

Ministerstvo zemědělství ČR - Vědecký výbor pro výživu zvířat  
Výzkumný ústav pro výživu zvířat Praha-Uhřetěves

## ANTIINVAZNÍ LÁTKY PŘÍRODNÍHO PŮVODU JAKO ADITIVA DO KRMIV

Lubomír Opletal  
Bohumír Šimerda

Hradec Králové, Šumperk – listopad 2005

## OBSAH

1	ÚVOD	3
2	Současnost antiinvazních látek v neterapeutickém režimu (výzkum i aplikace)	6
2.1	Problém v oblasti aplikací antibiotických stimulátorů růstu	6
2.2	Možnosti ovlivnění negativního působení invazních agens	7
2.3	Současné alternativy antibiotik <i>sensu stricto</i>	8
2.4	Vysokomolekulární antiinvazní látky	9
2.4.1	Peptidy bakterií	9
2.4.2	Živočišné peptidy (proteiny)	14
2.4.3	Peptidy (proteiny) vyšších rostlin	17
2.5	Nízkomolekulární antiinvazní látky	18
2.5.1	Metabolity rostlin a hub obecně	18
2.5.2.	Primární metabolity	19
2.5.2.1	Aminokyseliny	19
2.5.2.2	Sacharidy	19
2.5.2.3	Lipidy	20
2.5.3	Sekundární metabolity	21
2.5.3.1	Organické kyseliny různé struktury	21
2.5.3.2	Flavonoidy	23
2.5.3.3	Procyanidiny	24
2.5.3.4.	Taniny	27
2.5.3.5	Kurkuminoidy	28
2.5.3.6	Silice	29
2.5.3.6.1	<i>Allium</i> sp.	30
2.5.3.6.2	<i>Cinnamomum</i> sp.	31
2.5.3.6.3	<i>Eucalyptus</i> sp.	32
2.5.3.6.4	<i>Foeniculum vulgare</i>	33
2.5.3.6.5	<i>Melaleuca</i> sp., <i>Leptospermum</i> sp.	33
2.5.3.6.6	<i>Ocimum</i> sp.	35
2.5.3.6.7	<i>Origanum</i> sp.	35
2.5.3.6.8	<i>Pelargonium</i> sp.	37
2.5.3.6.9	<i>Rosmarinus officinalis</i>	37
2.5.3.6.10	<i>Salvia</i> sp.	38

2.5.3.6.11	Různé rostlinné taxony	39
2.5.3.6.12	Různé rostlinné metabolity	41
2.5.4	Ovlivnění imunity	42
2.5.5	Přístup kombinatorní chemie	44
3	ZÁVÉR	45
4	SOUHRN	46
5	LITERATURA	47

## 1. ÚVOD

Zcela na začátek je nutné, abychom objasnili formální hledisko této studie, totiž výraz antiinvazní: klasická chemie léčiv rozlišuje v tomto ohledu dva pojmy z hlediska nežádoucích agens: infekční a invazní.

Infekcí se rozumí proniknutí choroboplodných zárodků (od virů až po plísně) do organismu různými způsoby (kapénková nebo alimentární nákaza, poranění, pohlavní styk, přenos z matky na plod, přenos kousnutím hmyzem atd.). Infekční agens se v organismu pomnoží a po určité inkubační době nutné k vývoji onemocnění se objevují příznaky více či méně typické pro danou infekci, související rovněž s poškozením orgánů, které patogen napadá. Nakažený jedinec může choroboplodné zárodky vylučovat (někdy bez zjevného procesu choroby) a nakazit jiné jedince v průběhu epidemického procesu. Imunitní systém jeho organismu se snaží infekci potlačit pomocí specifických i nespecifických mechanismů; následkem úspěšného zvládnutí infekce organizmem může být doživotní imunita vůči danému patogenu, avšak v tomto procesu může dojít i k imunodeficientním procesům, které končí smrtí.

Za invazní proces je pokládáno vniknutí strukturovaných organismů do lidského těla, tzn. především prvoků (např. *Eimeria* aj.) a červů (např. *Ancylostoma duodenale* aj.), ale také rozvoj neoplastických procesů.

Toto hledisko klasické chemie léčiv pokládáme z našeho pohledu za problémové, protože z pohledu průběhu onemocnění mohou být napadení živočišného organismu oběma formami invaze ekvivalentní: mikrobiální infekce může mít ve svých důsledcích u hospodářských zvířat stejně generalizovaný průběh jako proces invaze prvoky – částečný úhyn, zbylá zvířata ataku přežijí, je však otázka, v jakém metabolickém stavu. Výše uvedený pohled chemie léčiv je vázán především na oblast humánní: člověk dovede popsat své pocity a získat výsledky objektivních vyšetření je podstatně rychlejší než v případě zvířat. U zvířat se v řadě případů nemusí projevit infekce bezprostředním úhynem, dochází však k diseminaci choroboplodného agens (a tady nemůžeme už rozlišovat viry a mikroby od prvoků nebo organizovaných červů) v prostředí velkochovů, důsledkem však je snížení užitkovosti. Proto jsme z důvodu inkoherece mezi humánním a veterinárním hlediskem formálně zvolili výraz „antiinvazní“ za pojem, kterým definujeme vstup jakéhokoli infekčního agens do organismu (tedy nejenom virů a bakterií, ale také organizovanějších forem parazitů), protože to

pokládáme v oblasti živočišné produkce za logické z důvodů, které jsme objasnili a budeme tak o přírodních látkách, působících v širším kontextu také referovat. O tomto hledisku jsme hovořili už v předešlé studii (Opletal, L., Šimerda, M.: *Nové a potenciální doplňkové látky v krmivech přírodního původu*, VVVZ 2005).

Obecně je nutné konstatovat, že jakákoliv infekce, která se objeví v chovech hospodářských zvířat, má velmi nepříznivý dopad na ekonomiku produkce. Je to významně pozorovatelné při zásahu do vývoje kokcidióz: samotné onemocnění nemá většinou (v současnosti) negativní vliv ve smyslu úhynu v chovech, významně však ovlivní konverzi krmiva, užitkovost zvířat a tím i ekonomickou stránku chovu. Kokcidiózy jsou velmi úporné: pokud se rozšíří v chovu, je nutné použít kokciostatika se všemi zákonnými konsekvencemi týkajícími se použití takových přípravků. Antikokcidika nepřicházejí v úvahu; prvok je velmi rezistentní a tak je nutné zvolit každoročně určitou rotaci látek, aby nevznikla rezistence. Znamená to jednorázový zásah se zvýšenými nároky.

V humánní terapii se za posledních padesát let ukázalo (a je to logické), že mnohem efektivnější než terapie infekčních onemocnění (obrna, pravé neštovice ad.) je jejich prevence (v tomto případě vakcinace). Je to postup vyžadující vynaložení určitých finančních prostředků, za to však velmi účinný a zejména dobře kontrolovatelný s predikovatelnými výsledky. Podobný postup se začíná aplikovat i v živočišné výrobě (např. u kokcidióz). V živočišné výrobě však tyto procesy nejsou tak jednoduše proveditelné jako u lidí a tak – snažíme-li se o prevenci – nezbývá než používat přísady do krmiv, které do určité míry mohou zabránit vývoji infekčních chorob. Je to proces permanentní, který sice žádá určité finanční prostředky, ale v konečném důsledku jsou tyto preventivní prostředky nižší než samotná terapie a asance chovů. V případě živočišné výroby má tento postup význam širší než v případě humánní terapie: doplňkové látky nám plní zpravidla kromě antiinvazního účinku další roli: mohou zvyšovat využitelnost krmné dávky, příznivě ovlivňovat imunitu, působit synergicky s některými běžnými fyziologickými látkami (zvyšování antioxidačního potenciálu) atd.

Je nepochybné, že intervenčnímu přísunu těchto látek v krmivech (a přiznejme, že se jedná o látky velmi různé chemické struktury a *de facto* odlišného biologického účinku) se v blízké budoucnosti nevyhneme, pokud se budeme chtít ochránit před nežádoucím vývojem infekčních atak, zbývá jen uvážlivost v této oblasti, abychom zvolili účinné látky s minimálními nežádoucími vedlejšími účinky (zde především z hlediska jakosti konečného produktu), s maximálními pozitivními doplňkovými účinky, dodrželi proces welfare a

přiblížili se představě minimálního rizika nežádoucí kontaminace krmivového a potravního řetězce.

Předložená studie má charakter overview; pokládali jsme za potřebné zahrnout do ní i výsledky prací, které se týkají sousedících oblastí (farmacie, potravinářství), nejen vlastní živočišné výroby, protože jsme byli nuceni vzít v úvahu zaměření tohoto typu studií v rámci Vědeckého výboru pro výživu zvířat: má nejenom deklarovat pokrok v určité oblasti, ale přinést i určité inspirativní prvky a diskusi, která by měla směřovat do širších oblastí zemědělského výzkumu v České republice. Protože jsou antimikrobiální, resp. antiinvazní látky v současnosti citlivou záležitostí, snažili jsme se k řešení tohoto problému (které bude relativně obtížné) přispět svým hlediskem.

Hradec Králové, Šumperk, listopad 2005

Autoři

## 2. Současnost antiinvazních látek v neterapeutickém režimu (výzkum i aplikace)

### 2.1 Problém v oblasti aplikací antibiotických stimulátorů růstu

Plošné použití antibiotik (tj. antibiotických stimulátorů růstu, nikoli antibiotik použitých v omezených případech v lokálních chovech ke zvládnutí infekčních procesů) se začátkem roku 2006 stává v Evropě vyřešeným problémem. Ačkoliv je tato záležitost prakticky definitivně legislativně uzavřena, stále vznikají diskuse, snažící se o revizi rozhodnutí tvrzením, že rezistence na humánní a veterinární antibiotika není tak významná. Mechanismus účinku řady těchto látek je sice znám, nicméně je aktivita je podstatně širší než to, co se o nich ví. Tento mechanismus je podstatně širší než jen antimikrobiální působení na určitou frakci střevní flóry (i když tato část účinku je určitě zcela zásadní). Je nepochybné, že se látky podílejí také na fermentaci sacharidů a ovlivňují rozklad žlučových kyselin; tím se zvyšuje využitelnost krmné dávky a dostupnost energie a zároveň se sníží účinek toxických metabolitů (amoniaku, aminů) v zažívacím ústrojí o kterých je známo, že za normálních podmínek nepříznivě ovlivňují metabolismus střevní mukózy<sup>1,2</sup>. Problém zkřížené rezistence je však příliš reálný, jak už bylo ukázáno<sup>3</sup>.

V současnosti existuje už poměrně mnoho přehledných prací, které detailně probírají použití antibiotických stimulátorů růstu ve výživě zvířat s ohledem na možnost mikrobiální rezistence a ve vztahu k použití antibiotik v humánní praxi<sup>4,5,6,7,8,9</sup>; Nejběžnější bakterie rezistentní na antibiotika z krmiva (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Campylobacter* sp., někteří zástupci rodu *Enterococcus*) mohou snadno kolonizovat zažívací ústrojí člověka většinou alimentární expozicí; rezistence může být genově přenášena z mikroorganismů zvířat na humánní patogeny intestinální flóry. Vliv antibiotik přidaných do krmiva byl na vývoj rezistence (pro člověka) prokázán u zástupců *Campylobacter* a *Escherichia coli*: tyto zoonoidní bakterie jsou významně rezistentní vůči antimikrobiálním látkám používaným v humánní terapii<sup>10</sup>, a proto je hledání alternativ velmi živou záležitostí. Ačkoliv už před několika lety bylo zřejmé, že použití antibiotik v chovech bude zrušeno (a nehrozí tedy vývoj nepříznivých procesů z hlediska rezistence vůči mikroorganismům), je tomu problému věnována za posledních pět let stále velká pozornost; jedná se do jisté míry o časovanou bombu. Existují studie např. o použití antibiotik u zvířat, resp. impaktu bakteriální rezistence a možném vlivu na veřejné zdraví<sup>11</sup>, rizika pro veřejné zdraví vycházející z chemických a antibiotických reziduí<sup>12</sup> pocházejících z jatečních zvířat<sup>13</sup>, nebezpečí použití těchto antibiotik pro humánní komenzální bakterie<sup>14</sup>, mechanismus bakteriálních biocidů a antibiotické rezistence<sup>15</sup>, použití ionoforů jako promotoru růstu ruminantů a jejich impakt na bezpečnost potravního řetězce<sup>16</sup>, dlouhodobém posunu v modelu antibiotické rezistence u enterálních

bakterií<sup>17</sup>, použití antibiotických stimulátorů růstu, jejich efekt na bakteriální populaci a optimalizace režimu dávky<sup>18</sup>, antibiotické rezistenci u normální mikroflóry zvířat<sup>19</sup>, vývoji antibiotické rezistence a podmínkách náhrady antimikrobiálních chemoterapeutik ve výživě zvířat<sup>20</sup>, o antibioticích v krmivovém řetězci a jejich role ve vývoji rezistence<sup>21</sup> a další.

Současně se začínají objevovat studie deklarující různé výživové režimy bez antibiotik: byly např. sumarizovány evropské zkušenosti s výkrmem prasat bez antibiotik (změny výkrmových strategií, alternující doplňkové látky, ekonomické parametry výkrmu ad.); ve výkrmu odstavených prasat se ukázalo jako příznivé snížení surového proteinu v krmivu, zahrnutí brambor s nízkým obsahem glykoalkaloidů a změny v použití některých cereálií (více ječmene a ovsu, méně pšenice a kukuřice)<sup>22</sup>.

## 2.2 Možnosti ovlivnění negativního působení invazních agens

Z hlediska preventivního zásahu proti rozvoji invazních agens je nutné uvážit:

- **typ hospodářských zvířat, který je potřebné chránit:** každý typ zvířete má svoje metabolická specifika. Odlišně probíhá metabolismus u ryb a savců; u svaců je nutno vzít navíc v úvahu, zda se jedná o monogastrické živočichy nebo přežvýkavce. Obzvláště u přežvýkavců je situace složitější, protože v systému jejich žaludků dochází zpravidla k metabolické destrukci řady biologicky aktivních látek a to i takových, které jsou jako xenobiotika relativně stabilní (např. kyselina 3-nitropropionová, obsažená v píci kontaminované čičorkou pestrou (*Coronilla varia*) je přežvýkací dokonale rozložena, takže se na rozdíl např. od hlodavců neprojeví její toxicita formou příznaků Huntingtonovy choroby). Z toho plyne, že např. většina antimikrobiálně působících monoterpenů (siličných složek), přítomných v reaktivní formě (aldehydy, ketony, alkoholy, estery) je u přežvýkavců poměrně rychle metabolizována, aniž by vykonala účel, k němuž byla podána,
- **invazní agens, které má být ovlivňováno:** choroby, kterými jsou např. napadány ryby, se nevyskytují u savců, u monogastrických živočichů jsou závažné především bakteriální infekce a invaze červů, pro hrabavé jsou charakteristické protozoální infekce.

Z těchto dvou oblastí problémů plyne logické poznání, že doplňkové látky (resp. jejich směsi) by měly disponovat kromě **antiinvazního účinku**, který se uplatňuje na samotných invazních agens, poměrně výrazně dalšími účinky, které antiinvazní účinky synergizují a zlepšují zdraví zvířete, zejména by měly mít:



- a) **Antioxidační účinek** - likvidace nadměrného množství reaktivních forem kyslíku (ROS) je velmi efektivní, protože se tím snižuje negativní ovlivňování metabolismu ve tkáních, které jsou napadány. Velmi často je zvýšená hladina ROS indikátorem probíhajícího nespecifického zánětu,
- b) **Protizánětlivý účinek** – byl naznačen v předchozím bodu,
- c) **Imunostimulační účinek** – má zvyšovat tkáňovou imunitu především v oblasti mukózy gastrointestinálního traktu, který je hlavní vstupní branou pro invazní agens přicházející s krmivem, někdy jen transistorní (priony, viry), většinou však terminální (bakterie, kokcidie, červi),
- d) **Probiotický účinek** – může v sobě zahrnovat někdy až všechny tři předcházející účinky: povzbuzení tvorby vhodného spektra střevních mikroorganismů (suplementací krmiva některými průmyslovými kmeny probiotických bakterií) má často za následek tvorbu látek, které těmito účinky alespoň zčásti disponují.

### 2.3 Současné alternativy antibiotik *sensu stricto*

V posledních dvou dekádách probíhá velmi intenzivní výzkum v oblasti především antimikrobiálních peptidů – metabolických produktů řady známých bakterií (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* aj.), které jsou antimikrobiálně účinné a bylo by možné je použít jako alternativu vůči antibiotikům, protože se u nich neobjevuje rezistence. Tyto látky byly izolovány nejen z mikroorganismů, ale také z vyšších rostlin a živočichů a je velká naděje že budou (a zčásti už jsou) používány jako chemoterapeutické prostředky, ale rýsuje se také možnost jejich použití jako doplňkových látek při výživě hospodářských zvířat. Tato nová generace peptidů, označovaných jako AMPs (Anti Microbial Peptides) je nazývána také jako „přírodní antibiotika“, protože jsou aktivní vůči širokému spektru mikroorganismů zahrnujících bakterie a vláknité houby<sup>23,24</sup>; kromě toho tyto látky efektem vrozené imunity<sup>25</sup>. Mohou být vysoce účinné na široké spektrum infekčních organizmů<sup>26</sup>. Tyto antimikrobiální peptidy byly klasifikovány na základě jejich biochemických a strukturních vlastností do několika skupin<sup>27,28</sup>; hlavní roli však hrají: **kationické peptidy**, které se dělí do tří základních skupin na:

- *lineární peptidy* vytvářející helikální strukturu,
  - *cysteinem bohaté, koncově otevřené peptidy*, obsahující jeden nebo několik disulfidických můstků,
  - *molekuly bohaté na specifické aminokyseliny* jako prolin, glycin, histidin a tryptofan
- Látky mají různá označení např. baktolysiny<sup>29</sup>, sakaciny<sup>30</sup>, defensiny<sup>31</sup> ad.

Toto základní dělení zahrnuje řadu podskupin v závislosti na tom, z jakého zdroje jsou získávány<sup>32</sup>, jsou probírány jejich fyzikálně-chemické vlastnosti a předpokládaný mechanismus účinku<sup>33,34,35</sup> a možný terapeutický potenciál (uvádí se, že mohou být účinné nejen proti Gram-pozitivním, Gram-negativním bakteriím, houbám, ale také vůči některým prvokům)<sup>36</sup>. Jsou použitelné nejen pro inhibici mikrobiálních infekcí a růstu, ale také pro snížení projevů endotoxémie, působí synergicky s terapeuticky podanými antibiotiky, případně s lysozymem. Tyto baktolysiny jsou použitelné rovněž jako antivirové, antifungální a antitumorózní agens<sup>37</sup>, kromě svého základního antimikrobiálního účinku významně snižují hladinu lipopolysacharidem (LPS) indukovaného TNF a působí proti LPS indukované endotoxemii; jsou využitelné dohromady s antibiotiky nebo lysozymem<sup>29</sup>. Látky izolované z Gram-pozitivních bakterií jsou nazývány jako lantibiotika a je sledována jejich biologická aktivita o které se zdá, že by mohla být využitelná<sup>38</sup>. Některé z těchto látek jsou v klinickém stadiu výzkumu (fáze III) pro humánní<sup>39</sup> i veterinární<sup>40</sup> použití, uvažuje se však o nich jako o antimikrobiální přísadě do potravin<sup>41</sup>, ale také jako prostředku pro přípravu krmiva a siláže (s využitím např. *Lactobacillus buchneri*)<sup>42</sup>. Jsou vypracovány metody jejich laboratorní produkce, umožňující produkci průmyslovou<sup>43</sup>.

Zásadní význam v této oblasti mají peptidy připravitelné z bakterií, dále peptidy živočišné a nakonec peptidy získané z rostlin.

## 2.4 Vysokomolekulární antiinvazní látky

### 2.4.1 Peptidy bakterií

Bakteriální peptidy jsou velmi široce studovány a je zřejmé, že mají velkou perspektivu (některé jsou už prakticky před registrací): mohou být použity jako bezpečné antimikrobiální látky pro ochranu potravin<sup>44</sup> (např. bakteriociny třídy IIa jsou aktivní vůči některým kmenům *Listeria*<sup>45</sup>), jako synbiotika ve směsi s prebiotiky, enzymy, s různými formami minerálních látek s vysokou biologickou dostupností a obsahovými látkami rostlin jsou alternativou modifikátorů metabolismu a antibiotik ve formě krmiva pro hospodářská zvířata<sup>46</sup>.

Výzkum současné doby a blízkost praktické aplikace jeho výsledků ukazuje, že prakticky největší význam budou mít klasické probiotické bakterie rodu *Lactobacillus*; za posledních 10 let o tom významně svědčí počet pracovišť, které se studiem těchto organismů zabývají počet publikací a citací. Pro živočišnou výrobu je to velmi příznivé, rod *Lactobacillus* je zde používán a je naděje, že přinese další významný pokrok v produkci zvířat. Těžko lze předpokládat, že by byly metabolity tohoto typu používány v izolované formě jako doplňková látka do krmiv, lze si však představit reálně koncipovaná synbiotika

s obsahem optimálních kmenů, která by byla zdrojem těchto látek. Snad výsledky výzkumu, které jsou velice povzbudivé, povedou ze stagnace současného výzkumu a použití probiotik, ve kterém se v současnosti (aslepoň v ČR) nachází.

Při studiu těchto peptidů je však nutné dobře oddělit biologický účinek jednotlivých složek, které se nacházejí v kultivačním médiu: antimikrobiální účinek totiž může jít na vrub zcela jiných látek než peptidů, jak bylo prokázáno v případě *Lactobacillus plantarum* VTT E-78076: totální inhibici růstu Gram-negativních testovaných mikroorganismů a *Enterobacter agglomerans* VTT E-90396 způsobila směs nízkomolekulárních sloučenin, konkrétně benzoové kyseliny, methylhydantoinu, mevalonolaktonu a 3-(2-methylpropyl)-2,5-piperazindionu<sup>47</sup>, které jsou metabolickými produkty těchto mikroorganismů.

Při použití uvedených mikroorganismů je však třeba postupovat velmi uvážlivě a nelze se nezmínit o jistém nebezpečí, které může pramenit z nedostatečně prověřených kmenů a které se týká možného transferu genů rezistence na významná antibiotika. U některých kmenů *Lactobacillus* sp. bylo zjištěno, že mohou být hostitely pro přenos těchto genů rezistence, které potom (v průběhu střevního metabolismu) přenášejí do jiných patogenních bakterií. Proto musí být každý kmen dobře testován konsekventní řadou antibiotik ve validovaném testu, aby se zabránilo použití nevhodných kmenů, které by potom mohly (např. jako startovací kultury v jogurtech) přinést nežádoucí potíže<sup>48</sup>. Na druhé straně – rod *Lactobacillus* je stále nejběžnější a nejrozšířenější a to i z hlediska probiotického použití (do jeho výzkumu byly věnovány dosud velké finanční prostředky u kterých se předpokládá návratnost), a proto se věnuje velká pozornost efektivním metodám, které sledují antimikrobiální aktivitu jeho metabolitů<sup>49,50</sup>.

Tabulka 1 uvádí výsledky výzkumu a použití metabolitů významných kmenů bakterií z průmyslových sbírek, případně z přirozeného prostředí.

