



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

ANTIMIKROBIÁLNÍ ÚČINKY EXTRAKTŮ Z ROSTLIN NA KVASINKOVÉ PŮVODCE KOŽNÍCH MYKÓZ

THE ANTIMICROBIAL EFFECTS OF PLANT EXTRACTS AGAINST YEAST SKIN MYCOSES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Gyöngyi Posztósová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1464/2018 Akademický rok: 2018/19
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Gyöngyi Posztósová**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Antimikrobiální účinky extraktů z rostlin na kvasinkové původce kožních mykóz

Zadání bakalářské práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí úkoly:

1) literární rešerše, která pojednává o:

- přehledu nejčastějších kožních povrchových mykóz s kvasinkovým původem
 - charakterizaci rostlinných zdrojů přírodních látek s antimikrobiálním účinkem, možnosti využití různých částí rostliny, obsahu vybraných aktivních látek
- 2) stanovení a charakterizace aktivních látek z vybraných částí rostlin
- 3) návrh a testování kosmetického výrobku proti mykózám s obsahem aktivních látek z rostlin

Termín odevzdání bakalářské práce: 24.5.2019:

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

Gyöngyi Posztósová
student(ka)

Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Povrchové kožné mykózy sú relatívne rozšírené a postihujú stále viac ľudí. V súčasnosti sa na terapiu mykóz používajú liečivá ako ketokonazol, flukonazol a iné. Na tieto liečivá sa patogény občas stanú rezistentné. Vhodným riešením by mohli byť liečivé byliny, ktoré majú dlhú históriu v alternatívnej medicíne.

Táto bakalárska práca sa zaoberá štúdiom antimykotického účinku vybraných rastlín. Boli pripravené etanolové extrakty z bazalky, betoniky, eukalyptu, kurkumovníku, pakostu, pamajoránu a všehoja. Teoretická časť práce obsahuje literárnu rešerš o prehľade najčastejšie sa vyskytujúcich dermatomykóz. Opisuje rastliny, ako zdroje prírodných látok s antimikrobiálnym účinkom a obsah vybraných aktívnych látok.

Experimentálna časť práce je zameraná na analýzu rastlinných extraktov. Stanovoval sa obsah celkových polyfenolov, flavonoidov a antioxidačnej aktivity. Ďalej bola sledovaná antimikrobiálna aktivita proti kvasinke *Candida glabrata* a proti predstaviteľom G- a G+ baktérií, konkrétne *Escherichia coli* a *Micrococcus luteus*. Nakoniec boli pripravené a testované kozmetické výrobky s prídavkom rastlinného extraktu proti mykózam.

ABSTRACT

Superficial cutaneous mycoses are relatively widespread and affect more and more people. Currently are used drugs as ketoconazole, fluconazole and others to treat mycoses. Pathogens occasionally become resistant to these drugs. Medicinal plants have a long history in alternative medicine and they could be a good solution.

This bachelor thesis deals with the study of antifungal activity of selected plants. Were prepared ethanol extracts of basil, betony, eucalyptus, turmeric, geranium, oregano and ginseng. The theoretical part of thesis contains a review of the most frequently occurring dermatomycoses. It describes plants as sources of natural substances with antimicrobial effect and the content of selected active substances.

The experimental part is focused on the analysis of plant extracts. Was determined the content of total polyphenols, flavonoids and antioxidants. The antimicrobial activity was monitored against yeast *Candida glabrata* and against G- and G+ bacteria, specifically *Escherichia coli* and *Micrococcus luteus*. Finally, the cosmetic products with the addition of plant extract were prepared and tested against mycoses.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

Dermatomykózy, kvasinky, aktívne látky, liečivé rastliny

KEYWORDS

Dermatomycoses, yeast, active substances, medicinal plants

POSZTÓSOVÁ, G. *Antimikrobiální účinky extraktů z rostlin na kvasinkové původce kožních mykóz*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2019. 55 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Andrea Hároniková, Ph.D..

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som bakalársku prácu vypracovala samostatne a všetky použité literárne zdroje som správne a úplne citovala. Bakalárska práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brne a môže byť využitá ku komerčným účelom len so súhlasom vedúceho bakalárskej práce a dekana FCH VUT.

.....
podpis študenta

POĎAKOVANIE

Rada by som poďakovala vedúcej mojej bakalárskej práce Ing. Andrei Háronikovej, Ph.D., za odborné vedenie, pomoc, čas a trpezlivosť pri riešení problémov. Moje poďakovanie patrí aj rodičom a rodine za ich podporu počas celého štúdia.

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČASŤ	9
2.1	Mykózy	9
2.1.1	Dermatofytózy	10
2.1.2	Kandidózy	11
2.1.3	Ostatné povrchové mykózy.....	12
2.1.4	Vznik a priebeh mykóz	13
2.1.5	Faktory ovplyvňujúce mykózy.....	14
2.1.6	Liečba mykóz	14
2.1.6.1	Polyénové antimykotiká	14
2.1.6.2	Imidazolové antimykotiká.....	15
2.1.6.3	Triazolové antimykotiká	15
2.1.6.4	Ostatné antimykotiká	16
2.1.7	Prevenčia.....	16
2.2	Liečivé rastliny	16
2.2.1	Obsahové látky	16
2.2.1.1	Alkaloidy	16
2.2.1.2	Flavonoidy.....	17
2.2.1.3	Triesloviny (taníny).....	17
2.2.1.4	Terpenoidy	17
2.2.1.5	Saponíny	17
2.2.1.6	Sacharidy	18
2.2.1.7	Fenolové zlúženiny	18
2.2.2	Najčastejšie používané časti rastlín.....	18
2.2.2.1	Vnať (Herba).....	19
2.2.2.2	Kvet (Flos)	19
2.2.2.3	List (Folium)	19
2.2.2.4	Koreň (Radix) a podzemok (Rhizoma).....	19
2.2.3	Použité rastliny	20
2.2.3.1	Bazalka pravá (Ocimum basilicum).....	20
2.2.3.2	Betonika lekárska (Stachys officinalis).....	20
2.2.3.3	Eukalyptus guľatoplodý (Eucalyptus globulus).....	21

2.2.3.4	Kurkumovník dlhý (<i>Curcuma longa</i>)	22
2.2.3.5	Pakost smradľavý (<i>Geranium robertianum</i>).....	22
2.2.3.6	Pamajorán obyčajný (<i>Origanum vulgare</i>)	23
2.2.3.7	Všehoj ázijský (<i>Panax ginseng</i>)	24
3	SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY	25
4	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	28
4.1	Použitie chemikálie, prístroje a mikroorganizmy.....	28
4.1.1	Chemikálie.....	28
4.1.2	Prístroje.....	28
4.1.3	Mikroorganizmy	29
4.1.4	Materiál	29
4.2	Príprava rastlinných extraktov	29
4.3	Príprava kozmetických výrobkov	30
4.3.1	Dermálny roztok	30
4.3.2	Jemný čistiaci gél.....	31
4.3.3	Krém s oxidom zinočnatým	31
4.3.4	Zakúpené prípravky	32
4.4	Stanovenie aktívnych látok v rastlinných extraktoch	33
4.4.1	Stanovenie celkových polyfenolov	33
4.4.2	Stanovenie celkových flavonoidov	33
4.4.3	Stanovenie antioxidačnej aktivity	33
4.5	Stanovenie antimikrobiálnej aktivity.....	34
4.5.1	Príprava živných médií.....	34
4.5.2	Agarový difúzny test	35
5	VÝSLEDKY A DISKUSIA	36
5.1	Stanovenie celkových polyfenolov	36
5.1.1.	Etanolové extrakty.....	36
5.1.2.	Kozmetické prípravky	37
5.2	Stanovenie celkových flavonoidov.....	37
5.2.1	Etanolové extrakty.....	37
5.2.2	Kozmetické prípravky	39
5.3	Stanovenie antioxidačnej aktivity	39
5.3.1	Etanolové extrakty.....	39

5.3.2	Kozmetické prípravky	40
5.4	Antimikrobiálna aktivita	41
5.4.1.	Etanolové extrakty	41
5.4.2.	Dermálny roztok	42
5.4.3.	Jemný čistiaci gél	42
5.4.4.	Krém s oxidom zinočnatým	42
5.4.5.	Zakúpené krémy	43
6	ZÁVER	44
7	ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV	45
8	ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV	53
9	PRÍLOHY	54

1 ÚVOD

Kožné mykózy patria medzi najčastejšie sa vyskytujúce kožné ochorenia. Tieto infekčné dermálne ochorenia postihujú pokožku, sliznice ale aj nechty. Ich pôvodcom sú mikroskopické huby, najčastejšie dermatofyty (vláknité huby) alebo kvasinky. Infikovať sa môžu všetky vekové kategórie, ale ohrození sú najmä diabetici a jedinci s oslabeným imunitným systémom. Ochorenie sa šíri kontaminovanými predmetmi alebo priamym kontaktom. Pre rast a rozmnožovanie húb je ideálne vlhké, tmavé a teplé prostredie. Mikroskopické huby sú vysoko prispôsobivé organizmy a za nevhodných podmienok dokážu vegetovať vo forme spór. Proti mykózam neexistuje trvalá imunita a k opakovaným infekciám dôjde pomerne často. Na liečbu mykóz sa v súčasnosti používajú antimykotiká. Tieto syntetické liečivá majú však množstvo nevýhod, môžu vyvolať nežiaduce účinky alebo po dlhodobom liečení sa patogény stanú rezistentnými.

História používania bylín je takmer rovnako stará ako ľudská civilizácia. Väčšina dnes používaných bylín bola známa už v staroveku. Výskumníci zistili, že niektoré rastliny sú často vhodnejšie na liečbu miernych príznakov ako silné chemické látky, preto liečivé bylinky zažívajú svoju renesanciu. V mnohých prípadoch sa ukázalo, že byliny obsahujú súčasne niekoľko účinných látok, a preto sú schopné pôsobiť súbežne na viacero problémov. Na trhu každú chvíľu môžeme nájsť viac výrobkov obsahujúcich rastlinné oleje alebo extrakty. Terapeutický účinok rastlín závisí na obsahu aktívnych látok.

Práca je zameraná na liečivé rastliny a ich aplikáciu v produktoch proti mykózam. Teoretická časť práce sa zaoberá samotným ochorením, jeho formami a pôvodcami. Ďalej sú popísané rastliny použité na výrobu extraktov. V rámci experimentálnej časti bol stanovený obsah celkových polyfenolov a flavonoidov v rastlinných extraktoch aj ich antioxidačná a antimikrobiálna aktivita. Súčasťou práce bolo aj navrhnutie a príprava kozmetického prípravku určeného na dermatomykózy, ktorý bol následne testovaný.

2 TEORETICKÁ ČASŤ

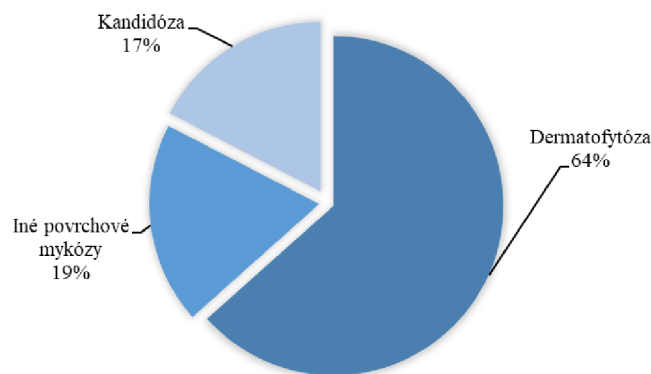
2.1 Mykózy

Mykózy patria medzi najrozšírenejšie infekčné ochorenia a sú vyvolané mikroskopickými hubami (plesňami a kvasinkami). Podľa klasifikácie sa zaraďujú do kmeňa *Eumycophyta*, ktorého trieda *Deuteromycetes* je najdôležitejšia z hľadiska ľudskej patológie. Zahrňuje takmer všetky patogénne druhy mikroskopických húb. Hubové mikroorganizmy sú veľmi rozšírené v prírode. Vyskytujú sa vo vzduchu, vode, pôde, v plesnivých potravinách, na rastlinách, na koži a na slizniciach ako saprofyty alebo parazity. Do hostiteľa prenikajú viacerými spôsobmi ako je napríklad vdýchnutie alebo kontaminovanou potravou. Mykotické infekcie kože, vlasov, nechtov, slizníc a vnútorných orgánov postihujú všetky ľudské rasy, ľudí každého veku a obidvoch pohlaví. Podľa lokalizácie sa mykózy delia na lokálne a systémové mykózy [1].

Lokálne mykózy

Kožné mykózy sú zápalové infekčné ochorenia, postihujú hlbšie vrstvy kože, niektoré typy aj sliznice, nechty a vlasy. Mykotické ochorenia kože a kožných derivátov môžu byť spôsobené dermatofytmi, kvasinkami alebo oportúnnymi hyfomycétami. Podľa Medzinárodnej spoločnosti pre ľudskú a veterinárnu mykológiu (ISHAM) sa dermatomykózy delia na:

- Tinea (dermatofytózy)
- Kandidózy
- Iné dermatomykózy [2]



Obrázok 1 – Pomer výskytu lokálnych mykóz v SR (údaje z roku 2017 [3])

Systémové mykózy

Systémovými mykózami nazývame ťažké postihnutia tkanív a orgánov mikroskopickými hubami v dôsledku oslabenia imunitného systému. Ochorenie je narastajúcim medicínskym problémom. Zväčšuje sa počet pacientov so zníženou obranyschopnosťou a inými rizikovými faktormi. Problém spôsobuje aj odolnosť niektorých kvasiniek na antimykotiká. Najčastejším pôvodcom systémových mykóz sú *Candida spp.* a *Aspergillus spp.*, ale stále sa objavujú aj iné druhy vláknitých húb a kvasiniek. Najrozšírenejšie je orgánové postihnutie pľúc, pečene, sleziny, obličiek a močových ciest [4].

2.1.1 Dermatofytózy

Dermatomykózy vyvolané vláknitými hubami (dermatofytmi) sa označujú dermatofytózy alebo tinea. Dermatofyta sú patogénne mikroskopické keratofilné vláknité huby – parazitujú na keratínových štruktúrach kože. Z epidemiologického hľadiska podľa primárneho hostiteľa sa delia na antropofilné (primárnym hostiteľom je človek – *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Epidermophyton floccosum*), zoofilné (primárnym hostiteľom je zvieratá, ktoré môže infikovať človeka – *Microsporum canis*, *Trichophyton verrucosum*) a geofilné (kontaminujú pôdu a príležitostne môžu byť patogénne pre človeka aj zvieratá – *Trichophyton terrestre*, *Microsporum gypsum*). Človek sa môže nakaziť priamym alebo nepriamym kontaktom s infikovanou osobou, zvierateľom alebo s kontaminovanou pôdou. Podľa lokalizácie sa delia na tinea capitis, tinea corporis, tinea manus, tinea pedis a tinea unguium. Nižšie sú usporiadané podľa frekvencie výskytu [1, 5].

- **Tinea pedis**

Je jedna z najčastejších foriem dermatofytózy. Postihnuté sú medziprstné priestory nôh. Pôvodcom môže byť *Trichophyton rubrum*, *T. interdigitale* a *Epidermophyton floccosum*. Najčastejšie sa vyskytuje u mužov stredného veku, hlavne u osôb s nadmerným potením nôh. K nákaze môže prísť návštevou „rizikových“ zariadení, ako sú bazény, telocvične, spoločné sprchy, kde sa chodí bosými nohami po kontaminovaných podlahách. Rozlišujeme tri základné formy tinea pedis. Interdigitálna forma postihuje hlavne osoby so zvýšenou potivosťou nôh. Začína najčastejšie na 4. medziprstí ako biela macerovaná koža. Hyperkeratotická forma je charakterizovaná červenými ložiskami s drobným olupovaním na plôške, na päte a hranách nohy. Vezikulobulózna forma sa prejavuje výsevmi vezikúl a pustúl na plôškach. Je silne svrbivá. Liečba je lokálna a dlhodobá. Používajú sa púdre, gély, krémy a masti s imidazolom alebo drahšími alylamínmi. Súčasťou prevencie je osušovanie medziprstného priestoru, nosenie bavlnených ponožiek a vzdušnej obuvi. Bez prevencie sa ochorenie môže vrátiť [5, 6].

- **Tinea unguium (onychomykóza)**

Tinea unguium označuje mykotické ochorenia nechtov. Najčastejšími vyvolávateľmi sú rody *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum*. Necht je zhrubnutý, sfarbený do žltá až siva. Ochorenie je veľmi nákazlivé, môže sa prenášať na iné časti tela dokonca aj na druhé osoby. Najčastejšie sa nadväzuje na tinea pedis, príčinou môžu byť aj znečistené nástroje pedikúry. Terapia je pomerne ťažká a ovplyvňuje ju rad faktorov. Dôležitá je prevencia, ktorej základom je hygiena, vysušenie medziprstných priestorov a nosenie vzdušnej obuvi. Pri lokálnej liečbe sa používa antimykotikum s dobrou penetračnou schopnosťou, najlepšie roztok alebo nechtový lak s amorfolinom. Ďalšou možnosťou je liečba spojená s odstránením infikovanej časti nechtu. K perorálnej liečbe sa pristupuje len vtedy, ak sú postihnuté nechty palcov na nohe, 4 a viac ostatných nechtov alebo po 6 mesiacoch lokálnej liečby nie je vidieť žiadny efekt [5, 6].

- **Tinea corporis**

Táto forma postihuje neochlpenú časť tváre, trup a končatiny. Intenzita zápalu závisí od pôvodcov, ktorými sú *Epidermophyton floccosum* a *Trichophyton rubrum*. Patologické ložiská sú suché, svetlé, okrúhle, presne ohraničené. Postihuje osoby stredného veku

so zníženou imunitou. Je veľmi nákazlivá, prenos je možný z človeka, z dobytká alebo nepriamou cestou.

Povrchové dermatomykózy je možné liečiť lokálne krémom s obsahom imidazolov, alylamínu alebo cyklopiroxolamínu. Dobre reaguje na lokálnu liečbu ale pri vážnejších formách je potrebná celková liečba, kedy sa podáva itrakonazol, flukonazol alebo ketokonazol [2, 5].

