

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



**Laboratorní ověření účinnosti tradičně využívaných
léčivých rostlin Bolívie**

Diplomová práce

Autor práce: Alena Hladová

Vedoucí práce: doc. Ing. Pavel Klouček, Ph.D.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Laboratorní ověření účinnosti tradičně využívaných léčivých rostlin Bolívie" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 7. dubna 2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Pavlovi Kloučekovi, Ph.D., Ing. Adéle Fraňkové, Ph.D. a Ing. Janu Tauchenovi za odborné vedení, věcné připomínky a přátelský přístup během zpracování této práce. Také jim děkuji za trpělivost a ochotné jednání při práci v laboratoři.

Laboratorní ověření účinnosti tradičně využívaných léčivých rostlin Bolívie

Souhrn

Tradiční medicína domorodých kultur je založena na léčivých účincích místních rostlin. Tito lidé se je naučili v průběhu historie využívat a nahrazují jimi tak primární zdravotnickou péči. K tomu přispívá i fakt, že na ni nemají finanční prostředky a současně je to provázáno i obtížnou dostupností nemocnic v oblastech výskytu těchto kultur.

Diplomová práce se zabývá laboratorním ověřením antimikrobiální a antioxidační účinnosti amazonských rostlin pocházejících z jihozápadu Bolívie. V práci je také stručně uvedena hospodářská a politická situace státu společně s vývojem tradiční medicíny ve světě a jejím možným využitím ve farmacii. Část práce je také věnována problematice stále vzrůstající antimikrobiální rezistence a možným účinkům volných radikálů v lidském organismu. Experiment byl věnován laboratornímu testování 9 vzorků dovezených sušených rostlin. Ke zjištění antimikrobiálních vlastností byla zvolena mikrodiluční metoda a antioxidační působení bylo ověřeno ORAC metodou, která je založena na eliminaci radikálů. Mikrodiluční metodou byla potvrzena 80% MIC v počátečních testovaných koncentracích (1,024 mg/ml) u rostliny *Satureja ovata* proti bakteriím *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 a *Streptococcus pyogenes* u rostliny *Baccharis genistelloides* proti *S. pyogenes*. U ostatních vzorků se nepodařilo stanovit hodnoty minimálních inhibičních koncentrací. To lze připisat více faktorům, které jsou v práci popsány. Naproti tomu bylo u všech vzorků potvrzeno pozitivní působení proti volným radikálům. Nejvyšší účinnost vykazovala *Satureja ovata* ($1373,2 \pm 68,85 \mu\text{g TE/mg extraktu}$).

Zpracování práce bylo provázáno obtížně dohledatelnými informacemi o testovaných rostlinách, a to jak z hlediska botanického popisu, tak z hlediska porovnání získaných laboratorních výsledků s výsledky odborných studií. Výsledky experimentu byly tedy hodnoceny především vzhledem k tradičnímu užívání testovaných rostlin, které bylo uvedeno bolivijskými domorodci nebo dohledáno z literatury.

Klíčová slova: rostliny, Bolívie, účinné látky, antimikrobiální účinky, mikroorganismy

Laboratory evaluation of antimicrobial activity of traditional Bolivian medicinal plants

Summary

Traditional medicine of indigenous cultures is based on the medicinal effects of local plants. Those people have been taught to use these plants throughout history and they employ them as their primary health care. This is supported by the fact that the natives do not have the financial resources to pay for medical care and at the same time it is also accompanied by poor availability of hospitals in areas where these cultures are located.

This thesis covers laboratory verification of antimicrobial and antioxidant activity of Amazonian plants from south west Bolivia. This paper also summarizes the economic and political situation of the country together with the development of traditional medicine in the world and with the potential use of this medicine in pharmacy. Part of the work is devoted to the issue of ever-increasing antimicrobial resistance and the possible effects of free radicals in the human body. The experiment was performed by testing nine samples of imported dried plants in laboratory. To determine the antimicrobial properties a microdilution method was used and the antioxidant activity was verified with the ORAC method which is based on the elimination of free radicals. The microdilution method confirmed 80% of the MIC in the initial concentrations tested (1,024 mg/ml) in *Satureja ovata* plants against *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 bacteria and *Streptococcus pyogenes* bacteria and in the plant *Baccharis genistelloides* against *S. pyogenes* bacteria. The other samples have failed to provide the value of the minimum inhibitory concentrations. This can be attributed to several factors which are described in this thesis. In contrast the positive effect free radicals was confirmed in all samples. The highest efficacy showed *Satureja ovata* ($1373,2 \pm 68,85 \mu\text{g TE/mg extract}$). Writing this thesis was accompanied by a lack of information about the tested plants, both in terms of their botanical description and in terms of comparing the laboratory results obtained with the results of specialized studies. Therefore the results of the experiment were studied in comparison to traditional use of the tested plants that have been provided by Bolivian natives or their effects have been analyzed from the literature.

Keywords: plants, Bolivia, active substances, antimicrobial effects, microorganisms

Obsah

TEORETICKÁ ČÁST.....	8
1. Úvod	8
2. Cíle práce	9
2.1 Hypotézy práce	9
3. Literární rešerše	10
3.1 Charakteristika státu.....	10
3.1.1 Změny životního prostředí.....	11
3.1.2 Zdravotní péče	12
3.1.3 Legalizace léčitelství.....	12
3.2 Etnobotanika a etnofarmakologie	12
3.3 Tradiční medicína.....	13
3.4 Využití v moderní medicíně	14
3.5 Antimikrobiální rezistence.....	14
3.5.1 Stanovení antimikrobiálních látek	15
3.6 Testované mikroorganismy	16
3.6.1 <i>Candida albicans</i>	16
3.6.2 <i>Escherichia coli</i>	17
3.6.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	17
3.6.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
3.6.5 <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis	18
3.6.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	18
3.6.7 <i>Streptococcus pyogenes</i>	18
3.7 Antioxidační aktivita	18
3.7.1 Stanovení antioxidační aktivity	20
3.8 Studovaná oblast	20

3.9	Charakteristika testovaných rostlin	21
3.9.1	<i>Lepidium bipinnatifidum</i> Desv.....	22
3.9.2	<i>Minthostachys diffusa</i> Epling	23
3.9.3	<i>Satureja ovata</i> R.Br.....	23
3.9.4	<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC.	24
3.9.5	<i>Baccharis genistelloides</i> (Lam.) Pers.....	25
3.9.6	<i>Lepidophyllum quadrangulare</i> Benth. & Hook.f.....	26
3.9.7	<i>Azorella glabra</i> Wedd.	27
3.9.8	<i>Calceolaria salicifolia</i> Ruiz & Pav.	28
3.9.9	<i>Cortaderia quila</i> Stapf.....	29
4.	Materiál a metody.....	30
4.1	Zpracování rostlin a příprava extraktů	31
4.2	Antimikrobiální testování	32
4.3	Antioxidační testování.....	33
5.	Výsledky	36
5.1	Vyhodnocení antimikrobiální aktivity.....	36
5.2	Vyhodnocení antioxidační aktivity	38
6.	Diskuse.....	41
6.1	Antimikrobiální aktivita	41
6.2	Antioxidační aktivita	43
7.	Závěr	45
8.	Seznam použité literatury	46
9.	Seznam použitých zkratk	51

TEORETICKÁ ČÁST

1. Úvod

Léčivé aromatické rostliny jsou velmi širokou botanickou skupinou vyznačující se druhovou rozmanitostí. Krom jiného se od sebe odlišují nebo jsou si naopak velmi podobné obsahem jejich účinných látek a tím pádem i způsobem použití. Kromě jejich využití v tradiční lidové medicíně a později i ve farmaceutickém průmyslu se používají především jako směsi koření v kulinářství a některé extrakty jsou vhodné pro výrobu kosmetických přípravků.

Domorodá medicína je založena na holistickém přístupu a předávání léčebných dovedností a znalostí o užívání rostlin z generace na generaci po dlouhá staletí. Na každém kontinentu se v průběhu historie budovala tradiční medicína v závislosti na biodiverzitě rostlinných druhů. Také různá náboženství a rituální praktiky se od sebe odlišují, ale veškerá tato tradice je vždy provázena úctou k přírodě.

Postupem času byly tyto rostliny podrobovány odborným výzkumům a na základě vědeckých dat začaly být využívány ve farmacii a moderní medicíně. Přírodní zdroje léčiv z tropických oblastí jsou ale zatím prostudovány pouze z malé části, a proto by výzkum v této oblasti měl pokračovat. Deštné pralesy představují velký potenciál jako zdroj přírodních, popřípadě nových léčiv.

2. Cíle práce

Cílem této je:

- Stanovit antimikrobiální a antioxidační účinnost tradičně využívaných léčivých rostlin Bolívie.
- Zjistit minimální inhibiční koncentrace a porovnat je s tradičním využitím těchto rostlin.
- Zjistit antioxidační aktivitu a porovnat ji s tradičním využitím těchto rostlin.

2.1 Hypotézy práce

Hypotéza č. 1:

- Pro tradičně využívané léčivé rostliny Bolívie bude potvrzena antimikrobiální a antioxidační aktivita.

Hypotéza č. 2:

- Tradičně využívané rostliny se používají v množství, které obsahuje dostatečné koncentrace účinných látek.

3. Literární rešerše

3.1 Charakteristika státu

Vnitrozemský stát Bolívie se nachází v centru Jižní Ameriky. Rozprostírá se na ploše 1 098 581 km² a jeho území je rozčleněno do 9 správních celků (Beni, Chuquisaca, Cochabamba, La Paz, Oruro, Pando, Potosí, Santa Cruz a Tarija) (PAHO, 2012). Mapu státu znázorňuje Obrázek 1. Bolívie je republika, v jejímž čele je již od roku 2006 Evo Morales, první latinskoamerický prezident domorodého původu. Jeho vláda významně ovlivnila legislativu ohledně tradiční medicíny v tomto státu (Babis, 2014).

V roce 2013 se počet obyvatel vyšplhal na 10 671 000, muži se v průměru dožívají 65 let, ženy 70 a z hlediska porodnosti na každou z nich pak připadá 3,2 dětí za rok. Nejčastější příčiny úmrtí pro rok 2012 jsou znázorněné v Tabulce 1. Rizikové faktory pro obyvatele ohledně zdraví jsou alkohol, kouření a zranění ve spojitosti s dopravními nehodami. Světová zdravotnická organizace se na tyto tři faktory zaměřila a vydala k nim příslušná doporučení (WHO, 2015). Znečištění vodních zdrojů je jedním z problémů vodohospodářského průmyslu z důvodu vysokých nákladů a obtížného zapojení technologie pro čištění odpadních vod tak, aby byly zajištěny standardy kvality stanovené zákonem pro životní prostředí. Hlavním zdrojem znečištění je těžba nerostných surovin (PAHO, 2012). Proto se od roku 1990 neustále pracuje na zlepšení kvality pitné vody a obzvláště na její mikrobiologické nezávadnosti. Do roku 2013 se úroveň hygieny pitné vody zlepšila o 10 % (WHO, 2015).



Obrázek 1 Mapa Bolívie (Wikimedia, 2014).

Tabulka 1 10 nejčastějších příčin úmrtí za rok 2012 a jejich vývoj od roku 2000 (WHO, 2015).

Příčina úmrtí	Počet mrtvých v roce 2012	2000-2012
Ischemická choroba srdeční	7 400	Navýšení
Infekce dolních cest dýchacích	7 200	Snížení
Mrtvice	6 000	Beze změny
Diabetes mellitus	2 900	Navýšení
Onemocnění ledvin	2 700	Navýšení
Cirhóza jater	2 600	Navýšení
Tuberkulóza	2 200	Beze změny
Dopravní nehody	2 000	Navýšení
Komplikace u předčasných porodů	1 700	Snížení
Trauma a dušení způsobené porodem	1 600	Snížení

3.1.1 Změny životního prostředí

Nejzávažnější problémy ohrožující environmentální prostředí toho státu jsou kácení deštného pralesa a vysychání jezera Poopó. V obou případech dochází k ohrožení druhů z rostlinné i živočišné říše. Tato hrozba se tedy týká i léčivých tropických rostlin. Mohlo by tak docházet k jejich úbytku, v krajním případě až k jejich úplnému vymizení v deštných pralesech nebo v okolí jezera (ČT24, 2016).

S vysycháním jezera Poopó se Bolívie potýká v průběhu posledních desetiletí. Je to druhé největší jezero tohoto státu. Nachází se v jihozápadních Andách vysoko v horách, kde zabírá území 1 000 km². V minulosti vyschlo jezero už dvakrát, ale voda se sem vždy vrátila. Na konci minulého roku však jezero vyschlo znovu a podle odborníků se voda už sama od sebe nevrátí. Jezero se zmenšilo na 2 % své původní velikosti. Kromě globálního oteplování, které způsobilo změny klimatu, se na tomto jevu z velké části podílí i těžební průmysl a zemědělství v okolí řeky Desaguadero. Tato řeka do Poopó přivádí vodu a jezero je na ní z 90 % závislé. Tímto jevem jsou ohroženy stovky druhů zvířat, v průběhu let odsud vymizelo již 75 druhů živočichů. Jezero Poopó bylo také zdrojem obživy pro obyvatele přilehlé vesnice Untavi. Už více než sto rodin bylo nuceno opustit tuto vesnici. Jako řešení se

nabízí vybagrování jednoho z břehů řeky Desaguadero a tím by se měl přívod vody obnovit (ČT24, 2016).

