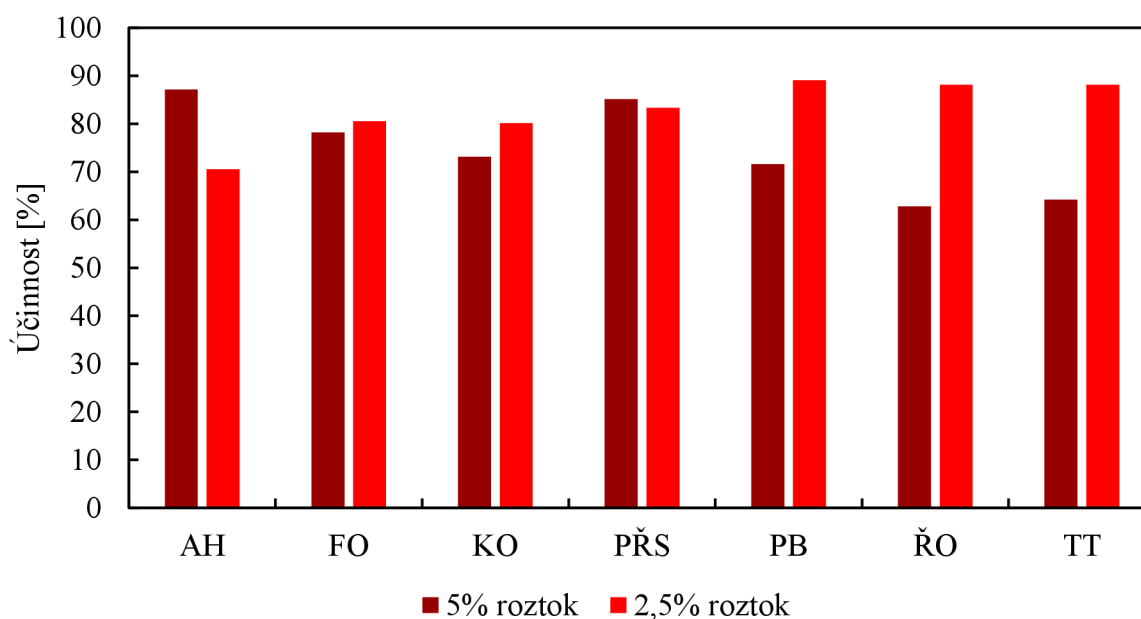
Obrázek 11: Grafické znázornění hodnot účinnosti bylinných extraktů proti *P. acnes*, účinnost – pokles nárůstu daného mikroorganismu oproti kontrolní hodnotě



Obrázek 10: Grafické znázornění hodnot účinnosti konopnobylinných extraktů proti *P. acnes*, účinnost – pokles nárůstu daného mikroorganismu oproti kontrolní hodnotě



Obrázek 13: Grafické znázornění hodnot účinnosti bylinných extraktů proti *Micrococcus luteus*, účinnost – pokles nárůstu daného mikroorganismu oproti kontrolní hodnotě



