

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Sofia Solaničová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

*Antimikrobiální a antibiofilmové účinky *Boswellia**

Bakalářská práce

2024

Sofia Solaničová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Sofia Solaničová**
Osobní číslo: **C21220**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Antimikrobiální a antibiofilmové účinky *Boswellia***
Téma práce anglicky: **Antimicrobial and Antibiofilm Effects of *Boswellia***
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Seznamte se s literárními prameny v dané oblasti a vypracujte rešerši na zadané téma. V úvodu práce se věnujte zejména přírodním látkám s významnými biologickými účinky.
2. Zpracujte literární rešerši o *Boswellia* se zaměřením mj. na základní charakteristiky a vlastnosti, geografii výskytu, chemické složení a potenciální využití.
3. Shrňte poznatky o popsaných biologických účincích *Boswellia*, a to zejména se zaměřením na antimikrobiální a antibiofilmové účinky extraktů či esenciálních olejů.
4. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí č. 7/2019 Univerzity Pardubice "Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací".

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. David Šilha, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant bakalářské práce: **Ing. Leona Hofmeisterová**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem **Antimikrobiální a antibiofilmové účinky *Boswellia*** jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 18.6. 2024

Sofia Solaničová

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěla velmi poděkovat vedoucímu své bakalářské práce doc. Ing. Davidu Šilhovi, Ph.D., za odbornou pomoc, cenné připomínky, čas a trpělivost, kterou mi při vytváření mé práce věnoval. Za odbornou korekci textu bych chtěla poděkovat paní Ing. Leoně Hofmeisterové.

ANOTACE

Práce se zabývá studiem antimikrobiálních a antibiofilmových účinků rostlin rodu *Boswellia*. Zaměřuje se na chemické složení pryskyřice a také esenciálních olejů izolovaných z *Boswellia*, které vykazují významné protizánětlivé a antimikrobiální vlastnosti. Dále zkoumá vliv boswellových kyselin na různé mikrobiální patogeny a jejich schopnost inhibovat tvorbu biofilmů. Výzkum naznačuje potenciál *Boswellia* spp. jako přírodního zdroje nových látek pro boj s původci mikrobiálních infekcí a také omezující antibiotickou rezistenci.

KLÍČOVÁ SLOVA

Antimikrobiální účinky, antibiofilmové účinky, *Boswellia*, boswellové kyseliny, pryskyřice, esenciální oleje, antimikrobiální rezistence, přírodní terapeutika, biofilmy, mikrobiální patogeny

TITLE

Antimicrobial and Antibiofilm Effects of *Boswellia*

ANNOTATION

The work focuses on the study of the antimicrobial and antibiofilm effects of plants of the genus *Boswellia*. It addresses the chemical composition of the resin and essential oils isolated from *Boswellia*, which exhibit significant anti-inflammatory and antimicrobial properties. Furthermore, it examines the impact of boswellic acids on various microbial pathogens and their ability to inhibit biofilm formation. The research suggests the potential of *Boswellia* spp. as a natural source of new substances for combating microbial infections and also for limiting antibiotic resistance.

KEYWORDS

Antimicrobial effects, antibiofilm effects, *Boswellia*, boswellic acids, resin, essential oils, antimicrobial resistance, natural therapeutics, biofilms, microbial pathogens

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ	10
SEZNAM ZKRATEK	11
TERMINOLOGIE	14
ÚVOD	14
1 Přírodní látky s antimikrobiálním potenciálem	15
1.1 Metody výzkumu antimikrobiální aktivity přírodních produktů	16
1.2 Antimikrobiální látky rostlinného původu.....	17
1.3 Antimikrobiální látky živočišného původu.....	19
1.4 Antimikrobiální látky mikrobiálního původu.....	20
1.5 Synergie působení antimikrobiálních sloučenin.....	21
1.6 Budoucnost látek s antimikrobiálním potenciálem.....	21
2 Antimikrobiální rezistence.....	23
2.1 Mikrobiální biofilm a vztah k mikrobiální rezistenci	23
3 Rod <i>Boswellia</i>	26
3.1 Morfologie a geografické rozšíření <i>Boswellia</i> spp.	26
3.2 Pryskyřice produkované <i>Boswellia</i> spp.	28
3.3 Chemické složení kadidla	29
3.4 Boswellové kyseliny	30
3.4.1 Antimikrobiální vlastnosti boswellových kyselin.....	31
3.4.1.1 Antimikrobiální účinky acetyl-11-keto- β -boswellové kyseliny	31

3.4.1.2	Synergické působení boswellových kyselin a vybraných antibiotik	33
3.4.2	Protizánětlivé vlastnosti boswellových kyselin	34
3.4.2.1	Vliv boswellových kyselin na enzym 5-lipoxygenázu a syntézu leukotrienů ..	35
3.5	Antimikrobiální účinky kadidlovníku.....	35
3.5.1	Chemická analýza a antimikrobiální účinky kouře z kadidla <i>Boswellia sacra</i>	39
3.5.2	Vliv extraktů <i>Boswellia</i> na nozokomiální patogeny	40
3.6	Antibiofilmové vlastnosti <i>Boswellia</i>	42
ZÁVĚR.....		45
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		46