- **Tinea capitis**

Je ochorenie typické pre detský vek. Pôvodcom infekcie je *Microsporum canis*, ktorý sa prenáša zo zvierat, hlavne z mačiek na človeka. Postihuje obočie, riasy a ovlasenú časť hlavy, kde sa prejavuje okrúhlymi ložiskami s olupujúcim sa povrchom. Liečba je systémová, lokálna liečba pomocou antimykotických roztokov je len doplnková. Liekom prvej voľby je terbinafín prípadne itrakonazol [5].

- **Tinea manus**

Dermatofytóza rúk je pomerne vzácna. Spravidla ide o infekciu prenesenú z nôh, preto sa väčšinou vyskytuje s tinea pedum. Často je postihnutá len jedna ruka ale obe nohy. Na dlaniach sú príznaky veľmi podobné ekzému či psoriáze. K diagnóze je potrebné laboratórne vyšetrenie. Lieči sa lokálne niektorým z imidazolových derivátov [5, 6].

2.1.2 Kandidózy

Kandidózy sú spôsobené kvasinkami a najčastejším vyvolávateľom je *Candida albicans*, ďalšími pôvodcami sú *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*. Kandidy žijú na slizniciach tráviaceho a genitálneho traktu, sú súčasťou kožnej mikroflóry. Klinické príznaky vyvolávajú len výrazným premnožením v prítomnosti predispozičných faktorov. Medzi tieto faktory patrí vlhkosť, teplo, porušenie kyslosti kože, obezita, oslabenie imunity, aplikácia antibiotík, cytostatík a hormonálnej antikoncepcie. Kandidózy postihujú väčšinou kožu, sliznice a nechty. U osôb s normálnou imunitou sa kožná kandidóza lieči lokálne. Celkovú liečbu vyžadujú len rezistentné alebo rozsiahle prípady [7].

- **Kandidové paronychium a kandidová onychomykóza**

Okraje postihnutých nechtov sú začervenané, zdurené a bolestivé. Tlakom na paronychium môžeme vytlačiť kvapku hustej belavej hnisavej tekutiny. Nechtové platničky sú vo väčšine prípadov postihnuté sekundárne, zvyčajne vo svojej proximálnej časti. Na platničke sa vytvárajú priečne ryhy, necht stráca lesk a získava špinavožltohnedé až zelenkavé farbenie. Stenčuje sa alebo naopak hrubne a rozpadáva sa. Nákaza postihuje predovšetkým ženy v domácnosti po častom máčaní rúk vo vode, cukrárov a niekedy po manikúre [1].



Obrázok 2 – Kandidové paronychium [8]

- **Intertriginózna kandidóza**

Tento typ kandidózy postihuje predovšetkým veľké a malé kožné záhyby, ako sú priestory medzi prstami, pod prsníkmi alebo miesta vlhkého zaparenia. Prejavuje sa s tenkostennými zakalenými vezikulami, ktoré splývajú a rýchlo praskajú. Vzniká tak červené, ohraničené, mokvajúce ložisko. Okolo hlavného ložiska je typický rozsev drobných vezikuliek a pustuliek. Lézia páli a svrbí [1].

2.1.3 Ostatné povrchové mykózy

- **Pityriasis versicolor**

Je to častá infekcia povrchovej časti pokožky spôsobená lipofilnými kvasinkami rodu *Malassezia*, s tromi dominantnými druhmi: *M. furfur*, *M. globosa* a *M. sympodialis*. Na pigmentovanej pokožke sa prejavuje škvrnami bielej farby a na nepigmentovanej pokožke hnedej alebo ružovej farby, tým sú ohraničené od okolia. Majú rôzny tvar a odlišnú veľkosť. Prvotne sa vyskytuje na bočných častiach hrudníka, odkiaľ sa šíri na celý hrudník, krk, brucho a na horné končatiny. U detí sa často vyskytuje aj na tvári. Tinea versicolor bola hlásená po celom svete, ale prevláda v tropickom podnebí. Postihnutými sú najčastejšie mladí dospelí, ale vyskytuje sa u detí aj starších pacientov. Na povrchu ložísk je pozorovateľné mierne olupovanie šupín, v ktorých je možné mikroskopicky preukázať pôvodcu. Nákazlivosť je nízka, prenos je možný len priamym kontaktom. Najdôležitejšími predispozičnými faktormi sú teplo, vlhkosť, použitie olejových opaľovacích krémov a kortikosteroidov. Ochorenie je nezápalové, nebolestivé bez ťažkostí, spôsobuje len kozmeticky rušivý efekt. Pri liečbe sa lokálne používa antimykotický šampón, ale v 80 % prípadov dochádza k recidíve, vtedy sa používajú systémové antimykotiká [1, 5, 9].



Obrázok 3 – Prejav pityriasis versicolor na nepigmentovanej a pigmentovanej pokožke [10]

- **Piedra alba**

Pôvodcom tejto mykotickéj infekcie je kvasinka *Trichosporon cutaneum*. Choroba sa vyskytuje celosvetovo, najmä u mladých ľudí. Infekcia sa prejavuje malými a mäkkými, sivobielymi až červenohnedými uzlíčkami, ktoré sú pevne prichytené na vlasoch hlavy, ochlpení tváre a podpazušia. Východiskovým bodom infekcie je prítomnosť parazitickéj huby v tráviacom trakte. Liečba spočíva v oholení postihnutej oblasti s následnou aplikáciou antimykotických prípravkov [1].

- **Piedra nigra**

Vyvolávateľom je askomycéta *Piedraia hortai*. Postihuje najmä mladých jedincov oboch pohlaví v subtropických a tropických oblastiach Južnej Ameriky a na Ďalekom východe. Parazitická plesňová huba spôsobuje tvorbu čiernohnedých tvrdých uzlíkov na distálnej tretine vlasov. Prenos nákazy umožňuje použitie spoločného hrebeňa, kefy a nádob na umývanie vlasov. Liečba je rovnaká ako pri *Piedra alba* [1].

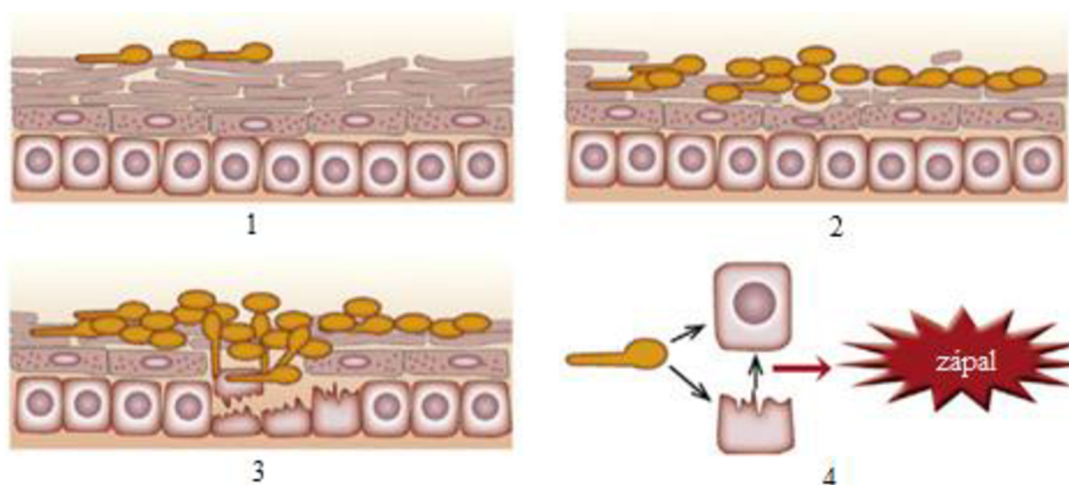
2.1.4 Vznik a priebeh mykóz

Huby sa v životnom prostredí človeka vyskytujú všeobecne a predstavujú potenciálne ohrozenie (mykózy, mykotoxikózy, mykoalergózy). Je však známe, že prirodzená alebo získaná rezistencia a imunita majú dominantnú úlohu v prevencii vzniku závažných mykotických infekcií. Najväčší význam zo zložiek prirodzenej imunity majú mechanické bariéry a fagocytické bunky. Aktivácia získanej imunity však zabezpečuje dlhodobú ochranu voči mikroorganizmom. Tento typ imunitnej obrany sa skladá z dvoch zložiek: humorálnej a bunkovej imunitnej odpovede [10].

Odolnosť u hostiteľa zaisťujú genetické faktory, hormonálne vplyvy, pohlavie, vek, stav kože a sliznice a imunitná odpoveď. Klinické prejavy dermatomykózy sa líšia v závislosti od druhu hostiteľa a pôvodcu. Niektoré infekcie môžu byť akútne a ich priebeh je rýchly, ďalšie sú chronické s malým počtom symptómov. Podľa virulencie môžeme hovoriť o primárnych patogénnych a oportúnnych hubách. Primárne patogény sú schopné vyvolať infekciu aj u zdravého jedinca. Oportúnne patogény spôsobujú infekcie hlavne u imunitne oslabených jedincov. Obranné mechanizmy však majú rovnaký princíp v celej oblasti mikrobiológie, týkajú sa okrem mykóz aj bakteriálnej, vírusovej alebo parazitárnej infekcie [10].

Typická mykotická infekcia patogénnymi kvasinkami a plesňami prebieha v štyroch krokoch:

1. prenos na povrch kože alebo sliznice
2. adhézia a infekcia povrchu, narušenie povrchových vrstiev
3. penetrácia do bunky
4. poškodenie bunky a reakcia hostiteľa (rozpoznanie, imunitná reakcia) [11]



Obrázok 4 – Priebeh infekcie [10]

Vo všeobecnosti všetky kožné patogény produkujú a vylučujú keratinolytické enzýmy, nazývané keratinázy. Tie poškadzujú vlasy a keratínové vrstvy kože, čo vyvoláva zápalovú reakciu v mieste infekcie. Infekcia môže byť povrchová, kedy je narušenie povrchových vrstiev len mierne. Hlboká infekcia je charakteristická rozsiahlejšou inváziou a vážnym poškodením, pri systémovej je patogén schopný vstúpiť do krvného riečiska. Najbežnejším patogénom u ľudí je *C. albicans*, ktorá sa vyskytuje v normálnej orálnej, vaginálnej a črevnej flóre. Ak je však rovnováha normálnej flóry narušená *Candida spp.* sa môže stať patogénnou [11].

2.1.5 Faktory ovplyvňujúce mykózy

Väčšina organizmov sa stáva patogénnym ak sú na to podmienky vhodné. Napríklad *Candida albicans* je bežnou súčasťou slizníc a stáva sa škodným pri narušení fyziologického prostredia. Nákazlivosť dermatomykóz je vysoká a závisí na druhu pôvodcu. Vznik mykotických ochorení môžu ovplyvniť aj ďalšie faktory:

- Diabetes mellitus a ďalšie metabolické a endokrinné ochorenia
- Primárna a sekundárna imunodeficiencia (thymická displázia, AIDS)
- Onkologické ochorenia
- Dlhodobá liečba antibiotikami alebo cytostatikami
- Používanie hormonálnej antikoncepcie alebo tehotenstvo
- Seniorský vek
- Obezita
- Nadmerné potenie a nepriedušná obuv, ponožky zo syntetického materiálu
- Používanie cudzieho uteráku, bielizne
- Charakter povolania [12]

2.1.6 Liečba mykóz

Liečba hubových ochorení môže byť lokálna alebo celková a používajú sa antimykotické liečivá. Antimykotiká majú fungistatický a fungicídny účinok. Podľa chemickej štruktúry sú delené do niekoľko skupín: polyénové antimykotiká, imidazolové antimykotiká, triazolové antimykotiká, echinokandiny a ostatné antimykotiká. Okrem antimykotík môžu byť súčasťou terapie keratoplastiká (podporujú tvorbu rohovej vrstvy) a keratolytiká (zmäkčujú rohovú vrstvu) [6].

Lokálna liečba je veľmi rozšírená. Na kožu sa aplikujú prípravky vo forme krému, roztoku, spreju alebo zasypu, na pokožku hlavy je možné použiť šampón. Na onychomykózu sa používa antimykotikum vo forme laku na nechty. V rámci lokálnej liečby sa používajú imidazolové a triazolové deriváty [13].

Celková terapia je potrebná pri postihnutí väčších lokalít, dlhotrvajúcich prejavov alebo u pacientov s oslabenou imunitou. Môže trvať niekoľko týždňov, niekedy aj mesiace. Použité lieky majú zvyčajne tabletovú formu a sú dostupné na lekárske predpis.

2.1.6.1 Polyénové antimykotiká

Polyénové antimykotiká sú chemicky príbuzné látky, ktoré sa získavajú z niektorých druhov streptomycét. S ergosterolom sa spoločne začleňujú do biologickej membrány, za vzniku

hydrofilných pór. Ergosterol je typická stavebná jednotka bunkovej membrány húb. Zabudovaním polyenových antimykotík je bunková stena narušená, čo spôsobuje bunkovú smrť [15].

- **Nystatin**

Je produktom *Streptomyces noursei*. Účinkuje hlavne na kvasinky, preto je vhodný k liečbe povrchových kandidóz kože a slizníc. Tlmí rast kvasiniek rodu *Candida*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* a mikromycét rodu *Aspergillus*. Túto látku obsahujú výrobky Macmiror, Mycostatin a Fungicidin Léčiva [14, 16].

- **Amfotericin B**

Je produkovaný *Streptomyces nodosus* a má systémový účinok. Lokálne sa používa na liečbu kandidóz, systémovo na aspergilózy, blastomykózy a iných infekcií. U amfotericínu je možné pozorovať časté nežiadúce účinky charakterizované horúčkou, nevoľnosťou, zvracaním alebo bolesťami hlavy. Po intravenózne aplikácii dominuje poškodenie obličiek, objaviť sa môže aj hematotoxicita a porucha pečenečných funkcií [14].

2.1.6.2 Imidazolové antimykotiká

Tieto antimykotiká sa uplatňujú hlavne lokálne u infekcií kože, vlasov a slizníc vyvolaných dermatofytmi a kvasinkami. Účinok spočíva v inhibícii lanozin 14-alfa-demetylázy, čo je enzým zodpovedný za premenu lanozinu na ergosterol. Používajú sa hlavne lokálne [15].

- **Ketokonazol**

Používa sa len na krátkodobú liečbu tinea pedis a pityriasis versicolor. Kvôli potenciálnej hepatotoxicite sa nedoporučuje u detí. Účinkuje na kvasinky aj dermatofyty. Keďže pre perorálnu systémovú terapiu sú k dispozícii novšie a lepšie azoly, dnes sa používa najmä k lokálnej terapii. Liečivo je účinnou látkou šampónu Nizoral [2, 14, 16].

- **Klotrimazol**

Patrí k širokospektrálnym antimykotikám, účinkuje proti väčšine kmeňov dermatofytov, proti kandidám. Túto liečivú látku obsahujú výrobky Candibene, Canifug a Canesten [13, 16].

2.1.6.3 Triazolové antimykotiká

Mechanizmus účinku týchto liečiv je podobný ako u imidazolových antimykotík, avšak majú širšie spektrum účinku a sú vhodnejšie aj pre systémovú terapiu. Sú dostatočne účinné aj pri použití relatívne nízkych dávok. Všetky tieto látky inhibujú cytochrom P450 3A4 [15].

- **Flukonazol**

Je najbezpečnejší zo systémových antimykotík. Je pomerne dobre rozpustný vo vode a môže sa podávať intravenózne. V liečbe kandidóz je výborný ale proti dermatofytom má nižší účinok. Pomerne dobre sa znáša ale môžu sa vyskytnúť gastrointestinálne príznaky a exantém. Liečivo je súčasťou výrobkov Mycomax, Diflucan a Fluko SANDOZ [4, 17].

- **Itrakonazol**

Má najširšie spektrum účinnosti. Používa sa pri terapii lokálnych mykóz a tiež pri určitých systémových mykózach. Pôsobí na kvasinky, dermatofyty ale používa sa aj pri onychomykóze. Relatívne dobre sa znáša, výskyt nežiadúcich účinkov pri dlhotrvajúcej

terapii sa zvyšuje. Na rozdiel od ketokonazolu neovplyvňuje funkciu pečene. Liečivé prípravky s obsahom tejto látky sú dostupné pod menom Sporanox a Prokanazol [4, 17].

2.1.6.4 Ostatné antimykotiká

Alylamíny inhibujú skvalenepoxidázu, ktorá katalyzuje jeden z prvých krokov biosyntézy ergosterolu. Tento spôsob vedie k nedostatku ergosterolu a k hromadeniu skvalenu v bunkách. Používajú sa lokálne, sú však vhodné aj pre perorálne podávanie. Môžu sa používať pri mykózach kože a nechtov vyvolaných dermatofytmi. Medzi alylamíny patria liečivé látky naftifin a terbinafin [14].

Morfolíny inhibujú syntézu ergosterolu na ďalšom stupni. Amorfolin dobre prestupuje do hmoty nechty a používa sa vo forme laku na nechty [14].

2.1.7 Prevencia

Základom prevencie je dodržiavanie osobnej a pracovnej hygieny. Dôležitá je dezinfekcia obuvi, ponožiek a odevov ako aj preventívne opatrenia v spoločných zariadeniach. Problém znamenajú aj syntetické tkaniny, ktoré nesajú pot a u ľudí, ktorí sa potia, podporujú vznik mykotických ochorení. Predísť mykózam je možné aj pravidelnou starostlivosťou o nechty a vlasy. Nadmerným a častým umývaním môže dôjsť k narušeniu kožnej ochrany, čo uľahčuje vstup patogénov do organizmu [6].

2.2 Liečivé rastliny

Liečivé rastliny používali naši predkovia už po stáročia vďaka priaznivým účinkom na zdravie. V súčasnosti sú čoraz viac populárne, lebo na rozdiel od syntetických liečivých látok majú menej vedľajších účinkov. Môžu sa použiť rovnako v čerstvej ako aj v sušenej forme. Bylinky používame vnútorne vo forme čaju, odvaru, tinktúry a záparu alebo aplikujeme ich zvonka vo forme obkladu, oleja a masti. Najčastejšie sa využívajú kvety, listy a korene ale v niektorých prípadoch aj vňať či semená. Uplatnenie nájdú aj v aromaterapii, v potravinárskom a farmaceutickom priemysle a taktiež pri výrobe kozmetiky. Byliny majú liečivé účinky kvôli špeciálnym aktívnym látkam napr. alkaloidy, glykozidy, triesloviny. Zberanie bylín má dlhodobú tradíciu. Je potrebné mať znalosti o rastlinách a poznať optimálny čas a spôsob zberu. Fázy spracovania sú: čistenie, triedenie, drvenie, sušenie [18].