3.1.2 Zdravotní péče

V roce 2006 WHO řadilo Bolívii k nejchudším a nejméně rozvinutým zemím Latinské Ameriky. S tím samozřejmě souvisí i úroveň a dostupnost zdravotní péče. Ta je pro chudou část obyvatel nedostupná především z finančního hlediska. V roce 1996 započala v Bolívii zdravotnická reforma (Rivera a kol., 2006). Jejím cílem bylo zvýšit pokrytí, zlepšit kvalitu služeb, umožnit rovné podmínky mezi obyvateli a zvýšit účinnost a efektivnost zdravotních služeb. Jedním z hlavních záměrů reformy bylo snížit úmrtnost matek, novorozenců a dětí. To se podařilo i díky zavedení zdravotního pojištění pro děti a matky (Pooley a kol., 2008). Stále ale přetrvává rozdílnost mezi venkovem a městy. Ve městech sice stoupl počet nemocnic, ale chudí vesničané nemají finanční prostředky na zaplacení zdravotnických služeb. Spoléhají se proto na tradiční medicínu (Babis, 2014). Státní výdaje na zdravotní péči na jednoho obyvatele v roce 2013 činily 372 dolarů (WHO, 2015).

3.1.3 Legalizace léčitelství

Domorodá medicína v Latinské Americe je dlouhodobě zavedeným fenoménem již po staletí. Nicméně od konce kolonizace a zřízení národních států, praxe tradičního léčitelství nebyla zahrnuta do právního systému. Bolívie jako první země sice v roce 1984 zavedla dekriminizaci domorodé medicíny, ale legislativa ohledně této problematiky zůstala na okraji a byla odsunuta do pozadí. Teprve až na počátku 21. století se bolivijská vláda začala zabývat otázkou začlenění tradiční medicíny do Národního Zdravotnického Systému. A to díky volební kampani Evo Moralese v roce 2006, který (jak už bylo zmíněno) tuto problematiku prezentoval jako posun v oblasti zdravotní politiky a vytvoření tak symbolického obrazu nové Bolívie. Kromě Bolívie pracují na změně legislativy ohledně této problematiky i další státy jako je Mexiko, Guatemala, Ekvádor, Peru a Nikaragua. Situaci také napomohl fakt, že v posledních letech vznikly organizace založené domorodci, které si prosazovaly svá práva a změnu v právním systému. V prosinci 2013 Bolívie přijala zákon o zařazení domorodých lékařů do Národního zdravotnického systému (Babis, 2014).

3.2 Etnobotanika a etnofarmakologie

Pojem etnobotanika byl poprvé použit v roce 1896, kdy byl definován jako studium rostlin používaných primárně domorodými obyvateli. Postupem času byla tato formulace rozšířena do podoby, že etnobotanika je multidisciplinární oblast výzkumu, zabývající se pozorováním,

popisem, biologickou aktivitou a experimentálním výzkumem původních léčiv (Gurib-Fakim, 2006).

Etnofarmakologie je vědní obor zabývající se účinky, způsobem použití a interakcí přirozeně se vyskytujících přírodních sloučenin (Soejarto a kol., 2005).

Oba obory se vzájemně prolínají a významně přispěly k objevení řady důležitých léků přírodního původu. Získané poznatky byly shromážděny na základě terénních výzkumů, které jsou z velké části zaměřeny na komunikaci s domorodými obyvateli. Jejich dlouholeté znalosti o biologické rozmanitosti a léčivých účincích často neznámých rostlin jsou pro vývoj nových léků velmi přínosné. Získávané znalosti se v průběhu času posupně prohlubují, a proto je třeba nové informace stále shromažďovat a pracovat s nimi (Soejarto a kol., 2005). Vývoj nových léčiv musí skutečně zahrnovat multidisciplinární přístup, který tedy vyžaduje komunikaci mezi jednotlivými vědními obory, ale také musí být udržován stálý kontakt s domorodci (Patwardhan, 2005). Každý kontinent má zakořeněné vlastní lidové léčitelství. Africká tradiční medicína je pravděpodobně nejrozmanitější ze všech medicínských systémů. Vyznačuje se bohatou biologickou a kulturní rozmanitostí, kde panují výrazné regionální rozdíly v léčebných praktikách. K nejstaršímu léčitelství je řazena indická (ájurvéda) a čínská tradiční medicína. I na zbývajících kontinentech se tento fenomén rozvíjel v průběhu historie. Všechny tyto medicíny se zabývají nejen léčbou těla, ale i duše (Gurib-Fakim, 2006).

3.3 Tradiční medicína

Člověk využívá rostliny již celou řadu let. Přišel na to, jak z nich stavět přístřešky, vyrábět oblečení, využívat jejich typických chutí a vůní při vaření pokrmů a v neposlední řadě se člověk naučil používat rostliny jako léky. Terapie léčivými rostlinami je založena na empirických poznatcích získávaných v průběhu tisíců let a postupem času tyto rostliny vytvořily základ sofistikované tradiční medicíny (Gurib-Fakim, 2006). Podle provedených výzkumů se 80 % populace v rozvojových zemích spoléhá na tradiční medicínu a účinky léčivých rostlin (asi 85 % z nich je použito ve formě rostlinných extraktů), které jim zajišťují primární zdravotní péči (Quiroga a kol., 2012). Účinnost rostlin je podmíněna obsahem směsí různých chemických sloučenin, které mohou působit jednotlivě nebo současně a tím tak přispívat ke zlepšení zdraví. Mezi účinné látky v léčivých rostlinách patří například hořčiny, fenolické sloučeniny, taniny, močopudné látky a některé alkaloidy. Hořčiny stimulují trávení, působí protizánětlivě a snižují otoky a bolest. Fenolické sloučeniny mohou působit jako antioxidanty a venotonika. Antibakteriální a protiplísňové taniny plní funkci přírodních

antibiotik, močopudné látky zvyšují vylučování odpadních látek a toxinů z organismu a některé alkaloidy zase ovlivňují psychiku a dávají pocit pohody. Tradiční medicína je zaměřena na znovuoobnovení rovnováhy v těle za využití komplexního látkového složení v rostlině nebo kombinuje několik různých rostlin, aby se tak maximalizoval synergický účinek léčivých látek v nich obsažených (Gurib-Fakim, 2006).

3.4 Využití v moderní medicíně

Zájem o rostliny jako o zdroj přírodních chemoterapeutik trvá dodnes. V klinické medicíně jsou přírodní produkty a jejich deriváty využívány více jak z 50 %. Z toho vyšší rostliny představují více jak 20 %. Významnou roli mají např. alkaloidy d-tubokurarin a reserpin a některé saponiny. Alkaloid d-tubokurarin se extrahuje z lián z rostliny *Chondrodendron tomentosum* pocházející z jihoamerické džungle. Je široce používán k uvolnění svalů v chirurgii. Vědci stále nejsou schopni vyrábět tento lék v syntetické formě, a proto se stále spoléhají na přírodu jako na jeho zdroj. Účinná látka reserpin (izolovaná z rostlin druhu *Rauwolfia*) snižuje krevní tlak. Umělá laboratorní příprava této látky je třikrát dražší než sběr rostliny

a z ní následná separace alkaloidu. Některé extrahované saponiny jsou dále chemicky upravované na jiné saponiny, které jsou potřebné k výrobě steroidních léčiv (Gurib-Fakim, 2006).

Uvádí se, že v tropických lesích roste asi polovina (125 000) světových druhů kvetoucích rostlin. Z tohoto počtu bylo zatím z farmaceutického hlediska prostudováno pouze 1 % tropických druhů (Gurib-Fakim, 2006). Proto deštné pralesy představují obrovskou zásobárnu pro nás prozatím neprozkoumaných rostlin s potencionálním využitím k výrobě nových léčiv a jejich užíváním v moderní medicíně. To je často citováno jako jeden z nejdůležitějších důvodů pro ochranu tropických pralesů před kácením (Quiroga a kol., 2012).

3.5 Antimikrobiální rezistence

Antimikrobiální rezistence je celosvětovým problémem. Jedná se o vedlejší efekt při užívání antibiotik (ATB), kdy mikroorganismy postupně získávají odolnost vůči antibiotickým látkám (MZ a SZÚ, 2015). Vývoj této rezistence se urychluje zejména v důsledku nadměrného a nevhodného používání těchto látek. Tím se vytváří vhodné podmínky pro rozvoj a šíření rezistentních mikroorganismů u lidí i zvířat (Šturma, 2012). Tento fakt se také podílí

na znečišťování životního prostředí. Nejnovější průzkumy ukázaly, že v zemích EU většina pacientů získává ATB na lékařský předpis. Bohužel však přetrvává určitá menšina, která užívá antibiotika buď bez předpisu, a nebo užívá ta, která jim zbyla po předchozí léčbě. A proto by edukace laické veřejnosti o nevhodnosti používání antibiotik při běžném nachlazení či chřipce mohla napomoci k zachování účinných léků pro budoucí generace (MZ a SZÚ, 2015). Zvyšující se výskyt rezistentních bakterií omezuje nebo zhoršuje možnosti léčby, snižuje kvalitu života a má závažné hospodářské důsledky v podobě nárůstu nákladů

na zdravotní péči a poklesu produktivity. Evropské centrum pro prevenci a kontrolu nemocí v roce 2011 předložilo data, ze kterých vyplývá, že každý rok zemře v Evropě v důsledku rezistentních infekcí až 25 000 lidí a náklady na léčbu těchto infekcí přesahují 1,5 miliardy EUR ročně. WHO uvedla, že léčba rezistentní infekce je až stokrát nákladnější než léčba infekce způsobené nerezistentními kmeny bakterií (Šturma, 2012).

Od roku 2008 každoročně probíhá Evropský antibiotický den, a to 18. listopadu. Tento program zaštiťuje Evropská komise společně s Evropským parlamentem. Jeho cílem je šířit osvětu ohledně rozvážného zacházení s antibiotiky a upozorňovat na rizika spojená s jejich nevhodným užíváním. Jedná se především o oslovení široké veřejnosti a srozumitelné vysvětlení zodpovědnosti zdravotníkům, laikům, ale i organizátorům zdravotnictví, plátcům zdravotní péče a politikům v této oblasti (Žemličková, 2015).

3.5.1 Stanovení antimikrobiálních látek

Klinické laboratorní standardy pro testování citlivosti mikroorganismů jsou pravidelně aktualizovány např. americkou organizací CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute; dříve NCCLS – National Committee for Clinical and Laboratory Standards). Metody pro stanovení citlivosti (rezistence mikroorganismů k antimikrobiálním látkám) lze rozdělit na semikvantitativní (disková difúzní metoda) a kvantitativní (tzv. diluční metody – např. agarová diluční metoda, diluční mikrometoda, Etest). Diluční metody jsou určeny ke stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC), tedy nejnižší testované koncentrace dané látky, která inhibuje viditelný růst mikroorganismu. Podle hodnoty MIC se určuje terapeutická dávka antimikrobiální látky (Bursova a kol., 2014).

3.5.1.1 Mikrodiluční metoda

Mikrodiluční metoda se provádí za použití mikrotitrační destičky s 96 jamkami s kulatým či plochým dnem. V každé jamce (kromě prvního řádku) musí být tekuté živné prostředí (např.

Mueller-Hinton bujon) v příslušném množství (obvykle 100 µl). Do prvního řádku jsou potom umístěny zásobní roztoky antimikrobiálních látek (200 µl) s požadovanou počáteční koncentrací a následně jsou rozředěny dvojnásobnou dělicí řadou. Nakonec se do každé jamky přidá standardní inokulum testovaného kmene. Obvykle se jeden sloupec nechává bez testované látky i inokula a slouží jako kontrola čistoty použitého média. Po příslušné době inkubace se odečítají pro jednotlivé testované látky hodnoty MIC. Odečet může probíhat buďto vizuálně nebo za použití readeru, který změří hodnotu absorbance v každé jamce. Při vizuálním hodnocení se odečítá ta koncentrace, která zřetelně inhibuje růst mikroorganismů (Bursová a kol., 2014).

Mikrodiluční metoda byla použita pro ověření antimikrobiální aktivity testovaných rostlinných vzorků.

3.5.1.2 Tetracyklin

Tetracyklíny, jako skupina antibiotik, byly postupně objevovány od roku 1948. Jsou to širokospektrální činidla, vykazující aktivitu proti rozsáhlému spektru gram-pozitivních a gram-negativních bakterií, dále proti atypickým organismům, jako jsou chlamydie, mykoplazmata, rickettsie a parazitické prvoci. Příznivé antimikrobiální vlastnosti těchto látek a nepřítomnost hlavních nežádoucích vedlejších účinků vedla k jejich rozsáhlému používání k léčení infekcí u lidí i zvířat. V některých zemích se také přidávala do krmiv jako stimulant růstu. Bohužel díky jeho rozsáhlému a častému využívání došlo časem k vytvoření antimikrobiální rezistence u některých mikroorganismů. Proto se již na počátku nového tisíciletí začaly objevovat obavy ohledně používání tetracyklinů, ale i dalších skupin ATB, jako růstových stimulantů v krmivech. Ty totiž z velké části také přispívají ke vzniku rezistence u lidských patogenů (Chopra a Roberts, 2001).

