

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmakognozie

Diplomová práce

Farmaceuticky perspektivní látky z chráněných druhů rostlin

Vedoucí katedry: Doc. RNDr. Jaroslav Dušek, CSc.

Vedoucí práce: Mgr. Jan Martin, Ph.D.

Oponent:

Zadáno: 30. 11. 2005

Odevzdáno: 15. 5. 2007

Datum obhajoby:

Hradec Králové 2006 / 2007

Kateřina Macháčná

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně pod odborným vedením mého školitele a použila pouze uvedenou literaturu.

V Hradci Králové, 15. 5. 2007

.....

Mé poděkování za pomoc při zpracování této práce, odborné vedení a za trpělivost patří Mgr. Janu Martinovi, Ph.D.. Mému manželovi Michalovi děkuji za všechno ostatní a ještě mnohem víc....

OBSAH

1. ÚVOD.....	6
2. CÍL PRÁCE.....	7
3. METODIKA PRÁCE.....	8
4. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	9
5. TEORETICKÁ ČÁST.....	10
5.1 RHODIOLA ROSEA.....	10
5.1.1 OBECNÉ CHARAKTERISTIKY	
5.1.2 VYUŽITÍ	
5.1.3 LIDOVÉ LÉČITELSTVÍ	
5.1.4 OBSAHOVÉ LÁTKY, JEJICH IDENTIFIKACE A STANOVENÍ	
5.1.5 PRODUKCE SEKUNDÁRNÍCH METABOLITŮ	
5.1.6 POTENCIÁLNÍ LÉČEBNÉ ÚČINKY	
5.2 NUPHAR PUMILA.....	31
5.2.1 OBECNÉ CHARAKTERISTIKY	
5.2.2 UŽITÍ V LIDOVÉ MEDICÍNĚ A DALŠÍ POUŽITÍ	
5.2.3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ A SYNTÉZA SLOŽEK	
5.2.4 ÚČINKY	
5.3 HUPERZIA SELAGO.....	38
5.3.1 OBECNÉ CHARAKTERISTIKY	
5.3.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ A SYNTÉZA SLOŽEK	
5.3.3 ÚČINKY A VYUŽITÍ	
5.3.4 NOVÉ TECHNOLOGIE PŘÍPRAVY	
5.3.5 HUPERZIN B	
5.4 LASER TRILOBUM.....	52
5.4.1 OBECNÉ CHARAKTERISTIKY	
5.4.2 SLOŽENÍ	
5.4.3 ÚČINKY	
5.5 VERATRUM ALBUM ET VERATRUM NIGRUM.....	57
5.5.1 OBECNÉ CHARAKTERISTIKY	
5.5.2 UŽITÍ V LIDOVÉ MEDICÍNĚ A DALŠÍ POUŽITÍ	
5.5.3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ	
5.5.4. ÚČINKY	
5.5.4.1 ÚČINKY VERATRUM ALBUM	

5.5.4.2 ÚČINKY VERATRUM NIGRUM	
5.6 PŘEHLED CHRÁNĚNÝCH DRUHŮ ROSTLIN POTENCIÁLNĚ VYUŽITELNÝCH VE FARMACII	71
6. DISKUSE.....	76
7. ZÁVĚR.....	78
8. POUŽITÁ LITERATURA A ZDROJE.....	79
8.1 RHODIOLA ROSEA	
8.2 NUPHAR PUMILA	
8.3 HUPERZIA SELAGO	
8.4 LASER TRILOBUM	
8.5 VERATRUM ALBUM ET NIGRUM	
9. PŘÍLOHY	87

1. ÚVOD

V dnešní době – době informační a vědecké revoluce - graduje výzkum ve všech vědních oborech a ani farmacie a medicína nezůstávají pozadu. Hledají se a nacházejí stále nové technologie, nové souvislosti, naskýtají se stále další a další otázky, na které se současná věda snaží odpovědět, a požadavky, kterým se snaží vyhovět.

Ve farmacii se věnuje velká pozornost objevování nových chemických struktur – potenciálních léčivých látek, hledají se látky se zcela novým a ojedinělým mechanismem účinku, které by opět posunuly hranice lidského vědění a možností léčení nemocí.

Farmacie se jako mnoho dalších odvětví také obrací k přírodě, kde hledá a mnohdy nachází inspiraci. Rostliny byly k léčení využívány už od dob prehistorických a význam léčivých rostlin nezanikl ani v éře syntetických léčiv. Lze tedy předpokládat, že v rostlinách je ukryto mnoho nám stále ještě neznámých jedinečných látek a rostlinných metabolitů, které by mohly výrazně usnadnit snahu člověka léčit lépe nemoci, které lidské tělo sužují.

Tato práce se snaží zachytit současný stupeň lidského poznání v oblasti využití rostlin jako zdrojů léčivých látek.

Nebezpečím pro budoucnost je vymizení některých dnes již ohrožených druhů rostlin, a tím i riziko ztráty mnohdy neopakovatelných molekulárních struktur. Proto byly jako cílová skupina této práce vybrány zákonem chráněné rostliny.

2. CÍL PRÁCE

Cílem této diplomov práce bylo zpracovat formou rešerše literární prehled o chráněných druzích rostlin s potenciálním významem pro farmacii a vytipovat ty ohrožen rostlinné druhy, které obsahují jedinečn a jinde se nevyskytující látky a navrhnout způsob jejich záchrany.

3. METODIKA PRÁCE

Zpracování této diplomové práce lze rozdělit do tří etap. V první etapě jsem provedla jakýsi „screening“ všech zvláště chráněných druhů rostlin uvedených v Příloze II vyhlášky č.395/1992 Sb. k zákonu č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny (viz kapitola 9. „Přílohy“), a vyhledávala jsem informace týkající se obsahu zajímavých sekundárních metabolitů v rostlinách, či případných klinických studií nebo medicínského využití těchto rostlin či jejich obsahových látek.

Při tomto prvním „hledání“ jsem využívala internetovou databázi Sciencedirect.

Na základě výsledků první etapy jsme společně s mým vedoucím diplomové práce vytypovali užší skupinu rostlin, a o těchto druzích jsem se snažila vyhledat co největší množství informací na internetu. Používala jsem tyto abstraktové a fulltextové internetové databáze: www.infozdroje.cz, Sciencedirect, Web Of Science, Web Of Knowledge, Ebsco Eifl a Proquest.

Protože se rozsah a objem informací u jednotlivých druhů diametrálně lišil, vybrala jsem ve třetí etapě pouze šest nejzajímavějších druhů a věnovala jim vlastní kapitoly. Při zpracování těchto kapitol jsem navíc použila i knihy uvedené v kapitole 8. „Použitá literatura a zdroje“ a internetové vyhledávače Google a Seznam. Pro přehlednost jsem zvolila citování jednotlivých zdrojů ke každé kapitole zvlášť.

Rostlinné druhy, které samostatné kapitoly nemají a přesto jsou z hlediska obsahových látek významné, anebo mají potenciální význam v klinické praxi, jsou vyjmenovány v kapitole 5.6 „Přehled chráněných druhů rostlin potenciálně využitelných ve farmacii“.

Pro úplnost je součástí práce i Příloha II vyhlášky č. 395/1992 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona ČNR č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny (viz. kapitola 9. „Přílohy“).

4. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

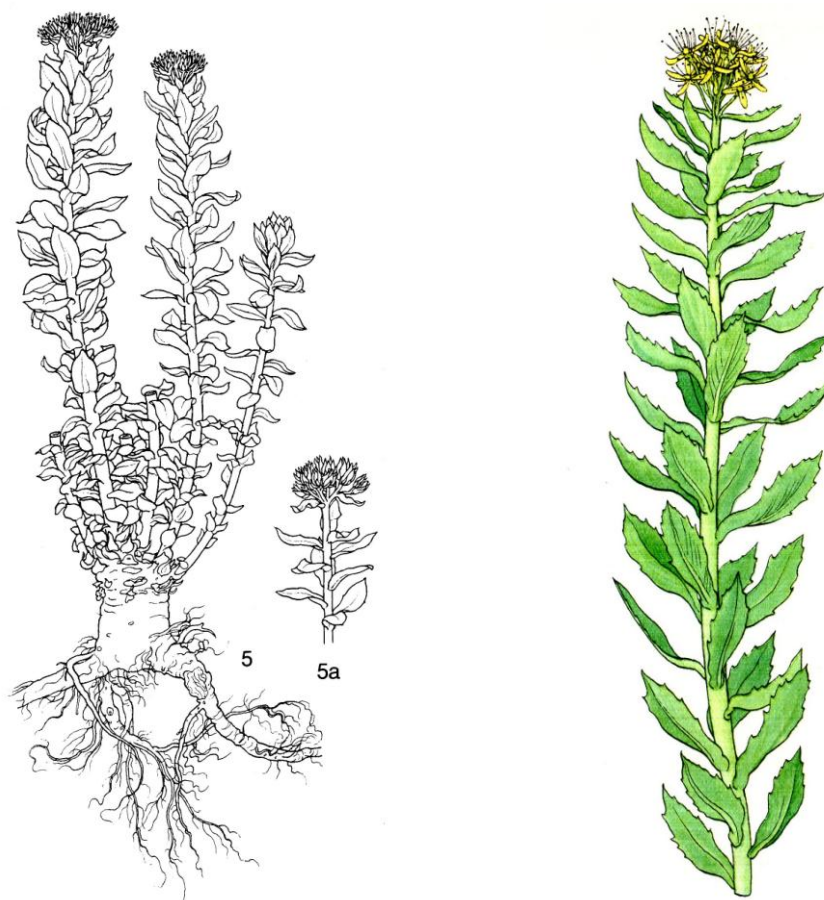
ACE	angiotenzinkonvertáza
ACh	acetylcholin
AChE	acetylcholinesteráza
AN	Alzheimerova nemoc
APCI	chemická ionizace za atmosférického tlaku
ATP	adenozintrifosfát
BChE	butyrylcholinesteráza
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
DM	diabetes mellitus
DNA	deoxyribonukleová kyseliny
HA	huperzin A
HB	huperzin B
HPLC	vysoce účinná kapalinová chromatografie
LT	Laser trilobum
MS	hmotnostní spektrometrie
NMR	nukleární magnetická rezonance
NP	Nuphar pumila
QOL	kvalita života
RR	Rhodiola rosea
SERCA	sarkoplazmatická vápníková ATPáza
VA	Veratrum album
VB	Veratrum nigrum

5. TEORETICKÁ ČÁST

5.1 RHODIOLA ROSEA L. – ROZCHODNICE RŮŽOVÁ

Čeleď: *Crassulaceae* - Tlusticovité

Synonyma: *Sedum roseum*, *Sedum rhodiola* – rozchodník růžový, „zlatý kořen“



Obr. 1: 5 *Rhodiola rosea* samčí rostlina, 5a květenství samičí rostliny⁽¹⁾; bar. nákres *Rhodiola rosea*⁽⁶⁵⁾

5.1.1 OBECNÉ CHARAKTERISTIKY

5.1.1.1 STUPEŇ OCHRANY

Podle Přílohy II vyhl. č. 395/1992 Sb. je rostlina prohlášena za druh kriticky ohrožený.

5.1.1.2 POPIS ROSTLINY

Dvoudomá, statná, ojiněná bylina, jejíž nadzemní bylinné výhonky každoročně odumírají.⁽⁴⁾ Oddenek je válcovitý, dužnatý, růžový, vonný, na povrchu s četnými jizvami a s přitisklými, trojúhelníkovitými suchomázdřítými šupinami; vrchol nadzemní, nesoucí přezimující pupeny (červené či zelené). Lodyhy jsou dužnaté, přímé, hustě olistěné, 10 – 35 cm vysoké. Listy kopinaté a eliptické, 1 – 3 cm dlouhé⁽¹⁾ (dolní listy jsou menší než střední a horní)⁽³⁾, přisedlé klínovitou bází, na okraji nepravidelně zubaté nebo vykrajované, modrozelené. Květenství vrcholičnaté, husté, ploché⁽¹⁾, raší obvykle ve třetím nebo čtvrtém roce života rostliny.⁽⁴⁾ Květy jsou jednopohlavné, zcela výjimečně oboupohlavné, čtyřčetné, vzácně tříčetné nebo pětičetné; kališní lístky kopinaté, na bázi srostlé; korunní lístky samčích květů podlouhlé, 3 – 4 mm dlouhé, žluté, často červeně naběhlé; s 8 tyčinkami ve 2 kruzích, poněkud delšími než koruna; gyneceum redukované na 2 – 4 neúplně vyvinuté pestíky. Samičí květy mají korunní lístky podlouhlé, sotva 2 mm dlouhé, žlutavé, často silně redukované nebo chybějí; tyčinky nevyvinuté; pestíky 4, červené, čnělka krátká.⁽¹⁾ Kvete v červnu až srpnu.⁽²⁾ Plodem jsou měchýřky ± válcovité, 6 – 12 mm dlouhé, červenohnědé. Semena 1,0 – 1,5 mm dlouhá. Kvete v červnu až srpnu.

5.1.1.3 EKOLOGIE, VÝSKYT A ROZŠÍŘENÍ

Ekologie a cenologie: Vlhké skalní štěrby a sutě, zpravidla na bazických podkladech.⁽¹⁾ Často na březích horských potoků.⁽²⁾ Druhotně osídluje hromady kamení a kamenné terásky. Ve společenstvech svazu *Agrostion alpinae*, v Jeseníkách s optimem výskytu v asociaci *Saxifraga paniculatae-Agrostietum alpinae*.⁽¹⁾ Při horní hranici rozšíření (kolem 2 400 m n. m.) bývá často neplodná.⁽³⁾

Rozšíření v ČR: Pouze v oreofytiku v Krkonoších (Kotelné jámy a zplaněle Friesovy boudy) a v Hrubém Jeseníku (Tabulové kameny pod Pradědem; Velká kotlina; Červená hora; dříve snad i jinde), převážně v karech. V Krkonoších byla na původních lokalitách v minulosti intenzivním sběrem téměř vyhubena, a naopak uměle přenesena na další lokality, kde zplaněla. V subalpínském stupni a v karech, druhotně i v supramontánním stupni (min.: Modrý důl v Krkonoších †, 1 100 m,

druhotně; Čertova zahrádka v Krkonoších †, 1 100 m; max.: Velká kotlina v Jeseníkách, 1 350 m).⁽¹⁾

Celkové rozšíření: Je to cirkumpolární druh, hojný v arktické a subarktické oblasti Evropy, Asie (Sibiř, Mongolsko, Dálný Východ, severní Čína, Korea, Japonsko) a Severní Ameriky (severovýchodní část USA a Kanady). Jižněji se vyskytuje ještě na britských ostrovech, v Pyrenejích, Alpách, Vogézách, Sudetech, Apeninách, Schwarzwaldu a v horách severní části Balkánského poloostrova.^{(1), (3)}

5.1.2 VYUŽITÍ

Po různých vonících oddenek byl dříve intenzívně sbírán jako léčivý a magický prostředek.⁽¹⁾ Dříve se používal proti bolestem hlavy.⁽³⁾ V minulosti se z něj připravovala „růžová voda chudiny“. V Grónsku se listy konzumují po celý rok jako salát.⁽⁶⁾ V současnosti je u nás výjimečně pěstována na skalkách.⁽¹⁾ Popel ze spálené rhodiolové natě se užívá jako výborné hnojivo pro domácí rostliny a čaj z této natě je údajně nejlepším zálivkovým prostředkem, aby se rostlinám v kořenáči dařilo a aby voněly.⁽⁴⁾

5.1.3 LIDOVÉ LÉČITELSTVÍ

Drogou je kořen (*Radix rhodiolae*), sbíraný třetího roku na podzim. Dosahuje hmotnosti od 50 do 200 g.⁽⁴⁾

Již Dr. Petr Ondřej Mathioli upozorňuje na „růžový kořen“: „Tento kořen má smíšené kvality. Částečně je horký, vlhký, také trochu suchý a studený, jak to vyjadřuje jeho růžová vůně a chuť. Má také části pronikavé, prostupující a moc rozhánějící. Když je tento kořen starý a dobře suchý, tu podobá se podobou i chutí cizokrajnému kořenu chinovému.

Kořen růžový se chválí proti bolestem hlavy, z příčin horkých nebo studených. Pochází-li bolest z horkosti, utlouká se kořen, rozdělává s vodou růžovou a jím potírá se čelo a spánky, anebo přikládají se lněné šátky v této vodě namočené. Pakliže

nemoc pochází ze studenosti, utlouká se kořen s vodou majoránkovou a užívá se stejným způsobem. Čichání k růžovému kořenu posiluje nervy.“⁽⁵⁾

Rhodiola rosea (dále RR) byla užívána po staletí v Rusku, Skandinávii i na Islandu. Vikingové ji používali pro zvýšení vytrvalosti.⁽²⁷⁾

Nejčastěji doporučovanou lékovou formou je tinktura, obvyklé dávkování je 2 až 3 krát denně 20 až 25 kapek, maximální 30 až 35 kapek. Doba léčby je 3 až 4 týdny. V Rusku je k dostání tekutý zahuštěný extrakt, jehož dávkování se pohybuje v rozmezí kolem 5 až 10 kapek pro jednu dávku.⁽⁴⁾

5.1.4 OBSAHOVÉ LÁTKY, JEJICH IDENTIFIKACE A STANOVENÍ

Obsahuje fenolické glykosidy, z nichž nejdůležitější je salidroside (syn. rhodiololide), dále flavonoidy, sloučeniny odvozené od oktadienu, monoterpeny, steroly, kyseliny gallovou a kávovou, silice, kyseliny citronovou, vinnou, šťavelovou, jantarovou a fumarovou, z mikroelementů pak především mangan.⁽⁴⁾

Z vodného methanolického extraktu byly izolovány sekundární metabolity tyrosol, salidroside (rhodiololide), rosin, rosarin, rosavin, sachalid 1 a 4-methoxy-cinnamyl-O- β -D-glukopyranosid, a pomocí metod UV, MS a NMR i identifikovány čtyři další složky: cinnamyl-(6'-O- β -xylopyranosyl)-O- β -glukopyranosid, 4-methoxy-cinnamyl-(6'-O- α -arabino-pyranosyl)-O- β -glukopyranosid, picein a benzyl-O- β -glukopyranosid⁽⁷⁾, z bioaktivní frakce 95 % ethanolického extraktu ze stonku RR byly dále izolovány: gossypetin-7-O-L-rhamnopyranosid, rhodioflavonosid, kyselina gallová, trans-p-hydroxycinnamová kyselina a p-tyrosol. Jejich struktury byly stanoveny pomocí UV, IR, MS a NMR i přímým srovnáním s literaturou.⁽²¹⁾

Z methanolického extraktu kořene RR byl izolován společně se známými složkami lotaustralin, rosiridin a β -sitosterol. Struktura lotaustralinu byla stanovena pomocí 1D a 2D-NMR spektroskopie.⁽⁹⁾

Nově byl z kalusu a rostlinných extraktů v jednom chromatografickém běhu metodou kombinace kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií kromě některých výše zmíněných složek stanoven také rosiridin.⁽¹⁰⁾

Kořen obsahuje významné množství veškerých fenolů (cca 153 mg/g extrahujících se složek).⁽²⁰⁾

Z kořenů RR bylo izolováno pět nových monoterpenoidních glykosidů - salidrosidů A-E. Na bázi různých spektroskopických analýz a chemických rozkladů byly jejich struktury objasněny jako: (2E,6E,4R)-4,8-dihydroxy-3,7-dimethyl-2,6-oktadienyl β -D-glukopyranosid; (2E,4R)-4-hydroxy-3,7-dimethyl-2,6-oktadienyl α -D-glukopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glukopyranosid; (2E,4R)-4-hydroxy-3,7-dimethyl-2,6-oktadienyl β -D-glukopyranosyl(1 \rightarrow 3)- β -D-glukopyranosid; (2E,4R)-4,7-dihydroxy-3,7-dimethyl-2-oktenyl β -D-glukopyranosid a (2E)-7-hydroxy-3,7-dimethyl-2-oktenyl α -L-arabinopyranosyl(1 \rightarrow 6)- β -D-glukopyranosid.⁽⁸⁾

Z rhizomů RR byly izolovány terpeny a aromatické prchavé látky. Suché rhizomy obsahují 0,04 - 0,05 % silic složených z těchto skupin látek: monoterpenoidní uhlovodíky (25.40 %), monoterpenoidní alkoholy (23.61 %) a lineární alifatické alkoholy (37.54 %). Nejčastější prchavé vonné látky detekované v silici byly myrtenol, trans-pinocarveol, dihydrocumin alkohol, n-dekanol, geraniol a 1,4-p-menthadien-7-ol. Jako nejdůležitější složka způsobující růžovou vůni byl stanoven geraniol, dále pak geranyl formát, geranyl acetát, linalool a jeho oxidy, nonanal, dekanal, nerol, cinnamyl alkohol, benzyl alkohol a fenylethyl alkohol.^{(18), (19)}

Bylo vytvořeno množství metod, které mají napomáhat izolaci, identifikaci a stanovení jednotlivých složek, často několika najednou:

- pro identifikaci a kvantitativní stanovení dvou farmaceuticky aktivních látek – kyseliny gallové a salidrosidu - v extraktu kořene RR a léčivých přípravcích obsahujících RR byla vynalezena nová, jednoduchá a rychlá metoda – kapilární elektroforéza.⁽¹¹⁾
- byla vyvinuta HPLC, která umožnila stanovit simultánně salidrosid a tyrosol v RR. Obsah salidrosidu ve vzorcích sebraných z různých částí Číny byl od 1,3 do 11,1 mg/g, obsah tyrosolu od 0,3 do 2,2 mg/g.⁽¹³⁾
- za účelem stanovení pěti farmakologicky aktivních složek z extraktu *Rhodioly* (salidrosidu, tyrosolu, rhodioninu, kyseliny gallové a ethylgallátu) byla vynalezena rychlá a citlivá metoda - kombinace kapalínové chromatografie, chemické ionizace za atmosférického tlaku a hmotnostní spektrometrie (HPLC – APCI –

MS). Bylo zjištěno, že množství farmakologicky aktivních složek se liší podle druhu *Rhodioly*.⁽¹²⁾

- metoda HPLC pro simultánní stanovení 5 hlavních složek: salidroside, rosarinu, rosavinu, rosinu a rosiridinu.⁽¹⁴⁾
- metodou kombinace kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie byly identifikovány z nadzemní části RR jako hlavní složky flavonoidy a nebyly detekovány žádné fenylpropanové deriváty. Z 15 detekovaných flavonoidů bylo 10 dříve neznámých.⁽¹⁵⁾

Ve třech druzích (*Rhodiola rosea*, *R. heterodonta* a *R. semenovii*) byly izolovány a identifikovány tři hlavní fytochemické skupiny - fenolické a cyanogenní glykosidy a proanthocyanidiny. Bylo zjištěno, že v mnoha rysech je složení stejné, ale byly nalezeny i rozdíly ve fytochemických složkách. *R. heterodonta* obsahuje nově detekované fenylethanoidní glykosidy, zatímco oba další druhy – *R. heterodonta* a *R. rosea* – obsahují fenylethanoidní a propanoidní složky. Ačkoliv tyto tři druhy mají společné proanthocyanidiny složené z (-)-epigallocatechinu a jeho 3-O-gallát esterů, stupeň polymerizace se mezi nimi významně liší. V kontrastu k *R. heterodonta* a *R. semenovii* má *R. rosea* vysokou molekulovou hmotnost polymerních proanthocyanidinů.⁽¹⁷⁾

5.1.5 PRODUKCE SEKUNDÁRNÍCH METABOLITŮ

Několik studií se zabývalo možností, jak ovlivnit syntézu některých sekundárních metabolitů:

- bylo navrženo schéma syntézy glykosidu rosavinu, které zahrnuje jedнокrokovou glykosylaci cinnamyl alkoholu disacharidem. Struktura produktu byla potvrzena PMR a C-13 NMR spektroskopii.⁽²²⁾
- v další práci bylo izolováno 5 druhů mikroorganismů z půdy v okolí kořene rostliny a byla testována jejich katalytická aktivita na syntézu salidroside z D-glukózy a tyrosolu. *Aspergillus oryzae* má schopnost katalyzovat syntézu salidroside z D-glukózy a tyrosolu. V optimálních podmínkách (koncentrace tyrosolu 5 g/l, reakční čas 48 hodin, koncentrace buněk 150 g/l, 30°C a pH 7) je produkce

salidrosidu až 0,7 g/l. Pokud je koncentrace tyrosolu v médiu větší než 5 g/l, buněčný růst a syntéza salidrosidu jsou inhibovány. Salidrosid je nacházen pouze uvnitř buněk.⁽²³⁾

Několik studií se zabývalo pěstováním RR v kultuře a případným ovlivněním produkovaných metabolitů:

- v kalusové kultuře RR nejsou produkovány žádné sekundární metabolity. Po přidání cinnamyl alkoholu do média započala produkce cinnamyl glykosidů. Ve velkém množství byl produkován rosin, jeho obsah ve zpracovaném kalusu převyšoval tři- až šestinásobně obsah rosinu ve volně rostoucích rostlinách. Rosavin byl tvořen pouze ve stopovém množství. Při analýze byly identifikovány i čtyři nové neočekávané biotransformační produkty cinnamyl alkoholu.^{(24), (25)}
- v další studii byl sledován růst a vývoj RR na několika stanovištích – z volné přírody, v polních podmínkách a v umělých podmínkách. Pomocí ukazatelů růstu a vývoje bylo prokázáno, že rostliny, které rostly po dobu 135 – 137 dní v ideálních umělých podmínkách, předstihly 3-leté rostliny ve volné přírodě a 1 - 1,5 roku staré rostliny pěstované na polním stanovišti. V umělých podmínkách začalo kvést v 75. až 77. dni po vyklíčení 35 % všech rostlin ve studii. Obsah salidrosidu v rhizomech 135-137denních rostlin činil 0,4 – 0,6 % suché váhy. Pokračující kultivací v těchto umělých podmínkách na 245 dnů vzrostla váha rhizomů 4,5násobně vzhledem k 135-137denním rostlinám, a koncentrace salidrosidu dosáhla 1,2 %, tj. úroveň odpovídající maximu tohoto glykosidu v rostlinách rostoucích v přírodě a přesáhla 1,5 – 3x obsah zjištěný v rostlinách pěstovaných v polních podmínkách. Některé faktory v umělých podmínkách zjevně napomáhají koncentraci salidrosidu v 245denních rostlinách (např. zvýšený růst, absence klidové periody a perioda snížených teplot).⁽²⁶⁾

5.1.6 POTENCIÁLNÍ LÉČEBNÉ ÚČINKY

Rhodiola rosea působí jako adaptogen, to znamená, že chrání organismus proti stresu. Zde předčí dokonce i žen šen. Droga zlepšuje a urychluje rekonvalescenci po těžkých chorobách a chirurgických zákrocích, odstraňuje únavu, stimuluje

imunitní systém, zlepšuje paměť, odstraňuje předrážděnost a tlumí psychogenní bolesti hlavy. Na muže působí při delším podávání jako afrodiziakum. Dále snižuje hladinu krevního cukru, chrání jaterní parenchym a působí detoxikačně. Je tuberkulostatická a také mírně aktivizuje činnost štítné žlázy. Osvědčila se proti parkinsonickému stresu. Zlepšuje sluch, zvláště u lidí vystavených hluku. Může sloužit i jako výborné profylaktikum u zdravých lidí, kteří jsou vystaveni velké psychické zátěži.⁽⁴⁾

Droga má pověst stimulantu nervového systému, snižuje depresi, zvyšuje pracovní výkon, eliminuje únavu a má preventivní účinky proti velkému množství chorob. RR byla ruskými vědci zařazena jako adaptogen na podkladě pozorované schopnosti zvyšovat odolnost vůči různým chemickým, biologickým i fyzikálním stresujícím faktorům. Její žádoucí vlastnosti zahrnují antidepresivní, antirakovinné a kardioprotektivní účinky. Také má pozitivní vliv na CNS. Výzkum též prokázal velkou účinnost na astenické obtíže (úpadek pracovního výkonu, spánkové obtíže, snížená chuť k jídlu, podrážděnost, hypertenze, bolest hlavy a únava) následující po intenzivním fyzickém nebo intelektuálním vypětí. Adaptogenní, kardiopulmonálněprotektivní a CNS aktivující účinky RR jsou primárně přisuzovány její schopnosti ovlivňovat hladiny a aktivity monoaminů (normalizuje mozkové neurotransmitery jako serotonin, noradrenalin a dopamin) a opioidních peptidů jako jsou β -endorfiny.^{(29), (30), (31), (36)}

Toxicita drogy je zanedbatelná, starší lidé na ni reagují velmi příznivě, a proto je vhodná i pro použití v geriatrici. Předávkování přináší podrážděnost, excitaci, neklid, v těžších případech až stavy paniky a zmatenosti. Dlouhodobá stimulace *Rhodiola* je nevhodná, lék by neměl být podáván nepřetržitě déle než 6 týdnů. Drogu podáváme zásadně samostatně nebo ve směsi tinktur s eleuterokokem nebo jinou adaptogenní drogou. V těhotenství a při kojení je pokládána léčba *Rhodiola* za nevhodnou.⁽⁴⁾

Dávkování je doporučováno v množství od 200 do 400 mg denně, rozděleno do dvou dávek. Úprava dávkování však musí být založena na potřebách a reakcích pacienta. Pokud je *Rhodiola* užívána ve vysokých dávkách (1 500 – 2 000 mg/den), způsobuje u některých lidí podráždění a nespavost.⁽³¹⁾

Byla provedena studie věnovaná efektu jednodávkového podání alkoholového extraktu RR (obsahující 3 % rosavinu a 1 % salidroside) na CNS u myši. Extrakt byl testován z hlediska antidepresivních, adaptogenních, anxiolytických, nociceptivních a lokomočních účinků v dávkách 10, 15 a 20 mg/kg s použitím oblíbených reakčních testů na zvířecích modelech. Výsledky ukazují, že extrakt RR u myši významně indukuje antidepresivní, adaptogenní, anxiolytické a stimulační účinky nezávisle na dávce. Tato studie zároveň obstarala důkazy o efektivitě extraktu RR po jednotlivém podání a potvrdila množství preklinických a klinických studií uvádějících adaptogenní a stimulační efekty RR.⁽³⁷⁾

Současný výzkum u zvířat ukazuje, že RR snižuje hladinu stresového hormonu kortisonu a zároveň optimalizuje hladinu klíčových mozkových neurotransmiterů týkajících se nálady. To také evokuje zvýšenou syntézu ATP, kterou buňky potřebují k produkci energie.⁽²⁷⁾

Hlavní složky, kterým jsou připisovány adaptogenní vlastnosti RR jsou známy společně jako rosaviny, salidroside⁽³¹⁾ a p-tyrosol.⁽³⁸⁾ Nejvíce humánních klinických studií používá extrakty, které jsou standardizovány min. 3% rosavinů a 0,8 – 1,0 % salidrosideů. V preparátech s RR je většinou obsah rosavinů a salidrosideů v poměru 3 : 1.