2.2.1 Obsahové látky

V mnohých krajinách sú súčasťou liekov bylinky, ktoré sa používajú na liečbu rôznych chorôb. Moderné farmakologické experimenty dokázali, že hlavnými komponentmi rastlinných liekov sú zlúčeniny s nízkou molárnou hmotnosťou, ako sú alkaloidy, terpenoidy, flavonoidy, saponíny a proteíny s vysokou molárnou hmotnosťou, taníny a najdôležitejšie polysacharidy [19].

2.2.1.1 Alkaloidy

Alkaloidy sú organické dusíkaté zlúčeniny alkalického charakteru. Patria medzi sekundárne metabolity rastlín. Alkaloidy majú rôzne a dôležité fyziologické účinky na ľudí a zvieratá, ktoré vo všeobecnosti závisia od špecifickej dávky, času expozície a individuálnych charakteristík, ako je citlivosť a miesto účinku. Doteraz bolo identifikovaných viac ako 20 000 alkaloidov a mnoho z nich zohráva klinickej praxi dôležitú úlohu. Vykazujú

protinádorové, antivírusové, analgetické, protizápalové a mnohé ďalšie efekty. Existujú tri typy alkaloidov: pravé alkaloidy, protoalkaloidy a pseudoalkaloidy. Pravé alkaloidy majú heterocyklický kruh s dusíkom, zatiaľ čo v protoalkaloidoch atóm dusíku odvodený od aminokyselín nie je súčasťou heterocyklického kruhu [20, 21].

2.2.1.2 Flavonoidy

Flavonoidy sú veľká skupina prírodných fenolových zlúčenín široko distribuovaných v rastlinách. Podľa základnej štruktúry rozlišujeme niekoľko typov: flavány, flavény, flavóny, flavanoly, flavanolóny a flavandioly. Flavonoidy sú hojne obsiahnuté v ovocí a zeleninách, sú najviac konzumovanými fenolovými zlúčeninami. Kvercetín a rutín patria medzi najrozšírenejšie flavonoidy a okrem ovocia sa nachádzajú aj v čajoch, káve a iných zrnách. Zdravé vlastnosti flavonoidov môžu byť odvodené z ich antioxidantných vlastností ako neutralizátorov voľných radikálov. Boli však hlásené niektoré ďalšie špecifické funkcie, vrátane ich účinku na prevenciu rakoviny, protizápalové a antivírusové aktivity a ich pozitívny vplyv na krehkosť kapilár a ochranu ciev [22, 23].

2.2.1.3 Triesloviny (taníny)

Triesloviny sú fenolové zlúčeniny, vznikajú v bunkových vakuolách a majú schopnosť reagovať s proteínmi vo vode za vzniku nerozpustných zlúčenín. Majú adstringentné, protizápalové účinky a urýchľujú hojenie rán. Hydrolyzovateľné taníny a kondenzované taníny sú dve základné formy tanínov. Hydrolyzovateľné taníny pozostávajú D-glukózy pripojenej hydroxylovou skupinou s fenolickými kyselinami, ako je kyselina gallová a kyselina ellagová. Kondenzované taníny sa skladajú z polyfenolického bioflavonoidu polyhydroxy flavan-3-olu. Nachádzajú sa v listoch, plodoch a v kôre mnohých rastlín, napríklad orechu, čučoriedkach, čajovníku, mäte a bazalke. V súčasnosti taníny dostali viac pozornosti vďaka ich antioxidantným vlastnostiam [24, 25].

2.2.1.4 Terpenoidy

Terpenoidy, tiež známe ako izoprenoidy, predstavujú najväčšiu skupinu prírodných produktov a majú široké uplatnenie. Rastliny využívajú terpenoidné metabolity na rast a vývoj, ale väčšinu na špecializovanejšie chemické interakcie a ochranu v abiotickom a biotickom prostredí. V súčasnosti je známych viac ako 22 000 terpenoidov. Terpenoidy majú lipofilnú povahu a sú rozdelené do monoterpénov, seskviterpénov, diterpénov, sesterpénov a triterpénov v závislosti od počtu ich uhlíkových jednotiek. Sú hlavnými zložkami éterických olejov a sú známe svojimi aromatickými vlastnosťami. Terpenoidy hrajú rôzne úlohy v potravinárstve, farmácii, kozmetike a podobne. Majú antibakteriálne, protirakovinové, protizápalové a antimykotické účinky [26, 27, 28, 29].

2.2.1.5 Saponíny

Pojmom saponíny je označovaná skupina glykozidov, ktoré sa vo vode rozpúšťajú podobne ako mydlá. Obsahujú hydrofilnú časť na jednom konci a hydrofóbnu časť na druhej strane, pri trepaní vytvárajú penu. V kultivovaných kultúrach prevažujú triterpenoidné saponíny, zatiaľ čo steroidné saponíny sú bežné u bylín. Saponíny sa konzumujú v mnohých bežných potravinách a nápojoch vrátane ovsá, špenátu, špargle, sójových bôbov a iných strukovín, arašidov, čaju a piva. Rastliny bohaté na saponíny, ako je ženšen alebo sladké drievko,

sa používajú na liečebné účely už od staroveku. Doteraz zohrávajú významnú rolu nielen v medicíne, ale aj v potravinárskom a kozmetickom priemysle, kde sa používajú ako emulgátory alebo sladidlá. Ďalšou dôležitou aplikáciou saponínov je ich použitie ako pomocných látok pri výrobe vakcín. Vykazujú širokú škálu účinkov, napríklad protizápalových, imunomodulačných, antifungálnych, antiparazitických a mnohých ďalších [30, 31].

2.2.1.6 Sacharidy

Sacharidy sú priame produkty fotosyntézy. Je to rozsiahla skupina rastlinných látok, ktoré sa skladajú z uhlíka, vodíka a kyslíka. Najjednoduchšími sacharidmi sú monosacharidy, ktoré spojením vytvárajú disacharidy, oligosacharidy a polysacharidy. Sacharidy môžu priamo ovplyvňovať ľudské ochorenia pôsobením fyziologických a metabolických procesov. Polysacharidy z rôznych zdrojov sa už dlho skúmajú a používajú ako potraviny, krmivá, pri výrobe papiera a vo farmácii. V posledných desaťročiach sa zvýšil záujem o využitie polysacharidov vďaka ich biokompatibilite, biologickej odbúrateľnosti a niektorým terapeutickým účinkom. Škrob, celulóza, pektíny a ich deriváty sa vo veľkej miere používajú v liečivách ako spojivá, klzné látky alebo plnivá v tabletách, granulách a kapsulách. Polysacharidy v bylinkách majú významné účinky, ako napríklad protinádorové, antivírusové, imunoregulačné, antioxidačné a protizápalové [19, 32, 33].

2.2.1.7 Fenolové zlúčeniny

Fenolové zlúčeniny sú najrozšírenejšími antioxidantmi a sú zodpovedné za priaznivé účinky liečivých rastlín, zeleniny a ovocia na zdravie. V liečivých rastlinách sa vyskytujú najmä kyseliny hydroxybenzoové, hydroxyškoricové a ich deriváty. Podľa počtu fenolových kruhov a konštrukčných prvkov, ktoré navzájom viažu kruhy, sú tieto zlúčeniny zoskupené a klasifikované ako jednoduché fenoly, fenolové kyseliny, flavonoidy, xantóny, stilbény a lignany. Fenolové zlúčeniny sú esenciálne pre fyziológiu a bunkový metabolizmus rastlín. Podieľajú sa na ich senzorických vlastnostiach, odolnosti proti škodcom, vývoji a reprodukcii rastlín. Hoci existujú aj iné mechanizmy pôsobenia, najcitovanejším mechanizmom antioxidačného účinku fenolových zlúčenín je ich schopnosť zachytávať reaktívne druhy kyslíka. Mnoho fenolových zlúčenín má priaznivé účinky na ľudský organizmus. Priaznivé sú protizápalové, antioxidačné, hepatoprotektívne, antialergické, antimikrobiálne a antivírusové aktivity. Okrem toho sú fenolové zlúčeniny v ovocí a zelenine prirodzene sa vyskytujúce, a preto sú pre spotrebiteľov prijateľnejšie ako syntetické antioxidanty [25, 34, 35, 36, 37].

2.2.2 Najčastejšie používané časti rastlín

Účinné látky sú buď v celej rastline, alebo len v niektorých jej častiach, preto sa zbiera len tá časť, kde sú účinné látky najsilnejšie. Z nadzemnej časti rastlín sa zbiera vňať, kvet, list, kôra, plod alebo púčik. Zber týchto častí sa uskutočňuje počas vegetácie, pred kvitnutím, vo fáze plného kvitnutia, a tiež po odkvitnutí. Z podzemnej časti sa zbiera koreň, podzemok, hl'úza a cibuľa. Zber podzemných častí sa uskutočňuje na konci vegetácie, obyčajne na jeseň, kedy sa uskutočňuje transport obsahových látok do týchto častí. V niektorých prípadoch sa môžu zbierať aj na jar.

2.2.2.1 Vňať (*Herba*)

Vňať je nadzemná časť rastlinnej osi, patria k nej stonka s listami a prípadne aj kvety. Vňať sa odrezáva ostrým záhradníckym nožom alebo záhradníckymi nožnicami. Rastliny sa zásadne neodlamujú, pretože sa tým poškodí celé tkanivo. Korene zostávajú v pôde, aby rastlina mohla na jar ďalej rásť. Väčšinou zbierame mladé, svieže rastliny v čase kvitnutia. Pri vysokých druhoch odrežeme asi 20 cm (záleží od druhu) hornej časti rastliny spolu s vrcholom. Vňať nízkych rastlín, ktoré ležia na zemi, ako napríklad dúška materina, treba starostlivo očistiť. Dolné zdrevnatené časti bylín nezbierame. Vňať sa suší v malých zväzkoch zavesených na mieste, kde je dosť tepla, tieň a vzdušne. Krátke vňate rozprestierame v tenkých vrstvách na pokrytú zem. Príklad: vňať pamajoránu obyčajného (*Herba majorani vulgaris*), vňať bazalky pravej (*Herba ocimi basilici*) [38, 39].

2.2.2.2 Kvet (*Flos*)

Kvety predstavujú zväzok premenených listov s krátkou stopkou, sú orgánom pohlavného rozmnožovania. Stoja jednotlivo alebo vytvárajú súkvetia, napr. strapce, metliny, okolíky, závinky, klasy, hlávky a pod. Kvety zbierame najlepšie vtedy, keď sú úplne rozkvitnuté, za suchého počasia a napoludnie. Nesmú byť zvädnuté ani poškodené hmyzom. Ranný čas a vlhké počasia nie sú vhodné na zber. Niekedy používame len časti kvetov, napr. korunné lupienky slezu a maku. Kvety odtrhávame ručne, alebo používame hrebeň, prípadne odrezávame celé súkvetie. Hneď ich očistíme od prípadných prímiesí a opatrne ukladáme do košíkov v tenkých vrstvách. Kvety sú veľmi citlivé na zaparenie. Pri zbere a uskladnení preto nikdy nepoužívame vzduchotesne nádoby z plastov. Biochemicky sa kvety správajú veľmi labilne, veľmi rýchlo podliehajú vplyvom okolia. Aj po usušení by si mali uchovať svoju pôvodnú farbu. Môže sa stať, že pri dlhšom uskladnení zhnednú a zmenia svoju vôňu. Prakticky sa tým znehodnotia a treba ich nahradiť čerstvým materiálom. Príklad: kvet nechtíku lekárskeho (*Flos calendulae officinalis*), kvet bazy čiernej (*Flos sambuci nigrae*) [39, 40].

2.2.2.3 List (*Folium*)

Listy sú dôležitým orgánom rastliny, lebo prostredníctvom nich prebieha fotosyntéza. Skladajú sa z čepele, stopky a prípadne z pošvy. Listové čepele majú rozličný tvar, sú čiarkovité, elipsovité, kopijovité, srdcovité, mečovité, oválne atď. Listy sa zbierajú v období kvitnutia, keď obsahujú najviac účinných látok. Nikdy neodtrháme naraz všetky listy, treba vždy ponechať dostatok listov, aby rastlina nezahynula. Listy, ktoré zbierame, musia byť mladé, šťavnaté a zdravé; nesmú mať nijaké škvrny. Dolné ani znečistené listy nezbierame. Tak ako kvety, tak aj táto časť bylín sa ľahko zaparí, preto ju radšej zbierame do košov. Listy sa sušia v tenkých vrstvách, takže ich netreba príliš často obracať. Nemali by byť pritom vystavené priamemu slnku; platí to najmä pre listy rastlín obsahujúcich silice. Teplota pri umelom sušení by nemala byť vyššia ako 35 °C. Príklad: list balhovičníku (*Folium eucalypti*), list medovky lekárskej (*Folium melissae officinalis*) [39, 40].

2.2.2.4 Koreň (*Radix*) a podzemok (*Rhizoma*)

Koreň je podzemná časť rastliny a môže mať rozličný tvar. Rozlišujeme jednoduché a rozkonárené korene, repovité, valcovité a zväzkovité korene. Prostredníctvom koreňa prijíma rastlina živiny z pôdy. Podzemok je podzemná časť výhonku (stonky), z ktorého vyrastajú

korene (napr. pri kosatci a puškvorci). Korene a podzemky sa zbierajú v období vegetačného pokoja, keď obsahujú najviac účinných látok. V niektorých prípadoch to môže byť aj na jar. Pri trvácich rastlinách zbierame obyčajne až po druhom alebo treťom roku od ich vývinu. Pri zbere rastlín zriedkavých v prírode ponecháme vždy časť koreňa v zemi, aby sa rastlina mohla regenerovať. Korene vyberáme z pôdy motykou alebo rýľom, očistíme ich, hnilé časti vyrežeme a celé oplachujeme studenou vodou. Pred sušením sa korene aj podzemky zbavia zvyškov zeminy, odumretých častí, piesku a úlomkov (krátko sa opláchnu pod tečúcou vodou). Čistenie kefou nie je vhodné; napr. valeriána by tým stratila povrchové bunky obsahujúce silice. Tenké korene sa sušia prirodzeným teplom, hrubšie korene v tieni za dobrého prúdenia vzduchu alebo v sušiarňi pri teplote od 45 do 70 °C. Korene obsahujúce silice sa nesmú sušiť na slnku. Príklad: koreň všehoja ázijského (*Radix gingseng*), koreň kurkumy (*Radix curcumae*) [38, 39].

2.2.3 Použité rastliny

2.2.3.1 Bazalka pravá (*Ocimum basilicum*)

Bazalka je jednoročná aromatická rastlina s maximálnou výškou 60 cm. Pochádza z juhovýchodnej Ázie ale pestuje sa celosvetovo. Najväčší obsah účinných látok nájdeme vo vňati, listoch i koreňoch rastliny. Tradične sa bazalka využíva v potravinách ako aromatizačné činidlo, v parfumoch a lekárskom priemysle. Kvôli svojim diuretickým, antidepressívnym, spazmolytickým a stomachickým vlastnostiam má bazalka použitie aj vo farmácii. Bazalkový esenciálny olej je často používanou zložkou v prípravkoch osobnej starostlivosti a čistiacich prostriedkoch pre domácnosť, keďže má antifungálne, antibakteriálne a insekticídne účinky. Droga bazalky obsahuje do 1,5 % silice (metylchavikol, linalol, gáfor, pinén a ocimén). Okrem toho asi 4 % trieslovín, saponín, flavonoidy (rutín, quercetín) a glykozidy [41, 42, 43].



Obrázok 5 – Bazalka pravá [44]

2.2.3.2 Betonika lekárska (*Stachys officinalis*)

Betonika je trváca, 20–60 cm vysoká rastlina. Obsahuje rôzne alkaloidy, saponíny, flavonoidy a fenolové kyseliny. Používa sa usušená vrchná časť kvitnúcej stonky betoniky spolu s prízemnými listami. V tradičnej medicíne sa používa na rozpustenie hlienu, zmiernenie kašľa a zmiernenie príznakov astmy. Ďalej pôsobí na poruchy gastrointestinálneho traktu,

nervového systému a pečene. Vnútorne sa používa aj na bolesť brucha, kŕče, závraty, horúčku, dnu a menštruačné poruchy. Liečivé účinky drogy sa využívajú aj aplikovaním zvonka na kožné defekty komplikované infekciou, kde droga pôsobí protizápalovo, protibakteriálne a urýchľuje regeneráciu pokožky, má aj antifungálny účinok na plesňové infekcie kože [43, 45, 46, 47].



Obrázok 6 – *Betonika lekárska* [48]

2.2.3.3 *Eukalyptus guľatoplodý (Eucalyptus globulus)*

Eukalyptus je vždyzelený, mohutný, rýchlorastúci, jeden z najviac pestovaných stromov pôvodom z Austrálie. Má veľký hospodársky, potravinársky a farmaceutický význam. Medzi rôznymi výrobkami z dreva a iných drevín je najdôležitejší esenciálny olej, ktorý sa nachádza v jeho listoch. V eukalypte guľatoplodom sa nachádza silica, ktorej hlavnou zložkou je cineol, limonén a citronellol. Z ostatných látok obsahuje pinón a ďalšie monoterpény, aldehydy, seskviterpénové alkoholy, triesloviny, horčiny, estery a aldehydy. Vďaka analgetickým vlastnostiam sa používa proti bolestiam zubov, d'asien, hlavy a hrdla. Tiež sa ukázalo, že je vhodný na liečenie porúch dýchacieho systému. Okrem toho má široké spektrum biologickej aktivity, vrátane antibakteriálnej, fungicídnej, insekticídnej a herbicídnej [43, 49, 50, 51].