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Eugenol jako významná komponenta <i>Eugenia caryophyllata</i> (Hřebíčkovce kořenatý)	18
Obrázek č. 2: Fáze tvorby biofilmu	24
Obrázek č. 3: Distribuce různých druhů rodu <i>Boswellia</i> v Africe a Asii	27
Obrázek č. 4: Morfologie druhu <i>Boswellia sacra</i>	27
Obrázek č. 5: Sklizeň a třídění pryskyřice z <i>Boswellia sacra</i>	28
Obrázek č. 6: Snížení tvorby biofilmů u izolátů <i>P. gingivalis</i> účinkem extraktu <i>Boswellia sacra</i>	37
Obrázek č. 7: Účinek flukonazolu na tvorbu biofilmu <i>C. albicans</i>	38
Obrázek č. 8: Účinek boswellových kyselin na tvorbu biofilmu <i>C. albicans</i>	39
Obrázek č. 9: <i>In vitro</i> antibiofilmová aktivita esenciálního oleje <i>B. papyrifera</i> proti biofilmům <i>S. epidermidis</i> a <i>S. aureus</i>	42
Obrázek č. 10: Antibiofilmová aktivita esenciálního oleje <i>Boswellia papyrifera</i> v případě biofilmu <i>S. epidermidis</i> po 48 h	43
Obrázek č. 11: Antibiofilmová aktivita esenciálního oleje <i>Boswellia papyrifera</i> v případě biofilmu <i>S. epidermidis</i> po 24 h	43

SEZNAM ZKRATEK

<i>A.</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
AKBA	Acetyl-11-keto- β -boswellová kyselina
AMP	Antimikrobiální peptid
AMPc	Adenozinmonofosfátový cyklus (z <i>angl.</i> Adenosine Monophosphate Cycle)
AMR	Antimikrobiální rezistence
A α BA	Acetyl- α -boswellová kyselina
α BA	α -boswellová kyselina
β BA	β -boswellová kyselina
<i>B.</i>	<i>Boswellia</i>
<i>C.</i>	<i>Candida</i>
CD	Cirkulární dichroismus (z <i>angl.</i> Circular Dichroism)
CP	Chronická parodontitida
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
<i>E.</i>	<i>Escherichia</i>
eDNA	Extracelulární DNA
EO	Éterický olej
EPS	Extracelulární polysacharid
ERM	Erythromycin
ESBL	Širokospektrá β -laktamáza (z <i>angl.</i> Extended-Spectrum β -Lactamase)
GC-MS	Plynová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií (z <i>angl.</i> Gas Chromatography-Mass Spectrometry)
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie (z <i>angl.</i> High-Performance Liquid Chromatography)

IC	Inhibiční koncentrace (z <i>angl.</i> Inhibitory Concentration)
KBA	11-keto- β -boswellová kyselina
MALDI-TOF	Matricí asistovaná laserová desorpce/ionizace s analyzátozem doby letu (z <i>angl.</i> Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight)
MBC	Minimální baktericidní koncentrace (z <i>angl.</i> Minimum Bactericidal Concentration)
MBIC	Minimální biofilm inhibiční koncentrace (z <i>angl.</i> Minimum Biofilm Inhibitory Concentration)
MBIC50	Minimální biofilm inhibiční koncentrace způsobující potlačení biofilmu o 50 % (z <i>angl.</i> Minimum Biofilm Inhibitory Concentration at 50% inhibition)
MDR	Multirezistence k léčivům (z <i>angl.</i> Multi-Drug Resistance)
MIC	Minimální inhibiční koncentrace (z <i>angl.</i> Minimum Inhibitory Concentration)
MIC50	Minimální inhibiční koncentrace způsobující inhibici 50 % mikrobiální populace (z <i>angl.</i> Minimum Inhibitory Concentration 50 %)
MIC80	Minimální inhibiční koncentrace způsobující inhibici 80 % mikrobiální populace (z <i>angl.</i> Minimum Inhibitory Concentration 80 %)
MRSA	Meticilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i> (z <i>angl.</i> Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>)
MTT	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl] -2,5-difenyltetrazolium bromid
MurA	UDP-N-acetylglukosamin enolpyruvyl transferáza
<i>P.</i>	<i>Porphyromonas</i>
PEP	Fosfoenolpyruvát
PG	Peptidoglykan
PMB	Polymyxin B
RNA	Ribonukleová kyselina

<i>S.</i>	<i>Staphylococcus</i>
sub-MIC	Sub-minimální inhibiční koncentrace (z <i>angl.</i> Sub-Minimal Inhibitory Concentration)
TLC	Tenkovrstvá chromatografie (z <i>angl.</i> Thin Layer Chromatography)
UDP	GlcNAc-uridindifosfát N-acetylglukosamin
UDP	Uridindifosfát
WHO	Světová zdravotnická organizace (z <i>angl.</i> World Health Organization)
XDR	Rozsáhlá rezistence k léčivům (z <i>angl.</i> Extensive Drug Resistance)
5-(LOX)	5-lipoxygenáza