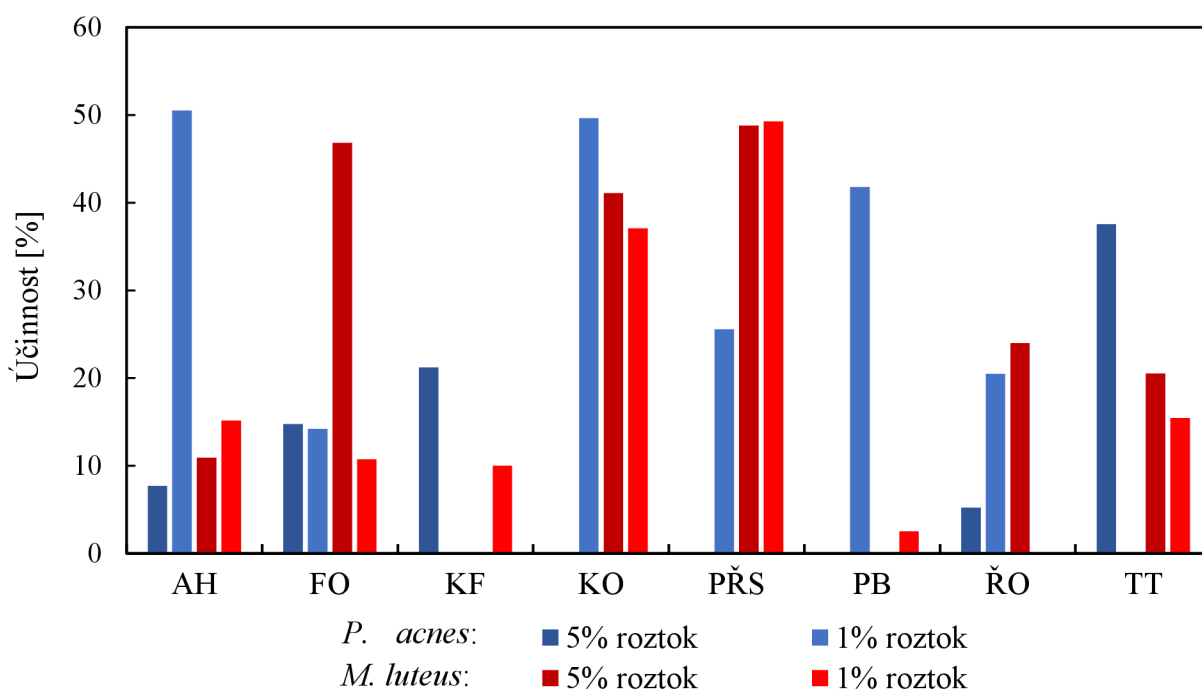
Obrázek 12: Grafické znázornění hodnot účinnosti konopnobylinných extraktů proti *Micrococcus luteus*, účinnost – pokles nárůstu daného mikroorganismu oproti kontrolní hodnotě

5.6 Antimikrobiální aktivita krémů

Podobně jako u extraktů byl použit jamkový diluční test, jehož postup se nachází v kapitole 4.6. Při srovnání účinnosti krémů s extrakty pozorujeme mírné zhoršení, což je způsobeno nižšími koncentracemi extraktů v krému. Do krému se přidává určitá koncentrace léčivých látek, která je ustanovená v kosmetické legislativě. Jsou dána různá rozmezí, první je do 1% a další do 5 %. Krémy, které byly vytvořeny, proto obsahovaly takové množství aktivních látek. V obvykle dostupných kosmetických produktech je obsaženo jen 1 % léčivých látek.

U bakterie *P. acnes* si lépe vedly 1% krémy, kdy nejvíce se snížil růst bakterie u krému se směsí arniky horské a konopí až o 50,48 %, poté u 5% si nejlépe vedl krém třezalky tečkované a konopí o 37,56 %. U obou koncentrací byl největší nárůst bakterie u krému fenyklu obecného a konopí, kdy se snížil nárůst jen o 14 %. U bakterie *Micrococcus luteus* 1% krém pískavice řeckého sena a kontryhele s konopím vykazoval největší inhibici vůči růstu mikroorganismu, tato hodnota byla kolem 40 %. Nejhůře poté působil krém popence břechťanolistého s konopím, u kterého narostla bakterie na 97 % oproti čisté kultuře. U dalších 1% krémů byly hodnoty účinnosti velmi podobné. 5% krémy více snižovaly růst dané bakterie a nejlepší výsledky vykazoval krém pískavice řeckého sena s konopím, u kterého se snížil nárůst o 48,8 %, nejnižší byla poté účinnost u krému arniky horské, kdy mikroorganismus narostl na 89 %. Veškeré hodnoty jsou znázorněny na obrázku 14.

Krémy jsou méně účinné z důvodu nízké koncentrace léčivých látek, které tvoří 1 % nebo 5 % obsahu produktu. Krém je vhodný k hydrataci pokožky, měl by ji vyživovat a zklidňovat. V produktu jsou obsaženy léčivé látky, které by měli zamezovat nebo zmírňovat tvorbu zánětů a tím zklidňovat pupínky, papuly a pustuly. Krém je vhodný k aplikaci ráno a večer na vyčištěnou a osušenou pleť.