5.1.6.1 ADAPTOGENNÍ ÚČINKY A ÚČINKY NA CNS

RR byla též objektem intenzivního výzkumu v někdejším Sovětském svazu, protože byla používána ke zvýšení výkonu u atletů, vojáků a kosmonautů. Bylo zjištěno, že psychiatrické účinky pravděpodobně odpovídají vzrůstu hladin dopaminu, serotoninu a noradrenalinu v mozku a způsobují zlepšení paměti a mentálních schopností a všeobecný uklidňující efekt. Výsledky otevřených studií napovídají, že RR v dávce 500 mg/den zlepšuje duševní výkonnost a vitalitu u zdravých lidí a může urychlit návrat k normálním poznávacím funkcím po zranění mozku. Tyto výsledky naznačují možné použití RR i u pacientů s těžkou demencí, zatím ale nebyly žádné studie týkající se použití u této skupiny pacientů provedeny.⁽²⁸⁾

V poslední době byly publikovány zajímavé výzkumy ukazující po užití RR zlepšený výkon u studentů medicíny během zkoušek a u doktorů v nočních službách.⁽²⁷⁾

Cílem jedné ze studií bylo zkoumat efekt opakovaně podávaných nízkých dávek standardizovaného extraktu SHR-5 z rhizomů RR (registrovaná obchodní značka) na únavu během noční směny u skupiny 56 mladých, zdravých lékařů. Efekt byl hodnocen jako celkový mentální výkon počítaný jako Únavový index. Testy byly zvolené tak, aby odrážely celkovou hladinu mentální únavy, zahrnující komplex vnímavých a poznávacích mozkových funkcí, jako asociativní myšlení, krátkodobou paměť, uvažování a schopnost koncentrace a rychlost audio-vizuálního vnímání. Tyto parametry byly testovány před a po noční směně během tří dvoutýdenních period. Již dříve zmíněné poznávací a vnímavé mozkové funkce byly zkoumány s použitím pěti různých testů. Statisticky významné zlepšení v těchto testech bylo pozorováno ve skupině léčené extraktem RR během první dvoutýdenní periody. Při žádném ze způsobů léčení nebyl pozorován jakýkoliv vedlejší efekt. Výsledky napovídají, že extrakt RR je schopen redukovat všeobecnou únavu v určitých stresujících podmínkách.⁽³²⁾

Další - randomizovaná, dvojitě slepá, placebem kontrolovaná - klinická studie s paralelními skupinami a zvláštní neléčenou skupinou provedla měření efektu jednotlivé dávky standardizovaného SHR-5 RR extraktu na kapacitu mentální práce na pozadí únavy a stresu. Přídatným cílem bylo zkoumání možných rozdílů mezi dvěma dávkami, velikost jedné dávky byla odvozena na základě předchozích léčebných užití jako psychostimulans a adaptogen, další dávka byla o 50 % vyšší. Byly také měřeny některé fyziologické parametry např. rychlost tepu, systolický a diastolický tlak. Studie byla provedena na vysoce uniformí populaci zahrnující 161 kadetů od 19 do 21 let. Studie prokázala vysloveně protiúnavový efekt reflektovaný jako protiúnavový index definovaný jako poměr zvaný AFI. Statisticky byly vysoce průkazné hodnoty po podání jedné dávky v porovnání s placebem, zatímco mezi dvoudávkovými skupinami nebyly prokázány žádné rozdíly. To naznačuje možné použití nižších dávek v psychometrických testech.⁽³³⁾

Též byla provedena zkouška porovnávající 180 elitních ruských kadetů před a po pravidelných nočních povinnostech. Nepřekvapuje, že kadeti nebyli tak silní v abstraktním myšlení a testech paměti ve 4 hodiny ráno, jako při odpočinku, ale

po nízkých a středních dávkách RR prokazatelně překonali ty, kteří dostali placebo nebo žádné tablety.⁽²⁷⁾

Cílem jiné studie bylo prozkoumat stimulační a normalizující efekt extraktu RR SHR-5 u zahraničních studentů během stresujícího zkouškového období. Studie byla provedena jako dvojitě slepá, randomizovaná, placebem kontrolovaná v režimu opakovaných nízkých dávek. Zkoušená droga a placebo byly studentům podávány po 20 dnů ve zkouškovém období. Před a po období byla objektivně stanovena fyzická a mentální výkonnost a též subjektivní zhodnocení. Nejprůkaznější zlepšení ve skupině, které bylo podáváno SHR-5, bylo patrné ve fyzické kondici, mentální únavě a neuromotorických testech. U léčené skupiny bylo též lepší vlastní subjektivní pocitové zhodnocení. Žádné významné zlepšení nebylo pozorováno v textových testech a neuromuskulárních poklepových testech. Závěrem je, že výzkum poskytl významně lepší výsledky v porovnání se skupinou, které bylo podáváno placebo, ale že výše dávky byla pravděpodobně nižší než optimální.⁽³⁴⁾

Vědci zkoumali efekt Rhodaxonu, adaptogenního preparátu založeného na bázi extraktu RR, na fyzickou a intelektuální pracovní kapacitu a psychoemocionální stav zahraničních studentů během jejich studia na vysoké škole. Bylo zjištěno, že podávání Rhodaxonu způsobilo vzrůst objemu veloergometrických prací a spolehlivě vzrostla kinesthesiometrická citlivost. Podávání drogy vedlo též k očekávanému zvýšení všeobecné kondice a snížení hladiny psychické únavy a situační úzkosti. Všeobecně farmakologické vlastnosti preparátu rhodaxonu odpovídaly očekávaným vlastnostem extraktu RR.⁽³⁵⁾

Fyziologické vysvětlení pozorovaných pozitivních efektů mentálních a paměťových vlastností poskytuje inhibice acetylcholinesterázy (dále AChE). Alkoholový extrakt RR v koncentraci 10 g/l vyvolává při testech asi 42 % inhibici AChE. Aktivní řízená frakcionace ukázala množství složek, které jsou za inhibici AChE odpovědné. Byly izolovány dva flavonoidní glykosidy (gossypetin-7-O-L-rhamnopyranosid a rhodioflavonosid) a ukázalo se, že v poloviční koncentraci extraktu RR (5 g/l) působí 58 ± 15 % a 38 ± 4 % inhibici AChE. Vzhledem k tomu, že nebyla pozorována žádná zjevná toxicita, má tato rostlina velký potenciál v léčení zhoršené paměti při poruchách jako je Alzheimerova choroba.⁽³⁹⁾

Pozitivní efekty vícedávkového užívání adaptogenů jsou hlavně spojeny s hypotalamo – hypofýzo – nadledvinovou osou, která pravděpodobně hraje primární roli v reakcích těla na opakující se stres a adaptaci. Naopak, jednotlivě aplikovaná dávka adaptogenů je důležitá v situacích, které vyžadují rychlou odpověď na napětí nebo stresovou situaci. V těchto případech jsou efekty adaptogenů spojovány zvláště s některou částí stresového sympatoadrenergního systému, který se stará o rychlé odpovědní mechanismy a hlavně kontroluje akutní reakci organismu na stresový faktor.

Jednotlivé podání též efektivně zvyšuje mentální výkonnost a kapacitu fyzické práce u lidí. RR způsobuje během 30ti minut po podání stimulační efekt, který trvá nejméně 4-6 hodin. Aktivními složkami těchto rostlin, které vykazují stimulační efekt po jednotlivé dávce jsou glykosidy na fenylpropanové a fenylethanové bázi, a také fenolické složky jako salidroside a rosavin.⁽⁴⁰⁾

5.1.6.2 VLIV NA FYZICKOU ZDATNOST

Extrakt kořene RR vykázal stimulaci tvorby adrenalinu, noradrenalinu a adrenokortikotropních hormonů v těle. Tyto hormony následně aktivují adenylátcyklázu produkující cAMP (cyklický adenosinmonofosfát) v tukové tkáni těla. Když jsou hladiny cAMP zvýšeny, je aktivována hormonsensitivní lipáza (hormon odpovědný za regulaci ukládání tuku) a tím navrácení uložených mastných kyselin do krevního oběhu, které jsou zde využity v podobě energie. Jako prostředek na hubnutí je RR neúčinnější, pokud je spojena s každodenním cvičením.

RR zvyšuje fyzickou vytrvalost a sexuální výkonnost.⁽⁴²⁾ Byl zkoumán vliv fytopreparátů obsahujících fenylpropanoidy na fyzickou aktivitu a vytrvalost u samců bílých myší s použitím konvenčního silového plavacího testu (forced swimming test). Byl zkoumán efekt extraktu z kořene RR (50 mg/kg) po orálním podání při tomto behaviorálním testu a byl měřen obsah ATP v mitochondriích skeletálních svalů u krys. Podávání extraktu RR jednoznačně prodloužilo trvání vyčerpávajícího plavání v porovnání s kontrolní skupinou krys. Extrakt RR aktivoval syntézu nebo resyntézu ATP v mitochondriích a stimuloval náhradní energetické

procesy po výše zmíněném testu. RR je efektivní pro zvýšení fyzické pracovní kapacity a též významně zvyšuje vytrvalost zvířat.^{(41), (43), (44)}

Další studie zkoumala efekty nárazového jednodávkového a 4-týdenního podávání RR na fyzickou kapacitu, svalovou sílu, rychlost pohybu končetin, reakční čas a pozornost. Byla provedena dvojnásobně slepá, placebem kontrolovaná randomizovaná studie. Při jednodávkovém podání RR se ve srovnání s placebem prodloužil čas vyčerpání a též vzrostla pulmonální ventilace. Rychlý přísun RR při vlastním výkonu může tedy zlepšovat kapacitu výkonnostních cvičení u mladých zdravých dobrovolníků, avšak po předchozím 4-týdenním podávání RR nebyly pozorovány žádné pozitivní efekty.⁽⁴⁶⁾

Byl také zkoumán efekt extraktu kořene RR na krevní hladinu prozánětlivého C-reaktivního proteinu a kreatinin kinázy u zdravých necvičených dobrovolníků před a po vyčerpávajícím cvičením. RR extrakt vykázal protizánětlivý efekt a chránil svalovou tkáň během cvičení.⁽⁴⁵⁾

5.1.6.3 OVLIVNĚNÍ HYPERTENZE A DIABETU

Extrakt z RR je v lidové medicíně používán jako antidiabetikum.⁽⁴⁷⁾ Z toho vyplývá zájem o vědecké prozkoumání vlivu RR na diabetes mellitus (DM). Přírodní inhibitory α -amylázy a α -glukosidázy z potravních rostlin nabízejí atraktivní možnost ovládat postprandiální hyperglykémii v DM II. typu.

Inhibice angiotenzinkonvertázy (ACE) je také považována za použitelný terapeutický postup v léčbě vysokého krevního tlaku, jedné z dlouhodobých komplikací diabetu. V jedné ze studií byla hodnocena inhibiční aktivita fenolického extraktu RR na fermentační procesy v mléčné kultuře. Byla sledována aktivita α -amylázy, α -glukosidázy a ACE. Také bylo pozorováno zapojení fenolické antioxidační aktivity a obsah salidroside a tyrosolu v závislosti na času fermentace. α -glukosidázová inhibiční aktivita vzrostla mírně po 24 hodinách a odpovídala vzrůstu obsahů tyrosolu a redukovaného salidroside. α -amylázová inhibiční aktivita klesala k nule s fermentačním časem a počáteční vysoká aktivita před fermentací silně odpovídala vysokému obsahu salidroside a nízkému obsahu tyrosolu. Tyrosol

má silnou α -glukosidázovou inhibiční aktivitu, ale žádný inhibiční efekt na α -amylázu. ACE inhibiční aktivita se s fermentačním časem měnila v závislosti na obsahu salidroside a tyrosolu. Výsledky napovídají, že účinky tohoto extraktu vyplývají z uvolnění všech fenolů, které by mohly být efektivně označeny jako volné terapie pro kontrolu postprandiální hyperglykémie u DM II. typu. Vzhledem k významné redukci α -amylázové inhibiční aktivity na konci fermentace, může mít tento přístup minimální vedlejší účinky jako je nadýmání, flatulence, meteorismus a možný průjem, které jsou způsobeny nadměrnou inhibicí pankreatické α -amylázy při běžných lékových terapiích.^{(48), (49)}

V další studii byly zkoumány 2 druhy rodu *Rhodiola* z hlediska inhibice α -amylázy, α -glukosidázy a angiotenzinkonvertázy (ACE). Vodný extrakt *R. rosea* vykázal významnou inhibiční aktivitu α -glukosidázy. Inhibiční aktivita extraktů na α -glukosidázu odpovídala standartu tyrosolu, který byl jednoznačně detekován v extraktech pomocí HPLC. Výsledky napovídají, že inhibiční aktivita α -glukosidázy obou *Rhodiolových* extraktů koreluje s fenolickým obsahem, antioxidační aktivitou a fenolickým profilem extraktů.

Byla též zkoumána schopnost *Rhodiolových* extraktů inhibovat ACE v plicích králíka. Nejvyšší inhibiční aktivitu ACE vykazoval ethanolický extrakt *R. rosea* (38,5 %), následoval vodný extrakt *R. rosea* (36,2 %) a *R. crenulata* (15,4 %).^{(49), (50)}

Byl také sledován vliv methanolického extraktu mj. z RR na α -amylázovou aktivitu v izolované plazmě myši. α -amyláza byla inhibována z více než 40 % a efekt byl závislý na koncentraci extraktu.⁽⁵¹⁾

Stoupající oxidační stres nově vykazuje důležitou roli v etiologii a patogenezi DM a jeho komplikací. Jedna ze studií zkoumala vliv extraktu RR na hladinu glukózy v krvi, oxidaci lipidů, stupeň redukce glutathionu a odpovídajících enzymů (glutathionreduktázy, glutathion-S-transferázy), a aktivitu antioxidačních enzymů (katalázy, superoxiddismutázy a glutathionperoxidázy) v játrech myši. Extrakt významně snížil hladinu glukózy v krvi, zvýšil hladiny redukovaného glutathionu a aktivitu glutathionreduktázy, glutathion-S-transferázy, glutathionperoxidázy, katalázy a superoxiddismutázy v játrech. Léčba extraktem také výrazně snížila

peroxidaci lipidů. Z toho plyne, že extrakt RR může být efektivní pro regulaci hyperglykémie a při prevenci diabetických komplikací.⁽⁴⁷⁾

5.1.6.4 PROTIRAKOVINNÉ A ANTIMUTAGENNÍ ÚČINKY

Některé zdroje prezentují protirakovinné a antimutagenní účinky RR. Mechanismus jejího protirakovinného účinku je však neznámý, jelikož nebyly v souvislosti s RR provedeny dostatečné cytologické studie týkající se cytostatik, buněčného cyklu, indukce apoptózy nebo mitotické aktivity zdravých a rakovinových buněk. V jedné ze studií byly tyto parametry zkoumány s použitím HL-60 buněk (lidské leukemické buňky), pomocí kapalinové cytometrie a fluorescenčních mikroskopů. Bylo zjištěno, že extrakt z rhizomů RR inhibuje část HL-60 buněk, které se vyznačují větší akumulací buněk zůstávajících ve stavu profáze. To vede k indukci apoptózy a nekrózy v HL-60 buňkách a k výrazné redukci přežívání těchto buněk. Buňky vstupují do apoptózy z fáze G2/M buněčného cyklu. Vlivem působení extraktu nebyly pozorovány žádné chromozomové aberace ani tvorba mikrojader („test tvorby mikrojader“ je založen na hodnocení výskytu centrických chromozomových fragmentů; tyto části jaderné hmoty zpravidla zůstávají po skončení mitózy mimo buněčné jádro a vytvářejí tzv. mikrojádra), to napovídá o šetrném působení extraktu.⁽⁵⁴⁾

Tyto protektivní účinky byly potvrzeny další studií, ve které byl navíc prokázán inhibiční vliv na syntézu negenové DNA v buňkách kostní dřeně myši pod vlivem mutagenů - cyclofosfamidu a N-nitroso-N-methylurey. Bylo zjištěno, že extrakt RR je antimutagenní díky schopnosti působivě vyvolávat opravné mechanismy intracelulární DNA.⁽⁵⁶⁾

V Rusku byl proveden výzkum zaměřený na účinek rostlinného preparátu AdMax na imunitu pacientek s rakovinou vaječníku. Preparát obsahuje kromě dalších drog suchý ethanolický extrakt z kořenů RR. 25 pacientek ve fázi III-IV epiteliální rakoviny vaječníku bylo léčeno kombinací 75 mg cisplatiny a 600 mg cyklofosfamidu. Čtyři týdny po chemoterapii byla pacientkám odebrána krev a v těchto krevních vzorcích byly testovány podtřídy T, B a NK lymfocytů. Také byly stanoveny koncentrace imunoglobulinů G, A a M.

Byly pozorovány změny v několika podtřídách T buněk. U pacientek užívajících AdMax (270 mg/den) po 4 týdny následující po chemoterapii vzrostl průměrný počet T lymfocytů v těchto podtřídách v porovnání s počtem těchto buněk u pacientek, které AdMax neužívaly. U pacientek které užívaly AdMax také vzrostlo průměrné množství imunoglobulinů G a M.

Získané výsledky napovídají, že kombinace extraktů z adaptogenních rostlin může zlepšit potlačenou imunitu u pacientek s rakovinou vaječníku, které podstoupily chemoterapii.⁽⁵²⁾

Experimenty na myších naočkovaných metastázujícím Lewisovým karcinomem plic ukázaly, že antitumorový a antimetastázový efekt cyklofosfamidu je potencován extrakty některých rostlin a jejich aktivními složkami, mj. extraktem z RR a p-tyrosolem.⁽⁵³⁾

Za tyto účinky by mohli být také odpovědné dvě látky z RR: gossypetin-7-O-L-rhamnopyranosid a rhodioflavonosid, které jsou aktivní proti prostatickým rakovinným buňkám. Jejich IC byla stanovena na 50 respektive 80 µg/ml.⁽²¹⁾

Byla studována antimutagení aktivita 20 a 40 % ethanolického extraktu z biomasy a buněčné kultury. Extrakt z biomasy RR prokázal vyšší kapacitu působit proti genovým mutacím indukovaným modelovými mutageny (téměř 90 % inhibice v izolovaných případech).⁽⁵⁵⁾

Protirakovinné účinky preparátů RR byly potvrzeny i v dalších studiích. Bylo pozorováno zastavení růstu maligních nádorů a metastáz v játrech.⁽⁶¹⁾

Cytostatický a antiproliferativní efekt extraktu z rhizomů RR a jeho šetrné působení vzbuzuje naději pro jeho použití v léčbě rakoviny, jelikož potencuje účinek podávaných cytostatik.⁽⁵⁴⁾

5.1.6.5 VLIV NA ERYTROPOÉZU, OBĚHOVÝ SYSTÉM A SRDCE

Byl studován efekt adaptogenů (mezi nimi i RR), na erytropoézu a granulocytopoézu po deficitu REM spánku. Adaptogeny stimulovaly erytropoézu v kostní dřeni

v počátečním stavu, ale snižovaly počet erytrokaryocytů 3 – 7 dní po léčbě. Adaptogeny také způsobovaly hyperplazii granulocytopoézy, ale extrakt z RR neměl na granulocytopoézu účinky.⁽⁶⁰⁾

Další studie se věnovala vlivům těchto rostlin na erythropoézu v podmínkách konfliktních situací. Extrakt z RR byl ve skupině preparátů, které snižovaly stupeň hyperplazie v erythropoetickém kmeni. Regulační efekt preparátů závisel na aktivitě odpovídajících neurotransmiterových systémů v mozku a lokálních regulačních mechanismů erythropoézy.^{(57), (59)}

Další studie porovnávala efekt p-tyrozolu vyskytující se v RR extraktu na hemopoetický systém s modelem subakutní intoxikace olovem. Studium příznaků apoptózy a nekrotických procesů v kostní dřeni nebyly odhaleny žádné významné rozdíly mezi oběma preparáty. Současně p-tyrozol vykazoval prokazatelnější efekt na lipidovou peroxidaci a významnou ochranu proti intoxikaci olovem.⁽⁵⁸⁾

Denní podávání preparátů z extraktů adaptogenních rostlin (1 ml/kg) po dobu 8 dnů způsobilo zjevný preventivní antiarytmický efekt na modelech adrenalinem a CaCl₂ indukovaných arytmií, ale ne na arytmií způsobenou acontinem. Aglykon – n-tyrosol prokázal nižší antiarytmickou aktivitu než extrakt RR.⁽⁶²⁾

Extrakt RR (3,5 ml/kg) užívaný p.o. po dobu 8 dnů působí antiarytmický efekt na modely epinenfrinem indukované arytmiie. Antiarytmický efekt ERR má nejspíše souvislost s aktivací opioidního systému a stimulací kappa-opioidních receptorů.⁽⁶³⁾

Bylo také zjištěno, že cyklus orálního podávání ERR v dávkách 3,5 mg/kg působí preventivně proti snížení reperfuze v kontrakční amplitudě v izolovaném perfusním krysím srdci. Také předchází snížení srdečního toku a vývoji vzniku kontrakcí v postischemické periodě. Intravenosní infuze naloxonu (0,5 mg/kg) kompletně ruší příznivý efekt RR v relaci k srdeční kontraktilitě a koronárním tokovým parametrům. Ochranný efekt RR může být pravděpodobně ve spojení s vzrůstající hladinou endogenních opioidních peptidů.⁽⁶⁴⁾

Bylo zkoumáno množství kyslíku dodaného hemoglobinem pomocí modifikované pyrolytické grafitové elektrody. RR a speciálně salidroside, vykazují zvýšenou schopnost hemoglobinu dodávat kyslík *in vitro*. Pokud je salidroside přidán do

testovaného roztoku, redukující proud v přítomném kyslíku klesá v závislosti na množství přidané látky. Žádný vzrůst není pozorovaný při absenci kyslíku. Kromě toho, procento vzrůstu je větší pro nižší koncentrace kyslíku v roztoku. UV-VIS spektrometrie ukazuje, že salidroside významně nemění konformaci hemoglobinu.⁽⁶⁶⁾

Předmětem další studie bylo zkoumat efekt vodného extraktu kořenů RR na *in vitro* lidské erythrocyty vystavené oxidačnímu stresu kyseliny chlorné (HOCl). Některá poškození se objevila v lidských erythrocytech po expozici HOCl – mezi nimi modifikace membránových proteinů a lipidů, které změnilly tvar z diskoidního na svaštělý (echinocytiní) a nakonec skončily lýzou buněk. V této práci byla měřena antioxidační aktivita vodného extraktu RR přítomného ve zvýšených dávkách a v rozdílných experimentálních prostředích (koinkubace a postupná inkubace) působícího na erythrocyty vystavené hemolytickému působení HOCl pomocí elektronového mikroskopu. Získané výsledky se významně shodují s ochrannou funkcí extraktu v přítomnosti oxidačního agens, ale varovné znamení vychází z analýzy dat odpovídajících expozici buněk rostlinnému extraktu při absenci jakéhokoliv indukujícího oxidačního stresu. Ve skutečnosti vysoká dávka RR extraktu přidaná k erythrocytům vždy prudce ovlivní změny buněčného tvaru.⁽⁶⁷⁾

V jiné studii byla zkoumána antioxidační aktivita vodného extraktu RR zhodnocující její schopnost působit proti některým z hlavních škodlivých vlivů způsobených kyselinou chlornou (HOCl), tj. silným oxidantem, který je tvořen aktivovanými fagocyty, na lidské erythrocyty. Jako referenční látka byla použita kyselina askorbová pro její fyziologickou schopnost odbourávat kyselinu chlornou. Tato studie dokazuje, že RR je schopná významně chránit (v dávce závislé na lékaři) lidské erythrocyty před nedostatkem glutathionu, inaktivací glycerinaldehyd-3-fosfátdehydrogenázy a hemolýzou způsobenou oxidací.