TERMINOLOGIE

<i>Antimikrobiální látka</i>	Léčivý přípravek využívaný k prevenci a léčbě infekcí
<i>Biofilm</i>	Struktura mikroorganismů přichycených k povrchu
<i>Dokingové studie</i>	Počítačové modelování interakce mezi molekulami
<i>Etnobotanika</i>	Věda zkoumající vztahy mezi lidmi a rostlinami, zejména jejich tradiční využití v medicíně
<i>Exopolysacharid</i>	Složka vnější vrstvy některých biofilmů
<i>In silico</i>	Spočteno počítačem, případně zjištěno počítačovou simulací
<i>In situ</i>	Na místě
<i>In vitro</i>	Ve skle, tedy kultivace v laboratorních podmínkách
<i>In vivo</i>	V živém organismu
<i>Lineweaver-Burkova křivka</i>	Grafická metoda pro analýzu enzymatické reakce
<i>Nozokomiální infekce</i>	Infekce získaná v nemocničním prostředí, často spojená s mikrobiálními biofilmy
<i>Planktonní forma</i>	Forma mikroorganismů, pohybujících se v roztoku
<i>Polyketid</i>	Přírodní sloučenina, vyskytující se v mikroorganismech a rostlinách (součást některých antibiotik)
<i>Polymikrobiální biofilm</i>	Biofilm obsahující více druhů mikroorganismů
<i>Synergický účinek</i>	Spolupůsobení léčivých přípravků
<i>Zkřížená rezistence</i>	Rezistence na jedno antibiotikum vedoucí k rezistenci i na jiná antibiotika

Úvod

Strom z rodu *Boswellia*, známý také jako kadidlovník, je charakteristický svým výskytem v suchých a teplých oblastech Asie a Afriky. Tento rod rostlin je ceněn především pro produkci pryskyřice, která je již po staletí součástí tradiční medicíny. Kadidlo získané z *Boswellia* se využívá zejména pro jeho protizánětlivé, analgetické a terapeutické vlastnosti. V posledních letech vědecké studie poukazují na další významné vlastnosti těchto rostlin, a to na jejich antimikrobiální a antibiofilmové účinky. V kontextu globálního problému narůstající antimikrobiální rezistence se výzkum přírodních látek, jako jsou extrakty *Boswellia*, stává klíčovým pro vývoj nových terapeutických metod.

Tato práce se zaměřuje na antimikrobiální a antibiofilmové účinky *Boswellia* spp. Dále popisuje chemické složení pryskyřice a získaných esenciálních olejů a zkoumá jejich účinky proti širokému spektru mikrobiálních patogenů. Mimo jiné je pozornost věnována také specifickým boswellovým kyselinám, které vykazují silné protizánětlivé a antimikrobiální vlastnosti. Součástí práce jsou dále také poznatky o synergických účincích extraktů *Boswellia* s běžně používanými antibiotiky, což může nabídnout nové možnosti v léčbě rezistentních bakteriálních infekcí.

1 Přírodní látky s antimikrobiálním potenciálem

Přírodní látky, které se získávají z rostlin, zvířat a mikroorganismů, jsou základem tradiční medicíny již tisíce let (Patra *et al.*, 2018). Tyto produkty jsou klíčovým zdrojem nových léčiv, ale zároveň se využívají v rozsáhlém spektru aplikací. Mnoho léčiv vyvinutých v posledních letech vychází z přírodních zdrojů, což potvrzuje jejich významný terapeutický potenciál. Obecně lze říci, že přírodní látky hrají nezastupitelnou roli v rozvoji nových léčebných metod a produktů (Newman a Gragg, 2020).

Historie vývoje antibakteriálních látek je úzce spojena s přírodními produkty, které dlouhodobě tvoří základ pro klinické aplikace. Mnoho antibiotik bylo původně získáno z přírodních zdrojů. Alexandr Fleming v roce 1928 objevil penicilin produkovaný plísní *Penicillium*. Tato látka se stala prvním široce používaným antibiotikem. Další antibiotika (např. tetracyklin a erythromycin) byla izolována z půdních bakterií. Výzkum různorodých ekosystémů odhalil množství organismů schopných produkovat biologicky aktivní sloučeniny (Jones a Ricke, 2003). Jednou z významných osobností v oblasti přírodních léčiv je čínská vědkyně Tchu Jou-jou. Tato farmakoložka byla oceněna Nobelovou cenou za fyziologii a lékařství. V roce 2015 přispěla svým výzkumem k nárůstu zájmu o přírodní látky v lékařství. Vědkyně stojí za průlomovým objevem antimalarika *artemisininu*. Artemisinin byl izolován z pelyňku ročního (*Artemisia annua*). Deriváty artemisininu nyní tvoří základní stavební kameny v léčbě malárie. Artemisinin je klíčový lék také v boji proti parazitovi *Plasmodium falciparum*. *Plasmodium* degraduje hemoglobin v červených krvinkách, ze kterých se následně uvolňuje toxický hematin. Artemisinin interferuje s procesem detoxikace hematinu, který je přeměňován na netoxický hemozoin, čímž zvyšuje toxické prostředí pro parazita a přispívá k jeho eradikaci. Artemisinin a jeho deriváty (artesunát a artemether) představují antimikrobiální látky využívající unikátní mechanismus k eliminaci parazitů prostřednictvím generování reaktivních kyslíkových radikálů. Mechanismus působení artemisininu zahrnuje několik kroků. Bioaktivace artemisininu je spouštěna železnatým kationtem (Fe^{2+}), které se váže na molekulu artemisininu a vede k redukčnímu štěpení peroxidového můstku, čímž se generují reaktivní kyslíkové radikály. Tyto radikály jsou velmi toxické a způsobují oxidační poškození buněčných membrán, proteinů a také DNA parazita. Narušení buněčné integrity vede následně ke smrti parazita. Tento přístup je podobný mechanismům působení také některých dalších antimikrobiálních látek, které působí prostřednictvím oxidačního stresu. Některá antibiotika (např. chinolony a některé aminoglykosidy) indukují tvorbu reaktivních kyslíkových druhů, které poškozují DNA a buněčné membrány bakterií. Podobně také antifungální léky (např.