Tab. 1. Antiinvazní aktivita metabolitů některých kmenů bakterií

Mikroorg.	Látka	Biologická aktivita	Lit.
<i>Bacillus cereus</i>	Nisin	V kombinaci se palmitátem sacharosy P-1670 působí proti Gram-pozitivním bakteriím a <i>Listeria monocytogenes</i> ; synergismus nisinu byl pozorován při použití palmitátů sacharosy (P-1570, P-1670) a stearatů sacharosy (S-1570 a S-1670) proti některým kmenům <i>L. monocytogenes</i> , <i>B. cereus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>S. aureus</i>	<sup>51</sup>

Tab. 1 pokračování

Zdroj neuveden	Nisin	Látka potenciálně využitelná v potravinářském průmyslu	52
Zdroj neuveden	Nisin	Přehled biologického účinku v kombinaci s karvakolem a thymolem na viabilitu buněk ( <i>Bacillus cereus</i> ); zjištěno, že tato kombinace je vhodným antimikrobiálním agens pro minimálně tepelně ošetřované potraviny	53
Zdroj neuveden	Nisin	Biologická aktivita vzhledem k ochraně potravin	54
<i>Enterococcus faecium</i>	Nespecifikovaný bakteriocin	Izolace bakteriocinu z kultury a stanovení jeho antimikrobiální aktivity	55
<i>Enterococcus faecium</i> NIAI 157	Enterocin ON-157	Izolace a čištění bakteriocinu, stanovení fyzikálně-chemických charakteristik, stanovení biologické aktivity (inhibice <i>Enterococcus</i> sp., <i>Lactobacillus sake</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> )	56
<i>Enterococcus faecium</i> P21	Enterocin A Enterocin B	Izolace z produktu suché fermentace, výrazná antimikrobiální aktivita vůči blízkým mléčným bakteriím, <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>C. botulinum</i>	57
<i>Enterococcus galinarum</i> 012	Enterocin 012	Izolace z duodena pštrova, antimikrobiálně účinný vůči <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. sake</i> , <i>Listeria innocua</i> , <i>Propionibacterium acidipropionici</i> , <i>Propionibacterium</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> (a 1 kmen <i>Escherichia coli</i> )	58
<i>Lactobacillus acidophilus</i> IBB 801	Acidofilin 801	Izolace, čištění, stanovení fyz.-chemických charakteristik, antimikrobiální spektrum úzké (jen na podobné druhy rodu <i>Lactobacillus</i> ), Gram-negativní bakterie <i>Escherichia coli</i> Row, <i>Salmonella Panama</i> 1467	59
<i>Lactobacillus amylovorus</i> LMG P-13139	Laktobin A	Izolace, určení přibližné struktury, stanovení inhibičního spektra vůči proteinázám, sekvence řetězce. Zjištěna příslušnost bakteriocinu ke třídě IIb (Klaenhammer)	60
<i>Lactobacillus brevis</i> OG1	Nespecifikovaný bakteriocin	Viz <i>Lactobacillus plantarum</i> F1	
<i>Lactobacillus casei</i> CRL705	Laktocin 705	Bakteriocin IIb typu, složený ze dvou proteinových komponent; diskutován vliv obou jednotek na antimikrobiální aktivitu	61
<i>Lactobacillus gasseri</i> KT7	Gassericin KT7	Izolován z feces kojenců, aktivní vůči mléčným bakteriím a potravním patogenům ( <i>Clostridium</i> sp., <i>Listeria</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp.)	62

Tab. 1 pokračování

Lactobacillus helveticus G51	Helveticin 51	Izolován z kultury sýra Grana, částečná fyz.-chem. charakterizace; silná aktivita vůči některým termofilním druhů r. Lactobacillus	63
Lactobacillus helveticus 2700	Nespecifikovaný bakteriocin	Produkován při fermentaci mléka L. helveticus 2700, inhibuje růst 7 kmenů L. delbrueckii ssp. bulgaricus, produkční L. helveticus 2700, 14 kmenů L. acidophilus, 1 kmen L. plantarum 2903 a L. jugurti 2819	64
Lactobacillus paracasei paracasei M3	Laktocin M3	Produkován v kultuře Bulgarian yellow cheese po inokulaci Lactobacillus paracasei paracasei M3, částečně určena struktura; inhibuje růst Saccharomyces cerevisiae NBIMCC 1812, Candida blankii NBIMCC 85, C. pseudointermedia NBIMCC 1532	65
Lactobacillus plantarum BF001	Plantaricin F	Detailní stanovení kultivačních podmínek pro produkci a vyřešení rámcové struktury	66
Lactobacillus plantarum TMW 1.25	Plantaricin 1.25	Izolace z produktu suché fermentace, stanovení základních fyz.-chem. charakteristik, citlivosti vůči běžným proteázám; inhibice různých kmenů Lactobacillus a Staphylococcus aureus	67
Lactobacillus plantarum L4	Nespecifikovaný bakteriocin	Probiotický kmen používaný jako startér při fermentaci zeleniny, konzervaci plodů oliv v humánní i živočišné sféře. Produkce bakteriocinu aktivního vůči enteropatogenní flóře, sporulujícím mikroorganismům a fungálním organismům, dosud neizolován	68
Lactobacillus plantarum NCIM 2084	Plantaricin LP84	Termostabilní, působí proti široké skupině Gram-pozitivních i Gram-negativních mikroorganismů, mikroorganismy přenášené potravou a další patogeny	69
Lactobacillus plantarum	Nespecifikovaný bakteriocin	Antimikrobiální aktivita	70
Lactobacillus plantarum ST31	Plantaricin ST31	Inhibice některých kmenů rodu Lactobacillus, Leuconostoc sp., Pediococcus sp., Streptococcus sp., Bacillus sp., potravních patogenů vč. Staphylococcus aureus	71
Lactobacillus plantarum	Plantaricin 35d	Antibakteriálně účinný vůči Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes	72
Lactobacillus plantarum C10	Nespecifikovaný bakteriocin	Produkován uvedeným kmenem v prostředí solného stresu; inhibice bakteriálních patogenů přenášených potravou vč. Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, kmeny Clostridium. Velmi nízká aktivita vůči mléčným bakteriím	73

Tab. 1 pokračování

Lactobacillus plantarum	Plantaricin W	Směs dvou peptidů působících antimikrobiálně synergicky, inhibice široké skupiny Gram-pozitivních bakterií	74
Lactobacillus plantarum BF001	Plantaricin F	Antibakteriální působení	75
Lactobacillus plantarum 423	Plantaricin 423	Malý termostabilní protein, antimikrobiálně účinný vůči široké skupině Gram-pozitivních patogenů přenášených potravou, dále Staphylococcus sp., Listeria sp., Pediococcus sp., Lactobacillus sp. ad.	76
Lactobacillus plantarum Zn 42, Zn 50, Zn 52	Nespecifikovaný bakteriocin (y)	Bakteriocin(y) izolovaný ze solného roztoku z portugalských oliv, inhibice některých kmenů r. Lactobacillus, některých patogenů přenášených potravou vč. Listeria monocytogenes, Staphylococcus viridans, Escherichia coli, Salmonella sp.	77
Lactobacillus plantarum ALC01	pediocin	Kombinace živé kultury Lactobacillus plantarum ALC01 a pediocinu (produkovaného bakterií) pro inhibici růstu Listeria v sýru a lososím mase	78
Lactobacillus plantarum Lp31	Nespecifikovaný bakteriocin(y)	Izolace z produktu suché fermentace, antimikrobiálně účinný vůči Gram-pozitivním i Gram-negativním mikroorganismům	79
Lactobacillus plantarum F1	Nespecifikovaný bakteriocin(y)	Inhibice růstu E. coli NCTC10418, Enterococcus faecalis EF1, neinhibuje Candida albicans ATCC10231, Klebsiella sp. UCH15; bakteriociny jsou podobné, ne však identické, liší se tepelnou stabilitou (bakteriocin z L. brevis je stabilnější).	80
Lactobacillus reuteri	Nespecifikovaný bakteriocin	Chemická charakteristika antimikrobiálního bakteriocinu	81
Lactobacillus reuteri LTH2584	Reuterocyklin	Široké inhibiční spektrum zahrnující Lactobacillus sp., Bacillus subtilis, B. cereus, Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Listeria innocua	82
Lactobacillus reuteri	Reuterin	Kmen izolován z neupravovaného mléka z farmy v blízkosti Ankary; inhibice Listeria monocytogenes, nikoli Salmonella sp.	83
Lactobacillus reuteri	Reuterin	Studium biologických vlastností a možnost fixace tkání	84, 85
Lactobacillus salivarius ssp. salivarius UCC118	ABP-118	Malý termostabilní dvou-peptidový bakteriocin tř. IIb, z ileálně-cekální oblasti lidského GIT; poprvé izolován ze známé lidské probiotické bakterie a charakterizován na genetické úrovni	86

Tab. 1 pokračování

Lactobacillus sanfrancisco C57	Nespecifikovaný bakteriocin	Inhibice <i>Listeria monocytogenes</i>	87
Pediococcus acidilactici F	Pediocin F	Účinný proti řadě patogenů přenášených potravou	88
Pediococcus pentosaceus L Pediococcus pentosaceus S	Pediocin L Pediocin S	Izolace, vyčištění, stanovení základních fyz.-chem. charakteristik, termostabilní, antimikrobiálně účinný proti patogenům přenášeným potravou, inhibuje růst sporulujících Gram-pozitivních a Gram-negativních kmenů bakterií, klíčení spor <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 10225, ATCC 10254, <i>Bacillus cereus</i> 11778	89

Je nutné také zajistit, aby kmeny probiotických bakterií, které mají být použity v potravinářství a živočišné výrobě, neprodukovaly bakteriociny, které ničí pozitivní střevní mikroflóru.

Existuje skupina malých, v kyselém prostředí rozpustných spórových proteinů, které mohou být použity k inhibici stěny bakteriálních buněk. Je známa také možnost tvorby bakteriofágového vektoru zahrnujících sspC geny pro tvorbu těchto malých proteinů<sup>90</sup>.

#### 2.4.2 Živočišné peptidy (proteiny)

Živočišná surovina je dostupná v relativně velkém množství a může sloužit jako skutečně reálný zdroj látek použitelných jako antiinvazní prostředky. Na tomto poli probíhá velmi intenzivní výzkum, zahrnující nejen buňky, ale i jejich subtilní části a to nejen v oblasti humánní, ale i v oblasti živočichů, kteří nejsou savci (mořští živočichové, ptáci); existují údaje o tom, že výzkum avidních cytokinů může být prospěšný z hlediska antimikrobiálního a imunitního i pro člověka, např.<sup>91</sup>. Je však nutno zapomenout na to, že by se výsledky tohoto výzkumu mohly uplatnit v běžné potravinářské praxi nebo živočišné výrobě. Zcela určitě se však malé, anfifilní antimikrobiální peptidy z různého materiálu (také rostlinného, jak bude ukázáno dále) mohou uplatnit jako antifungální prostředek<sup>92</sup>.

Nesporně velký význam budou mít peptidy vzniklé proteolýzou potravinářské suroviny, resp. masa různých živočichů (teplokrevných i ryb) nebo mléčných produktů – tyto produkty vykazují vůči invazním agens zvýšení přirozené odolnosti (imunity). Jsou neškodné (za předpokladu čistoty výchozí suroviny). Z mléka přichází v úvahu výroba laktoferrinu a lysozymu, ale také ovotransferrin,  $\alpha$ -laktalbumin a  $\beta$ -laktoglobulin<sup>93</sup>. Produkty z masa živočichů, ryb a krve mohou mít široké použití, nejen v potravinářství a živočišné výrobě, ale také ve farmacii a kosmetice<sup>94</sup>.

### Produkty připravované ze savčí červené krevní složky:

*Hemocidiny* jsou antimikrobiální látky (směsi), připravované z peptidů obsahujících hem; částečně štěpený hemoglobin, myoglobin a cytochrom c mají mikrobicidní aktivitu vůči poměrně širokému spektru mikroorganismů. Neaktivnějším fragmentem je apomyoglobin (zásah do membrány *Escherichia coli*)<sup>95</sup>.

*Porfyriny* přírodní i polosyntetické vykazují antimikrobiální a antivirovou aktivitu založenou na schopnosti katalyzovat peroxidázové a oxidázové reakce, absorbovat fotony a generovat ROS a ovlivňovat tak lipidy membrán mikroorganismů. Fotodynamicky aktivní porfyriny a ftalocyaniny závislé na světle působí destrukci řady Gram-pozitivních a Gram-negativních bakterií. Tyto látky mají relativně nízkou toxicitu<sup>96</sup> a představují jeden z nově se rozvíjejících oborů chemie léčiv.

### Produkty připravované z bovinního mléka

*Kolostrum (mlezivo)* je získáváno z kravských prsních žláz prvních 24-48 hodin po otelení. Tekutina je po homogenizaci fluidně vysušena a zároveň pasterizována max. 15 min. při 140 °C. Výrobci tvrdí, že přítomné tkáňové faktory jsou ve směsi natolik stabilní, že se rozkládají při tomto postupu jen omezeně. Takto sušený materiál obsahuje: imunoglobuliny a růstové faktory, proteiny 63-65 % (vč. laktoglobulinu, albuminu, laktalbuminu, prealbuminu), vlhkost 4,26 %, popel 4,85-4,97 %, tuk 0,8-3 %, laktózu 2-3 %, elementy: Ca 0,26 % P 0,24 %, Mg 0,04 %, Na 0,07 %, K 0,14 %, Fe 0,0002 %, Cu 0,00006 %, Co 0,00006 %, Mn 0,000016 %, I 0,00003 %. Z vitamínů a vitagenů jsou přítomny: cholin 0,12 %, kalciferol 4 IU/100 ml, v čerstvém materiálu: tokoferol 2-3 mg/100 ml, thiamin 500 mg/100 ml, niacin 100 mg/100 ml, pantothenová kyselina 220 mcg/100 ml, niacin 70-80 mcg/100 ml, pyridoxin 50-70 mcg/100 ml, kyanokobalamin 1 mcg/100 ml, biotin 3-4 mcg/100 ml, listová kyselina 5-9 mcg/100 ml, askorbová kyselina 2,5 mg/100 g, riboflavin 500 mcg/100 ml. Jako imunitní faktory jsou zastoupeny: imunoglobuliny - ve vysoké koncentraci jsou přítomny IgG, dále IgM, IgA, IgE, dále byly identifikovány Secretory IgA, IgA Specific Helper Factor (sIgA) (indukuje syntézu IgA),  $\alpha$ -1-antitrypsin,  $\alpha$ -1-fetoprotein,  $\alpha$ -2-makroglobulin, hemopexin, haptoglobin,  $\beta$ -2-mikroglobulin C3, C4, orosomukoid, IL-1, IL-6, IL-10, TNF, interferon- $\gamma$ , laktoperoxidáza, xanthinoxidáza, laktoferrin, lymfokiny a lysozym, Proline-Rich Polypeptide (PRP),  $\alpha$ -2-glykoproteiny, AP-glykoprotein, široká skupina specifických antibakteriálních, -virových, -kvasinkových a -protozoálních protilátek a významná hladina sloučenin



neprotilátkového charakteru zahrnující glykokonjugáty. Z růstových faktorů jsou přítomny: Insulin-like Growth Factor 1 (IgF-1, vysoká koncentrace), Transforming Growth Factors A and B (TgF A & B), Epithelial Growth Factor (EgF), Fibroblast Growth Factor (FgF), prolaktin, Gonadatropin Releasing Hormone s doprovodnými peptidy (GnRH a GAP), insulin. Růstové faktory, které jsou v něm obsaženy, mají antimikrobiální aktivitu<sup>97</sup>; je však nesporné, že se na této aktivitě podílejí také imunoglobuliny, laktoferrin a lysozym.

*Laktoferrin* (glykoprotein obsahující 703 aminokyselin s molekulovou hmotností 80 kDa) je pokládán (stejně jako lysozym) za antibiotikum savců. Chrání organismus před mikrobiálními infekcemi, má imunomodulační efekt<sup>98</sup>, vykázal však také antioxidační a protizánětlivou aktivitu. Aktivovaný laktoferrin má silný deterenční účinek na patogenní bakterie, zejména může-li být dislokován ve formě biofilmu; v současnosti už existují technologické postupy, které umožní komercializaci takových přípravků a jejich použití proti invazním agens<sup>99</sup>. Tento aktivovaný laktoferrin, který je z hlediska funkčnosti zlepšenou formou přírodního, izolovaného laktoferrinu, je velmi silným blokátorem patogenní mikroflóry na povrchu produktu (např. potraviny): brání např. adherenci *Escherichia coli* O157:H7 na povrchu hovězího masa, silně váže *Salmonella typhimurium* nebo *Campylobacter jejuni* na kůži brojlerových kuřat a brání proliferaci *Listeria monocytogenes* na hotových potravinách určených k bezprostřední konzumaci<sup>100</sup>. Aktivovaný laktoferrin je pokládán za látku velmi použitelnou zejména v potravinářství, které je věnována řada přehledných prací, např.<sup>101,102</sup>. Není třeba zdůrazňovat, že stejně, jako se o této látce uvažuje (a začíná se používat) v potravinářství, lze ji aplikovat také v určitých případech v živočišné výrobě. Protože disponuje také imunomodulačními vlastnostmi (snižuje uvolňování IL-1, IL-2 a TNF- $\alpha$ ), uvažuje se o něm jako o léčivu<sup>103</sup>; *de facto* „zametá“ neproteinově vázané železo v tělesných tekutinách a zánětlivých ložiscích, tlumí poškození tkání ROS a snižuje dostupnost kovu invazními bakteriemi, houbami a neoplastickými buňkami; lze jej použít v chovech ryb, přípravcích pro orální hygienu a dětské mléčné výživě<sup>104</sup>. Dalším vhodným místem pro aplikaci je střevní mukóza a jeho účinky v tomto kompartmentu jsou více než zřejmé.

*Lysozym* je u obratlovců poměrně široce rozšířený enzym charakteru hydrolázy (E.C.3.2.17) složený ze 129 aminokyselin, s hmotností 14,5 kDa. Přirozený lysozym má bazický charakter s isoelektrickým bodem při pH 10,5-11,0; optimální účinek vykazuje při pH 4,5. Už před zhruba deseti lety byl doporučen jako antimikrobiální látka pro ochranu potravin<sup>105</sup>. U Gram-positivních bakterií poškozuje vnější peptidoglykanovou vrstvu, Gram-negativní bakterie a buňky kvasinek jsou odolné. Byla vypracována metoda jeho izolace z vaječného bílku, který

je jeho bohatým zdrojem; u vyčištěného preparátu se ukázalo, že je účinný vůči *Escherichia coli* a zástupcům r. *Enterococcus*, významnou aktivitu vykazuje na *Listeria monocytogenes*, ovšem zástupci rodu *Salmonella* jsou vůči němu rezistentní<sup>106</sup>. U látky však byla popsána také neenzymová mikrobicidní aktivita<sup>107</sup>; lze ji produkovat transgenními rostlinami po vnesení bovinní cDNA za pomoci virových vektorů (*Tobamovirus*)<sup>108</sup>.

*Laktoglobuliny* (především  $\beta$ -laktoglobulin o hmotnosti 18 kDa, složený ze 162 aminokyselin) jsou účinné vůči širokému spektru patogenních mikroorganismů a mají schopnost neutralizovat mikrobiální faktory virulence (toxiny). Je diskutována jejich antimikrobiální aktivita a možnosti jejich aplikace zahrnujících také prevenci a léčbu invazními agens<sup>109</sup>.

### 2.4.3 Peptidy (proteiny) vyšších rostlin

Peptidy vyšších rostlin s antimikrobiální aktivitou nejsou dosud záležitostí tak široce známou, jako je to u jiných druhů antiinvazních látek. Bylo však zjištěno, že se vyskytují ve většině (ne-li ve všech) rostlinných druzích; všechny tyto peptidy obsahují sudý počet cysteinových jednotek (4, 6, 8), které jsou párově spojeny disulfidickými můstky, zajišťujícími vysokou stabilitu peptidu. Obecně se dělí na:

- Thioniny,
- Rostlinné defensiny,
- Proteiny přenášející lipidy,
- Peptidy heveinového,
- Peptidy knotttinového typu,
- Ostatní látky

Z hlediska dislokace jsou prakticky ve všech rostlinných orgánech, v těch, které nejsou zatíženy stresem, se vyskytují v zevní vrstvě buněk orgánu; thioniny jsou predominantně lokalizovány intracelulárně<sup>110</sup>. V celkové antimikrobiální ochraně rostlin hrají tyto látky významnou roli; protože je rostlinný materiál produkčně velmi dobře dostupný, izolační metody k získání peptidových koncentrátů jsou stále zdokonalovány a snižuje se jejich finanční náročnost, jsou nadějným invenčním fenoménem i pro použití v živočišné (a možná i humánní praxi); významné je to, že u nich nebyla prozatím nalezena rezistence na antibiotika. Jako ukázka může sloužit nález fabatinů, patřících do skupiny thioninů, které byly izolovány z bobu obecného (*Vicia faba*). Obsahují 47 aminokyselin (8 cysteinových zbytků, tj. 4 disulfidické můstky), jsou aktivní jak vůči Gram-pozitivním, tak Gram-negativním

mikroorganismům, na kvasinky jsou však neúčinné (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*)<sup>111</sup>.

Byly nalezeny nové rostlinné glykoproteiny (izolovány z *Chelidonium majus*), použitelné na kmeny rodů *Staphylococcus* a *Enterococcus* rezistentní vůči methicilinu; mohou být podstatou nových antimikrobiálních látek použitelných v případě stafylokoků rezistentních vůči methicilinu a vankomycinu a stejně tak dobře na multirezistentní enterokoky<sup>112</sup>. Tato práce ukazuje otvírající se prostor v možnostech studia rostlinných proteinů, které by se mohly uplatnit v budoucnu i vůči bakteriím rezistentním vůči veterinárním antibiotikům, resp. jiným chemoterapeutikům.

Pro reálnou produkci antimikrobiálně působících proteinů různého druhu je velmi perspektivní použít transgenní rostliny; současné manipulace genotypu různými vektory jsou už natolik propracované a jednoznačné, že těmito rostlinami lze dosáhnout komerční produkce terapeutických peptidů<sup>113</sup>, která se už skutečně využívá (např. pro produkci superoxidodismutázy aj. enzymů) a je bezesporu proveditelná manipulace s cílem produkovat vlastní rostlinné peptidy s výraznou antimikrobiální aktivitou, využitelné v živočišné výrobě.

## 2.5 Nízkomolekulární antiinvazní látky

### 2.5.1 Metabolity rostlin a hub obecně

Nízkomolekulární metabolity rostlin a hub, „small molecules“ (tj. látky do mol. hmotnosti 1000) – zde s výjimkou některých oligo- a polysacharidů, hrají v poslední dekádě významnou roli jak z hlediska základního, tak i z hlediska aplikovaného výzkumu. Současný trend ve vývoji nových léčiv se totiž posunul do jiné oblasti: klesl počet nově syntetizovaných látek oproti stavu před 15 lety (látky jsou nově připravovány na základě výsledků predikčních matematických modelů, nikoli „naslepo“, jako dříve podle hesla „čím více, tím lépe“) a stále větší pozornost se začíná věnovat látkám starým, známým, které jsou historicky prověřeny, zejména z hlediska toxicity a vedlejších účinků s cílem nalézt u nich účinky nové. Tento trend se začíná objevovat i v oblasti přírodních látek. Sekundární metabolity rostlin jsou významným, historicky využívaným prostředkem kromě terapie v potravinářském průmyslu a teprve před zhruba 10 lety jim začala být věnována pozornost z hlediska živočišné výroby. Tyto důvody nejsou primární, ale sekundární související s eliminací antibiotických stimulátorů růstu ze zemědělské praxe. Současný výzkum zahrnuje široký pohled na rostlinné metabolity jako antimikrobiální agens<sup>114,115,116,117,118,119</sup>. Obsahovým látkám rostlin je věnována širší pozornost než pouze z hlediska antiinvazního (resp. je vhodné, aby obsahové látky studovaných taxonů vykazovaly nejen např. antimikrobiální účinky, ale i další jiné, jako

antioxidační, protizánětlivé ad.), ale je možné je využít i z hlediska potravinářského (nutraceutického)<sup>120,121,122</sup>. Studiu jsou podrobovány i silně účinné látky, jako jsou alkaloidy: řada isochinolinových alkaloidů vykazuje antiplasmodiální a cytotoxickou aktivitu<sup>123</sup>, některé chinolizidinové alkaloidy mají antiinvazní aktivitu<sup>124</sup>, jsou známy antimikrobiální účinky berberinu (*Berberis* sp.), jeho synergismus a interakce<sup>125,126</sup>.

Je tedy zřejmé, že pole výzkumu těchto látek i v zemědělské oblasti může přinést prakticky dobře využitelné výsledky<sup>127,128,129</sup>.

## 2.5.2 Primární metabolity

### 2.5.2.1 Aminokyseliny

Použití aminokyselin jako synergizátorů antimikrobiální aktivity není dosud běžné, ačkoliv jsou tyto studie kryty patenty: u protozoálních infekcí se ukázal účinný D-karnitin a jeho acylderiváty<sup>130</sup>, některé baktericidní látky ve směsi s povrchově aktivními látkami obsahují ve směsi arginin<sup>131</sup> nebo lysin<sup>132</sup>.

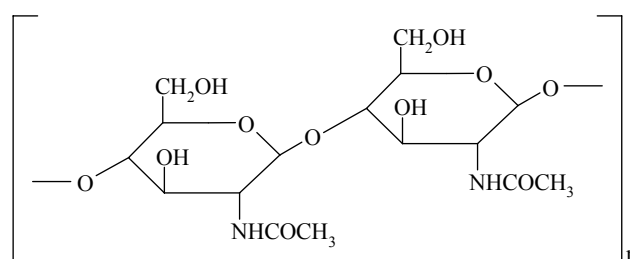
### 2.5.2.2 Sacharidy

Významnou roli v této skupině látek hraje D-glukosamin a jeho polymery, chitin a chitosan. Glukosamin je bazický monosacharid, který má schopnost snižovat rozvoj infekce způsobené mikroorganismy, kontaminujícími potravu; je velmi účinný zejména ve směsi se šťávou z *Eleocharis dulcis*<sup>133</sup>. K prevenci infekcí bylo také navrženo použití některých monosacharidů (glukosy, galaktosy), rozvětvených oligosacharidů a galaktooligosacharidů inhibujících intestinální absorpci mannosy (slepice)<sup>134</sup>; aplikace těchto látek je v současnosti dosti rozšířena (zejména v USA) a bylo o ní hovořeno v předešlých studiích.