Nadto bylo ještě prokázáno, že extrakt RR působí z vnitřku erythrocytu pravděpodobně působením na obsažené buněčné složky. Díky extraktu RR dochází v přítomnosti silného oxidantu k nižšímu úbytku redukované formy glutathionu (GSH) Stejný účinek byl pozorován také pokud je přidán extrakt RR o 2 až 5 min. později než oxidant.⁽⁶⁸⁾

Bylo odhaleno, že droga má vynikající antioxidační potenciál. Tudíž kořen může hrát důležitou roli ve zmírnění oxidačního stresu v biologických systémech i peroxidativních změnách v potravních systémech. Proto by měl být zkoumán z hlediska vývoje nutraceutik a zdravých jídel.⁽²⁰⁾

Navíc bylo zjištěno, že biologicky aktivní složky – solidrosid, rosin, rosavin a tyrosol působí preventivně na srdce proti stresu a arytmiím.⁽⁶¹⁾

5.1.6.6 DALŠÍ ŽÁDOUCÍ ÚČINKY

Dvojnásobně slepá, placebem kontrolovaná, randomizovaná pilotní studie Chisan® (ADAPT-232; standardizovaná fixní kombinace extraktů mj. z RR) byla provedena na dvou paralelních skupinách pacientů trpících akutní nespecifickou pneumonií. 60 pacientů, ženy i muži od 18 do 65 let, bylo standardně léčeno cephazolinem, bromhexinem a theophylinem, nadto polovina pacientů dostávala směs Chisanu, zatímco druhá skupina pacientů obdržela placebo. Každé léčivo bylo podáváno 2x denně od začátku studie po dobu 10-15 dnů. Primární výsledky sledování během trvání léčby antibiotiky byly stanoveny podle klinických manifestací akutní fáze nemoci společně se zhodnocením mentální výkonnosti v psychometrickém testu a subjektivnímu zhodnocení kvality života (QOL) před léčbou, po prvním a pátém dni klinického zotavování. Průměrné trvání léčby antibiotiky potřebovalo k uzdravení z akutní fáze nemoci o dva dny méně u pacientů léčených Chisanem ve srovnání s těmi co užívali placebo. S ohledem na všechny stránky QOL (fyzické, psycholo-gické, sociální a ekologické) skórovali pacienti léčení Chisanem oproti kontrolní skupině pacientů lépe v začátcích rehabilitační fáze a významně lépe po pátém dni rekonvalescence. Podpůrná léčba Chisanem má zřetelný pozitivní efekt v uzdravování pacientů díky zkrácení trvání akutní fáze nemoci, zvýšení mentálního výkonu pacientů v rehabilitační fázi a zvýšení jejich QOL. Oba – klinické i laboratorní - výsledky této studie napovídají, že Chisan může být doporučován v rámci standardní léčby u pacientů s akutní nespecifickou pneumonií jako podpora pro zvýšení QOL a k urychlení uzdravování pacientů.⁽⁶⁹⁾

Methanolický extrakt podzemní části RR vykázal inhibiční aktivitu proti *Staphylococcus aureus*. Gossypetin-7-O-L-rhamnopyranosid a rhodioflavonosid prokázaly antibakteriální aktivitu v minimální inhibiční koncentraci – 50 µg/ml, respektive 100 µg/ml.⁽²¹⁾

Byl studován efekt kapalného extraktu RR na funkční stav krysích jater s experimentální toxickou hepatitidou. Extrakt má hepatoprotektivní efekt, který je manifestován normalizací aspartátaminotransferázy a alkalinefosfatázy, normalizací obsahu peptidů střední molekulové hmotnosti, urey a bilirubinu, a redukcí aktivity alaninaminotransferázy a glutathion-S-transferázy v krevní plazmě krys s modelovou toxickou hepatitidou.⁽⁷⁰⁾

Experimentálně bylo stanoveno, že profylaktické zavedení extraktu RR předchází ischemickému poškození mozku. Průběžné podávání drogy v dávce 700 mg/kg zastaví rozvoj hypo- a hyperperfuze v cerebrální cirkulaci, oslabí postischemickou hyperglykemickou reakci, sníží extrakci kyslíku mozkovými tkáněmi. Potlačuje laktátovou acidózu, pomáhá účasti pyruvátu v metabolických procesech inhibujících otok, předchází rozvoji „kalciového paradoxu“ a snižuje projevy procesů lipidové peroxidace.⁽⁷¹⁾

Současné experimenty ukazují, že salidrosid může chránit PC 12 buňky (nervové buňky s dlouhými neurity) proti poškození působenému expozicí těchto buněk 2 mmol glutamátem po dobu 15 minut, po níž následuje inkubace v médiu prostém séra po dobu 24 hod., které se podobá exocytotoxinu *in vivo*. Salidrosid může ochránit PC 12 buňky proti glutamát exocytotoxickým škodám díky potlačení vstupu nadbytku Ca^{2+} a uvolněním vápníkových zásob z buněk.⁽¹⁶⁾

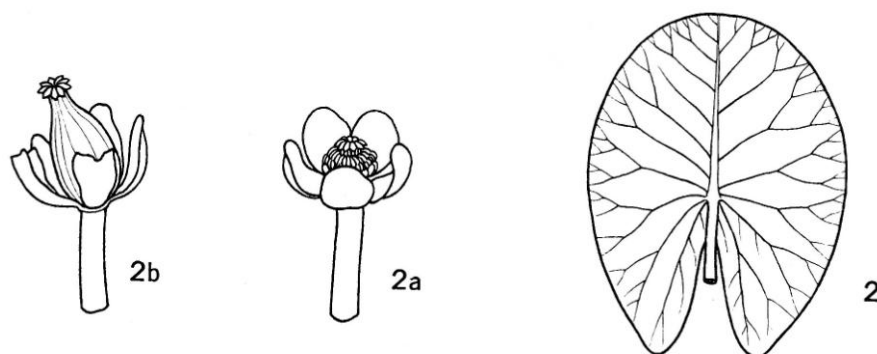
RR je přirozeně používána pro její velkou schopnost zvýšit odolnost organismu proti různým stresovým podmínkám. Ačkoliv několik mezinárodních literárních zdrojů podporuje tyto efekty, dnes se RR stává důležitou složkou dietetických doplňků také v západním světě.⁽⁶⁷⁾

Je také žádoucí další výzkum pro potvrzení účinků RR, zjištění možných nežádoucích lékových interakcí a nežádoucích účinků, zejména na skupiny pacientů jako jsou těhotné a kojící ženy a pacienti s poruchami štítné žlázy.⁽²⁷⁾

5.2 NUPHAR PUMILA L. – STULÍK MALÝ

Čeleď: *Nymphaeaceae* - leknínovité

Synonyma: *Nuphar pumilum* (nejednotnost v současném botanickém pojmenování), *Nymphaea lutea* β *pumila*, *Nymphaea pumila*, *Nymphaea lutea* β *minima*, *Nuphar minima*, *Nuphar luteum* subsp. *pumilum*



Obr. 2.1: 2 *Nuphar pumila*, 2a květ, 2b plod ⁽¹⁾

5.2.1 OBECNÉ CHARAKTERISTIKY

5.2.1.1 STUPEŇ OCHRANY

Rostlina je podle Přílohy II vyhlášky č. 395/1992 Sb. prohlášena za kriticky ohrožený druh.

5.2.1.2 POPIS A MORFOLOGIE ROSTLINY

Čepel plovoucích listů je v obrysu široce eliptická až téměř okrouhlá (poměr délka/šířka 1,16 – 1,45), (8-) 12 – 17 (-18) cm dlouhá, (6-) 9-13 (-14) cm široká, s (9-) 11 – 14 (-16) postranními žilkami, se zářezem dosahujícím zpravidla do $\frac{1}{3}$ až $\frac{1}{2}$ listu, na spodní straně krátce (0,3 – 0,5 mm) chlupatá; řapík je ve střední části 3 – 7 mm široký. Květní stopka je 5 – 7 mm silná, s 1 kruhem cévních svazků a s 1 svazkem centrálním. Květ má v průměru 2 – 3 cm, kališní lístky jsou (16-) 18 – 25

(-27) mm dlouhé, korunních (nektariových) lístků je 8 – 12 (-13), téměř okrouhlých s krátkým nehtem, jsou 4 – 6 (-7) mm dlouhé; tyčinky jsou 2 – 3x tak dlouhé jako široké; bliznový terč je za květu 6 – 8 mm široký, často eliptický, na ploše paprscitě rýhovaný, na okraji vroubkovaný, s 8 – 12 (-14) paprsky, které plasticky vystupují po celé ploše terče až k okraji. Plod je vejcovitý, většinou výrazně ke straně ohnutý, nejčastěji 15 – 20 mm široký. Semena jsou 3,0 – 3,5 (-4,0) mm dlouhá. Stulík malý kvete v červnu až srpnu.

5.2.1.3 EKOLOGIE A CENOLOGIE

Stojaté nebo nepříliš rychle tekoucí vody (v současnosti hlavně rašelinné tůně a menší rybníky), oligotrofní až mezotrofní; k eutrofizaci vody je citlivý. Roste nejčastěji v hloubce 40 – 100 cm, na bahnitěm substrátu, na otevřené, ale i mírně zastíněné hladině. Vyskytuje se ve společenstvech svazu *Nymphaeion alba* (hlavně asociace *Nupharetum pumili*, jejímž je diagnostickým druhem).

5.2.1.4 ROZŠÍŘENÍ

Rozšíření v ČR: Pouze v jižních Čechách a na jihozápadní Moravě, většinou v suprakolinním až montánním stupni (min.: Purkarec u Hluboké, 360 m n. m.; max.: Plánička u Hořic na Šumavě, 760 m n. m.).

Celkové rozšíření: Západní Evropa (Velká Británie, západní Francie, Belgie), střední Evropa (severní část, jinak v malých arelech nebo roztroušeně), severní a východní Evropa (kromě krajního severu, na jih po Bělorusko a Moskvu), východní Kazachstán, jižní Sibiř (izolované arely až v subarktickém pásmu), ruský Dálný východ, Kamčatka, severní Japonsko, západní Čína, severozápad USA a Kanada.⁽¹⁾

5.2.2 UŽITÍ V LIDOVÉ MEDICÍNĚ A DALŠÍ POUŽITÍ

Již doktor Mathioli ve svém Herbáři věnuje této rostlině velkou pozornost: „Přirozenost, moc a účinek: Kořen a semeno studí a suší zjevně na druhém stupni, avšak květ chladí a vlhčí.

Vnitřní použití: Pití odvaru kořene nebo semene leknového v červeném víně jest užitečné pro lidi, kteří mají plynutí života (průjem) a chodí mnoho na stolicí.

Proti červenému a bílému výtoku ženskému usuš a utluc po jednom kventíku kořene a semene leknínu žlutě kvetoucího a půl kventíku agsteinu (jantaru), to vše smíchej a pij teplé v červeném kyselém víně vždy ráno nepřetržitě po několik dnů. Květ se užívá místo seny a proti palčivým zimnicím. Z květu leknového vypaluje se voda, jejížto pití přivádí sen a hasí horkost proti přirození. Jest náramně platná ve všech palčivých zimnicích, zvláště u lidí, kteří hynou a chřadnou na těle.

Jest také prospěšná proti palčivému vředu anebo klání v bocích, suchému kašli, velké žízni, zapálení jater a sleziny. Kdo nemůže spáti pro velikou bolest hlavy z horkosti, ten si míchej vodu leknovou s makovým sirupem a na noc vezmi dobrý doušek.

Zevní použití: Potíráním kořenem nebo semenem vařeným ve vodě stírají se s těla pihy a skvrny. Mazání hlavy směsí tohoto odvaru s moukou zabraňuje padání vlasů. Přikládání čerstvého utlučeného kořene leknového na rány zastavuje krev. Zасыпání odřenin od obuvi usušeným kořenem hojí tyto odřenininy a stejně i mokvavé strupy hlavy.

Kořen obojího lekna močený v louhu dává bujný vzrůst vlasů. Proti všelikým palčivým neštovicím jest dobré přikládati lněné šátky nebo koudel namočené ve vlažné vodě leknové.

Olej připravený ze žlutého květu leknového jest zvláště dobrý pro srdce zemdlené a slabé následkem veliké horkosti; užívá se k tomu zevního mazání tímto olejem. Mast leknovou uschovej proti bolestem a těžkostem srdce, i proti prudkým a palčivým zimnicím, když bývá srdce velice umdlené a unavené. Tím pomazuje se zevně srdce. Pomáhá proti každé bolesti a slabosti srdce.“⁽²⁾

Nové důkazy o používání částí *Nuphar pumila* jako složky potravy byly nedávno objeveny v ranném sídlišti v Ertebollu v Halsskově v Dánsku. Přítomnost spálených semen *Nuphar pumila* napovídá, že semena nebo rhizomy (nebo obojí) byly využívány k jídlu.⁽³⁾

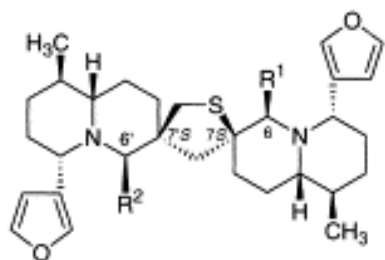
5.2.3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ A SYNTÉZA SLOŽEK

Ze sušených rhizomů čínského *Nuphar pumila* (dále NP) byly společně s 9 neaktivními nupharovými alkaloidy izolovány 4 nupharové alkaloidy thiohemiaminálního typu s potenciálním imunosupresivním účinkem: 6-hydroxythiobinupharidin, 6,6'-dihydroxythiobinupharidin, 6-hydroxythionupharlutin B, 6'-hydroxythionupharlutin B. Konfigurace 6- a 6'-hydroxy skupin v tomto thiohemiaminálním typu alkaloidů byla stanovena na bázi jejich 2D-NMR analýzy.⁽⁴⁾ Dále byly izolovány čtyři nové dimerní sesquiterpenické alkaloidy typu thiaspiranových sulfoxidů, nupharopumilaminy A, B, C a D. Struktury nupharopumilaminů A, B, C a D byly stanoveny na bázi chemických a fyzikálněchemických důkazů.⁽⁵⁾

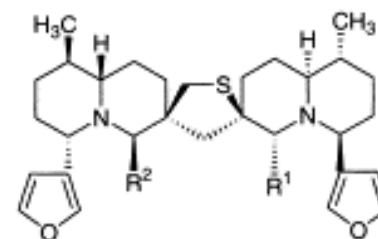
Z rhizomů NP byl izolován také chinolizinový alkaloid (+)-nupharopumilin.⁽⁶⁾

V kořenech NP byly pomocí plynové chromatografie detekovány silice. Na základě jejich složení byly pozorovány dvě chemovariety – typ A a typ B lišící se obsahem elementární síry. Typ A obsahoval 51 složek, z nichž 16,1 % byla elementární síra (S-6, S-7, S-8). Hlavními složkami byly cyklo-S-8 (13,0 %), methylpalmitát (10,1 %), methylinoleát (10,1 %), paeonol (7,3 %) a β -eudesmol (6,2 %). Typ B obsahoval 77 složek, z nichž 0,6 % byla elementární síra (S-8). Hlavní složky byly: paeonol (32,5 %), eugenol (4,9 %), menthol (3,6 %), furfural (3,2 %) a β -eudesmol (2,6 %).⁽⁷⁾

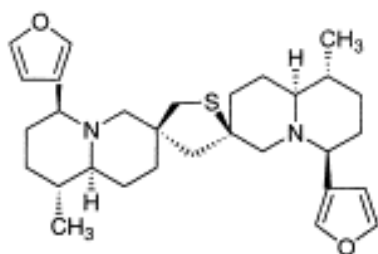
Jsou již vyvinuty i první postupy chemických syntéz týkající se nupharových alkaloidů.^{(8), (9)}



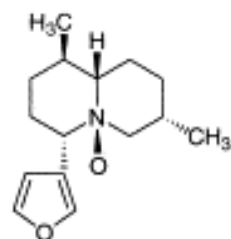
thiobinupharidine (1) : $R^1 = R^2 = H$
 6-hydroxythiobinupharidine (2) : $R^1 = OH, R^2 = H$
 6,6'-dihydroxythiobinupharidine (3) : $R^1 = R^2 = OH$



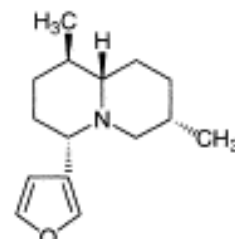
thionuplutine B (4) : $R^1 = R^2 = H$
 6-hydroxythionuplutine B (5) : $R^1 = OH, R^2 = H$
 6'-hydroxythionuplutine B (6) : $R^1 = H, R^2 = OH$
 6,6'-dihydroxythionuplutine B (7) : $R^1 = R^2 = OH$



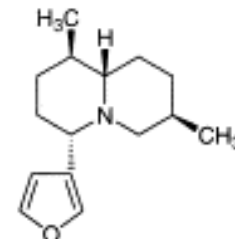
neothiobinupharidine (8)



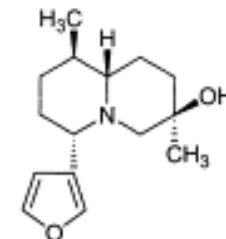
nupharidine (9)



deoxynupharidine (10)



7-epideoxynupharidine (11)



nupharolutine (12)

Obr. 2.2: struktura některých nupharových alkaloidů ⁽¹²⁾

5.2.4 ÚČINKY

Methanolický extrakt rhizomů *Nuphar pumila* a jeho alkaloidní frakce prokázaly cytotoxický efekt na lidské leukemické buňky, myší melanomové buňky a lidské fibroblasty. Dimerní sesquiterpenické thioalkaloidy s 6-hydroxy skupinou (6-hydroxythiobinupharidin, 6,6'-dihydroxythiobinupharidin, 6-hydroxythionuphlutin B) vykazaly přesvědčivou cytotoxickou aktivitu v koncentraci 10 μM , ale dimerní sesquiterpenické thioalkaloidy bez 6-OH skupiny (thiobinupharidin, thionuphlutin B, 6'-hydroxythionuphlutin B, neothiobinupharidin, thionuphlutin B β -sulfoxid a neothiobinupharidin β -sulfoxid) a monomerní sesquiterpenické alkaloidy (nupharidin, 7-epideoxynupharidin a nupharolutin) vykazaly pouze slabou aktivitu. Další, apoptózu indukující aktivita hlavní aktivní složky - 6-hydroxythiobinupharidinu - na lidské leukemické buňky byla zkoumána sledováním morfologie a fragmentace DNA (TUNEL metoda). Apoptóza těchto buněk byla pozorována prakticky okamžitě - během první hodiny po aplikaci 6-hydroxythiobinupharidinu (2,5 - 10 μM).⁽¹⁰⁾

Inhibiční účinek methanolického extraktu z rhizomů a jeho alkaloidní frakce na růst a proliferaci melanomových buněk byl potvrzen i v další studii. Dimerní sesquiterpenické thioalkaloidy s 6-hydroxy skupinou (6-hydroxythiobinupharidin, 6,6'-dihydroxythiobinupharidin a 6-hydroxythionuphlutin B) vykazaly silnou inhibiční aktivitu v IC_{50} : 0,029; 0,087 a 0,36 μM . Dimerní sesquiterpenické thioalkaloidy bez 6-hydroxy skupiny (thiobinupharidin, neothiobinupharidin, synthiobinupharidin sulfoxid, thionuphlutin B β -sulfoxid a neothiobinupharidin β -sulfoxid) a monomerní sesquiterpenické alkaloidy (nupharidin, deoxynupharidin, 7-epideoxynupharidin a nupharolutin) vykazaly nízkou aktivitu. Alkaloidní frakce (20 mg/kg/den, p.o.) podaná po 10 dnech od injekce B16 melanomových buněk významně inhibovala formace plicního tumoru u myší, a to z více než 90 %.⁽¹¹⁾

Dimerní sesquiterpenické thioalkaloidy (6-hydroxythiobinupharidin, 6,6'-dihydroxythiobinupharidin, 6-hydroxythionuphlutin B a 6'-hydroxythionuphlutin B) izolované z rhizomů *Nuphar pumila* vykazují též silný immunosupresivní účinek. Bylo zjištěno, že tyto thioalkaloidy významně inhibují produkci protilátek v myších splenocytech po i. v. podání ovčích erytrocytů.

Zmíněné thioalkaloidy byly podávány v koncentraci 1 μM , při které nevykazují prakticky žádný cytotoxický efekt. Pouze u 6,6'-dihydroxythiobinupharidinu byla v tomto množství pozorována velmi nízká cytotoxická aktivita.

Na základě srovnání výše zmíněných biologických aktivit jednotlivých nupharových alkaloidů byly stanoveny některé strukturální požadavky na jejich imunosupresivní aktivitu. Zvláště 6- a 6'-hydroxy skupina na chinolizidinovém kruhu dimerních sesquiterpenoidních thioalkaloidů je základem pro imunosupresivní efekt. Zdá se, že množství dalších hydroxylových skupin má vliv na cytotoxicitu, a také vliv na splenocyty je větší se vzrůstajícím počtem hydroxylových skupin.⁽¹²⁾

5.3 HUPERZIA SELAGO L. – VRANEC JEDLOVÝ

Čeleď: *Huperziaceae* – Vrancovité

Synonyma: *Lycopodium selago*, *Plananthus fastigiatus*, *Urostachys selago*, plavuň jedlová.



Obr. 3: *Huperzia selago*⁽²³⁾

5.3.1 OBECNÉ CHARAKTERISTIKY

5.3.1.1 STUPEŇ OCHRANY

Rostlina je podle Přílohy II vyhlášky č. 395/1992 Sb. prohlášena za druh ohrožený.

5.3.1.2 POPIS A MORFOLOGIE ROSTLINY

Vytrvalé trsnaté byliny. Lodyhy jsou 5 - 30 cm vysoké, přímé, jen u starých exemplářů s krátce poléhavou bází, odspodu vidličnatě větvené. Trofofyly jsou husté,

většinou v 8 řadách, čárkovitě kopinaté, (7-) 9 (-10) mm dlouhé, k větvím téměř přitisklé, odstávající až nazpět ohnuté, tmavě zelené až žlutozelené, špičaté, celokrajné nebo nezřetelně zubaté. Sporofyly nevytvářejí výtrusnicové klasy. Výtrusnice jsou v paždí dokonale vyvinutých sporofylů ve střední a horní části větví, za zralosti hnědé, pukající příčně na vrcholu.⁽¹⁾

Výtrusy dozrávají od července do října a poté potřebují dlouhou dobu klidu. Někdy až po šesti letech z nich vyrůstá prothalamium (prokel), které pokračuje v růstu jen tehdy, pronikne-li do jeho pletiva mycelium určitého druhu houby (endotrofní mykorhiza). Prokel dosahuje délky nejvýše 20 mm a vyvíjí se velmi pomalu. Dospívá teprve po 12 až 15 letech a žije pak ještě dalších nejméně 20 let. Na dospělém proklu se vytvářejí pohlavní orgány – pelatky a zárodečníky. Oplozením vaječné buňky v zárodečníku vzniká diploidní zygota, základ nové rostliny. Vegetativně se vranec rozmnožuje opadavými pupeny, které se vytvářejí v úžlabí listů na konci větví.⁽²⁾

5.3.1.3 EKOLOGIE A CENOLOGIE

Vlhké humózní lesy ve vyšších polohách (občas také na trouchnivějících kmenech), zpevněné okraje sutí, subalpínské louky. Acidofyt, snáší zastínění i přímé sluneční světlo. Diagnostický druh řádu *Piceetalia excelsae*, častý ve společenstvech svazů *Juncion trifidi* a *Luzulo-Fagion*.

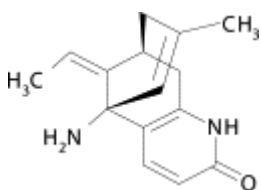
5.3.1.4 ROZŠÍŘENÍ

Rozšíření v ČR: Roztroušeně v horských oblastech, jinde především v územích kvádrových pískovců, izolované a většinou přechodné výskyty i na příhodných stanovištích v nízkých polohách (inverzní vlhké a stinné rokle, chladné sutě). Hlavní výskyt v montánním až subalpínském stupni, vzácně v submontánním a supra-kolinním, výjimečně v kolinním (min.: Polomené hory, Dolní Žleb, cca 230 – 250 m n. m.).⁽¹⁾

Celkové rozšíření: Je to cirkumpolární druh.⁽²⁾ Severní část Eurasie mimo výrazně kontinentální území na východní Sibiři, k jihu většinou jen vzácně v horských územích; Severní Amerika, k jihu ještě v horách Karolíny; izolované lokality v jižní Austrálii, Tasmánii a na Novém Zélandu patří asi jiným blízkce příbuzným taxonům.⁽¹⁾

5.3.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ A SYNTÉZA SLOŽEK

Z *H. selago* sebraného na Islandu byly izolovány tři alkaloidy – huperzin A (dále HA), serratidin a nově selagolin. Jejich struktury byly stanoveny 1D a 2D NMR metodou kombinovanou s hmotnostní spektrometrií.⁽¹³⁾ Z *H. selago* byl též izolován flavon selagin: 5, 3', 4', 7-tetrahydroxy 5'-methoxy-flavon.⁽¹⁶⁾



Struktura HA⁽⁵⁾: (9-amino-13-ethyliden-11-methyl-4-azatricyclo[7.3.1.0(3.8)]trideca-3(8),6,11-trien-5-on)⁽⁶⁾

Pro identifikaci, stanovení a izolaci HA bylo vyvinuto již množství metod a postupů:

- k identifikaci farmakologicky aktivních látek jako je (-)-HA slouží konvenční HPLC kolona spojená s CD detektorem.⁽²²⁾
- pro detekci HA v druzích čeledi *Lycopodiaceae* byla vyvinuta rychlá kvalitativní metoda – HPLC-UV-MS. HPLC společně s MS umožnila identifikaci alkaloidu a dala možnost analyzovat komplexní matrice jako jsou rostlinné extrakty. HA byl též detekován na TLC pomocí acetylcholinesterázy, aby byla prokázána aktivita složky. Ze čtyř druhů *Lycopodiaceae* sebraných ve Švýcarsku byl HA nalezen pouze v *Huperzia selago*.⁽¹⁷⁾

- další jednoduchou a rychlou metodou pro stanovení HA je kapilární elektroforéza s UV detekcí. Tato metoda vykazuje dobrou opakovatelnost a byla použita pro stanovení HA v různých farmaceutických produktech i biologických tekutinách.⁽¹⁸⁾

Pro identifikaci a stanovení HA byla vyvinuta řada variací na výše zmíněné základní metody, to znamená HPLC, TLC a kapilární elektroforézu. Jednotlivé modifikace zohledňují analyzovaný materiál (rostlina, biologické tekutiny) a požadavky na citlivost a rychlost analýzy.^{(20), (21), (24)}

SYNTÉZY

Jako první syntetizoval HA v roce 1991 profesor farmakologie Alan Kozikowski.⁽⁸⁾

Syntéza jádra struktury HA cyklizací 2-pyridylmethyl radikálů je již dobře známa.⁽²⁶⁾

V poslední době probíhá výzkum závislosti biologické aktivity na strukturálních obměnách a substitucích tohoto základního skeletu. Syntetickou cestou byly získány analogy huperzinu, a u některých z nich byla biologická aktivita (inhibice acetylcholinesterázy) výrazně vyšší než u samotného HA.^{(27), (28), (29), (30), (31)}

Velmi účinné se zdají být zejména tzv. takrin-HA hybridy (hupriny). Je to nová třída velmi účinných a selektivních inhibitorů AChE. Hupriny byly získány z takrinu a (-)-HA kombinací 4-aminochinolinové substruktury takrinu a karbocyklické substruktury (-)-HA. Bylo zjištěno, že některé hupriny jsou aktivnější než ostatní známé AChE inhibitory.⁽³³⁾

5.3.3 ÚČINKY A VYUŽITÍ

Huperzin A je biologicky silný reverzibilní acetylcholinesterázový (dále AChE) inhibitor využívaný pro léčbu Alzheimerovy nemoci (dále AN) v Číně. Rostlina je jedovatá pro obsah chinolizidinových alkaloidů.^{(1), (9), (21)}

HA způsobuje cholinergní efekty jako je nevolnost, pocení, rozmazané vidění a nesmí být kombinován s dalšími cholinergními drogami. Je nutné se ho vyvarovat

u pacientů, u kterých by mohlo přílišnou cholinergní stimulací dojít ke zhoršení jejich nemocí, např. astma, onemocnění srdce, vředová choroba žaludku, křeče.⁽⁴⁾

Jsou dokonce zaznamenány dva případy intoxikace po požití čaje ze sušené byliny *Huperzia selago*, které skončily cholinergními symptomy shodnými s inhibicí AChE huperzinem A.⁽³⁾

Huperzia serrata, (a přípravky z ní např. Qian Ceng Ta) v níž je HA také obsažen, byla po staletí užívána v tradiční čínské medicíně ke snížení horečky, potlačení zánětu a otoků a při léčbě krevních poruch. V přírodním stavu je extrakt z rostliny považován za toxický s anestetickými efekty a mělo by se mu vyvarovat. Po izolaci a čištění jeho složka – HA – nesnižuje sice teplotu ani neléčí zánět, ale vykazuje významný inhibiční efekt na AChE, brání tedy rozkladu velmi potřebného acetylcholinu (ACh). Ten pomáhá utváření paměťových formací a zajišťuje komunikaci mezi mozgovými buňkami.^{(7), (8), (9), (35)}