amfotericin B) působí na buněčné membrány hub a způsobují tvorbu reaktivních kyslíkových radikálů, které poškozují buněčnou strukturu (O'Neill *et al.*, 2010). Tento objev napovídá, že lze rostlinné extrakty úspěšně využít v moderní medicíně. Objev artemisininu inspirovaný tradiční čínskou medicínou a jeho aplikace ve farmaceutickém výzkumu zdůrazňuje důležitost etnobotaniky. Tento přístup podporuje nadějný trend ve vývoji nových léčiv a nabízí možnosti pro další inovace v oblasti boje proti infekčním nemocem. Práce Tchu Jou-jou tak představuje cestu, jak lépe využívat potenciál přírodních zdrojů pro zlepšení globálního zdravotnictví. Ačkoliv v posledních dvaceti letech došlo k poklesu výzkumu přírodních produktů, v současnosti se znovu stávají středem zájmu. Vědecké studie potvrzují, že přírodní látky jsou primárním zdrojem nových antimikrobiálních léčiv (Ye *et al.*, 2020). Přírodní sloučeniny mohou být tedy efektivní v boji s vážným onemocněním (Miller a Su, 2011).

Přírodní substance s antimikrobiálním účinkem se neklasifikují jen na základě svého původu. Existuje mnoho přírodních látek izolovaných z rozmanitých zdrojů, které vykazují antimikrobiální aktivitu. Je však důležité brát v úvahu typ bakterie, proti kterému jsou tyto látky efektivní. Strukturální rozdíly mezi Gram-pozitivními a Gram-negativními bakteriemi ovlivňují účinnost antimikrobiálních látek. Gram-pozitivní bakterie se vyznačují buněčnou stěnou bohatou na peptidoglykan. Avšak Gram-negativní bakterie obsahují ve své buněčné stěně méně peptidoglykanu a mají vnější cytoplazmatickou membránu, což ztěžuje průnik antimikrobiálních látek. Jedním z hlavních problémů v této oblasti je, že většina dosavadních studií se opírá o testy *in silico* nebo *in vitro*. Tyto předběžné kroky jsou klíčové pro určení potenciálního přínosu přírodních produktů. *In vitro* testy mohou ukázat možný antimikrobiální účinek těchto látek, ale je také nutné ověřit jejich toxicitu. Následně je zásadní provést *in vivo* studie na vhodných zvířecích modelech. Tyto studie pomáhají určit, zda mohou určité látky v organismu inhibovat, blokovat, degradovat nebo interferovat s cílovými léčivy. Tento přístup je nezbytný pro validaci a další rozvoj efektivních antimikrobiálních terapií (Stan *et al.*, 2021).

1.1 Metody výzkumu antimikrobiální aktivity přírodních produktů

Identifikace a studium bioaktivních sloučenin z přírodních zdrojů hraje zásadní roli v rozvoji nových léčiv a terapeutických postupů. Zvláštní pozornost je potřeba věnovat inovacím v bioassay technikách. Jedná se o experimentální postupy používané k měření účinků biologicky aktivních látek na živé organismy. Tyto inovace jsou důležité pro analýzu mechanismů účinku bioaktivních látek a usnadňují identifikaci a vývoj nových terapeutických sloučenin. Tyto techniky jsou klíčové pro pochopení, jak látky interagují s mikroorganismy a jak mohou být využity k boji proti původcům infekcí. Kombinace různých modelů bioassay

hraje významnou roli v etnofarmakologických a ekologických studiích. Inhibiční a cytotoxicitní testy poskytují základní informace o účinnosti a biologické aktivitě studovaných látek. Tyto testy jsou základem pro hodnocení, jak extrahované sloučeniny ovlivňují cílové patogeny nebo modelové systémy zánětu (Strömstedt *et al.*, 2014). Důležité je také použití různých *in vivo* a *in vitro* modelů zahrnujících enzymy a buňky zapojené do zánětlivých procesů (cyklooxygenázy, lidské neutrofilů nebo lidské rakovinné buňky) (Felth *et al.*, 2013).