Druhou skupinu látek tvoří polysacharidy různé struktury. Velmi povzbudivé výsledky byly nalezeny u kombinace vlákniny, antimikrobiálních agens a extraktů některých dřevokazných hub, dostatečně dobře pěstovatelných, jako např. *Ganoderma lucidum*; přípravek je aktivní vůči *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352<sup>135</sup>. V tomto případě jsou použity určité antimikrobní látky, je však nepochybné, že v menší koncentraci než obvykle, protože významný synergizující efekt má polysacharidová matrix v kombinaci s houbovým extraktem. O některých polysacharidech, resp.  $\beta$ -glukanech např. z čeledi Poaceae, zejména polysacharidech ovsa (*Avena sativa*), je dostatečně dlouho dobu známa řada účinků. Literatura uvádí poměrně velké množství prací, týkajících se imunostimulační aktivity těchto glukánů: u ovesného glukanu [ $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3, 1 $\rightarrow$ 4)] byla u myši s navozenou imunosupresí zjištěna zvýšená rezistence vůči infekci *Eimeria vermiformis*<sup>136</sup>.

Polysacharidy vzniklé na bázi D-glukosaminu jsou, podobně jako polosyntetické fosfolipidy, jednou ze samostatných součástí farmaceutické chemie: kromě toho, že jsou běžnou komponentou živočišných těl mají různé farmakologické účinky, disponují také funkčními schopnosti, které umožňují jejich použití ve farmaceutické technologii jako pomocné látky, ale také v potravinářství. Hlavní „látkou“ této skupiny je chitosan (**1**) – deacetylovaný chitin (deacetylace chitinu má být z cca 90-92 %), připravovaný z odpadních hmot při zpracování garnátů. Látka má široké možnosti uplatnění<sup>137</sup>: z našeho pohledu lze využít určité vlastnosti antifungální<sup>138</sup> a antimikrobiální<sup>139,140,141</sup> (je uváděna dokonce antimikrobiální aktivita vůči některým vodním patogenům<sup>142</sup>). Chitosan potencuje antimikrobiální aktivitu některých antimikrobiálních látek, jako např. benzoanu sodného (na některé kvasinky)<sup>143</sup> a sumárního polárního extraktu z listů blahovičnicku (*Eucalyptus* sp.); tato bezpečná mikrobicidní směs je údajně účinná na methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Salmonella enteritidis*, ale také na některé mikromycety (*Aspergillus niger*, *Penicillium citrinum*) a *Trichophyton mentagrophytes*<sup>144</sup>.

Určitého pokroku bylo dosaženo v parciální syntéze chitinových derivátů: hydrolyzovaném chitosanu a upraveném do vodorozpustné formy, resp. polymerních látek, které nemají přírodní předlohu<sup>145</sup>. Tyto látky vykazují antiseptickou aktivitu vůči některým kmenům *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *B. megatherium*, *B. thuringiensis*, *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Saccharomyces cerevisiae*<sup>146</sup>. Hydrolyzované formy chitosanu jsou prozatím doporučovány proti kvasinkám přenášeným potravou a některým bakteriím na fermentované zelenině<sup>147</sup> a k ochraně ovoce a zeleniny<sup>148</sup>.



**1**

### 2.5.2.3 Lipidy

Z lipidních látek přírodního původu byl antimikrobiální účinek nalezen především u mastných kyselin; byly nalezeny vztahy struktura-účinek zahrnující efekt délky uhlíkového řetězce, počet dvojných vazeb a přítomnost dvojných skupin<sup>149</sup>. Byly sledovány kyseliny C<sub>6</sub>-C<sub>22</sub> a to

jak volné, tak ve formě monoglyceridů<sup>150</sup>; u některých z nich byly zjištěny zajímavé antivirotické účinky (Herpes simplex virus), aktivita vůči řadě patogenních Gram-pozitivních i Gram-negativních bakterií, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Streptococcus skupin A a B a Staphylococcus aureus. Velmi významnou aktivitu v tomto směru vykázal monokaprin (1-monoglycerid kapronové kyseliny)<sup>151</sup>. Za pozornost stojí zmínka o antimikrobiální aktivitě kyselin se středně dlouhým řetězcem (MCFAs), resp. o kyselině laurové. MCFAs mohou fungovat v krmivu pro zvířata nejen jako jeho antimikrobiální složka, ale mají také určité růstově-promoční vlastnosti<sup>152</sup>. Kyselina laurová se jako antimikrobiální agens může pozitivně uplatnit při výkrmu slepičích brojlerů<sup>153</sup>; může také zvyšovat antimikrobiální působení nisinu<sup>154</sup>.

### 2.5.3 Sekundární metabolity

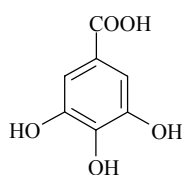
Struktury přírodních látek pocházejících z rostlin nebo z činnosti hmyzu (propolis aj.), které disponují využitelným antiinvazním účinkem, jsou poměrně různorodé. Existuje řada látek, které mají skvělé antimikrobiální vlastnosti, ale jsou prozatím nepoužitelné zpravidla proto, že jejich pořizovací cena je příliš vysoká, nebo nespĺňují požadavky EU na látky použitelné jako doplňkové látky do krmiv (relativní toxicita, dosud neobjasněný účinek metabolických reziduí apod.), ačkoliv jsou to látky používané v terapii (fytoterapeutických preparátech), anebo o ně není z důvodu konzervativnosti výrazný zájem.

Z hlediska reálně použitelných struktur tvoří převažující část této skupiny látky fenolické a jednoduché terpeny; ostatní sloučeniny (saponiny, diterpeny, tritpeny, atd.) jsou v úzkém zastoupení. Při výběru látek, resp. studiu rostlinných surovin se ukázalo jako velmi efektivní vycházet ze zdrojů běžně dostupných, které jsou prověřeny historickou zkušeností, tj. ovoce, případně zeleniny; např. finská studie sledovala účinek fenolického komplexu (kyselin, flavonoidů atd.) v plodech běžných ovocných druhů rostoucích (pěstovaných) na teritoriu z hlediska antimikrobiální aktivity. Extrakty z plodů morušky, maliníku, jahodníku silně inhibovaly růst zástupců rodu Salmonella, izolovaný myricetin tlumil růst všech mléčných bakterií, izolovaných z lidského zažívacího ústrojí<sup>155</sup>. Studie tohoto typu bývají velmi často zdrojem využitelných výsledků.

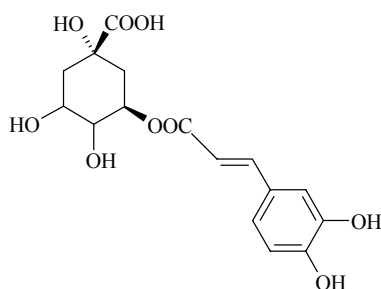
#### 2.5.3.1 Organické kyseliny různé struktury

Aromatické hydroxykyseliny jsou kromě antimikrobiálního účinku také nositeli antioxidační aktivity: taková skutečnost je velmi přínosná pro praktické použití, jak o tom bylo diskutováno už dříve. Směs gallové kyseliny (2) a oxidu hořečnatého tlumí růst Escherichia

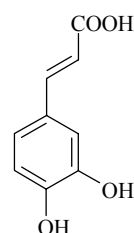
coli<sup>156</sup>. Některé hydroxyskořicové kyseliny (kyselina chlorogenová; **3**) vykazují antilisteriální aktivitu<sup>157</sup>.



**2**

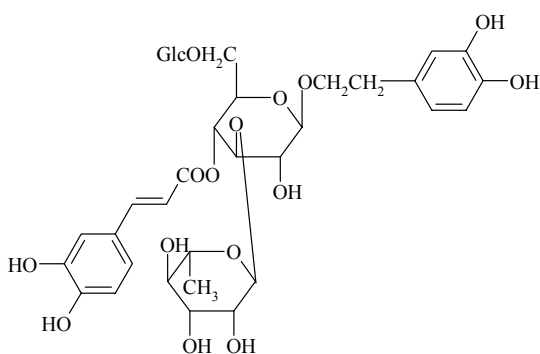


**3**

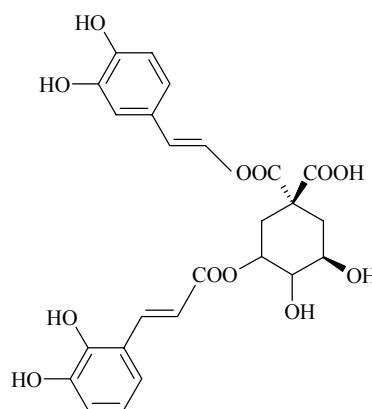


**4**

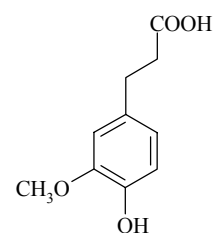
Estery kávové kyseliny (**4**) vykazaly *in vitro* inhibiční aktivitu vůči rostlinným patogenním bakteriím a houbám<sup>158</sup>; prakticky lze k tomuto účelu využít extrakty ze zástupců rodu *Echinacea*: v orgánech této rostliny jsou alkamidy, deriváty kyseliny kávové – především echinakosid (**5**), cynarin (**6**) a dále kyselinu cichorovou. Sumární extrakt z kořenů má antibakteriální a virustatický účinek, stimuluje fagocytózu (podporuje imunitu). Byla navržena metoda standardizace těchto surovin (extraktů)<sup>159</sup>.



**5**



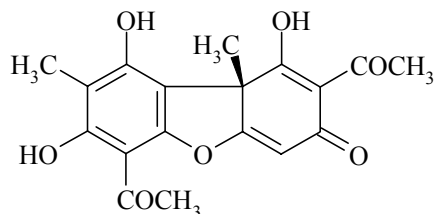
**6**



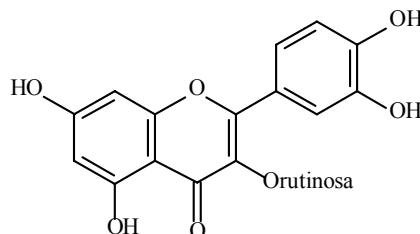
**7**

Patrně nejdostupnější kyselinou (a má z tohoto typu kyselin největší praktický význam) je kyselina ferulová (**7**); odhaduje se, že je obsažena zhruba v jedné třetině všech dosud fytochemicky studovaných dvouděložných rostlin a ve dvou třetinách rostlin jednoděložných. Je běžnou součástí buněčné stěny obilovin a vhodným technologickým postupem ji lze z této suroviny získat (např. ovesné slámy). Její biologické účinky jsou široce známy a je poměrně běžné její používání ve formě nutraceutik<sup>160</sup>. Přírodní estery této kyseliny mají antimikrobiální vlastnosti<sup>161</sup>, stejně jako feruloyl oligosacharidový ester izolovaný

z odpadů při zpracování ananasu. Vůči bakteriím je mnohem účinnější než samotná kyselina ferulová: zasahuje do růstu řady Gram-pozitivních i Gram-negativních bakterií mimo *Lactobacillus delbrueckii*, *Streptococcus mutans*, *S. salivarius*, *Enterococcus faecalis* a *E. casseliflavus*<sup>162</sup>.



**8**



**9**

Usninová kyselina (**8**) (existující ve dvou izomerech), která byla izolována z lišejníků (*Usnea* sp., *Ramalina* sp., *Evernia* sp., *Parmelia* sp., *Lecanora* sp., *Nephroma* sp. a *Cladonia* sp.) je efektivní vůči široké skupině Gram-pozitivních bakteriálních kmenů včetně kmenů z klinických izolátů, rezistentních fenotypů (oba enantiomery); bylo také zjištěno, že každý z obou enantiomerů zasahuje jinou část mikrobiálního spektra<sup>163</sup>.

Na konci této skupiny je nutné zmínit se o ligninové frakci ze dřeva zástupců rodu *Pinus* sp.; ve směsi s vitaminy K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub>, epigallokatechin-gallátem, chlorogenovou kyselinou, gallovou kyselinou a extraktem z listů čajovníku je tato směs vhodná jako antimikrobiální ochrana domácích zvířat a drůbeže<sup>164</sup>.

### 2.5.3.2 Flavonoidy

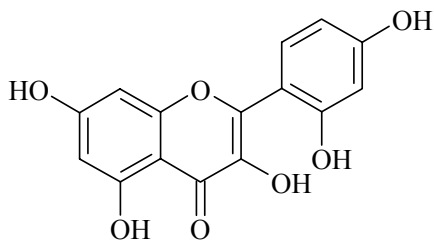
Flavonoidy představují jednu z nejsledovanějších skupin přírodních látek; za posledních dvacet let o nich bylo publikováno více než 10 tisíc prací a nebylo by efektivní vypočítávat na tomto místě detailně antimikrobiální aktivitu, uvedeme pouze několik příkladů, např. sledování aktivity těchto látek na bakterie rezistentní vůči některým běžným antibiotikům<sup>165</sup>, antimikrobiální aktivitu extraktů finských rostlin s obsahem flavonoidů a fenolických látek<sup>166</sup> ad.

Nejnámější a nejdostupnějším flavonoidním glykosidem této skupiny je rutin (**9**); v dilučním testu byl neaktivnější vůči *Mycobacterium smegmatis*<sup>167</sup>. Je to látka netoxická, široce používaná (vyskytuje se v některém ovoci a řadě zelenin) a je nepochybné, že v zaživacím ústrojí hraje určitou antimikrobiální roli.

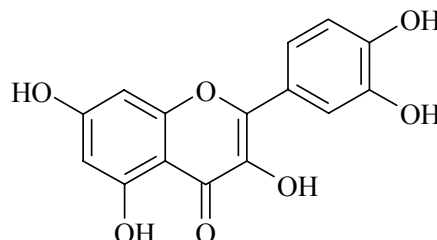


Z dalších potravinářských surovin byly sledovány antimikrobiální látky z *Psidium guajava*: jednalo se o dva glykosidy morinu (**10**) a kvercetin (**11**): vykazaly určitou aktivitu vůči *Salmonella enteritidis* a *Bacillus cereus*<sup>168</sup>.

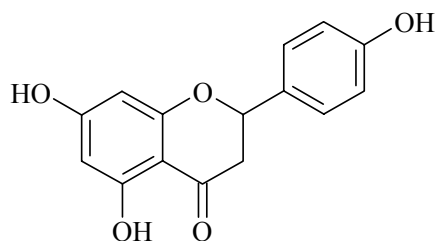
Významným zdrojem fenolických látek – jak organických kyselin, tak flavonoidů - je také propolis: na toto téma bylo publikováno velké množství prací, některé z nich jsou instruktivními přehledy<sup>169</sup>. Byl sledován účinek 40 sloučenin z propolisu na růst *Streptococcus mutans* a glukosyltransferasovou aktivitu vyvolanou mikroblem: nejúčinnější látkou této skupiny se jevil apigenin<sup>170</sup> (**10**). Je ovšem nutné přiznat, že propolis je surovinou poměrně problémovou: je tendence používat jej spíše jen zevně, protože je prakticky nemožné tuto drogu standardizovat. Přitom je nutné věnovat velkou pozornost emergentním látkám. Ukázalo se např., že některé vzorky propolisu obsahují polycyklické aromatické uhlovodíky, resp. látky ze živičných povrchů vozovek – dosud není zjištěno, proč včely právě tento materiál sbírají, v každém případě je to však surovina velmi nevhodná. Z tohoto důvodu je věnována v poslední době pozornost „propolisu“ ze zimních lepkavých pupenů *Populus nigra* sbíraných na jaře; z těchto pupenů byla izolována řada flavonoidů a fenolických látek a sledována jejich antimikrobiální aktivita<sup>171</sup>.



**10**



**11**

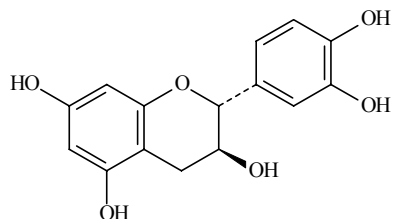


**12**

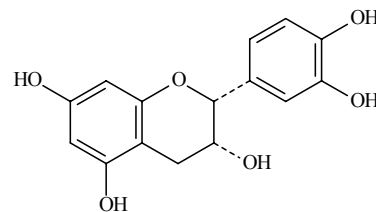
### 2.5.3.3 Procyanidiny

Procyanidiny jsou fenolické kondenzační produkty, které vycházejí z monomerních pentahydroxyflavanů, resp. většinou (+)-katechinu (**13**) a (-)-epikatechinu (**14**) kondenzací

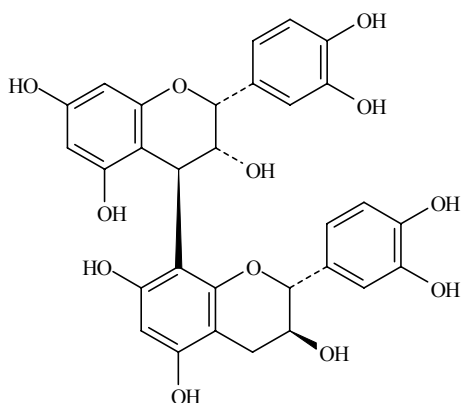
mezi polohou C<sub>4</sub> pyranového kruhu a polohou C<sub>8</sub> aromatického kruhu další molekuly flavanu. Počet kondenzovaných jednotek bývá 2 až několik.



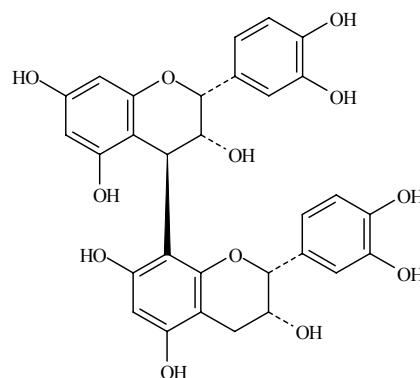
(13)



(14)



(15)



(16)

Japonskými autory byla sledována antifungální a fungicidní aktivita katechinu (a rostlinných drog s jeho obsahem) vůči *Trichophyton*<sup>172</sup>; při studiu této látky byla zjištěna skutečnost, kterou bylo možné předpokládat: rozdílný účinek izomerů. Pentahydroxyflavan má v pyronové části své molekuly dvě chirální centra z toho vyplývá, že mohou existovat 4 izomery: (+)- a (-)-katechin (jsou enantiomerní) a (+)- a (-)-epikatechin. Tyto látky v přírodě skutečně existují, zcela běžné jsou pouze (+)-katechin a (-)-epikatechin. Při studiu enantiomerů katechinu se ukázalo, že (-)-katechin je allelochemické agens, vylučované kořeny chrpiny (která je plevelná), plní roli fytoxinu, má širokou herbicidní aktivitu (postrádá antimikrobiální účinky) a hraje patrně významnou roli v chemické ekologii při ontogenezi této rostliny. Rostlina exkretuje také z určité části (+)-katechin, který není fytotoxický, má však antibakteriální aktivitu vůči agens, napadajícím kořeny<sup>173</sup>. Z výsledků studií jasně vyplývá, že optická aktivita je významným faktorem určujícím antimikrobiální (antiinvazní) aktivitu těchto polyfenolů. Z hlediska antimikrobiální aktivity byl sledován také (-)-epikatechin izolovaný z kůry taxonu *Ulmus davidiana* var. *japonica*, který vykázal inhibiční aktivitu vůči *Staphylococcus aureus* a *Listeria monocytogenes*<sup>174</sup>.

V poslední době jsou monomerní katechiny používány už poměrně široce, především v humánní aplikaci (nutraceutika, kosmetika), především pro svůj antialergický a antioxidační účinek. V nemalém počtu případů bývají používány spolu se svými kondenzačními produkty – procyanidiny ve formě čištěných fenolických frakcí extraktů. Je také běžné, že tento komplex obsahuje strukturálně blízké flavonoidy. Směs procyanidinů a flavonoidů izolovaná z plodů klikvy (*Oxycoccus palustris*) výrazně snižuje bakteriální adhezenci na povrch tkání<sup>175</sup>.

Geraniny A a B z nati *Geranium niveum* byly účinné vůči *Giardia lamblia* a *Entamoeba histolytica*<sup>176</sup>.

Velmi dobře využitelným zdrojem těchto biologicky aktivních látek mohou být některé snadno pěstovatelné rostliny, v jejichž tkáních je vysoký obsah uvedených látek (nejlépe s dalšími sloučeninami, které antimikrobiální účinek podporují) a také odpad při zpracování některých průmyslových surovin.

V první skupině rostlin lze uvést řepík sibiřský, *Agrimonia pilosa*: fytochemický výzkum nati prokázal antimikrobiálně účinné látky<sup>177</sup>. Při pozdějším studiu se ukázalo, že zajímavou antimikrobiální aktivitu mají také izolované katechinové deriváty<sup>178</sup>. Už samotný extrakt z nati této rostliny měl zajímavé antimikrobiální účinky: působil ve vysokém zředění proti *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella boydii*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus albus* a *Staphylococcus aureus*<sup>179</sup> a měl určité tenicidní účinky<sup>180</sup>. Na tomto účinku se kromě zmíněných katechinových procyanidinů podílejí kumariny (agrimonolid), flavonoly (taxifolin), třísloviny (ellagotaniny), floroglucinové deriváty (agrimofol), triterpeny (1-hydroxytormentilová kyselina, 28-glukosid tormentilové kyseliny) a fenolické kyseliny (vanilová kyselina)<sup>180</sup>. V ČR je pěstován podobný druh – řepík lékařský, *Agrimonia eupatoria* s vyšším obsahem flavonoidů a tříslovin. V humánní praxi se po určitou dobu udržel jako doplněk stravy přípravek, obsahující dekontaminované, velejemně mleté listy tohoto druhu k regulaci mikrobiální aktivity ve střevech a zlepšení trávení. Použití rostlinné části se vak neukázalo jako efektivní, protože celulósová matrix brání biologické dostupnosti obsahových látek. Optimální je použití ve formě suchého extraktu.

Do druhé skupiny zdrojů lze zařadit extrakt z vláken slupek plodu kokosovníku (*Cocos nucifera*); polyfenolové sloučeniny byly aktivní vůči *Staphylococcus aureus* a surová frakce bohatá na katechin byla aktivní vůči kmenu viru Herpes simplex typu 1 (HSV-1-ACVr), rezistentnímu na acyklovir. V polyfenolové frakci byl nalezen (+)-katechin, (-)-epikatechin a kondenzované třísloviny (typově viz procyanidiny B-1 (**15**) a B-2 (**16**))<sup>181</sup>.

V tomto výčtu procyanidinových zdrojů se nelze nezmínit o obsahových látkách semen grapefruitu (*Citrus paradisi*): polyfenolové sloučeniny mají antimikrobiální aktivitu<sup>182</sup>, je vypracována frakcionovaná extrakce sloučeniny ze semen pomocí superkritické fluidní extrakce<sup>183</sup>, v ČR jsou dokonce tyto přípravky používány (Citrogrep kapky, Citri Plus-Štíhlá linie tobolky, Emusol-Q10 Plus kapky ad.), v poslední době však bylo zjištěno, že nemalá část antimikrobiální aktivity je způsobena nepovolenou přísadou konzervačních látek (methylparaben, triklosan)<sup>182</sup>, které tuto příznivě působící surovinu v očích veřejně zbytečně zdiskreditovaly.

#### 2.5.3.4 Taniny

Tanin je souhrnný název pro skupinu přírodních polyfenolů s poměrně široce různorodým složením, jejichž vlastností je srážení živočišné pokožky, tj. produkce úsně. Lze je rozdělit v zásadě na dvě velké skupiny:

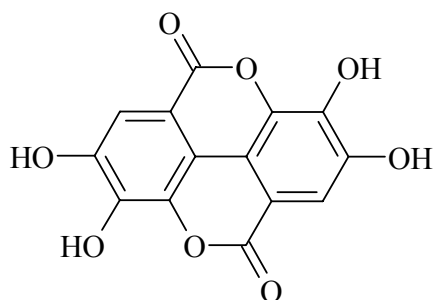
- *gallotaniny a ellagotaniny* (hydrolyzovatelné třísloviny – po kyselé hydrolyze lze dokázat glukosu a fenolické složky), jejichž základ tvoří gallová (digallová) nebo ellagová kyselina (17) esterifikující glukózu za tvorby pentadigalloyglukosy. Sloučenina označovaná jako tanin (gallotanová kyselina, tříslová kyselina) vytváří koloidní roztok kyselé reakce,
- *katechinové třísloviny* (kondenzované), které vznikají na základě kondenzace pentahydroxyflavanu.

Vyskytují se velkým množstvím taxonů vyšších rostlin (dvouděložných) a mají praktický význam. Jejich srážecí efekt na bílkoviny tkání je podstatně výraznější než u látek předchozí kapitoly (oligomerních procyanidinů), a proto zde byly vyčleněny jako samostatná kapitola. Tyto látky mají dobré antimikrobiální a antiinvazní účinky (roztok taninu byl používán americkou armádou za 2. světové války k ošetřování ran), bohužel, řada těchto rasantně působících látek má zároveň z pochopitelných důvodů určité antinutriční účinky. Problematičnosti v použití těchto látek jsou věnovány přehledné studie, např.<sup>184</sup>; jedním z hlavních účinků v případě rostlinných patogenů je vazba železa do komplexu<sup>185</sup>. Celá problematika účinku tříslovin je však širší, jak se ukázalo v řadě studií, např. jejich vlivu na likvidaci amastigotů *Leishmania donovani*, uvolňování oxidu dusnatého a TNF v makrofágu (*in vitro*)<sup>186</sup>.