3.6 Testované mikroorganismy

Antimikrobiální účinnost rostlin byla testována proti osmi druhům mikroorganismů, a to proti sedmi bakteriím a jedné kvasince. Byly vybrány na základě toho, jaká onemocnění mohou způsobovat a na základě tradičního využití dovezených amazonských rostlin. Nyní následuje stručný popis těchto mikroorganismů společně s jejich patogenními vlastnostmi.

3.6.1 *Candida albicans*

C. albicans je houba (kvasinka), která se přirozeně vyskytuje v lidském organismu. Vyskytuje se v dutině ústní a je součástí střevní mikroflóry a u zdravého člověka je v rovnováze

a symbióze s ostatními mikroorganismy. Při jejím zvýšeném výskytu dochází ke vzniku infekce (kandidózy). Kandidóza je nejčastější mykóza s různě závažnými projevy. Nejčastěji se jedná o povrchové infekce sliznic a kůže, ale mohou způsobovat i život ohrožující systémové kandidové infekce vnitřních orgánů (Pánková, 2012).

3.6.2 *Escherichia coli*

E. coli je gramnegativní, fakultativně anaerobní bakterie, patřící mezi krátké kokovité tyčinky (Bhunia, 2008). Během několika hodin po narození kolonizuje gastrointestinální trakt člověka a je zdraví prospěšná. Existují však patogenní kmeny, které mají vysokou schopnost virulence a mohou vyvolat široké spektrum onemocnění. Nejčastějšími důsledky infekce jsou průjmy, infekce močových cest a meningitida. Způsobuje alimentární nákazy a je jedním z indikátorů fekálního znečištění pitné vody (Kaper a kol., 2004).

3.6.3 *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes patří mezi aerobní nebo fakultativně anaerobní grampozitivní bakterie. Buňky mají tvar krátkých a koloidních tyčinek. Nevytváří pouzdra ani spory a není acidorezistentní. Kultivačně je nenáročná a je značně rezistentní ke změnám vnějšího prostředí. V buněčné stěně a v cytoplazmatické membráně se vyskytuje řada proteinů, které jí umožňují proniknout do buněk hostitele, přežít v nich a dále se šířit. *L. monocytogenes* je podmíněným patogenem u lidí a zvířat. Schopnost vyvolat onemocnění u člověka má také vzácně *L. ivanovii*. Ostatní druhy rodu *Listeria* jsou považovány za nepatogenní (Blažková a kol., 2005).

L. monocytogenes je obávaným patogenem, který se vyskytuje v potravinách. Mezi nejčastěji kontaminované produkty patří mléčné a masné výrobky. Vyvolává závažné onemocnění listeriózu. Zasažuje specifické skupiny obyvatel a způsobuje zánět mozkových blan, septikémii a potraty (Blažková a kol., 2005).

3.6.4 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa je gramnegativní aerobní pohyblivá tyčinka. Tento druh patří k nejdůležitějším bakteriálním původcům nozokonálních infekcí a vyznačuje se vysokou rezistencí k antibiotikům a dezinfekčním prostředkům. Navíc má minimální požadavky pro růst, takže její šíření je snadné a léčba velmi obtížná. Pseudomonádové infekce představují významnou příčinu morbiditu a mortality u hospitalizovaných pacientů (Hauser, 2005).

3.6.5 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis

S. Enteritidis patří mezi tyčinkovité nesporulující gramnegativní fakultativně anaerobní bakterie (Bhunias, 2008). Rod *Salmonella* způsobuje onemocnění salmonelózu. Je to akutní stav projevující se většinou průjmem. Původcem jsou zvířecí salmonely patřící k druhu *S. Enteritidis*. Jsou hojně rozšířeny mezi hospodářskými zvířaty a na člověka jsou přenášeny prostřednictvím vaječných, mléčných a masných výrobků. Inkubační doba je velmi krátká (6-48 hodin). *Salmonella* způsobuje akutní gastroenteritidy, asymptomatické infekce nebo sepse s pomalejším průběhem obecně označované jako tyfus (Rozsypal a kol., 2013).

3.6.6 *Staphylococcus aureus*

S. aureus patří mezi nejvýznamnější druhy rodu *Staphylococcus*. Je to grampozitivní fakultativně anaerobní bakterie, která je řazena mezi koky. *S. aureus* je tolerantní ke slanému prostředí z 10-15% a relativně odolný vůči suchu a teplu. Při teplotách 10-46 °C produkuje enterotoxiny (Bhunias, 2008).

S. aureus je schopný vyvolat celou řadu onemocnění. Mezi nejčastější patří stafylokoková enterotoxikóza (alimentární infekce) a kožní infekce. Ze zánětlivého ložiska v měkké tkáni se může rozšířit do kostní dřeně a vyvolat onemocnění osteomyelitidu. Stafylokok má také schopnost pronikat do krevního řečiště a v souvislosti s tím může způsobit velmi vážný stav, a sice infekční endokarditidu (Rozsypal a kol., 2013).

3.6.7 *Streptococcus pyogenes*

S. pyogenes je grampozitivní fakultativně anaerobní bakterie kulovitěho tvaru. Vyskytuje se ve dvojicích (diplokoky) nebo tvoří řetízky (Netušil, 2012). Streptokoky a stafylokoky jsou nejčastějšími původci bakteriální infekce kůže (pyodermie). Vznik a rozvoj infekce závisí na celkovém stavu organismu, lokálním stavu kůže, virulentnosti bakterií a vlivu zevního prostředí. *S. pyogenes* je také producentem exotoxinů. Ty mohou působit buďto přímo nebo uvolňují biologicky aktivní mediátory. Stejně jako *S. aureus* má i *S. pyogenes* schopnost pronikat do krevního řečiště a lymfatických cest (Bartoňová, 2014). Je to tedy patogen vyvolávající hnisavé kožní záněty, angínu a je původcem spály (Netušil, 2012).

3.7 Antioxidační aktivita

Antioxidace je proces, který zpomaluje nebo blokuje účinek specifických látek. Tyto látky se nazývají volné radikály a způsobují spontánní oxidační reakce (Abrahámová a kol., 1999a). K oxidačnímu stresu dochází při nadbytku reaktivních forem kyslíku a dusíku

nad antioxidační kapacitou (Holeček, 2010). To může mít za následek vznik různých typů onemocnění, např. kardiovaskulárních chorob, karcinogeneze, neurologických poruch nebo procesů stárnutí. Volné radikály působí na biologicky významné sloučeniny jako jsou lipidy, bílkoviny a nukleové kyseliny. Pozměňují jejich strukturu a tím modifikují i jejich funkci. Tyto kaskádové reakce zapříčiněné radikály vedou k poškození stavby buněk, tkání, orgánů a popřípadě k narušení důležitých funkcí v organismu. Významnou roli v ochraně proti tomuto poškození mají možná antioxidanty. Ty mohou být podávány ve formě potravinových doplňků nebo jsou přijímány společně s potravou. Typickým příkladem jsou polyfenolické sloučeniny a antioxidační vitaminy E, C a karotenoidy. Mezi polyfenoly patří např. flavonoidy, fenolické kyseliny a katechiny. Zdrojem přírodních antioxidantů je zelenina, ovoce, vláknina, čaje, vína a aromatické a léčivé rostliny (Paulová a kol., 2004)

Prospěšnost antioxidantů však postupem času některé studie vyvracejí. Studie z roku 2010 uvádí, že někdy antioxidanty mohou negativně ovlivnit funkci svalů a to tak, že potlačují klíčové signální mechanismy, které jsou nezbytné pro jejich činnost (Kansas State University, 2010).

Americké ministerstvo zemědělství (USDA) v roce 2010 zveřejnilo databázi, kde byla uvedena antioxidační kapacita vybraných potravin. Ta byla stanovena metodou ORAC, která bude v práci ještě popsána. Nicméně USDA vydalo prohlášení, že metabolické dráhy a funkce antioxidantů v organismu nejsou ještě zcela objasněny a že antioxidační molekuly v potravinách mají širokou škálu funkcí, z nichž mnohé nesouvisí se schopností absorbovat volné radikály. Zveřejněné hodnoty byly zneužívány výrobci potravin a potravinových doplňků k propagaci jejich produktů. Z těchto důvodů byla tabulka v roce 2012 s ORAC hodnotami stažena a už není volně dostupná pro širokou veřejnost (USDA, 2016).

V současnosti je tedy nutné zaměřit se spíše na mechanismus antioxidačních látek v organismu než na jejich obsah v potravinách. Během jejich resorpce a při následném metabolismu v játrech a ostatních tkáních dochází k přeměnám na další metabolity a jejich antioxidační účinek může být odlišný. Je proto třeba souběžně s testováním antioxidační aktivity přírodních látek a jejich směsí *in vitro* věnovat pozornost i hodnocení antioxidačního stavu organismu *in vivo* po jejich podání (Paulová a kol., 2004).

3.7.1 Stanovení antioxidační aktivity

Metody pro stanovení antioxidační kapacity látek mohou být obecně rozděleny do dvou kategorií - metody hodnotící schopnost eliminovat radikály a metody posuzující redoxní vlastnosti látek (Paulová a kol., 2004).

3.7.1.1 ORAC metoda

Metoda ORAC (oxygen radical absorbance capacity – kapacita absorbovat volné radikály kyslíku) patří do skupiny metod založených na eliminaci radikálů, a to radikálů kyslíkových. Hodnotí se tedy schopnost testované látky zpomalit nebo zastavit radikálovou reakci. Detekce je založena na sledování úbytku fluorescence po reakci s radikály. Pro generaci kyslíkových radikálů se používá AAPH. Vzhledem k tomu, že tyto radikály jsou vysoce reaktivní, patří test ORAC k důležitým parametrům charakterizujícím antioxidanty (Paulová a kol., 2004).

Tato metoda byla v praktické části použita pro zjištění antioxidačních vlastností testovaných vzorků.

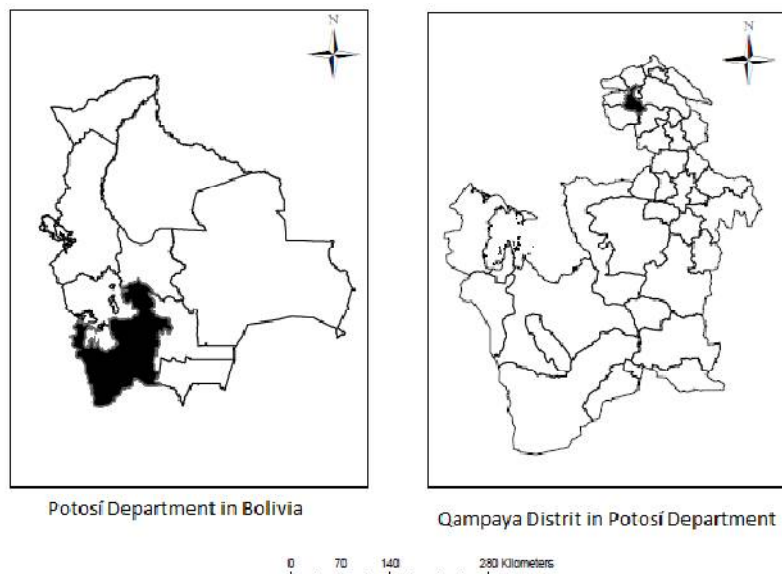
3.7.1.2 Trolox

Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina) je ve vodě rozpustný analog vitamínu E. Je to tedy antioxidant používaný k laboratornímu posouzení míry poškození buňky způsobeného oxidačním stresem. K měření antioxidační schopnosti látek se trolox využívá jako standard. Aktivita látek je vyjádřena pomocí TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity). To znamená, že se účinné množství látky vztahuje k ekvivalentnímu množství troloxu (USDA, 2016).

3.8 Studovaná oblast

Rostliny, kterými se tato práce zabývá, pocházejí z území okresu Qampaya (správní celek Potosi).

Potosi se nachází na jihozápadě Bolívie. Je součástí And a půdy jsou zde suché a volně konsolidované jíly, písky a štěrky. Na severu tohoto správního celku je okres Qampaya, který zasahuje na území zemědělsko-ekologické oblasti náhorní plošiny Altiplano. Klima je zde chladné a suché s průměrnou roční teplotou 15-20 °C (Fernández, nepub.). Lokace popsaného správního celku společně s okresem Qampaya znázorňuje Obrázek 2.



Obrázek 2 Poloha správního celku Potosí společně s okresem Qampaya (Fernández, nepub.).