Výzkum antimikrobiálních a protizánětlivých látek z přírodních zdrojů zahrnuje rozsáhlé využití analytických metod, které umožňují pochopení struktur, mechanismů účinku a interakcí těchto sloučenin s biologickými systémy. Spektroskopické metody, jako je cirkulární dichroismus (CD), jsou využívány pro studium sekundárních struktur peptidů a proteinů. Principem CD je měření rozdílu v absorpci cirkulárně polarizovaného světla odhalující informace o geometrické konfiguraci molekul. V neposlední řadě poskytuje MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie rychlý a přesný způsob určení molekulární hmotnosti peptidů a jiných makromolekul, což je klíčové pro potvrzení jejich přítomnosti a čistoty, stejně jako pro analýzu fragmentace a posttranslačních modifikací (Strömstedt *et al.*, 2014). Nelze opomenout ani experimenty termální stability, což jsou testy stability peptidů při různých teplotách, odhalující vlastnosti a funkčnost studovaných molekul. Změny v tepelné stabilitě mohou indikovat stabilizační nebo destabilizační efekty interagujících sloučenin. Tento aspekt má vliv na biologickou aktivitu zmíněných látek (Davis *et al.*, 2009). Pro purifikaci a analýzu bioaktivních molekul je nezbytná vysokotlaká kapalinová chromatografie (HPLC). Pomocí HPLC lze oddělit komponenty směsi založené na jejich rozdílných fyzikálně-chemických vlastnostech, což je užitečné pro identifikaci a kvantifikaci složek ve složitých extraktech. Pro sledování interakcí mezi bioaktivními molekulami a cílovými strukturami se využívá fluorescenční spektroskopie. Tato metoda umožňuje získat informace o změnách v prostředí molekul. Mimo jiné také naznačuje jejich napojení na biologické struktury, např. membrány (Clarke *et al.*, 2006).

1.2 Antimikrobiální látky rostlinného původu

Sloučeniny získané z rostlinných zdrojů jsou známé svými rozmanitými biologickými účinky. Ty zahrnují antimikrobiální, protizánětlivé a antioxidační vlastnosti (Puupponen-Pimia *et al.*, 2001). Přibližně 25–50 % současných léčiv je rostlinného původu. Rostlinné extrakty obecně vykazují méně vedlejších účinků než syntetická léčiva. Během svého životního cyklu se rostliny setkávají s různými infekčními agens. V reakci na tyto mikroorganismy syntetizují řadu

sekundárních metabolitů, které jsou schopné tato agens eliminovat (Khameneh *et al.*, 2019). Rostliny produkují aromatické látky, zejména fenoly a jejich kyslíkem modifikované deriváty. Tyto antimikrobiální sloučeniny brání růstu mikroorganismů prostřednictvím specifických mechanismů, které se odlišují od mechanismů běžných antimikrobiálních látek. V důsledku toho vykazují slibný klinický potenciál v boji proti odolným mikrobiálním kmenům (Shankar *et al.*, 2010).

Fenoly jsou organické sloučeniny obsahující jednu nebo více hydroxylových skupin připojených k aromatickému kruhu. Tyto sloučeniny jsou známé svou antimikrobiální aktivitou a mohou být syntetizovány jako reakce na různé vnější podněty (mikrobiální infekce nebo UV záření). Fenoly působí na mikroorganismy různými způsoby. Mechanismus účinku fenolů je často spojen s jejich schopností pronikat do buněčné membrány a narušovat její integritu. Tento proces vede k úniku důležitých organel a celkové destabilizaci mikrobiálního metabolismu. Některé fenoly mohou také inhibovat enzymatické procesy v buňce. Jedním z příkladů fenolové sloučeniny s vysokou antimikrobiální aktivitou je eugenol, znázorněný na obrázku č. 1, který je izolován z esenciálního oleje hřebíčkovce kořeného (*Eugenia caryophyllata*). Tato látka má silné antibakteriální a antimykotické účinky. Další příklady zahrnují kyselinu skořicovou, kyselinu kávovou a také oleuropein, které jsou známy svou schopností inhibovat růst různých mikroorganismů. Fenolové sloučeniny mohou být také účinné v boji proti rezistenci mikroorganismů vůči antibiotikům, což je důležité v době, kdy se zvyšuje počet bakterií odolných vůči tradičním léčivům (Khameneh *et al.*, 2019).



Obrázek č. 1: Eugenol jako významná komponenta *Eugenia caryophyllata* (Hřebíčkovce kořenatý) (Kamatou *et al.*, 2012)

Pozn.: (A) Chemická struktura eugenolu; (B) Sušená poupata hřebíčkovce kořenatého (*Eugenia caryophyllata*).

Schopnost inhibovat růst bakterií mají také látky ze skupiny alkaloidů. Jedním z mechanismů, kterým většina alkaloidů dosahuje své antibakteriální aktivity, je inhibice efluxních pump. Efluxní pumpy jsou proteiny v bakteriálních buněčných membránách, které vylučují antibiotika a další toxické látky z buňky, čímž přispívají k rezistenci bakterií na antibiotika. Tento

mechanismus je typický pro piperin. Piperidinový alkaloid izolovaný z pepřovníku černého (*Piper nigrum*), se ukázal být účinný v kombinaci s ciprofloxacinem např. proti *Staphylococcus aureus*. Tento alkaloid výrazně snižuje MIC hodnoty pro tento patogen. Dalším zajímavým alkaloidem s antimikrobiální aktivitou je berberin. Látka se nachází v kořenech a kůře stromů rodu *Berberis* (dřišťál) a je hlavní aktivní složkou rostliny korkovník amurský (*Cortex phellodendri*). Tento alkaloid vykazuje široké spektrum antimikrobiální aktivity proti bakteriím, houbám, prvokům a virům. Mechanismy antibakteriálního působení berberinu zahrnují poškození buněčné struktury a inhibici syntézy proteinů a DNA (Khameneh *et al.*, 2019).