HA vykazuje jak zlepšení paměti a učení u zvířat i lidí v klinických studiích, tak neuroprotektivní efekty. Potenciálně je přínosné jeho působení na modifikaci β -amyloidních peptidů, redukci oxidativního stresu, ochranu neuronů proti apoptóze a regulaci exprese a sekrece nervových růstových faktorů a jejich signalizaci. Také snižuje úzkost.^{(9), (10), (11)}

V současnosti probíhají dvojité slepé, placebem kontrolované klinické studie u pacientů s AN. Výsledky ukazují významné zvýšení jak kognitivních funkcí, tak i kvality života. Většina klinických testů je prováděna v Číně, ale HA a jeho deriváty se stávají atraktivní i na západě, kde je AN stále větším problémem. Nadto, výzkumy bezpečnosti HA u zvířat i lidí ukázaly, že je HA nemá žádné závažné vedlejší účinky. Další zajímavé aspekty farmakologického profilu HA souvisí s jeho neuroprotektivními vlastnostmi. Studiemi na zvířatech bylo prokázáno, že HA může být používán jako ochranné činidlo proti intoxikaci organofosfáty, a že redukuje glutamátem indukovanou apoptózu.⁽⁹⁾

5.3.3.1 INHIBICE AChE

Cholinesterázy jsou rozděleny na AChE a butyrylcholinesterázy (BChE) podle jejich substrátové specifity a sensitivity k selektovaným inhibitorům. Aktivity AChE v červených krvinkách a BChE v séru mohou být použity jako potenciální ukazatelé potlačené nebo zvýšené aktivity v centrálním a periferním nervovém systému. Pod vlivem organofosfátů, pesticidů, anestetik a různých drog jako je kokain, i některých neurodegenerativních stavů a při nemocech jater, jsou selektivně redukovány aktivity AChE a BChE.⁽³⁷⁾

Biochemické a krystalografické studie AChE odhalily dvě potenciální vazebná místa v aktivním centru AChE. Jedno z nich - „periferní anionické místo“ v ústí aktivního centra podporuje agregaci β -amyloidních peptidů odpovědných za neurodegenerativní procesy v AN. Tato vlastnost AChE usnadnila vývoj dvojvazných bivalentních ligandů vycházejících z HA, v naději průvodního zvýšení potenciálu inhibice AChE využitím chelátového efektu, a ochranou neuronů před β -amyloidovou toxicitou. Tato studie uvádí dvě kategorie z HA vycházejících bivalentních ligandů, v kterých slouží jako stavební jednotky HA a jeho fragmenty se středem na nedávno objasněné krystalografické struktuře AChE *Torpedo californica* v komplexu s právě bifunkčními činidly.⁽³⁵⁾

Bylo sledováno, zda může HA měnit působení proteinů prekurzorů amyloidů (APP) u krys s infuzí β -amyloidových proteinů do mozkové dutiny a v lidských ledvinových buňkách embryí 293 (HEK293 buňky). Denní intraperitoneální podávání HA po 12 po sobě následujících dní vytvořilo významné zvraty β -amyloidních proteinů indukované snížením vylučování APP a protein kinázy C (PKC) u krys. V HEK293 buňkách byla významně zvýšena hladina APP podáváním HA a podobné změny nastaly v těchto podmínkách u hladiny PKC α . Tyto objevy napovídají, že HA může ovlivnit průběh APP pomocí up-regulace PKC, zejména PKC α .⁽³⁶⁾

Interakce mezi AChE a jejími inhibitory pozorované rentgenovou krystalografií byly porovnány s výsledky molekulových modelování a QSAR (kvantitativní závislost účinku na struktuře). Je pravděpodobné, že hydrofobicita a přítomnost dusíku schopného ionizace jsou podmínkami pro interakci inhibitoru s AChE. Avšak způsob

interakce a třírozměrný stav inhibitoru v aktivním místě enzymu jsou různé mezi jednotlivými chemickými třídami. Také bylo zjištěno, že molekuly vody hrají rozhodující roli ve formulaci těchto různých trojrozměrných stavů.⁽³⁹⁾

Pět inhibitorů AChE – HA, donepezil, rivastigmin, takrin a fysostigmin - bylo srovnáváno z hlediska jejich účinku na různé molekulární formy AChE v mozkové kůře, hippocampu a striatu v mozku krys. Všeobecně HA přednostně inhibuje tetramerní AChE. V mozkové kůře a ve striatu je nejsilnějším inhibitorem tetramerní AChE HA a donepezil. V hippocampu jsou nejsilnějšími inhibitory tetramerní AChE HA a fysostigmin. Ačkoliv se inhibiční konstanty významně liší podle místa působení, charakter účinku zůstává stejný. Výsledky ukázaly, že použití inhibitorů AChE v léčbě AN musí odpovídat charakterem jak specifické formě, tak specifickému místu inhibice AChE.⁽⁴⁰⁾

Při porovnávání potenciačního působení HA a fysostigminu na acetylcholin (ACh) na modelech žabího břišního rektální svalu, na bránici u krys, tenkém střevě morčete a na sfinkteru lidské duhovky bylo zjištěno, že HA vykazuje všeobecně větší ACh potenciační aktivitu na svaly obratlovců než fysostigmin. Maximální efekt byl u obou alkaloidů pozorován u 30 μM .⁽⁴¹⁾

Cholinesterázové inhibitory – HA, donepezil a rivastigmin - byly porovnány z hlediska jejich účinků na koncentraci extracelulárního acetylcholinu a aktivitu AChE v mozkové kůře krys. Po i.p. injekci HA (0,25 – 0,75 $\mu\text{mol/kg}$), donepezilu a rivastigminu byly zvýšeny koncentrace ACh v závislosti na dávce. Trvání účinku bylo nejdelší u HA. Časový průběh inhibice ACh v mozkové kůře způsobené středními dávkami těchto látek byl odrazem zvýšení ACh v téže dávce. Avšak inhibice AChE byla disproporcionálně vyšší po střední dávce rivastigminu než po dávkách HA a donepezilu, které zvýšily ACh v podobném rozmezí. HA hladiny ACh v mozkové kůře oproti donepezilu a rivastigminu zvýšil 8x a 2x, též trvání účinku bylo delší.⁽⁴²⁾

Byly zkoumány efekty dvou takrin-huperzin A hybridů, (\pm)-huprinu Y a (\pm)-huprinu Z. Inhibice hovězí a lidské AChE a lidské BChE byla měřena Ellmanovou metodou. Oba hupriny byly aktivnější než oba takriny a (-)-HA v případě inhibice lidské i hovězí AChE, a chovaly se jako různé typy AChE inhibitorů. Nadto huprin Y

vykázal pevný vazný charakter pozorovaný v experimentech reversibility inhibice hovězí AChE. Obě složky vykazovaly větší aktivitu směrem k AChE než k BChE. Také selektivita pro lidskou AChE byla větší než pro bovinní enzym. Ve studiích *ex vivo* uskutečněných na myších obě drogy vykazovaly zřetelnou inhibiční aktivitu pro mozkovou AChE, 20 min. po i.p. injekci byl huprin Y účinnější než huprin Z. Tyto výsledky ukázaly, že tyto drogy jsou dva zřetelné centrální AChE inhibitory.⁽⁴⁵⁾

Byl zkoumán potenciální vliv (\pm)-huprinu X a galanthaminu na nikotinové receptory, a huperzinu A (bez nikotinové aktivity) na uvolňování ACh ve striatu v krysím mozku. Zdá se, že efekty huprinu, galanthaminu a HA jsou způsobené hlavně schopnostmi inhibovat aktivitu AChE, ale ne interakcemi na nikotinových receptorech.⁽⁴⁶⁾

Probíhá vývoj dimerních bis-kvarterních inhibitorů AChE na bázi takrinu, HA, galanthaminu a polyaminů, jež by disponovaly zvýšenou selektivitou a silou. Tyto inhibitory by se měly simultánně vázat do katalytického a periferního anionického místa AChE. Na základě dřívějšího pozorování vysokého inhibičního potenciálu.⁽⁴⁷⁾

Cholinesterázové inhibitory používané pro léčbu symptomů AN inhibují jak AChE, tak BChE, i když v různé míře. Na modelu vnitřních srdečních neuronů prasete byla sledována inhibice AChE ve srovnání s BChE. Z výsledků experimentů vyplynulo, že různé cholinesterázové inhibitory odlišně inhibují prasečí AChE a BChE. HA reverzibilně inhibuje převážně AChE. Neurofyziologické studie ukázaly, že ACh a BCh roste nebo klesá se spontánní aktivitou vnitřních srdečních neuronů. Donepezil, galanthamin, HA a tetrahydroaminoakridin mění spontánní neuronální aktivitu asi 30 – 35 impulsy za minutu.⁽⁴⁸⁾

5.3.3.2 ALZEIMEROVA CHOROBA (AN)

Nedostatek ACh nejspíše přispívá k poruchám paměti a mozkových funkcí u lidí s demencí a Alzheimerovou nemocí, která se vyznačuje ztrátou schopnosti myslet, pamatovat si, nebo tvořit úsudek. Bylo zjištěno, že HA léčí věkem způsobené ztráty paměti a AN.^{(7), (8), (35), (49)} V současné době je nejobvyklejší farmakologickou léčbou

AN inhibice AChE. HA disponuje neuroprotektivním efektem, který je způsoben právě inhibicí AChE.^{(7), (11), (60)}

HA snadno a rychle přechází bariéru krev – mozek a vykazuje vysokou specifitu pro AChE s prodlouženým biologickým poločasem. Osvědčil se jako droga pro léčbu AN v Číně, v USA je prodáván jako dietní doplněk. (Od 80tých let byl HA předmětem stále se zvyšujícího počtu výzkumů.) Vykazuje zlepšení paměťových aktivit u zvířat i klinických studií. Ve srovnání s takrinem nebo donepezilem, HA poskytuje déletrvající účinek a má vyšší terapeutický index. Jeho periferní cholinergní vedlejší účinky jsou v terapeutických dávkách naopak nižší. Současně bylo zveřejněno, že HA může redukovat zánik neuronů způsobený glutamátem. Tato dvojitě účinky HA zvyšují jeho hodnotu a potenciál jako léčebného agens pro léčbu AN.

V posledních několika letech byl HA kromě toho zkoumán z hlediska jeho chemické syntézy, strukturních modifikací, aktivity závislé na struktuře, různých biologických efektů a mechanismu účinku. Bylo také publikováno množství zpráv pojednávajících o modelech výpočtů a rentgenových krystalografických studií komplexu HA-AChE.^{(50), (51), (53)}

Účinek HA je podobný takrinu. Inhibicí AChE je větší množství acetylcholinu schopno stimulovat neurony. Studie ukázaly, že HA:

- je v porovnání s takrinem mnohokrát efektivnější a selektivnější v inhibici AChE
- je přínosný pro pacienty s AN; vědci ho podávali po dobu 8 týdnů 50 pacientům s AN v dávce 0,2 µg/den a porovnali poté výsledky s kontrolní skupinou pacientů, jimž bylo podáváno placebo. Studie byla provedena jako dvojitě slepá, placebem kontrolovaná a randomizovaná. Výsledky ukázaly, že 58 % pacientů léčených HA vykázalo zlepšení v paměti, poznávacích funkcích a chování, oproti 36 % pacientů z kontrolní skupiny „léčených“ placebem. Nebyly pozorovány žádné vedlejší účinky. Výzkumníci tvrdí, že HA je slibná droga pro symptomatickou léčbu AN.

Jak ukázala další dvojitě slepá studie na 56 pacientech s multiinfarktovou demencí a 100 pacientech se senilními poruchami paměti, byly zaznamenány přínosy léčby

u starších lidí s demencí; HA byl podáván i.m. pacientům s multi-infarktní demencí ve výši 0,05 mg dvakrát denně po čtyři týdny, zatímco pacientům se senilními poruchami paměti v dávkách 0,03 mg dvakrát denně po dobu 2 týdnů. Pouze několik pacientů pocítilo slabé závratě, ale nemělo to vliv na terapeutický efekt. HA je podáván buď samotný v dávkách 0,05 mg nebo v nižších dávkách kombinovaný s dalšími nutraceutiky, které zlepšují paměť a mentální funkce. Denní dávka je od 0,05 do 0,1 mg/den, užívá se ráno.⁽⁵²⁾

Ukazuje se, že HA má podobně jako takrin vliv také na vlastní přechod draslíkových iontů přes membránu neuronů. Tento efekt je však asi 8 krát slabší než u takrinu. Zůstává otázkou, zda je tento efekt žádoucí, protože sice zvyšuje účinek léčiva na Alzheimerovu chorobu, zároveň však zvyšuje nežádoucí účinky.^{(54), (55)}

U huperzinu A se v terapeutických dávkách (100 µg/den) nevyskytují žádné vedlejší účinky a nebyla zaznamenána ani žádná toxicita.⁽⁵³⁾

Závěrem lze konstatovat, že HA je výborný prostředek pro „předléčbu“, prevenci a podporu funkčnosti mozku pro pacienty s AN nebo s přidruženými předpoklady demence.

5.3.3.3 OTRAVA ORGANOFOSFÁTY (OP)

Dnes jsou organofosfátové nervové jedy považovány za potenciální hrozby vojenských i teroristických akcí. Organofosfáty jako soman jsou účinnými ireversibilními inhibitory centrálních i periferních AChE. Předléčba otravy OP se opírá o subchronické podávání reversibilních inhibitorů AChE, např. pyridostigminu.^{(56), (57)} U pyridostigminu, physostigminu (samotného či společně se skopolaminem) a huperzinu byl zkoumán jejich protektivní efekt proti toxicitě somanu, a to u morčat. Všechny látky byly podávány s.c. po dobu 6 dnů v dávce způsobující asi 30 % maximální inhibici erytrocytární AChE. Zvířata obdržela opakované injekce somanu každých 10 min. Pyridostigmin, který neproniká do mozku a neposkytuje ochranu před záchvaty a pozdějšími neuropatologiemi způsobenými organofosfáty, byl použit jako referenční látka. Ve srovnání s ním HA výrazně snižoval intenzitu i délku třesů a křečových záchvatů.^{(56), (57), (58)}

Byly také sledovány příspěvky AChE a BChE inhibice na dýchací dysfunkci způsobenou organofosfáty u myši. Z výzkumů vyplývá, že HA zvyšuje dýchací objem a snižuje dechovou frekvenci, a tím je redukován vliv organofosfátů na dýchání. Zároveň byl sledován vliv vysoké dávky huperzinu na další enzymy. Ani huperzin podaný v letální dávce neměl vliv na jiné enzymy důležité pro respiraci.⁽⁵⁹⁾

5.3.3.4 OCHRANA BUNĚK PŘED POŠKOZENÍM A PROTIAPOPTICKÝ EFEKT

Bylo testováno, zda specifické AChE inhibitory vykazují neuroprotektivní vlastnosti proti kolchicinem indukované apoptóze v mozkových granulových neuronech (CGNs). Apoptózu indukovanou kolchicinem nutno přičíst zvýšení aktivity GSK-3 β a CDK5 - dvou enzymů zapojených do cytoskeletálních změn. Takrin, HA ani huprin Y nemají dostatečnou účinnost proti kolchicinem zprostředkované apoptóze u CGNs, nemůžou tedy předcházet ztrátě neuronů způsobené změnami cytoskeletu.⁽⁶⁰⁾

Byl prokázán protektivní efekt HA proti oxygen-glukózovému (OGD) poškozením C6 buněk. Protektivní efekty HA byly částečně zprostředkovány „cholinergní protizánětlivou cestou“ přes α 7nikotinové receptory.⁽⁶¹⁾

Na krysích mozkových neuronech byly sledovány efekty HA na staurosporinem indukovanou apoptózu a potenciální mechanismy účinku. Předléčba buněk HA (0,5 - 100 μ M) 2 hodiny před expozicí 0,5 μ M staurosporinem po dobu 24 hodin, výrazně zvýšila přežití buněk. HA ve vyšší koncentraci také redukoval DNA fragmentaci způsobenou staurosporinem. Výsledky ukazují, že HA chrání neurony proti staurosporinem indukované apoptóze cestou regulace genů týkajících se apoptózy a regulace genu „caspase-3“ proenzymu.^{(62), (63)}

Výsledky byly potvrzeny na podobné studii, ve které byl zkoumán neuroprotektivní účinek HA proti apoptóze na kultuře myších primárních neuronů mozkové kůry. Apoptóza byla indukována pomocí poškození sérem po dobu 24 hod. Předléčba neuronů po dobu 2 hodin 0,1-10 μ M HA zlepšila přežití neuronů. HA v koncentraci 1 μ M prokazatelně snížil apoptózu pomocí inhibice cesty mitochondrie-caspase, přímo i nepřímo.⁽⁶⁵⁾

Byl zkoumán projektivní efekt HA před poškozením mozku hypoxickou ischemií u novorozenců krys. HA byl podáván denně v dávce 0,1 mg/kg i.p. po pět týdnů po poškození mozku způsobeném hypoxickou ischemií. Výsledky ukázaly, že HA může být prospěšný v léčbě hypoxicko-ischemické encefalopatie u novorozenců.⁽⁶⁷⁾

Obdobná studie podala další důkazy pro protektivní efekty HA proti přechodné mozkové ischemii a reperfúzi u myši.⁽⁶⁶⁾

5.3.3.5 DALŠÍ ÚČINKY

HA byl zmíněn i jako potenciální léčivo status epilepticus.⁽⁶⁸⁾

Bylo zjištěno, že HA je alkaloid, který redukuje zánik neuronů indukovaný glutamáty, ochraňuje myši před klonickými záchvaty a tedy disponuje antikonvulzním efektem při psychomotorických záchvatech.⁽⁶⁹⁾

Předchozí studie ukázaly, že HA stimuluje syntézu nervového růstového faktoru (NGF) v kultuře krysích korových astrocytů. Další studie se snažila zjistit, zda HA vykazuje neuroprotektivní aktivitu proti poškození oxidativním stresem přes zvýšení syntézy NGF v SHSY5Y neuroblastomových buňkách. Současné výsledky ukazují, že HA skutečně má cytoprotektivní efekt a tento účinek je zprostředkován alespoň částečně stimulací NGF a NGF receptorů.⁽⁷⁰⁾

Vědec, který první syntetizoval HA, Alan Kozikowski, řekl, že HA bude použitelný pro kohokoliv, kdo bude chtít zlepšit kognitivní funkce a povzbudit mentální výkonnost, jako například vědci, studenti, atleti, přetíženi pracující ve stresu a stárnoucí lidé.⁽⁵³⁾

5.3.3.6 MECHANISMUS ÚČINKU

Kinetická a strukturální data prezentovaná na interakcích AChE *Torpedo californica* (TcAChE) a (+)-HA, syntetickém enantiomeru (-)-HA, a jeho přírodním homologu (-)-HB, ukazují na interakce s anionickou podjednotkou aktivního místa, primárně přes π - π vazby a přes van der Waalsovy interakce nebo C-H... π interakce. Za jejich

klíčové interakce s aktivním místem přes vodíkovou vazbu a možná přes C-H... π interakce jsou odpovědné jejich α -pyridonové části. Všechny tři inhibitory mohou být pokládány za inhibitory hydrolýzy všech esterových substrátů, které jsou nabitě nebo neutrální.⁽³²⁾

Pomocí řízených molekulárně dynamických simulací byl sledován vznik a zánik komplexu HA vázaného v aktivním místě AChE *Torpedo californica* v dlouze aktivním stavu. Analýza ukazuje, že je pro HA jednodušší navázat se k aktivované formě AChE, než disociovat z této vazby, a zároveň, že uvolňování HA je mnohem pomalejší, než navázání k AChE. Sterická překážka úzkého profilu může být nejdůležitějším faktorem k vytvoření maximální odpoutávací síly při zániku komplexu HA a AChE. Vodné molekuly v aktivním místě působí jako lubrikant a usnadňují navázání či odpoutání HA.⁽³⁸⁾

Vazné vlastnosti HA s AChE *Torpediniforms naeline* (TnAChE) byly zkoumány pomocí 1H NMR. Experiment poskytl možnou metodu jak použít TnAChE pro určení místa nových HA derivátů jako AChE inhibitorů.⁽⁴³⁾

AChE izolovaná z hovězího fetálního séra (FBS AChE) byla dříve charakterizována jako lobulární tetramerní forma. Analýzy čištěných preparátů FBS AChE gelovou permeační chromatografií odhalily přítomnost stálých pevných katalyticky aktivních monomerních forem tohoto enzymu. Tyto dvě formy mohou být odlišeny jedna od druhé podle jejich molární hmotnosti, hydrodynamických a kinetických vlastností, teplotní stability a typu glykanů, které nesou. Žádné rozdíly nebyly mezi těmito formami zpozorovány z hlediska vázání klasických inhibitorů jako edrophonia a propidia, nebo běžných inhibitorů, nebo potenciálních drog pro léčbu AN – jako HA.⁽⁴⁴⁾

5.3.4 NOVÉ TECHNOLOGIE PŘÍPRAVY

Poměrně rychlá metabolizace HA a úzké terapeutické spektrum znesnadňuje jeho klinické užití. Proto se vyvíjejí nové retardované lékové formy s protrahovaným účinkem. Polymerní mikrosféry jako uvolňující systém mohou efektivně udržovat krevní koncentraci HA pomocí pomalého uvolňování po dlouhou dobu. Ke stanovení

aktivita AChE byla použita spektrofotometrická zkouška a pasívní uvolňovací testy ke zhodnocení paměťového výkonu. Výsledky ukázaly, že dávka mikrosfér obsahujících HA (300 µg/kg nebo 600 µg/kg) podávané i.m. může efektivně udržovat aktivitu drogy a významně prodlužovat inhibiční aktivitu na AChE. Mikrosféry obsahující HA vykázaly zlepšení kognitivních vlastností a zvýšení anticholinesterázové aktivity a mohou tak být kandidáty pro léčbu poškození paměti.⁽⁷⁴⁾

Technologie výroby a výzkum nových lékových forem je v současné době předmětem intenzivního výzkumu.^{(64), (71), (72), (73)}

5.3.5 HUPERZIN B

Přírodní (-) – HB (huperzine B) izolovaný z čínské léčivé rostliny *Huperzia serrata* ukazuje širokou inhibiční aktivitu AChE.

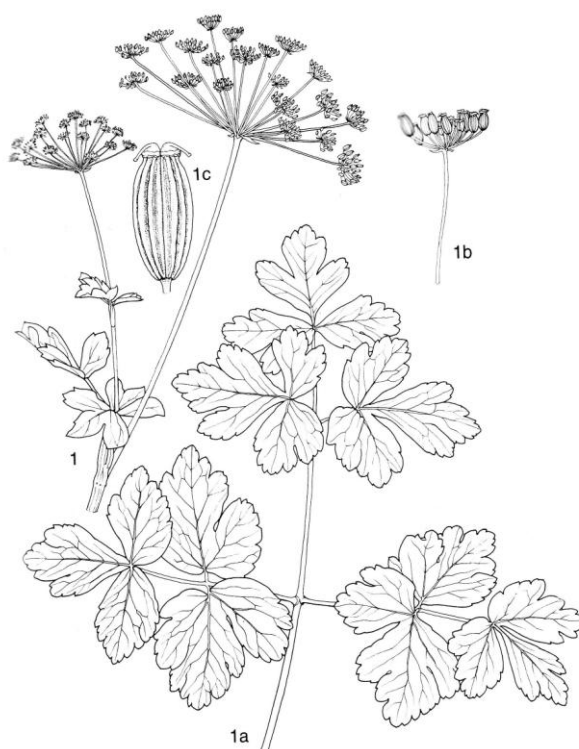
Stejně jako v případě huperzinu A byly syntetizovány i analogy HB a zjišťována jejich inhibiční aktivita. Z poznatků o struktuře AChE byly k výzkumu vybrány hlavně deriváty bis- a bifunkčních chinolizidinových alkaloidů. I zde se našly látky účinnější než původní molekula huperzinu B.^{(12), (15), (25)}

Kvůli obsahu lykopoidních alkaloidů jako je HA se zkoumají rostliny z čeledi *Huperziaceae*. Nejznámější je druh *Huperzia serrata* rostoucí v Číně. Ten je však ve velké míře sbírán pro léčebné užití a jeho úbytek ve volné přírodě je markantní. Ohromný úbytek těchto rostlin si žádá změnu ve sběračských praktikách a všeobecných postojích ve vztahu k těmto rostlinám. Zařazení stabilizačních plánů a výcvik místních komunit dbajících na vhodné sběračské praktiky těchto rostlin a jejich marketing v Číně jsou potřebné ke zvratu trendu ubývání těchto druhů. Kromě toho by měly přinést přínosy v socioekonomické situaci lokálních komunit a v podpoře důležitých zdrojů HA i vývoj kultivačních nebo jiných pěstebních praktik, např. *in vitro* pěstování.⁽³⁴⁾

5.4 LASER TRILOBUM L. – TIMOJ TROJLALOČNÝ

Čeleď: *Apiaceae* – miříkovité

Synonyma: *Laserpitium trilobum*, *Siler trilobum*



Obr.4.1: *Laser trilobum*, 1a dolní list, 1b plodenství, 1c plod⁽¹⁾

5.4.1 OBECNÉ CHARAKTERISTIKY

5.4.1.1 STUPEŇ OCHRANY

Rostlina je podle Přílohy II vyhlášky č. 395/1992 Sb. prohlášena za kriticky ohrožený druh.

5.4.1.2 POPIS ROSTLINY A MORFOLOGIE

Vytrvalá, lysá, živě zelená, po kmínu vonící bylina s tlustými kořeny. Oddenek je krátký, tlustý, 1-2 cm v průměru, hustě a dlouze čupřinatý. Lodyha mohutná, 60 – 120 cm vysoká, jemně rýhovaná, nahoře chudě větvená. Dolní listy dlouze řapíkaté, čepel v obrysu široce trojúhelníkovitá, 20 – 50 cm dlouhá, 15 – 30 cm široká, 2-3x trojčetná; pochvy jsou dlouhé, poněkud rozevřené, na okraji úzce suchomázdřité; lístečky nebo lístky dlouze řapíkaté, 1-2x trojsečné, úkrojky obvejčité až okrouhlé, 4 – 10 cm dlouhé, vroubkované, na vrcholu zaokrouhlené; horní listy z pochev přisedlé; 1-2x trojčetné, s terminálním lístkem zpravidla trojsečným. Okolíky 15 – 25 cm v průměru, tvořené 12 – 20 okolíčky; obal chybí nebo je redukován na 1 – 2 opadavé, úzce kopinaté listeny; stopky okolíček hladké, 15 – 20 cm dlouhé; okolíčky 8 – 20-tikvěté; obalíčky zpravidla z 5 listenů, 1 – 2 mm dlouhých, kopinatých, opadavých. Vnitřní květy v centrálním okolíčku jsou samčí, vnější oboupohlavné, okrajové okolíčky jsou zpravidla tvořeny pouze samčími květy. Kališní lístky zřetelné, trojúhelníkovité; korunní lístky bílé, 1,5 mm dlouhé, 1 mm široké s dlouhým nehtem. Merikarpia 5 – 10 mm dlouhá, 2 – 4 mm široká, s 5 přibližně stejně širokými primárními a 4 užšími sekundárními žebry, bezkřídlá, žlutohnědá; stylopodium mírně vypouklé, čnělky rozestálé. Kvete v červnu až červenci.

5.4.1.3 EKOLOGIE A CENOLOGIE

Roste ve světlých listnatých lesích na bazickém podkladu (vápnitý flyš) na vysychavých půdách východně orientovaného svahu, ojedíněle na jeho úpatí nebo na narušených okrajích lesní cesty. Ve společenstvu svazu *Quercion pubescenti-petraeae*, okrajově i ve svazu *Carpinion*.