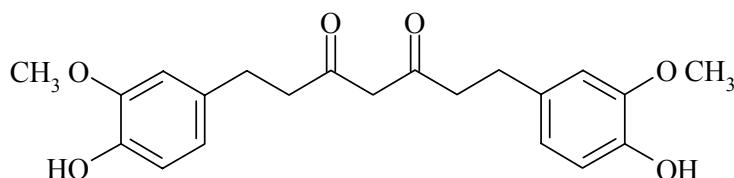
Tak jako i v případě jiných skupin látek, jsou třísloviny (a jim podobné polyfenoly) obsaženy v potravinářských (krmivářských) surovinách a lze je využít, např. ze semen manga (*Mangifera indica*) byly získány polyfenoly (ve formě etanolového extraktu), dále podrobené

studiu na antimikrobiální aktivitu (43 kmenů mikroorganismů – patogenních mikroorganismů, přenášených potravou); látky měly poměrně široké antimikrobiální spektrum<sup>187</sup>.

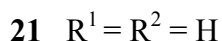
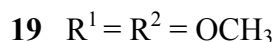
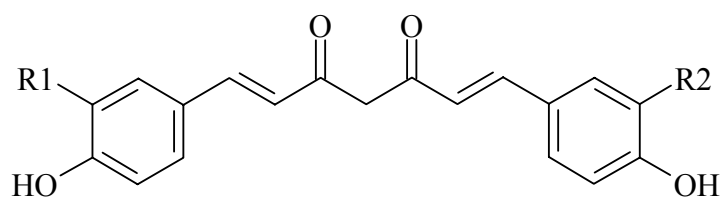
Dalším zajímavým objektem je hlávkový salát (*Lactuca sativa* subsp. *capitata*). Polyfenoly, které jsou v nadzemní části obsaženy, mohou být použity jako dezinfekční a antiseptický prostředek; šťáva z tkáňového homogenátu vykazuje významný antifungální účinek<sup>188</sup>.



17



18



#### 2.5.3.5 Kurkuminoidy

Tento pojem zahrnuje skupinu substituovaných bis(hydroxycinnamoyl)methanových pigmentů, vyskytujících se v oddeních různých druhů rodu kurkuma (*Curcuma domestica*, *C. zedoaria*, *C. xanthorrhiza*, ad.). O látkách bylo pojednáno v dřívějších studiích: vykazují zhášecí aktivitu pro superoxidový anion, peroxid vodíku, inhibují lipidovou peroxidaci v různých tkáních, inhibují oxidaci LDL, mají protizánětlivý, antikancerogenní a antiHIV efekt (velmi úspěšný je tetrahydrokurkumin **18**). Z těchto důvodů se začaly významně uplatňovat v humánní oblasti (nutraceutika), jsou však součástí běžné potravy jako curry koření. U kurkuminu (**19**) byla zjištěna jak *in vitro*, tak *in vivo* určitá aktivita vůči Herpes simplex viru typu 2<sup>189</sup>. Neméně účinná je však také antimikrobiální aktivita těchto látek: např. ethanolový extrakt z oddenků *Curcuma longa* je signifikantně efektivní vůči

mikromycetám *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *A. nidulans*, *Alternaria solani* a bakteriím, jako např. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas pyocyanea*. V některých případech jsou údajně na hranici srovnatelnosti s antibiotiky<sup>190</sup>. Je však potřebné vzít v úvahu, že se jednalo o studie *in vitro* a také skutečnost, že zmíněné látky jsou vysoce lipofilní (v hydrofilním prostředí organismu velmi málo rozpustné), obtížně přecházejí do tělních tekutin a mohou fungovat pouze extracelulárně. Nicméně jedná se o látky velmi aktivní a atraktivní, jak o tom svědčí počet publikací emitovaných za posledních 10 let na toto téma a v případě potřeby nebude jistě významným problémem zabývat se jimi a vyřešit záležitost vhodných transportních forem těchto látek (prodrugs).

U obsahových látek kurkumy, resp. analogů kurkuminu (**20**, **21**) byl prokázán inhibiční efekt na biotransformaci aflatoxinu B<sub>1</sub>, což je velmi významné pro zvýšení bezpečnosti ne zcela čistých surovin přijímaných lidským i živočišným organismem<sup>191</sup>.

#### 2.5.3.6 Silice

Většinou komplikované směsi monoterpenických uhlovídků a jejich derivátů (alkoholů, ketonů, esterů), případně seskviterpenů (a seskviterpenových laktonů) s převahou jedné nebo několika málo složek, jsou nositeli různých farmakologických účinků. Jedním z těchto efektů je také antimikrobiální a antivazní aktivita.

Silice jsou z hlediska významnosti svého obsahu v morfologických částech rostlin významné jen pro malou část rostlinné říše, především pro třídu Pinopsida (jehličnany), z třídy Magnoliopsida (dvouděložných rostlin) pak pro řády Myrtales, Polygalales, Lamiales a Asterales.

Antibakteriální a antifungální aktivita silic a jejich obsahových látek je studována stále<sup>192,193,194,195,196,197,198,199,200</sup>. Některé studie jsou věnovány konkrétním čeledím – těm, u nichž se předpokládá účinek z hlediska obsahu určitých loučenin na základě dřívějších historických zkušeností, jako jsou čeledi Asteraceae, Lamiaceae a Poaceae<sup>201</sup>. Z těchto studií vyšla určitá skupina rostlin (cca 50), u kterých lze hovořit o velmi využitelných až zajímavých účincích. Jedná se prakticky o zástupce rodů *Allium*, *Arnica*, *Carum*, *Cinnamomum*, *Coriandrum*, *Curcuma*, *Eucalyptus*, *Chamomilla*, *Laurus*, *Mentha*, *Myrtus*, *Ocimum*, *Origanum*, *Rosmarinus*, *Satureja*, *Salvia*, *Syzygium*, *Thymus* a některé další.

Současně s antimikrobiální aktivitou je sledována aktivita antioxidační a to zejména u kořenin<sup>193,202,203</sup>; některé silice mají také anthelmintickou aktivitu<sup>202</sup>, určité složky silic mají aktivitu antiherpetickou (Herpes simplex virus typ 2)<sup>189</sup>. Existují návrhy složení směsí s obsahem silic, které lze použít k desinfekci povrchů<sup>204</sup>, směsí silic (skořice, nové koření,

saturejka zahradní, tymián) se solemi chitosanu (propionat, sorbat) proti patogenům přenášeným potravinami (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*) a posklizňovém patogenu *Botrytis cinerea*; kombinace silic se solemi chitosanu se projevila jako velmi účinná<sup>205</sup>. Velmi využitelné se ukázaly také kombinace antimikrobiálních látek (peniciliny, cefalosporiny, makrolidová antibiotika), terpeny (silice z *Leptospermum*, *Melaleuca*) ve veterinární medicíně: kombinace mají synergický efekt a mohou být použity při léčbě metritis a mastitis u hospodářských a domácích zvířat<sup>206</sup>. Dá se předpokládat, že v takovém případě je spotřeba antibiotik nižší a bylo by zároveň velmi vhodné sledovat případný vývoj rezistence na použité kmeny. Synergický antibakteriální účinek prokázala směs obsahující siličné složky a vykazující také regenerační a dekontaminační efekt: jedná se o směs anisalkoholu, borneolu a rhodinolu<sup>207</sup>. Antimikrobiální účinek mají také některé polosynteticky připravené komplexy monoterpenů s aminy použitelné ve veterinární medicíně proti bakteriálním, fungálním a protozoálním onemocněním; např. Procarvol je komplexem karvakrolu a prokainu, jeho antimikrobiální účinek byl demonstrován na kravách, prasatech a ovcích<sup>208</sup>.

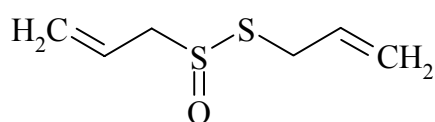
V následujícím přehledu jsou uvedeny rostlinné taxony s obsahem látek, jejichž antimikrobiální (antiinvazní) účinky jsou markantní a prakticky využitelné, další budou jen stručně diskutovány.

#### 2.5.3.6.1 *Allium* sp.

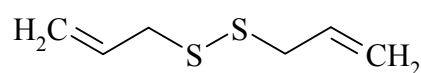
Česnek setý (*Allium sativum*) je dlouhou dobu pokládán za léčivou potravinu, u níž byla provedena řada klinických studií<sup>209</sup>. Je doporučován jako potenciální antikancerogenní prostředek vykazující zhášecí aktivitu na volné radikály, kterou disponují především dvě hlavní komponenty zralých hlíz: allicin (**22**), diallyldisulfid (**23**) (Z)-ajoen (**24**) a (E)-ajoen (**25**), a. Další obsahové látky (strukturně blízké), jako jsou S-allylcystein a S-allylmerkaptol-L-cystein, vykazují také významnou biologickou aktivitu. S-allylcystein vykazuje retardaci růstu transplantovaných nádorů a je zřejmé, že přípravky z této rostliny mohou chránit před vývojem určitého typu zhoubného bujení. Kromě chemoprotektivního efektu má česnek řadu dalších, velmi využitelných účinků: antitrombotický, antihyperlipidemický, antiartritický a hypoglykemický<sup>210</sup>. Stejně jako cibule kuchyňská (*Allium cepa*) ovlivňuje metabolismus eikosanodiů a umožňuje tak použití při ovlivňování kardiovaskulárních onemocnění<sup>211</sup>.

Velmi významný je také antiinvazní účinek: obsahové látky působí antibakteriálně, antivirově, antifungálně a antiprotozoálně<sup>212</sup>; přípravky s antimikrobiálním účinkem byly v 90. letech dokonce patentovány<sup>213</sup>. Organosírná sloučenina izolovaná z olejového macerátu byly identifikovány jako E-4,5,9-trithiadeka-1,7-dien-9-oxid (iso-E-10-devinylajoen); tato

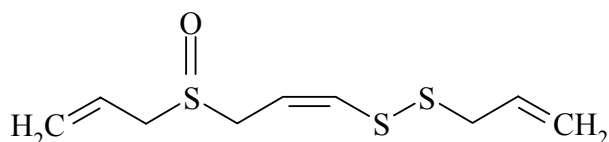
látku působí proti Gram-pozitivním bakteriím (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus* a kvasinkám), méně účinná je na Gram-pozitivní bakterie. Tato látka je ve svých účincích slabší než *E*-ajoen, *Z*-ajoen (vznikají při zpracování cibulí) a *Z*-4,5,9-trithiadeka-1,7-dien-9-oxid (iso-*Z*-10-devinylajoen). Z těchto výsledků bylo vyvozeno, že *trans*-izomerie (*E*) a poloha dvojné vazby u iso-*E*-10-devinylajoenu snižují antimikrobiální aktivitu<sup>214</sup>. Celkový (surový) extrakt z česneku je však účinnější na potlačení růstu Gram-negativních bakterií než bakterií Gram-pozitivních: tento extrakt také tlumí růst kvasinek, spektrum těkavých sirných sloučenin je poměrně široké (13 látek)<sup>215</sup>. Sirné sloučeniny vycházející z S-alk(en)yl-L-cysteinsulfoxidů jsou podobné jako v případě brukve (*Brassica*) – zahrnují poměrně širokou skupinu Gram-pozitivních, Gram-negativních bakterií a hub; vzhledem k jejich organoleptickým vlastnostem je však problematické jejich použití k ochraně potravin<sup>216</sup>. Celkově lze konstatovat, že antimikrobiální aktivita sumárních extraktů z hlíz česneku vůči patogenním organizmům je poměrně vysoká.



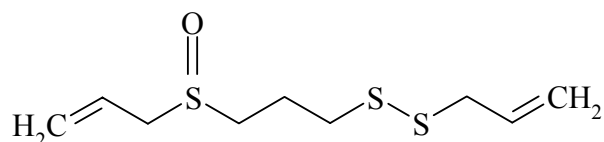
22



23



24



25

#### 2.5.3.6.2 *Cinnamomum* sp.

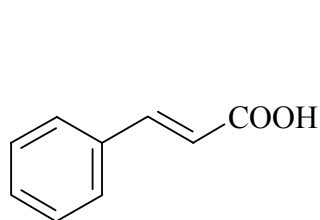
Hlavní obsahovou látkou skořicovníku, které byla věnována pozornost, je cinnamylaldehyd (**26**), který je součástí silice různých skořicovníků, především však taxonu *Cinnamomum aromaticum* (skořicovníku čínského; *Etheroleum cinnamommi cassiae*). Tento aromatický aldehyd má údajně stejnou desinfekční aktivitu jako fenol. Silice (s obsahem ca 90 % aldehydu) působí proti zástupcům rodu *Streptococcus*, *Staphylococcus* a *Gonococcus* ve zředěních 1:40 000, 1:1 600, 1:24 000. Je účinný také vůči *Vibrio* v koncentraci 1:8 000 až 1:16 000, tlumí dále růst *Elberthella thyphosa*, *Neisseria* sp., *Escherichia coli*, *Oidium albicans*<sup>180</sup>. Silice může být použita jako přírodní antimikrobiální aditivum do některých potravinářských výrobků<sup>217</sup>. Cinnamylaldehyd nad rozdíl od karvonu (*Etheroleum carvi*) navozuje depleci zásob ATP v buňkách *Saccharomyces cerevisiae*, způsobuje ireverzibilní



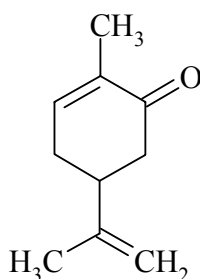
únik metabolitů a enzymů přes cytoplazmatickou membránu. To vysvětluje, proč cinnamaldehyd působí fungicidně na rozdíl od karvonu (**27**), který má pouze fungistatický efekt<sup>218</sup>. Ukázalo se také, že umělá přísada dimethylsulfoxidu k silici skořicovníku (resp. cinnamylaldehydu) v dávkě 10-150 mg/ml zvyšuje až 50krát jeho antimikrobiální aktivitu<sup>219</sup>.

#### 2.5.3.6.3 *Eucalyptus* sp.

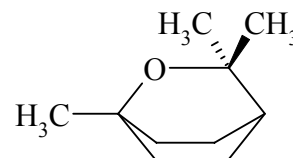
Silice blahovičnicku je připravována z různých zástupců rodu *Eucalyptus*, které jsou bohaté na 1,8-cineol (*Eucalyptus globulus* LABILL., *Eucalyptus fruticetorum* F. V. MUELLER (syn. *Eucalyptus polybractea* R. T. BAKER), *Eucalyptus smithii* R. T. BAKER, ad.). Hlavními obsahovými látkami jsou 1,8-cineol (**28**) (86,8%, *p*-cymen 2,7%,  $\alpha$ -pinen 2,6%, limonen 0,5%, geraniol a kamfen.



**26**



**27**

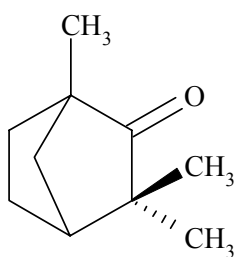


**28**

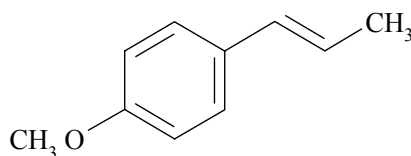
Silice má *in vitro* výrazný antimikrobiální účinek vůči *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a zvláště vůči *Mycobacterium avium*, tlumí růst některých mikromycet (*Aspergillus aegypticus*, *Penicillium cyclopium*, *Trichoderma viride*), působí fungicidně vůči *Candida tropicalis*, *Rhizopus nigricans*, *Penicillium digitatum*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Cryptococcus rhodopenhansi*, *Saccharomyces cerevesiae*, *Cryptococcus neoformans*, *Mucor mucedo*, *Helminthosporium sativum*, *Alternaria solani*, *Nigrospora panici*, *Aspergillus fumigatus* a *Streptomyces venezuelae*. Fenolový koeficient silice je 3,55. Kromě antimikrobiálních efektů tlumí syntézu prostaglandinů, má lokálně hyperemizující efekt, působí expektoračně, sekretomotoricky, antitussicky, má povrchově smáčecí účinek a zlepšuje komplianci plic<sup>180</sup>. Siličným složkám blahovičnicku je věnována řada přehledných studií, např.<sup>220</sup>

#### 2.5.3.6.4 *Foeniculum vulgare* MILL.

Nažky fenyklu jsou běžnou léčivou drogou, používanou v humánní terapeutické praxi; silice fenyklu hořkého (*Foeniculum vulgare* ssp. *vulgare* var. *vulgare*) obsahuje 12-25 % fenchon (29) a 55-75 % *E*-anetholu (30). Jak droze tak silici byla věnována pozornost z hlediska antimikrobiálního (a v případě silice také antioxidačního) účinku<sup>221,222</sup>. Silice je *in vitro* účinná vůči *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium avium*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteritidis*, působí fungicidně proti *Alternaria solani*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Cryptococcus rhodopenhansi*, *Helminthosporium sativum*, *Mucor mucedo*, *Nigrospora panici*, *Penicillium digitatum*, *Rhizopus nigricans* a *Saccharomyces cerevesiae*<sup>180</sup>. Fenchon se ukázal baktericidní a fungicidní v koncentracích 1:128 a 1:512 vůči *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Microspora audouinii*, *Trichophyton* sp. a *Trichospora cutaneum*<sup>180</sup>.



29



30

#### 2.5.3.6.5 *Melaleuca* sp., *Leptospermum* sp.

Oba dva rody rostlin z čeledi Myrtaceae jsou domácí pro oblast Austrálie a Nového Zélandu; zatímco rod *Melaleuca* je obecně ve světě znám jako „tea tree“, *Leptospermum* („manuka“) není tak široce rozšířen, ačkoliv spektrum obsahových látek v silici je kvalitativně podobné.

Rod *Melaleuca* poskytuje několik významných drog, především ve formě silice: *Melaleuca alternifolia* (*Melaleuca* aetheroleum), *Melaleuca cajuputi* (*Cajuputi* etheroleum rectificatum), *Melaleuca dissitiflora* (*Melaleuca* aetheroleum), *Melaleuca leucadendra* (*Melaleuca* leucadendreae etheroleum), *Melaleuca linariifolia* (*Melaleuca* etheroleum), *Melaleuca quinquenervia* (*Melaleuca* quinquenerviae etheroleum), *Melaleuca viridiflora* (*Niaouli* etheroleum). Pro terapeutické účely je nejdůležitější *Melaleuca* etheroleum, pocházející z *Melaleuca alternifolia* (vlastní „tea tree oil“). Silice obsahuje zhruba 100 terpenických látek a podle hlavních sloučenin vytváří typy, např. typ terpinen-4-olový (který je běžný) obsahuje ca 40,1 % terpinen-4-olu,  $\gamma$ -terpinen 23 %,  $\alpha$ -terpinen 10,4 %, 1,8-cineol

5,1 %, terpinolen 3,1 %, p-cymen 2,9 %,  $\alpha$ -pinen 2,6 %,  $\alpha$ -terpineol 2,4 %,  $\delta$ -kadinen 1,3 %, limonen 1 %, viridifloren 1 %.<sup>180</sup>

Tyto silice mají výbornou penetrační schopnost, lipidní rozpustnost, baktericidní a fungicidní účinek. Jsou účinné proti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Propionibacterius acnes*, *Acinetobacter baumannii*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans*, *Branhamella catarrhalis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis*, *Bacillus subtilis* a *Enterococcus faecalis*.<sup>180</sup> Klasické silici (tea tree oil) byla věnována nejen experimentální, ale také klinická pozornost; ukázalo se, že i když nepatří mezi nejaktivnější silice (sledované *in vitro*), má velmi široký radius zásahu mikroorganizmů. Zasahuje některé antibioticky rezistentní kmeny bakterií a flukonazol-rezistentní zástupce *Candida*, méně však zasahuje komenzální organismu typu *Lactobacillus* (což je velmi výhodné). Bylo pozorováno, že olejová vehikula, organická rozpouštědla a povrchově aktivní látky, velmi často používaná pro solubilizaci silice jsou nevýhodné, protože snižují její aktivitu<sup>223</sup>.

Z hlediska chemického (a následně antiinvazního) jsou sledovány také další druhy rodu *Mellaleuca*, zjišťován profil jejich hlavních látek a tyto výsledky porovnávány s biologickou aktivitou silic<sup>224,225</sup>.

Ačkoliv je tea tree oil surovinou na trhu běžnou, je sledováno složení silice dalších zástupců čeledi Myrtaceae a to zejména *Leptospermum scoparium* (Manuka) a *Kunzea ericoides* (Kanuka), rostoucích na podobných místech jako *Melaleuca* sp. Je sledován monoterpenový profil těchto silic pocházejících z různých chemovarů. Přitom bylo zjištěno, že nejvyšší antimikrobiální aktivitu má silice, pocházející z chemovaru z East Cape<sup>226</sup>. Kromě antimikrobiální aktivity silic těchto druhů byla věnována pozornost na skeletární a hladkou svalovinu a další efekty. Byly nalezeny rozdíly v účinku: Manuka vykazuje na hladké svalovině spasmolytickou aktivitu, Kanuka a *Melaleuca* má určitou aktivitu spasmogenní. Kanuka má nízkou antifungální aktivitu, vysokou aktivitu antimikrobiální, Manuka je silně antifungální, ne však do té míry, jako *Melaleuca*. Vzorke silice Manuka byly ve své antioxidační aktivitě mnohem konzistentnější než vzorky Kanuka, *Melaleuca* je bez antioxidační aktivity. Tyto výsledky ukazují, že uvedené silice mají rozdílné indikační oblasti<sup>227</sup>.

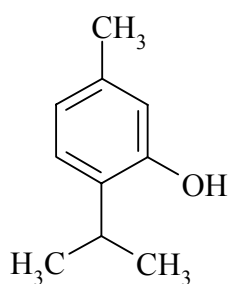
#### 2.5.3.6.6 *Ocimum* sp.

Listy (případně silice) z bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) jsou používány v léčitelské praxi kromě jiných indikací jako karminativum, spasmolytikum a mírné antiseptikum. Silice z pěti různých klasifikovaných chemovarů (s charakteristickou vůní připomínající koření) byla podrobena studiu na antimikrobiální aktivitu vůči běžným Gram-pozitivním, G-negativním bakteriím, kvasnicám a houbám, které jsou běžnými patogeny, přenášenými potravou. Všechny 5 vzorků silice bylo antimikrobiálně aktivních vůči všem testovaným organizmům s výjimkou *Flavimonas oryzihabitans* a *Pseudomonas* sp. Bylo také zjištěno, že silice anýzové odrůdy má inhibiční efekt na *Lactobacillus curvatus* a *Saccharomyces cerevisiae*<sup>228</sup>.

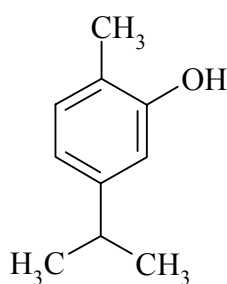
Pozornost je věnována také jiným druhům bazalky (*O. gratissimum*, *O. canum*, *O. kilimandscharicum*), které jsou používány při různých onemocněních, jako je malárie, kašel, bronchitidy, urogenitální potíže, parazitická onemocnění kůže, aj. Tyto taxony by mohly být zdrojem antimikrobiálních surovin, protože obsahují nejen thymol, ale řadu dalších aktivních látek<sup>229</sup>.

#### 2.5.3.6.7 *Origanum* sp.

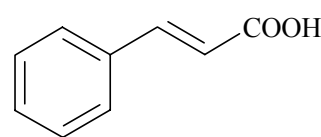
Za hlavní antiinvazní látky těchto rostlinných druhů jsou pokládány dva polohové izomery fenolických monoterpenu – thymol (31) a karvakrol (32). Obě látky jsou synteticky dostupné v potřebných množstvích, většinou jsou však využívány silice s jejich obsahem, protože další terpeny amplifikují jejich účinek.



31



32



33

Při studiu antimikrobiální aktivity listů *Lippia multiflora* se ukázalo, že nepochopitelný hexanový extrakt je antimikrobiálně nejúčinnější a později z něho byl izolován jako účinná složka karvakrol<sup>230</sup>. Jako antimikrobiální látka byl účinný v kombinaci se skořicovou kyselinou (33) na čerstvých řezech melounu a plodů kiwi (v koncentracích 1 mM (0,015 % roztok karvakrolu)<sup>231</sup>. Potravou přenášené mikrobiální agens *Bacillus cereus* (v tomto případě na rýži)

bylo ve svém růstu tlumeno karvakrolem; protože má terpen ve vyšších koncentracích výraznou chuť a vůni, byl použit v nižší dávce a s úspěchem přidán cymen jako synergizační látka pro dosažení potřebné antimikrobiální aktivity<sup>232</sup>. Karvakrol má také vliv na růst a produkci toxinu *Bacillus cereus*; je-li látka přidána v nižší než MIC dávce, snižuje se riziko tvorby toxinu a zvyšuje bezpečnost produktu (potravního)<sup>233</sup>. Bylo však zároveň zjištěno, že u tohoto druhu mikroorganismu se může vyvinout adaptace na karvakrol a to tehdy, je-li v přítomem v médiu v nižších dávkách než letálních<sup>234</sup>. Zabránění tomuto procesu může být v synergizmu s jinými látkami (použití nikoli čisté látky, ale např. silice, anebo kombinací dvou či několika antimikrobiálních sloučenin).