3.9 Charakteristika testovaných rostlin

Tato práce se zabývá sušenými vzorky amazonských rostlin. Ty byly vybrány dle uvážení a zkušeností Doc. Dr. Ing. Eloy Fernández Cusimamani, který působí na ČZU jako Zástupce vedoucího katedry tropických a subtropických plodin a agrolesnictví a Vedoucí Laboratoře rostlinných explantátů FTZ. On sám přímo v Bolívii byl, byl v kontaktu s domorodci a získával od nich informace o tradičním využívání těchto rostlin.

Taxonomicky tyto vzorky spadají do rozsáhlé skupiny krytosemenných rostlin. Pouze jeden z nich náleží do čeledi *Poaceae*, a tedy do třídy jednoděložné. Všechny ostatní vzorky jsou buďto z čeledi *Brassicaceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae* a nebo *Scrophulariaceae*. Tím pádem spadají do kategorie dvouděložných rostlin. V této kapitole budou stručně popsány z botanického hlediska jednotlivé čeledi a samotné rostliny. Získané informace o vybraných rostlinách jsou různorodé z důvodu jejich obtížné dohledatelnosti a dostupnosti. Z tohoto důvodu budou testované rostliny popsány jen stručně, popřípadě bude u některých popsán rod.

Informace o tradičním využívání těchto rostlin pocházejí z nepublikované studie Doc. Dr. Ing. Eloye Fernández Cusimamani, která se zabývá etnobotanickým využitím 60 tropických bolivijských rostlin v okrese Qampaya. Kromě tradičního užívání domorodci z tohoto okresu

bylo použití rostlin dohledáno z literatury. Avšak i zde, podobně jako u botanického popisu, byla dostupnost informací omezená.

Třída: *Magnoliopsida* (dvouděložné)

Čeľad': *Brassicaceae* (brukvovité)

Velmi obsáhlá skupina, většinou se jedná o jednoleté až vytrvalé byliny (keře jen výjimečně). Listy jsou jednoduché, květy žluté, bílé nebo fialové a plodem je šešule. Tato čeľad' se vyznačuje obsahem glukosinolátů (hořčičné glykosidy – sinirgin, sinalbin, glukokochlarin a další) a enzymu myrosináza v idioblastech. Přibližně z původně 40 druhů vyskytujících se jen v oblasti Středozevního moře (Mediterrán) dnes *Brassicaceae* čítá stovky rodů a tisíce druhů (Novák and Skalický, 2012). Postupně se tato čeľad' rozšířila po celém světě. Tyto rostliny se pěstují jako významné užitkové plodiny (zelenina), okrasné letničky a trvalky zahrad (Abrahámová a kol., 1999a).

3.9.1 *Lepidium bipinnatifidum* Desv.

Rod *Lepidium* se skládá přibližně ze 170 druhů. Rostou v mírných a subtropických oblastech po celém světě. Listy vytvářejí přizemní růžici. Vyrůstají také na stonku, ale jsou menší. Květenství jsou hustá, bílá nebo žlutá. Plodem je tobolka nebo šešule. Některé druhy se využívají v potravinářství při výrobě hořčice. Množí se semeny. Asi nejznámějším druhem toho rodu je *Lepidium meyenii* neboli maca. Je to bylinná vytrvalá rostlina 12-20 cm vysoká. Má sukulentní kořeny a krátké poléhavé stonky. Jedlou částí rostliny je hypokotyl 2-5 cm velký, který může být bílý, žlutý, červený, fialový až šedý. Roste vysoko v horách nad 4 000 metrů nad mořem v peruánských Andách (Bermejo a León, 1994).

Lepidium bipinnatifidum je bylina, která roste v nadmořské výšce 3 000-4 000 metrů nad mořem v oblasti Yungas bolivijských And a na území náhorní plošiny Altiplano. Vyskytuje se na území tří správních celků a to La Paz, Cochabamba a Oruro (Tropicos, 2016a).

Tradiční využití: Odvar či nálev z této rostliny se používá k léčbě poruch zažívacího traktu, zápalu plic a zánětu pohrudnice. Ve formě klystýru je u dětí vhodný při onemocnění enterobióza, které je způsobené parazitickým hlístem roupem dětským. Ovlivňuje i činnost nervové soustavy a z toho důvodu se užívá u dětí s poruchami soustředění. Účinné látky obsažené v *Lepidium bipinnatifidum* mají silné protiparazitické účinky. Nálev je také vhodný

k léčbě onemocnění dutiny ústní (zánět dásní). Teplý obklad z listů napomáhá při poruchách trávení u dětí (Fernández, nepub.) (Poblete, 1992).

Čeď: *Lamiaceae* (hluchavkovité)

Další rozsáhlá čeď bylin (v tropech i dřeviny), listy jsou zpravidla jednoduché často chlupaté a žláznaté. Mnohé z nich obsahují cenné silice. Je to pestrá škála rostlin, které mohou být buď medonosné, plevelné, okrasné, rumištní, případně se pěstují jako koření. Vyskytují se na všech kontinentech, ale nejvíce jsou rozšířené v Mediteránu (Novák a Skalický, 2012).

3.9.2 *Minthostachys diffusa* Epling

Jihoamerický rod *Minthostachys* vyskytující se v oblasti And zahrnuje asi 17 druhů aromatických keřů. Tento rod je významný z hlediska entnobotanického, farmakologického i komerčního, protože rostliny tohoto druhu se vyznačují obsahem silic. Nevyužívají se proto jen v tradiční kuchyni, ale také v lidovém léčitelství, a to především v oblasti jejich výskytu. Na základě toho se hledá jejich možné využití v moderní medicíně, jak v podobě odvarů, tak i ve využití extrahovaných silic. Rod je ale taxonomicky složitý a vykazuje vysokou morfologickou variabilitu, což ztěžuje poznání a zdokumentování těchto rostlin (Schmidt-Lebuhn, 2008).

Minthostachys diffusa je endemický keř rostoucí v nadmořské výšce 1000-2500 metrů nad mořem v bolivijském Yungas ve správním celku La Paz (Tropicos, 2016b).

Tradiční využití: Nálev/odvar je vhodný léčbě kardiovaskulárních potíží. Mast připravenou z této rostliny lze aplikovat na klouby postižené revmatem (Fernández, nepub.).

3.9.3 *Satureja ovata* R.Br.

Rod vytrvalých bylin, keřů a polokeřů čítá okolo 30 druhů rostlin. Vyskytují se v jižní Evropě západní Asii a Severní Americe. Centrum výskytu je středomoří. Listy jsou vstřícné a jednoduché. Květy jsou trubkovité a rostou v chudých lichopřeslenech. Vyskytují se na slunných místech s dobře propustnou půdou a jsou středně až zcela mrazuvzdorné. Celé rostliny jsou aromatické (Burnie, 2007).

Satureja ovata (synonymum *Micromeria ovata* Benth.) je bohatě větvený polokeř se vzestupným hustě olistěným hlavním stonkem (7,5-30 cm dlouhý). Listy jsou eliptické až

vejčité s velmi krátkými řapíky. Květy mají trubkovitý kalich a rostou ve shlucích. Jedná se o soliterní rostlinu (Global Plants, 2016).

Tradiční využití: Připravený odvar či nálev je vhodný k léčbě gynekologických potíží. *Satureja ovata* má dezinfekční a antiseptické účinky a používá se také jako insekticid (Fernández, nepub.).

Čeled': Asteraceae (hvězdnicovité)

Skupina tvořená převážně bylinami (v tropech i dřevinami a sukulenty). Listy mohou být bezpalistnaté, střídavé, jednoduché i dělené. Květy jsou drobné, obvodové, nejčastěji bílé, ale i barevné (Novák a Skalický, 2012). Plodem je nažka. Celosvětově rozšířený druh rostlin (okrasné, plevelné, léčivé, chráněné i ohrožené) (Abrahámová a kol., 1999b).

3.9.4 *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.

Achyrocline satureioides je bylina rostoucí v nadmořské výšce 0-4000 metrů nad mořem v bolivijských nížinách, v náhorní plošině Altiplano a v Andách. Také patří k celé řadě rostlin vyskytujících se v deštném pralesu. Z hlediska správních celků se nachází na území šesti z nich, a to v Chuquisaca, Santa Cruz, La Paz, Oruro, Tarija, Cochabamba (Tropicos, 2016c). V Brazílii je tato rostlina známá pod názvem macela. Je to jednoletá bylina vysoká 1-1,5 metrů. Listy jsou zelené se zubatými okraji. Malé bílé květy mají žluté středy. Je považována za plevel. Kromě Bolívie se vyskytuje v celé tropické Jižní Americe (Taylor, 2005).

Tradiční využití: V Brazílii se tato rostlina využívá v tradičním léčení již po mnoho let. Je to analgetikum, antioxidant, kardiotonikum a stimulant GIT. Dále má antibakteriální, antivirové, tišící, antikonvulzivní, protinádorové, antidiabetické, imunostimulační, antiseptické a aterosklerotické účinky. Působí také dobře jako karminativum, sedativum, na uvolnění svalů, na revma, proti menstruačním bolestem a proti srážení krve. Využívá se i jako prostředek na hubení šneků. V Bolívii je využívána především jako karminativum (Taylor, 2005).

Onemocnění: Dýchací potíže – astma, chřipka, bronchitida, bakteriální a virové infekce horních cest dýchacích. Virové infekce – žloutenky, HIV, opary. GIT – poruchy žlučníku a jater (Fernández, nepub.) (Taylor, 2005).

Dávkování: K přípravě lékové formy se může využívat celá rostlina nebo jen nadzemní část, listy či květy.

- nálev/odvar: 1 šálek 2-3x denně
- kapsle/tablety: 1-2g 2-3x denně
- tinktura (v poměru 4:1): 2-3 ml 2x denně (Taylor, 2005).

Účinné látky: První výzkum proběhl v polovině 80. let 20. století a ukázal, že *Achyrocline satureioides* obsahuje celou řadu flavonoidů včetně dalších, do té doby neznámých sloučenin. Většina antioxidačních vlastností byla tedy připisována flavonoidům a také terpenům, které byly v rostlině také izolovány. Postupem času byly nalezeny další sloučeniny, které se také podílejí na léčebném působení této rostliny. V roce 1990 byly provedeny prvotní screeningové testy, které ukázaly možné protinádorové působení. Následující *in vitro* testy uvedly, že extrakt z květů macely má schopnost inhibovat růst nádorových buněk až o 67 %. Další *in vitro* studie objevily možné antivirové působení proti HIV. Macela je považována za potenciální náhradu insulinu a barbiturátů (Taylor, 2005).

3.9.5 *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers.

Do rodu *Baccharis* patří více jak 400 druhů rostoucích v tropické a subtropické Americe (Taylor, 2005). Jedná se o vytrvalé byliny a keře. Většinou jsou to stálezelené hustě olistěné rostliny s tuhými stonky. Listy jsou střídavé, převážně tuhé, kožovité, rozmanitého tvaru. Na okrajích jsou většinou zubaté nebo laločnaté, často slabě pryskyřičnaté a lepkavé. Malé úbory mají obvykle šedou nebo bílou barvu a nemají jazykovité květy, které jsou typické pro *Asteraceae*. Mnohé druhy pocházejí ze sušších oblastí z míst se slanou půdou. Rostou na slunných místech a některé snesou střední až silný mráz, ale většinou nejsou mrazuvzdorné. Množí se semeny (Burnie, 2007).

Baccharis genistelloides je také dobře známá jako carqueja. Je to vytrvale zelená bylina, dorůstá do výšky 1-2 metry a má nažloutle bílé květy. Rovné dužnaté stonky jsou jasně zelené. Roste napříč celým amazonským deštným pralesem v Peru, Brazílii a Kolumbii. Dále se vyskytuje v tropických částech Argetiny, Paraguaye a Uruguaye. Další také velice známé druhy tohoto rodu jsou malé keře. Některé z nich (např. *Baccharis cordifolia*) jsou jedovaté pro pasoucí se zvířata. *Baccharis genistelloides* považovaná za bezpečnou a nejedovatou rostlinu (Taylor, 2005).

Tradiční využití: Domorodí obyvatelé deštného pralesa užívali tuto rostlinu po staletí k léčbě běžných onemocnění. Její léčivé účinky byly poprvé zaznamenány v Brazílii v roce 1931. Podobně jako macela se vyznačuje celou řadou pozitivních účinků v lidském těle. Má abortivní, analgetické, antacidní, antihepatotoxické, tišící, antiulcerózní, protivirové, diuretické, antidiabetické a antipyretické účinky. Dále působí jako stimulant v gastrointestinálním traktu (GIT) (mírné laxativní účinky, karminativum), snižuje krevní tlak a používá se jako repelent proti hmyzu. V Bolívii se využívá především jako abortivum, digestivum a k léčbě vředů (Taylor, 2005). *Baccharis genistelloides* má schopnost rozpouštět ledvinové a močové kameny. Vyznačuje se totiž specifickými reakcemi s kyselinou močovou, kdy dochází právě k rozkladu těchto kamenů. Lék z této rostliny se používá k léčbě žloutenky, reguluje krevní oběh (vhodný na křečové žíly) a také snižuje bolest při revmatismu (Poblete, 1992).