5.4.1.4 ROZŠÍŘENÍ

Rozšíření v ČR: Velmi vzácně pouze na jižní Moravě na jediném nalezišti v Diváckém lese nedaleko Hustopečí, v kolinním stupni (320-400 m n. m.). Této lokality se pravděpodobně týkají všechny údaje, vztahované k obcím, ležícím

na okraji zmíněného rozsáhlého lesního komplexu. Jižní Moravou probíhá severní hranice areálu druhu.

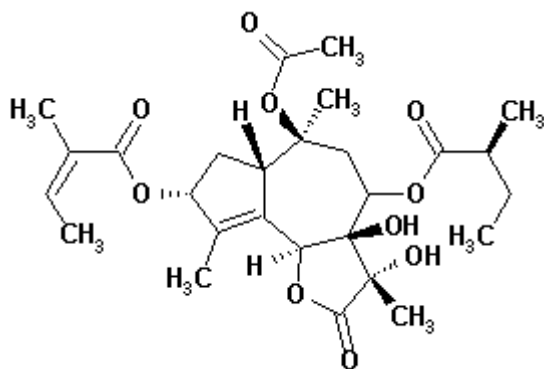
Celkové rozšíření: Ostrůvkovitě ve střední Evropě (střední Německo, severovýchodní Francie, jihovýchodní okraj Alp v Itálii a Rakousku, jižní Morava, Slovensko, Maďarsko, Rumunsko), hojněji na Balkáně (bývalá Jugoslávie, Albánie, Bulharsko), jižní a střední část Ukrajiny a evropské části Ruska, Kavkaz, Turecko, Libanon, Sýrie, Írán.⁽¹⁾

5.4.2 SLOŽENÍ

Struktury sesquiterpenoidních laktonů z *Laser trilobum* (dále LT) ukazují, že tyto laktony patří mezi stereostrukturální typy germanolidů, quaianolidů, eudesmanolidů a elemanolidů.⁽²⁾

Na bázi PMR spektra byla odvozena struktura isolaserolidu a provedena korelace s laserolidem.⁽⁴⁾

Pomocí GC/MS bylo analyzováno složení esenciálních olejů. Z oleje LT bylo identifikováno 18 složek. Hlavními složkami celkových olejů (85,2 %) jsou p-caryophyllen (22,3 %), myrcen (21,7 %) a β -sesquiphellandren (19,2 %).⁽⁵⁾



Obr. 4.2 : *Trilobolid* ⁽⁹⁾ (molekulová hmotnost: 508.65 g/mol, molekulový vzorec: C₂₆H₃₆O₁₀).⁽¹⁰⁾

Trilobolid je nerozpustný ve vodě, rozpustný v DMSO; může způsobovat podráždění očí, kůže a mukózních membrán; nutno chránit před světlem a horkem. Při tepelném rozkladu může uvolňovat toxické plyny jako oxid uhelnatý a oxid uhličitý.⁽¹⁰⁾

5.4.3 ÚČINKY

U několika přirozených sesquiterpenických laktonů izolovaných m.j. z *Laser trilobum* byl zjištěn odpuzující účinek na hmyz.⁽³⁾

LT používaný v Turecku jako koření disponuje inhibičním efektem na mikroorganismy kontaminující potravu. Byl sledován efekt LT na přírodní mikroflóru v kofte (turecké národní masové jídlo), připraveném ze tří vzorků hovězího masa a uskladněném při teplotách 7 a 20°C. Při koncentraci koření 1,0 % byla pozorována ve všech vzorcích a při obou teplotách pouze malá, nebo žádná inhibice, avšak významná inhibice mikroflóry byla pozorována ve vzorcích s kořením o koncentraci 2,0 %, zvláště skladovaných při 7°C. Inhibiční efekt rostl s klesajícím obsahem tuku a stoupajícím obsahem vody a proteinů v masných vzorcích. To vede k závěru, že používání LT jako koření zlepšuje hygienickou kvalitu produktů obsahujících malé množství tuků a skladovaných při teplotě 7°C.^{(6),(7)}

Trilobolid a 2,5-di(tert-butyl)-1,4-benzohydrochinon (BHQ) jsou účinnými SERCA inhibitory (inhibitory sarkoplazmatické vápníkové ATPázy) skeletálních svalů. Desoxytrilobolid a 2,5-di(tert-butyl)-1,4-diacetylphenol (acetyl-BHQ) mají mnohem menší účinky než jejich výchozí struktury a 2,5-di(tert-butyl)-1,4-benzochinon (BQ) nemá na ATPázovou aktivitu žádný vliv. Studie používající ATPázu značenou 4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolem (NBD) napovídají, že jak trilobolid, tak BHQ se váží pevněji k E2 konformaci ATPázy než ke konformaci E1. Desoxytrilobolid, acetyl-BHQ a BQ mají malý vliv na rovnováhu E1/E2 (dvě konformace, v kterých se enzym vyskytuje). Pokusy se směsmi trilobolidu a desoxytrilobolidu ukazují, že neaktivní deriváty jsou neschopné vázat se k ATPáze.⁽¹²⁾

Byl stanoven mechanismus inhibice SERCA sesquiterpenickými lactony thapsigarginem, trilobolidem a thapsivillosinem A (TvA). Byla sledována afinita ATPázy pro Ca²⁺ ionty v přítomnosti inhibitorů (I) a odpovídala změně rovnováhy konformací E1/E2 ATPázy ve vztahu k formě E2. Množství inhibitorů nad molární

poměr 1:1 k ATPáze neprodukovalo žádné další snížení afinity k Ca^{2+} . Tato pozorování se též shodují s formací modifikovaného stavu E2AI následujícím po iniciální vazbě inhibitoru na E2. Rovnovážná konstanta E2AI/E2I roste v pořadí $\text{TvA} < \text{trilobolid} < \text{thapsigargin}$. Výsledky napovídají, že efekty inhibitorů na obecný poměr E2 k E1 formám ATPázy hojně následují z formace E2AI z E2I a jejich vazné konstanty jsou velmi podobné E1Ca₂, E1 a E2.⁽⁸⁾

Analýza vaznosti 8-O-N-tert-butoxycarbonyl-12-aminododecanoylu odvozeného od 8-O-debutanoylthapsigarginu na terčovou molekulu SERCA, odhalila důležitost délky a flexibility postranního řetězce navázaného k O-8. Na základě analýzy série analogů 2-nesubstituovaných analogů trilobolidu bylo zjištěno a dokázáno, že jsou equipotentní s thapsigarginem jako SERCA inhibitory. Avšak pouze 12-Boc-aminododecaonoyl derivát způsoboval apoptózu.⁽¹¹⁾

5.5 VERATRUM ALBUM L. – KÝCHAVICE BÍLÁ

A VERATRUM NIGRUM L. – KÝCHAVICE ČERNÁ

Čeleď: *Liliaceae* – liliovité

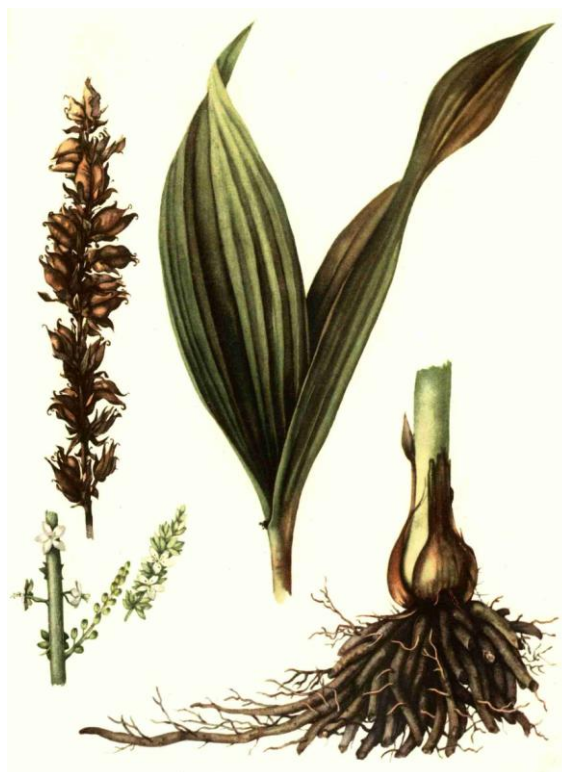
Synonyma *Veratrum album*: *Helleborus albus*, *Melanthium album*;
synonyma *Veratrum nigrum*: *Melanthium nigrum*, *Helonias nigra*

5.5.1 OBECNÉ CHARAKTERISTIKY

5.5.1.1 STUPEŇ OCHRANY

Podle Přílohy II vyhlášky č. 395/1992 Sb. je *Veratrum album* prohlášena za druh ohrožený, *Veratrum nigrum* za druh kriticky ohrožený.

5.2.1.2 POPIS A MORFOLOGIE ROSTLINY



Obr. 5.1 *Veratrum album*⁽¹⁾

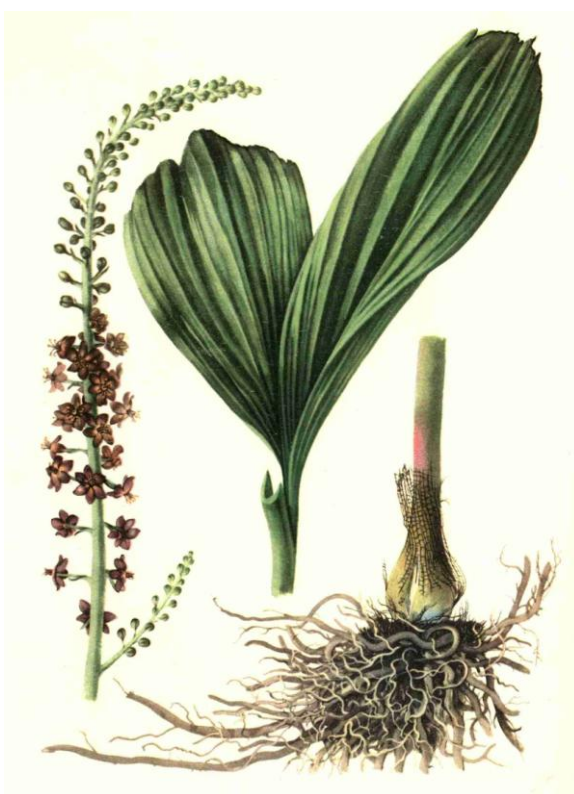
Veratrum album je 50 – 150 (-170) cm vysoká rostlina, s krátkým (až 8 cm dlouhým), tlustým (až 3 cm v průměru), svislým, nečlánkovaným, šedohnědým až černým oddenkem, který je válcovitý nebo obkuželovitý, jednoduchý nebo vícehlavý, a s četnými, rovnoměrně tenkými, světlejšími kořeny. Lodyhy jsou přímé, tlusté, zejména nahoře krátce a měkce chlupaté, hustě listnaté. Z oddenku každoročně vyrůstající široce eliptické, celokrajné, až 30 cm dlouhé a 12 cm široké listy se silně vyniklou souběžnou žilnatinou a nápadně zřásněné, na líci lysé, na rubu pýřité až pýřité plstnaté, jejichž pochvy tvoří zdánlivý stonek. Listy na stonku jsou jednoduché, střídavé, kopinaté až čárkovitě kopinaté, jinak podobné listům oddenkovým; k vrcholu lodyhy se listy zmenšují a v květenství přecházejí v široce vejčité nadlisteny. Rostliny kvetou poprvé teprve po 10 – 30 letech po vyklíčení semen a květonosté období se přitom opakuje s přestávkou 5 – 10 roků. Květenství tvoří bohatá lata z hustokvětých hroznů, 30 – 60 cm dlouhá, víceméně pýřitá až vlnatá. Květy jsou paprscité, trojčetné, s rozlišeným obalem, většinou mnohomanželné (polygamické), jsou dosti velké, v průměru 0,8 – 2 cm, stopkaté, se stopkou 2-3x kratší než okvěti. Lístky okvěti (3+3) jsou podlouhle eliptické až obvejčité, k oběma koncům zúžené, na okraji lysé nebo chlupaté, ke špičce často třásnitě zubaté, pouze dole srostlé, světle žlutozelené nebo bělavě zelené, se zelenými žilkami anebo celé bílé. Nitky tyčinek (3+3) přirůstají ke spodině okvětních lístků, jsou tenké, dole ± rozšířené, prašníky druhotně jednováčkové a otvírají se na vrcholu jedinou příčnou štěrbinou. Semeník je svrchní ze 3 plodolistů, na spodině srostlých. Plodem je víceméně přehrádkosečná, roztroušeně chlupatá tobolka, štěpící se ve tři měchýřky, pukající na břišním švu. Semena jsou četná, plochá, světle hnědá, křídlatě vroubená. Kvetou v červnu až srpnu.^{(1), (2), (4), (7)}

Proměnlivost:

Druh v širším pojetí se dnes většinou člení ve dva druhy, z nichž oba rostou v ČR roztroušeně od podhůří do hor. Bělokvětá kýchavice bílá (*V. album*) roste vzácně v jižních Čechách (Novohradské hory a jihovýchodní Šumava ve skupině Blanského lesa a Plechého). Kýchavice zelenokvětá (*V. lobelianum*) je rozšířena v pohořích sudetsko-karpatské soustavy a sestupuje nezdávka i do podhůří. Oba druhy se liší počtem chromozómů. Kýchavice bílá je omezena na hory jižní a střední Evropy (těžiště v Alpách), kdežto kýchavice zelenokvětá (*V. lobelianum*) má rozsáhlý areál

ze Španělska do Řecka a ze střední a severovýchodní Evropy celou Sibiří k Jeniseji, pak jižní Sibiří do Mandžuska a Japonska; na jihu na Kavkaze a Ťan-šanu.⁽²⁾

Dělení druhu však není jednotné, někteří autoři vylišují dokonce 4 odrůdy (variety) – *Veratrum album* var. *typicum* (subsp. *albicans*), *V. lobelianum*, *V. flavum* a *V. viride*, z nichž se u nás vyskytují první dvě variety.⁽¹⁾



Obr. 5.2 *Veratrum nigrum*⁽¹⁾

Pokud nekvete, podobá se *Veratrum nigrum* kýchavici bílé. Je to vytrvalá bylina, 60 – 130 cm vysoká, oddenek silný, krátký, tlustý, na vrcholku se zbytky loňských listů, vláknitě čupřinatý. Stonek oblý, dutý, měkce chlupatý. Listy jsou střídavé, po obou stranách lysé, hrubě podélně zrásněné, po nervech brázdité; dolní široce eliptické, hoření kopinaté až čárkovitě kopinaté. Květenství úzké, s větévkami pýřitými, složené ponejvíce z jednoduchých hroznů. Květní listeny jsou úzké, kratší než stopky, jež jsou zdéli okvětních lístků. Květy mají stavbu a složení jako u druhu *Veratrum album*, ale jsou menší, sotva 1 cm v průměru. Okvětní lístky eliptické, obvejčité až klínovité, celokrajné, nejčastěji černě purpurové až tmavofialové, odstávající nebo níci. Nitky tyčinek a prašníky jsou červené. Tobolka je lysá. Semena

jsou 7 – 8 mm dlouhá, křídlatě lemovaná. Kvete ve stáří 8 – 10 let v červenci až srpnu. Z květů se šíří silná vůně shnilého ovoce. Ta láká ze široka daleka brouky a mouchy, kteří kýchavici černou opylují.^{(1), (4)}

5.5.1.3 EKOLOGIE

Veratrum album roste na vlhkých horských loukách, na prameništích horských úbočí, údolních paloučích, lesních loukách a světlínách, nivách, holích i v kosodřevině a na vrchovištích od pásma podhorského do alpského.^{(1), (2), (3), (4), (5)}

Veratrum nigrum roste často v pohoří v nižších výškách (převážně v pahorkatině) než kýchavice bílá. Má také menší potřebu vody. Roste v polostínu na okrajích lesů a na otevřených stanovištích ve vlhkých lesích.⁽⁴⁾

5.5.1.4 ROZŠÍŘENÍ

Veratrum album je v Čechách zastoupena hlavně plemenem subsp. *lobelianum*. Roste v jižní části Šumavy, Novohradských horách, Jizerských horách, Krkonoších, Českém ráji, Hejšovině, Jeseníkách, Oderských vrších, Javorníkách, Beskydech, zřídka sestupuje do horního Pomoraví, Pobečví a Poodří.^{(1), (6)}

Veratrum nigrum u nás roste jen vzácně - v Bilichovském údolí u Loun; rostliny v okolí Karlštejna jsou kdysi vysázené. V oblasti Moravy a Slezska se vyskytuje u Suchova a Nové Lhoty v jižní části Bílých Karpat.^{(1), (4)}

Celkové rozšíření:

Veratrum album roste v pohořích severní Skandinávie, střední a jižní Evropy (od severního Portugalska přes Pyreneje, Alpy, středoevropská pohoří, Karpaty, pohoří jihoevropská, přes Polsko, Finsko, Karelii a Laponsko), v přiléhající Asii až po Sibiř (Kavkaz, Ural, Malá Asie, Sibiř po Altaj do střední Asie) a v horách severní Afriky.

Veratrum nigrum je prvek eurasijský (meridionální až boreomeridionální); přirozeně se vyskytuje v pásu středně vysokých pohoří od Francie směrem na východ až po východní Asii; rozšíření: jižní oblasti Alp (na západ po kanton Tessinský), severní Itálie, Čechy, Morava, jihozápadní Maďarsko, Balkánský poloostrov – v Evropě celkem roztroušeně, na sever po jižní Švédsko, horní Podněpří a horní Povolží, dále v celé Sibiři, včetně Příbalchaška a Dálného Východu, a také v oblasti čínsko-japonské.^{(1), (4)}

5.5.2 UŽITÍ V LIDOVÉ MEDICÍNĚ A DALŠÍ POUŽITÍ

Kýchavice je léčivkou již od starověku; její dávivé účinky, vyvolání kýchání po vdechnutí prachu z rozdrčené drogy a relativně dobrý účinek při zevním použití proti parazitům byly známy již dávno, zároveň však od užití odrazovala její velká jedovatost.⁽²⁾ Na její četné a silné účinky upozorňuje i doktor Mathioli: „Bílý Helleborus čili kýchavka žene oběma konci, dávením i stolicemi, vrchem i spodkem, avšak více dávením a vymítá rozličné vlhkosti s jakýmsi násilím, a skutečně, jest to prudký lék sám o sobě, který se nemá podávati bez přidání jiných věcí, které by mu tuto prudkost a násilnou moc odnímalý“; při vnitřním užití nabádá k velké opatrnosti, při zevním použití zmiňuje účinky proti kožním neduhům a parazitům, rovněž uvádí užití proti hmyzu a hlodavcům.⁽⁸⁾

Celá rostlina, ale především oddenek, obsahuje velmi jedovaté alkaloidy, které zůstávají nebezpečné i v sušené bylině. Pokud se rostlina dostane do sena, může dobytek i zemřít. Kdysi byl prášek ze sušeného kořene důležitým lékem na snížení vysokého krevního tlaku. Má čistící účinek a je proto považován za prostředek proti vodnatelnosti, revmatismu, astmatu, svrabu, lupénce a sklíčenosti. V homeopatii se kýchavice bílá používá naopak na příliš nízký tlak a vedle toho při sklíčenosti, bronchitidě, ischiasu, průjmu a bolestech nervů.

Sušený oddenek kýchavic (sbíraný na jaře ve 2., 3. nebo 4. roce^{(1), (4)}) se dříve drtil a prášek se považoval za jeden z nejdůležitějších čistících prostředků. Působí jako silný kýchací prášek. Přidával se v malých množstvích do šňupavého tabáku. Předávkování vede k silnému krvácení z nosu.

Kýchavice bílá byla považována ze smrtelně jedovatou a byla nazývána „posmrtné roucho“.^{(1), (4)}

Veratrum nigrum lze používat ke stejným účelům jako *Veratrum album*.

V hlubokých půdách zadržujících vlhkost můžou být oba tyto mrazuvzdorné druhy pěstovány v zahradní nebo parkové kultuře jako okrasné trvalky. Trvá však 8 – 10 let, než ze semínka vyrostе kvetoucí rostlina. Pro rychlejší výsledek se řízkují oddenky nebo se dělí trsy.^{(1), (4), (5)}

5.5.3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ

Veratrum album (dále VA) obsahuje řadu alkaloidů. Účinnými látkami drogy jsou steroidní alkaloidy cholestanového typu (1-1,6 %), jež lze rozdělit do tří skupin podle počtu atomů kyslíků v molekule:

- 1/ farmakologicky nejúčinnější jsou estery alkaminů - protoverinu, germinu a veracevinu. Z esterů protoverinu jsou to hlavně protoveratrin A a B (jejich směs se označuje jako protoveratrin) a protoveratridin. Z esterů germinu jsou to např. germerin a germitrin, z esterů veracevinu pak cevadin, cevacin a veratridin.
- 2/ alkaminy (volné alkaloidy) – jervin, rubijervin, isorubijervin a veratramin;
- 3/ glykosidy alkaminů – pseudojervin.

Alkaloidy jeví určitou příbuznost s alkaloidy rostlin lilkovitých. Kořen obsahuje 0,5 – 1,3 % alkaloidů, až 25 % pryskyřice, dále tuk, glykosidní hořčinu veratramarin a organické kyseliny. Alkaloidy jsou ve větším množství v oddencích s kořeny, méně pak v nadzemních rostlinných částech; jsou v kořenovém parenchymu poblíže endodermis, buňky endodermis je však neobsahují. Z nealkaloidních složek drogy je pozoruhodné zastoupení triterpenických látek. Vzájemný poměr alkaloidních skupin a jednotlivých alkaloidů není stálý a je podmíněn geneticky, ekologicky i stářím drogy.^{(1), (2)}

Z dalších alkaloidů byly nalezeny: veramarin z VA ssp. *lobelianum*.⁽⁹⁾, veralobin⁽¹³⁾, glykoalkaloid rhamnoveracintin⁽¹⁸⁾, veralkamin z VA ssp. *lobelianum*, jehož struktura byla stanovena rentgenovou analýzou jeho hydrojodidu (C₂₇H₄₃NO₂·HI·CH₃OH) jako (22S:25S)-22,26-epimino-17β-methyl-18-nor-cholesta-5,12-dien-3β,16β-diol[17S:22S:25S)-22.26-epimino-18(13→17)-abeo-cholesta-5,12-dien-3β-16β-diol.⁽¹⁰⁾, minoritní alkaloidy z VA ssp. *lobelianum*

veralinin (jehož struktura je (22S:25S)-22,26-epimino-17 β -methyl-18-nor-17-isocholesta-5,12-dien-3 β -ol (16-deoxy-ve-ralkamin))⁽¹¹⁾ a verazin (C₂₇H₄₃NO), z něj byly katalytickou hydrogenací získány dva tetrahydroveraziny A a B a ukázalo se, že jsou identické s (22S:25S)- a (22R:25S)-22,26-imino-5 α -cholestan-3 β -ol, dříve syntetizovanými z 3 β --acetoxy-pregn-5-en-20-onu. Verazin byl na základě výsledků analýz stanoven jako (25S)-22,26-imino-cholesta-5,22(N)-dien-3 β -ol.⁽¹²⁾

Z rhizomů VA byly izolovány další dva steroidní alkaloidy – veramanin a neojerminalanin a i známý glykoalkaloid pseudojervin⁽¹⁵⁾ a jiné antihypertenzivní alkaloidy.⁽¹⁴⁾

Z methanolického extraktu VA byly získány dva nové alkaloidy (+)-jervinon a (+)-verabenzamin.⁽¹⁶⁾

V listech turecké VA byly nalezeny další dva steroidní alkaloidy - O-acetyljervin a methyljervin-N-3'-propanoát spolu se známým alkaloidem jervinem. Struktura byla stanovena na základě 2D NMR a dalších spektroskopických technik.⁽¹⁷⁾

Chemismus *Veratrum nigrum* (dále VN) je asi v podstatě shodný s chemismem druhu *Veratrum album*.^{(1), (4)}

Z nezpracované drogy „Li-lu“ (kořenů a rhizomů čínské VN var. *ussuriense*) byly izolovány alkaloidy: germidin, germerin, 15-O-(2-methylbutyryl)germin, verazin, jervin a neogermudin a nový alkaloid verussurin, jehož struktura byla pomocí spektroskopických metod stanovena jako: 16-O-(2-methylbutyryl)germin.⁽³⁷⁾

Z *V. nigrum* var. *ussuriense* byl izolován echinulin a modifikovaný dipeptid, jež byl spektroskopickou analýzou potvrzen jako aurantiamid acetát.^{(39),(40)} Z kořenů a rhizomů byly dále izolovány dva minoritní steroidní alkaloidy: verussurin, jehož struktura byla na základě spektrálních dat stanovena jako 7-O-acetyl-15-O-(2-methylbutyryl)-3-O-veratroylgermin a verabenzamin 15-O-(2-methylbutyryl)-3-O-veratroylgermin.⁽³⁶⁾

Struktury dalších steroidních alkaloidů z VN byly popsány jako 15-(2-methylbutyryl)germin, 3-(2-hydroxy-2-methylbutyryl)-15-(2-methylbutyryl)germin a 16-(2-methylbutyryl)germin.⁽³⁸⁾

5.5.4. ÚČINKY

5.5.4.1 ÚČINKY VERATRUM ALBUM

Drogou jsou oddenky s kořeny (*Rhizoma veratri*), které se vykopávají na podzim. Droga je výhradně sběrová. Droga je šedo- až černohnědá, bez pachu, s trvale ostrou, nahořklou chutí, dráždicí (při manipulaci s ní nebo při práškování) ke kýchání. Je prudce jedovatá a smrtná dávka pro dospělého se pohybuje od 1 do 2 g.⁽²⁾

Radix veratri je droga oficiální ve většině lékopisů v Evropě a Severní Americe.

Toxicita a farmakologie: Účinnými látkami jsou alkaloidy, přičemž estery alkaloidů jsou účinnější než alkaminy. Nejúčinnější ze všech je protoveratrin, který je také nejjedovatější. Smrtná dávka pro myš je 0,084 mg na 1 kg váhy. U jervinu je to 9,3 mg, u pseudojervinu 50 mg, rubijervinu 70 mg, u germinu 139 mg. Alkaloidy jsou si účinkem podobné.⁽¹⁾

V terapii se často používalo oddenků (*Radix veratri albi*, *Rhizoma veratri*, *Radix hellebori albi*) sbíraných na podzim a z nich připravovaných galenik (tinktura, šňupavé prášky, mast a extrakt). V homeopatii se užívá opatrně usušeného oddenku. V 50. letech 20. století se v humánním lékařství používalo kýchavicové drogy poměrně zřídka (vnitřně jako analgetikum), častěji se používala ve veterinární praxi vnitřně jako stomachikum, emetikum, diuretikum a excitanc, u psů proti psince, zevně jako insekticidum (vši, blechy apod.).⁽¹⁾⁽⁷⁾

Její léčebné používání patří dnes již do jedné z kapitol historie hledání nových přírodních léků ovlivňujících krevní tlak a krevní oběh. V 50. letech 20. století výzkum látek obsažených v kořenech této rostliny kulminoval izolací velmi silně biologicky aktivních alkaloidů, zejména protoveratrinu (který byl zaveden do léčby vysokého krevního tlaku), dále jervinu, pseudojervinu, cevadinu, germerinu aj. (Při srdeční nedostatečnosti údajně působí obdobně jako náprstníkové glykosidy.) Výzkum VA alkaloidů přispěl významně k poznání nových mechanismů zúčastňujících se na vzniku a trvání hypertenze. Ve srovnání s jinými léky snižujícími krevní tlak se mechanismus účinku těchto látek ukázal totiž zcela ojedinělým. Prostudování tohoto mechanismu působení přispělo i k poznání nových možností, jak v léčbě tohoto onemocnění postupovat. Alkaloidy kýchavice sehrály

tedy v historii bádání v oblasti příčin vzniku vysokého krevního tlaku a možností jeho ovlivňování významnou a velmi záslužnou roli.^{(1), (2), (3)}

Pokud jde o jejich praktické použití, bohužel se brzy ukázalo, že významný účinek těchto alkaloidů nelze oddělit od jejich silné toxicity, proto se navzdory jinak velmi výhodným léčebným účinkům muselo od jejich používání upustit. Nicméně dodnes se přes obrovský rozvoj léčebných možností v této oblasti nepodařilo připravit nebo najít látku, která by tento typ účinku dokázala plně nahradit.⁽³⁾

Dříve se droga uplatnila při některých akutních hypertenzích, těžkých lokálních neuralgiích, dysfunkcích zažívacích orgánů nejasného původu a těžké svalové únavě. Přes její jedovatost bylo na trhu několik hromadně vyráběných léčivých přípravků (zejména v USA) s určením jako emetika, antimyastenika a antihypertonika. Poměrně často se droga předpisovala jako tinktura, kde jsou větší možnosti individuálního dávkování, a uplatnila se i ve zvěrolékařství jako stomachikum a emetikum pro přežvýkavce nebo excitans pro koně.⁽²⁾

Místně alkaloidy dráždí. V nose způsobují nezadržitelné kýchání, v očích palčivou bolest a slzení, v ústech pálení a slinění. Vetřeny do pokožky způsobují pocit pálení a pak otupení citlivosti. Rovněž sliznici žaludeční a střevní silně dráždí. Již v malých dávkách způsobují rozšíření cév a pokles krevního tlaku. Zároveň zpomalí puls a sníží počet dechů.