Prakticky využitelného účinku se dosahuje kombinací karvakrolu a thymolu: obě sloučeniny jsou přítomny v řadě silic, především získaných z nadzemní části rostlin rodů *Thymus*, *Origanum* a *Ocimum*: při studiu vlivu těchto sloučenin (a *Etheroleum origani*) na *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* bylo prokázáno, že náležitá (tedy nikoli podprahová) koncentrace obou látek ve směsi může totálně inhibovat oba mikroorganismy<sup>235</sup>. Směs obou látek snižuje zápach sanitární vody z chovu hospodářských zvířat inhibicí růstu mikroorganismů v nich obsažených<sup>236</sup>. Tento efekt se projevil také u pevného organického odpadu z chovu prasat. Látky nejsou metabolizovány v anoxickém prostředí zvířecích exkrementů a mohou tak být použity k tlumení nepříjemného zápachu a růstu patogenů v organickém materiálu<sup>237</sup>. Zkušeností s nimi bylo využito při návrhu doplňkové směsi pro zvířata s obsahem karvakrolu a thymolu jako baktericidních agens. Obsah každé z látek se pohybuje kolem několika ppm (v závislosti na vlhkosti materiálu) a jejich hmotnostní poměr ve směsi od 1:5 až k 10:1 (karvakrol:thymol). Směs je určena do krmiva, pitné vody nebo k omývání<sup>238</sup>.

Studiu antimikrobiální aktivity byly podrobeny také výchozí rostlinné suroviny: byla sledována např. silice z *Thymus herba-barona* LOISEL rostoucí na území Sardinie (obsahuje kromě jiných terpenů především 73-75,4 % karvakrolu a 1 % thymolu). Příznivý účinek na Gram-pozitivní bakterie *in vitro* (MIC 0,125-0,500 mg/ml) a houby (MIC 0,125-0,500 mg/ml) ukázal, že je to vhodný materiál s antiseptickými a konzervačními vlastnostmi, využitelný v různých sférách<sup>239</sup>.

V současné době je v zemědělské praxi kupodivu dávána větší přednost produktům z některých zástupců rodu *Origanum*. Je to patrně z praktického hlediska: produkčně je snazší vypěstovat z jednotky plochy větší množství *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* než *Thymus vulgaris*. Stejně tak jako v předešlých případech je věnována pozornost různým taxonům rodu *Origanum*, např. *O. multiflorum* rostoucím v Anatolii; obsah karvakrolu v silici se u toho

druhu pohybuje až na hranici 92,95 % a je tedy logické, že vykázal příznivý antimikrobiální účinek na 4 nejběžnější testované bakterie a 4 houby<sup>240</sup>. Silice z *Origanum majorana* (linalool 32,68 %, terpinen-4-ol 32,30 %) a *Origanum compactum* (karvakrol 49,52 %, p-cymen 21,22 %,  $\gamma$ -terpinen 14,21 %) pocházející z Maroka, byly podrobeny studiu účinků na plísně, kvasinky a bakterie. Úplné inhibice bylo dosaženo při použití koncentrace 4 ppm silice *Origanum compactum* (všechny patogeny), zatímco silice z *Origanum majorana* inhibovala pouze kvasinky a bakterie mléčného kvašení v koncentraci 5 ppm<sup>241</sup>. Z toho plyne, že *O. compactum* může být taxonem vhodným pro další studium. Silice z *Origanum vulgare* byla podrobena studiu na *Candida albicans*; silice zcela inhibovala růst tohoto patogena v kultuře *in vitro* při koncentraci 0,25 mg/ml. V této studii byla použita také zvířata (systémový kandidózní model) a pro srovnání byl použit také karvakrol. Bylo zjištěno, že po perorální aplikaci obou látek (v olivovém oleji) byl vzhled myši z kosmetického hlediska lepší v případě silice než karvakrolu. Použití této silice by mohlo přinést perspektivní výsledky<sup>242</sup>.

#### 2.5.3.6.8 *Pelargonium* sp.

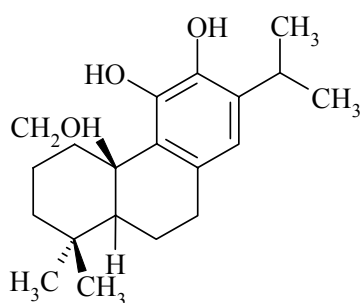
Rod *Pelargonium* se v poslední době stal rovněž zajímavým z hlediska antimikrobiální aktivity. Je v blízkosti rodu *Geranium*, který poskytuje několik léčivých drog (*G. macrorrhizum*, *G. maculatum*, *G. robertianum*, *G. sanguineum*) – většinou natí nebo kořenů, převahou s obsahem různých typů tříslovin nebo jednoduchých fenolických látek (flavonoidů)<sup>180</sup>.

V literatuře je diskutován rozdíl mezi druhy obou rodů z hlediska antimikrobiální, antifungální a antioxidační aktivity<sup>243</sup>. Zdá se, že některé druhy (a odrůdy) *Pelargonium* by mohly být využity jako antimikrobiální prostředek při výrobě potravin<sup>244</sup>; účinek silice a hydrodestilátu z několika pěstovaných odrůd byl sledován v médiu z brokolicového homogenátu (koncentrace silice 1000 ppm) proti *Enterobacter aerogenes* a *Staphylococcus aureus*. Kompletní inhibice *Staphylococcus aureus* nastala v případě použití silice z odrůd Sweet Mimosa, Mabel Gray, At. Snowflake, Royal Oak, Attar of Roses, Chocolate Peppermint, Clorinda a *P. graveolens*; antibakteriální aktivita vůči *E. aerogenes* snížena, pouze v případě silice z 'Mabel Gray' byla významná. Bylo zjištěno, že odpovídající hydrosoly (voda nasycená silicí) jsou prakticky bez účinku<sup>245</sup>.

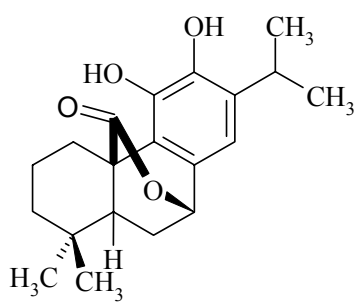
#### 2.5.3.6.9 *Rosmarinus officinalis*

Nať rozmarýnu lékařského je běžným kořením; v současné době nabývá její farmaceutické a potravinářské použití zejména ve Střední Evropě stále více na významu. Silice, které je

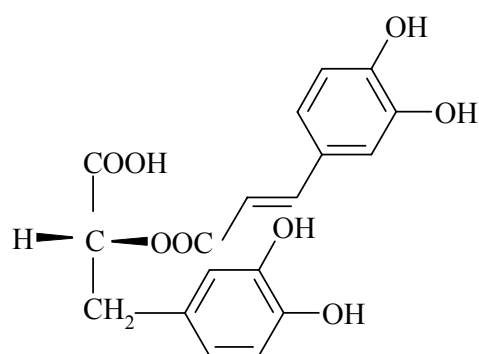
v listech 1,0-2,5 % obsahuje jako hlavní komponenty kafr, 1,8-cineol a  $\alpha$ -pinen. Kromě monoterpenů obsahuje nať (listy) diterpenové fenolické látky karnosolovou kyselinu (**34**), karnosol (**35**), rosmanol a řadu jejich derivátů (artefaktů). Z derivátů skořicové kyseliny jsou klasicky přítomny depsidy kávové kyseliny (až 8,4 % v sušině listů) a triterpeny odvozené od oleanu a ursanu<sup>180</sup>.



**34**



**35**



**36**

Silice je poměrně silně účinná proti řadě různých mikroorganismů (bakterie, kvasinky, mikromycety). Celkový biologický účinek však není založen jen na účinku silice, ale na všech obsahových látkách, tzn., že neaktivnější bude alkoholový extrakt. Bylo to demonstrováno na izolaci rosmové kyseliny a rosmanolových derivátech, které jsou účinné proti *Streptomyces scabies*<sup>246</sup>. Sumární alkoholový extrakt z listů rozmarýnu (Oxy'less, používaný jako potravní antioxidant do tuků), byl účinný proti *Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus cereus*. Zdá se, že celkový antibakteriální účinek je z větší části způsoben diterpeny<sup>247</sup>.

#### 2.5.3.6.10 *Salvia* sp.

Obsahové látky zástupců rodu *Salvia* (šalvěj) jsou nositeli významných farmakologických účinků; kromě těch, jejichž zájem leží mimo rámec této studie je to antimikrobiální a antivirová aktivita, antioxidační, protizánětlivý a antimutagenní účinek<sup>248</sup>. Nejběžnějším a nejpoužívanějším taxonem v naší oblasti je šalvěj lékařská, *Salvia officinalis*. Složky silice tohoto taxonu pěstovaného na Balkáně jsou dobře známy, stejně tak jako profil antimikrobiální aktivity silice<sup>249</sup>; byly také sledovány polární extrakty z květů, listů a nati<sup>250</sup>. Listy tohoto taxonu patří mezi staré léčivé rostliny, byla jí věnována velká pozornost, a to nejnom z hlediska terapeutického, ale i toxického<sup>180</sup>. Silice (v dalmatské droze 1,2-3,6 %) obsahuje kromě jiných terpenů  $\alpha$ - a  $\beta$ -thujon, které jsou toxické na centrální nervový systém a

rostlina je v současnosti jako léčivá droga problematická. Hlavní složky uvedené silice se pohybují v následujícím obsahu: kafr 8,4-24 %, 1,8-cineol 8,4-24 %,  $\alpha$ -thujon 22,2-36,8 %,  $\beta$ -thujon 4,0-27,5%; minoritními složkami jsou borneol 2,1 %, b 1,6 %, kamfen 4,4 %,  $\beta$ -karyofyllen 3 %,  $\alpha$ -humulen 4,4 %,  $\alpha$ -pinen 3,5 %,  $\beta$ -pinen 2,2 % a viridiflorol 6 %. V nati jsou však obsaženy také polární deriváty hydroxyskořicové kyseliny (depsidy) – např. rosmarinová kyselina (**36**) (0,8-1,7 % v obchodní droze), dále flavonoidy (ca 19 glykosidů, jejichž aglykony jsou apigenin, luteolin a kemferol). Nelze zapomenout na výskyt diterpenů – kyseliny karnosolové (salvin) a jejího hořce chutnajícího laktonu karnosolu (pikrosalvin). Kromě toho jsou v listech pentacyklické triterpeny lupanového, oleanového a ursanového typu. Látky mají řadu biologických účinků: významné jsou účinky antioxidantní a především antimikrobiální vůči *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. Antivirotický účinek byl prokázán na Herpes hominis (typ 2) HVP 75, Influenza A2 Mannheim 57, Newcastle virus (kmen 11914 Ei), Herpes simplex virus<sup>180</sup>. Obsah thujonů ve velké překážkou při praktickém využívání této rostliny, v současné době jsou však prováděny pokusy s parciálním odstraněním těchto terpenů a také se šlechtěním na co nejnižší obsah. Výsledky, které by bylo možné využít v průmyslovém měřítku však ještě nejsou k dispozici.

Za zajímavé je nutno pokládat abietanové diterpeny z kořenů *Salvia lanigera* rostoucí v Egyptě (mikrostegiol, ferruginol a  $7\alpha$ -ethoxyroyleanon); tyto látky vykazují významnou antimikrobiální aktivitu<sup>251</sup>.

#### 2.5.3.6.11 Různé rostlinné taxony

Perspektivní rostliny, které vykazaly *in vitro* antimikrobiální aktivitu jsou uvedeny v tab. 2; byly vybrány rostliny, které jsou dostupné (reálně pěstovatelné nebo získatelné) a kterým je věnována fytochemicko-farmakologická pozornost.

Tab. 2 Antibakteriální účinek běžných léčivých rostlin (silic)

Taxon	Účinná látka	Účinek	Lit.
<i>Aframomum danieli</i> <i>Curcuma longa</i> <i>Zingiber officinale</i> (oddenky s kořeny)	Silice: monoterpeny	Účinek proti Gram-pozit. i Gram-negat. bakteriím, kvasinkám, mikromycetám	<sup>252</sup>
<i>Boswellia carteri</i> (pryskyřice)	Olibanum	Účinná proti <i>S. aureus</i> , <i>Sarcina lutea</i> , <i>Mycobacterium phlei</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Neisseria catarrhalis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i>	<sup>180</sup>



Tab. 2 pokračování

<i>Calamintha nepeta</i> ssp. <i>glandulosa</i> (listy)	Silice: pulegon, menthon, piperitenon, piperiton	Vůči silici citlivé: <i>A. niger</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i>	253
<i>Carum carvi</i> (plody)	Silice: (+)-karvon	Účinná proti <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> , <i>A. niger</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> var. <i>interdigitale</i> , <i>T. rubrum</i>	180
<i>Coriandrum sativum</i> (plody)	Silice	Účinná proti <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. aegypticus</i> , <i>Penicillium cyclopium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Salmonella typhosa</i> , <i>M. avium</i>	180
<i>Dracocephalum moldavica</i> (nadzemní část)	Silice Kávová a rosmarinová kyselina	Antimikrobiální aktivita	254
<i>Glechoma sardoa</i> (Sardinie, Korsika) (nať)	Silice	Účinný proti <i>S. aureus</i> (0,5 mg/ml), <i>S. epidermidis</i> (1 mg/ml), Neúčinná (MIC 2 mg/ml): <i>C. albicans</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	255
<i>Hyssopus officinalis</i> (nať)	Silice	Účinná proti <i>M. tuberculosis</i> (H37RV), <i>Ascaris</i> sp.	180
<i>Mentha suaveolens</i> (Maroko) (nať)	Silice: monoterpeny (pulegon aj.)	Účinek proti 19 kmenům Gram-pozit. a Gram-negat. Baktérií, 3 houby	256
<i>Nepeta cataria</i> (nať)	Etherový extrakt: Monoterpeny, iridoidy	Účinek proti houbám a Gram-pozit. bakter. Sledováno 44 kmenů <i>Staphylococcus aureus</i> ; u někt. kmenů snížení adherence	257
<i>Nigella sativa</i> (semena)	Silice	Protizánětlivá, antimikrobiální aktivita	258,259
<i>Phlomis fruticosa</i> (nať)	Silice  Ethanol. extrakt	Účinek proti <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>Cl. cladosporioides</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>Phomopsis heliathi</i> <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>Cl. cladosporioides</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>Phomopsis helianthi</i>	260
<i>Satureja cuneifolia</i> (Hercegovina) (nať)	Silice	Účinná proti <i>S. aureus</i> (silice získaná po odkvětu), <i>C. albicans</i> (silice získaná v době květu)	261
<i>Tagetes erecta</i> (nať)	Silice: piperiton Silice: neznámá látka	Aktivní proti <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 Aktivní vůči <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	262

### 2.5.3.6.12 Různé rostlinné metabolity

V přehledu jsou uvedeny metabolity, které nejsou monoterpenového charakteru (u některých zdrojů není dosud dostatečně známo, jaké povahy jsou účinné látky), vykazují smysluponou aktivitu a jejich zdroje jsou dostatečně dobře dostupné.

Tab. 3 Antimikrobiálně účinné především nesiličné rostliny

Taxon	Účinná látka	Účinek	Lit.
<i>Arctium</i> sp. (plody)	Lignany, flavonoid	Účinný proti <i>Candida monosa</i> (citlivá na nystatin), <i>E. coli</i> ATCC 10536, <i>S. aureus</i> ATCC 6538-P, <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228, <i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 23382, <i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<sup>263</sup>
<i>Zanthoxylum piperitum</i> (plody)	Různé alifatické a alicyklické sloučeniny	Chloroformový extrakt inhibuje: <i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> (1 mg/ml)	<sup>264</sup>
<i>Magnolia</i> sp. (kůra, květy)	Neolignany, terpeny, fenyylpropanoidy, alkaloidy	Antimikrobiální a antioxidační aktivita	<sup>265</sup>
<i>Morinda citrifolia</i> (nať)	Iridoidy, karotenoidy, triterpeny, fytosteroly	Střední inhibiční aktivita vůči běžným patogenním mikroorganismům (bakterie, houby)	<sup>266</sup>
<i>Lycopus europeus</i> (nať)	Pimaránové deriváty	Samotné neúčinné; kombinace s tetracyklinem nebo erythromycinem navozuje dvojnásobnou aktivitu než u samotných antibiotik vůči rezistentnímu <i>S. aureus</i> .	<sup>267</sup>
<i>Impatiens balsamina</i> (nať)	Metanolvý a vodný extr.	Aktivní proti <i>S. aureus</i> KCTC 1928, <i>K. pneumoniae</i> KCTC 2690, <i>T. mentagrophyt.</i> KCTC 6316, neaktivní proti <i>E. coli</i> KCTC 1116	<sup>268</sup>
<i>Bellis perennis</i> (květenství)	Saponiny	Aktivní proti <i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031, <i>S. aureus</i> ATCC 6538-P, <i>B. subtilis</i> ATCC 6633, <i>C. albicans</i> ATCC 10231, <i>C. monosa</i> (citlivá na nystatin)	<sup>269</sup>
<i>Brassica</i> sp. (nať)	allylthiokyanát	Fungicidní aktivita Studium mechanismu antibakteriální akt.	<sup>270</sup> <sup>271</sup>
<i>Capsicum annuum</i> (plody)	5-hydroxymethyl-2-==formylpyrroly	Antibakteriálně účinné proti <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> a <i>S. cerevisiae</i>	<sup>272</sup>

#### 2.5.4 Ovlivnění imunity

Je nepochybné, že úroveň adaptivní imunity hraje významnou roli v reakci organismu na případný kontakt s patogenem. Je také nepopiratelné, že dochází k interakci přirozená imunita – imunita adaptivní; o této souvislosti bylo napsáno mnoho prací, které jsou dostatečně dobře známy<sup>273</sup>. Při posuzování vlivu přirozené imunity ve vztahu k průběhu různých infekcí je nutné zjistit všechny souvislosti týkající se konkrétního živočišného druhu, jen obtížně lze přenášet výsledky z různých druhů<sup>274</sup>, i když patří do blízkých taxonomických jednotek. Jak už bylo zmíněno v kapitole 2.4.1, hraje řada mikroorganismů významnou roli v uplatňování přirozené imunity<sup>275</sup>. Produkce antimikrobiálních (resp. antiinvazních peptidů) – potenciálních substituentů antibiotik (a látek ovlivňujících přirozenou imunitu) – je věnována stále větší pozornost<sup>276</sup>. V tomto ohledu je z pochopitelných důvodů věnována pozornost vztahu některých xenobiotik a intestinální flóry na ovlivnění přirozené gastrointestinální imunity; uvedený příklad<sup>277</sup> je sice směřován do humánní oblasti, nicméně přináší řadu inspirativních nápadů. Zcela nakonec není možno opomenout zmínku o roli oxidu dusnatého v přirozené imunitní reakci a po napadení patogenem: tento mediátor hraje významnou roli v antimikrobiální/antitumorózní rezistenci a patobiochemických mechanismech autoimunitních reakcí<sup>278</sup>. V poslední době se stále intenzivněji rozvíjí výzkum v oblasti přírodních látek, která zasahují do exprese genů zasahujících do metabolismu kaspáz, resp. apoptózy a blízkých oblastí, které s tímto procesem souvisí, tj. i metabolismu oxidu dusnatého.

Skupina látek přírodního původu, které podporují imunitní reakci organismu, je poměrně široká. Bylo by neúčelné ji systematicky rozebírat: těchto látek je poměrně mnoho, ovšem většina z nich pochází ze studií *in vitro* a není tedy jisté, že se prakticky vůbec uplatní. Některé z těchto studií ukazují, že se sice jedná o látky vysoce perspektivní (byly zahrnuty už do experimentálních studií nových léčiv), ale těžko budou uplatnitelné v živočišné výrobě z důvodů nákladů. V oblasti produkce zvířat je nutné přiklonit se k látkám, které jsou relativně běžně dostupné, je přijatelný poměr cena/účinek a v organismu jsou metabolizovány a nakonec exkretovány (ukázalo se např., že některé typy zcela netoxických polysacharidů mají tendenci se v organismu hromadit v oblasti jater a obtížně se degradují). Z tohoto důvodu byly vybrány zmínky jen o dvou skupinách látek: karotenoidech a některých polysacharidech.

Po infekci kuřat kokcií *Eimera acervulina* se ukázalo, že v průběhu pale-bird syndromu dochází k alteraci metabolismu karotenoidů<sup>279</sup>; humánní praxe ukázala, že aplikace těchto látek přináší velmi příznivé výsledky v mnoha sférách (ochrana gastrointestinálního

traktu, antikancerogenní působení, ochrana oční sítnice a prevence degenerace proteinových struktur čočky ad.). Dva významné efekty karotenoidů spolu souvisí: antioxidační a zvýšení imunitní odpovědi. Jsou spolu úzce propojeny, protože likvidace reaktivních forem kyslíku je esenciálně důležitá pro správnou mezibuněčnou komunikaci a udržení mezibuněčné imunitní integrity<sup>280</sup>. Stojí proto za úvahu aplikovat tyto látky v širším spektru než je tomu dosud; v současnosti je už na trhu dostatečné množství biotechnologicky připraveného materiálu s obsahem karotenoidů (řasy), ekonomicky přijatelného, který se může velmi příznivě uplatnit např. v ovlivnění kokcidióz drůbeže nebo histomoniáz krůt.

Polysacharidy různého typu, především glukany typu  $\beta(1\rightarrow3$  a  $1\rightarrow4)$  jsou už řadu let známy jako látky modifikující imunitní odpověď. Jsou získávány z různých zdrojů, výhodné jsou však z dostupných surovin, jako jsou pivovarské kvasnice, oves a některé řasy nebo lišejníky.

Pivovarské kvasnice jsou v živočišné výrobě používány spíše jako aditivní zdroj vitaminů B-komplexu; dostupnost glukánů z této suroviny však není taková, jak by bylo potřeba: buňky kvasinek je nutné nejprve desintegrovat a potom z nich vhodnými fyzikálními procesy glukany získat. Při trávení však desintegrace buněk neprobíhá dokonale (po lýze buněk se sice uvolní většina vitaminů B, protože mají malou molekulu a jsou ve vodě rozpustné, glukany jsou však vázány v komplexu s proteiny v blízkosti buněčné stěny) a tak je vhodné podávat je ve formě koncentráту.

Polysacharidy řas a lišejníků jsou také delší dobu známy a používány, např. polysacharidy z řasy *Laminaria* (laminarin) mohou být použity při humánní léčbě karcinomů prsu, plic, jícnu, žaludku, intestinálních nádorů, při léčbě virových, bakteriálních a fungálních onemocnění a pro zvýšení imunitní odezvy jak lidí, tak teplokrevných živočichů<sup>281</sup>.

Desetiletí používaná léčivá droga *Lichen islandicus*, tvořená stélkami puklérky islandské (*Cetraria islandica*), obsahuje kromě polysacharidu lichenanu (ze 70 % tvořen  $\beta(1\rightarrow4)$ - a z 30 %  $\beta(1\rightarrow3)$ -vazbami;  $n=60-200$ ) alifatické kyseliny depsidonového typu (protocetrarovou, fumarprotocetrarovou, cetrarovou kyselinu), usninovou kyselinu ad. Tato droga má slabě antimikrobiální účinky, zklidňuje tkáň při zánětu a má antitumorózní efekt: ten je navozen především účinkem polysacharidů, které zvyšují také imunitu<sup>180,282</sup>.

Imonomodulační aktivitu vykazují ve významné míře glukany z vyšších rostlin; v poslední době patrně nejrozšířenějším glukánem tohoto typu je glukán ovesný (*Avena sativa*), který se může uplatnit jako ochranný prostředek při kokcidióze drůbeže<sup>283,284</sup>.

### 2.5.5 Přístup kombinatorní chemie

Tak jako ve všech jiných oblastech studia biologické aktivity látek (ať už syntetických nebo přírodních), nelze ponechat existenci příznivých účinků náhodě. Výzkum antiinvazních látek v širším slova smyslu je často komplikovanější než výzkum jiných skupin léčiv, protože tento problém má více stupňů volnosti: v organizmu hostitele se pohybují další živé organizmy, které navzájem interagují, v závislosti na čase se různě mění, vyvíjejí a často významněji než v jiných případech ovlivňují biochemické a fyziologické procesy hostitele.