Antimikrobiálně aktivní jsou také rostliny, které ve svých výtažcích obsahují síru. Allicin, je organosírná sloučenina získávaná z česneku kuchyňského (*Allium sativum*). Antibakteriální účinky česneku jsou potvrzeny proti širokému spektru bakterií. Mimo jiné také působí synergicky s vybranými antibiotiky. Mechanismus antimikrobiální aktivity alicinu spočívá v inhibici sulfhydrylových enzymů bakteriální buňky. Enzymy obsahující síru využívají rostliny většinou při obranných mechanismech. Po narušení tkáně některých rostlin dojde k reakci mezi glukosinoláty a enzymem myrosinázou. Enzym hydrolyzuje na aktivní sloučeniny, např. isothiokyanáty. Tyto látky se vyskytují v rostlinách čeledi brukvovité (*Brassicaceae*). Isothiokyanáty působí na různé patogenní bakterie inhibičně (Khameneh *et al.*, 2019).

Kombinováním chemických a přírodních látek rostlinného původu lze docílit nových, víceúčelových mechanismů účinku. Vzniklé sloučeniny pak mohou potlačovat bakteriální rezistenci a zároveň zlepšovat biologickou dostupnost, rozpustnost a rychlost resorpce dané látky. Díky tomu je možné minimalizovat nežádoucí účinky (Wagner *et al.*, 2008).

1.3 Antimikrobiální látky živočišného původu

V době rostoucí rezistence mikrobů k běžným antimikrobiálním léčivům stoupá zájem o peptidy s antimikrobiální aktivitou, které mají schopnost cílit na více míst na membránách mikrobů. Jsou účinné i v nízkých koncentracích, což snižuje riziko vyvolání rezistence. Jejich léčebný potenciál je činí atraktivní alternativou k tradičním antimikrobiálním látkám (Cui *et al.*, 2020).

Mezi specifické peptidy s antimikrobiálními účinky patří např. areniciny. Areniciny, jako jsou arenicin-1, arenicin-2 a arenicin-3, jsou antimikrobiální peptidy (AMP) izolované z mořské žižaly *Arenicola marina* (pískovník rybářský). AMP mají významný antimikrobiální účinek,

zejména proti Gram-negativním bakteriím. Arenicin-1 vykazuje silnou aktivitu proti bakteriím jako *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa* (Orlov *et al.*, 2019). Arenicin-2 se vyznačuje silným baktericidním účinkem proti řadě patogenů. Je navíc zkoumán pro možnost jeho potenciálního využití v lékařství jako základ pro nové terapeutické přístupy v boji proti antibiotické rezistenci. Mírně modifikovaný arenicin-3, je účinný i proti kmenům s rozsáhlou rezistencí k léčivům (XDR) a multirezistencí (MDR), vč. *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae* (Elliott *et al.*, 2020).

1.4 Antimikrobiální látky mikrobiálního původu

Dalším zdrojem antimikrobiálních látek jsou mikroorganismy, které jsou známé svou schopností vytvářet sloučeniny s antibakteriálními, antifungálními a cytotoxickými účinky (Elissawy *et al.*, 2021). Antimikrobiální peptidy získané z různých mikroorganismů jsou malé molekuly. Tyto peptidy jsou bohaté na zbytky lysinu nebo argininu, což jim dodává kationtovou povahu. Díky tomu mohou interagovat s negativně nabitými membránami mikrobů (Narayana *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2019).

Konkrétním zdrojem antimikrobiálních látek mohou být bakterie produkující polypeptidy známé jako bakteriociny. Tyto látky, syntetizované na ribozomech, vykazují letální účinky na bakterie. Avšak neohrožují organismy, které je samy syntetizují. Bakteriociny jsou heterogenní skupinou, klasifikovanou převážně podle molekulové hmotnosti. Jedním z příkladů je peptid izolovaný z kmenů *Enterococcus faecalis*, jehož zdrojem byly lidské sliny. Tento peptid inhibuje růst Gram-negativních bakterií (Cui *et al.*, 2020). Oproti současným antibiotikům jsou bioaktivní peptidy často vnímány jako přirozenější, neboť se předpokládá, že jsou součástí mnoha tradičních potravin. Nejvýznamnějšími producenty bioaktivních látek mikrobiálního původu jsou *Acinetobacteria*, zejména rod *Streptomyces*, z něhož pochází dvě třetiny všech přírodních antibiotických látek (Barka *et al.*, 2016).

Moderní technologie hrají klíčovou roli ve výzkumu těchto specifických látek. Pokroky v mikrobiologii nyní umožňují lépe identifikovat mikrobiální cíle, což zjednodušuje proces vývoje nových farmak (Maghembe *et al.*, 2020). Mezi nově objevené látky spadá např. maklamicin, polyketid třídy spirotetronátů, izolovaný v Thajsku z kmene *Micromonospora* spp. Maklamicin prokázal silné antimikrobiální účinky proti Gram-pozitivním bakteriím, vč. *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus faecalis* (Niu *et al.*, 2011). Další zajímavou látkou je weissellicin D produkovaný Gram-pozitivní bakterií *Weissella hellenica*. Weissellicin D je širokospektrální antimikrobiální

čínidlo s výraznou stabilitou. Efektivně inhibuje bakterie *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa* (Chen *et al.*, 2014).