Obrázok 7 – *Eukalyptus guľatoplodý* [52]

2.2.3.4 *Kurkumovník dlhý (Curcuma longa)*

Kurkuma je vytrvalá bylina, ktorá sa pestuje v celej južnej a juhovýchodnej Ázii, južnom Pacifiku a južnej Číne. Už tisíce rokov sa používa ako liek v tradičnej indickej a ľudovej medicíne. Ako jedna z populárnych čínskych bylín sa často používa na liečbu žalúdočných vredov, parazitických infekcií, kožných porúch, zápalov kĺbov a príznakov chrípky. Jeho odnože sa používajú ako ochucovadlo v mnohých ázijských kuchyniach a ako farbivo v textilnom priemysle. Celkovo rastlina obsahuje najmä seskviterpény, monoterpény, ketóny turmerón a arturmerón, zingiberín a iné. Zo žltých pigmentov sa tu vyskytuje najmä kurkumín a podobné látky (kurkumoidy), ako aj ďalšie, ostro a horko chutiace zlúčeniny. Väčšina farmakologických účinkov kurkumy súvisí s prítomnosťou kurkumínu, ktorý má antioxidantnú aktivitu. Má široké spektrum farmakologických účinkov, ako sú protizápalové, protirakovinové, antimikrobiálne, hepatoprotektívne, kardioprotektívne, gastroprotektívne a protívirusové aktivity [43, 46, 53, 54, 55, 56].



Obrázok 8 – Kurkumovník dlhý [57]

2.2.3.5 *Pakost smradľavý (Geranium robertianum)*

Pakost je jednoročná alebo dvojročná bylina s rozkonárenou, chlpatou stonkou a striedavými, trojpočetnými delenými listami. Má svoj pôvod v Ázii, strednej Európe a často sa používa v tradičnej medicíne na liečbu zápalových ochorení a rakoviny. Z účinných látok gerania dominujú fenolové zložky, najviac študovanými triedami zlúčenín sú taníny, flavonoidy (kvercetín, kempferol, ramnetín) a fenolové kyseliny, ďalšími zložkami sú triesloviny a horčiny. Táto liečivá rastlina vďačí za svoju popularitu kvôli protizápalovým, imunostimulačným, hepatoprotektívnym, antitrombotickým, antidiabetickým vlastnostiam. Rad štúdií uvádza aj antibakteriálne, antifungálne, antialergické vlastnosti, ako aj ochrannú úlohu pri ochorení zažívacieho ústrojenstva a srdca, rakovine a rôznych patologických stavoch [43, 58, 59].



Obrázok 9 – *Pakost smradľavý* [60]

2.2.3.6 *Pamajorán obyčajný (Origanum vulgare)*

Pamajorán, všeobecne známy ako oregano, je vytrvalá aromatická rastlina pôvodom z Európy a strednej Ázie. Je to široko používaná bylina na celom svete, používa sa na ochutenie rôznych potravín a spracovaných mäs, ako sú šaláty, pizza a klobásy. Ochucovacie vlastnosti oreganu súvisia najmä s jeho aromatickými látkami, najmä s éterickým olejom. Je bohatým prírodným zdrojom bioaktívnych zložiek vrátane fenolových glukozidov, flavonoidov, tanínov, sterolov, triterpénov, monoterpénov a seskviterpénov. Má dezinfekčné, protizápalové, protiplesňové, antioxidačné, mierne antiseptické a diuretické vlastnosti. Rastlina sa už po stáročia používa na liečbu rôznych ochorení, ako sú čierny a krčovitý kašeľ, poruchy trávenia, bolesti brucha, nepravidelná menštruácia, bronchitída a astma. Pri akné, vredoch, kožných zápaloch a ekzémoch studený čaj čistí ako pleťová voda alebo v podobe obkladu aktivuje látkovú výmenu v pokožke. Éterický olej oregana pôsobí proti plesniam aj pri zriedení 1:50 000. Pri dlhodobom používaní vylieči aj plesň nechťov [43, 61, 62, 63].



Obrázok 10 – *Pamajorán obyčajný* [64]

2.2.3.7 Všehoj ázijský (*Panax ginseng*)

Všehoj je vytrvalá rastlina a pochádza z Kórey, Číny a Japonska. Názov panax znamená „všetko hojenie“ a vychádza z tradičnej dôvery, že ženšen dokáže vyliečiť všetky choroby ľudského tela. Koreň je najdôležitejšia medicínska časť rastliny. Ženšen obsahuje celý rad účinných látok. Medzi farmakologicky dôležité zložky patria saponíny, antioxidanty, polysacharidy a peptidy. Zo ženšenu bolo izolovaných viac ako 70 rôznych saponínov. Tie sú hromadne označené ako panaxozidy alebo ginsenzozidy. Z významných antioxidantov sa v ženšenu nachádzajú maltol, vanilová kyselina. Koreň všehoja obsahuje kyselinu oleanolovú, silicu panacén a kyselinu panaxovú. Z ostatných látok sú to alkaloidy, škrob, sacharóza, fytosteroly, pektíny, živice, z vitamínov najmä B₁, B₂ a C, a veľké množstvo minerálnych látok. Ženšen má rôzne terapeutické účinky, vrátane antioxidačných, protizápalových, vazorelaxačných, antialergických, antidiabetických a protirakovinových. Vnútorne sa používa na liečbu bolesti hlavy, chorôb tráviaceho traktu, obličiek a močových orgánov. Zvonku je účinný pri kožných chorobách ako sú hnisajúce rany, mastná pleť, plesne, vyrážky a rozšírené póry. Nedávne výsledky in vitro a in vivo ukazujú, že ženšen má priaznivé účinky na srdcové a cievne ochorenia, úpravu krvného tlaku a zlepšenie srdcovej činnosti [25, 43, 65, 66].



Obrázok 11 – Všehoj ázijský [67]

3 SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

Na terapiu fungálnych infekcií má medicína k dispozícii široké spektrum liečiv. Medzi najčastejšie používané látky patria ketokonazol, flukonazol, klotrimazol či amfotericín. Problémom však je možnosť vzniku rezistencie patogénov na tieto antifungálne liečivá. U niektorých terapeutík sa dokonca zistilo že spôsobujú nežiadúce účinky, ktoré môžu byť nebezpečné pre pacientov. Vedci zistili, že prírodné látky majú nižšie spektrum nežiadúcich účinkov. Účinné látky rastlín majú iný mechanizmus pôsobenia, a preto si ešte patogény nevytvorili rezistenciu proti nim. Používanie týchto rastlín by niekedy v budúcnosti mohlo nahradiť súčasné lieky.

Medzi rastliny, ktoré sa najčastejšie používajú na lekárske účely v Mexiku, patrí *Solanum chrysotrichum*. Listy tejto rastliny slúžia v tradičnej mexickej medicíne na liečbu mykózy kože, pričom sa odporúča najmä na liečbu *Tinea pedis*. Lozoya, Navarro, García a Zurita uskutočnili klinické pokusy v Mexiku, kde skúmali krém obsahujúci 5 % metanolového extraktu listov tejto rastliny. Výsledky ukázali, že po 4 týždňoch liečby bolo 45 % pacientov úplne vyliečených. Aj zvyšné prípady sa zlepšili v porovnaní s kontrolnou skupinou, ktorou boli pacienti užívajúci obvyklú liečbu mikonazolom. Rôzne štúdie preukázali, že za antifungálnu aktivitu tejto rastliny sú zodpovedné saponiny s označením SC-2 – SC-6. Najaktívnejšou molekulou je SC-2, ktorá podľa štúdií pomocou elektrónovej mikroskopie rozloží bunkovú stenu a vnútorné membrány študovaných húb [68, 69].

Ďalší prieskum liečivých rastlín používaných na liečbu bežných mykóz sa uskutočnil v Brazílii. Použili sa štyri rôzne rastliny: *Ziziphus joazeiro*, *Caesalpinia pyramidalis*, *Bumelia sartorum* a *Hymenea courbaril*. Z rôznych častí týchto rastlín sa pripravili vodné extrakty, ktoré boli podrobené agarovému difúznemu testu. Iba extrakt zo *Ziziphus joazeiro* a *Caesalpinia pyramidalis* vykazovali významnú antifungálnu aktivitu proti *Trichophyton rubrum*, *Candida guilliermondii*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* a *Fonsecaea pedrosoi* v porovnaní s antifungálnym činidlom amfotericínom B. Podľa vedcov výsledky štúdie potvrdzujú ľudové použitie týchto rastlinných extraktov a naznačujú, že môžu byť účinnými potenciálnymi kandidátmi na vývoj nových stratégií na liečbu plesňových infekcií [70].

Tabulka 1 - Antifungálna aktivita *Ziziphus joazeiro* a *Caesalpinia pyramidalis* proti vybraným hubám (minimálne inhibičné koncentrácie (MIC) sú uvedené v $\mu\text{g} / \text{ml}$) [70]

Huby	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		
	<i>Ziziphus joazeiro</i>	<i>Caesalpinia pyramidalis</i>	Amfotericín B
<i>Candida albicans</i>	25	12,5	2
<i>Candida guilliermondii</i>	6,25	6,25	8
<i>Cryptococcus neoformans</i>	100	12,5	2
<i>Candida guilliermondii</i>	12,5	25	16
<i>Trichophyton rubrum</i>	6,25	6,25	8
<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	400	200	32

Zistilo sa, že antifungálne účinky pamajoránu obyčajného sú podobné účinku nystatínu a amfotericínu B. V štúdiu sa skúmal účinok pamajoránu proti *Candida*, izolovanej z ústnej dutiny nositeľov zubnej náhrady. Bol to unikátny výskum, ktorý sa doteraz v protetike nikdy nevykonával. Porovnávala sa účinnosť dvoch extrakčných metód, hydrodestilácie a macerácie. Rôzne extrakty pamajoránu sa získali maceráciou v petroléteri, chloroforme, etylacetáte, n-butanole a metanole. Esenciálny olej bol získaný z listov rastliny pomocou hydrodestilácie a antifungálna aktivita bola potvrdená použitím agarového difúzneho testu proti druhu *Candida*. Olej prejavil účinok s inhibičnou zónou väčšou než 30 mm, na porovnanie bol použitý nystatín s inhibičnou zónou 22 mm. Žiadny z extraktov z maceračnej techniky nevykazoval podobný účinok ako esenciálny olej. Najpodobnejší však bol etanolový extrakt, ktorý účinkoval proti *C. albicans* a *C. tropicalis*. Éterové a chloroformové maceráty boli účinné len proti *C. tropicalis*. Extrakty n-butanolu a metanolu neboli účinné proti žiadnej *Candida spp* [71].

V Saudskej Arábii sa skúmalo šesť bežných rastlinných druhov, ktoré vykazovali antimikrobiálnu aktivitu proti mnohým mikroorganizmom in vitro. Na prípravu rastlinného extraktu sa zozbierali čerstvé listy a stonky rastlín, dôkladne sa premyli a sušili sa v tieni pri teplote miestnosti (30 ± 5 °C) počas 2 týždňov. Následne bola rastlinná vzorka rozdrvená na jemný prášok. Boli pripravené etanolové, chloroformové a hexánové extrakty. V tejto štúdiu sa použili humánne oportúnne patogény *Candida albicans* a *Geotrichum candidum*. Analýza antifungálnej aktivity rastlinného extraktu sa uskutočnila použitím diskovej difúznej metódy. Na negatívnu kontrolu sa použili chemické rozpúšťadlá, na pozitívnu kontrolu flukonazol. V prípade rastlín *Forsskaolea tenacissima*, *Xanthium spinosum* a *Abutilon pannosum* proti kmeňom *Candida* bol najúčinnější chloroformový extrakt. U rastliny *Solanum incanum* všetky tri extrakty vykazovali rovnakú aktivitu. V prípade

Brassica deflexa bol etanolvý extrakt najaktívnejší proti *C. albicans*. Najužšia inhibičná zóna *G. candidum* bola produkovaná *F. vulgare* [72].

Tabuľka 2 - Antifungálna aktivita extraktov testovaných rastlín (inhibičná zóna v cm) [72]

Druh rastliny	Rozpúšťadlo	C. albicans	G. candidum
<i>Xanthium spinosum</i>	hexán	2,96 ± 0,2	3,86 ± 0,3
	etanol	3,46 ± 0,3	2,56 ± 0,2
	chloroform	3,53 ± 0,2	4,13 ± 0,4
<i>Forsskaolea tenacissima</i>	hexán	3,83 ± 0,3	2,40 ± 0,2
	etanol	3,06 ± 0,2	2,13 ± 0,2
	chloroform	4,23 ± 0,3	3,90 ± 0,2
<i>Abutilon pannosum</i>	hexán	2,86 ± 0,1	3,06 ± 0,1
	etanol	1,80 ± 0,2	3,30 ± 0,1
	chloroform	3,93 ± 0,2	3,53 ± 0,2
<i>Solanum incanum</i>	hexán	3,20 ± 0,1	3,23 ± 0,3
	etanol	3,20 ± 0,1	2,20 ± 0,2
	chloroform	3,20 ± 0,1	3,80 ± 0,2
<i>Foeniculum vulgare</i>	hexán	3,10 ± 0,2	2,83 ± 0,2
	etanol	1,46 ± 0,2	3,03 ± 0,1
	chloroform	2,13 ± 0,2	3,13 ± 0,1
<i>Brassica deflexa</i>	hexán	2,53 ± 0,2	2,46 ± 0,2
	etanol	3,00 ± 0,1	2,43 ± 0,2
	chloroform	2,67 ± 0,2	3,23 ± 0,1
Flukonazol	-	5,30 ± 0,2	5,30 ± 0,2

4 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

4.1 Použité chemikálie, prístroje a mikroorganizmy

4.1.1 Chemikálie

- ABTS, Sigma-Aldrich (SRN)
- Agar Powder, Himedia (IND)
- Carbomer 980, Sino Lion (USA)
- Cocamide DEA, ACE Trade (ČR)
- Cocamidopropylbetaine, ACE Trade (ČR)
- Dimethicone M+H, Míča a Harašta (ČR)
- Dusitan sodný, p.a., Lachema (ČR)
- Etanol, p.a., Lach-Ner (ČR)
- Folin-Ciocalteu činidlo, Serva (SRN)
- Gelinov easy, Safic-Alkan (ČR)
- Glukóza, p.a., Lach-Ner (ČR)
- Glycerin bezvodý, p.a., Lach-Ner (ČR)
- Hydroxid sodný, p.a., Lach-Ner (ČR)
- Chlorid hlinitý, p.a., Lach-Ner (ČR)
- Chlorid sodný, p.a., Lachema (ČR)
- Katechín, Sigma-Aldrich (SRN)
- Kvasničný extrakt, Himedia (IND)
- Kyselina gallová, Sigma-Aldrich (SRN)
- Laurylethersulfát sodný, Fichema (ČR)
- LB médium, Sigma-Aldrich (SRN)
- NB médium, Himedia (IND)
- Oxid zinočnatý, p.a., Lach-Ner (ČR)
- Pepton, Himedia (IND)
- Polysorbát 80, Dr. Kulich Pharma, s. r. o. (ČR)
- Sabowax CS 20, Acetrade (ČR)
- Sójový olej, 1. Aromaterapeutická KH (ČR)
- Trolox, Sigma-Aldrich (SRN)
- Uhličitan sodný, p.a., Lach-Ner (ČR)

4.1.2 Prístroje

- Analytické váhy Boeco (SRN)
- Hriadel'ové miešadlo RW 11 basic, IKA-Rührwerk (SRN)
- Laminárny box Airstream, ESCO (SN)
- Predvážky Kern 440-43, Kern & Sohn GmbH (SRN)
- Spektrofotometer VIS, Helios δ , Unicam (GB)
- Temperovaná trepačka HeidolphUnimax 1010, Labicom (ČR)
- Vodný kúpeľ EL-20, Merci a.s. (ČR)
- Bežné laboratórne sklo a vybavenie

4.1.3 Mikroorganizmy

- Candida glabrata CCM 8270
- Escherichia coli CCM 7395
- Malassezia furfur CCY 85-2-1
- Micrococcus luteus CCM 1569

4.1.4 Materiál

- Léčivé rostliny – Pamajorán vňať
- Valdemar Grešík – Bazalka vňať
- Valdemar Grešík – Betonika vňať
- Valdemar Grešík – Eukalyptus list
- Valdemar Grešík – Kurkuma koreň
- Valdemar Grešík – Pakost vňať
- Valdemar Grešík – Ženšen koreň



Obrázok 12 – Použité prírodné materiály

4.2 Príprava rastlinných extraktov

Na prípravu bylinných extraktov sa použili sušené rastliny. Bolo navážené určité množstvo sušených rastlinných drog, presné hmotnosti sú uvedené v tabuľke č. 3. Navážky boli zaliate 100 ml 60 % roztokom etanolu. Byliny sa extrahovali v Erlenmeyerových bankách obalených alobalom, v tme. Po uplynutí 7 dní boli extrakty prefiltrované cez gázu. Pripravené extrakty boli použité na stanovenia.

Po stanovení účinných látok a antimikrobiálnej aktivity jednotlivých bylinných extraktov, z menej účinných rastlín boli pripravené zmesné extrakty.

Tabuľka 3 – Hmotnosť naváženených rastlín

Rastlina	g rastliny/100 ml 60% EtOH
Bazalka pravá	9,98
Betonika lekárska	10,20
Eukalyptus guľatoplodý	10,05
Kurkumovník dlhý	9,98
Pakost smradľavý	9,90
Pamajorán obyčajný	9,85
Všehož ázijský	5,01
Zmes všehoja ázijského a betoniky lekárskej	10,14
Zmes bazalky pravej, kurkumovníku dlhého a pamajoránu obyčajného	15,38



Obrázok 13 – Príprava bylinných extraktov

4.3 Príprava kozmetických výrobkov

Na prípravu kozmetických výrobkov boli použité nasledujúce rastlinné extrakty: eukalyptus guľatoplodý, pakost smradľavý, zmes všehoja ázijského a betoniky lekárskej, zmes bazalky pravej, kurkumovníku dlhého a pamajoránu obyčajného.

4.3.1 Dermálny roztok

Pre výrobu dermálneho roztoku bol do kadičky naváženy etanol, glycerol a destilovaná voda. Počas miešania bol pridaný polysorbát 80. Pripravený tonik bol rozdelený na 5 častí, ku každej časti sa pridal iný rastlinný extrakt. Bola pripravená aj vzorka bez rastlinného extraktu, kde namiesto extraktu sa pridala destilovaná voda. Táto vzorka bola základným roztokom, teda pri stanoveniach slúžila ako blank. Percentuálne zastúpenie jednotlivých surovín sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.