Obrázek 14: Grafické znázornění hodnot účinnosti konopnobylinných krémů proti *P. acnes* a *Micrococcus luteus*, účinnost – pokles nárůstu daného mikroorganismu oproti kontrolní hodnotě

6 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zabývá spojením bylin a konopí, za účelem využití těchto směsí k vytvoření kosmetického produktu, který bude inhibovat růst bakterie *Propionibacterium acnes*. Teoretická část je zaměřena na charakterizaci jednotlivých bylin a konopí odrůdy Ferimon. Dále na popis aktivních látek v těchto rostlinách, které jsou stanovovány hlavně kvůli jejich antioxidačnímu a antimikrobiálnímu účinku. U konopí jsou nejdůležitějšími látkami kanabinoidy, které mohou ovlivňovat určité procesy v těle. V práci je také popsáno rozdělení a léčba akné a stavba kůže.

Pro experimentální část byly připraveny extrakty ze sedmi bylin a konopí a následovně byly vytvořeny extrakty ze směsí jednotlivých bylin a konopí v poměru 1:1. V této části bylo provedeno stanovení obsahu aktivních látek v jednotlivých extraktů a mělo být prokázáno zlepšení účinků jednotlivých extraktů pomocí přidání konopí. Při srovnání bylenných extraktů s konopnobylinnými jsme mohli pozorovat, že u určitých extraktů jeden díl konopí nenahradil množství aktivních látek, které byly proměřovány, jednoho dílu bylin. Konopí obohatilo extrakt jiným fenolickými látkami nebo kanabinoidy. Celkové polyfenoly, flavonoidy a antioxidační aktivita byla stanovena spektrofotometricky. Největšího obsahu těchto látek dosáhl extrakt arniky horské, jak ve směsi s konopím tak i samé byliny. Obsah kanabinoidů byl proměřován pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. V extraktu konopí odrůdy ferimon byly stanoveny spolu kanabinoidy CBD a CBG, které byly zastoupeny ve vysoké koncentraci a CBC, u kterého byla naměřená nízká koncentrace.

V poslední fázi této práce byly určována antimikrobiální aktivita jednotlivých extraktů a krémů. Pro tuto práci byl zvolen jamkový diluční test, který se prováděl i dvou gram pozitivních bakterií *Propionibacterium acnes* a *Micrococcus luteus*. U bakterie *P. acnes* byl ztížen proces kultivace, kdy bylo nutno zabránit přístupu kyslíku k danému mikroorganismu z důvodu její anaerobní povahy. Všechny extrakty vykazovaly inhibici růstu bakterií. U bakterie *Micrococcus luteus* konopnobylinné extrakty měli silný antimikrobiální účinek, u *P. acnes* byl tento účinek obvykle poloviční.

Konopný extrakt nevykazuje tak vysokou antioxidační aktivitu jako většina konopnobylinných extraktů. Tento trend se neprokázal u extraktů směsí fenyklu obecného s konopím a popence břechťanolistého s konopím. Konopnobylinné extrakty měly nižší antimikrobiální aktivitu u 5% a 2,5% extraktů nežli konopný extrakt. 1,25% konopný extrakt vykazoval vyšší nárůst bakterie *P. acnes* nežli konopnobylinné extrakty, který byl vždy větší o 30 % a více.

Krémy byly vytvořeny a testovány z důvodu prokázání jejich antimikrobiálního účinku vůči *P. acnes*. Tato bakterie je schopna zasahovat proti nežádoucím patogenům a tím udržuje vyrovnanost mikrobiomu. Pokud se tato bakterie přemnoží dochází její činností k narušení folikulu, což způsobuje prostup dalších bakterií do kůže a dochází ke vzniku akné. Krémy obsahují nízkou koncentraci aktivních látek, aby nedocházelo k podráždění pokožky. Vyšší koncentrace léčivých látek zvyšuje cenu produktu, což se výrobcům nevyplácí.

Z důvodu toho mají krémy nižší antimikrobiální účinek, ale při dlouhodobém používání by mělo dojít k zlepšení stavu pokožky. Krém se využívá u suché pokožky, má pokožku zklidňovat

a udržovat její zdravou mikroflóru kůže. Byliny a konopí mohou dodávat krému protizánětlivý účinek a díky tomu nemusí docházet k vytváření komedonů.