1.5 Synergie působení antimikrobiálních sloučenin

Použití antimikrobiálních látek v kombinaci může vyvolat synergické účinky. Každý lék cílí na jiné signální dráhy s odlišnými mechanismy, čímž se zvyšuje efektivita a selektivita terapeutické odpovědi. Správná kombinace dvou nebo více léčivých přípravků může vést k silnějším účinkům i při nižších dávkách, což nabízí nový přístup k řešení rezistence proti antibiotikům. Podstatné nejsou ale jen synergické interakce ale především možná toxicita vzniklé kombinace (Basavegowda a Baek, 2022).

Látky získané z rostlin s potenciálním antimikrobiálním účinkem (fytochemikálie a sekundární metabolity) působí proti patogenům efektivně. Kombinace rostlinných extraktů může zvýšit antimikrobiální účinnost, snížit dávky léčiv a minimalizovat vedlejší účinky (León-Buitimea *et al.*, 2020). Kombinace působící na více cílů redukuje riziko rychlého rozvoje rezistence. Rostlinné antibiotické deriváty mají často nižší přímou účinnost, přesto úspěšně čelí infekcím díky synergii různých sloučenin. Např. dřevitálek (*Berberis*) produkuje berberin (hydrofobní alkaloid). Alkaloid sám o sobě vykazuje nízkou účinnost jako antibiotikum. Mikroorganismy ho snadno vyloučí efluxními pumpami. Proto rostlina současně produkuje 5'-methoxyhydno-karpin, který tyto pumpy blokuje, čímž zvyšuje účinnost berberinu jako antibakteriálního čínidla (Ausubel a Lewis, 2006; Stermitz *et al.*, 2000).

1.6 Budoucnost látek s antimikrobiálním potenciálem

Pokračování ve výzkumu nových bioaktivních sloučenin schopných bojovat proti mikrobům je zásadní. Léčivé rostliny představují jedno z možných řešení problému antimikrobiální rezistence (Vaou *et al.*, 2021). Výzkum alternativ k tradičním antimikrobiálním látkám je klíčový pro budoucí možnosti terapie. Přírodní rostlinné antimikrobiální látky nabízejí slibnou alternativu. Tyto látky prokázaly účinnost proti různým bakteriím a plísním a lze je využít např. i ke konzervaci potravin nebo v boji proti stárnutí (Li a Ma, 2024).

K zajištění bezpečnosti a účinnosti přírodních produktů je nezbytné provádět přísné testování jak *in vitro*, tak *in vivo*. Přestože množství testovaných látek činí tuto úlohu náročnou, pokroky v biotechnologii umožňují hlubší zkoumání chemického složení rostlin, vylepšení extrakčních technik a identifikaci různých bioaktivních sloučenin. Tato inovace slibuje efektivnější využití terapeutických léčivých rostlin v boji proti mikrobům (Vaou *et al.*, 2021). Výzkum a extrakce

antimikrobiálních látek z rostlin, následované jejich komerční distribucí, jsou rovněž zásadní. Např. antimikrobiální peptidy jsou často klíčovou antimikrobiální složkou v rostlinách, ale jejich extrakce je časově náročná. Alternativou je chemická syntéza AMP, která výrazně zkracuje dobu výroby. Tento přístup zahrnuje analýzu celé peptidové sekvence rostlin a vede k vývoji nových peptidů s vylepšenými antimikrobiálními vlastnostmi. Syntetická výroba umožňuje získávat krátké přírodní fragmenty s lepšími vlastnostmi, vč. nižší cytotoxicity vůči lidským buňkám, což zvyšuje jejich terapeutickou hodnotu (Shwaiki *et al.*, 2021).

2 Antimikrobiální rezistence

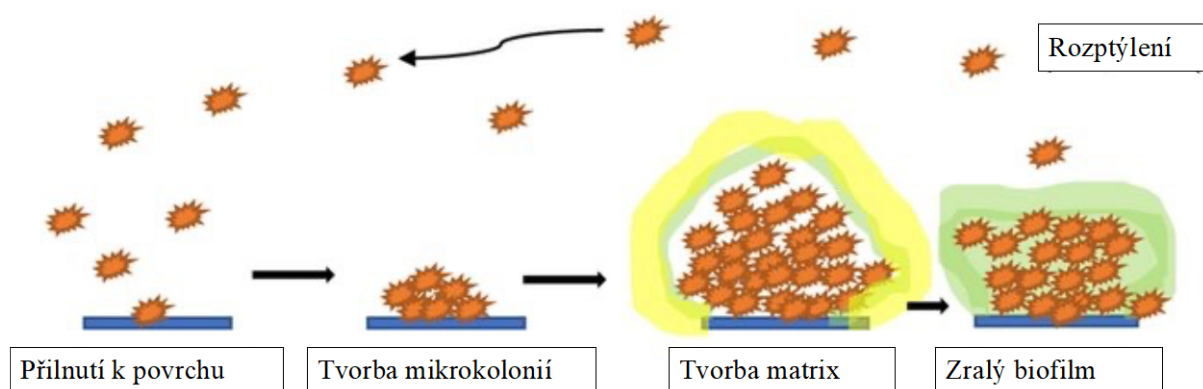
Antimikrobiální rezistence (AMR) je schopnost mikroorganismů odolávat účinkům antimikrobiálních léčiv, která se stávají nedostatečně účinná nebo zcela neúčinná. Standardní léčba se stává neefektivní. Tento fenomén, pozorovaný již od zavedení penicilinu, způsobuje perzistenci infekcí a zvyšuje riziko jejich přenosu. V roce 2019 zapříčinila rezistence mikroorganismů přibližně 1,3 milionu úmrtí. Globalizace a mezinárodní obchod přispívají k rychlému šíření rezistentních kmenů přes hranice jednotlivých zemí. Mezi typické rezistentní kmeny patří např. *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella enterica* a *Staphylococcus aureus* (Galié et al., 2018).