Tabuľka 4 – Receptúra pre dermálny roztok

Surovina	Obsah [%]
etanol	7
glycerol	5
destilovaná voda	85,5
polysorbát 80	1
rastlinný extrakt	1,5



Obrázok 14 – Pripravené roztoky bez rastlinného extraktu (vľavo) a s prídavkom extraktov

4.3.2 Jemný čistiaci gél

Pre výrobu rastlinného čistiaceho gélu bol najprv do kadičky navážený laurylethersulfát sodný, sójový olej, cocamidopropylbetaie, dimethicone a cocamide DEA. K týmto látkam bola pridaná destilovaná voda a glycerol. Po malých dávkach boli pridané zahusťovadlá (carbomer 980, gelinov easy) a zmes bola miešaná po zgélovatenie. Gél bol rozdelený na 5 dielov, a rovnakým spôsobom, ako pri príprave dermálneho tonika, sa pridali rastlinné extrakty. Aj v tomto prípade bola pripravená vzorka gélu bez prídavku rastlinného extraktu. Hmotnosti surovín boli prepočítané podľa percentuálneho obsahu uvedeného v tabuľke nižšie.

Tabuľka 5 – Receptúra pre jemný čistiaci gél

Surovina	Obsah [%]
laurylethersulfát sodný	10
sójový olej	5
cocamidopropylbetain	5
dimethicone	5
cocamide DEA	1,5
destilovaná voda	66,5
glycerol	5
carbomer 980	0,5
gelinov easy	0,5
rastlinný extrakt	1



Obrázok 15 – Pripravené gély bez rastlinného extraktu (vľavo) a s prídavkom extraktov

4.3.3 Krém s oxidom zinočnatým

Najprv sa do kadičky navázili suroviny olejovej fázy. V ďalšej kadičke bola pripravená vodná fáza. Obe kadičky boli vložené do vodného kúpeľa vyhriateho na 75 °C. Po rozpustení fáz bola olejová fáza pridaná do vodnej fázy za stáleho miešania. Počas miešania sa pridal gelinov na zahustenie a oxid zinočnatý. Emulzia bola miešaná až po schladnutie. Rovnako ako u predchádzajúcich výrobkov, boli pripravené vzorky s prídavkom extraktov, ale aj blank. Hmotnosť krému bola 50 g, percentuálny obsah surovín je uvedený v tabuľke nižšie.

Tabuľka 6 – Receptúra pre krém s oxidom zinočnatým

Surovina	Obsah [%]
destilovaná voda	50
sójový olej	30
sabowax HCO	7
dimethicone	5
gelinov	1
oxid zinočnatý	2
rastlinný extrakt	1



Obrázok 16 – Pripravené krémy bez rastlinného extraktu (vľavo) a s prídavkom extraktov

4.3.4 Zakúpené prípravky

Boli zakúpené krémy s 1 % obsahom antimykotických liečivých látok – klotrimazol, nystatin. Tieto krémy boli použité pri stanovení antimikrobiálnej aktivity ako pozitívna kontrola.

- Krém Clotrimazol AL 1 % s obsahom klotrimazolu so zložením:

sorbitan stearát, polysorbát 60, umelá vorvaňovina, cetylstearylalkohol, benzylalkohol, oktyldodekan, čistená voda



Obrázok 17 – Ilustračná fotografia zakúpeného krému s klotrimazolom [73]

- Masť Fungicidin Léčiva s obsahom nysatinu so zložením:

biela vazelína, lanolín, biely vosk, parafín (tekutý), cetylakohol



Obrázok 18 – Ilustračná fotografia zakúpenej masti s nystatinom [74]

4.4 Stanovenie aktívnych látok v rastlinných extraktoch

4.4.1 Stanovenie celkových polyfenolov

Na stanovenie celkových polyfenolov sa používa Folin-Ciocalteová spektrofotometrická metóda. Intenzita vzniknutého modrého sfarbenia pri 750 nm je priamo úmerná celkovému obsahu polyfenolov vo vzorke [75].

Do skúmavky sa napipetovalo 1 ml zriedeného Folin-Ciocalteovho činidla, 1 ml destilovanej vody a 50 μ l etanolového extraktu vzorky. Zmes bola premiešaná a nechaná stáť 5 minút. Následne bol pridaný 1 ml nasýteného roztoku Na_2CO_3 , zmes v skúmavke bola opäť premiešaná a nechaná stáť 15 minút. Obsah polyfenolov prítomných vo vzorke bol zmeraný spektrofotometricky pri 750 nm. Slepá vzorka sa pripravila rovnakým postupom, len namiesto vzorky extraktu bol použitý 60 % roztok etanolu. Výsledná koncentrácia bola vypočítaná zo zostrojenej kalibračnej krivky, kde ako štandard bola použitá kyselina gallová.

4.4.2 Stanovenie celkových flavonoidov

Na stanovenie celkových flavonoidov sa najčastejšie používa kolorimetrická metóda, kedy je zmena sfarbenia úmerná koncentrácii flavonoidov vo vzorke [76].

Do skúmavky sa napipetovalo 0,5 ml etanolového extraktu vzorky, 1,5 ml destilovanej vody a 0,2 ml 5 % roztoku NaNO_2 . Zmes v skúmavke bola premiešaná a nechaná stáť 5 minút. K zmesi sa pridalo 0,2 ml 10 % roztoku AlCl_3 a roztok bol opäť premiešaný a ponechaný stáť 5 minút. Nakoniec bolo pridaných 1,5 ml 1 M roztoku NaOH a 1 ml destilovanej vody. Po premiešaní zmes bola ponechaná stáť a potom bola zmeraná absorbancia pri 510 nm. Pri príprave slepej vzorky namiesto rastlinného extraktu bol použitý 60 % roztok etanolu. Na zostrojenie kalibračnej krivky bol použitý katechín.



Obrázok 19 – Stanovenie celkových flavonoidov vo vzorkách rastlinných extraktov

4.4.3 Stanovenie antioxidačnej aktivity

K stanoveniu antioxidačnej aktivity sa používa metóda TEAC. Pred samotným meraním bol pripravený kation-radikál $\text{ABTS}^{\bullet+}$ v 10 ml odmernej banke rozpustením v destilovanej vode na koncentráciu 7 mM. Následne sa do odmernej banky pridala peroxidisíran draselný s koncentráciou 2,45 mM a banka sa doplnila destilovanou vodou po rysku. Banka bola obalená alobalom a nechaná stáť v tme 12 hodín pri izbovej teplote. Pred použitím bol roztok $\text{ABTS}^{\bullet+}$ zriedený etanolom pre UV-VIS na absorbanciu $0,70 \pm 0,02$ pri vlnovej dĺžke 734 nm. Pri meraní sa používal takto zriedený roztok. Do zúženej kyvety bol napipetovaný 1 ml zriedeného roztoku $\text{ABTS}^{\bullet+}$ a 10 μ l vzorky rastlinného extraktu. Absorbancia bola zaznamenaná po premiešaní v čase nula (A_0). Zmes bola nechaná stáť na tmavom mieste 10 minút. Po uplynutí tejto doby bol zmeraný pokles absorbancie (A_1). Výsledná absorbancia

bola vypočítaná z rovnice $A = A_0 - A_1$. Antioxidačná aktivita bola stanovená z kalibračnej krivky kde štandardom bol Trolox a ako slepá vzorka bol použitý 60% roztok etanolu.

4.5 Stanovenie antimikrobiálnej aktivity

Antimikrobiálna aktivita bola stanovená na grampozitívnej baktérii *Micrococcus luteus*, gramnegatívnej baktérii *Escherichia coli* a na kvasinke *Candida glabrata*. Tekuté médium v Erlenmeyerovej banke bolo zaočkované príslušnou kultúrou z uchováanej kultúry. Kultivácia prebiehala 24 hodín na trepačke pri 37 °C a 30 °C. Potom boli pripravené Petriho misky s pevným živným médiom s prídavkom agaru.

Najrozšírenejším kvasinkovým pôvodcom kožných mykóz je rod *Candida*. Preto pri stanovení antimikrobiálnej aktivity bol primárne sledovaný antifungálny účinok proti kvasinke *Candida glabrata*. Antimikrobiálny účinok na G- a G+ baktérie bol stanovený len na doplnenie informácií.

4.5.1 Príprava živných médií

Tekuté média boli pripravené podľa zloženia uvedeného v tabuľkách nižšie č. 7–9. Pri príprave pevného živného média bol pridaný aj agar. Média sa po navážení zložiek a pridaní destilovanej vody sa sterilizovali v tlakovom hrnci pri 120 °C po dobu 35 minút. Do tekutého média bola zaočkovaná kultúra a médium s agarom bolo rozliate do Petriho misiek. Celá práca prebiehala v dopredu sterilizovanom boxe.

- *Escherichia coli*

Tabuľka 7 – Zloženie živného média

Zložky	Množstvo prepočítané na 1000 ml destilovanej vody
LB Broth	20 g
Agar	20 g

- *Micrococcus luteus*

Tabuľka 8 – Zloženie živného média

Zložky	Množstvo prepočítané na 1000 ml destilovanej vody
Nutrient Broth	20 g
Agar	20 g

- *Candida glabrata*

Tabuľka 9 – Zloženie živného média

Zložky	Množstvo prepočítané na 1000 ml destilovanej vody
Glukóza	20 g
Kvasničný extrakt	10 g
Bakteriálny pepton	20 g
Agar	20 g

4.5.2 Agarový difúzny test

Pripravené Petriho misky boli zaočkované z dopredu pripraveného 24 hodinového inokula vybranej kultúry mikroorganizmov. Kvasinka a baktérie boli kultivované na svojich príslušných optimálnych médiách (Tab. 7 – 9). Po zaschnutí kultúry boli do tuhého média vykrojené 4 jamky, do 3 jamiek sa pipetovalo 50 µl vzorky extraktu alebo výrobku a do jednej jamky sa pipetoval blank, ktorým bol 60 % roztok etanolu alebo výrobok bez rastlinného extraktu. Petriho misky sa kultivovali 24 hodín pri teplote 37 °C a 30 °C. Zmeraním veľkosti inhibičnej zóny okolo jamiek bola vyhodnotená antimikrobiálna aktivita vzoriek. Práca prebiehala v sterilnom boxe.

5 VÝSLEDKY A DISKUSIA

5.1 Stanovenie celkových polyfenolov

Obsah celkových polyfenolov vo vzorkách bol stanovený podľa postupu uvedeného v kapitole 4.4.1. Zostrojením kalibračnej krivky štandardnej látky – kyseliny gallovej bola vypočítaná koncentrácia celkových polyfenolov vo vzorkách. Meranie pre každú vzorku bolo opakované trikrát. Koncentrácia bola získaná dosadením priemeru absorbancií do rovnice priamky kalibračnej krivky. Kalibračná krivka je uvedená v poslednej kapitole (Prílohy).

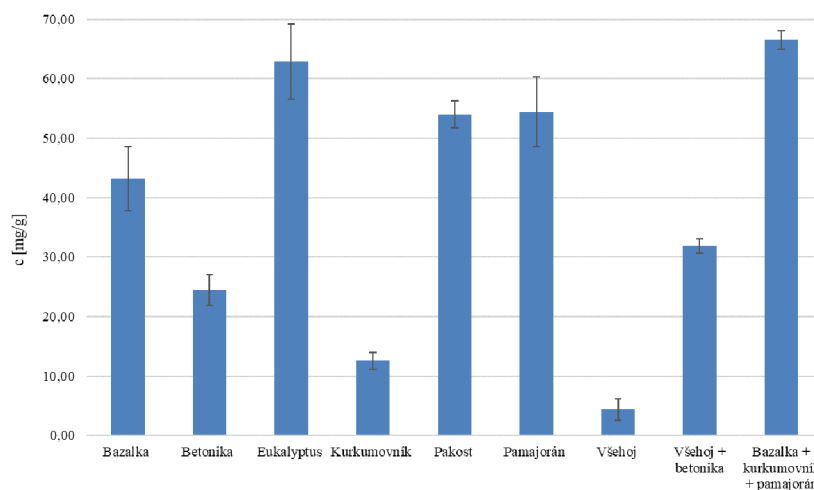
5.1.1. Etanolové extrakty

U etanolových extraktoch bol obsah celkových polyfenolov prepočítaný na 1 g sušenej rastliny. Všetky hodnoty boli vypočítané funkciou Excelu a sú uvedené v tabuľke č. 10.

Tabuľka 10 – Obsah celkových polyfenolov v rastlinných extraktoch

Rastlina	koncentrácia	
	[mg/ml]	[mg/g]
Bazalka pravá	3,90 ± 0,24	39,13 ± 2,44
Betonika lekárska	2,52 ± 0,27	24,44 ± 2,61
Eukalyptus guľatoplodý	6,31 ± 0,19	62,50 ± 1,91
Kurkumovník dlhý	1,25 ± 0,15	12,55 ± 1,47
Pakost smradľavý	5,35 ± 0,23	54,02 ± 2,28
Pamajorán obyčajný	4,86 ± 0,10	49,31 ± 1,03
Všehož ázijský	0,23 ± 0,08	4,51 ± 1,68
Zmes všehoja ázijského a betoniky lekárskej	3,23 ± 0,12	31,86 ± 1,22
Zmes bazalky pravej, kurkumovníku dlhého a pamajoránu obyčajného	10,23 ± 0,25	66,51 ± 1,61

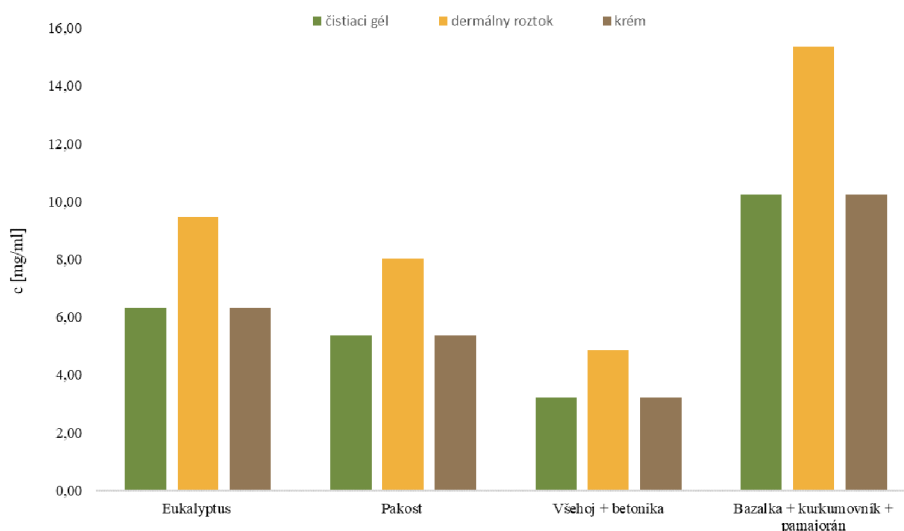
Z jednotlivých rastlín najviac polyfenolov obsahuje extrakt z eukalyptových listov $62,50 \pm 1,91$ mg/g a extrakt z vňate pakosta $54,02 \pm 2,28$ mg/g. Najmenší obsah polyfenolov bol nameraný v extrakte z koreňa všehoja $4,51 \pm 1,68$ mg/g. Vysoký obsah polyfenolov v zmesi troch rastlín ($66,51 \pm 1,61$ mg/g) spôsobuje bazalka $39,13 \pm 2,44$ mg/g a pamajorán $49,31 \pm 1,03$ mg/g.



Obrázok 20 – Obsah celkových polyfenolov v rastlinných extraktoch

5.1.2. Kozmetické prípravky

Množstvo celkových polyfenolov v kozmetických prípravkoch bolo vypočítané len orientačne, keďže bolo známe množstvo pridaných rastlinných extraktov. Množstvo polyfenolov v prípravkoch je znázornené na obrázku č. 21.



Obrázok 21 – Prehľad obsahu celkových polyfenolov v kozmetických prípravkoch

5.2 Stanovenie celkových flavonoidov

Obsah celkových flavonoidov vo vzorkách bol zistený pomocou postupu uvedeného v kapitole 4.4.2. Pri zostrojení kalibračnej krivky bol štandardnou látkou katechín. Každá vzorka sa analyzovala trikrát a hodnoty sa spriemerovali. Z kalibračnej rovnice bol vypočítaný obsah celkových flavonoidov vo vzorkách. Kalibračná krivka je uvedená v prílohách.

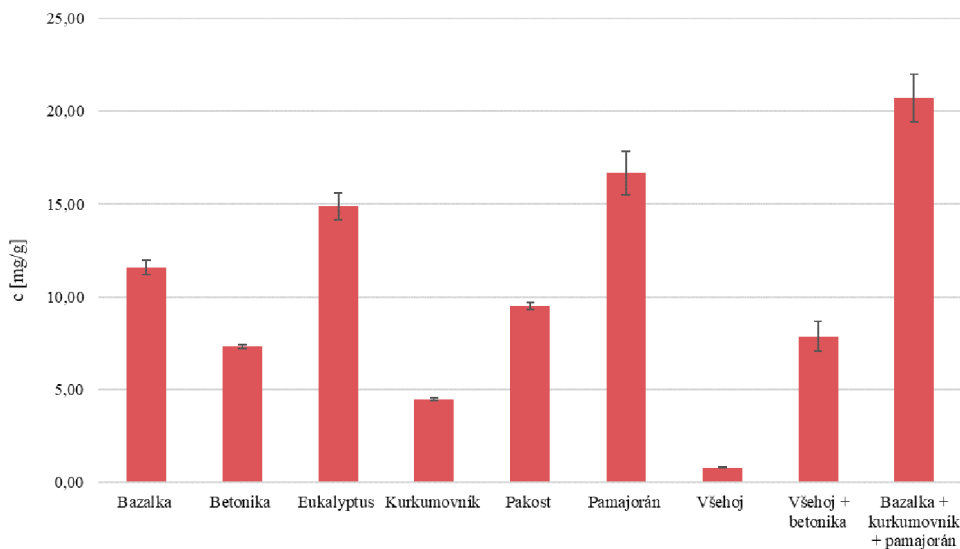
5.2.1 Etanolové extrakty

Koncentrácia celkových flavonoidov v rastlinných extraktoch bola opäť prepočítaná na 1 g sušenej rastliny. Všetky hodnoty boli vypočítané funkciou Excelu. Výsledky sú zaznamenané v tabuľke č. 11 a pre lepšie znázornenie na obrázku č. 22.