7 LITERATURA

- [1] JIRÁSEK, Václav a František STARÝ. *Atlas léčivých rostlin*. 2. vyd. Praha: SPN, 1986. Obrazové atlasy (Státní pedagogické nakladatelství).
- [2] STARÝ, František. *Rostliny pro zdraví*. Praha: Aventinum, 2015. ISBN 978-80-7442-059-7.
- [3] MIOVSKÝ, Michal. *Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-0865-2.
- [4] JAHODÁŘ, Luděk. *Léčivé rostliny v současné medicíně: (co Mattioli ještě nevěděl)*. Praha: Havlíček Brain Team, 2010. ISBN 978-80-87109-22-9.
- [5] ŠNOBL, Josef. *Rostlinná výroba IV.: (chmel, len, konopí, využití biomasy k energetickým účelům)*. V Praze: Česká zemědělská univerzita, Agronomická fakulta, Katedra rostlinné výroby, 2004. ISBN 80-213-1153-3.
- [6] PILÁT, Albert. *Kapesní atlas rostlin*. 7. vyd. Praha: SPN, 1976. Obrazové soubory.
- [7] ALLARDICE, Pamela, Mim BEIM, Diane CROSS, Sarí HARRAR, Jayne TANCRED, Mariska van AALST a Rachel Warren CHADD. *Příroda ve službách zdraví: rostliny, doplňky, způsoby léčby*. Vydání druhé, upravené. Praha: Tarsago Česká republika, 2020. Reader's Digest. ISBN 978-80-7406-399-2.
- [8] RICHTER, Miloš. *Léčivé rostliny*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1971. ISBN 07-031-71 - 04/.
- [9] JANČA, Jiří a Josef Antonín ZENTRICH. *Herbář léčivých rostlin*. Praha: Eminent, 1999. ISBN 80-7281-000-67.
- [10] TSAO, Rong. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*. 2010, **2**(12), 1231-1246. DOI: 10.3390/nu2121231. ISSN 2072-6643. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/2072-6643/2/12/1231>
- [11] FALCONE FERREYRA, María L., Sebastián P. RIUS a Paula CASATI. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science*. 2012, **3**(12), 1231-1246. DOI: 10.3389/fpls.2012.00222. ISSN 1664-462X. Dostupné také z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2012.00222/abstract>
- [12] LORENZO, José Manuel, Paulo Eduardo Sichetti MUNEKATA a Paula CASATI. Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in food. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2016, **6**(8), 709-719. DOI: 10.1016/j.apjtb.2016.06.010. ISSN 22211691. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2221169116300272>
- [13] FABRESSE, Nicolas, Jenny BECAM, Laura CARRARA, et al. *Toxicologie Analytique et Clinique*. 2019, **31**(3). DOI: 10.1016/j.toxac.2019.06.002. ISSN 23520078. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352007819302045>
- [14] KIS, Brigitta, Feng Chen IFRIM, Valentina BUDA, et al. Cannabidiol—from Plant to Human Body: A Promising Bioactive Molecule with Multi-Target Effects in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, **20**(23). DOI: 10.3390/ijms20235905. ISSN 1422-0067. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/23/5905>