V první fázi je nutné znát mechanismus účinku používaných látek<sup>285</sup>, aby bylo možno vhodně zasáhnout do životního cyklu patogenního agens. Ačkoliv se zabýváme látkami rostlinnými, je velmi perspektivní na základě izolovaných struktur použít metodologii kombinatoriální a mnohočetné paralelní syntézy pro nalezení optimální látky<sup>286</sup>; tyto metody nejsou nijak nové, s rozvojem biotechnologických metod se začalo uvažovat o jejich aplikaci nejen na poli humánní terapie, ale také v zemědělství a potravinářství<sup>287</sup>.

### 3 ZÁVĚR

- 1) výzkum antimikrobiálně-antiinvazně působících látek, využitelných pro oblast mimo terapie je široký, prakticky použitelných surovin (sumárních standardizovaných látek, frakcí nebo čistých sloučenin) je však maximálně 10 %,
- 2) v oblasti farmaceutické mikrobiologie se rozšiřuje výzkum využitelných bakterií (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, aj.) s hlediska produkce peptidů, schopných nahradit „fyziologickým způsobem“ do určité míry klasická antibiotika,
- 3) velký význam budou mít živočišné proteiny mléka a některé jejich degradační produkty,
- 4) zdá se, že rostliny budou fungovat spíše jako zdroj pro genovou manipulaci (vnesení genů a jejich exprese vedoucí ke vzniku především živočišných peptidů),
- 5) významný antimikrobiální-antiinvazní účinek vykazují monoterpeny, případně ve směsi se seskviterpeny (seskviterpenovými laktony); s výjimkou fenolických monoterpenů – polohových izomerů – karvakrolu a thymolu je výhodnější používání komplexních silic než čistých izolovaných látek; silice mají větší spektrum účinku a jejich obsahové látky se navzájem v účinku synergizují,
- 6) protože nelze do krmivového řetězce aplikovat terapeutické množství nízkomolekulárních antiinvazních látek (small molecules), je nutné využít metody synergiace, tj. ovlivnění více fenomenů, které se podílejí na antiinvazním projevu organismu a to především antioxidantů a látek ovlivňujících imunitu,
- 7) při volbě přírodních prostředků je potřebné vzít v úvahu druh species z hlediska jeho metabolismu a tím umožnění aplikovat určité látky v určitých dávkách; velmi závažnou skutečností v tomto ohledu je přesné zjištění ve vztahu k využitelnosti krmné dávky: ačkoliv u některých z těchto látek nebyl prokázán antinutriční účinek (taniny, katechiny, procyanidiny), je nutné tento fakt detailně zjistit,
- 8) je potřebné důkladně zjistit také farmakokinetiku doplňkových látek, aby nebyl negativně ovlivněn potravní řetězec (vzhled, chuť a vůně konečných produktů),
- 9) bylo by velmi přínosné, aby profil zájmu zemědělských grantových agentur a zemědělských sekcí jiných grantových agentur poskytl větší prostor pro výzkum a využití těchto látek než je tomu dosud.

## ANTIINVAZNÍ LÁTKY PŘÍRODNÍHO PŮVODU JAKO ADITIVA DO KRMIV

Lubomír Opletal, Bohumír Šimera

Práce shrnuje výsledky za posledních deset let v oblasti výzkumu a praktické aplikace přírodních látek (metabolitů mikroorganismů, nižších a vyšších rostlin a živočichů) jako antiinvazních agens; ve vztahu k chemii léčiv definuje odlišně pojem „antiinvazní“ a vychází z této změněné definice při rozdělení všech dosud významných látek. Má charakter overview, ve kterém jsou uvedeny jen nosné studie, resp. literární údaje, které mohou zájemce navést k hlubšímu studiu.

Ze všech látek, které mohou být v této oblasti uplatněny je věnována poměrně široká pozornost peptidům některých mikroorganismů (*Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Pediococcus* sp. ad.), které mají invazní účinky a mohly by se stát náhradou antibiotik, resp. jejich produkční organizmy by mohly hrát určitou roli jako náhrada antibiotických stimulátorů růstu. V této oblasti však existují i určité problémy.

Další významnou oblastí je možnost využití některých přírodních fenolických látek (organické kyseliny, taniny, katechiny, procyanidiny), které mají také antiinvazní účinek, musí však být zjištěno, zda nedisponují antinutričním účinkem (zejména klasické fenolické látky, jako jsou taniny).

Významný antiinvazní (konkrétně antimikrobiální) vliv mají monoterpeny obsažené v silicích běžných (i méně běžných) léčivých rostlin z čeledi *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, aj.). Tyto látky jsou už prakticky používány jako roboriční a bakteriostatický prostředek řadou výrobců v celém světě.

Tento typ doplňkových látek nelze použít do krmiva v množstvích, které jsou na hranicích terapeutických dávek, protože by takový postup mohl mít nepříznivý vliv na fyziologii zvířat, resp. na kvalitu užitelského produktu z organoleptického hlediska. Lze však využít synergizačního efektu s jinými látkami nebo postupy: současně použití přírodních antioxidantů a látek modifikujících imunitu (zejména střevní mukózy) umožňuje snížit množství těchto látek v aplikaci a dosáhnout kladných výsledků.

*Klíčová slova:* doplňkové látky – krmivo – produkce hospodářských zvířat – přírodní látky – léčivé rostliny – živočišné produkty - bakterie – viry – primární a sekundární metabolity rostlin – potravinářství.

## 5 LITERATURA

---

- <sup>1</sup> Corpet, D. E.: Mechanism of antimicrobial growth promoters used in animal feed. *C. R. Acad. Agric. Fr.* 85, 197-205 (1999); *Chem. Abstr.* 133, 251575.
- <sup>2</sup> Corpet, D. E.: Mechanism of antimicrobial growth promoters used in animal feed. *Rev. Med. Vet. (Toulouse)* 151, 99-104 (2000); *Chem. Abstr.* 133, 119062.
- <sup>3</sup> Opletal, L.: Možnosti náhrady antibiotických stimulátorů růstu ve výživě zvířat. *Expertní studie Výboru pro výživu zvířat MZV, Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha-Uhřetěves 2003*, 120 s.
- <sup>4</sup> Andremont, A.: Impact of the use of antibiotics in animals on bacteria potentially pathogenic for humans. *C. R. Acad. Agric. Fr.* 85, 207-213 (1999); *Chem. Abstr.* 133, 249337.
- <sup>5</sup> Hillman, K.: Bacteriological aspects of the use of antibiotics and their alternatives in the feed of non-ruminant animals. *Recent Advances in Animal Nutrition*, Nottingham University Press, Nottingham 2001, 107-134; *Chem. Abstr.* 136, 278560.
- <sup>6</sup> Kamphues, J.: Antibiotic growth promoters in animal nutrition. *Berl. Muench. Tieraerztl. Wochenschr.* 112, 370-379 (1999).
- <sup>7</sup> Freitag, M.; Hensche, H.-U.; Schulte-Sienbeck, H.; Reichelt, B.: Negative aspects in the use of antibiotic performance enhancers. *Kraftfutter*, 1999(3), 92,94-98.
- <sup>8</sup> Witte, W.; Klare, I.; Werner, G.: The use of antibiotics as growth promoters in animal husbandry and antibiotic resistance in bacterial pathogens of humans. *Fleischwirtschaft*, 79(4), 90-94 (1999).
- <sup>9</sup> Schwarz, S.; Kehrenberg, C.; Walsh, T. R.: Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 17, 431-437 (2001).
- <sup>10</sup> Aarestrup, F. M., Weneger, H. C.: The effects of antibiotic usage in food animals in food animals on the development of antimicrobial resistance of importance for humans in *Campylobacter* and *Escherichia coli*. *Microbes Infect.* 1(8), 639-644 (1999).
- <sup>11</sup> Van den Bogaard, A. E., Stobberingh, E. E.: Antibiotic usage in animals. Impact on bacterial resistance and public health. *Drugs* 58(4), 589-607 (1999).
- <sup>12</sup> Lee, M. H., Lee, H. J., Ryu, P. D.: Public health risks: Chemical and antibiotic residues: Review. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 14(3), 402-413 (2001).
- <sup>13</sup> Berends, B. R., Van Den Bogaard, A. E. J. M., Van Knapen, F., Snijders, J. M. A.: Human health hazards associated with the administration of antimicrobials to slaughter animals. Part II. An assessment of the risks of resistant bacteria in pigs and pork. *Vet. Quart.* 23(1), 10-21 (2001).
- <sup>14</sup> Smith, D. L., Harris, A. D., Johnson, J. A., Silbergeld, E. K., Morris, J. G., Jr.: Animal antibiotics use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. *Proc. Natl Acad. Sci. of U.S.A.* 99(9), 6434-6439 (2002).
- <sup>15</sup> Poole, K.: Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. *Soc. Appl. Microbiol. Symposium Ser.* 31(Antibiotic and Biocide Resistance in Bacteria), 55S-64S (2002); *Chem. Abstr.* 137, 106137.



- 
- <sup>16</sup> Callaway, T. R., Edrington, T. S., Rychlik, J. L., Genovese, K. J., Poole, T. L., Jung, Y. S., Bischoff, K. M., Anderson, R. C., Nisbet, D. J.: *Curr. Issues Intestin. Microbiol.* 4(2), 43-51 (2003).
- <sup>17</sup> Houndt, T., Ochman, H.: Long-term shifts in patterns of antibiotic resistance in enteric bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(12), 5406-5409 (2000).
- <sup>18</sup> Ali Abadi, F. S., Lees, P.: Antibiotic treatment for animals: effect on bacterial population and dosage regimen optimization. *Int. J. Antimicrob. Agents* 14(4), 307-313 (2000).
- <sup>19</sup> Sorum, H., Sunde, M.: Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Vet. Res.* 32(3/4), 227-241 (2001).
- <sup>20</sup> Knudsen, K. E. B: Development of antibiotic resistance and options to replace antimicrobials in animal diets. *Proc. Nutr. Soc.* 60(3), 291-299 (2001).
- <sup>21</sup> Wegener, H. C.: Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. *Curr. Opin. Microbiol.* 6(5), 439-445 (2003).
- <sup>22</sup> Stein, H. H.: Experience of feeding pigs without antibiotics: a European perspective. *Anim. Biotechnol.* 13(1), 85-95 (2002).
- <sup>23</sup> Liu, Y.; Luo, J.; Xu C.; Ren, F.; Peng, C.; Wu, G., Zhao, J. Purification, characterization, and molecular cloning of the gene of a seed-specific antimicrobial protein from pokeweed. *Plant Physiol.* 122(4), 1015-1024 (2000).
- <sup>24</sup> Vizioli, J., Salzet, M.: Antimicrobial peptides from animals: focus on invertebrates. *Trends in Pharmacol. Sci.* 23(11), 494-496 (2002).
- <sup>25</sup> Hancock, R. E. W.: Cationic peptides: effectors in innate immunity and novel antimicrobials. *Lancet Infect. Dis.* 1(3), 156-164 (2001); *Chem. Abstr.* 137, 277325.
- <sup>26</sup> Hoffmann, J. A., Reichhart, J. M.: *Drosophila* innate immunity: an evolutionary perspective. *Nat. Immunol.* 3(2), 121-126 (2002).
- <sup>27</sup> Tossi, A., Sandri, L.: Molecular diversity in gene-encoded, cationic antimicrobials polypeptides. *Curr. Pharm. Design* 8(9), 743-761 (2002).
- <sup>28</sup> Zasloff, M.: Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* 415(6870), 389-395 (2002).
- <sup>29</sup> Hancock, R. E. W., Karunaratne, N.: Polynucleotides encoding antimicrobial cationic peptides, bacteriostats. U.S. US 6040435 (2000); *Chem. Abstr.* 132, 232737.
- <sup>30</sup> Leroy, F., De Vuyst, L.: *Natural Food Antimicrobial Systems*, (Naidu, A. S. ed.), CRC LLC Press, Boca Raton 2000, 589-610.
- <sup>31</sup> Ganz, T.: Defensin: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nature Rev. Immunol.* 3(9), 710-720 (2003).
- <sup>32</sup> Jack, R. W., Jung, G.: Natural peptides with antimicrobial activity. *Chimia* 52(1-2), 48-55 (1998).
- <sup>33</sup> Dathe, M., Wieprecht, T.: Structural features of helical antimicrobial peptides: their potential to modulate activity on model membranes and biological cells. *Biochem. Biophys. Acta* 1462(1-2), 71-87 (1999).
- <sup>34</sup> Mickowsak, B.: Antimicrobial peptides – structure and function. *Postepy Biol. Komorki* 28(Suppl. 16), 245-259 (2001); *Chem. Abstr.* 136, 165482.

- 
- <sup>35</sup> Schroder, J.-M.: Antimicrobial peptides. Antibiotics of the future? *Med. Monatsschr. Pharm.* 22(9), 270-276 (1999).
- <sup>36</sup> Sass, P. M.: Antimicrobial peptides: structure, function and therapeutic potential. *Curr. Opin. Drug Discovery & Development* 3(5), 646-654 (2000).
- <sup>37</sup> Hancock, R. E. W., Karunartne, N.: Antimicrobial cationic peptides. *PCT Int. Appl. WO 9638473* (1996); *Chem. Abstr.* 126:72511.
- <sup>38</sup> Sahl, H.-G., Bierbaum, G.: Lantibiotics: biosynthesis and biological activities of uniquely modified peptides from gram-positive bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 52, 41-79 (1998).
- <sup>39</sup> Hancock, R. E. W.: Cationic antimicrobial peptides: towards clinical applications. *Expert Opin. Invest. Drugs* 9(8), 1723-1729 (2000).
- <sup>40</sup> Barra, D., Simmaco, M.: Antimicrobially active polypeptides. *PCT Int. Appl. WO 9825961* (1998); *Chem. Abstr.* 129, 76482.
- <sup>41</sup> Liu, Yi; Ning, Zhengxiang: Natural food preservative-antimicrobial peptide. *Shipin Kexue (Beijing)* 20(11), 18-21 (1999); *Chem. Abstr.* 132, 321025.
- <sup>42</sup> Mann, S. P., Spoelstra, S. F.: Microorganisms and their use in treating animal feed and silage. *PCT Int. Appl. WO 9729644* (1997); *Chem. Abstr.* 127, 204805.
- <sup>43</sup> Valore, E. V., Ganz, T.: Laboratory production of antimicrobial peptides in native conformation. *Methods Mol. Biol.* (Totowa, N. J., ed.), 78(Antibacterial Peptide Protocols), 115-131 (1997); *Chem. Abstr.* 127, 200720.
- <sup>44</sup> Cleveland, J., Montville, T. J.: Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 71(1), 1-20 (2001).
- <sup>45</sup> Ennahar, S., Deschamps, N., Richard, J.: Natural variation in susceptibility of *Listeria* strains to class IIa bacteriocins. *Curr. Microbiol.* 41(1), 1-4 (2000).
- <sup>46</sup> Wenk, C.: Recent advances in animal feed additives such as metabolic modifiers, antimicrobial agents, probiotics, enzymes and highly available minerals. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 13(1), 86-95 (2000).
- <sup>47</sup> Niku-Paavola, M.-L., Laitila, A., Mattil-Sandholm, T., Haikara, A.: New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. *J. Appl. Microbiol.* 86(1), 29-35 (1999); 130:335068.
- <sup>48</sup> Danielsen, M., Wind, A.: Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. *Int. J. Food Microbiol.* 82(1), 1-11 (2003).
- <sup>49</sup> Messens, W., De Vuyst, L.: Inhibitory substances produced by *Lactobacilli* isolated from sourdoughs – a review. *Int. J. Food Microbiol.* 72(1-2), 31-43 (2002).
- <sup>50</sup> Lash, B. W., Gourama, H., Mysliwiec, T. H.: Microscale assay for screening inhibitory activity of *Lactobacillus*. *BioTechniques* 33(6), 1224, 1226, 1228 (2002).
- <sup>51</sup> Thomas, L. V., Davies, E. A., Delves-Broughton, J., Wimpenny, J. W. T.: Synergist effect of sucrose fatty acid esters on nisin inhibition of Gram-positive bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 85(6), 1013-10022 (1998).
- <sup>52</sup> Zhu, Xiaoqiao; Liu, Tongxun: Nisin as a natural preservative. *Yhipin Yu Fajiao Gongye* 27(4), 66-69 (2001); *Chem. Abstr.* 136, 133719.

- 
- <sup>53</sup> Periago, P. M., Palop, A., Fernadnez, P. S.: Combined effect of nisin, carvacrol and thymol on the viability of *Bacillus cereus* heat-treated vegetive cells. *Food Sci. Technol. Int.* 7(6), 487-492 (2001).
- <sup>54</sup> Sakai, Shigeo: Development of natural antimicrobial substances (2). *Gekkan Fudo Kemikaru* 16(5), 70-74 (2000); Chem. Abstr. 133, 3808.
- <sup>55</sup> Kato, T., Matsuda, T., Yoneyama, Y., Kato, H., Nakamura, R.: Isolation of *Enterococcus faecium* with antibacterial activity and characterisation of its bacteriocin. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* 57(4), 551-556 (1993).
- <sup>56</sup> Ohmomo, S., Murata, S., Katayama, N., Nitisinprasart, N., Kobayashi, M., Nakajima, T., Yajima, M., Nakanishi, K.: Purification and some characteristics of enterocin ON-157, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* NIAI 157. *J. Appl. Microbiol.* 88(1), 81-89 (2000).
- <sup>57</sup> Herranz, C., Casaus, P., Mukhopadhyay, S., Martinez, J. M., Rodriguez, J. M., Nes, I. F., Hernandez, P. E., Cintas, L. M.: *Enterococcus faecium* P21: a strain occurring naturally in dry-fermented sausages producing the class II bacteriocins enterocin A and enterocin B. *Food Microbiol.* 18(2), 115-131 (2001).
- <sup>58</sup> Jennes, W., Dicks, L. M. T., Verwoerd, D. J.: Enterocin 012, a bacteriocin produced by *Enterococcus gallinarum* isolated from the intestinal tract of ostrich. *J. Appl. Microbiol.* 88(2), 349-357 (2000).
- <sup>59</sup> Zamfir, M., Callewaert, R., Cornea, P. C., Savu, L., Vatafu, I., De Vuyst, L.: Purification and characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophyllus* IBB 801. *J. Appl. Microbiol.* 87(6), 923-931 (1999).
- <sup>60</sup> Contreras, B. G. L., De Vuyst, L., Devreese, B., Busanyova, K., Raymaeckers, J., Bosman, F., Sablon, E., Vandamme, E. J.: Isolation, purification, and amino acid sequence of lactobin A, one of the two bacteriocins produced by *Lactobacillus amylovorus* LMG P-13139. *Appl. Environ. Microbiol.* 63(1), 13-20 (1997).
- <sup>61</sup> Cuzzo, S. A., Castellano, P., Sesma, F. J. M., Vignolo, G. M., Graciela, M., Raya, R. R.: Differential roles on the two-component peptides of lactocin 705 in antimicrobial activity. *Curr. Microbiol.* 46(3), 180-183 (2003); Chem. Abstr. 138, 398593.
- <sup>62</sup> Zhu, W. M., Liu, W., Wu, D. Q.: Isolation and characterisation of a new bacteriocin from *Lactobacillus gasserii* KT7. *J. Appl. Microbiol.* 88(5), 877-886 (2000).
- <sup>63</sup> Bonade, A., Murelli, F., Vescovo, M., Scolari, G.: Partial characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus*. *Lett. Appl. Microbiol.* 33(2), 153-158 (2001).
- <sup>64</sup> Dave, R. I., Shah, N. P.: Antimicrobial substance produced by *Lactobacillus helveticus* 2700. *Australian J. Dairy Technol.* 54(1), 9-13 (1999).
- <sup>65</sup> Atanassova, M., Ivanova, I., Haertle, T.: Study of the growth of some yeast strains related to the spectrum of activity of lactocin M3 – a proteinaceous antimicrobial produced by Bulgarian yellow cheese starter *Lactobacillus paracasei* M3. *Biotechnology Biotechnol. Equipment* 16(2), 113-120 (2002).
- <sup>66</sup> Paynter, M. J. B., Brown, K. A., Hayasaka, S. L.: Factors affecting the production of an antimicrobial agent, plantaricin F, by *Lactobacillus plantarum* BF001. *Lett. Appl. Microbiol.* 24(3), 159-165 (1997).

- 
- <sup>67</sup> Ehrmann, M. A., Heidenreich, B., Remiger, A., Klostermaier, P., Vogel, R. F.: Identification and characterization of Plantaricin 1.25, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* TMW 1.25. *Adv. Food Sci.* 18(3/4), 96-102 (1996).
- <sup>68</sup> Suskovic, J., Kos, B., Matosic, S., Maric, V.: Probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* L4. *Food Technol. Biotechnol.* 35(2), 107-112 (1997).
- <sup>69</sup> Suma, K., Misra, M. C., Varadaraj, M. C.: Plantaricin LP84, a broad spectrum heat-stable bacteriocin of *Lactobacillus plantarum* NCIM 2084 produced in a simple glucose broth medium. *Int. J. Food. Microbiol.* 40(1/2), 17-25 (1998).
- <sup>70</sup> Carrasco, M. S., Garcia, C. C., Scarinci, H. E., Simonetta, A. C.: Characterization of bacteriocin-like substances produced by *Lactobacillus plantarum* strains. *Microbiol., Aliments, Nutr.* 17(1), 49-57 (1999).
- <sup>71</sup> Todorov, S., Onno, B., Sorokine, O., Chobert, J. M., Ivanova, I., Dousset X.: Detection and characterization of a novel antibacterial substance produced by *Lactobacillus plantarum* ST31 isolated from sourdough. *Int. J. Food. Microbiol.* 48(3), 167-177 (1999).
- <sup>72</sup> Messi, P., Bondi, M., Sabia, C., Battini, R., Manicardi, G.: Detection and preliminary characterization of a bacteriocin (plantaricin 35d) produced by a *Lactobacillus plantarum* strain. *Int. J. Food Microbiol.* 64(1/2), 193-198 (2001).
- <sup>73</sup> Imam, M. M.: Characterization of a bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* C10. *Al-Azhar J. Microbiol.* 45, 112-124 (1999); *Chem. Abstr.* 134, 234068.
- <sup>74</sup> Holo, H., Jeknic, Z., Daeschel, M., Stevanovic, S., Nes, I. F.: Plantaricin W from *Lactobacillus plantarum* to a new family of two-peptides lantibiotics. *Microbiology* 147(3), 643-651 (2001).
- <sup>75</sup> Harley, W. M.: Growth of *Lactobacillus plantarum* BF001 and production of plantaricin F, an antimicrobial substance, in batch and continuous culture. *Diss. Abstr. Int. B* 2000, 61(6), 2885.
- <sup>76</sup> Van Reenen, C. A., Chikindas, M. L., Van Zyl, W. H., Dicks, L. M. T.: Characterization and heterologous expression of a class IIa bacteriocin, plantaricin 423 from *Lactobacillus plantarum* 423, in *Saccharomyces plantarum* 423. *Int. J. Food Microbiol.* 81(1), 29-40 (2002).
- <sup>77</sup> Cordeiro, J., da Silva, T. B., Delgado, A., Pereira, S., Brito, D., Peres, C.: Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional lactic acid fermentation of Portuguese table olives. *Acta Hort.* 586(Vol. 2, Proc. 4th Int. Symp. On Olive Growing, 2000, Vol. 2), 633-636; *Chem. Abstr.* 138, 350982.
- <sup>78</sup> Elsser, D., Petersen, L. W., Hansen, C. B., Schwarz, G.: Microorganism and antimicrobial agent for control of *Listeria* and other organisms in food. *PCT Int. Appl. WO* 2003001930 (2003); *Chem. Abstr.* 138, 54980.
- <sup>79</sup> Muller, D. M., Carrasco, M. S., Simonetta, A., Tonarelli, G. G.: Bioactive peptides produced by a strain *Lactobacillus plantarum*: Characterization and partial purification. *Peptides: The Wave of the Future, Proceedings of the Second International and the seventeenth American Peptide Symposium, San Diego, CA, United States, June 9-14, 2001 (772-773)*; *Chem. Abstr.* 138, 381930.
- <sup>80</sup> Ogunbanwo, S. T., Sanni, A. I., Onilude, A. A.: Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *Afr. J. Biotechnol.* –

- 
- ONLINE, 2(8), 219-227 (2003); <http://www.academicjournals.org/AJB/PDF/Pdf2003/AugustPdfs2003>.
- <sup>81</sup> Talarico, T. L., Dobrogosz, W. J.: Chemical characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33(5), 674-679 (1989).
- <sup>82</sup> Ganzle, M. G., Holtzel, A., Walter, J., Jung, G., Hammes, W. P.: Characterization of reuterocyclin produced by *Lactobacillus reuteri* LTH2584. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(10), 4325-4333 (2000).
- <sup>83</sup> Kuleasan, H., Cakmakci, M. L.: Effect of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* on the surface of sausages to inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. *Nahrung* 46(6), 408-410 (2002).
- <sup>84</sup> Sung, H.-W., Chen, Ch.-N., Chang, Y., Liang, H.-F.: Biocompatibility study of biological tissues fixed by a natural compound (reuterin) produced by *Lactobacillus reuteri*. *Biomaterials* 23(15), 3203-3214 (2002).
- <sup>85</sup> Sung, H.-W., Cheng, Ch.-N., Liang, H.-F., Hong, M.-H.: A natural compound (reuterin) produced by *Lactobacillus reuteri* for biological-tissue fixation. *Biomaterials* 24(8), 1335-1347 (2003). *Microbiol.* 148(4), 973-984 (2002).
- <sup>86</sup> Flynn, S., van Sinderen, D., Thornton, G. M., Holo, H., Nes, In. F., Collins, J. K.: Characterization of the genetic locus responsible for the production of ABP-118, a novel bacteriocin produced by the probiotic bacterium *Lactobacillus salivarius* subsp. *salivarius* UCC118
- <sup>87</sup> Corsetti, A., Gobbetti, M., Smacchi, E.: Antibacterial activity of sourdough lactic acid bacteria: Isolation of a bacteriocin-like inhibitory substance from *Lactobacillus sanfrancisco* C57. *Food Microbiol.* 13(6), 447-456 (1996).
- <sup>88</sup> Osmanagaoglu, O., Gunduz, U., Beyatli, Y., Cokmus, C.: Purification and characterization of pediocin F, a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* F. *Turk. J. Biol.* 22(2), 217-228 (1998); *Chem. Abstr.* 130, 107322.
- <sup>89</sup> Yin, Y.-J., Wu, Ch.-W., Jiang, S.-T.: Bacteriocins from *Pediococcus pentosaceus* L and S from Pork Meat. *J. Agric. Food Chem.* 51(4), 1071-1076 (2003).
- <sup>90</sup> Fairhead, H. M.: Small acid-soluble spore protein and uses in inhibiting bacterial cell growth. *PCT Int. Appl. WO 20022040678* (2002); *Chem. Abstr.* 136, 398461.
- <sup>91</sup> Lowenthal, J. W., Lambrecht, B., van den Berb, T. P., Andrew, M. E., Strom, A. D. G., Bean, A. G. D.: Avian cytokines – the natural approach to therapeutics. *Dev. Comp. Immunol.* 24(2-3), 355-365 (2000).
- <sup>92</sup> Muller, F.-M., C., Lyman, C. A., Walsh, T. J.: Antimicrobial peptides as potential new antifungals. *Mycoses*, 42(Suppl. 2), 77-82, (1999).
- <sup>93</sup> Pellegrini, A.: Antimicrobial peptides from food proteins. *Curr. Pharm. Design* 9(16), 1225-1238 (2003).
- <sup>94</sup> Makarov, N. V., Novikov, V. I.: Protein hydrolyzate containing biologically active substances with application in food, feed, pharmaceuticals, fertilizers, and cosmetics. *Russ. RU 2221456* (2004); *Chem. Abstr.* 141, 22606.
- <sup>95</sup> Mak, P., Wojcik, K., Silberring, J., Dubin, A.: Antimicrobial peptides derived from heme-containing proteins: hemocidins. *Antoine van Leeuwenhoek* 77(3), 197-207 (2000); *Chem. Abstr.* 133, 278568.