Onemocnění: Poruchy trávení – vředy, gastroenteritida, pálení žáhy, pomalé trávení. Stimuluje činnost jater – udržuje rovnováhu, zvyšuje tvorbu žluči. Poruchy funkce žlučníku – žlučnickové kameny, bolest, stimuluje jeho činnost. Virové infekce – žaludeční viry, HIV, herpes simplex. Odvádí toxické látky z jater, krve, žlučníku a z pankreatu. Jiná onemocnění – malárie, anémie, ledvinové poruchy a gynekologické problémy. Vzhledem k jejímu abortivnímu působení by neměla být užívána během těhotenství (Fernández, nepub.) (Taylor, 2005).

Dávkování: Využívá se buďto opět celá rostlina nebo jen nadzemní část.

- nálev/odvar: půl šálku 2-3x denně
- tinktura: 2-4 ml 2-3x denně
- kapsle/tablety: 2g 2x denně (Taylor, 2005).

Účinné látky: *Baccharis genistelloides* je velmi dobrý zdroj flavonoidů, které obsahuje až z 20 %. Nejvíce zastoupený je kvercetin, luteolin, apigenin a silymarin, který působí protektivně na játra. Flavonoidy jsou hlavními bioaktivními látkami této rostliny (Taylor, 2005).

3.9.6 *Lepidophyllum quadrangulare* Benth. & Hook.f.

Lepidophyllum quadrangulare náleží ke středoandskému druhu, který se vyskytuje v jihozápadní Bolívii, v jižním Peru, v severozápadní Argentině a v severním Chile. Je to charakteristická a místy i dominantní rostlina suché puny, která roste v nadmořské výšce

3 000-4 700 metrů nad mořem. Kvete po celý rok. Jedná se o keř (25-80 maximálně 150 cm vysoký) bohatě větvený, lysý nebo jen řídce chlupatý. Větve jsou na průřezu hranaté. Listy jsou přisedlé a čárkovité, 2-5 mm dlouhé a jsou uspořádány spirálovitě. Květy jsou trubkovité, 4-6,5 mm dlouhé, žlutooranžové barvy. Plody jsou nažky s chmýrem (Hoskovec, 2015).

Tradiční využití: Mast připravená z *Lepidophyllum quadrangulare* se používá k léčbě dýchacích obtíží (Fernández, nepub.).

Čeled': *Apiaceae* (miříkovité)

Opět čeled' čítající stovky rodů. Rostliny jsou jednoleté, dvouleté ale i vytrvalé byliny (vzácně keře) (Abrahámová a kol., 1999d). Listy jsou střídavé, jednoduché nebo častěji peřenodílné až složené. Květy jsou uspořádané v jednoduchém nebo častěji složeném okolíku. Čeled' se vyznačuje obsahem pryskyřic, aromatických silic, glykosidů, některé z těchto rostlin mohou obsahovat i prudce jedovaté alkaloidy (Novák a Skalický, 2012). Plodem je většinou dvounažka. Místem výskytu je mírný pás obou polokoulí, nížiny až vysoké hory, často suchá stanoviště, stepi ale i břehy řek a mělké vody (Abrahámová a kol., 1999c).

3.9.7 *Azorella glabra* Wedd.

Rod *Azorella* zahrnuje asi 70 druhů, pochází z Jižní Ameriky a často roste ve vysokých nadmořských výškách. Jsou to stále zelené vytrvalé byliny nebo dlouhokvěté polokeře a vytváří velké zelené polštáře. Listy mohou být laločnaté nebo zubaté. Květy (převážně žluté) jsou velmi malé, složené do velkého množství malých okolíků a jsou rozmístěné po celém povrchu polštáře. Rostou na velmi dobře propustných půdách (nejlépe štěrkovitých) a zároveň na slunných místech. Množí se semeny nebo dělením. Azorelly jsou pryskyřičnaté aromatické rostliny a některé druhy se používají k léčebným účelům (Burnie, 2007).

Azorella glabra se vyskytuje na skalnatých stanovištích bolivijských And a dosahuje až na hranice sněhu. Tvoří polštářovité porosty (Valíček a kol., 2002).

Tradiční využití: Pryskyřice a silice jsou obsaženy především v listech. Nálev nebo odvar se užívá při ledvinových potížích. Při onemocnění dýchacích cest je také možné užívat ve formě inhalace. Z listů vyrobený balzám je vhodný lékem na zápal plic a napomáhá proti revmatismu. Listy se také mohou užívat jako obklady k tišení bolesti svalů a opět i ke zmírnění bolesti kloubů. Pryskyřice mají chladivý účinek (Fernández, nepub.) (Poblete, 1992).

Čeľad': Scrophulariaceae (krtičníkocité)

Rostliny z této čeledi jsou převážně byliny (dřevinné typy zasahují do tropů). Listy jsou bezpalistnaté, většinou jednoduché, střídavé i vstřícné. Plodem je tobolka. Jsou to rostliny bohaté na glykosidy, popř. saponiny. Tato skupina je rozšířená v mírném pásu severní polokoule, od nížin až po vysoké hory. Patří sem rostliny poloparazitické, parazitické, polní a zahradní plevelé, léčivé a okrasné (Novák a Skalický, 2012).

3.9.8 *Calceolaria salicifolia* Ruiz & Pav.

Calceolaria je rod čítající více než 300 druhů rostlin. Může se jednat o drobné letničky nebo bylinné trvalky, ale patří sem také pnoucí rostliny a i zcela dřevnaté keře. Vyskytují se na území Spojených států až po jih Jižní Ameriky. Pro všechny druhy je pak společná specifická stavba květu s nadmutým spodním pyskem jako u některých vstavačovitých rostlin. Květy jsou převážně žluté a oranžové, často s červenými nebo fialovými skvrnami. Jelikož pocházejí z odlišných přírodních podmínek, liší se i schopností snášet různě nízké teploty. Obecně ale platí, že rostou na stinných, chladných a vlhkých stanovištích s dobře propustnou půdou s dostatkem živin. Množí se semeny (Burnie, 2007).

Calceolaria salicifolia neboli pantoflíček je vzpřímený keř 30-120 cm vysoký. Listy mají kopinatou čepel (eliptické až vejčité) a jasně žluté květy rostou v chocholcích (Edwin, 1971).

Tradiční využití: Má antiseptické, dezinfekční a diuretické účinky. Napomáhá ke snižování otoků a je to rostlina užívaná k léčbě kapavky. Užívá se ve formě nálevu či odvaru. Kombinace účinných látek této rostliny a *Cosmos peucedanifolius* je vhodným medikamentem na černý kašel (Fernández, nepub.) (Poblete, 1992).

Třída: *Liliopsida* (jednoděložné)

Čeľad': Poaceae (lipnicovité)

Lipnicovité jsou pacifické jednoleté i vytrvalé byliny neboli trávy se svazčitými kořeny. Mají dutý stonek (výjimečně vyplněný dřevem) s uzlinami (kolénky). Tento typ stonku se nazývá stéblo. Přisedlé listy obepínají pochvou stéblo, anatomická stavba listu není u všech rostlin této čeledi jednotná (Novák a Skalický, 2012). Typické květenství je zkrácená lata složená z klásků (tvořené jedním nebo více květy). Květy jsou oboupohlavé, plodem je obilka. Rostou po celém světě. Rostliny mohou vytvářet travnaté formace (brazílské campos, subtropické savany, středoasijské stepi, argentinské pampy atd.). Patří sem hospodářsky významné byliny

(obiloviny, bambus, cukrová třtina), řada z nich je považována za plevel (pýr), jiné se pěstují jako okrasné rostliny (Abrahámová a kol., 1999d).

3.9.9 *Cortaderia quila* Stapf

Přibližně 20 druhů trsnatých vytrvalých trav, většinou robustního vzrůstu, spadá do rodu *Cortaderia*. Až na pár druhů pocházejí všechny z Jižní Ameriky. Mají dlouhé, na konci zašpičatělé listy, které jsou na dotek většinou drsné s ostrými okraji. Květní stébla jsou vysoká a zakončená dlouhou latou s bílými, stříbrnými nebo narůžovělými klásky. Většina z těchto trav jsou okrasné rostliny, ale z ekologického hlediska jsou považovány za plevel. Snadno se uchytí na každém volném slunném stanovišti a téměř každé půdě, pokud je dostatečné vlhká. Jsou také velmi odolné proti silným větrným podmínkám a slaným vodám (Burnie, 2007).

Cortaderia quila (synonymum *Cortaderia araucana*) dorůstá výšky 100-150 cm. Listy jsou na povrchu lysé nebo chlupaté, vnější okraje jsou ostré a pokryté chloupky. Čepele listů jsou 30-80 cm dlouhé a 3-10 mm široké. Květenství je lata. Roste zejména na jihu Jižní Ameriky (Clayton, Vorontsova a kol., 2006).

Tradiční využití: Z převařených listů a kořenů se připravuje lázeň pro koupele, které jsou vhodné na léčbu gynekologických potíží. Extrakt z kořenů se také používá proti nachlazení, kašli, zánětu průdušek a celkové slabosti (Fernández, nepub.) (Poblete, 1992).

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4. Materiál a metody

Odběr a skladování vzorků

Jak již bylo zmíněno, rostlinný materiál byl nasbíraný ve správním celku Potosi. Rostliny byly sušeny buď na přímém slunci nebo ve stínu a následně přepraveny do České republiky a skladovány v suchu při pokojové teplotě. Pracovalo se s 9 vzorky. V Tabulce 2 je uvedeno botanické zařazení, latinské a místní názvy testovaných rostlin a část rostlin užívaná v tradičním léčení.

Tabulka 2 Seznam testovaných rostlin (Fernández, nepub.).

Latinský název	Místní název	Čeleď	Třída	Část R využívaná v TM
<i>Minthostachys diffusa</i>	Tusuwaya	Lamiaceae	Magnoliopsida	Listy
<i>Lepidium bipinnatifidum</i>	Januk'ara	Brassicaceae	Magnoliopsida	Listy
<i>Satureja ovata</i>	Muña	Lamiaceae	Magnoliopsida	Listy
<i>Achyrocline satureioides</i>	Vira vira	Asteraceae	Magnoliopsida	Listy
<i>Baccharis genistelloides</i>	Quinsa loma	Asteraceae	Magnoliopsida	Listy
<i>Cortaderia quila</i>	Sewenq'a	Poaceae	Liliopsida	Listy
<i>Lepidophyllum quadrangulare</i>	T'ola	Asteraceae	Magnoliopsida	Listy
<i>Azorella glabra</i>	Yareta	Apiaceae	Magnoliopsida	Listy
<i>Calceolaria salicifolia</i>	Zapatilla	Calceolariaceae	Magnoliopsida	Listy

R – rostlina, TM – tradiční medicína

4.1 Zpracování rostlin a příprava extraktů

Chemikálie: etanol (96%, Penta, CZ), denaturovaný etanol (96%, Penta, CZ), destilovaná voda

Metodika – Extrakce vzorků

K homogenizaci vzorků byl použit kávový mlýnek (Valentino, KM 5001). Poté byly vzorky týden macerovány v 80% etanolu, následně zfiltrvány pod tlakem a odpařeny na rotační vakuové odparce (Laborata 4000 – efficient, Heidolph) při teplotě 40 °C a maximálních otáčkách 280 otáček za minutu. Získané extrakty byly skladovány při 5 °C. Navážky vzorků a výtěžnost extraktů jsou znázorněny v Tabulce 3. V průběhu mikrobiálního testování bylo třeba přidělat extrakty u vzorků č. 1, 4 a 6. K maceraci byl použit 80% denaturovaný líh. Jinak byl způsob přípravy vzorků a získání extraktů jako v předešlém případě. Navážky a výtěžnost nově připravovaných extraktů jsou uvedeny v Tabulce 4.

Tabulka 3 Navážky vzorků a výtěžnost extraktů

Latinský název	Navážka v g	Výtěžnost v g	Výtěžnost v %
<i>Minthostachys diffusa</i>	5,10	0,78	15,29
<i>Lepidium bipinnatifidum</i>	5,16	0,97	18,80
<i>Satureja ovata</i>	5,23	1,21	23,14
<i>Achyrocline satureioides</i>	5,12	0,69	13,48
<i>Baccharis genistelloides</i>	5,10	1,11	21,76
<i>Cortaderia quila</i>	5,18	0,57	11,00
<i>Lepidophyllum quadrangulare</i>	5,08	1,00	19,69
<i>Azorella glabra</i>	4,89	0,74	15,13
<i>Calceolaria salicifolia</i>	4,97	1,21	24,35

Tabulka 4 Nově připravované extrakty

Latinský název	Navážka v g	Výtěžnost v g	Výtěžnost v %
<i>Minthostachys diffusa</i>	5,29	1,10	20,79
<i>Satureja ovata</i>	10,31	2,37	22,99
<i>Baccharis genistelloides</i>	10,40	3,90	37,50

4.2 Antimikrobiální testování

Testované mikroorganismy: *C. albicans* ATCC 10231, *E. coli* ATCC 25922, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. enterica* ATCC 13076, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 33591, *S. aureus* KI, *S. pyogenes* CCM 4425

Chemikálie: Mueller-Hintonův bujón (Oxoid, CZ), denaturovaný etanol (70%, Penta, CZ), destilovaná voda, tween 80 (Roth, GE), dimethylsulfoxid = DMSO (Penta, CZ), ATB – T3258-5G Tetracyklin (Sigma Aldrich Chemie, CZ)

Metodika – antimikrobiální testování

Jedna část experimentu této práce byla zaměřena na stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) u vzorků amazonských rostlin pro vybrané druhy mikroorganismů. Mikrobiologické testování proběhlo pomocí mikrodiluční metody.