- [15] DE PETROCELLIS, Luciano a Vincenzo DI MARZO. *An introduction to the endocannabinoid system: from the early to the latest concepts*. 2009, **23**(1), 1-15. DOI: 10.1016/j.beem.2008.10.013. ISSN 1521690X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521690X08001437>
- [16] MOTTIN, Vitória H. M. a Edna S. SUYENAGA. An approach on the potential use of probiotics in the treatment of skin conditions: acne and atopic dermatitis. *International Journal of Dermatology*. 2018, **57**(12), 1425-1432. DOI: 10.1111/ijd.13972. ISSN 00119059. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/ijd.13972>
- [17] WEYRICH, Laura S, Shreya DIXIT, Andrew G FARRER, Alan J COOPER a Alan J COOPER. The skin microbiome: Associations between altered microbial communities and disease. *Australasian Journal of Dermatology*. 2015, **56**(4), 268-274. DOI: 10.1111/ajd.12253. ISSN 00048380. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/ajd.12253>
- [18] SFRISO, R., M. EGERT, M. GEMPELER, R. VOEGELI a R. CAMPICHE. Revealing the secret life of skin - with the microbiome you never walk alone: Associations between altered microbial communities and disease. *International Journal of Cosmetic Science*. 2020, **42**(2), 116-126. DOI: 10.1111/ics.12594. ISSN 0142-5463. Dostupné také z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ics.12594>
- [19] PERRY, A.L. a P.A. LAMBERT. Propionibacterium acnes. *Letters in Applied Microbiology* [online]. 2006, **42**(3), 185-188 [cit. 2020-02-01]. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2006.01866.x. ISSN 0266-8254. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1472-765X.2006.01866.x>
- [20] KOMURO, Akihiko. *Kampo Medicines for Infectious Diseases. Japanese Kampo Medicines for the Treatment of Common Diseases: Focus on Inflammation* [online]. Elsevier, 2017, 2017, , 127-142 [cit. 2020-02-11]. DOI: 10.1016/B978-0-12-809398-6.00014-7. ISBN 9780128093986. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128093986000147>
- [21] NEVORALOVÁ, Zuzana, Jarmila RULCOVÁ a Nina BENÁKOVÁ. *Obličejové dermatózy*. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Mladá fronta, 2018. Aeskulap. ISBN 978-80-204-4891-0.
- [22] KHAN, Alisha, Thu Thu AUNG a Debanik CHAUDHURI. The First Case of Native Mitral Valve Endocarditis due to Micrococcus luteus and Review of the Literature. *Case Reports in Cardiology*. 2019, **2019**, 1-3. DOI: 10.1155/2019/5907319. ISSN 2090-6404. Dostupné také z: <https://www.hindawi.com/journals/cric/2019/5907319/>
- [23] KOPECKÁ, Jana a Gabriela ROTKOVÁ. *Skripta ke cvičení z obecné mikrobiologie, cytologie a morfologie bakterií*. Brno: Tribun EU, 2016. ISBN 978-80-263-1123-2.
- [24] JELÍNEK, Jan a Vladimír ZICHÁČEK. *Biologie pro gymnázia: (teoretická a praktická část)*. 10. vyd. Olomouc: Nakladatelství Olomouc, 2013. ISBN 978-80-7182-333-9.

- [25] JIRÁSEK, Lubor. *Dermatologie a venerologie pro studující stomatologie*. 2/1 1974. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, n. p., Praha 1, 1974.
- [26] RÖCKEN, Martin, Martin SCHALLER, Elke SATTLER a Walter H. C. BURGDORF. *Kapesní atlas dermatologie*. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-271-0106-1.
- [27] ABDO, Joseph M., Nikolai A. SOPKO a Stephen M. MILNER. The applied anatomy of human skin: A model for regeneration. *Wound Medicine*. 2020, **28**. DOI: 10.1016/j.wndm.2020.100179. ISSN 22139095. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213909520300033>
- [28] ŠTORK, Jiří. *Dermatovenerologie*. Praha: Galén, c2008. ISBN 978-807-2623-716.
- [29] RULCOVÁ, Jarmila. *Akné: příčiny, projevy a terapeutické možnosti : rady lékaře*. Praha: Triton, 2005. ISBN 80-725-4661-9.
- [30] KASSIR, Martin, Priyanka KARAGALIAH, Sidharth SONTHALIA, et al. Selective RAR agonists for acne vulgaris: A narrative review. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2020. DOI: 10.1111/jocd.13340. ISSN 1473-2130. Dostupné také z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jocd.13340>
- [31] NEVORALOVÁ, Zuzana. *Léčba akné v ordinaci pediatra*. Olomouc: Solen, 2009. ISBN 978-80-254-3987-6.
- [32] KRUTMANN, Jean. *Dermatological phototherapy and photodiagnostic methods*. New York: Springer, 2001. ISBN 35-406-7789-5.
- [33] LATTE, Gemma, Jeffrey E. GRICE, Yousuf MOHAMMED, Michael S. ROBERTS a Heather A. E. BENSON. Targeted Topical Delivery of Retinoids in the Management of Acne Vulgaris: Current Formulations and Novel Delivery Systems. *Pharmaceutics*. 2019, **11**(10). DOI: 10.3390/pharmaceutics11100490. ISSN 1999-4923. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/1999-4923/11/10/490>
- [34] GOLLNICK, Harald P.M., Andrea KRAUTHEIM, Yousuf MOHAMMED, Michael S. ROBERTS a Heather A. E. BENSON. Topical Treatment in Acne: Current Status and Future Aspects. *Dermatology*. 2003, **206**(1), 29-36. DOI: 10.1159/000067820. ISSN 1421-9832. Dostupné také z: <https://www.karger.com/Article/FullText/67820>
- [35] CHEN, Wangqing, Shuang ZHAO, Wu ZHU, Lisha WU a Xiang CHEN. Retinoids as an Immunity-modulator in Dermatology Disorders. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2019, **67**(6), 355-365. DOI: 10.1007/s00005-019-00562-5. ISSN 0004-069X. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00005-019-00562-5>
- [36] PATEL, Viral M., Robert A. SCHWARTZ, W. Clark LAMBERT, Michael S. ROBERTS a Heather A. E. BENSON. Topical antibiotics in pregnancy: A review of safety profiles. *Dermatologic Therapy*. 2019, **11**(10), 29-36. DOI: 10.1111/dth.12951. ISSN 1396-0296. Dostupné také z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/dth.12951>
- [37] FICHEUX, Anne-Sophie, Marie-Pierre GOMEZ-BERRADA, Alain-Claude ROUDOT a Pierre-Jacques FERRET. Consumption and exposure to finished cosmetic products: A systematic review. *Food and Chemical Toxicology*. 2019, **124**, 280-299.