- 
- <sup>96</sup> Stojiljkovic, I., Evavold, B. D., Kumar, V.: Antimicrobial properties of pyrphyrins. *Expert Opin. Investigat. Drugs* 10(2), 309-320 (2001).
- <sup>97</sup> Pakkanen, R., Aalto, J.: Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. *Int. Dairy J.* 7(5), 285-297 (1997).
- <sup>98</sup> Seyfert, H.-M.: Lactoferrin and Lysozyme – two mammalian antibiotics. *Arch. Tierz.* 42(Sonderheft), 22-27 (1997).
- <sup>99</sup> Naidu, A. S., Nimmagudda, R.: Activated lactoferrin. Part 1: A novel antimicrobial formulation. *Agro Food Industry Hi-Tech* 14(2), 47-50 (2003); Chem. Abstr. 139, 97840.
- <sup>100</sup> Naidu, A. S., Tulpinski, J., Gustilo, K., Nimmagudda, R., Morgan J. B.: Activated lactoferrin. Part 2: natural antimicrobial for food safety. *Agro Food Industry Hi-Tech* 14(3), 27-31 (2003); Chem. Abstr. 139, 380178.
- <sup>101</sup> Naidu, A. S., Bidlack, W. R.: Milk lactoferrin – natural microbial blocking agent (MBA) for food safety. *Environ. Nutr. Interact.* 2(1-2), 35-50 (1998).
- <sup>102</sup> Naidu, A. S.: Activated lactoferrin – a new approach to meat safety. *Food Technol. (Chicago)* 56(3), 40-45 (2002).
- <sup>103</sup> Caccavo, D., Pellegrino, N. M., Altamura, M., Rigon, A., Amati, L., Amoroso, A., Jirillo, E.: Antimicrobial and immunoregulatory functions of lactoferrin and its potential therapeutic application. *J. Endotoxin Res.* 8(6), 403-417 (2002).
- <sup>104</sup> Weinberg, E. D.: The therapeutic potential of lactoferrin. *Expert Opin. Investig. Drugs.* 12(5), 841-851 (2003).
- <sup>105</sup> Tranter, H. S.: Lysozyme, ovotransferin and avidin. *Nat. Antimicrob. Syst. Food Preserv.* 65-97 (Dillon, V. M., Board, R. B., eds), CAB International: Wallingford 1994; Chem. Abstr. 124, 143800.
- <sup>106</sup> Kijowski, J., Lesnierowski, G.: Separation, polymer formation and antibacterial activity of lysozyme. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 8(3), 3-16 (1999).
- <sup>107</sup> During, K., Porsch, P., Mahn, A., Brinkmann, O., Gieffers, W.: The non-enzymic microbicidal activity of lysozymes. *FEBS Lett.* 449(2-3), 93-100 (1999).
- <sup>108</sup> Pogue, G., Velichko, S.: Production of bovine lysozyme by plant viral vectors and its application as antimicrobial agent. *PCT Int. Appl. WO 20022033041* (2002); Chem. Abstr. 136, 337036.
- <sup>109</sup> Bostwick, E. F., Steijns, J., Braun, S.: Lactoglobulins. *Natural Food Antimicrobial Systems*, 133-158, (Naidu, A. S., ed.), CRC Press LLC, Boca Raton 2000.
- <sup>110</sup> Broekaert, W. F., Cammue, B. P. A., De Bolle, M. F. C., Thevissen, K., De Samblanx, T. W., Osborn, R. W.: Antimicrobial peptides from plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 16(3), 297-323 (1997).
- <sup>111</sup> Zhang, Y., Levis, K.: Fabatins: new antimicrobial plant peptides. *FEMS Microbiol. Lett.* 149(1), 59-64 (1997).
- <sup>112</sup> Fik, E., Godzdzicka-Jozefiak, A., Haertle, T., Mirska, I., Kedzia, W.: New plant glycoprotein against methicilin resistant staphylococci and enterococci. *Acta Microbiol. Pol.* 46(3), 325-327 (1997).
- <sup>113</sup> Erickson, L., Yu, W.-L., Zhang, J., de Lange, C. F. M., McBride, B., Du, S.: The production and delivery of therapeutic peptides in plants. *Molecular Farming of Plants and*

- 
- Animals for Human and Veterinary Medicine, 197-222 (Erickson, L., ed.), Kluwer Academic Publ., Dordrecht 2002; Chem. Abstr. 139, 312050.
- <sup>114</sup> Cowan, M. M.: Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 1(4), 564-582 (1999).
- <sup>115</sup> Sakai, S.: Development of natural antimicrobial substances. 1. *Gekkan Fudo Kemikaru* 16(4), 75-81 (2000); Chem. Abstr. 132, 292845.
- <sup>116</sup> Srivastava, A., Shukla, Y. N., Kumar, S.: Recent development in plant-derived antimicrobial constituents: A review. *J. Med. Arom. Plant Sci.* 22(2-3), 349-405 (2000).
- <sup>117</sup> Ahmad, I., Mehmood, Z., Mohammad, F., Ahmad, S.: Antimicrobial potency and synergic activity of five traditionally used indian medicinal plants. *J. Med. Arom. Plant Sci.* 22/4A-23/1A, 173-176 (2001).
- <sup>118</sup> Sandhu, M. K., Arora, S.: Plants as a source of antimicrobial agents: A review. *Proc. Nat. Acad. Sci. India, Sect. B: Biol. Sci.* 70(3-4), 197-210 (2000); Chem. Abstr. 137, 244630.
- <sup>119</sup> Ueda, Y., Sakai, H.: Antimicrobial agents extracted from plants. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2003113013* (2003); Chem. Abstr. 138, 299219.
- <sup>120</sup> Shanbrom, E.: Natural color concentrates and antimicrobial nutraceutical from plants. *PCT Int. Appl. WO 9913889* (1999); Chem. Abstr. 130, 242301.
- <sup>121</sup> Andlauer, W., Fuerst, P.: Nutritional relevance of secondary plant product. *Getreide, Mehl Brot* 52(3), 178-181 (1998).
- <sup>122</sup> Naidu, A. S.: Phytoantimicrobial (PAM) agents as multifunctional food additives. *Phytochem. Bioact. Agents*, 105-129 (Bidlack, W. R., ed.), Technomic Publ. Co., Lancaster 2000; Chem. Abstr. 133, 321076.
- <sup>123</sup> Angerhofer, C. K., Guinaudeau, H., Wongpanich, V., Pezzuto, J. M., Cordell, G. A.: Antiplasmodial and cytotoxic activity of natural bisbenzylisoquinoline alkaloids. *J. Nat. Prod.* 62(1), 59-66 (1999).
- <sup>124</sup> Sakajeva, V. I., Sakajan, E. I., Lesijovskaja, E. E., Blinova, K. f.: Chimičeskij sostav i farmakologičeskije svojstva korněj *Sophora flavescens*. *Rastit. Resursy* 37(1), 111-123 (2001).
- <sup>125</sup> Stermitz, F. R., Lorenz, P., Tawara, J. N., Lauren, A., Lewis, K.: Synergy in a medicinal plant: antimicrobial action of berberine potentiated by 5'-methoxyhydrnocarpin, a multidrug pump inhibitor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97(4), 14433-1437 (2000).
- <sup>126</sup> Musumeci, R., Speciale, A., Constanzo, R., Annino, A., Ragusa, S., Rapisarda, A., Pappalardo, M. A., Iauk, L.: *Berberis aetnensis* C. Presl extracts: antimicrobial properties and interaction with ciprofloxacin. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 22(1), 48-53 (2003).
- <sup>127</sup> Kamel, Ch.: A novel look at a classic approach of plant extracts. *Feed Mix* 8(3), 16-18 (2000).
- <sup>128</sup> Turner, J. L.: Effects of natural alternatives to conventional antimicrobials on growth performance and immune function of nursery pigs during an acute enteric disease challenge with *Salmonella typhimurium*. *Diss. Abstr. Int. B* 2002, 62(7), 3001 (2001).
- <sup>129</sup> Frame, A.: Antibacterial plant composition. *PCT Int. Appl. WO 2003059371* (2003); Chem. Abstr. 139, 122783.

- 
- <sup>130</sup> Manganaro, M.: D-carnitine or an acyl derivatives for the treatment of protozoal disease. Brit. UK Pat. Appl. GB 2230953 (1990); Chem. Abstr. 115, 22209.
- <sup>131</sup> Tsunemitsu, A., Suido, H.: Antimicrobial compositions containing arginine, bactericides and surfactants. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 08151324 (1996); Chem. Abstr. 125, 150820.
- <sup>132</sup> Tsunemitsu, A., Suido, H.: Antimicrobial compositions containing lysine, bactericides and surfactants. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 08151325 (1996); Chem. Abstr. 125, 150821.
- <sup>133</sup> Chen, X.: Antimicrobial effects of D-glucosamine hydrochloride. *Jingxi Huagong* 18(2), 78-79, 93 (2001); Chem. Abstr. 135, 106512.
- <sup>134</sup> Nishihara, R., Okamoto, K., Miyoshi, S.: Feeds containing mannose absorption-inhibiting sugars for the prevention of infections. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2001213781 (2001); Chem. Abstr. 135, 121658
- <sup>135</sup> Mimaki, Y.: Antimicrobial agents and fibers containing *Ganoderma lucidum*. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 11060423 (1999); Chem. Abstr. 130, 238755.
- <sup>136</sup> Yun, Ch.-H., Estrada, A., Van Kessel, A., Gajadhar, A. A., Redmond, M. J., Laarveld, B.: b-(1 @ 3, 1 @ 4) Oat glucan enhances reistence to *Eimeria vermiformis* infection in immunosuppressed mice. *Int. J. Parasitol.* 27(3), 329-337 (1997).
- <sup>137</sup> Singla, A. K., Chawla, M.: Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects – an update. *J. Pharm. Pharmacol.* 53(8), 1047-1067 (2001).
- <sup>138</sup> Roller, S., Covill, N.: The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *Int. J. Food Microbiol.* 47(1-2), 67-77 (1999)
- <sup>139</sup> Roller, S.: The antimicrobial action of chitosan: laboratory curiosity of novel food preservative? *Advances in Chitin Science* 6, 43-48 (2002), Universitaet Potsdam, Universitaetsbibliothek; Chem. Abstr. 139, 380154.
- <sup>140</sup> Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G., Steurbaut, W.: Chitosan as Antimicrobial Agent: Application and Mode of Action. *Biomacromolecules* 4(6), 1457-1465 (2003).
- <sup>141</sup> Cuero, R. G.: Antimicrobial action of exogenous chitosan. EX, 87(Chitin and Chitinases), 315-333, Birkhauser Verlag 1999; Chem. Abstr. 132, 61305.
- <sup>142</sup> Chen, Y.-M., Chung, Y.-C., Wang, L.-W., Chen, K.-T., Li, S.-Y.: Antibacterial properties of chitosan in waterborne pathogen. *J. Environ. Sci Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* A37(7), 1379-1390 (2002); Chem. Abstr. 137, 374857.
- <sup>143</sup> Sagoo, S. K., Board, R., Roller, S.: Chitosan potentiate the antimicrobial action of sodium benzoate on spoilage yeasts. *Lett. Appl. Microbiol.* 34(3), 168-172 (2002).
- <sup>144</sup> Takahashi, T.: Antimicrobial agents containing Eucalyptus leaf extracts and chitosan. PCT Int. Appl. WO 9945784 (1999); Chem. Abstr. 131, 224863.
- <sup>145</sup> Kurita, K., Kojima, T., Nishiyama, Y., Shimojoh, M.: Synthesis and Some Properties of Non-natural Amino Polysaccharides: Branched Chitin and Chitosan. *Macromolecules* 33(13), 4711-4716 (2000); 133:193375.



- 
- <sup>146</sup> Zhang, W., Zhang, Z., Ma, W., Yuan, Y., Zhang, T., Zhang, X.: Natural antiseptic – water soluble chitosan derivative. *Shipin Gongye Keji* 1998(6), 19-20; Chem. Abstr. 130, 342846.
- <sup>147</sup> Savard, T., Beaulieu, C., Boucher, I., Champagne, C. P.: Antimicrobial action of hydrolyzed chitosan against spoilage yeasts and lactic acid bacteria of fermented vegetables. *J. Food Protect.* 65(5), 828-833 (2002).
- <sup>148</sup> Savard, T., Boucher, I., Champagne C. P.: Hydrolyzed chitosan as antimicrobial compound for fruit and vegetable preservation. *PCT Int. Appl. WO* 2003070008 (2003); Chem. Abstr. 139, 196626.
- <sup>149</sup> McGaw, L. J., Jager, A. K., van Staden, J.: Antibacterial effects of fatty acids and related compounds from plants. *South Afr. J. Bot.* 68(4), 417-423 (2002); Chem. Abstr. 139, 130573.
- <sup>150</sup> Isaacs, C. E.: Method for treating foodstuffs to reduce or prevent microbial activity. U.S. US 6033705 (2000); Chem. Abstr. 132, 179840.
- <sup>151</sup> Thormar, H., Bergsson, G.: Antimicrobial effects of lipids. *Rec. Development Antiviral Res.* 1, 157-173 (2001); Chem. Abstr. 138, 86186.
- <sup>152</sup> Molly, K., Bruggeman, G.: Antimicrobial composition containing medium-chain fatty acids and animal growth promoter(s) for animal feeding. *Eur. Pat. Appl. EP* 1314358 (2003); Chem. Abstr. 138, 401042.
- <sup>153</sup> Teter, B. B.: Use of oils having a high lauric acid content in feed. *PCT Int. Appl. WO* 9966804 (1999); Chem. Abstr. 132, 35055.
- <sup>154</sup> Padgett, T., Han, I. Y., Dawson, P. L.: Effect of lauric acid addition on the antimicrobial efficacy and water permeability of corn zein films containing nisin. *J. Food Process. Preserv.* 24(5), 423-432 (2000).
- <sup>155</sup> Puupponen-Pimia, R., Nohynek, L., Meier, C., Kahkonen, M., Heinone, M., Hopia, A., Oksman-Caldentey, K.-M.: Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *J. Appl. Microbiol.* 90(4), 494-507 (2001).
- <sup>156</sup> Miyamoto, Y., Noda, H.: Antimicrobial agents containing phenolic and basic compounds. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 2000169307; Chem. Abstr. 133, 27659.
- <sup>157</sup> Wen, A., Delaquis, P., Stanich, K., Toivonen, P.: Antilisterial activity of selected phenolic acids. *Food Microbiol.* 20(3), 305-311 (2003).
- <sup>158</sup> Ravn, H., Andary, C., Kovacs, G., Moelgaard, P.: Caffeic acid esters as in vitro inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi. *Biochem. Syst. Ecol.* 17(3), 175-184 (1989).
- <sup>159</sup> Khwaja, T. A., Friedman, E. P.: Pharmaceutical grade Echinacea. *PCT Int. Appl. WO*9921007 (1999); Chem. Abstr. 130, 316594.
- <sup>160</sup> Ou, S., Kwok, K.-C.: Ferulic acid: Pharmaceutical functions, preparation and application in foods. *J. Sci. Food Agric.* 84(11), 12161-1269 (2004).
- <sup>161</sup> Taniguchi, H., Nomura, E., Hosoda, A., Nakauchi, M., Ikemoto, S., Yamanishi, H., Ozaki, Y., Chikuno, T., Chikuno, T., Maruta, Y.: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 2002161004 (2002); Chem. Abstr. 132, 120025.

- 
- <sup>162</sup> Ishihara, M., Hasegawa, M., Taira, T., Toyama, S.: Isolation and antimicrobial activity of feruloyl oligosaccharide ester from pineapple stem residues. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 47(1), 23-29 (2000); Chem. Abstr. 132, 120025.
- <sup>163</sup> Cocchietto, M., Skert, N., Nimis, P. L., Sava, G.: A review on usnic acid, an interesting natural compound. *Naturwissenschaften* 89(4), 137-146 (2002).
- <sup>164</sup> Sakagami, H., Ochiai, K., Sato, K., Chiang, G., Kang, S.: New use of lignins from Pinus plants as antitumor and antimicrobial agents and health foods. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2003040792* (2003); Chem. Abstr. 138, 131179.
- <sup>165</sup> Xu, H.-X., Lee, S. F.: Activity of plant flavonoids against antibiotic-resistant bacteria. *Phytother. Res.* 15(1), 39-43 (2001).
- <sup>166</sup> Rauha, J.-P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kahkonen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H., Vuorela, P.: *Int. J. Food Microbiol.* 56(1), 3-12 (2000).
- <sup>167</sup> Rym, K. H., Eo, S. K., Kim, Y. S., Lee, C. K., Han, S.: Antimicrobial activity and acute toxicity to natural rutin. *Saengyak Hakhoechi* 27(4), 309-315 (1996); Chem. Abstr. 126, 235809.
- <sup>168</sup> Arima, H., Danno, G.-I.: Isolation of antimicrobial compounds from guava (*Psidium guajava* L.) and their structural elucidation. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* 66(8), 1727-1730 (2002); Chem. Abstr. 137, 366398.
- <sup>169</sup> De Castro, S. L.: Propolis: Biological and pharmacological activities. Therapeutic uses of this bee-product. *Ann. Rev. Biomed. Sci.* 3, 49-83 (2001); 138:242953
- <sup>170</sup> Koo, H., Rosalen, P. L., Cury, J. A., Park, Y. K., Bowen, W. H.: Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrobiol. Agents Chemother.* 46(5), 1302-1309 (2002).
- <sup>171</sup> Popova, M., Bankova, V., Butovska D., Petkov, V., Damyanova, B., Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Bogdanov, S.: Poplar type propolis and analysis of its biologically active components. *Mitibachi Kagaku* 24(2), 61-66 (2003); Chem. Abstr. 139, 386517.
- <sup>172</sup> Kubo, Y.: Antimicrobial activity in natural resources. I. Antifungal and fungicidal activities of catechin and crude drugs against *Trichophyton*. *Toyama-ken Yakuji Kenkyusho Nenpo* 1991(19), 82-7; Chem. Abstr. 118, 187664.
- <sup>173</sup> Bais, H. P., Walker, T. S., Stermitz, F. R., Hufbauer, R. A., Vivanco, J. M.: Enantiomeric-dependent phytotoxic and antimicrobial activity of (±)-catechin. A rhizosecreted racemic mixture from spotted knapweed. *Plant Physiol.* 128(4), 1173-1179 (2002).
- <sup>174</sup> Lee, G.-H., Shim, Ch.-J., Chang, Y.-I., Choi, S.-H., Oh, H.-R., Oh, M.-J.: Antimicrobial activities of (-)-epicatechin from *Ulmus davidiana* var. *japonica* cortex. *J. Food Sci. Nutr.* 6(4), 230-234 (2001).
- <sup>175</sup> Walker, E. B., Mickelsen, R. A., Jr., Mickelsen, J. N.: Method of treating or preventing nonviral microbial infection with proanthocyanidin and flavonoid compounds, and isolation thereof. U.S. US 5650432 (1997); Chem. Abstr. 127, 117374.
- <sup>176</sup> Calzada, F., Cerda-Garcia-Rojas, C. M., Meckes, M., Cedillo-Rivera, R., Bye, R., Mata, R.: Geranins A and B, New Antiprotozoal A-Type Proanthocyanidins from *Geranium niveum*. *J. Nat. Prod.* 62(5), 705-709 (1999).
- <sup>177</sup> Yamaki, M., Kashihara, M., Ishiguro, K., Takagi, S.: Antimicrobial principles of *Xianhecao* (*Agrimonia pilosa*). *Planta Med.* 55(2), 169-170 (1989).

- 
- <sup>178</sup> Kasai, S., Watanabe, S., Kawabata, J., Tahara, S., Mizutani, J.: Antimicrobial catechin derivatives of *Agrimonia pilosa*. *Phytochemistry* 31(3), 787-789 (1992).
- <sup>179</sup> Dey, P. M., Harborne, J. B.: *Methods in Plant Biochemistry*, Academic Press Ltd, London New York San Francisco, 1989.
- <sup>180</sup> Blaschek, W., Ebel, S., Hackenthal, E., Holzgrabe U., Keller, K., Reichling, J., Schnez, V.: *Hagers Handbuch der Drogen und Arzneistoffe*, Hager ROM 2004, Springer, Würzburg 2005.
- <sup>181</sup> Esquenazi, D., Wigg, M. D., Miranda, M. M. F. S., Rodrigues, H. M., Tostes, J. B. F., Rozental, S., da Silva, A. J. R., Alviano, C. S.: Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolic from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fiber extract. *Res. Microbiol.* 153(10), 647-652 (2002).
- <sup>182</sup> Von Woedtke, T., Schluter, B., Pflugel, P., Lindequist, U., Julich, W.-D.: Aspects of the antimicrobial efficacy of grapefruit seed extract and its relation to preservative substances contained. *Pharmazie* 54(6), 452-456 (1999).
- <sup>183</sup> Palma, M., Taylor, L. R., Varela, R. M., Cutler, S. J., Cutler, H. G.: Fractional Extraction of Compounds from Grape Seeds by Supercritical Fluid Extraction and Analysis for Antimicrobial and Agrochemical Activities. *J. Agric. Food Chem.* 47(12), 5044-5048 (1999).
- <sup>184</sup> Chung, K.-T., Cheng, I., Johnson, M. G.: Are tannins a double-edged sword in biology and health? *Trends Food Sci. Technol.* 9(4), 168-175 (1998).
- <sup>185</sup> Scalbert, A., Mila, I., Expert, D., Marmolle, F., Albrecht, A.-M., Hurrell, R., Huneau, J.-F., Tome, D.: Polyphenols, metal ion complexation and biological consequences. *Basic Life Sciences*, 66(Plant Polyphenols 2), 545-554, Kluwer Academic/Plenum Publ., 1999; *Chem. Abstr.* 134, 115098.
- <sup>186</sup> Kiderlen, A. F., Kayser, O., Ferreira, D., Kolodziej, H.: Tannins and related compounds: killing of amastigotes of *Leishmania donovani* and release of nitric oxide and tumor necrosis factor- $\alpha$  in macrophages in vitro. *Z. Naturforsch., C: J. Biosci.*, 56(5/6), 444-454 (2001).
- <sup>187</sup> Kabuki, T., Nakajima, H., Arai, M., Ueda, S., Kuwabara, Y., Dosako, S.: Characterization of novel antimicrobial compounds from mango (*Mangifera indica* L.) kernel seeds. *Food Chem.* 71(1), 61-66 (2000).
- <sup>188</sup> Kishigami, K.: Utilization of polyphenols from lettuce as antimicrobial agent. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 10194907* (1998); *Chem. Abstr.* 129, 185455.
- <sup>189</sup> Bourne, K. Z., Bourne, N., Reising, S. F., Stanberry, L. R.: Plant products as topical microbicide candidates: assessment of in vitro and in vivo activity against herpes simplex virus type 2. *Antiviral Res.* 42(3), 219-226 (1999).
- <sup>190</sup> Chauhan, U. K., Soni, P., Shrivastava, R., Mathur, K. C., Khadikar, P. V.: Antimicrobial activities of the rhizome of *Curcuma longa* Linn. *Oxidation Communications* 26(2), 266-270 (2003); *Chem. Abstr.* 139, 242827.
- <sup>191</sup> Lee, S.-E., Campbell, B. C., Molyneux, R. J., Hasegawa, S., Lee, H.-S.: Inhibitory Effects of naturally occurring compounds on aflatoxin B1 biotransformation. *J. Agric. Food Chem.* 49(11), 5171-5177 (2001).