- Pro mikrobiální testování byly extrakty rozpuštěny za pomoci tweenu či DMSO. U extraktu ze *S. ovata* byly použity obě činidla v poměru 1:1. Rozpouštědlo tvořilo vždy 0,5 % z celkového objemu přidávaného média. Typ rozpouštědla a počáteční koncentrace vzorků jsou uvedeny v Tabulce 5. Po zcentrifugování (Minispin plus, Eppendorf) a rozpuštění v ultrazvukové lázni (Bandelin, Sonorex Digitec) bylo ke vzorkům přidáno příslušné množství média. Vzorky se navažovaly a rozpouštěly vždy před každým testováním.
- Jako pozitivní kontrola bylo použito antibiotikum (ATB) tetracyklin. To bylo připraveno smícháním práškové formy antibiotika s médiem.
- Bakteriální inokula o koncentraci 10^6 KTJ/ml byla připravena z den starých kultur kultivovaných při 37 °C.

- Zásobní roztoky extraktů (počáteční koncentrace viz Tabulka 5) byly napipetovány (200 µl) do prvního řádku mikrotitrační destičky, zbylé řádky obsahovaly 100 µl čistého média. Nakonec proběhlo naředění geometrickou řadou a zaočkování nakultivovanými bakteriemi (10 µl do každé jamky). U každého testování se vždy jedna destička nezaočkovala a sloužila jako kontrola čistoty a zákalu vzorků a ATB.
- Destičky byly umístěny do termostatu (37°C) a druhý den proběhlo vyhodnocení.

Tabulka 5 Typy rozpouštědel a koncentrace zásobních roztoků látek

Latinský název	Typ rozpouštědla	Koncentrace mg/ml
<i>Minthostachys diffusa</i>	Tween	0,512
<i>Lepidium bipinnatifidum</i>	Tween	1,024
<i>Satureja ovata</i>	Tween + DMSO	1,024
<i>Achyrocline satureioides</i>	Tween	0,512
<i>Baccharis genistelloides</i>	Tween	1,024
<i>Cortaderia quila</i>	DMSO	1,024
<i>Lepidophyllum quadrangulare</i>	Tween	0,512
<i>Azorella glabra</i>	Tween	0,512
<i>Calceolaria salicifolia</i>	Tween	0,512

4.3 Antioxidační testování

Chemikálie: fosfátový pufr 75 mM (upraven na pH 7) – připraven z: K_2HPO_4 a KH_2PO_4 (Lachema – Lach – Ner, s.r.o., CZ), trolox (Sigma Aldrich Chemie, CZ), fluorescein (Sigma Aldrich Chemie, CZ), 2,2'-azobis (2-amidinopropan) hydrochlorid = APPH (Sigma Aldrich Chemie, CZ), DMSO (Lachema – Lach – Ner, s.r.o., CZ), destilovaná voda, etanol 96% (96%, Penta, CZ)

Metodika – antioxidační testování

Druhá část experimentu se zabývala měřením antioxidační aktivity vzorků. Testy se prováděly na základě metody ORAC.

- Nejprve byly vzorky rozpuštěny v DMSO na výchozí koncentraci 10 mg/ml. Tato koncentrace byla ještě dále naředěna pufrům. Testované koncentrace jsou uvedeny v Tabulce 6.
- Pro hodnocení antioxidační aktivity se pracovalo se standardem trolox. Byla vytvořena dělicí řada o koncentracích 64, 32, 16, 8, 4 a 0 $\mu\text{l/ml}$. Vzorky v namíchaných příslušných koncentracích společně se standardy byly mezi jednotlivými měřeními skladovány při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Do krajních jamek mikrotitrační destičky bylo napipetováno 200 μl vody. Dále ve všech ostatních jamkách bylo 150 μl fluoresceinu, který byl předem upraven na koncentraci 0,018 mg/ml. Do každé jamky s fluoresceinem bylo přidáno 25 μl standardu nebo vzorku. Každá látka byla vždy umístěna do dvou jamek. Po té byla destička umístěna do přístroje, kde proběhla inkubace při teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 10 minut.
- Během inkubace byl připraven roztok volných radikálů AAPH o koncentraci 0,0414 g/ml. Po inkubaci bylo přidáno 25 μl tohoto roztoku do každé jamky kromě krajních jamek s vodou.
- Měření v přístroji Tecan microplate reader (Inanite M200, Männedorf, Switzerland) trvá 2 hodiny při teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ a každou minutu počítačový program zaznamenává naměřené hodnoty.

Tabulka 6 Testované koncentrace zásobních roztoků

Latinský název	Testovaná koncentrace v µg/ml
<i>Minthostachys diffusa</i>	20
<i>Lepidium bipinnatifidum</i>	40
<i>Satureja ovata</i>	20
<i>Achyrocline satureioides</i>	20
<i>Baccharis genistelloides</i>	20
<i>Cortaderia quila</i>	20
<i>Lepidophyllum quadrangulare</i>	20
<i>Azorella glabra</i>	40
<i>Calceolaria salicifolia</i>	20

5. Výsledky

5.1 Vyhodnocení antimikrobiální aktivity

Bakterie *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. enterica*, *P. aeruginosa* byly testovány ve dvou opakováních.

U mikroorganismů *S. aureus* ATCC 33591, *S. aureus* KI, *S. pyogenes* a *C. albicans* byly provedeny dva na sobě nezávislé testy každý ve dvou opakováních a *S. aureus* ATCC 25923 byl testován také vždy ve dvou opakováních v pěti na sobě nezávislých testech.

Mikrodiluční metodou byla potvrzena 80% MIC v počátečních testovaných koncentracích u *Satureja ovata* (1,024 mg/ml) proti bakteriím *S. aureus* ATCC 33591 a *S. pyogenes* a u *Baccharis genistelloides* (1,024 mg/ml) proti bakterii *S. pyogenes*. Ostatní vzorky vykazovaly vyšší MIC u všech testovaných mikroorganismů než nejvyšší testované koncentrace (viz Tabulka 5). U tetracyklinu byly stanoveny MIC u 4 testovaných bakterií (*S. pyogenes* a všechny kmeny *S. aureus*). U zbývajících bakterií byly MIC nižší než nejnižší testované koncentrace a u kvasinky byla MIC naopak vyšší než nejvyšší testovaná koncentrace. Minimální inhibiční koncentrace testovaných vzorků amazonských rostlin a ATB proti vybraným bakteriálním kulturám jsou znázorněny v Tabulce 7. MIC byly hodnoceny vizuálně.

Tabulka 7 Minimální inhibiční koncentrace testovaných vzorků proti vybraným mikroorganismům

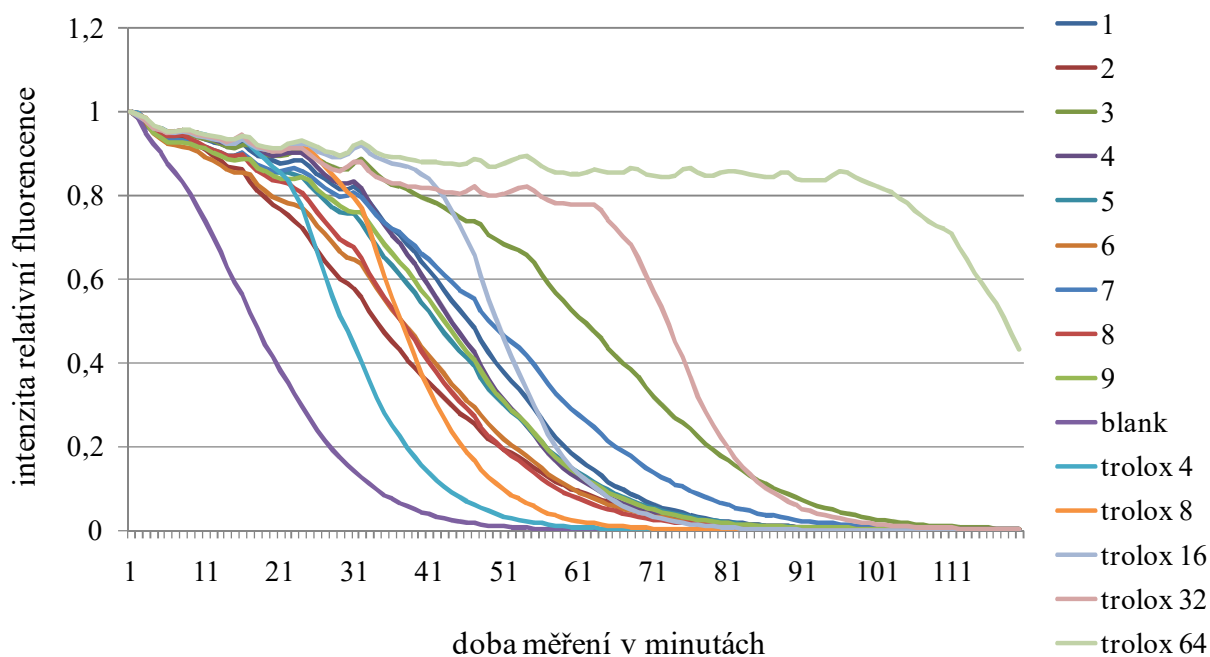
Latinský název/ ATB	MIC v mg/ml								
	LM	EC	SE	PA	SA 33591	SA 25923	SA KI	SP	CA
<i>Minthostachys diffusa</i>	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512
<i>Lepidium bipinnatifidum</i>	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024
<i>Satureja ovata</i>	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	* 1,024	> 1,024	> 1,024	* 1,024	> 1,024
<i>Achyrocline satureioides</i>	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512
<i>Baccharis genistelloides</i>	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	* 1,024	> 1,024
<i>Cortaderia quila</i>	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024	> 1,024
<i>Lepidophyllum quadrangulare</i>	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512
<i>Azorella glabra</i>	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512
<i>Calceolaria salicifolia</i>	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512	> 0,512
ATB	< 0,0078	< 0,0078	< 0,0078	< 0,0078	0,25	0,000328	0,0625	0,00164	< 0,0078

LM = *L. monocytogenes*, EC = *E.coli*, SE = *S. Enteritidis*, PA = *P. aeruginosa*, SA = *S. aureus*, SP = *S.pyogenes*, CA = *C. albicans*

*80% inhibice v počáteční koncentraci

5.2 Vyhodnocení antioxidační aktivity

Vzorky byly testovány vždy ve dvou opakováních ve třech na sobě nezávislých měření. Naměřené hodnoty byly pomocí matice přepočítány a získané výsledky jsou uvedeny na Obrázku 3. Tento obrázek znázorňuje průběh měření a vyplývá z něj, jak rychle (vzhledem k troloxu) byly jednotlivé rostlinné extrakty schopny brzdit radikálovou řetězovou reakci způsobenou AAPH na základě úbytku fluorescence. Z naměřených hodnot troloxu (TE) byla vytvořena kalibrační křivka (Obrázek 4), jejíž rovnice sloužila k přepočtu TEAC u každého vzorku. Vzhledem k získaným hodnotám byla antioxidační aktivita vyjádřena v $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu. Získané výsledky byly vyjádřeny jako střední hodnoty se standardními odchylkami (průměr \pm SD). Celkové vyhodnocení testovaných vzorků je uvedeno v Tabulce 8. Vyhodnocení relativní fluorescence troloxu je uvedeno v Tabulce 9.