Tabuľka 11 – Obsah celkových flavonoidov v rastlinných extraktoch

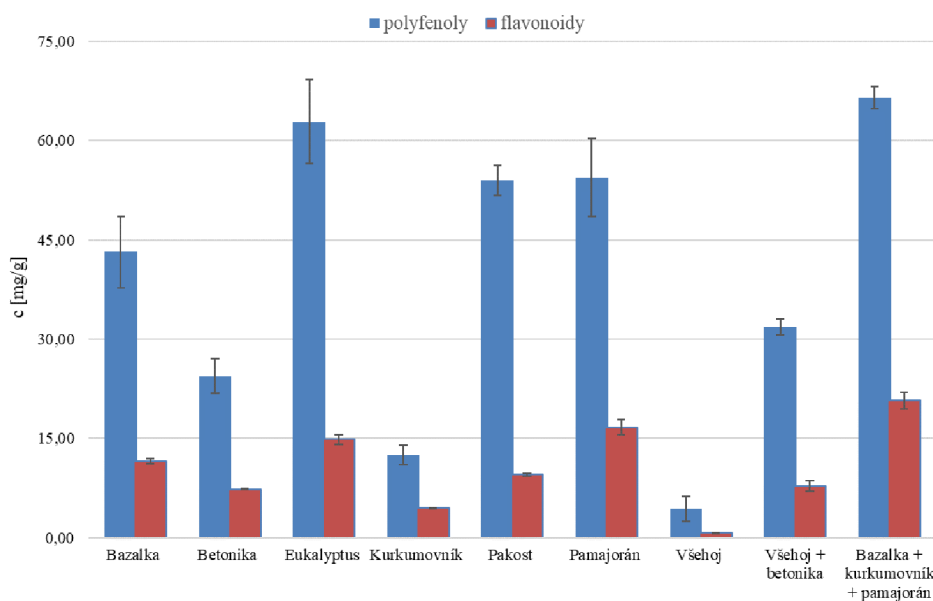
Rastlina	koncentrácia	
	[mg/ml]	[mg/g]
Bazalka pravá	1,16 ± 0,04	11,59 ± 0,37
Betonika lekárska	0,75 ± 0,01	7,33 ± 0,09
Eukalyptus guľatoplodý	1,50 ± 0,07	14,87 ± 0,74
Kurkumovník dlhý	0,45 ± 0,01	4,47 ± 0,07
Pakost smradľavý	0,94 ± 0,02	9,50 ± 0,21
Pamajorán obyčajný	1,64 ± 0,11	16,66 ± 1,15
Všehoj ázijský	0,04 ± 0,00	0,79 ± 0,01
Zmes všehoja ázijského a betoniky lekárskej	0,80 ± 0,08	7,87 ± 0,81
Zmes bazalky pravej, kurkumovníku dlhého a pamajoránu obyčajného	3,19 ± 0,20	20,72 ± 1,27

Najvyššia hodnota obsahu flavonoidných látok bola nameraná v zmesi bazalky, kurkumovníku a pamajoránu $20,72 \pm 1,27$ mg/g. Vysoký obsah flavonoidov bol zaznamenaný aj u pamajoránu $16,66 \pm 1,15$ mg/g a eukalyptu $14,87 \pm 0,74$ mg/g. Najnižší obsah flavonoidov bol nameraný v extrakte koreňa všehoja $0,79 \pm 0,01$ mg/g.



Obrázok 22 – Obsah celkových flavonoidov v rastlinných extraktoch

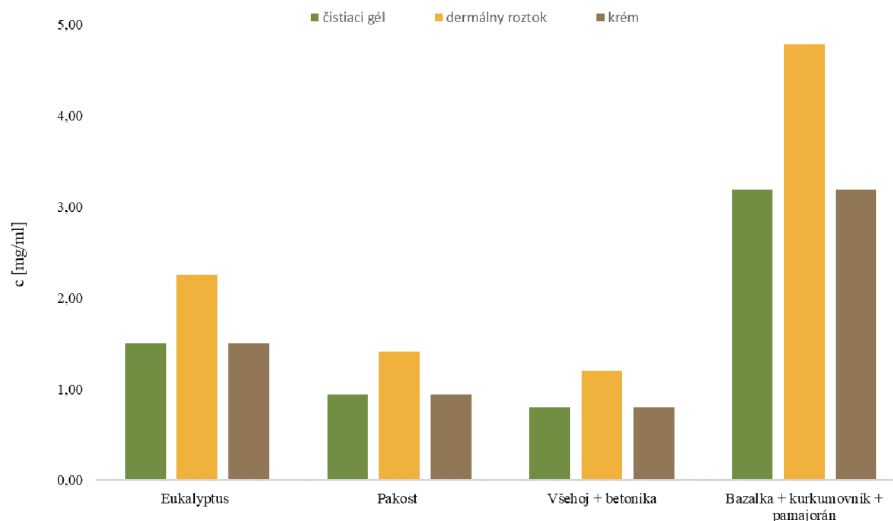
Flavonoidy sú podskupinou polyfenolov, to znázorňuje aj obrázok č. 23, kde môžeme sledovať obsah flavonoidných látok v polyfenoloch. Množstvo flavonoidov v extrakte z koreňa kurkumy odpovedá približne 36 % polyfenolom. U ostatných vzoriek je tento podiel nižší. Najnižšie hodnoty v tomto prípade nájdeme v extraktoch zo všehoja a pakosta, v oboch je podiel flavonoidov len 18 %.



Obrázok 23 – Porovnanie obsahu polyfenolov a flavonoidov v rastlinných extraktoch

5.2.2 Kozmetické prípravky

Pre porovnanie obsahu celkových flavonoidných látok v kozmetických prípravkoch bol opäť vytvorený graf. Bolo známe množstvo pridaných rastlinných extraktov, preto boli hodnoty len prepočítané zo získaných dát.



Obrázek 24 - Prehľad obsahu celkových flavonoidov v kozmetických prípravkoch

5.3 Stanovenie antioxidačnej aktivity

Antioxidačná aktivita vo vzorkách bola stanovená podľa postupu uvedeného v kapitole 4.4.3. Štandardnou látkou pri zostrojení kalibračnej krivky bol Trolox. Meranie pre každú vzorku bolo opakované trikrát. Antioxidačná aktivita vzorky bola získaná dosadením priemeru absorbancií do rovnice priamky kalibračnej krivky. Kalibračná krivka je uvedená v kapitole Prílohy.

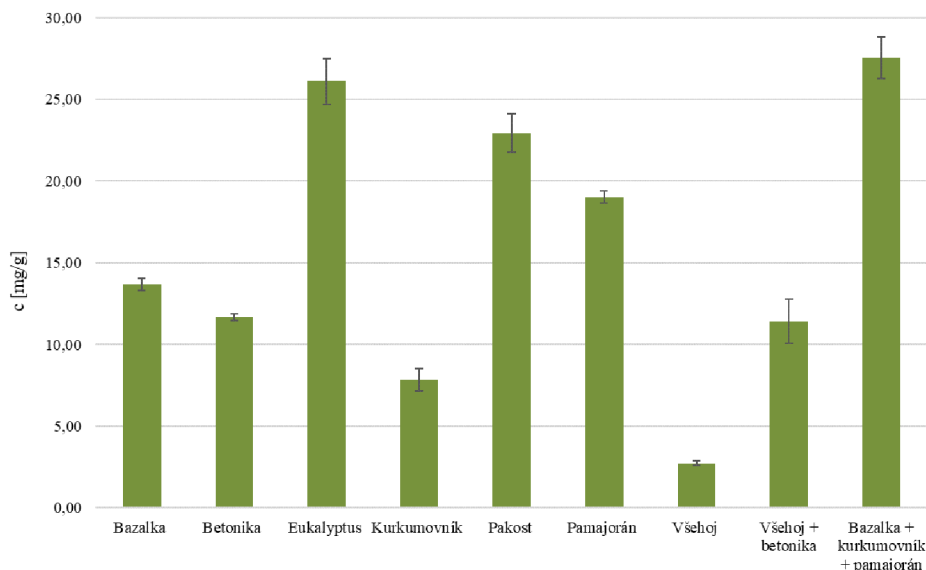
5.3.1 Etanolové extrakty

Hodnoty antioxidačnej aktivity etanolových extraktov boli prepočítané na 1 g sušenej rastliny. Všetky získané hodnoty, vypočítané funkciou Excelu sú uvedene v tabuľke č. 12 a znázornené na obrázku 25.

Tabuľka 12 – Antioxidačná aktivita rastlinných extraktov

Rastlina	koncentrácia	
	[mg/ml]	[mg/g]
Bazalka pravá	1,36 ± 0,04	13,66 ± 0,38
Betonika lekárska	1,20 ± 0,02	11,65 ± 0,22
Eukalyptus guľatoplodý	2,64 ± 0,14	26,10 ± 1,40
Kurkumovník dlhý	0,78 ± 0,07	7,85 ± 0,67
Pakost smradľavý	2,27 ± 0,12	22,94 ± 1,16
Pamajorán obyčajný	1,87 ± 0,03	19,02 ± 0,35
Všehoj ázijský	0,14 ± 0,01	2,73 ± 0,12
Zmes všehoja ázijského a betoniky lekárskej	1,16 ± 0,14	11,42 ± 1,34
Zmes bazalky pravej, kurkumovníku dlhého a pamajoránu obyčajného	4,24 ± 0,20	27,55 ± 1,28

Hodnoty antioxidačnej aktivity sa výrazne líšia od obsahu celkových polyfenolov. Aj pri tomto stanovení však najmenej antioxidačných zložiek obsahoval všehoj $2,73 \pm 0,12$ mg/g. Najvyššia hodnota sa preukázala u zmesi bazalky, kurkumovníku a pamajoránu $27,55 \pm 1,28$ mg/g, ktorá je len o málo vyššia než u eukalyptu $26,10 \pm 1,40$ mg/g.

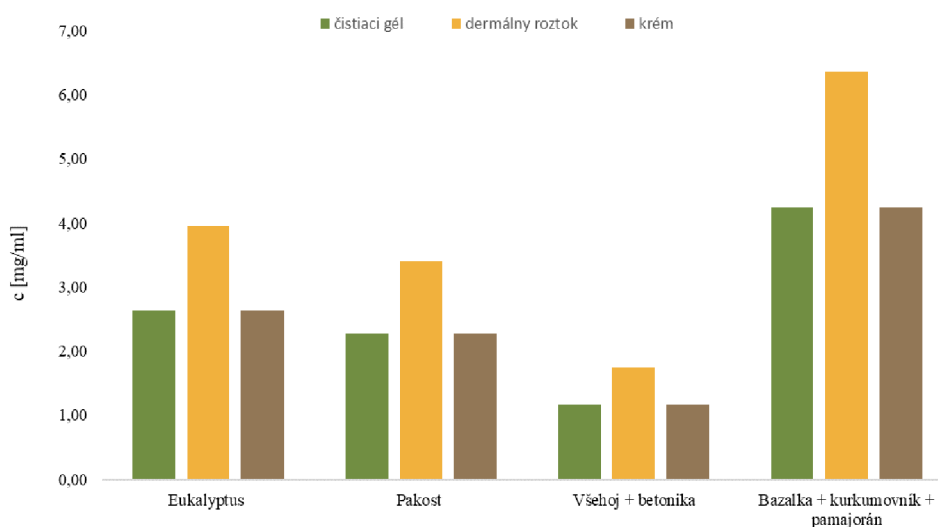


Obrázok 25 – Antioxidačná aktivita rastlinných extraktov

5.3.2 Kozmetické prípravky

Antioxidačná aktivita prípravkov bola orientačne vypočítaná opäť zo známeho množstva pridaných rastlinných extraktov. Výsledné hodnoty ekvivalentu Troloxu sú znázornené na obrázku č. 26.

Celkové polyfenoly a flavonoidy patria medzi antioxidačné látky. Vypočítané hodnoty antioxidačnej aktivity sa však líšia od obsahu týchto látok. Rozdiely mohli byť spôsobené prítomnosťou inej antioxidačnej látky, ktorá nebola detekovaná. Stanovenie antioxidačných látok môžu negatívne ovplyvniť aj niektoré zložky kozmetických výrobkov.



Obrázok 26 – Prehľad antioxidačnej aktivity kozmetických prípravkov

5.4 Antimikrobiálna aktivita

Antimikrobiálna aktivita extraktov a pripravených výrobkov bola stanovená podľa postupu uvedeného v kapitole 4.5.2. Agarový difúzny test bol použitý na stanovenie antimikrobiálneho účinku proti baktériam *Micrococcus luteus* a *Escherichia coli* a proti kvasinke *Candida glabrata*. Je to najrozšírenejšia technika hodnotenia antimikrobiálnej aktivity. Je rýchla, jednoduchá a umožňuje zistiť stupeň inhibície rastu mikroorganizmov.

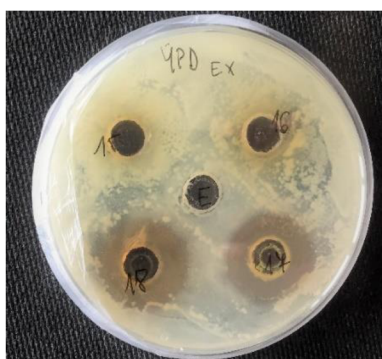
5.4.1. Etanolové extrakty

Pri sledovaní antimikrobiálnej aktivity rastlinných extraktov ako blank bol použitý 60 % etanol. Proti baktérii *M. luteus* boli neúčinné extrakty z betoniky a pakosta a proti baktérii *E. coli* neúčinkoval extrakt z bazalky. Naopak rast kvasinky inhibovali všetky extrakty. Najúčinnjšou vzorkou bol extrakt z bazalky, kurkumovníku a pamajoránu, ktorý u všetkých mikroorganizmov dosiahol najväčšiu inhibičnú zónu. Na druhom mieste je extrakt z pamajoránu a po ňom extrakt z eukalyptu. Hodnoty antimikrobiálnej aktivity extraktov sú uvedené v tabuľke č. 13.

Tabuľka 13 – Antimikrobiálna aktivita rastlinných extraktov

Rastlina	polomer inhibičnej zóny [mm]		
	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>C. glabrata</i>
Bazalka pravá	-	1	3
Betonika lekárska	3	-	4
Eukalyptus guľatoplodý	6	2	6,33
Kurkumovník dlhý	3	1	3
Pakost smradľavý	8	-	4
Pamajorán obyčajný	7	3	7
Všehož ázijský	2	2	3
Zmes všehoja ázijského a betoniky lekárskej	4	3	5
Zmes bazalky pravej, kurkumovníku dlhého a pamajoránu obyčajného	7	5	8

Na obrázku č. 27 sú ukážky inhibičných zón rastlinných extraktov. V prípade extraktu zo zmesi bazalky, kurkumovníku a pamajoránu (vľavo dole) je inhibičná zóna najväčšia. Inhibičná zóna extraktu pamajoránu (vpravo dole) je o 1 milimeter menšia.



Obrázok 27 – Difúzny agarový test vzoriek extraktov (*Candida glabrata*)

5.4.2. Dermálny roztok

Pripravený dermálny roztok účinkoval najmenej proti *M. luteus*. V prípade roztoku s prídavkom extraktu pakostu a zmesi všehoja a betoniky nedošlo k žiadnej inhibícii rastu. Dermálny roztok účinkoval najviac proti *C. glabrata* a *E. coli*, avšak aj v prípade týchto mikroorganizmov boli namerané inhibičné zóny len do 3 mm. Blankom bol dermálny roztok bez prídavku rastlinného extraktu. Hodnoty antimikrobiálnej aktivity prípravku sú uvedené v tabuľke č. 14.

Tabuľka 14 – Antimikrobiálna aktivita dermálneho roztoku

Rastlina	polomer inhibičnej zóny [mm]		
	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>C. glabrata</i>
Eukalyptus guľatoplodý	2	1	2
Pakost smradľavý	2	-	3
Zmes všehoja ázijského a betoniky lekárskej	1	-	2
Zmes bazalky pravej, kurkumovníku dlhého a pamajoránu obyčajného	3	1	3

5.4.3. Jemný čistiaci gél

V prípade pripraveného čistiaceho gélu najvyššia inhibícia rastu bola pozorovaná proti *E. coli* a *C. glabrata*. Najviac účinné boli gély s prídavkom eukalyptového extraktu. Pri pozorovaní aktivity proti *M. luteus* boli znova namerané len minimálne inhibičné zóny. Ako blank, bol použitý základný čistiaci gél bez extraktu. Namerané hodnoty inhibičných zón sú uvedené v tabuľke č. 15.

Tabuľka 15 – Antimikrobiálna aktivita jemného čistiaceho gélu

Rastlina	polomer inhibičnej zóny [mm]		
	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>C. glabrata</i>
Eukalyptus guľatoplodý	3	2	3
Pakost smradľavý	2	0,66	2
Zmes všehoja ázijského a betoniky lekárskej	2	1	2,33
Zmes bazalky pravej, kurkumovníku dlhého a pamajoránu obyčajného	3	1	3

5.4.4. Krém s oxidom zinočnatým

Najúčinnejším kozmetickým prípravkom bol krém. Je to pôsobené oxidom zinočnatým, ktorý má adstringentný, antiseptický a antimikrobiálny účinok. Najvyššia inhibícia rastu bola pozorovaná proti *C. glabrata*. Rovnako, ako predchádzajúce výrobky, aj krém účinkoval najmenej proti *M. luteus*. Blankom bol základný krém bez prídavku rastlinného extraktu. Hodnoty antimikrobiálnej aktivity krému sú uvedené v tabuľke č. 16.