- 
- <sup>192</sup> Siddiqui, R. R., Ahmad, H., Sultan S., Ehteshamuddin, A. F. M., Shireen, S.: Antimicrobial activity of essential oils. Part II. Pak. J. Sci. Ind. Res. 39(1-4), 43-47 (1996); Chem. Abstr. 127, 343893.
- <sup>193</sup> Baratta, M. T., Dorman, H. J. D., Deans, S. G., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Ruberto, G.: Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. Flavour Fragrance J. 13(4), 235-244 (1998).
- <sup>194</sup> Hulin, V., Mathot, A.-G., Mafart, P., Dufosse, L.: Antimicrobial properties of essential oils and flavor compounds. Sci. Aliments 18(6), 563-582 (1999).
- <sup>195</sup> Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V.: Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. J. Appl. Microbiol. 86(6), 985-990 (1999).
- <sup>196</sup> Kalemba, D.: Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Postepy Mikrobiol. 38(2), 185-203 (1999).
- <sup>197</sup> Nakatsu, T., Lupo, A. T., Jr., Chinn, J. W., Jr., Kang, R. K. L.: Biological activity of essential oils and their constituents. Stud. Nat. Prod. Chem. 21(Bioactive Natural Products (Part B)), 571-631, Elsevier 2000; Chem. Abstr. 133, 139963.
- <sup>198</sup> Dorman, H. J. D., Deans, S. G.: Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. 88(2), 308-316 (2000).
- <sup>199</sup> Elgayyar, M., Draughon, F. A., Golden, D. A., Mount, J. R.: Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. J. Food Protect. 64(7), 1019-1024 (2001).
- <sup>200</sup> Kalemba, D., Kunicka, A.: Antimicrobial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med. Chem. 10(10), 813-829 (2003).
- <sup>201</sup> Hifnawy, M. S., Rashwan, O. A., Rabeh, M. A.: Comparative chemical and biological investigations of certain essential oils belonging to families Asteraceae, Lamiaceae and Graminae. Bull. Fac. Pharm. (Cairo University) 39(2), 35-53 (2001); Chem. Abstr. 138, 316185.
- <sup>202</sup> ---: Antimicrobial and antioxidant properties of spices. Food Sci. Technol. (N.Y.) 89, 163-200 (1998).
- <sup>203</sup> Baratta, M. T., Dorman, H. J. D., Deans, S. G., Biondi, D. M., Ruberto, G.: Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. J. Essent. Oil Res. 10(6), 618-627 (1998).
- <sup>204</sup> Death, S. S., Death, J.: Antimicrobial compositions for disinfecting surfaces formulated with essential oils. PCT Int. Appl. WO 2001084936 (2001); Chem. Abstr. 135, 354167.
- <sup>205</sup> Wilson, C. L., El, G. A., Wisniewski, M. E.: Natural, antibacterial composition for produce. PCT Int. Appl. WO 2003009694 (2002); Chem. Abstr. 138, 136169.
- <sup>206</sup> Schleicher, W., Salamon, E.: The use of combinations of active agents consisting of antimicrobially active substances and plant extracts containing terpenes in veterinary medicine. PCT Int. Appl. WO 9938521 (1999); Chem. Abstr. 131, 134658.
- <sup>207</sup> Schuer, J. P.: Synergic antimicrobial agents containing aromatic agents and having antagonistic, regenerative and/or protagonist decontamination effect. PCT Int. Appl. WO 20020381181 (2002); Chem. Abstr. 136, 374859.

- 
- <sup>208</sup> Ninkov, D.: Antimicrobial phenolic monoterpene-amine complexes. PCT Int. Appl. WO 2003069993 (2003; Chem. Abstr. 139, 207744).
- <sup>209</sup> Nagourney, R. A.: Garlic: medicinal food or nutritious medicine? J. Med. Food. 1(1), 13-28 (1998).
- <sup>210</sup> Thomson, M., Ali, M.: Garlic (*Allium sativum*): a review of its potential use as an anticancer agent. Curr. Cancer Drug Targets 3(1), 67-81 (2003).
- <sup>211</sup> Ali, M., Thomson, M., Afzal, M.: Garlic and onions: their effect on eicosanoid metabolism and its clinical relevance. Prostagl., Leukotr., Essent. Fatty Acids 62(2), 55-73 (2000).
- <sup>212</sup> Harris, J. C., Cottrell, S. L., Plummer S., Lloyd, D.: Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). Appl. Microbiol. Biotechnol. 57(3), 282-286 (2001).
- <sup>213</sup> Plummer, N.: Antimicrobial composition from *Allium* family. PCT Int. Appl. WO 9207575 (1992)
- <sup>214</sup> Yoshida, H., Katsuzaki, H., Ohta, R., Ishikawa, K., Fukuda, H., Fujino, T., Suzuki, A.: An organosulphur compound isolated from oil-macerated garlic extract, and its antimicrobial effect. Biosci. Biotechnol. Biochem. 63(3), 588-590 (1999).
- <sup>215</sup> Ji, W.-D., Jeong, M.-S., Chung, H.-Ch., Lee, S.-J., Chung, Y.-G.: Antimicrobial activity and distilled components of garlic (*Allium sativum* L.) and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). Han'guk Nonghwa Hakhoechi 40(6), 514-518 (1997); Chem. Abstr. 128, 139892.
- <sup>216</sup> Kyung, K. H., Lee, Y. C.: Antimicrobial activities of sulfur compounds derived from S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides in *Allium* and *Brassica*. Food Rev. Int. 17(2), 183-198 (2001).
- <sup>217</sup> Mau, J.-L., Chen, Ch.-P., Hsieh, P.-Ch.: Antimicrobial effect of extracts from Chinese chive, cinnamon, and *Corni fructus*. J. Agric. Food. Chem. 49(1), 183-188 (2001).
- <sup>218</sup> Smid, E. J., Koeken, J. G. P., Gorris, L. G. M.: Fungicidal and fungistatic action of the secondary plant metabolites cinnamaldehyde and carvone. Mod. Fungic. Antifungal Compd., Int. Symp., 11th, Meeting Date 1995, 173-180 (Lyr, H., Tussell, P. E., Sisler, H. D., eds), Intercept, Andover 1996; Chem. Abstr. 126, 57185.
- <sup>219</sup> Hili, P., Evans, C. S., Veness, R. G.: Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulfoxide on the activity of cinnamon oil. Lett. Appl. Microbiol. 24(4), 269-275 (1997).
- <sup>220</sup> Deans, S.: Antimicrobial activity of eucalyptus oils. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles, 22(Eucalyptus), 291-303, Taylor and Francis Ltd., 2002; Chem. Abstr. 138, 69545.
- <sup>221</sup> Kwon, Y. S., Choi, W. G., Kim, W. J., Kim, W. K., Kim, M. J., Kang, W. H., Kim, Ch. M.: Antimicrobial constituents of *Foeniculum vulgare*. Arch. Pharmacol. Res. 25(2), 154-157 (2002); 137:106390.
- <sup>222</sup> Ruberto, G., Barrata, M. T., Deans, S. G., Dorman, H. J. D.: Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. Planta Med. 66(8), 687-693 (2000).
- <sup>223</sup> Inouye, S.: Recent progress in tea tree oil from its production to clinical application (Part 1). Aroma Res. 3(3), 222-232 (2002); Chem. Abstr. 138, 406650.

- 
- <sup>224</sup> Farag, R. S., Daw, Z. Y., Mahassen, M. A., Sidky, S. H. M.: Biochemical and biological studies on some tea trees (*Melaleuca* spp.) essential oils. *Adv. Food Sci.* 20(5/6), 153-162 (1998).
- <sup>225</sup> Trilles, B., Bouraima-Madjebi, S., Valet, G.: *Melaleuca quinquenervia* (Cavanilles) S. T. Blake, Niaouli. *Med. Aromat. Plants-Ind. Profiles*, 9(Tea Tree), 237-245, 1999; *Chem. Abstr.* 131, 92395.
- <sup>226</sup> Perry, N. B., Brennan, N. J., Van Klink, J. W., Harris, W., Douglas, M. H., McGimpsey, J. A., Smallfield, B. M., Anderson, R. E.: Essential oils from New Zealand manuka and kanuka: chemotaxonomy of *Leptospermum*. *Phytochemistry* 44(8), 1485-1494 (1997).
- <sup>227</sup> Lis-Balchin, M., Hart, S. L., Deans, S. G.: Pharmacological and antimicrobial studies on different Tea-tree oils (*Melaleuca alternifolia*, *Leptospermum scoparium* or Manuka and *Kunzea ericoides* or Kanuka), originating in Australia and New Zealand. *Phytotherapy Res.* 14(8), 623-629 (2000).
- <sup>228</sup> Lachowicz, K. J., Jones, G. P., Griggs, D. R., Bienvenu, F. E., Wan, J., Wilcock, A., Coventry M. J.: The synergic preservative effects of the essential oils of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) against acid-tolerant food microflora. *Lett. Appl. Microbiol.* 26(3), 209-214 (1998).
- <sup>229</sup> Naithani, V., Kakkar, P.: *Ocimum gratissimum*, *Ocimum canum* and *Ocimum kilimandscharicum*: A review. *J. Med. Arom. Plant Sci.* 24(2), 441-455 (2002).
- <sup>230</sup> Kunle, O., Okogun, J., Egamana, E., Emojevwe, E., Shok, M.: Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine* 10(1), 59-61 (2003).
- <sup>231</sup> Roller, S., Seedhar, P.: Carvacrol and cinnamic acid inhibit microbial growth in fresh-cut melon and kiwifruit at 4° and 8 °C. *Lett. Appl. Microbiol.* 35(5), 390-394 (2002).
- <sup>232</sup> Ultee, A., Slump, R. A., Steging, G., Smid, E. J.: Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. *J. Food Protect.* 63(5), 620-624 (2000).
- <sup>233</sup> Ultee, A., Smid, E. J.: Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *Int. J. Food Microbiol.* 64(3), 373-378 (2001).
- <sup>234</sup> Ultee, A., Kets, E. P. W., Alberda, M., Hoekstra, F. A., Smid, E. J.: Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. *Arch. Microbiol.* 174(4), 233-238 (2000).
- <sup>235</sup> Lambert, R. J. W., Skandarmis, P. N., Coote, P. J., Nychas, G.-J. E.: A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.* 91(3), 453-462 (2001).
- <sup>236</sup> Varel, V. H., Miller, D. N.: Effect of carvacrol and thymol on odor emissions from livestock wastes. *Water Sci. Technol.* 44(9), 143-148 (2001); *Chem. Abstr.* 136, 267231.
- <sup>237</sup> Varel, V. H.: Carvacrol and Thymol reduce swine waste odor and pathogens: stability of oils. *Curr. Microbiol.* 44(1), 38-43 (2002).
- <sup>238</sup> Losa, R.: A composition containing carvacrol and thymol as bactericides in animal diets. *PCT Int. Appl. WO 2000069277* (2000); *Chem. Abstr.* 133, 366449.
- <sup>239</sup> Juliano, C., Mattana, A., Usai, M.: Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus herba-barona* Loisel growing wild in Sardinia. *J. Essent. Oil Res.* 12(4), 516-522 (2000).

- 
- <sup>240</sup> Sarer, E., Pancali, S., Yildiz, S.: Chemical composition and antimicrobial properties of the essential oil of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et P. H. Davis. Ankara Univ. Eczacilik Fak. Derg. 25(1), 29-38 (1996); Chem. Abstr. 126, 334185.
- <sup>241</sup> Charai, M., Mosaddak, M., Faïd, M.: Chemical composition and antimicrobial activities of two aromatic plants: *Origanum majorana* L. and *O. compactum* Benth. J. Essent. Oil Res. 8(6), 657-664 (1996).
- <sup>242</sup> Manohar, V., Ingram, C., Gray, J., Talpur, N. A., Echard, B. W., Bagchi, D., Preuss, H. G.: Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. Mol. Cell. Biochem. 228(1-2), 111-117 (2001); 136: 244277.
- <sup>243</sup> Deans, S. G.: Antimicrobial properties of Pelargonium extracts contrasted with that of Geranium, Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles 27(Geranium and Pelargonium), 132-146, Taylor and Francis Ltd., (2002); Chem. Abstr. 139, 81980.
- <sup>244</sup> Lis-Balchin, M.: New research: possible use of various Pelargonium leaf oils and extracts as food preservatives. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles, 27(Geranium and Pelargonium), 251-261, Taylor and Francis Ltd., 2002; Chem. Abstr. 139, 148579.
- <sup>245</sup> Lis-Balchin, M., Steyrl, H., Krenn, E.: The comparative effect of novel Pelargonium essential oils and their corresponding hydrosols as antimicrobial agents in a model food system. Phytother. Res. 17(1), 60-65 (2003).
- <sup>246</sup> Tanaka, M., Watanabe, T., Sugahara, K., Harada, Y., Yoshida, S., Sugawara, F.: New antimicrobial substances against *Streptomyces scabies* from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Biosci., Biotechnol., Biochem. 61(9), 1440-1444 (1997); Chem. Abstr. 127, 316806.
- <sup>247</sup> Del Campo, J., Amiot, J.-J.: Antimicrobial effect of rosemary extracts. J. Food Prot. 63(10), 1359-1368 (2000).
- <sup>248</sup> Baricevic, D., Bartol, T.: The biological/pharmacological activity of the *Salvia* genus. Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles 14(Sage), 143-184, Harwood Academic Publ., 2000; Chem. Abstr. 135, 251170.
- <sup>249</sup> Velickovic, D. T., Ristic, M. S., Randjelovic, N. V., Smelcerovic, A. A.: Chemical composition and antimicrobial characteristic of the essential oils obtained from flower, leaf and stem of *Salvia officinalis* originatin from southeast Serbia. J. Essent. Oil Res. 14(6), 453-458 (2002).
- <sup>250</sup> Velickovic, D. T., Randjelovic, N. V., Ristic, M. S., Velickovic, A. S., Smelcerovic, A. A.: Chemical constituents and antimicrobial activity of the ethanol extracts obtained from the flower, leaf and stem of *Salvia officinalis* L. J. Serb. Chem. Soc. 68(1), 17-24 (2003); Chem. Abstr. 138, 351080.
- <sup>251</sup> Aboul-Ela, M. A., El-Lakany, A. M.: Abietane diterpens from the roots of *Salvia lanigera*. Alexandria J. Pharm. Sci. 14(1), 57-61 (2000); Chem. Abstr. 133, 147491.
- <sup>252</sup> Martins, A. P., Salgueiro, L., Goncalves, M. S., Proença da Cunha, A., Vila, R., Canigüeral, S., Mazzoni, V., Tomi, F., Casanova, J.: Essential oil composition and antimicrobial activity of three zingiberaceae from S. Tome e Principe. Planta Med. 67(6), 580-584 (2001).
- <sup>253</sup> Kitic, D., Jovanovic, D., Ristic, M., Palic, R., Stojanovic, G.: Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Calamintha nepeta* (L.) Savi ssp. *glandulosa* (Req.) P. W. Ball. From Montenegro. J. Essent. Oil Res. 14(2), 150-152 (2002).

- 
- <sup>254</sup> Kakasy, A. Z., Lemberkovicz, E., Kursinszki, L., Janicsak, G., Szoke, E.: Data to the phytochemical evaluation of Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L., Lamiaceae). *Herba Pol.* 48(3), 112-119 (2002).
- <sup>255</sup> Usai, M., Juliano, C., Pintore, G., Chessa, M.: Preliminary study of composition and antimicrobial activity of essential oil of *Glechoma sardoa* beg. *Acta Hort.* 597(Proceedings of the International Conference on Medicinal and Aromatic Plants, Part II, 2001), 125-128 (2003); *Chem. Abstr.* 139, 162044.
- <sup>256</sup> Oumzil, H., Ghouлами, S., Rhajaoui, M., Ildrissi, A., Fkih-Tetouani, S., Faid, M., Benjouad, A.: Antibacterial and antifungal activity of essential oils of *Mentha suaveolens*. *Phytother. Res.* 16(8), 727-731 (2002).
- <sup>257</sup> Nostro, A., Angela Cannatelli, M., Crisafi, G., Alonzo, V.: The effect of *Nepeta cataria* extract on adherence and enzyme production of *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Antimicrob. Agents* 18(6), 583-585 (2001).
- <sup>258</sup> Schweig, T.: *Nigella sativa* seeds of current interest again. *Pharm. Ztg.* 144(33), 2582-2587 (1999).
- <sup>259</sup> Ali, B. H., Blunden, G.: Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother. Res.* 17(4), 299-305 (2003).
- <sup>260</sup> Ristic, M. D., Duletic-Lausevic, S., Knezevic-Vukcevic, J., Marin, P. D., Simic, D., Vukojevic, J., Janackovic, P., Vajs, V.: Antimicrobial activity of essential oils and ethanol extract of *Phlomis fruticosa* L. (Lamiaceae). *Phytother. Res.* 14(4), 267-271 (2000).
- <sup>261</sup> Bezic, N., Skocibusic, M., Dunkic, V.: Antimicrobial effect of *Satureja cuneifolia* Ten. Essential oil. *Acta Bot. Croat.* 58, 99-104 (1999).
- <sup>262</sup> Mae Sri Hartati, W., Wahyuono, W., Khasanah, N.: Identification of antimicrobial compound in volatile oil of leaves of *Tagetes erecta* L. (Compositae). *Maj. Farm. Indones.* 10(1), 40-47 (1999); *Chem. Abstr.* 131, 219052.
- <sup>263</sup> Tarle, D., Kosi-Culibrk, E.: *Fructus Bardanae* – Chemistry and antimicrobial effect. *Farm. Glas.* 55(2), 53-58 (1999).
- <sup>264</sup> Han, Y. S., Byoun, K. E.: Inhibitory effect of *Sancho* (*Zanthoxylum piperitum*) on the growth of food spoilage microorganisms and identification of antimicrobial compounds. *Adv. Food Sci.* 18(1/2), 7-12 (1996).
- <sup>265</sup> Kelm, M. A., Nair, M. G.: A brief summary of biologically active compounds from *Magnolia* spp. *Studies in Natural Products Chemistry*, 24(Bioactive Natural Products (Part E), 845-873, (2000); *Chem. Abstr.* 134, 263452.
- <sup>266</sup> Gerson, S., Palu, A. K., Zhou, B.-N., Su, Ch., Jensen, C. J., Story, S. P., Ogden, R. V.: Antifungal effects of *Morinda citrifolia*. *U.S. Pat. Appl. Publ.* US2003225005 (2003); *Chem. Abstr.* 139, 391333.
- <sup>267</sup> Gibbons, S., Oluwatuyi, M., Veitch, N. C., Gray, A. I.: Bacterial resistance modifying agents from *Lycopus europeus*. *Phytochemistry* 62(1), 83-87 (2003).
- <sup>268</sup> Choi, S. Ch., Jung, J. S.: Studies of antimicrobial component of extracts of *Impatiens balsamina* (I). *Han'guk Somyu Konghakhoechi* 34(6), 393-399 (1997); *Chem. Abstr.* 127, 302955.
- <sup>269</sup> Tarle, D., Kosi-Culibrk, E.: Saponins and flavonoids – antimicrobial agents in *Flores bellidis*. *Farm. Gals.* 56(3), 81-87 (2000).



- 
- <sup>270</sup> Olivier C., Vaughn, S. F., Mizubuti, E. s. G., Loria, R.: Variation in allyl isothiocyanate production within Brassica species and correlation with fungicidal activity. *J. Chem. Ecol.* 25(12), 2687-2701 (1999).
- <sup>271</sup> Lin, Ch.-M., Preston, J. F., Wei, Ch.-I.: Antibacterial mechanism of allyl isothiocyanate. *J. Food Prot.* 63(6), 727-734 (2000).
- <sup>272</sup> Chikuyama, R., Shiotani, I., Murata, T.: 5-Hydroxymethyl-2-formylpyrroles from Capsicum and their uses as food additives. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 20032031676* (2003); *Chem. Abstr.* 139, 163906.
- <sup>273</sup> Berczi, I., Chow, D. A., Sabbadini, E. R.: Neuroimmunoregulation and natural immunity. *Domest. Anim. Endocrinol.* 15(5), 273-281 (1998); *Chem. Abstr.* 130, 79954.
- <sup>274</sup> Bonan, H. G.: Innate immunity and the normal microflora. *Immunol. Rev.* 173, 5-16 (2000).
- <sup>275</sup> Morein, B., Hu, K. F.: Microorganisms exert bioactive and protective effects through the innate immune system. Gut Environment of Pigs, [Papers presented at the Workshops „Feed Additives and Probiotics as an Alternative to Antibiotics as Growth Promoters“ and „Gut Environment: Influence of Luminal Factors“], Uppsala, June 18-19, 2000, 105-111; *Chem. Abstr.* 137, 183948.
- <sup>276</sup> Ganz, T., Lehrer, R. I.: Antimicrobial peptides in innate immunity. Development of Novel Antimicrobial Agents: Emerging Strategies, 139-147. (Lohner, K., ed.), Horizon Scientific Press, Wymondham 2001; *Chem. Abstr.* 135, 209395.
- <sup>277</sup> Axelsson, L.-G.: Xenobiotics, intestinal microflora and innate gastrointestinal immunity: what can clinical observations and experimental animal models tell us about environmentally related diseases? *Mikroökol. Ther.* 28, 327-335 (1999).
- <sup>278</sup> Zdzisinska, B., Kandefler-Szerszen, M.: The role of nitric oxide in natural and pathogenic immune reactions. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 52(6), 621-636 (1998).
- <sup>279</sup> Tyczkowski, J. K., Hamilton, R. B., Ruff, M. D.: Altered metabolism of carotenoids during pale-bird syndrome in chicken infected with *Eimeria acervulina*. *Poult. Sci.* 70(10), 2074-2081 (1991).
- <sup>280</sup> Krinsky, N. I., Mayne, S. T., Sies, H. (eds): Carotenoids in health and disease. Marcel Dekker, New York 2004, 568 s.
- <sup>281</sup> Yvin, J.-C., Vetvicka, V.: Laminaria polysaccharides for therapeutical treatment. *PCT Int. Appl. WO 2003045414* (2003); *Chem. Abstr.* 139, 12302.
- <sup>282</sup> Safonova, M. J., Sakanjan, E. I., Lesijovskaja, E. E.: *Cetraria islandica* (L.) Ac.: chimičeskij sostav i perspektivy ispol'zovanija v medicině. *Rastit. Resur.* 35(2), 106-115 (1999); 132:119827.
- <sup>283</sup> Yun, Chen.-H.: Immunomodulating effect of (1→3, 1→4) beta glucan, derived from oats, in mice infected with *Eimeria vermiformis*. *Diss. Abstr. Int. B* 58(12), 6480 (1998).
- <sup>284</sup> Yun, Ch.-H., Estrada, A., Van Kessel, A., Gajadhar, A., Redmond, M., Laarveld, B.: Immunomodulatory effects of oat β-glucan administered intragastrically or parenterally on mice infected with *Eimeria vermiformis*. *Microbiol. Immunol.* 42(6), 457-465 (1998).
- <sup>285</sup> Spiridonov, N. A., Goigel, A. G., Fomkina, M. G., Archipov, V. V., Šipulina, L. D.: Mechanismus dějství někotorych antimikrobalnych sredstv iz rastěnij. *Chim.-Farm. Ž.* 30(6), 44-46 (1996).

- 
- <sup>286</sup> Fecik, R. A., Kristine, E., Gentry, E. J., Mitscher, L. A., Shibata, M.: Use of combinatorial and multiple parallel synthesis methodologies for the development of anti-infective natural products? *Pure Appl. Chem.* 71(4), 559-564 (1999).
- <sup>287</sup> Wong, D. W. S., Robertson, G. H.: Combinatorial chemistry and its applications in agriculture and food. *Adv. Exp. Med. Biol.* 464(Chemicals via Higher Plant Bioengineering), 91-105), Kluwer Academic/Plenum Publ., 1999; *Chem. Abstr.* 132, 20125.