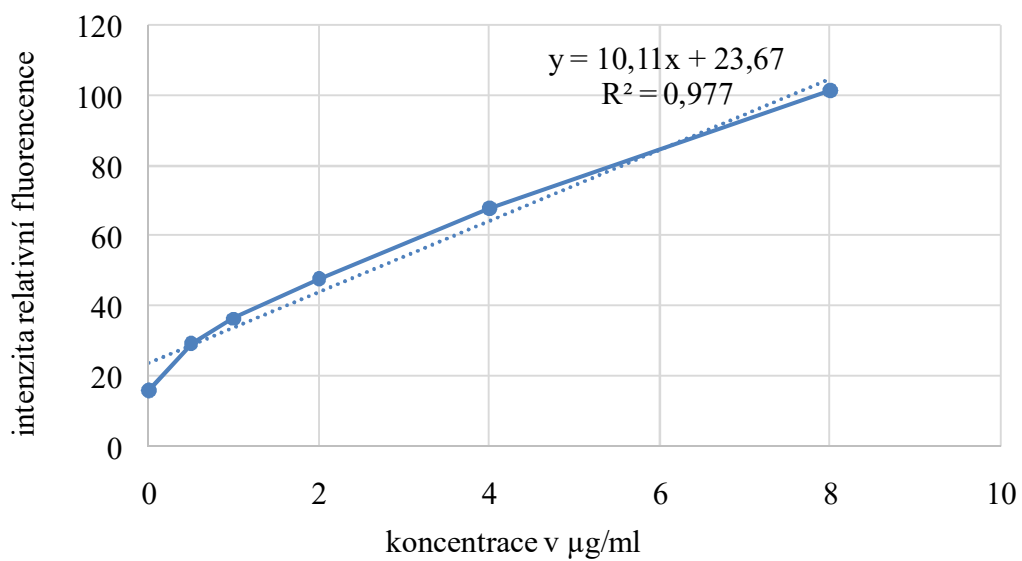
1 = *M. diffusa*, 2 = *L. bipinnatifidum*, 3 = *S. ovata*, 4 = *A. satureioides*, 5 = *B. genistelloides*,
6 = *C. quila*, 7 = *L. quadrangulare*, 8 = *A. glabra*, 9 = *C. salicifolia*

Obrázek 3 Průběh měření antioxidační aktivity vzorků

Tabulka 8 Naměřené hodnoty antioxidační aktivity testovaných rostlin

Latinský název	$\mu\text{g TE/mg extratu} \pm \text{SD}$
<i>Minthostachys diffusa</i> ^a	804,3 \pm 1,02
<i>Lepidium bipinnatifidum</i> ^b	213,0 \pm 2,91
<i>Satureja ovata</i> ^a	1373,2 \pm 68,85
<i>Achyrocline satureioides</i> ^a	743,6 \pm 28,56
<i>Baccharis genistelloides</i> ^a	667,7 \pm 19,11
<i>Cortaderia quila</i> ^a	489,4 \pm 37,15
<i>Lepidophyllum quadrangulare</i> ^a	927,5 \pm 36,91
<i>Azorella glabra</i> ^b	249,2 \pm 10,83
<i>Calceolaria salicifolia</i> ^a	680,6 \pm 42,12

SD = směrodatná odchylka, ^a – testováno v koncentraci 20 $\mu\text{g/ml}$, ^b – testováno v koncentraci 40 $\mu\text{g/ml}$



Obrázek 4 Kalibrační křivka troloxu

Tabulka 9 Naměřené hodnoty troloxu

Kalibrační řada	Koncentrace v µg/ml	Relativní fluorescence ± SD
trolox 64	8	102,0 ± 1,77
trolox 32	4	65,0 ± 7,44
trolox 16	2	47,7 ± 3,05
trolox 8	1	36,5 ± 2,93
trolox 4	0,5	29,6 ± 2,75
blank	0	18,5 ± 2,47

SD = směrodatná odchylka

6. Diskuse

6.1 Antimikrobiální aktivita

Satureja ovata:

Značný počet studií uvádí, že silice rostlin rodu *Satureja* patří k nejsilnějším silicím, co se týče antimikrobiální aktivity. Tři druhy pocházející z Tanzanie vykazují následující MIC proti *S. aureus* ATCC 25923 – *S. biflora* (0,75 mg/ml), *S. masukensis* (0,58 mg/ml) a *S. pseudosimensis* (0,80 mg/ml). Pomocí plynové chromatografie bylo v těchto rostlin stanoveno chemické složení. U nejčastěji se vyskytujících látek byly také zjišťovány jejich MIC. Nejnížší MIC proti *S. aureus* ATCC 25923 se vyznačoval linalool (0,25 mg/ml), který byl zastoupen ve všech třech rostlinách. Proto lze mikrobiální aktivitu těchto rostlin přičíst hlavně této látce, ale pravděpodobně bude více účinných látek působit synergicky (Vagionas a kol., 2007). Další studie zase uvádí, že rod *Satureja* je bohatý na fenolické deriváty (př. karvakrol, tymol) a terpeny (př. cymen). Silice testované rostliny *S. monata* (s vysokým obsahem právě zmíněných účinných látek) v této studii vykazovaly inhibiční schopnost v koncentraci 1,53 mg/ml proti *S. pyogenes* (Sfeir a kol., 2013).

80% inhibiční schopnost testované rostliny *S. ovata* proti již zmíněným bakteriím lze připsat více faktorům. Proto by byla vhodná identifikace chemického složení rostliny, která by mohla pomoci v určení účinné látky či látek, které růst těchto bakterií inhibují.

S. ovata se využívá v tradiční medicíně jako insekticid, antiseptikum, k dezinfekci a k léčbě gynekologických potíží (Fernández, nepub). V tomto případě 80% inhibice potvrzuje antiseptické účinky. Jelikož antiseptikum je protimikrobiální látka působící na povrchu takže se nejedná o antibiotikum. Odvar či nálev ze *S. ovata* může být tedy používán například na ošetření pokožky, kde se přirozeně *S. aureus* i *S. pyogenes* vyskytují jako kožní patogeny. A vzhledem k 80% inhibici se zřejmě jedná o bakteriostatické antiseptikum.

Baccharis genistelloides:

Rod *Baccharis*, podle studie z roku 2007, se vyznačuje obsahem diterpenů, fenolů a flavonoidů (Abad, 2006). Jak již bylo v teoretické části zmíněno, *B. genistelloides* obsahuje jako hlavní účinné látky flavonidy (Taylor, 2005). Flavonidy jsou přírodní antioxidanty a proto je jejich působení významnější v oblasti bránění oxidačnímu stresu než jejich

antimikrobiální vlastnosti (Volf a Andrs, 2011). Avšak extrakt této rostliny vykázal 80% inhibici k bakterii *S. pyogenes*. V porovnání tradičního využití *B. genistelloides* a onemocní, která může tato bakterie způsobovat je možné její použití k prevenci revmatické horečky a glomerulonefritidy.

Revmatická horečka je opožděným projevem neléčeného streptokokového zánětu patrových mandlí a hltanu (faryngitida). Jedné se o onemocnění postihující klouby, kůži a podkožní tkáň, centrální nervový systém a srdce. Srdce je postiženo asi v polovině až ve dvou třetinách případů. Chronická forma jako následek revmatické karditidy je velmi častou příčinou kardiovaskulární morbidity a mortality v zaostalých zemích. Po prodělání revmatické horečky je riziko návratu mnohem vyšší po opětovné infekční faryngitidě. Jak primárním, tak sekundárním následkům revmatické horečky lze zabránit včasnou léčbou streptokokové infekce antibiotiky (Riedel, 2013). Glomerulonefritida vzniká také následkem neléčené streptokokové infekce. Jedná se o postižení glomerulů, které jsou zodpovědné za filtraci krve v ledvinách. Je to onemocnění, které je jednou z nejčastějších příčin chronického selhání ledvin. Postižení funkce ledvin lze opět předejít zaléčením streptokokové infekce (Matoušovic, 2001). V případě tradiční medicíny může být k prevenci těchto onemocnění použit nálev či odvar z *B. genistelloides*. Jelikož ale nemá 100% inhibiční účinek nelze na něj spoléhat jako na antioitikum. Podobně jako v případě rostliny *S. ovata* může být používán k prevenci streptokokových infekcí a tím předcházet jejich případným neléčeným následkům.

Ze získaných výsledků antimikrobiální aktivity bolivijských rostlin může být vyvozena jejich případná dávka obsahující dostatečné koncentrace účinných látek. A to na základě výtěžnosti extraktů ze sušených vzorků společně se zjištěnými minimálními inhibičními koncentracemi. Následující údaje jsou však pouze orientační, protože nelze srovnávat výsledky *in vitro* s působením účinných látek v lidském organismu. Z 10,31 g *S. ovata* bylo získáno 2,87 g extraktu a z 10,4 g *B. genistelloides* byl výtěžek 3,9 g extraktu. V obou případech byla prokázána 80% MIC v počáteční testované koncentraci (1,024 mg/ml). K zajištění této účinnosti by jedinec vážící 60 kilogramů potřeboval 61,44 g extraktu. Toto množství je obsaženo ve 267 g sušené rostliny *S. ovata*. U *B. genistelloides* by tento inhibiční efekt zajišťovalo stejné množství extraktu, které lze získat ze 163 g této rostliny v sušeném stavu. Pro ostatní testované rostliny nelze jejich případné účinné množství dopočítat, protože u nich nebyly nalezeny MIC. Z *in vitro* testů však nelze přímo potvrdit antimikrobiální působení v lidském organismu, proto jsou přepočítané dávky pouze orientační a pro jejich upřesnění by bylo třeba dalších studií.

6.2 Antioxidační aktivita

U všech testovaných vzorků byla prokázána antioxidační aktivita. Naměřené hodnoty se pohybovaly v rozmezí od 213,0 (*L. bipinnatifidum*) do 1373,2 (*S. ovata*) $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu. Všechny vzorky (*S. ovata*) vykazovaly vysokou antioxidační schopnost přibližně 35 minut. Poté byly ještě schopny oxidační reakce brzdit v rozmezí od 71. (*A. glabra*) do 95. minuty (*L. quadrangulare*). Vysoká antioxidační aktivita vzorku rostliny *S. ovata* trvala do 41. minuty a dále se postupně snižovala a přibližně ve 101. minutě přestal tento vzorek působit proti volným radikálům úplně.

Na základě těchto výsledků se dá tedy říci, že některé tradiční použití amazonských testovaných rostlin vychází z jejich antioxidačního působení. *Minthostachys diffusa* (804,3 $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu) se využívá k léčbě kardiovaskulárních potíží (Fernández, nepub.). Jako jeden z projevů působení volných radikálů může být také revmatoidní artritida. Je to chronické onemocnění, při kterém dochází v důsledku zánětu k poškození chrupavek a okolních tkání (Pavelka and kolektiv, 2005). K prevenci revmatoidní artritidy nebo ke zmírnění bolestivých projevů se užívají léky připravené z *Minthostachys diffusa* (Fernández, nepub.), *Achyrocline satureioides* (Taylor, 2005) (743,6 $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu), *Baccharis genistelloides* (Taylor, 2005) (667,7 $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu) a z rostliny *Azorella glabra* (Poblete, 1992) (249,2 $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu). Antioxidanty mají také svůj význam v rámci léčby respiračních onemocnění (Koblížek a kol., 2009). K léčbě dýchacích obtíží jsou užívány *Lepidium bipinnatifidum* (213,0 $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu) (Poblete, 1992), *Achyrocline satureioides* (Fernández, nepub.), *Cortaderia quila* (Poblete, 1992) (489,4 $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu), *Lepidophyllum quadrangulare* (Fernández, nepub.) (927,5 $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu), *Azorella glabra* (Poblete, 1992), *Calceolaria salicifolia* (Poblete, 1992) (680,6 $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu). Poškození buněk volnými radikály může vést ke vzniku (nejen) gynekologických zánětů, v krajním případě až potíží s početím (Holeček, 2006). Antioxidační účinky rostlin *Baccharis genistelloides*, *Cortaderia quila* a *Satureja ovata* (1373,2 $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu) by mohly mít význam v používání ohledně léčby gynekologických obtíží (Fernández, nepub.).

Studie z roku 2015 se zabývala antioxidačními vlastnostmi 18 etanolových extraktů léčivých etiopských rostlin. Byly testovány různé části těchto rostlin. Nejlepší výsledky v ORAC testu vykazovaly: listy *Jasminum abyssinicum* Hochst. ex DC (1023,7 $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu), listy

a větvičky *Rubus steudneri* Schweinf. (1206,5 µg TE/mg extraktu), kořeny *R. steudneri* (1019,2 µg TE/mg extraktu) a kořeny *Rumex nepalensis* Spreng. (1061,4 µg TE/mg extraktu) (Tauchen a kol., 2015). V provedeném experimentu v této práci vykazovala nejvyšší antioxidační aktivitu *S. ovata* (1373,2 µg TE/mg extraktu). Tento výsledek je úspěšnější než výsledky ve studii z roku 2015. S naměřenými hodnotami ve studii je také srovnatelná aktivita *L. quadrangulare* (927,5 µg TE/mg extraktu) a *M. diffusa* (804,3 µg TE/mg extraktu). U ostatních testovaných rostlin byly naměřené hodnoty nižší, ale to mohlo být ovlivněné tím, že u bolivijských rostlin byly testovány homogenní směsi. V tradičním léčitelství se z těchto rostlin používají převážně listy, a proto lze předpokládat, že nejvyšší obsah účinných látek je právě v nich. Na antioxidačních procesech se z velké části podílejí fenolické sloučeniny. Pro jejich stanovení je možné využít vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (Zheng a Wang, 2001). Na základě složení a množství těchto sloučenin v testovaných rostlinách, by se lépe vyhodnocovalo jejich působení proti volným radikálům a jejich případné využití v moderní medicíně.

Převedení získaných ORAC výsledků (z provedených testů v *in vitro* podmínkách) na dávkování pro lidský organismus je považováno za relevantní. Např. USDA vydalo prohlášení, že metabolické dráhy a funkce antioxidantů v organismu nejsou ještě zcela objasněny a že antioxidační molekuly v potravinách mají širokou škálu funkcí, z nichž mnohé nesouvisí se schopností absorbovat volné radikály. V důsledku toho byla v roce 2012 stažena databáze s hodnotami ORAC pro vybrané potraviny vydaná v roce 2010 touto institucí (USDA, 2016).