Tabuľka 16 – Antimikrobiálna aktivita krému s oxidom zinočnatým

Rastlina	polomer inhibičnej zóny [mm]		
	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>C. glabrata</i>
Eukalyptus guľatoplodý	5	3	5
Pakost smradľavý	4	3	7
Zmes všehoja ázijského a betoniky lekárskej	3,66	3	8
Zmes bazalky pravej, kurkumovníku dlhého a pamajoránu obyčajného	4,33	2	6

5.4.5. Zakúpené krémy

Krémy s 1 % obsahom klotrimazolu a nystatinu boli použité pri stanovení antimikrobiálnej aktivity ako pozitívna kontrola. Keďže krémy obsahujú antimykotické liečivá, bolo očakávané, že proti baktériám nevykazujú žiadnu aktivitu.

Tabuľka 17 – Antimikrobiálna aktivita zakúpených krémov

Rastlina	polomer inhibičnej zóny [mm]		
	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>C. glabrata</i>
Klotrimazol	-	-	9
Nystatin	-	-	4

Na obrázku č. 28 je viditeľné, že krém s klotrimazolom (vľavo) inhibuje rast kvasinky *Candida glabrata* účinnejšie ako krém s nystatinom (vpravo).



Obrázok 28 – Difúzny agarový test zakúpených krémov (*Candida glabrata*)

Podľa výsledkov antifungálnej aktivity, čistiaci gél s extraktom zmesi bazalky, kurkumovníku a pamajoránu a gél s eukalyptovým extraktom mali podobný účinok ako krém s nystatinom. Krému s klotrimazolom sa najviac podobá krém s prídavkom extraktu zmesi bazalky, kurkumovníku a pamajoránu a krém s extraktom pakosta. Všetky štyri pripravené dermálne roztoky mali nižšiu aktivitu ako krémy s liečivami.

6 ZÁVER

Používanie liečivých rastlín má dlhodobú tradíciu. Využívajú sa potravinárstve, farmaceutickom priemysle, a tiež v kozmetike. Obsahujú mnoho účinných látok, napríklad saponíny, triesloviny a fenolové zlúčeniny. Samozrejme zloženie obsahu rastliny závisí od času zberu a pôvodu rastliny.

V teoretickej časti práce boli popísané mykózy, účinné látky rastlín s pozitívnym vplyvom na ľudský organizmus a liečivé rastliny s potenciálnym antimykotickým účinkom. Ďalej boli popísané metódy stanovení, ktorými bola zistená antimikrobiálna aktivita. Na prípravu extraktov bola použitá bazalka, betonika, eukalypt, kurkumovník, pakost, pamajorán a všehoľ. Účinné zložky rastlín boli extrahované 60 % roztokom etanolu. V experimentálnej časti boli etanolové rastlinné extrakty charakterizované z hľadiska obsahu polyfenolov, flavonoidov a antioxidačnej aktivity. Obsah účinných látok bol stanovený spektrofotometricky. Najvyššia koncentrácia celkových polyfenolov, flavonoidov a najvyššia antioxidačná aktivita bola stanovená u zmesi bazalky pravej, kurkumovníku dlhého a pamajoránu obyčajného. Vysoký obsah účinných látok bol nameraný aj v extraktoch z pamajoránu a eukalyptu. Potom boli pripravené kozmetické prípravky s obsahom vybraných rastlinných extraktov, ktoré dosiahli najlepšie výsledky. Pripravené výrobky boli určené proti mykózam. Vyrobené boli produkty na čistenie a ošetrovanie postihnutej oblasti – jemný čistiaci gél, dermálny roztok a krém. Keďže na trhu ešte nie sú dostupné rastlinné produkty proti mykózam, boli zakúpené krémy so syntetickými antimykotickými liečivami. Na záver bola sledovaná antimikrobiálna aktivita extraktov a kozmetických prípravkov. Antimikrobiálny účinok bol zisťovaný proti *Candida glabrata*, *Escherichia coli* a *Micrococcus luteus*. Proti kvasinke vykazovali všetky extrakty inhibičný účinok. Najúčinnjšou vzorkou bol extrakt z bazalky, kurkumovníku a pamajoránu, ktorý u všetkých mikroorganizmov dosiahol najväčšiu inhibičnú zónu. Takisto aj extrakt z pamajoránu a eukalyptu inhiboval rast všetkých mikroorganizmov, ale v menšej miere. Kozmetické prípravky, okrem krému, na *Micrococcus luteus* prakticky neúčinkovali. Najvyššia inhibícia rastu bola pozorovaná u *Candida glabrata*, ktorá je práve pôvodcom mykotických ochorení. Zakúpené krémy obsahovali antimykotické liečivo, preto nevykazovali žiadnu aktivitu proti baktériám. Podľa nameraných výsledkov, komerčným výrobkom sa najviac podobá čistiaci gél a krém s prídavkom extraktu zmesi bazalky, kurkumovníku a pamajoránu.

Liečivé rastliny, podľa dosiahnutých výsledkov, určite nájdu uplatnenie v oblasti kozmetiky. Môžu sa používať nielen pri liečbe mykóz, ale aj pri ďalších chorobách. Vhodným riešením sú aj ako doplnková liečba počas terapie s inými antimykotickými liečivami. Vďaka imunomodulačným a imunoregulačným účinkom zohrávajú dôležitú úlohu tiež v prevencii mykotických infekcií.

Doteraz vykonané testy priniesli veľmi pozitívne výsledky. Bolo by veľkým prínosom pokračovať v testovaní antimikrobiálnej aktivity ďalších rastlín aj voči iným patogénom. V porovnaní s inými výskumami, je však výhodnejšie používať iné rozpúšťadla pre extrakciu, než 60 % roztok etanolu.

7 ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV

- [1] BUCHVALD, Jozef a Dušan BUCHVALD. *Dermatovenerológia: [vysokoškolská učebnica]*. Bratislava: Vydavateľstvo UK, 2002. ISBN 80-223-1681-4.
- [2] JEDLIČKOVÁ, Anna, Jaromír MAŠATA a Magdalena SKOŘEPOVÁ. *Lokální mykózy: průvodce ošetřujícího lékaře*. Praha: Maxdorf, c2008. Jessenius. ISBN 978-807-3451-509.
- [3] ŠTATISTICKÉ PREHLADY: Činnosť dermatovenerologických ambulancií v SR [online]. Bratislava: Národné centrum zdravotníckych informácií, 2019 [cit. 2019-03-05]. Dostupné z: <http://www.nczisk.sk/Documents/publikacie/2017/sp1808.pdf>
- [4] JEDLIČKOVÁ, Anna. *Systémové mykózy: průvodce ošetřujícího lékaře*. Praha: Maxdorf, c2006. Farmakoterapie pro praxi. ISBN 80-734-5000-X.
- [5] MOLČANOVÁ, Jana. Zmeny farby kože ako prejav ochorenia. *InVitro*. 2018, **6**(2), 75-78.
- [6] SKOŘEPOVÁ, Magdalena. Kožní mykózy a onychomykózy. *Interní medicína pro praxi*. 2005, (6), 306-310.
- [7] VOLLEKOVÁ, Anna a Anastázia BAROŇÁKOVÁ. *Superficiálne mykózy*. VIA PRACTICA. 2005, (3), 129-133.
- [8] Candida – Paronychia [online]. In: . [cit. 2019-03-25]. Dostupné z: https://perridermatology.com/wp-content/uploads/2015/08/32_chronic_paronychia_16-384x250.jpg
- [9] SKOŘEPOVÁ, Magdalena. Dermatomykózy. *Dermatologie pro praxi*. 2010, 4(2), 74-76.
- [10] BONIFAZ, Alexandro, Fernando GÓMEZ-DAZA, Vanessa PAREDES a Rosa María PONCE. Tinea versicolor, tinea nigra, white piedra, and black piedra. *Clinics in Dermatology*. 2010, **28**(2), 140-145. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2009.12.004. ISSN 0738081X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0738081X09002466>
- [11] HUBE, B., R. HAY, J. BRASCH, S. VERALDI a M. SCHALLER. Dermatomycoses and inflammation: The adaptive balance between growth, damage, and survival. *Journal de Mycologie Médicale* [online]. 2015, **25**(1), e44-e58 [cit. 2019-03-11]. DOI: 10.1016/j.mycmed.2014.11.002. ISSN 11565233. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1156523314003023>
- [12] KOĐOUSEK, Rostislav. *Mykózy: lékařsky významná mykotická onemocnění člověka*. Olomouc: Univerzita Palackého, 2003. ISBN 80-244-0649-7.
- [13] MELICHAR, Bohuslav. *Chemická léčiva: celostátní vysokoškolská příručka pro studenty farmaceutických fakult*. 3., přeprac. vyd. Praha: Avicenum, 1987.
- [14] SLÍVA, Jiří a Martin VOTAVA. *Farmakologie*. Praha: Triton, 2011. Lékařské repetitorium. ISBN 978-807-3875-008.

- [15] LÜLLMANN, Heinz, Klaus MOHR a Martin WEHLING. *Farmakologie a toxikologie*. Vyd. 2. české. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-247-0836-1.
- [16] ADC [online]. [cit. 2019-03-28]. Dostupné z: <https://www.adc.sk/databazy/produkty/klasifikacia/HLD01A/antimykotika-na-lokalne-pouzitie.html>
- [17] ADC [online]. [cit. 2019-03-28]. Dostupné z: <https://www.adc.sk/databazy/produkty/klasifikacia/HLJ02/antimykotika-na-systemove-pouzitie.html>
- [18] MARTIN, Karen W. a E. ERNST. Herbal medicines for treatment of fungal infections: a systematic review of controlled clinical trials. *Phytomedizin zur Behandlung von Pilzinfektionen*. *Mycoses* [online]. 2004, **47**(3-4), 87-92 [cit. 2019-01-30]. DOI: 10.1046/j.1439-0507.2003.00951.x. ISSN 0933-7407. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1439-0507.2003.00951.x>
- [19] LIU, Jun, Stefan WILLFÖR a Chunlin XU. A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*. 2015, **5**(1), 31-61. DOI: 10.1016/j.bcdf.2014.12.001. ISSN 22126198. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212619814000564>
- [20] ANISZEWSKI, Tadeusz. *Alkaloids - secrets of life: alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role*. Boston: Elsevier, 2007. ISBN 978-0-444-52736-3.
- [21] ALVES DE ALMEIDA, Ana Cristina, Felipe Meira DE-FARIA, Ricardo José DUNDER, Luis Paulo Bognoni MANZO, Alba Regina Monteiro SOUZA-BRITO a Anderson LUIZ-FERREIRA. Recent Trends in Pharmacological Activity of Alkaloids in Animal Colitis: Potential Use for Inflammatory Bowel Disease. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2017, **2017**, 1-24. DOI: 10.1155/2017/8528210. ISSN 1741-427X. Dostupné také z: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2017/8528210/>
- [22] CHATTERJEE, Shampa, Wolfgang JUNGRAITHMAYR a Debasis BAGCHI. *Immunity and inflammation in health and disease: emerging roles of nutraceuticals and functional foods in immune support*. London: Academic Press, [2018]. ISBN 978-0-12-805417-8.
- [23] CABALLERO, Benjamin, Paul FINGLAS a Fidel TOLDRA. *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*. 2. Academic Press, 2003. ISBN 978-0-12-227055-0.
- [24] LADDHA, Ankit P. a Yogesh A. KULKARNI. Tannins and vascular complications of Diabetes: An update. *Phytomedicine*. 2019, **56**, 229-245. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.10.026. ISSN 09447113. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0944711318305464>
- [25] STRATIL, Pavel a Vlastimil KUBÁŇ. *Reaktivní kyslíkové radikály, přírodní antioxidanty a jejich zdravotní účinky*. Český Těšín: 2 THETA, 2018. ISBN 978-808-6380-919.

- [26] RAMOS-HRYB, Ana B., Mauricio P. CUNHA, Manuella P. KASTER a Ana Lúcia S. RODRIGUES. *Natural Polyphenols and Terpenoids for Depression Treatment: Current Status*. Elsevier, 2018, 2018, , 181-221. Studies in Natural Products Chemistry. DOI: 10.1016/B978-0-444-64068-0.00006-1. ISBN 9780444640680. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444640680000061>
- [27] BADAL, Simone a Rupika DELGODA. *Pharmacognosy: fundamentals, applications and strategy*. Boston: Elsevier, AP, [2017]. ISBN 978-0-12-802104-0.
- [28] THOLL, Dorothea. Biosynthesis and Biological Functions of Terpenoids in Plants. *Biotechnology of Isoprenoids*. Cham: Springer International Publishing, 2015, 2015-1-13, , 63-106. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology. DOI: 10.1007/10_2014_295. ISBN 978-3-319-20106-1. Dostupné také z: http://link.springer.com/10.1007/10_2014_295
- [29] PERVEEN, Shagufta. Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids. *Terpenes and Terpenoids*. IntechOpen, 2018, 2018-12-19. DOI: 10.5772/intechopen.79683. ISBN 978-1-78984-776-5. Dostupné také z: <https://www.intechopen.com/books/terpenes-and-terpenoids/introductory-chapter-terpenes-and-terpenoids>
- [30] MILLS, Simon a Kerry BONE. *Principles and practice of phytotherapy: modern herbal medicine*. New York: Churchill Livingstone, 2000. ISBN 978-0443060168.
- [31] PODOLAK, Irma, Agnieszka GALANTY a Danuta SOBOLEWSKA. Saponins as cytotoxic agents: a review. *Phytochemistry Reviews*. 2010, **9**(3), 425-474. DOI: 10.1007/s11101-010-9183-z. ISSN 1568-7767. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11101-010-9183-z>
- [32] LI, Shao-ping, Ding-tao WU, Guang-ping LV a Jing ZHAO. Carbohydrates analysis in herbal glycomics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2013, **52**, 155-169. DOI: 10.1016/j.trac.2013.05.020. ISSN 01659936. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993613001878>
- [33] LI, Huilin, Fengrui SONG, Zhong ZHENG, Zhiqiang LIU a Shuying LIU. Characterization of saccharides and phenolic acids in the Chinese herb Tanshen by ESI-FT-ICR-MS and HPLC. *Journal of Mass Spectrometry*. 2008, **43**(11), 1545-1552. DOI: 10.1002/jms.1441. ISSN 10765174. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jms.1441>
- [34] MILEVSKAYA, V.V., Surendra PRASAD a Z.A. TEMERDASHEV. Extraction and chromatographic determination of phenolic compounds from medicinal herbs in the Lamiaceae and Hypericaceae families: A review. *Microchemical Journal*. 2019, **145**, 1036-1049. DOI: 10.1016/j.microc.2018.11.041. ISSN 0026265X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X18312773>

- [35] DA SILVA PORT'S, Pollyane, Renan Campos CHISTÉ, Helena Teixeira GODOY a Marcelo Alexandre PRADO. The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. *Food Research International*. 2013, **53**(2), 875-881. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.02.010. ISSN 09639969. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996913001038>
- [36] LIU, Yanfei, Yingwei QI, Xin CHEN, Haohao HE, Zhande LIU, Zhuo ZHANG, Yamei REN a Xiaolin REN. Phenolic compounds and antioxidant activity in red- and in green-fleshed kiwifruits. *Food Research International*. 2019, **116**, 291-301. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.08.038. ISSN 09639969. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996918306537>
- [37] SEGURA-CAMPOS., Maira Rubi. *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*. Cambridge: Woodhead Publishing, 2018. ISBN 9780128147740.
- [38] II. Liečivá moc bylín: Čo všetko sa dá zbierať?. In: *NÁŠA ZÁHRADKA* [online]. [cit. 2019-04-07]. Dostupné z: <https://nasazahradka.sk/ii-lieciva-moc-byliniek-co-vsetko-sa-da-zbierat/>
- [39] VOLÁK, Jan, Jiří STODOLA a František SEVERA. *Veľká kniha liečivých rastlín*. Bratislava: Príroda, 1987.
- [40] I. Liečivá moc bylín: Čo všetko sa dá zbierať?. In: *NÁŠA ZÁHRADKA* [online]. [cit. 2019-04-07]. Dostupné z: <https://nasazahradka.sk/i-lieciva-moc-byliniek-co-vsetko-sa-da-zbierat/>
- [41] VARGA, Filip, Klaudija CAROVIĆ-STANKO, Mihailo RISTIĆ, Martina GRDIŠA, Zlatko LIBER a Zlatko ŠATOVIĆ. Morphological and biochemical intraspecific characterization of *Ocimum basilicum* L. *Industrial Crops and Products*. 2017, **109**, 611-618. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.09.018. ISSN 09266690. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669017306167>
- [42] BHATTI, Huma Aslam, Yildiz TEHSEEN, Kiran MARYAM, Maliha UROOS, Bina S. SIDDIQUI, Abdul HAMEED a Jamshed IQBAL. Identification of new potent inhibitor of aldose reductase from *Ocimum basilicum*. *Bioorganic Chemistry*. 2017, **75**, 62-70. DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.08.011. ISSN 00452068. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004520681730295X>
- [43] HEMZAL, Boleslav. *Rostlinné léky*. Brno: Neptun, 2015. ISBN 978-808-6850-115.
- [44] *Ocimum basilicum* (sweet basil): Go Botany [online]. In: . [cit. 2019-04-01]. Dostupné z: <https://newfs.s3.amazonaws.com/taxon-images-1000s1000/Lamiaceae/ocimum-basilicum-hahaines-b.jpg>
- [45] PAUN, Gabriela, Elena NEAGU, Veronica MOROEANU, et al. Anti-inflammatory and antioxidant activities of the *Impatiens noli-tangere* and *Stachys officinalis* polyphenolic-rich extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2018, **28**(1), 57-64. DOI: 10.1016/j.bjp.2017.10.008. ISSN 0102695X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0102695X17303903>