Zajímavý je účinek na izolovaný kosterní sval. Po podráždění elektrickým proudem nastává rychlý stah a po něm rychlé uvolnění; alkaloidy uvolnění mnohonásobně zpomalí.

Alkaloidů kýchavice se používalo jako insekticida; dnes jsou pro svou jedovatost nahrazeny jinými a ještě účinnějšími látkami.⁽¹⁾

Oddenek obsahující jedovaté alkaloidy způsobuje nechutenství, závrať, bolesti břicha, dávení žluče; prášek vdechnut vzbuzuje prudké kýchání. Při otravě kýchavicí se doporučovalo podávání teplé vody s olejem, pak slézový čaj s medem nebo černou kávu.

V lékařství se užívalo tinktury při náhlých průjmech a dávení spojených s velkou slabostí, silnou žízň a zaraženým močením.

Hojněji bylo zevně používáno lihového výtažku kýchavice při vleklých kožních chorobách, revmatismu a obrnách, doporučován též byl vodný nálev k odstraňování pih (Solbigerova tinktura).⁽⁵⁾

VA prokázal inhibiční aktivitu z více než 90 % na růst *Mycobacterium tuberculosis* v koncentraci nižší než 100 µg/ml. Byl izolován jervin a stanovena jeho minimální inhibiční koncentrace 25 µg/ml.⁽²¹⁾

Podávání O-acetyljervinu způsobuje na dávce závislé (10-100 µg/kg) snížení krevního tlaku a tachykardii u anestetizovaných krys s normálním tlakem. Předléčba zvířat propranololem (1 mg/kg) zrušil tento kardiovaskulární efekt O-acetyljervinu. V experimentech u izolovaných tkání (králičí aorty) O-acetyljervin (10 – 100 µ/ml) způsobil na dávce závislou relaxaci kontrakcí indukovaných fenylefrinem. U spontánně bijícího srdce (atria) pekingského prasete způsobil pozitivně inotropní a chronotropní efekt na dávce závisle (10 – 100 µ/ml). Tyto účinky byly rušeny v přítomnosti propranololu, podobně jako u isoprenalinu. Tyto výsledky napovídají, že O-acetyljervin je agonista β1 a β2 receptorů, podobně jako isoprenalin.⁽²³⁾

OTRAVY

S oběma druhy je nutno zacházet jako s prudce jedovatými rostlinami. Pro člověka i zvířata je prudce jedovatý především oddenek; požití 2 g se považuje za smrtelnou dávku. Nebezpečné jsou i mladé rostliny. Přestože je zvířata většinou odmítají, na horských pastvinách jsou vytrhávány a odsekávány.⁽⁷⁾

VA si lze splést s hořcem žlutým (*Gentiana lutea*), který je používán k přípravě nápojů.⁽³²⁾ Avšak zatímco listy VA jsou střídavé a květy bílé, *Gentiana* má listy vstřícné a kvete žlutě.

Otrava se projevuje asi do 30 minut pálením žáhy a pálením v ústech, nauseou, vomitem, bradykardií, bolestmi břicha, někdy bolestivým průjmem s krvavou stolicí, povrchním dýcháním, rozšířením zornic, blokem atrioventrikulárního vedení, hypotenzí a vasodilací. Smrt může nastat zástavou dechu a srdce. Léčení otravy je symptomatické; podávají se hlavně centrální analeptika, jež zvyšují krevní tlak a udržují dýchací centrum v činnosti. Lékem volby je atropin.^{(1), (19), (26), (28)}

V případě, že se vdechuje prášek, otrava se projevuje kýčáním a pálením očí.

U zvířat je otrava méně častá, poněvadž zvířata rostlinu odmítají. Projevuje se neklidem, sliněním, zvracením nebo dávivými pohyby, průjmem, svalovou slabostí, nejistou až nemožnou chůzí, celkovou slabostí a ochrnutím. Někdy se dostaví také křeče. Smrt nastává zadušením. Otravy byly pozorovány u člověka, koně, skotu, ovce, kozy, psa a kočky. Jejich prognóza je málo příznivá.⁽¹⁾

V minulosti bylo zveřejněno již mnoho případů zjevné intoxikace způsobených alkaloidy z VA:

- v Rakousku bylo během pěti let zaznamenáno sedm případů⁽³⁰⁾, během 29 let ve Švýcarsku se vyskytlo 8 případů otravy VA⁽²⁵⁾, ohlášeny byly i dva případy otravy tinkturou VA⁽³¹⁾, vyskytly se i dva fatální případy otravy po masivním požití rostliny, kdy metoda HPLC-elektrosprejová ionizace-MS identifikovala alkaloidy veratridin a cevadin⁽²⁴⁾,
- další případy akutní náhodné otravy VA se vyskytly několik minut po požití domácího „hořcového“ vína kontaminovaného veratrovými alkaloidy (ve čtyřech případech ukázal počáteční ECG sinusovou bradykardii, u jednoho pacienta byl zaznamenán kompletní atrioventrikulární blok s ektopickou síňovou bradykardií a intermitentní idioventrikulární rytmus; léčba byla symptomatická s podáním atropinu po několik hodin)⁽²⁸⁾,
- v minulých letech byl také ve skandinávských zemích prodáván kýčací prášek obsahující práškovaný kořen VA, který způsobil několik intoxikací⁽²⁹⁾,
- dva muži 6 hodin po požití „genciánky“ trpěli nauseou a vomitem předcházející bolestí hlavy, potíže začaly hodinu po požití a pokračovaly u jednoho z pacientů průjmem; životní funkce byly kromě srdečního rytmu (42 – 45 úderů za minutu) normální; laboratorní nálezy byly neprůkazné, elektrokardiogramy ukázaly sinusovou bradykardii; pacientům bylo podáno aktivované uhlí a antiemetika a byli přijati na pozorování dalších znaků otravy; srdeční rytmus se vrátil do normálu během 8 hodin po přijetí⁽³²⁾,
- ve dvou případech otravy VA se klinické symptomy objevily rychle – během 30ti minut bylo pozorováno zvracení, pokles krevního tlaku a bradykardie; následovalo vyléčení bez následků.⁽³³⁾
- u 12 pacientů od 20 do 80 let - 6 mužů a 6 žen - byly sledovány elektrokardiografické změny během intoxikace VA. U deseti z nich byly nalezeny

charakteristické znaky: sinusová bradykardie (38 – 40 tepů za minutu), zkrácený interval PQ na 0,12 – 0,08 s a QTc na 0,36 – 0,32 s, poruchy rytmu – atriální a substituční ventrikulární extrasystoly, nodální rytmus (1 pacient), porušená komorová repolarizace – deprese segmentu ST, nízké a (nebo) ostré T vlny. Autoři se domnívají, že bradykardie je způsobena reflexním zvýšením tonu vagu, ale ostatní změny ECG jsou způsobeny přímo toxickým působením veratrových alkaloidů na myokard. Tato domněnka je podpořena faktem, že atropin upravuje bradykardii, ale nemá vliv na ostatní patologické změny ECG. Je prospěšná rychlá eliminace toxinů a aplikace kardiotropních přípravků – atriphos, kokarboxyláza, vitaminy skupiny B.⁽²⁷⁾

HOMEOPATIE

Z analýzy dat (za 16 let), která byla provedena za účelem validace homeopatických symptomů pro preskripci VA vyplynulo, že nejdůležitějšími symptomy pro preskripci VA jsou bolesti při odumírání tkání těla, vomitus a jarní kašel.⁽³⁴⁾

Veratrum je obsaženo i v některých homeopatických přípravcích. Hepeel® je lék užívaný všeobecně k léčbě primárních a sekundárních funkčních nemocí jater. Je složen z vysoce ředěných extraktů ze sedmi složek, m.j. z *Veratrum* z VA. Byl testován účinek těchto různě koncentrovaných (ředěných) rostlinných extraktů jak samotných, tak v různých kombinacích, z hlediska jejich antioxidačních, antiproliferativních a biochemických efektů na HepG2 hepatoblastomové buňky. *Veratrum* prokázalo relativně slabý, i když významný antiproliferativní vliv na včlenění H-3-tymidinu do DNA u normálních HepG2 buněk. Efekt kombinace *Veratrum* a *Colocynthis* byl výrazně vyšší než u jednotlivých tinktur, ale ne aditivní. Tato kombinace redukovala počet buněk.⁽²²⁾

KARCENOGENITA

Metodou polarografické redukce byla v sérii 13 alkaloidů izolovaných z různých částí VA subsp. *lobelianum* zkoumána jejich potenciální karcinogenita v bezvodém N,N-dimethylformamidu (DMF). Ukázalo se, že karcinogenita těchto alkaloidů je

prakticky nulová. Pouze jervin a rubijervin vykazaly zvýšené hodnoty a klasifikují se jako možné lidské karcinogeny. ⁽³⁵⁾

5.5.4.2 ÚČINKY VERATRUM NIGRUM

Toxicita, farmakologie a příznaky otravy jsou podobné jako u *Veratrum album*; otravy kýchavicí černou byly zaznamenány u člověka, skotu, koně, ovce, kozy, psa a kočky.

V humánní ani veterinární praxi nejsou rostlina ani její části používány. ⁽¹⁾

Byl sledován efekt *Panax ginsengu* společně s *Veratrum nigrum* na aktivitu mRNA CYP450 a jeho expresi u krys. UV chromatografií byla měřena aktivita krysího jaterního mikrozomálního cytochromu P450, 5b, aminopyrin N-demethylázy a p-nitrofenol-hydroxylázy. *Panax* s VN zřejmě snižují obsah P450 a b5 složek v jaterních mikrozomech. Užívání jednotlivě i v kombinaci obou rostlin inhibuje aktivitu aminopyrin N-demethylázy. Podle hladiny mRNA je po expozici VN zjevně zvýšena exprese CYP2C11, zatímco kombinované skupiny expresi tohoto cytochromu snižují. Kombinace obou drog indukuje expresi CYP1A1 a CYP3A1. Na CYP2B1/2 má *Panax* inhibiční efekt, zatímco v kombinaci s VN má efekt indukční. *Veratrum nigrum* v kombinaci s *Panax ginseng* mění výrazně jeho modulační účinek na výskyt P450. Jedná se o interakci mezi drogami. ⁽⁴¹⁾

Z experimentálních výsledků absorpce v horní části zažívacího traktu p.o. podané VN (hlavními parametry byly anomálie v ECG a symptomy intoxikace) vyplynulo, že VN může být vstřebávána v dutině ústní, jícnu i v žaludku myši a potkanů, a že jícen absorbuje lépe než žaludek. ⁽⁴³⁾ U krys, koček, potkanů a myši se VN vstřebává během krátké periody, proto je při léčbě akutních stavů možné p.o. podání. ⁽⁴²⁾

Jedna ze studií zkoumala protektivní efekt a možný mechanismus účinku alkaloidů z VN var. *ussuriense* na ischemické/reperfuzní (I/R) poškození jater u krys. Čtyřicet samců krys bylo randomizovaně rozděleno do čtyř experimentálních skupin po deseti na kontrolní „A“ skupinu, „B“ I/R skupinu předléčenou normálním solným roztokem, „C“ skupinu, které bylo předem podáváno malé množství (10 µg/kg) VN alkaloidů a „D“ skupinu, které bylo podáváno dvojnásobné množství VN alkaloidů.

I/R jater byla indukována uzavřením portální vény a hepatické artérie na 90 minut a následnou reperfuzí po dobu 240 minut. VN alkaloidy byly podávány intraperitoneálně, 30 minut před zákrokem, zatímco skupinám A a B byly podány stejné objemy normálního salinického roztoku. Byly stanoveny aktivity superoxid dismutázy a myeloperoxidázy, obsah NO v jaterní tkáni po skončení reperfúze a též byly zkoušeny jaterní funkce. Byla detekována exprese intracelulární adhezní molekuly-1 (ICAM-1) a E-selektinu.

Výsledky ukázaly, že podávání VN alkaloidů před zákrokem významně chrání játra krys před I/R. Protektivní efekt je možná spojen se zlepšenou antioxidační kapacitou redukce zánětlivých odpovědí a potlačením exprese ICAM-1 a E-selektinu.⁽⁴⁴⁾

Další studie potvrdila centrální hypotensivní efekt VN alkaloidů z VN var. *ussuriense* u hypotenze ledvin u krys (RHR). Kvantitativní imunocytochemickou metodou (ICC) byl sledován a detekován efekt VN alkaloidů (30 µg/kg) na aktivitu centrálních katecholaminergních neuronů v oblastech C1, C2, AI a AS u RHR. VN alkaloidy zvýšily aktivitu katecholaminergních neuronů u RHR.⁽²⁰⁾

5.6 PŘEHLED CHRÁNĚNÝCH DRUHŮ ROSTLIN POTENCIÁLNĚ VYUŽITELNÝCH VE FARMACII

Kriticky ohrožené druhy:

Leucojum aestivum (bledule letní; galanthamin – Alzheimerova choroba, biosyntéza chelidonové kys.)

Utricularia vulgaris (bublinatka obecná; iridoidní glykosidy aukubin, katalpol a jejich estery)

Rhynchospora alba et fusca (hrotnosemenka bílá a hnědá; 5-n-alkylresorcinoly)

Aster alpinus (hvězdnice alpská; diterpenoidy salviarin, bakchotricuneatin)

Phyllitis scolopendrium (jazyk jelení; listy používány k léčbě všech dýchacích a plicních onemocnění)

Plantago maritima (jitrocel přímořský; fenylypropanoidy p-kumarové kys., kys. kávová, flakon luteolin, kávové fenyletylové glykosidy, verbascosidy a plantamajosidy)

Pulsatilla patens (koniklec otevřený; triterpenoidní saponiny, saponin patensin)

Trapa natans (kotvice plovoucí; snižuje bolest u herpes zooster)

Gymnadenia conopsea (pětiprstka obecná; dihydrofenanthreny a dihydrostilbeny – vliv na inhibici degranulace)

Hippuris vulgaris (prustka obecná; iridoidní glykosidy aucubin, catalpol)

Veronica bellidioides (rozrazil chudobkovitý; iridoidní a aromatické glykosidy)

Reseda phyteuma (rýt velkokališní; protizánětlivá aktivita, vliv na metabolismus kys. arachidonové)

Senecio rupestris (starček skalní; pyrrolizinové alkaloidy senecionin, integerrimin a retrovsin)

Bupthalmum salicifolium (volovec vrbolistý; flavonoidní glykosidy, quercetagetin, patuletin, seskviterpeny)

Salix myrsinifolia (vrba černající; flavonoidy, fenolické glykosidy, dihydromyricetiny, luteoliny, quercetiny, fenolické kyseliny)

Chimaphila umbellata (zimozeleň okolíkatý; benzosemichinony, naftosemichinony - chimaphylin, antrasemichinony; léčba topických onemocnění kůže)

Thalictrum simplex (žluťucha jednoduchá; pavine alkaloid thalimonin a jeho N-oxidy - protichřipková aktivita; aporfinové a fenanthrenové alkaloidy)

Amanita caesarea (muchomůrka císařka; ergosterol a organické kyseliny)

Xerula melanotricha (slizečka chlupatá; xerulin a dihydroxerulin – inhibitory syntézy ergosterolu; strobilurin A – antibiotická aktivita, strobilurin C a oudemansin B – antifungální a bakteriostatická aktivita, možná i inhibice dýchání)

Silně ohrožené druhy:

Dianthus superbus (hvozdík pyšný; cyklické peptidy diantiny A-F; inhibice Chlamydia trachomatis, antivirová aktivita na mozaiku tabákového viru, antimutagenní aktivita proti kys. picrolonové; dianosidy a triterpenoidní saponiny – analgetická a antihepatotoxická aktivita)

Moneses uniflora (jednokvítka velekvětý; chlorochimafilin a chimafilin – antibiotická a antifungální aktivita)

Gratiola officinalis (konitrad lékařský; kukurbit. glykosidy – gratosid, flavonoidy)

Swertia perennis (kropenáč vytrvalý; xanthony, arbinosové flavon C-glykosidy)

Nymphaea candida (leknín bělostný; anthokyaniny)

Nymphaea alba (leknín bílý; kys. gallová a essagová – antirakovinová a antivirová aktivita; profylaxe renálního ox. stresu, hyperproliferativní odezvy a renálního karcinomu u krysy)

Arctostaphylos uva-ursi (medvědice lékařská; fenolické glykosidy - arbutin – antimikrobiální aktivita, moč. antiseptikum a antiadhezivum; corilagin – synergismus s β -laktámovými atb; saponiny; hydrochinony, tanniny; antifungální aktivita malých fenolických složek a organických kyselin; podporuje antifungální a protizánětlivou aktivitu dexamethasonu)

Aconitum anthora (oměj jedhoj; diterpenoidní alkaloidy)

Rubus chamaemorus (ostružiník moruška; antioxidační aktivita fenolických struktur; antokyanidiny, vitamin C; antimikrobiální a antimykotická aktivita flavonoidních struktur; ellagotanniny – antikarcinogenní, antimutagenní a antioxidační aktivita)

Teucrium scordium (ožanka čpavá; neo-clerodanový diterpen teuscordin, teucrin E a H4)

Teucrium montanum (ožanka horská; diterpenoidy – motaniny, teubotrin; flavon cirsilol)

Nasturtium officinale (potočnice lékařská; glukosinolát nasturtiin, vitamin C; flavonoly rhamnatin a rhamnazin – inhibice uvolňování histaminu; prevence rakoviny plic spojené s tabákovými karcinogeny)

Ranunculus lingua (pryskyřník veliký; glykoflavonoidy)

Drosera rotundifolia (rosnatka okrouhlostá; flavonoidy – hyperosid, quervetin, isoquercetin - a kys. ellagová – protizánětlivý efekt; antispasmodikum; 7-methyljuglon; farmakologicky aktivní 1,4-naftochinony a naftohydrochinony)

Helichrysum arenarium (smil písečný; cholagogum, cholaretikum, hepatoprotektivum a detoxikans; díky fenolům a flavonoidům – galngin, anringenin, kampferol - antioxidační vlastnosti; naringeninové glykosidy - antimikrobní vlastnosti)

Delphinium elatum (stračka vyvýšená; diterpenoidní alkaloidy – elasin, isodelfelin, elatin, deltalín, deltamin, delfelin, lycoctonin, ...; norditerpenoidní glykosidy – elanin, pacinin, delectinin, ajaconin)

Cypripedium calceolus (střevíčník pantoflíček; fenylderiváty, terpenoidy, deriváty mastných alkoholů, chinony)

Gypsophila paniculata (šater latnatý; triterpenoidní saponiny s chimer. toxiny drasticky zvyšují cílenou cytotoxicitu na nádorové buňky, saponiny též ovlivňují kinetiku bakterií a hub; spermicidní efekt saponinů v souvislosti s hemolytickou aktivitou; flavonoidy)

Empetrum nigrum (šicha černá; triterpenoidy, flakony, bibenzyl; antifungální a antibakteriální aktivita)

Taxus baccata (tis červený; alkaloidy: taxany - paklitaxel a docetaxel – léčba karcinomu ováří, prsu, plic, prostaty; a taxoidy – taxusin, baccatin – s protizánětlivými a analgetickými účinky; dále antifungální (biflavony) a antimikrobní aktivita; antiulcerózní lignany – lariciresinol, taxiresinol, ...; flavonoly catechin, epicatechin, proanthokyanidiny; flavonoidy quercetin, myricetin, kaempferol; a jejich analogy a další látky)

Pinguicula vulgaris (tučnice obecná; iridoidní glykosidy - catalpol, globularin; alkaloidy; flavonoidy – apigenin, isoscutellarein, scutellarein, luteolin, ...)

Coeloglossum viride (vemeníček zelený; neuroprotektivní efekt; coeloviriny A-G)

Pedicularis palustris (všivec bahenní; iridoidní glykosidy aukubin a další)

Ajuga pyramidalis (zběhovec jehlancovitý; neo-clerodanové diterpeny – ajugapyrin, irinoidní glykosidy)

Campanula barbata (zvonek hadincovitý; flavonoidy a fenypropanové deriváty – barbitosidy A-D; kempferoly a quercetiny, katechiny)

Thalictrum flavum (žluťucha slatinná; benzylisochinolinové alkaloidy – protoberberin, berberin, kanadin; antimikrobiální aktivita; α -tokoferol – antioxidační aktivita; další alkaloidy – glaucin, thalicsimidin, thaliglucin, thalidazin, ...)

Druhy ohrožené:

Arum maculatum (aron plamatý; lektiny a isolektiny – spermagglutinin – prevence chlamydiózy, agglutinin; protimikrobní aktivita pro *Staphylococcus epidermidis*, insekticidní aktivita; maesachinon – inhibice mitochondriálních respiratorních enzymů; glukomannan – účinek na žaludeční vředy)

Leucojum vernum (bledule jarní; alkaloidy lycorin, homolycorin a 2-O-acetyllycorin – inhibice HIV 1 ~ antiretrovirální aktivita; flavonolové oligosacharidy; D-mannosa specifické lektiny)

Allium victorialis (česnek hadí; cytotoxická a antioxidační aktivita; steroidní saponiny, antocyaniny)

Verbascum phoeniceum (divizna brunátná; makrocyclické laktamové alkaloidy – verballoscenin, verbacin a verballocin)

Cornus mas (dřín obecný; antokyany – částečně inhibují COX 1 a 2; antioxidační aktivita)

Linum flavum (len žlutý; podophyllotoxin a 6-methoxy-podophyllotoxin – lignany s antitumorovou a antivirovou aktivitou, koniferin)

Lilium martagon (lilie zlatohlávek; fytrolinové glukosidové estery a steroidní saponiny; léčba nemocí jater)

Melittis melissophyllum (medovník velkokvětý; iridoidy – harpagid acetát; arabinogalktany; léčba očních zánětů a antispasmatika)

Inula oculus-christi (oman oko Kristovo; sesquiterpenoidní laktony – pulchellin, gaillardin; flavon hispidulin)

Aconitum variegatum (oměj pestrý; norditerpenoidní a diterpenoidní alkaloidy)

Aconitum vulparia (oměj vlčí; norditerpenoidní alkaloidy; flavonolové glykosidy a flavonoidy)

Gymnadenia conopsea (pětprstka žežulník; antialergenní fenanthreny a stilbeny; inhibice antigenem indukované degranulace)

Lycopodium annotinum (plavuň pučivá; alkaloidy – lanotininidiny A-G)

Calycocorsus stipitatus (pleška stopkatá; sesquiterpenoidní laktony – guajanolidy)

Arnica montana (prha chlumní; sesquiterpenické laktony – helenalin – protizánětlivé účinky – inhibice syntézy prostaglandinů a leukotrienů a léčba kontaktní dermatitidy; v homeopatii na poporodní krvácení; antibakteriální aktivita proti periodontopatickým bakteriím; neuroprotektivní, antivirotické a antifungální účinky)

Hydrocotyle vulgaris (pupečník obecný; saponiny, glykosidy; hemolytická aktivita)

Ledum palustre (rojovník bahenní; kumariny a kumarinov glykosid palustrosid, alifatick monoterpenoidy; antioxidační efekt; protektivní efekt GIT, hemopoetického a reproduknho systému; insektostatick uinky; v homeopatii po hmyzm bodnutí)

Galanthus nivalis (sněženka předjarní; galanthamin – inhibitor ACE – terapie Alzheimerovy nemoci; cyanovirin – inhibice infekce dendritických bunek HIV 1; agglutinin – mannosu specifick lektin – inhibice HIV 1, insekticidní efekt, proliferace mukózy v GIT, ...)

Dictamnus albus (tremdaba bl; flavonoidy, akridinov alkaloidy, furochinolinov alkaloidy – inhibice lidské fosfodiesterázy; furokumariny – fototoxick kontaktní dermatitida; rutin)

Menyanthes trifoliata (vachta trojlist; imunomodulantn polysacharidy, potencionln supresiva a protizntliv složky, antikarcinogenní aktivita)

Thalictrum foetidum (žluťucha smrdut; alkaloidy, leba hypertenze).

6. DISKUSE

V této práci jsem shrnula dostupné informace o šesti vybraných chráněných rostlinách, které se zdají v současné době z hlediska využití ve farmacii nejnadhřejší. Jedná se o druhy: *Rhodiola rosea*, *Nuphar pumila*, *Huperzia selago*, *Laser trilobum*, *Veratrum album* a *Veratrum nigrum*. Informace jsem čerpala ze zahraničních periodik, celotextových nebo bibliografických databází a také z českých, ale převážně starších, publikací.

Přesto nelze předpokládat, že rozsah informací (poznatků) je úplný a konečný. Probíhající výzkumy přináší stále další nové objevy. To se týká i ostatních chráněných rostlin, kterým se tato práce nevěnuje. U většiny z nich stále chybí jakékoliv informace o jejich složení, jejich účincích a vlastnostech.

Rostliny, o kterých jsou již určité informace známy a zdají se být pro farmacii a medicínu zajímavé, jsem uvedla v kapitole 5.6 „Přehled chráněných druhů rostlin potenciálně využitelných ve farmacii“. Výjimkou jsou dva rostlinné druhy – *Galanthus nivalis* a *Taxus baccata*, jež jsou v současné době již poměrně dobře prozkoumány a používány pro lékařské účely. Poznatky o těchto druzích by rozsahem vydaly na samostatné práce, proto jsem je vědomě pominula.

Zatímco moderní technologie a vědecký výzkum přinášejí nové nebo přesnější informace o obsahu a využitelnosti potenciálně účinných látek obsažených v rostlinách, civilizační vlivy lidské společnosti na přírodní prostředí způsobují zásadní změny ekosystémů, někdy i změny nevratné. Likvidace původních ekotopů nebo jejich změny mají za následek úbytek stanovištně vázaných druhů organismů, mnohé z rostlin se ocitají na seznamech ohrožených, silně ohrožených a kriticky ohrožených druhů.

Civilizační riziko ztráty konkrétních biologických (rostlinných) druhů současně znamená riziko nenávratné ztráty chemických látek, které by do budoucna mohly být zdrojem důležitých, či dokonce jedinečných, molekulárních struktur využitelných jak ve farmacii a medicíně, tak i v příbuzných vědních oborech.

Současná legislativa se snaží chánit ty rostlinné druhy, které jsou na pokraji vymizení, případně se jejich úbytek jeví jako kritický. Na základě průzkumů

a mapování v terénu byly tak vytypovány lokality, které mají statut chráněných území. Jedná se jak o velkoplošná chráněná území jako jsou národní parky a chráněné krajinné oblasti, tak i maloplošná - přírodní rezervace, národní přírodní rezervace, přírodní památky a národní přírodní památky.