- DOI: 10.1016/j.fct.2018.11.060. ISSN 02786915. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691518308627>
- [38] JELÍNKOVÁ, Ilona. *Klinická propedeutika pro střední zdravotnické školy*. Praha: Grada, 2014. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-5093-4.
- [39] CHALABALA, Milan. *Liekové formy: učebnica pre farmaceut. fakulty*. 2., preprac. a dopl. vyd. Martin: Osveta, 1992. ISBN 80-217-0154-4.
- [40] KÁBELOVÁ, Božena, Ivana PILÁTOVÁ a Zdeňka HANÁKOVÁ. *Laboratorní technika II*. Brno: VUTIUM, 1999. ISBN 80-214-1450-2.
- [41] KUCHAR, Miroslav. *Farmaceutický encyklopedický slovník*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2014. ISBN 978-80-7080-876-4.
- [42] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Třetí, upravené vydání. Ostrava: Pavel Klouda - nakladatelství Pavko, 2016. ISBN 978-80-86369-22-8.
- [43] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [44] L.C. PASSOS, Marieta a M. Lúcia M.F.S. SARAIVA. *Measurement*. 2019, **135**. DOI: 10.1016/j.measurement.2018.12.045. ISSN 02632241. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0263224118311904>
- [45] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.

8 SEZNAM ZKRATEK

ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina))

BHI brain heart infusion

CCM Česká sbírka mikroorganismů

HPLC Vysokoučinná kapalinová chromatografie

ELISA Enzymatická imunoanalýza

NB Nutrient Broth

TEAC Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

UV Záření v ultrafialové oblasti spektra

VIS Záření ve viditelné oblasti spektra

9 PŘÍLOHY

Tabulka 7: Obsah celkových polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivita ve vzorcích z bylin

Vzorek	Koncentrace <i>c</i> [mg/g]		Koncentrace <i>c</i> [mg teac/g]
	Polyfenoly	Flavonoidy	Antioxidační aktivita
Arnika horská	39,64 ± 0,50	39,24 ± 2,68	48,19 ± 0,38
Fenykl obecný	1,78 ± 0,12	1,66 ± 0,03	2,75 ± 0,02
Konopí Ferimon	23,90 ± 1,19	7,01 ± 0,41	6,99 ± 0,06
Kontryhel obecný	33,20 ± 0,93	14,61 ± 1,05	51,08 ± 0,31
Pískavice řecké seno	8,68 ± 0,33	1,81 ± 0,04	3,39 ± 0,03
Popenec břechťanolistý	14,92 ± 0,31	14,20 ± 0,74	48,70 ± 0,23
Řebříček obecný	11,18 ± 0,88	1,26 ± 0,07	13,98 ± 0,08
Třezalka tečkovaná	38,63 ± 3,57	16,27 ± 0,78	25,70 ± 0,04