- [46] PAUN, Gabriela, Elena NEAGU, Camelia ALBU, Veronica MOROEANU a Gabriel-Lucian RADU. Antioxidant activity and inhibitory effect of polyphenolic-rich extract from *Betonica officinalis* and *Impatiens noli-tangere* herbs on key enzyme linked to type 2 diabetes. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2016, **60**, 1-7. DOI: 10.1016/j.jtice.2015.10.005. ISSN 18761070. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1876107015004320>
- [47] MIKA, Karol. *Fytoterapia*. Martin: Osveta, 1988. Edícia pre postgraduálne štúdium lekárov a farmaceutov.
- [48] STACHYS OFFICINALIS SEEDS (Purple Betony; Bishop's Wort) - Plant World Seeds [online]. In: . [cit. 2019-04-01]. Dostupné z: <http://3.bp.blogspot.com/-GLnjbHAzbMY/VOx6prZ3uYI/AAAAAAAAAtbc/AJAPhOu-IaA/s1600/Stachys%2B%27Hummelo%27%2B%28OBG%29.jpg>
- [49] SHAH, Gagan, Maninderjit KAUR, Prabh Simran SINGH, Sandeep RAHAR, Falgun DHABLIYA, Yuvraj ARYA a Richa SHRI. Pharmacognostic Parameters of *Eucalyptus globulus* Leaves. *Pharmacognosy Journal*. 2012, **4**(34), 38-43. DOI: 10.5530/pj.2012.34.7. ISSN 09753575. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0975357512800320>
- [50] MULYANINGSIH, Sri, Frank SPORER, Jürgen REICHLING a Michael WINK. Antibacterial activity of essential oils from *Eucalyptus* and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. *Pharmaceutical Biology*. 2011, **49**(9), 893-899. DOI: 10.3109/13880209.2011.553625. ISSN 1388-0209. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13880209.2011.553625>
- [51] BATISH, Daizy R., Harminder Pal SINGH, Ravinder Kumar KOHLI a Shalinder KAUR. *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*. 2008, **256**(12), 2166-2174. DOI: 10.1016/j.foreco.2008.08.008. ISSN 03781127. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378112708006166>
- [52] Tasmanian blue gum seed [online]. In: . [cit. 2019-04-01]. Dostupné z: <https://www.cnseed.org/wp-content/uploads/2017/09/Tasmanian-blue-gum-seed.jpg>
- [53] TUNG, Bui Thanh, Dong Thi NHAM, Nguyen Thanh HAI a Dang Kim THU. Curcuma longa, the Polyphenolic Curcumin Compound and Pharmacological Effects on Liver. *Dietary Interventions in Liver Disease*. Elsevier, 2019, 2019, , 125-134. DOI: 10.1016/B978-0-12-814466-4.00010-0. ISBN 9780128144664. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128144664000100>
- [54] CHENG, Xiaoli, Hanxiang LI, Ping WU, Liangxiong XU, Jinghua XUE a Xiaoyi WEI. Two new bisabolane-type sesquiterpenoids from the cooking liquid of *Curcuma longa* rhizomes. *Phytochemistry Letters*. 2019, **29**, 169-172. DOI: 10.1016/j.phytol.2018.12.004. ISSN 18743900. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1874390018305676>

- [55] ZHANG, Lanyue, Zhiwen YANG, Feng CHEN, et al. Composition and bioactivity assessment of essential oils of *Curcuma longa* L. collected in China. *Industrial Crops and Products*. 2017, **109**, 60-73. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.08.009. ISSN 09266690. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669017305204>
- [56] HOSSEINI, Azar a Hossein HOSSEINZADEH. *Antidotal or protective effects of Curcuma longa (turmeric) and its active ingredient, curcumin, against natural and chemical toxicities: A review*. 2018, **99**, 411-421. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.01.072. ISSN 07533322. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332217349909>
- [57] TURMERIC AS MEDICINE. In: Kokila's Kitchen Garden [online]. [cit. 2019-04-01]. Dostupné z: <https://kokilaskitchengarden.files.wordpress.com/2015/11/image34.jpeg?w=863>
- [58] NEAGU, Elena, Gabriela PAUN, Daniel CONSTANTIN a Gabriel Lucian RADU. Cytostatic activity of *Geranium robertianum* L. extracts processed by membrane procedures. *Arabian Journal of Chemistry*. 2017, **10**, S2547-S2553. DOI: 10.1016/j.arabjc.2013.09.028. ISSN 18785352. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878535213003262>
- [59] GRAÇA, Vânia C., Isabel C.F.R. FERREIRA a Paulo F. SANTOS. Phytochemical composition and biological activities of *Geranium robertianum* L: A review. *Industrial Crops and Products*. 2016, **87**, 363-378. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.04.058. ISSN 09266690. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669016302886>
- [60] *Geranium robertianum* L. [online]. In: . [cit. 2019-04-01]. Dostupné z: <http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot-units68/geranium-robertianum9631.jpg>
- [61] MORSHEDLOO, Mohammad Reza, Seyed Alireza SALAMI, Vahideh NAZERI, Filippo MAGGI a Lyle CRAKER. Essential oil profile of oregano (*Origanum vulgare* L.) populations grown under similar soil and climate conditions. *Industrial Crops and Products*. 2018, 119, 183-190. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.03.049. ISSN 09266690. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669018302723>
- [62] GONG, H.Y., W.H. LIU, G.Y. LV a Xiaoying ZHOU. Analysis of essential oils of *Origanum vulgare* from six production areas of China and Pakistan. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2014, **24**(1), 25-32. DOI: 10.1590/0102-695X2014241434. ISSN 0102695X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0102695X14701292>
- [63] STUMPF, Ursula. *Naše léčivé rostliny: [určování a užívání]*. Praha: Ikar, 2013. ISBN 978-802-4922-072.
- [64] Oregano 'Compacta Nana' (*Origanum vulgare*) [online]. In: . [cit. 2019-04-01]. Dostupné z: https://www.anniesannuals.com/signs/o/images/origanum_compact_nana_02.jpg
- [65] PATEL, Seema a Abdur RAUF. *Adaptogenic herb ginseng (Panax) as medical food: Status quo and future prospects*. 2017, **85**, 120-127. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.11.112. ISSN 07533322. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332216320601>

- [66] KIM, Jong-Hoon. Pharmacological and medical applications of Panax ginseng and ginsenosides: a review for use in cardiovascular diseases. *Journal of Ginseng Research*. 2018, **42**(3), 264-269. DOI: 10.1016/j.jgr.2017.10.004. ISSN 12268453. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1226845317303172>
- [67] A petition for protection of American ginseng. In: Worts & All - WordPress.com [online]. [cit. 2019-04-01]. Dostupné z: <https://wortsnull.files.wordpress.com/2013/09/american-ginseng.jpg>
- [68] LOZOYA, X., V. NAVARRO, M. GARCÍA a M. ZURITA. Solanum chrysotrichum (Schldl.) a plant used in Mexico for the treatment of skin mycosis. *Journal of Ethnopharmacology*. 1992, **36**(2), 127-132. DOI: 10.1016/0378-8741(92)90011-F. ISSN 03788741. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/037887419290011F>
- [69] AGUILAR-SANTAMARÍA, Lucía, Armando HERRERA-ARELLANO, Alejandro ZAMILPA, Daniel ALONSO-CORTÉS, Enrique JIMÉNEZ-FERRER, Jaime TORTORIELLO a Guillermo ZÚÑIGA-GONZÁLEZ. Toxicology, genotoxicity, and cytotoxicity of three extracts of Solanum chrysotrichum. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013, **150**(1), 275-279. DOI: 10.1016/j.jep.2013.08.039. ISSN 03788741. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037887411300593X>
- [70] CRUZ, M.C.S., P.O. SANTOS, A.M. BARBOSA, D.L.F.M. DE MÉLO, C.S. ALVIANO, A.R. ANTONIOLLI, D.S. ALVIANO a R.C. TRINDADE. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007, **111**(2), 409-412. DOI: 10.1016/j.jep.2006.12.005. ISSN 03788741. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874106006349>
- [71] BHAT, Vinaya, SM SHARMA, Veena SHETTY, CS SHASTRY, CVaman RAO, Shilpa SHENOY, Santanu SAHA a Sriram BALAJI. Characterization of herbal antifungal agent, *Origanum vulgare* against oral *Candida* spp. isolated from patients with *Candida*-Associated denture stomatitis: An In vitro study. *Contemporary Clinical Dentistry*. 2018, 9(5). DOI: 10.4103/ccd.ccd_537_17. ISSN 0976-237X. Dostupné také z: <http://www.contempclindent.org/text.asp?2018/9/5/3/233905>
- [72] HASHEM, M., S.A. ALAMRI, A.A. SHATHAN, S.R.Z. ALSHEHRI, Y.S. MOSTAFA a A. EL-KOTT. Antifungal efficiency of wild plants against human-opportunistic pathogens. *Journal de Mycologie Médicale*. 2019. DOI: 10.1016/j.mycmed.2019.02.004. ISSN 11565233. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1156523318303524>
- [73] Clotrimazol Al 1 % drm crm 1 x 50 gm. In: *Královéhradecká lékárna* [online]. [cit. 2019-05-05]. Dostupné z: <https://www.khl.cz/eshop-clotrimazol-al-1-crm-50g.html>
- [74] Fungicidin mast 10 g. In: *Dr. Max* [online]. [cit. 2019-05-05]. Dostupné z: <https://www.drmax.cz/fungicidin-leciva>

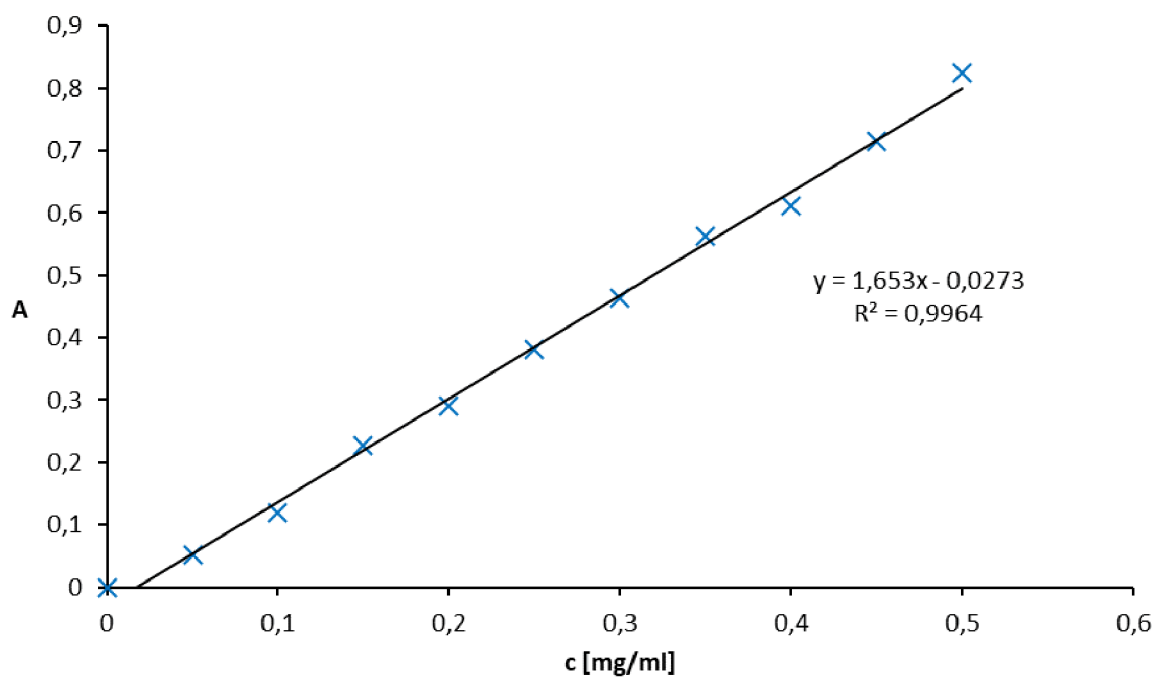
[75] CHEN, Liang-Yu, Chien-Wei CHENG a Ji-Yuan LIANG. Effect of esterification condensation on the Folin–Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols. *Food Chemistry*. 2015, 170, 10-15. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.08.038. ISSN 03088146. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614012539>

[76] SILVA, Layzon, BiancaRamos PEZZINI a Luciano SOARES. Spectrophotometric determination of the total flavonoid content in *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) leaves. *Pharmacognosy Magazine*. 2015, 11(41). DOI: 10.4103/0973-1296.149721. ISSN 0973-1296. Dostupné také z: <http://www.phcog.com/text.asp?2015/11/41/96/149721>

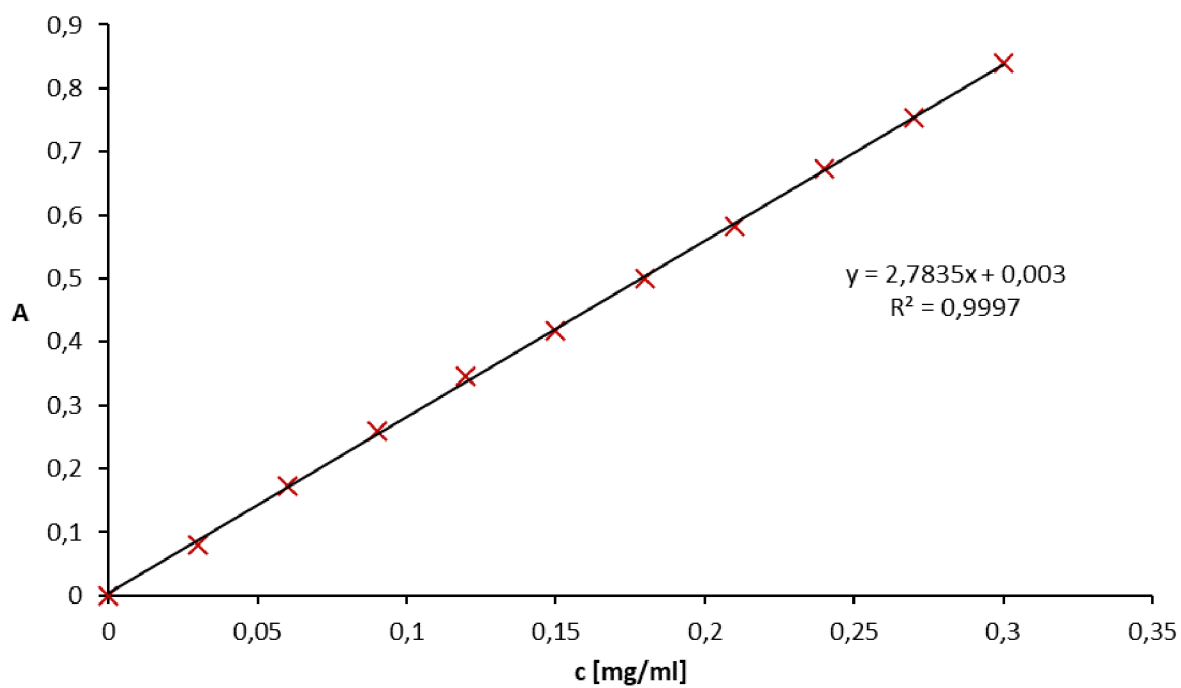
8 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV

ABTS	2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové kyseliny)
AIDS	Acquired Deficiency Syndrom (syndróm získanej imunitnej nedostatočnosti)
CCM	Czech Collection of Microorganisms (česká zbierka mikroorganizmov)
CCY	Culture Collection of Yeasts (kultúrna zbierka kvasiniek)
LB	Luria-Bertani (médium)
MIC	minimálna inhibičná koncentrácia
NB	Nutrient Broth (médium)
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
UV	žiarenie v ultrafialovej oblasti spektra
VIS	žiarenie vo viditeľnej oblasti spektra
YPD	Yeast Extract Peptone Dextrose (médium)
A	absorbancia
A ₀	začiatočná absorbancia
A ₁	absorbancia po uplynutí 10 minút

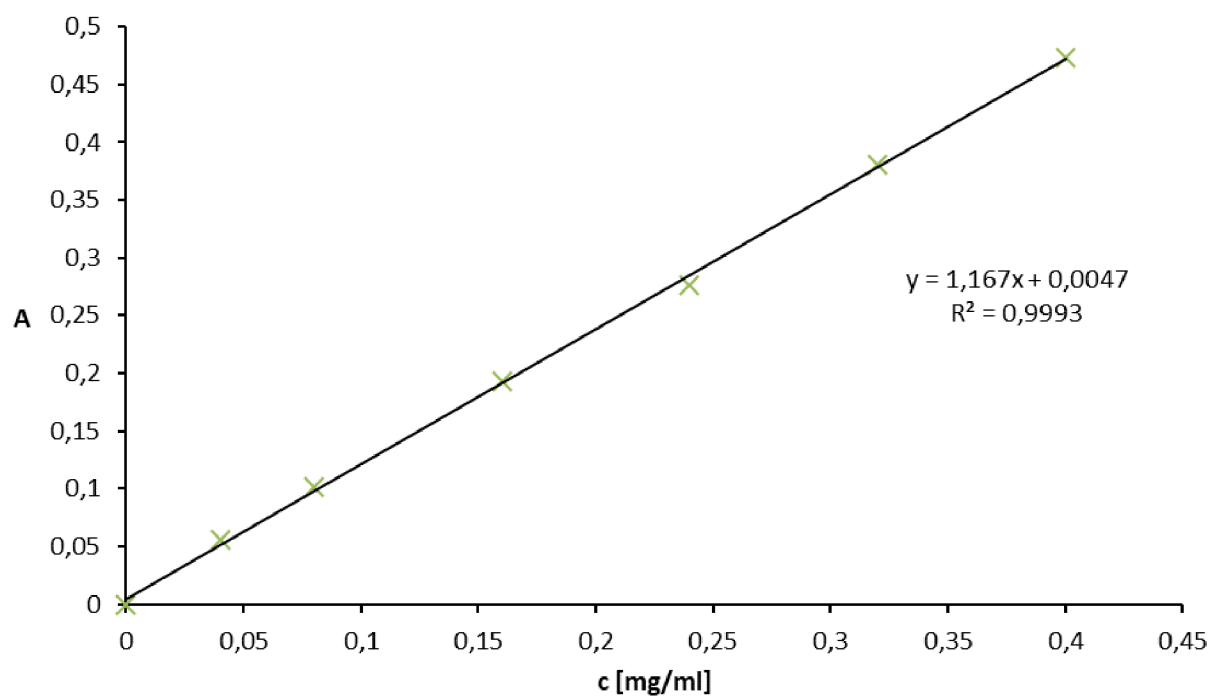
9 PRÍLOHY



Príloha 1 – Kalibračná krivka pre stanovenie celkových polyfenolov – kyselina gallová



Príloha 2 – Kalibračná krivka pre stanovenie celkových flavonoidov – katechín



Príloha 3 – Kalibračná krivka pre stanovenie antioxidačnej aktivity - trolox