Jsou však i jiné způsoby záchrany. Věnováním zvýšené pozornosti chráněným rostlinným druhům, které by mohly najít využití ve farmacii, je možné zároveň zachovat jejich genofond. Pro získávání důležitých obsahových látek z těchto rostlin je žádoucí, přímo nutné, rozpracovat metody, při kterých by bylo možné získávat tyto látky jiným způsobem než pouze z biomasy volně rostoucích rostlin.

Jako další způsoby přispívající k zachování druhů lze navrhnout:

- genové manipulace – převedení genů do jiných mikroorganismů (zatím velmi problematické);
- hlubší výzkum pěstování v polních a umělých podmínkách;
- množení rostlin pomocí biotechnologických metod (mikropropagace, vegetativní množení, ...);
- semenné (genové) banky;
- vývoj syntetických postupů účinných látek.

Tato rešeršní práce může být podkladem při výběru rostlinných druhů pro biotechnologické aplikace. Kultury *in vitro*, plantážové kultury a další způsoby kultivace by totiž mohly být významným zdrojem námi vytypovaných molekulárních struktur s významnou biologickou aktivitou. Navíc mohou přispět k záchraně ohrožených druhů rostlin, či zachování genofondu druhů. Na těchto kulturách může být zároveň sledována závislost biosyntézy sekundárních metabolitů na jednotlivých kultivačních faktorech.

7. ZÁVĚR

Byl zpracován literární přehled o chráněných druzích rostlin, které mají potenciální význam pro využití ve farmacii.

Jako nejzajímavější byly vytypovány tyto rostlinné druhy, které obsahují jedinečné molekulární struktury: *Rhodiola rosea*, *Nuphar pumila*, *Huperzia selago*, *Laser trilobum*, *Veratrum album* a *Veratrum nigrum*.

K jejich výběru napomohlo to, že jsou již poměrně dobře probádány, proto je možné vyvodit jejich biologickou aktivitu a předpokládat jejich využití ve farmacii a lékařství.

Ostatní chráněné rostlinné druhy, které by mohly mít v budoucnu význam jsou uvedeny v kapitole 5.6 „Přehled chráněných druhů rostlin potenciálně využitelných ve farmacii“. U těchto rostlin není ještě natolik poznána biologická aktivita, aby se dal odhadnout jejich význam pro farmacii, nicméně je již dnes známo, že obsahují zajímavé struktury.

Jako možné způsoby ochrany, které by mohly napomoci k zachování těchto ohrožených rostlinných druhů, byly navrženy biotechnologické metody, genové manipulace a založení genetických (semenných) bank.

8. POUŽITÁ LITERATURA A ZDROJE

8.1 RHODIOLA ROSEA

- (1) Hejny S., Slavík B.: *Květena České republiky 3, Academia, Praha 1992, str.378-9*
- (2) Hron F.: *Kapesní atlas – rostliny strání, skal, křovin a lesů, SPN, Praha 1990, str. 184*
- (3) Čihař, Kovanda: *Horské rostliny ve fotografii, SZN, Praha, 1983, str. 146-7*
- (4) Janča J., Zentrich J. A.: *Herbář léčivých rostlin 4.díl, Eminent, Praha 1996, str. 108 - 111*
- (5) Mathioli P. O.: *Herbář neboli bylinář III. díl, Fontána, Olomouc 2000, str. 857-8*
- (6) Bremnessová L.: *Bylinář – Zdraví, krása a radost, Fortuna Print, Praha 1994, str. 85*
- (7) Tolonen A. et al.: *Chem. Pharm. Bull. 51 (2003); 467-470*
- (8) Ma Guizhi et al.: *Chem. Pharm. Bull. 54 (2006); 1229-1233*
- (9) Akgul Yurdanur et al.: *Fitoterapia 75 (2004); 612-614*
- (10) Tolonen A. et al.: *J. Mass Spectrom.: JMS 38 (2003); 845-853*
- (11) Yue Mei-E et al.: *J. Anal. Chem.+ 61 (2006); 365-368*
- (12) Honglun Wang et al.: *J. Liq. Chromatogr. R. T. 29 (2006); 857-868*
- (13) Linh P T et al.: *Arch. Pharm. Res. 23 (2000); 349-352*
- (14) Ganzera M et al.: *Chem. Pharm. Bull. 49 (2001); 465-467*
- (15) Petsalo A. et al.: *J. Chromatogr. A 1112 (2006); 224-231*
- (16) Li-Li Cao et al.: *J. Asian Nat. Prod. Res. 8 (2006); 159-165*
- (17) Yousef Gad G. et al.: *Phytochemistry 67 (2006); 2380-2391*
- (18) Rohloff J.: *Phytochemistry 59 (2002); 655-661*
- (19) Hethelyi E. B. et al.: *J. Ess. Oil Res. 17 (2005); 628-629*
- (20) Anilakumar P. K. R. et al.: *J. Food Biochem. 30 (2006); 203-214*
- (21) Ming D. S. et al.: *Phytother. Res.: PTR 19 (2005); 740-743*
- (22) Patov S. A. et al.: *Chem. Nat. Compd.+ 42 (2006); 397-399*
- (23) Wang M. L. et al.: *Chinese J. Catal. 27 (2006); 233-236*
- (24) Tolonen A. et al.: *Biomed. Chromatogr.: BMC 18 (2004); 550-558*
- (25) György Z. et al.: *Plant Sci. 166 (2004); 229*
- (26) Kovaleva N. P. et al.: *Russ. J. Plant Physl.+ 50 (2003); 527-531*
- (27) Underwood A.: *Newsweek 141 (2003); 63*
- (28) Lake J.: *Psychiatric Times. Manhasset 23 (2006); 60*
- (29) Shan Yaso: *Mental Health Practice 8 (2005); 10-10*

- (30) Dowd R.: *Natural Health* 34 (2005); 26-26
- (31) Mitchell D.: *Better Nutrition* 67 (2005); 14-14
- (32) Darbinyan V et al.: *Phytomedicine: International Journal Of Phytotherapy And Phytopharmacology* 7 (2000); 365-371
- (33) Shevtsov V. A. et al.: *Phytomedicine: International Journal Of Phytotherapy And Phytopharmacology* 10 (2003); 95-105
- (34) Spasov A. A. et al.: *Phytomedicine: International Journal Of Phytotherapy And Phytopharmacology* 7 (2000); 85-89
- (35) Spasov A. A. et al.: *Eksperimental'Naia i Klinicheskaia Farmakologija* 63 (2000); 76-78
- (36) Kelly G. S.: *Alternative Medicine Review: a Journal Of Clinical Therapeutic* 6 (2001); 293-302
- (37) Perfumi M., Mattioli L.: *Phytother. Res.* 21 (2007); 37-43
- (38) Khanum F et al.: *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety* 4 (2005); 55-62
- (39) Hillhouse B. et al.: *Pharm. Biol.* 42 (2004); 68-72
- (40) Panossian A., Wagner H.: *Phytother. Res.: PTR* 19 (2005); 819-838
- (41) Abidov M. et al.: *Bulletin of Experimental Biology & Medicine* 136 (2003); 585-587
- (42) Rubin J.: *Total Health* 25 (2003); 26-27
- (43) Kurkin V. et al.: *Pharmaceutical Chemistry Journal* 40 (2006); 149-150
- (44) Walker T. B., Robergs R. A.: *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism* 16 (2006); 305-315
- (45) Abidov M. et al.: *Bulletin of Experimental Biology & Medicine* 138 (2004); 63-64
- (46) De Bock Katrien et al.: *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism* 14 (2004); 298-207
- (47) Sung Hee Kim et al.: *Biofactors* 26 (2006); 209-219
- (48) Young-In Kwon et al.: *Food Biotechnol.* 20 (2006); 13-29
- (49) Young-In Kwon et al.: *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 15 (2006); 425-432
- (50) Apostolidis E. et al.: *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 15 (2006); 433-441
- (51) Kobayashi K. et al.: *Biol. Pharm. Bull.* 26 (2003); 1045-1048
- (52) Kormosh N. et al.: *Phytother. Res.: PTR* 20 (2006); 424-425
- (53) Razina T. G. et al.: *Eksperimental'Naia i Klinicheskaia Farmakologija* 63 (2000); 59-61
- (54) Majewska A. et al.: *J. Ethnopharmacol.* 103 (2006); 43-52
- (55) Duhan O. M. et al.: *Inverted Question Mark i Genetika* 33 (1999); 19-25
- (56) Salikhova R. A. et al.: *Patologicheskaja Fiziologija i Eksperimental'Naia Terapija* 4 (1997); 22-24

- (57) Provalova N. V. et al.: *B. Exp. Biol. Med.* + 133 (2002); 428-432
- (58) Pashkevich I. A. et al.: *Eksperimental'Naia i Klinicheskaia Farmakologiiia* 66 (2003); 50-52
- (59) Provalova N. V. et al.: *B. Exp. Biol. Med.* + 136 (2003); 165-169
- (60) Provalova N. V. et al.: *B. Exp. Biol. Med.* + 133 (2002); 261-264
- (61) Kucinskaite A. et al.: *Medicina (Kaunas, Lithuania)* 40 (2004); 614-619
- (62) Maľmeskulova L. A., Maslov L. N.: *Eksperimental'Naia i Klinicheskaia Farmakologiiia* 61 (1998); 37-40
- (63) Maľmeskulova L. A. et al.: *Eksperimental'Naia i Klinicheskaia Farmakologiiia* 60 (1997); 38-39
- (64) Lishmanov Iu B. et al.: *Eksperimental'Naia i Klinicheskaia Farmakologiiia* 60 (1997); 34-36
- (65) Novák F. A., Svolinský K.: *Horské rostliny, Nakladatelství Československé akademie věd, Praha 1963, str. 64*
- (66) Yang R. et al.: *Electrochem. Commun.* 9 (2007); 94-96
- (67) Battistelli M. et al.: *Eur. J. Histochem.: EJM* 49 (2005); 243-254
- (68) De Sanctis R. et al.: *Biofactors* 20 (2004); 147-159
- (69) Narimanian M. et al.: *Phytomedicine* 12 (2005); 723-729
- (70) Iaremč I. N., Grigor'eva N. F.: *Eksperimental'Naia i Klinicheskaia Farmakologiiia* 65 (2002); 57-59
- (71) Pogorelyč V. E., Makarova L. M.: *Eksperimental'Naia i Klinicheskaia Farmakologiiia* 65 (2002); 19-22
- (72) Scott I. M. et al.: *Pharm. Biol.* 44 (2006); 315-327

8.2 NUPHAR PUMILA

- (1) Hejný Slavomil, Slavík Bohumil: *Květena ČSR I. díl, Academia, Praha 1988, str. 361 - 363*
- (2) Mathioli Petr Ondřej: *Herbář neboli bylinář – díl II., Fontána, Olomouc 2000, str. 722-4*
- (3) Kubiak-Martens L.: *Veg. Hist. Archaeobot.* 11 (2002); 23-31
- (4) Yoshikawa M. et al.: *Heterocycles* 45 (1997); 1815-1824
- (5) Yoshikawa M. et al. : *Heterocycles* 46 (1997); 301-308
- (6) Pekka Peuram, Mauri Lounasmaa: *Phytochemistry* 16 (1977); 1122-1123
- (7) Myazawa M. et al.: *J. Essent. Oil Res.* 17 (2005); 619-621
- (8) Goodenough KM. et al.: *J. Org. Chem.* 70 (2005); 207-213
- (9) Davis Franklin A., Santhanaraman Manikandan: *J. Org. Chem.* 71 (2006); 4222-4226
- (10) Matsuda H. et al.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16 (2006); 1567-1573

(11) Matsuda H. et al.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13 (2003); 4445

(12) Matsuda H. et al.: *Bioorg. Med. Chem.* 9 (2001); 1031-1035

8.3 HUPERZIA SELAGO

(1) Hejny S., Slavík B.: *Květena ČSR 1. díl, Academia, Praha 1988, str. 190 - 192*

(2) Čihař J., Kovanda M.: *Horské rostliny ve fotografii, Státní zemědělské nakladatelství, Praha 1983, str. 292*

(3) Felgenhauer N.: *J.Toxicol. – Clin. Toxic.* 38 (2000); 803

(4) *NCRHI Newsletter* 23 (2000); 3

(5) Szypuła W. et al.: *Plant Sci.* 168 (2005); 1443-1452

(6) Zhu Xing Zu et al.: *Eur. J. Pharmacol.* 500 (2004); 221-230

(7) Dworkin N.: *Psychology Today* 32 (1999); 28

(8) Mahi J.: *Total Health* 21 (1999); 19

(9) Zangara A.: *Pharmacol. Biochem.Be.* 75 (2003); 675

(10) *University of California at Berkeley Wellness Letter* 22 (2006); 3

(11) Zhang H. Y., Tang X. C.: *Trends Pharmacol. Sci.* 27 (2006); 619-625

(12) He Xu-Chang et al.: *Bioorgan. Med. Chem.* 15 (2007); 1394-1408

(13) Staerk D. et al.: *Nat. Prod. Res.* 18 (2004); 197-203

(14) Popper Z. A. et al.: *Biochem. Syst. Ecol.* 32 (2004); 279-289

(15) Choi L., Ihl Y. et al.: *Tetrahedron Lett.* 45 (2004); 285

(16) Voirin B., Hauteville M. J. M.: *Phytochemistry* 15 (1976); 840-841

(17) Borloz A. et al.: *Phytochem. Analysis* 17 (2006); 332-336

(18) Ben Hameda A. et al.: *J. Chromatogr. A* 1084 (2005); 7-12

(19) Pan J. et al.: *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences* 836 (2006); 108-110

(20) Wang Y. et al.: *J. Chromatogr. B* 803 (2004); 375

(21) Ye J. et al.: *J. Chromatogr. B* 817 (2005); 187-191

(22) Slijkhuis C. et al.: *J. Pharmaceut. Biomed.* 32 (2003); 905

(23) Novák F. A., Svolinský K.: *Horské rostliny, Nakladatelství Československé akademie věd, Praha 1963, tab. 115*

(24) Li Xiunan et al.: *J. Liq. Chromatogr. R. T.* 29 (2006); 569-582

(25) Rajendran V. et al.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12 (2002); 1521

(26) Ward J., Caprio V.: *Tetrahedron Letters: International Organ for the Rapid Publication of Preliminary Communications in Organic Chemistry* 47 (2006); 553-556

(27) Darrouzain F. et al.: *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences* 820 (2005); 283-288

- (28) Lee I. Y. C. et al.: *Tetrahedron Lett.: International Organ for the Rapid Publication of Preliminary Communications in Organic Chemistry* 43 (2002); 2407
- (29) Gemma S. et al.: *Tetrahedron* 59 (2003); 87
- (30) Camps P. et al.: *Synthetic Commun.* 31 (2001); 3507
- (31) Wong D. M. et al.: *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003); 363
- (32) Dvir H. et al.: *Biochemistry* 41 (2002); 10810
- (33) Camps P., Muñoz-Torrero, D.: *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 1 (2001); 163
- (34) Ma Xiaoqiang et al.: *J. Ethnopharmacol.* 104 (2006); 54-67
- (35) Haviv H. et al.: *Curr. Top. Med. Chem.* 7 (2007); 375-387
- (36) Zhang H. Y. et al.: *Neurosci. Lett.* 360 (2004); 21
- (37) Gordon R. K. et al.: *Chem.-Biol. Interact.* 157-158 (2005); 239-246
- (38) Yechun X. et al.: *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003); 11340-11349
- (39) Kaur J., Zhang M.-Q.: *Curr. Med. Chem.* 7 (2000); 273
- (40) Zhao Q., Tang X. C.: *Eur. J. Pharmacol.* 455 (2002); 101
- (41) Patil K. D. et al.: *J. Ocul. Pharmacol. Th.* 19 (2003); 135-143
- (42) Liang Y. Q., Tang X. C.: *Neurosci. Lett.* 361 (2004); 56-59
- (43) Li Y. et al.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14 (2004); 1585
- (44) Saxena A. et al.: *Biochemistry* 42 (2003); 15292-15299
- (45) Alcalá M. del M. et al.: *Neuropharmacology* 44 (2003); 749
- (46) Roman S. et al.: *Brain Res.* 1061 (2005); 73-79
- (47) Da-Ming D., Carlier P. R.: *Curr. Pharm. Design* 10 (2004); 3141-3156
- (48) Darvesh S. et al.: *Exp. Neurol.* 188 (2004); 461-470
- (49) Adis International Limited: *Drugs in R&D* 5 (2004); 44-45
- (50) Hualiang J. et al.: *Curr. Med. Chem.* 10 (2003); 2231-2252
- (51) Bai D. L. et al.: *Curr. Med. Chem.* 7 (2000); 355
- (52) Sahelian R.: *Better Nutrition* 61 (1999); 26
- (53) Walker D. P. M., Morton J.: *Better Nutrition* 61 (1999); 24
- (54) Li Yang, Hu Guo-Yuan: *Neurosci. Lett.* 329 (2002); 153
- (55) Li Yang, Hu Guo-Yuan: *Neurosci. Lett.* 324 (2002); 25
- (56) Lallement G. et al.: *Drug Chem. Toxicol.* 24 (2001); 165
- (57) Lallement G. et al.: *NeuroToxicology* 23 (2002); 1
- (58) Eckert S. et al.: *Biochem. Pharmacol.* 72 (2006); 344-357
- (59) Boudinot E. et al.: *Pharmacol. Biochem. Be.* 80 (2005); 53-61
- (60) Jordá E. G. et al.: *Journal of Alzheimer's Disease* 6 (2004); 577-583

- (61) Wang Z. F., Tang X. C.: *Febs Lett.* 581 (2007); 596-602
- (62) Garcia G. E. et al.: *J. Anal. Toxicol.* 28 (2004); 379-383
- (63) Zhang H. Y., Tang X. C.: *Neurosci. Lett.* 340 (2003); 91
- (64) Gao P. et al.: *Int. J. Pharm.* 330 (2007); 1-5
- (65) Zhou J., Tang X. C.: *Febs Lett.* 526 (2002); 21
- (66) Wang Zhi-fei et al.: *Pharmacol. Biochem. Be.* 83 (2006); 603-611
- (67) Wang L. S. et al.: *Brain Res.* 949 (2002); 162
- (68) Bialer M. et al.: *Epilepsy Res.* 73 (2007); 51-52
- (69) *Epilepsia (Series 4)* 47 (2005); 319-320
- (70) Tang L. L. et al.: *Eur. J. Pharmacol.* 519 (2005); 9-15
- (71) Chu D.-F. et al.: *Int. J. Pharm.* 325 (2006); 116-123
- (72) Liu W.H et al.: *J. Control. Release* 107 (2005); 417-427
- (73) Fu X. et al.: *J. Microencapsul.* 22 (2005); 705-714
- (74) Chaoyun W. et al.: *Basic Clin. Pharmacol.* 100 (2007); 190-195

8.4 LASER TRILOBUM

- (1) Slavík B.: *Květena České republiky 5. díl, Academia, Praha 1997, str. 376-7*
- (2) Holub M. et al.: *Tetrahedron Lett.* 25 (1984); 3755-3758
- (3) Nawrot J. et al.: *Biochem. Syst. Ecol.* 11 (1983); 243-245
- (4) Holub M. et al.: *Phytochemistry* 11 (1972); 3053-3055
- (5) Masoudi S et al.: *J. Essent. Oil Res.* 17 (2005); 98-100
- (6) Kivanc M., Akgul A.: *Nahrung* 35 (1991); 149-154
- (7) Akgul A.: *Acta Aliment. Hung.* 18 (1989); 65-69
- (8) Wictome M. et al.:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1135975>
- (9) Google: <http://ctd.mdibl.org/detail.go?type=chem&acc=C086352>; 10.4.2007
- (10) Google - PKC Pharmaceuticals: <http://www.lclabs.com/MSDS/T-5065MSDS.php4>; 10.4. 2007
- (11) Søhoel H. et al.: *Bioorgan. Med. Chem.* 14 (2006); 2810-2815
- (12) Wictome M et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 199 (1994); 916-921

8.5 VERATRUM ALBUM ET VERATRUM NIGRUM

- (1) Jirásek V., Zadina R., Blažek Z.: *Naše jedovaté rostliny, ČSAV, Praha 1957, str. 303-6*
- (2) Jirásek V., Starý F.: *Atlas léčivých rostlin, SPN Praha, 1986, str. 43*

- (3) Jaroš Z.: *Léčivé látky z rostlin*, Nakladatelství DONA, České Budějovice 1992, str. 32
- (4) Vermeulen Nico: *Encyklopedie bylin a koření*, REBO Productions, Čestlice 1999, str. 299 - 301
- (5) Dlouhý F., Pavlík J.: *Léčivé rostliny (Herbář)*, Nakladatel I. L. Kober knihkupectví v Praze, 1941, str. 97 – 98
- (6) Čihař J., Kovanda M.: *Horské rostliny ve fotografii*, Státní zemědělské nakladatelství, Praha 1983, str. 194
- (7) Novák J., Hisek K.: *Naše jedovaté rostliny*, Albatros, Praha 1984, str. 93
- (8) Mathioli P. O.: *Herbář neboli bylinář*, Fontána, Olomouc 2000, str. 1011-13
- (9) Pavelčík F., Tomko J.: *Tetrahedron Lett.* 20 (1979); 887-888
- (10) Höhne G. et al.: *Tetrahedron* 24 (1968); 4875-4880
- (11) Tomko J. et al.: *Tetrahedron* 24 (1968); 6839-6843
- (12) Adam G. et al.: *Tetrahedron* 23 (1967); 167-171
- (13) Tomko J. et al.: *Archiv Der Pharmazie Und Berichte Der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft* 299 (1966); 347-350
- (14) Attaur Rahman et al.: *Planta Med.* 59 (1993); 569-571
- (15) Attaur Rahman et al.: *Phytochemistry* 43 (1996); 907-911
- (16) Attaur Rahman et al.: *J. Nat. Prod.* 55 (1992); 565-570
- (17) Attaur Rahman et al.: *Phytochemistry* 30 (1991); 368-370
- (18) Grancai D. et al.: *Chemical Papers – Chemické zvesti* 40 (1986); 835-838
- (19) Moog F. P.: *Wurzbürger Medizinhistorische Mitteilungen* 22 (2003); 30-39
- (20) Li H. et al.: *Acta Pharmacol. Sin.* 21 (2000); 23-28
- (21) Tosun F. et al.: *Pharm. Biol.* 43 (2005); 58-63
- (22) Gebhardt R.: *Arzneimittel-Forsch.* 53 (2003); 823-830
- (23) Gilani A. H. et al.: *Arch. Pharm. Res.* 18 (1995); 129-132
- (24) Gaillard Y, Pepin G.: *J. Anal. Toxicol.* 25 (2001); 481-485
- (25) Jaspersen-Schib R. et al.: *Schweizerische Medizinische Wochenschrift* 126 (1996); 1085-1098
- (26) Festa M. et al.: *Minerva Anesthesiologica* 62 (1996); 195-196
- (27) Marinov A. et al.: *Vutreshni Bolesti* 26 (1987); 36-39
- (28) Garnier R. et al.: *Ann. Med. Interne* 136 (1985); 125-128
- (29) Fogh A. et al.: *J. Toxicol.-Clin. Toxicol.* 20 (1983); 175-179
- (30) Hruby K. et al.: *Wien. Klin. Wochenschr.* 93 (1981); 517-519
- (31) Berezhnitskii M. N., Parashchak A. P.: *Sovetskaia Meditsina* 32 (1969); 141
- (32) Zagler B. et al.: *Wien. Klin. Wochenschr.* 117 (2005); 106-108
- (33) Quatrehomme G. et al.: *Hum. Exp. Toxicol.* 12 (1993); 111-115

- (34) *Van Wassenhoven M.: Homeopathy: The Journal Of The Faculty Of Homeopathy 93 (2004); 71-77*
- (35) *Vachálková A. et al.: Neoplasma 45 (1998); 243-247*
- (36) *Tezuka Y. et al.: J. Nat. Prod. 61 (1998); 1397-1399*
- (37) *Zhao W. et al.: Chem. Pharm. Bull. 39 (1991); 549-554*
- (38) *Han X. W. et al.: Magn. Reson. Chem. 29 (1991); 100-112*
- (39) *Zhao W. et al.: Materia Medica 23 (1998); 41, 63*
- (40) *Zhao W. et al.: Materia Medica 16 (1991); 425-426, 448*
- (41) *Wang Yu-guang et al.: Materia Medica 29 (2004); 366-370*
- (42) *Gao X. S.: Chinese Journal Of Integrated Traditional And Western Medicine 13 (1993); 433-435, 390*
- (43) *Lin N., Gao X.: Materia Medica 17 (1992); 43-45*
- (44) *Wang Zhen-Zhen et al.: World Journal Of Gastroenterology 13 (2007); 564-571*

9. PŘÍLOHY

Příl. II vyhláška č. 395/1992 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona ČNR č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny

SEZNAM ZVLÁŠTĚ CHRÁNĚNÝCH DRUHŮ ROSTLIN

1. Za druhy kriticky ohrožené se prohlašují

Rostliny cévnaté:

bahenka psárkovitá	- <i>Heleochoa alopecuroides</i>
bahenka šášinovitá	- <i>Heleochoa schoenoides</i>
bařička přímořská	- <i>Triglochin maritimum</i>
bažanka vejčitá	- <i>Mercurialis ovata</i>
bělolist žlutavý	- <i>Filago lutescens</i>
bika klasnatá	- <i>Luzula spicata</i>
blatnice bahenní	- <i>Scheuchzeria palustris</i>
bledule letní	- <i>Leucojum aestivum</i>
bradáček srdčitý	- <i>Listera cordata</i>
bublinatka běložlutá	- <i>Utricularia ochroleuca</i>
bublinatka obecná	- <i>Utricularia vulgaris</i>
bublinatka vícekvětá	- <i>Utricularia bremii</i>
bytel rozprostřený	- <i>Kochia prostrata</i>
cídivka (přeslička) peřestá	- <i>Hippochaete variegata</i>
čilimník bílý	- <i>Chamaecytisus albus</i>
devaterníček skalní	- <i>Rhodax rupifragus</i>
devaterník velkokvětý pravý	- <i>Helianthemum grandiflorum</i> subsp. <i>grandiflorum</i>
divizna ozdobná	- <i>Verbascum speciosum</i>
drobnokvět pobřežní	- <i>Corrigiola litoralis</i>
hadí mord maloubořný	- <i>Scorzonera parviflora</i>
hadinec nachový	- <i>Echium russicum</i>
hladáš andělikový	- <i>Laserpitium archangelica</i>
hlízovec Loeselův	- <i>Liparis loeselii</i>
hnědenec zvrhlý	- <i>Limodorum abortivum</i>
hořec tečkovaný	- <i>Gentiana punctata</i>
hořeček český	- <i>Gentianella bohemica</i>
hořeček drsný	- <i>Gentianella aspera</i>
hořeček ladní	- <i>Gentianella campestris</i>
hořepníček jarní	- <i>Calathiana verna</i>
hrachor bahenní	- <i>Lathyrus palustris</i>
hrachor hrachovitý	- <i>Lathyrus pisiformis</i>
hrachor panonský	- <i>Lathyrus pannonicus</i>
hrotnosemenka bílá	- <i>Rhynchospora alba</i>
hrotnosemenka hnědá	- <i>Rhynchospora fusca</i>
hruštička prostřední	- <i>Pyrola media</i>
huseník luční	- <i>Arabis nemorensis</i>
huseník sudetský	- <i>Arabis sudetica</i>
hvězdnice alpská	- <i>Aster alpinus</i>
hvězdnička panonská	- <i>Tripolium pannonicum</i>
hvozdík kartouzek sudetský	- <i>Dianthus carthusianorum</i> subsp. <i>sudeticus</i>
hvozdík moravský	- <i>Dianthus moravicus</i>
hvozdík písečný	- <i>Dianthus arenarius</i>

chlupáček velkoúborný	- <i>Pilosella macrantha</i>
chrastavec rolní krkonošský	- <i>Knautia arvensis</i> subsp. <i>pseudolongifolia</i>
chrpa měkká	- <i>Cyanus mollis</i>
jazyk jelení	- <i>Phyllitis scolopendrium</i>
jazyček jadranský	- <i>Himantoglossum adriaticum</i>
jeřáb krkonošský	- <i>Sorbus sudetica</i>
jestřábník huňatý	- <i>Hieracium villosum</i>
jitrocel černavý	- <i>Plantago atrata</i>
jitrocel přímořský	- <i>Plantago maritima</i>
kakost lesklý	- <i>Geranium lucidum</i>
kandík psí zub	- <i>Erythronium dens-canis</i>
kaprad' hřebenitá	- <i>Dryopteris cristata</i>
kapradina hrálovitá	- <i>Polystichum lonchitis</i>
katrán tatarský	- <i>Crambe tetaria</i>
kavyl písečný	- <i>Stipa borysthenica</i>
kavyl olýsalý	- <i>Stipa glabrata</i>
kohátka kalíškatá	- <i>Tofieldia calyculata</i>
koleneček pětimužný	- <i>Spergula pentandra</i>
koniklec jarní	- <i>Pulsatilla vernalis</i>
koniklec otevřený	- <i>Pulsatilla patens</i>
kontryhel rezecký	- <i>Alchemilla fissa</i>
kopyšník tmavý	- <i>Hedysarum hedysaroides</i>
kosatec skalní	- <i>Iris humilis</i>
košťava amethystová	- <i>Festuca amethystina</i>
košťava hrská	- <i>Festuca drymeia</i>
koťvice plovoucí	- <i>Trapa natans</i>
kozineček písečný	- <i>Astragalus arenarius</i>
krtičník jarní	- <i>Scrophularia vernalis</i>
kruhatka Matthiolova	- <i>Cortusa matthioli</i>
krušík ostrokvětý	- <i>Epipactis leptochila</i>
kuřička Gerardova	- <i>Minuartia gerardii</i>
kuřička jarní	- <i>Minuartia verna</i>
kuřinka obroubená	- <i>Spergularia maritima</i>
kuřinka solná	- <i>Spergularia salina</i>
kýchavice černá	- <i>Veratrum nigrum</i>
kyvor lékařský	- <i>Ceterach officinarum</i>
lakušník plihý	- <i>Batrachium rionii</i>
lakušník trojdlílný	- <i>Batrachium baudotii</i>
len chlupatý	- <i>Linum hirsutum</i>
lipnice alpská	- <i>Poa alpina</i>
lipnice jesenická	- <i>Poa riphaera</i>
lněnka bezlistenná	- <i>Thesium ebracteatum</i>
lněnka rolní	- <i>Thesium dollineri</i>
lněnka zobánkatá	- <i>Thesium rostratum</i>
lýkovec vonný	- <i>Daphne cneorum</i>
maceška nejmenší	- <i>Viola kitaibeliana</i>
máčka plocholistá	- <i>Eryngium planum</i>
mandloň nízká	- <i>Amygdalus nana</i>
mařice pilovitá	- <i>Cladium mariscus</i>
masnice vodní	- <i>Tillaea aquatica</i>
mateřídouška karpatská	- <i>Thymus carpathicus</i>
matizna bahenní	- <i>Oristecum palustre</i>
mečík bahenní	- <i>Gladiolus palustris</i>
měkčilka jednodlátná	- <i>Malaxis monophyllos</i>
měkkyně bahenní	- <i>Hammarbya paludosa</i>

mochna Crantzova	- <i>Potentilla crantzii</i>
mochna drobnokvětá	- <i>Potentilla micrantha</i>
mochna jahodníkokvětá-	<i>Potentilla sterilis</i>
mochna rozkladitá	- <i>Potentilla patula</i>
muk (jeřáb) český	- <i>Sorbus bohemica</i>
nehtovec přeslenitý	- <i>Illecebrum verticillatum</i>
nepukalka plovoucí	- <i>Salvinia natans</i>
odemka vodní	- <i>Catabrosa aquatica</i>
ostřice bílá	- <i>Carex alba</i>
ostřice Buxbaumova	- <i>Carex buxbaumii</i>
ostřice ječmenovitá	- <i>Carex hordeistichos</i>
ostřice pochvatá	- <i>Carex vaginata</i>
ostřice pozdní krkonošská	- <i>Carex serotina</i> subsp. <i>pseudoscandinavica</i>
ostřice skalní	- <i>Carex rupestris</i>
ostřice tmavá	- <i>Carex atrata</i>
ostřice vláskovitá	- <i>Carex capillaris</i>
ovsír stepní	- <i>Helictotrichon desertorum</i>
pampeliška besarabská	- <i>Taraxacum bessarabicum</i>
pampeliška pozdní	- <i>Taraxacum serotinum</i>
pěchava slatinná	- <i>Sesleria uliginosa</i>
pelyněk Pančičův	- <i>Artemisia pancicii</i>
pětiprstka obecná hustokvětá	- <i>Gymnadenia conopsea</i> subsp. <i>densiflora</i>
pcháč žlutoostenný	- <i>Cirsium brachycephalum</i>
pískavice provenzálská	- <i>Trigonella monspeliaca</i>
plamének celolistý	- <i>Clematis integrifolia</i>
plavín štítnatý	- <i>Nymphoides peltata</i>
plavuník trojklasý	- <i>Diphasiastrum tristachyum</i>
plevnaec lesostepní	- <i>Danthonia alpina</i>
ploštičník evropský	- <i>Cimicifuga europaea</i>
pobřežnice jednokvětá	- <i>Litorella uniflora</i>
podmrška hadcová	- <i>Notholaena marantae</i>
pochybek severní	- <i>Androsace septentrionalis</i>
polej obecná	- <i>Pulegium vulgare</i>
pomněnka úzkolistá	- <i>Myosotis stenophylla</i>
popelivka sibiřská	- <i>Ligularia sibirica</i>
potočnice malolistá	- <i>Nasturtium microphyllum</i>
prasetník lysý	- <i>Hypochoeris glabra</i>
prorostlík prutnatý	- <i>Bupleurum affine</i>
prorostlík nejtenčí	- <i>Bupleurum tenuissimum</i>
prstnatec plamatý	- <i>Dactylorhiza maculata</i>
prstnatec Traunsteinerův	- <i>Dactylorhiza traunsteineri</i>
prustka obecná	- <i>Hippuris vulgaris</i>
pryšec lesklý	- <i>Tithymalus lucidus</i>
pryšec vrbolistý	- <i>Tithymalus salicifolius</i>
psineček alpský	- <i>Agrostis alpina</i>
puchýřník sudetský	- <i>Cystopteris sudetica</i>
pupavík pampeliškový	- <i>Colobium taraxacoides</i>
puštička rozprostřená	- <i>Lundernia procumbens</i>
razitka smrdutá	- <i>Aposeris foetida</i>
rdest dlouholistý	- <i>Potamogeton praelongus</i>
rdest hrotitý	- <i>Potamogeton friestii</i>
rdestice hustolistá	- <i>Groenlandia densa</i>
rohohlavec rovnírohý	- <i>Ceratocephala testiculata</i>
rosnatka anglická	- <i>Drosera anglica</i>
rosnatka prostřední	- <i>Drosera intermedia</i>

roschodnice růžová	- <i>Rhodiola rosea</i>
roschodník pýřitý	- <i>Sedum villosum</i>
rozrazil chudobkovitý	- <i>Veronica bellidioides</i>
rozrazil slanistvý	- <i>Veronica scardica</i>
rožec hadcový	- <i>Cerastium alsinifolium</i>
rožec Tenoreův	- <i>Cerastium tenoreanum</i>
ruměnice písečná	- <i>Onosma arenarium</i>
rýt velkokališní	- <i>Reseda phyteuma</i>
řečanečka menší	- <i>Caulinia minor</i>
řeřišnice malokvětá	- <i>Cardamine parviflora</i>
řeřišnice Opizova	- <i>Cardamine opizii</i>
řeřišnice rýtolistá	- <i>Cardamine resedifolia</i>
řeřišničník skalní	- <i>Cardaminopsis petraea</i>
sinokvět chrpovitý	- <i>Jurinea cyanoides</i>
sítina hlavatá	- <i>Juncus capitatus</i>
sítina rybníční	- <i>Juncus tengeia</i>
sítina kulatoplodá	- <i>Juncus sphaerocarpus</i>
sítina slatinná	- <i>Juncus subnodulosus</i>
sítina tmavá	- <i>Juncus atratus</i>
sivěnka přímořská	- <i>Glaux maritima</i>
skalnatka (písečnice) velkokvětá	- <i>Czernohorskya grandiflora</i>
sklenobýl belistý	- <i>Epipogium aphyllum</i>
skrytěnka bodlinatá	- <i>Crypsis aculeata</i>
sleziník černý	- <i>Asplenium adianthumnigrum</i>
sleziník klamný	- <i>Asplenium adulterinum</i>
smládkovník kmínolistý	- <i>Peucedanum carvifolia</i>
smrkovník plazivý	- <i>Goodyera repens</i>
snědovka kulatoplodá	- <i>Loncomelos sphaerocarpus</i>
solenka Valerandova	- <i>Samolus valerandii</i>
solnička panonská	- <i>Suaeda pannonica</i>
srpovník karbinocolistý	- <i>Klasea lycopifolia</i>
starček bažinný	- <i>Senecio paludosus</i>
starček skalní	- <i>Senecio rupestris</i>
starček zlatý	- <i>Senecio doria</i>
stařinec (starček) dlouholistý	- <i>Tephrosia longifolia</i>
stařinec (starček) oranžový	- <i>Tephrosia aurantiaca</i>
stulík malý	- <i>Nuphar pumila</i>
suchopýr štíhlý	- <i>Eriophorum gracile</i>
světlík slovenský	- <i>Euphrasia slovacica</i>
svízel sudetský	- <i>Galium sudeticum</i>
svízelka piemontská	- <i>Cruciata pedemontana</i>
šabřina tatarská	- <i>Conioselinum tataricum</i>
šalvěj vlnatá	- <i>Salvia aethiopsis</i>
šášina načernalá	- <i>Schoenus nigricans</i>
šášina rezavá	- <i>Schoenus ferrugineus</i>
šídlatka jezerní	- <i>Isoetes lacustris</i>
šídlatka ostnovýtrusá	- <i>Isoetes tenella</i>
škarda panonská	- <i>Crepis pannonica</i>
škarda sibiřská	- <i>Crepis sibirica</i>
švihlík krutiklas	- <i>Spiranthes spiralis</i>
timoj trojlaločný	- <i>Laser trilobum</i>
tomkovice plazivá	- <i>Hierochloa repens</i>
tořič čmelákovitý	- <i>Ophrys holosericea</i>
tořič muchonosný	- <i>Ophrys insectifera</i>
tořič včelonosný	- <i>Ophrys apifera</i>

toříček jednohlízný	- Herminium monorchis
trojřadka Micheliova	- Dichostylis micheliana
třtina nachová	- Calamagrostis purpurea
třtina tuhá	- Calamagrostis stricta
tučnice česká	- Pinguicula bohemica
tuřice (ostřice) dvoudomá	- Vigna dioica
tuřice (ostřice) šlahounovitá	- Vigna chordonrhiza
tuřice (ostřice) úzkolistá	- Vigna stenophylla
úložník (rozrazil) pochybný	- Pseudolysimachion spurium
úpor přeslenitý	- Elatine alsinastrum
včelník rakouský	- Dracocephalum austriacum
vikev horomilná	- Vicia oreophila
violka bílá	- Viola alba
violka vyšší	- Viola elatior
vítod douškolistý	- Polygala serpyllifolia
volovec vrboolistý	- Bupthalmum salicifolium
vranečkovce švýcarský	- Lycopodioides helveticum
vratička heřmánkolistá	- Botrychium matricariifolium
vratičkovce mnohoklaný	- Sceptridium multifidum
vrba borůvkovitá	- Salix myrtilloides
vrba bylinná	- Salix herbacea
vrba černající	- Salix myrsinifolia
vrba dvoubarvá	- Salix bicolor
vrba laponská	- Salix lapponum
vstavač řídkokvětý	- Orchis laxiflora
vstavač trojzubý	- Orchis tridentata
všivec krkonošský	- Pedicularis sudetica
všivec statný	- Pedicularis exaltata
všivec žezlovitý	- Pedicularis sceptrum-carolinum
zapalička velická	- Tordylium maximum
zdrojovka prameništní	- Montia fontana
zeměžluč přímořská	- Centaurium litorale
zevar úzkolistý	- Sparganium angustifolium
zimozelen okolíkatý	- Chimaphila umbellata
zvoněk český jesenický	- Campanula bohemica subsp. gelida
zvoněk sudetský	- Campanula sudetica
zvonovec liliolistý	- Adenophora liliifolia
židovník německý	- Myricaria germanica
žluťucha jednoduchá	- Thalictrum simplex

Houby:

bolinka černohnědá	- Camarops tubulina
čirůvka hnědočervenavá	- Tricholoma inodermeum
čirůvka Josserandova	- Dermoloma josserandii
hlívička jedlová	- Hohenbuehelia abietinum
hlívovec ostnovýtrusný	- Rhodotus palmatus
hřib Fechtnerův	- Boletus fechtneri
hřib královský	- Boletus regius
hřib moravský	- Beletus (Xerocomus) moravicus
holubinka blaťácká	- Rusula helodes
hvězdovka Pouzarova	- Geastrum pouzarii
káčovka ploská	- Bisocogniauxia simplicitor
kuřinec subarktický	- Ramariopsis subarctica
květka písečná	- Montagnea arenaria
lanýž letní	- Tuber aestivum

lošáček statný	- Phellodon confluens
muchomůrka císařka	- Amanita caesarea
muchomůrka Vittadiniho	- Amanita vittadini
náramkovitka žlutozelená	- Floccularia straminea
plstnatec různotvarý	- Spongipellis fractipes
polnička stepní	- Agrocybe stepposa
rudoušek tmavý	- Rhodocybe obscura
slizečka chlupatá	- Xerula melanotricha
šamonie modrající	- Chamonixia caespitosa
špička stepní	- Marasmiellus carneopallidus
ucháčkovec šumavský	- Pseudorhizina sphaeospora
václavka bažinná	- Armillaria ectypa
vláknice zašpičatělá	- Inocybe acutella

2. Za druhy silně ohrožené se prohlašují

Rostliny cévnaté:

bahnečka chodkvětá	- Eleocharis quinqueflora
bazanovec kytkokvětý	- Naumburgia thyrsoflora
běloprstka horská	- Leucorchis albida
bříza zakrslá	- Betula nana
bublínka prostřední	- Utricularia intermedia
cídívka (přeslička) přezimující	- Hippochaeta hyemalis
česnek hranatý	- Allium angulosum
česnek tuhý	- Allium strictum
čičorka pochvatá	- Coronilla vaginalis
devaterka rozprostřená	- Fumana procumbens
dvouřadec pozdní	- Cleistogenes serotina
hladyš pruský	- Laserpitium pruthenicum
hlavinka horská	- Trunsteinera globosa
hořec šumavský	- Gentiana pannonica
hořeček nahorklý	- Gentianella amarella
hořeček žlutavý	- Gentianella lutescens
hořepník luční	- Pneumonanthe vulgaris
hrachor různolistý	- Lathyrus heterophyllus
hvězdoš podzimní	- Callitriche hermaphroditica
hvozdík Lumnitzerův	- Dianthus lumnitzeri
hvozdík kartouzek úzkolistý	- Dianthus carthusianorum subsp. capilifrons
hvozdík pyšný	- Dianthus superbus
hvozdík sivý	- Dianthus gratianopolitanus
chrpa horská	- Cyanus montanus
chudina zední	- Draba muralis
jalovec obecný nízký	- Juniperus communis subsp. alpina
jednokvítek velekvětý	- Moneses uniflora
jestřábník alpský	- Hieracium alpinum
jinořadec kadeřavý	- Cryptogramma crispa
kapradina plevinatá	- Polystichum braunii
kapradina skalní	- Woodsia ilvensis
kavyl chlupatý	- Stipa dasyphylla
kavyl sličný	- Stipa pulcherrima
kavyl Smirnovův	- Stipa smirnovii
kavyl tenkolistý	- Stipa tirsia
koniklec luční	- Pulsatilla pratensis

koniklec velkokvětý	- Pulsatilla grandis
konitrud lékařský	- Gratiola officinalis
korállice trojklanná	- Corallorhiza trifida
kosatec bezlistý	- Iris aphylla
kosatec nízký	- Iris pumila
kosatec pestrý	- Iris variegata
kosatec sibiřský	- Iris sibirica
kosatec trávovitý	- Iris graminea
košťava peřestá	- Festuca versicolor
kozinec bezlodyžný	- Astragalus excapus
kozinec rakouský	- Astragalus austriacus
kropenáč vytrvalý	- Swertia perennis
kruštík bahenní	- Epipactis palustris
kruštík drobnolistý	- Epipactis microphylla
kruštík polabský	- Epipactis albensis
kruštík růžkatý	- Epipactis muelleri
křivatec český	- Gagea bohemica
ladoňka dvoulistá	- Scilla bifolia
leknín bělostný	- Nymphaea candida
leknín bílý	- Nymphaea alba
lilie cibulkonosná	- Lilium bulbiferum
lipnice plihá	- Poa laxa
lomikámen latnatý	- Saxifraga paniculata
lomikámen růžicovitý	- Saxifraga decipiens
lomikámen trojprstý	- Saxifraga tridactylites
lomikámen vstřícnohistý	- Saxifraga oppositifolia
mečík obecný	- Gladiolus imbricatus
medvědice lékařská	- Arctostaphylos uva-ursi
okrotice červená	- Cephalanthera rubra
oman německý	- Inula germanica
oměj jedhoj	- Aconitum anthora
oměj tuhý	- Aconitum firmum
ostružiník moruška	- Rubus chamaemorus
ostřice černoklasá	- Carex melanostachay
ostřice chudá	- Carex paupercula
ostřice lemovaná	- Carex hostiana
ostřice mokřadní	- Carex limosa
ostřice plstnatoplodá	- Carex lasiocarpa
ostřice ptačí nožka	- Carex ornithopoda
ostřice šupinoplodá	- Carex lepidocarpa
ostřice žitná	- Carex secalina
ožanka čpavá	- Teucrium scordium
ožanka horská	- Teucrium montanum
plavuník alpský	- Diphasiastrum alpinum
plavuník Isslerův	- Diphasiastrum issleri
plavuňka zaplavovaná	- Lycopodiella inundata
potočnice lékařská	- Nasturtium officinale
prstnatec bezový	- Dactylorhiza sambucina
prstnatec pleťový	- Dactylorhiza incarnata
prvosienka nejmenší	- Primula minima
prýšec bahenní	- Tithymalus palustris
prýšec hranatý	- Tithymalus angulatus
pryskyřník ilyrský	- Ranunculus illyricus
pryskyřník veliký	- Ranunculus lingua
rdest alpský	- Potamogeton alpinus

rosnatka okrouhlostá	- Drosera rotundifolia
rudohlávek jehlancovitý	- Anacamptis pyramidalis
růžkatec potopený	- Ceratophyllum submersum
řezan pilolistý	- Stratiotes aloides
sesel pestrý	- Seseli varium
sinokvět měkký	- Jurinea mollis
sítina slanisková	- Juncus gerardii
sleziník hadcový	- Asplenium cuneifolium
smil písečný	- Helichrysum arenarium
starček poříční	- Senecio fluviatilis
starček roketolistý	- Senecio erucifolius
stařinec (starček) celolistý	- Tephrosia integrifolia
stračka vyvýšená	- Delphinium elatum
střevíčník pantoflíček	- Cypripedium calceolus
suchopýrek alpský	- Baeothryon (Trichophorum) alpinum
šafrán bělokvětý	- Crocus albiflorus
šafrán karpatský	- Crocus heuffelianus
šater latnatý	- Gypsophila paniculata
šater svazčitý	- Gypsophila fastigiata
šicha černá	- Empetrum nigrum
šišák hrálolistý	- Scutellaria hastifolia
tis červený	- Taxus baccata
topolovka bledá	- Alcea biennis
třezalka sličná	- Hypericum elegans
třtina pestrá	- Calamagrostis varia
třtina pobřežní	- Calamagrostis pseudophragmites
tučnice obecná	- Pinguicula vulgaris
úrazník uzlovitý	- Sagina nodosa
vemeníček zelený	- Coeloglossum viride
větrnice (sasanka) narcisokvětá	- Anemonastrum narcissiflorum
violka nízká	- Viola pumila
violka obojaká	- Viola ambigua
violka slatinná	- Viola stagnina
violka žlutá	- Viola lutea
vranaček brvitý	- Selaginella selaginoides
vrba velkolistá	- Salix appendiculata
vstavač bledý	- Orchis pallens
vstavač mužský	- Orchis mascula
vstavač nachový	- Orchis purpurea
vstavač obecný	- Orchis morio
vstavač osmahlý	- Orchis ustulata
vstavač vojenský	- Orchis militaris
všivec bahenní	- Pedicularis palustris
všivec mokřadní	- Pedicularis sylvatica
záraza síťnatá	- Orobanche reticulata
zběhovec jehlancovitý	- Ajuga pyramidalis
zdrojovka pobřežní	- Montia hallii
zevar nejmenší	- Sparganium minimum
zvonečník hlavatý	- Phyteuma orbiculare
zvonek hadincovitý	- Campanula cervicaria
zvonek vousatý	- Campanula barbata
žluťucha slatinná	- Thalictrum flavum

Houby:

kalichovka luční	- Omphalina discorosea
------------------	------------------------

klouzek žlutavý	- Suillus flavidus
kukmák dřevní	- Volvariella caesiotincta
mozkovka rosolovitá	- Ascotremella faginea
modralka laponská	- Amylocystis lapponica
ouško citronové	- Otidea concinna
pavučinec nancyský	- Cortinarius nanceinensis
pazoubek zelený	- Microglossum viride
plžatka smrková	- Hygrophorus piceae
strmělka suchomilná	- Clitocybe barbulatum
ušíčko jedlové	- Pseudoplectania vogesiaca
voskovka cihlová	- Hygrocybe sciophana
zvonovka Babingtonova	- Entoloma babingtonii

3. Za druhy ohrožené se prohlašují

Rostliny cévnaté:

aron plamatý	- Arum maculatum
bělozářka liliovitá	- Anthericum liliago
bledule jarní	- Leucojum vernum
brambořík nachový	- Cyclamen purpurascens
cídivka (přeslička) větevnatá	- Hippochaeta ramosissima
černýš český	- Melampyrum bohemicum
česnek hadí	- Allium victorialis
divizna brunátná	- Verbascum phoeniceum
dřín obecný	- Cornus mas
dřípatka horská	- Soldanella montana
dub pýřitý (šípák)	- Quercus pubescens
dvojtátek měnlivý	- Biscutella varia
ďáblík bahenní	- Calla palustris
hadí mord nachový	- Scorzonera purpurea
hadilka obecná	- Ophioglossum vulgatum
hlaváček jarní	- Adonathe vernalis
hořepník tolitovitý	- Pneumonanthe asclepiadea
hvězdice chlumní	- Aster amellus
hvozdík křovištní	- Dianthus seguieri
chrpa chlumní	- Cyanus triumfettii
kamzičník rakouský	- Doronicum austriacum
kapradiník bažinný	- Thelypteris palustris
kavyl Ivanův	- Stipa joannis
klikva bahenní	- Oxycoccus palustris
koniklec bílý	- Pulsatilla scherfelii
koprniček bezobalný	- Mutellina purpurea
koprník štětinolistý	- Meum athamanticum
kostival český	- Symphytum bohemicum
koulenka vyšší	- Globularia punctata
kozinec dánský	- Astragalus danicus
kozinec vičencovitý	- Astragalus onobrychis
kručinečka křídlatá	- Genistella sagittalis
kruštík modrofialový	- Epipactis purpurata
kruštík tmavočervený	- Epipactis atrorubens
kyhanka sivolistá	- Andromeda polifolia
kýchavice bílá	- Veratrum album
len tenkolistý	- Linum tenuifolium

len žlutý	- <i>Linum flavum</i>
lilie zlatohlávek	- <i>Lilium martagon</i>
lomikámen cibulkatý	- <i>Saxifraga bulbifera</i>
medovník velkokvětý	- <i>Melittis melissophyllum</i>
měsíčnice vytrvalá	- <i>Lunaria rediviva</i>
modravec tenkokvětý	- <i>Leopoldia tenuiflora</i>
mochna chlumní středočeská	- <i>Potentilla collina</i> subsp. <i>lindackeri</i>
mochna skalní	- <i>Potentilla rupestris</i>
mochna zlatokvětá duryňská	- <i>Potentilla parviflora</i> subsp. <i>thuringiaca</i>
okrotice bílá	- <i>Cephalanthera damasonium</i>
okrotice dlouholistá	- <i>Cephalanthera longifolia</i>
oman oko Kristovo	- <i>Inula oculus-christi</i>
oměj pestrý	- <i>Aconitum variegatum</i>
oměj šalounek	- <i>Aconitum callibotryon</i>
oměj vlčí	- <i>Aconitum vulparia</i>
ostřice tlapkatá	- <i>Carex pediformis</i>
pampeliška bahenní	- <i>Taraxacum palustre</i>
pérovník pštroší	- <i>Matteuccia struthiopteris</i>
pětiprstka žežulník	- <i>Gymnadenia conopsea</i>
plamének přímý	- <i>Clematis recta</i>
plavuň pučivá	- <i>Lycopodium annotinum</i>
plavuník Zeilerův	- <i>diphasiastrum zeileri</i>
plavuník zploštělý	- <i>Diphasiastrum complanatum</i>
pleška stopkatá	- <i>Calycocorsus stipitatus</i>
prha chlumní	- <i>Arnica montana</i>
prostřelenec (hořec) křížatý	- <i>Tretorhiza cruciata</i>
prstnatec májový	- <i>Dactylorhiza majalis</i>
prstnatec listenatý	- <i>Dactylorhiza lonegebracteata</i>
pryšec huňatý	- <i>Tithymalus villosus</i>
pupečník obecný	- <i>Hydrocotyle vulgaris</i>
rojovník bahenní	- <i>Ledum palustre</i>
sasankovka (sasanka) lesní	- <i>Anemone sylvestris</i>
sněženka předjarní	- <i>Galanthus nivalis</i>
šicha obojaká	- <i>Empetrum hermaphroditum</i>
tařice skalní	- <i>Aurinia saxatilis</i>
tolije bahenní	- <i>Parnassia palustris</i>
trávníčka obecná hadcová	- <i>Armeria vulgaris</i> subsp. <i>serpentini</i>
třemdava bílá	- <i>Dictamnus albus</i>
tuřice (ostřice) blešní	- <i>Vigna pulcaris</i>
tuřice (ostřice) Davallova	- <i>Vigna davalliana</i>
upolín evropský	- <i>Trollius altissimus</i>
vachta trojlístá	- <i>Menyanthes trifoliata</i>
vemeník dvoulistý	- <i>Platanthera bifolia</i>
vemeník zelenavý	- <i>Platanthera chlorantha</i>
vrانع jedlový	- <i>Huperzia selago</i>
vratička měsíční	- <i>Botrychium lunaria</i>
vrba plazivá	- <i>Salix repens</i>
vřesovec pleťový	- <i>Erica herbacea</i>
zimostrázek nízký	- <i>Polygaloides chamaebuxus</i>
zlatovlásek obecný	- <i>Crinitina linosyris</i>
zvonek boloňský	- <i>Campanula bononiensis</i>
zvonek český	- <i>Campanula bohemica</i>
zvonek sibiřský	- <i>Campanula sibirica</i>
žebratka bahenní	- <i>Hottonia palustris</i>
žluťucha smrdutá	- <i>Thalictrum foetidum</i>

Houby:

holubinka olšinná

- *Russula alnetorum*

hvězdovka uherská

- *Geastrum hungaricum*

kržatka vrásčitá

- *Tubaria confragosa*

loupavka vápencová

- *Hysterangium calcareum*

prášivka bažinná

- *Bovista paludosa*

šupinovka Henningsova

- *Pholiota henningsii*