Tabulka 8: Obsah celkových polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivita v konopnobylinných vzorcích

Vzorek	Koncentrace <i>c</i> [mg/g]		Koncentrace <i>c</i> [mg teac/g]
	Polyfenoly	Flavonoidy	Antioxidační aktivita
Arnika horská	42,15 ± 4,10	23,29 ± 2,15	20,70 ± 0,08
Fenykl obecný	12,40 ± 1,11	3,74 ± 0,16	4,52 ± 0,04
Kontryhel obecný	41,82 ± 1,55	9,04 ± 0,53	10,75 ± 0,02
Pískavice řecké seno	27,53 ± 0,76	3,70 ± 0,10	12,93 ± 0,08
Popenec břechťanolistý	23,83 ± 0,69	8,53 ± 0,76	6,79 ± 0,05
Řebříček obecný	12,56 ± 0,88	4,75 ± 0,21	7,98 ± 0,03
Třezalka tečkovaná	20,63 ± 0,96	14,59 ± 0,52	12,82 ± 0,04

Tabulka 9: Obsah kanabinoidů ve vzorcích

Kanabinoid	CBD + CBG	CBC
Extrakt	Koncentrace <i>c</i> [μg/g]	
Konopný	2753	87

Tabulka 10: Hodnoty účinnosti bylinných a konopnobylinných extraktů proti *Propionibacterium acnes*

Extrakty	Bylinné			Konopnobylinné		
	5	2,5	1,25	5	2,5	1,25
Roztoky [%]	Účinnost [%]					
Arnika horská	80,17	86,09	38,21	38,5	19,8	48,6
Fenykl obecný	36,13	72,76	28,25	2,8	30,7	57,4
Konopí Ferimon	87,57	87,20	12,99	–	–	–
Kontryhel obecný	89,61	67,60	33,74	31,1	39,1	50,4
Pískavice řecké seno	56,98	76,83	50,28	4,6	47,8	61,6
Popenec břechťanolistý	53,47	44,63	72,76	50,9	39,5	47,3
Řebříček obecný	21,13	30,73	41,06	71,5	26,3	60,5
Třezalka tečkovaná	60,18	81,87	37,86	47,6	34,7	44,0

Tabulka 11: Hodnoty účinnosti bylinných a konopnobylinných extraktů proti *Micrococcus luteus*

Extrakty	Bylinné			Konopnobylinné	
	5	2,5	1,25	5	2,5
Roztoky [%]	Účinnost [%]				
Arnika horská	47,84	52,96	16,21	87,12	70,55
Fenykl obecný	85,38	45,88	15,06	78,21	80,54
Konopí Ferimon	70,43	35,48	58,72	–	–
Kontryhel obecný	56,59	51,80	43,91	73,16	80,14
Pískavice řecké seno	61,36	51,29	40,11	85,13	83,32
Popenec břechťanolistý	55,32	64,43	21,84	71,62	89,07
Řebříček obecný	86,34	58,38	12,35	62,84	88,13
Třezalka tečkovaná	14,10	58,63	65,17	64,19	88,13

Tabulka 12: Hodnoty účinnosti krémů s obsahem konopnobylinných extraktů

Mikroorganismy	<i>Propionibacterium acnes</i>		<i>Micrococcus luteus</i>	
	1	5	1	5
Krémy [%]	Účinnost [%]			
Arnika horská	50,48	7,69	15,14	10,91
Fenykl obecný	14,21	14,75	10,74	46,81
Ferimon	–	21,19	10,01	–
Kontryhel obecný	49,61	–	37,07	41,08
Pískavice řecké seno	25,53	–	49,27	48,80
Popenec břechťanolistý	41,78	–	2,51	–
Řebříček obecný	20,49	5,21	–	23,97
Třezalka tečkovaná	–	37,56	15,44	20,52