7. Závěr

Provedeným antimikrobiálním testováním se u dovezených tropických rostlin navzdory předpokladům nepotvrdila jejich antimikrobiální účinnost v takové míře, v jaké byla očekávána. U rostlin však byly potvrzeny antioxidační schopnosti. V obou případech bylo velkou nevýhodou neznalost chemického složení těchto rostlin. V případě znalosti obsažených účinných látek by bylo možné tyto látky izolovat a zaměřit se v experimentální části této práce na ověření jejich účinků. Co se týče převedení získaných výsledků do praxe, je obtížné určit případné účinky *in vivo* na základě *in vitro* testů. Navíc nejsou známy kompletní informace o dávkování a užíváním množství lékových forem v tradiční bolivijské medicíně. K testování byly použity homogenní směsi vzorků (kořeny, stonky, listy, květy), ale ve skutečnosti jsou z těchto rostlin využívány v tradiční medicíně pouze listy. Tento fakt mohl provedený experiment také ovlivnit.

Zpracování literární rešerše a následné hodnocení výsledků provázela skutečnost, že tyto rostliny nebyly doposud testovány v jakékoli publikované studii. Tuto práci tedy lze brát jako prvotní výzkum a v případě pokračování laboratorních testů se zaměřit na nedostatky a získat chybějící znalosti o užívání rostlin. Jak už bylo v této práci řečeno, rostliny využívané domorodými kulturami v tradičním léčitelství by mohly mít význam jako náhrada v současné době využívaných syntetických léků nebo dokonce i jako nová léčiva. Nezanedbatelným faktem je, že účinky léčivých rostlin jsou empiricky ověřeny domorodci. Jejich výzkum by tedy mohl být přínosný i vzhledem ke stále stoupající antimikrobiální rezistenci u populace lidí i zvířat.

8. Seznam použité literatury

- Abad, M. J. 2007. Baccharis (Compositae): a review update. *Arkivoc.* 76–96.
- Abrahámová, J. (eds.). 1999a. Všeobecná encyklopedie v osmi svazcích, 1. svazek. DIDEROT. Praha. 518 s. ISBN: 8090255531.
- Abrahámová, J. (eds.). 1999b. Všeobecná encyklopedie v osmi svazcích, 3. svazek. DIDEROT. Praha. 473 s. ISBN: 8090255558.
- Abrahámová, J. (eds.). 1999c. Všeobecná encyklopedie v osmi svazcích, 5. svazek. DIDEROT. Praha. 507 s. ISBN: 8090255574.
- Abrahámová, J. (eds.). 1999d. Všeobecná encyklopedie v osmi svazcích, 4. svazek. DIDEROT. Praha. 423 s. ISBN: 8090255566.
- Babis, D. 2014. The role of civil society organizations in the institutionalization of indigenous medicine in Bolivia. *Social Science & Medicine.* 123. 287–294.
- Bartoňová, M. J. 2014. Bakteriální onemocnění kůže v dětské ambulanci. *Pediatr. praxi.* 15 (4). 206–208.
- Bermejo, J. E. H., León, J. 1994. Neglected crops 1492 from a different perspective Neglected Crops 1942 from a different perspective. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Rome. 348 s. ISBN: 9251032173.
- Bhunja, A. K. 2008. Foodborne Microbial Pathogens. *Journal of Chemical Information and Modeling.* Vol. 53. Springer, Berlin. 276 s. ISBN: 9788578110796.
- Blažková, M., Karamonová, L., Fukal, L., Rauch, P. 2005. *Listeria monocytogenes* – Nebezpečný patogen a jeho detekce v potravinách. *Chem. Listy.* 467–473.
- Burnie, G. 2007. Botanika : ilustrovaný abecední atlas 10 000 zahradních rostlin s návodem, jak je pěstovat. *Sloart.* Praha. 1020 s. ISBN: 9788072099368.
- Bursová, Š., Dušková, M., Necedová, L., Karpíšková, R., Myšková, P. 2014. Mikrobiologické laboratorní metody. Ústav Hygieny a Technologie Mléka. Brno. 84.
- Clayton, W. D., Vorontsova, M. S., Harman, K. T., Williamson, H.. GrassBase - *Cortaderia araucana*. KEW [online]. 2016 [cit. 5. března 2016]. Dostupné z <<http://www.kew.org/data/grasses-db/www/imp02535.htm>>.

- ČT24. Obří bolivijské jezero nahradila poušť s vraky lodí. 5. února 2016 [cit. 13. února 2016]. Dostupné z <<http://www.ceskatelevize.cz/ct24/svet/1683454-obri-bolivijske-jezero-nahradila-poust-s-vraky-lodi>>.
- Edwin, G.. No. 3. Flora of Peru (Scrophulariaceae). Field Museum of Natural History. Chicago [online]. 280 s. 1971 [cit. 19. února 2016]. Dostupné z <<https://archive.org/details/floraofperufiedwi>>.
- Fernández, E. Ethnobotanical inventory of medici plants used in Qampaya distrikt, Bolivia. (v přípravě)
- Global Plants. *Micromeria ovata* Benth. 2016 [cit. 5. dubna 2016]. Dostupné z <<http://plants.jstor.org/compilation/Micromeria.ovata>>.
- Gurib-Fakim, A. 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. ELSEVIER. 27 (1). 1–93.
- Hauser, A. R. 2005. Těžké infekce vyvolané bakterií *Pseudomonas aeruginosa*. *MEDICAL TRIBUNE CZ* [online]. 21. března 2005 [cit. 27. února 2016]. Dostupné z <<http://www.tribune.cz/clanek/6992-tezke-infekce-vyvolane-bakterii-pseudomonas-aeruginosa>>.
- Holeček, V. 2006. Volné radikály, antioxidanty a jak dále? *Klinicka Biochemie a Metabolismus*. 14 (3). 140–145.
- Holeček, V. 2010. Oxidační stres u nádorových onemocnění. *Klinicka Biochemie a Metabolismus*. 18 (4). 225–230.
- Hoskovec, L.. *Parastrephia quadrangularis* (Meyen) Cabrera. 24. října 2015 [cit. 3. března 2016]. Dostupné z <<http://botany.cz/cs/parastrephia-quadrangularis/>>.
- Chopra, I., Roberts, M. 2001. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *ASM Journals*. 65 (2). 232–260.
- Kansas State University. Antioxidants aren't always good for you and can impair muscle function, study shows. *ScienceDaily* [online]. 28. ledna 2010 [cit. 21. února 2016]. Dostupné z <<https://www.sciencedaily.com/releases/2010/01/100126111957.htm>>.

- Kaper, J. B., Nataro, J. P., Mobley, H. L. T. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*. 2 (2). 123–140.
- Koblížek, V., Sedlák, V., Prachařová, Š. 2009. Mukoaktivní medikace u infekčních a zánětlivých onemocnění dýchacích cest. *Interní medicína pro praxi*. 11 (12). 539–543.
- Matoušovic, K. 2001. Nejčastější formy glomerulonefritidy, jejich diagnóza, prognóza a léčba. *Interní medicína pro praxi*. 294–298.
- MZ, SZÚ. Každý rok zemře v Evropě 25 tisíc lidí v důsledku infekce vyvolané bakterií rezistentní k antibiotikům. Ministerstvo zdravotnictví ČR [online]. 16. listopadu 2015 [cit. 13. února 2016]. Dostupné z <http://www.mzcr.cz/dokumenty/kazdy-rok-zemre-v-evrope-25-tisic-lidi-v-dusledku-infekce-vyvolane-bakterii-rezi_10980_1.html>.
- Netušil, P.. Bakteriální onemocnění [online]. 2. února 2012 [cit. 9. února 2016]. Dostupné z <<http://www.netusil.net/1A>>.
- Novák, J., Skalický, M. 2012. Botanika: cytologie, histologie, organologie, systematika. Ed. 3. Praha: Powerprint. 336 s. ISBN: 9788087415535.
- PAHO 2012. Bolivia. Health in the Americas. *Health in the Americas*. 113–128.
- Pánková, R. 2012. Komplexní léčba kandidóz. *Urologie pro praxi*. 13 (5). 209–212.
- Patwardhan, B. 2005. Ethnopharmacology and drug discovery. *Journal of Ethnopharmacology*. 100 (1-2). 50–52.
- Paulová, H., Bochořáková, H., Táborská, E. 2004. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chem. Listy*. 98 (4). 174–179.
- Pavelka, K. (eds.). 2005. Farmakoterapie revmatických onemocnění. Grada Publishing a.s. 434 s. ISBN: 8024704595. Dostupné také z <https://books.google.cz/books?id=pStK7QrAGuMC&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false>.
- Poblete, E. O. 1992. *Plantas Medicinales en Bolivia*. Los Amigos del Libro. 529 s. ISBN: 8483701898.
- Pooley, B., Ramirez, M., de Hilari, C. 2008. Bolivia's Health Reform: a response to improve access to obstetric care. *Primary Care*. 20 (3). 509–522.

- Quiroga, R., Meneses, L., Bussmann, R. W. 2012. Medicinal ethnobotany in Huacareta (Chuquisaca, Bolivia). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 8 (1). 29.
- Riedel, M. 2013. Revmatická horečka. *Kardiologická revue - Interní medicína*. 168–173.
- Rivera, A. M. A., Xu, K., Carrin, G. 2006. The Bolivian Health system and its impact on health care use and financial risk protection. WHO. 1–30.
- Rozsypal, H., Holub, M., Kosáková, M. 2013. *Infekční nemoci ve standardní a intenzivní péči*. Charles University in Prague, Karolinum Press. 396 s. ISBN: 8024621975. Dostupné také z https://books.google.cz/books?id=HFfJCQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.
- Sfeir, J., Lefrançois, C., Baudoux, D., Derbré, S., Licznar, P. 2013. In vitro antibacterial activity of essential oils against streptococcus pyogenes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 10s.
- Schmidt-Lebuhn, A. N. 2008. Ethnobotany, biochemistry and pharmacology of *Minthostachys* (Lamiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 118 (3). 343–353.
- Soejarto, D. D. (eds.). 2005. Ethnobotany/ethnopharmacology and mass bioprospecting: Issues on intellectual property and benefit-sharing. *Journal of Ethnopharmacology*. 100 (1-2). 15–22.
- Šturma, J.. Antibiotická rezistence u lidí i u zvířat je stále větším zdravotním problémem. Ministerstvo zdravotnictví ČR [online]. 19. listopadu 2012 [cit. 13. února 2016]. Dostupné z http://www.mzcr.cz/dokumenty/antibioticka-rezistence-u-lidi-i-u-zvirat-je-stale-vetsim-zdravotnim-problemem_7015_2501_1.html.
- Tauchen, J. (eds.). 2015. In vitro antioxidant and anti-proliferative activity of Ethiopian medicinal plant extracts. *Industrial Crops and Products*. 74 . 671–679.
- Taylor, L. 2005. *The Healing Power of Rainforest Herbs: A Guide to Understanding and Using Herbal Medicinals*. Square One Publishers. New York. 528 s. ISBN: 0-7570-0144-0.
- Tropicos. *Lepidium bipinnatifidum* Desv. 2016a [cit. 28. února 2016]. Dostupné z <http://www.tropicos.org/Name/4101551?projectid=13>.

- Tropicos. *Minthostachys diffusa* Epling. 2016b [cit. 28. února 2016]. Dostupné z <<http://www.tropicos.org/Name/50120054?projectid=13>>.
- Tropicos. *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. 2016c [cit. 5. března 2016]. Dostupné z <<http://www.tropicos.org/Name/2717100?projectid=13>>.
- USDA. Nutrient Data: Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of Selected Foods. 22. ledna 2016 [cit. 21. února 2016]. Dostupné z <<http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=15866>>.
- Vagionas, K., Graikou, K., Ngassapa, O., Runyoro, D., Chinou, I. 2007. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of three *Satureja* species growing in Tanzania. *Food Chemistry*. 103 (2). 319–324.
- Valíček, P. (eds.). 2002. *Užitkové rostliny tropů a subtropů*. Academia. 486 s. ISBN: 8020009396.
- Volf, K., Andrs, F. 2011. *Flavonoidy a jejich biologické působení*. Juwital. 216 s.
- WHO 2015. Bolivia (Plurinational State of): WHO statistical profil. 3s.
- Wikimedia. Bolivia Departments. 2014 [cit. 10. února 2016]. Dostupné z <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cf/Bolivia_Departments.png>.
- Zheng, W., Wang, S. Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49 (11). 18.
- Žemličková, H. Evropský antibiotický den 2015. SZÚ. 16. listopadu 2015 [online]. 19. listopadu 2012 [cit. 17. února 2016]. Dostupné z <<http://www.szu.cz/eaad-2015>>.

9. Seznam použitých zkratk

ČZU – Česká zemědělská univerzita v Praze

FTZ – Fakulta tropického zemědělství

USDA – United States Department of Agriculture

WHO – World Health Organization