Rezistence je přirozeným důsledkem evoluce mikroorganismů. Bakterie vyvíjejí rezistenci různými mechanismy, a to např. mutací v genetickém kódu nebo horizontálním genovým transferem mezi různými druhy. Tyto geny mohou být šířeny nejen mezi patogeny v jednom hostiteli, ale i mezi druhy. Genový transfer ovlivňuje např. antibiotika jako rifampin a chinolony, kde je mutační frekvence dostatečně vysoká pro selekci rezistentních klonů během léčby. Antimikrobiální rezistence se často vyvíjí v prostředích, kde dochází k setkání bakterií s antibiotiky (zejména v trávicím traktu lidí a zvířat). Antibiotika zde inhibují citlivé bakterie, zatímco rezistentní druhy prosperují, což vede k selekci rezistentních klonů. Boj proti AMR vyžaduje zvýšení povědomí o správném používání antibiotik a podporu dalšího výzkumu, vč. investic do nových léčiv a alternativních terapeutických metod. Některé látky mají antibakteriální schopnosti a mohou ovlivnit rezistenci na antibiotika. Jiné látky, i když nemají přímé antimikrobiální účinky, mohou zvýšit účinnost antibiotik, pokud jsou s nimi kombinovány (Jones a Ricke, 2003).

2.1 Mikrobiální biofilm a vztah k mikrobiální rezistenci

Bakteriální biofilmy jsou komplexní a strukturovaná společenství mikroorganismů. Bakterie jsou v biofilmech součástí trojrozměrné extracelulární matrix. Tyto struktury umožňují bakteriím přežít v různých podmínkách. Biofilmy se skládají z jednoho nebo více mikrobiálních druhů, které jsou propojeny prostřednictvím různých fyzikálních interakcí (Maier, 2021). Vývoj biofilmu je zaznamenán na obrázku č. 2. Proces začíná iniciační adhezí, při které bakterie přilnou k povrchu. Adheze bakterií na povrch materiálu probíhá ve dvou fázích (okamžitá a reverzibilní adheze). Bakterie mohou dočasně přilnout k povrchu prostřednictvím fyzikálních sil, např. gravitační síly, Brownův pohyb, van der Waalovy přitažlivé síly a hydrofobní interakce. V této fázi přilnou bakterie k povrchu pomocí buněčných

povrchových struktur (pili, bičíky a fimbrie). Bakterie mohou buď setrvat a přejít do biofilmového způsobu života, nebo se od povrchu uvolnit a vrátit se do planktonního stavu. Následuje druhá fáze, která je nevratná a molekulárně-buněčná. V této fázi dochází k pevné vazbě mezi bakteriemi a povrchem prostřednictvím povrchových proteinů a extracelulárních polysacharidů (EPS). Tímto způsobem bakterie vytvářejí trvalé spojení s povrchem a začínají tvořit biofilm, který je odolný vůči mechanickým a chemickým stresům (např. antibiotika). Jak biofilm roste, dochází k jeho zrání a tvorbě složitých struktur. Následně bakterie v biofilmech pokračují v množení a produkují více EPS. Dochází k diferenciaci buněk a tvorbě komplexních struktur uvnitř biofilmu, vč. kanálků umožňujících průchod živin a odpadu. Během fáze zrání biofilmu se mikrokolonie mění na makrokolonie v důsledku adaptace a růstu buněk. Biofilm se vyvíjí a formuje pod vlivem povrchových adhezních sil a surfaktantních peptidů. Jakmile biofilm dozraje, je jeho odstranění velmi obtížné. Struktura biofilmu je dynamická a může se měnit v reakci na environmentální podněty, jako je omezení toku živin nebo přítomnost antibiotik. Tyto změny jsou řízeny změnami v genové expresi a produkci povrchových a extracelulárních komponent. Poslední fáze zahrnuje rozpouštění a šíření biofilmu, což zahrnuje odlučování buněk z biofilmu a kolonizaci nových povrchů. Fáze disperze biofilmu nastává, když se bakterie odpojí od biofilmu a přejdou zpět do planktonního stavu, volně plující v okolních tekutinách a šířící infekci. Disperze může pasivní nebo aktivní. Aktivní disperze je závislá na pohyblivosti buněk nebo degradaci EPS a je vyvolaná změnami v podmínkách prostředí. Pasivní disperze zase využívá k pohybu buněk fyzikální faktory (Pal a Lavanya, 2022).



Obrázek č. 2: Fáze tvorby biofilmu (Pal a Lavanya, 2022).

Tvorba biofilmu je ovlivňována několika typy fyzikálních interakcí. Jedna z těchto interakcí je sterická repulze. Tento jev je způsoben fyzikálními odpuzivými silami mezi bakteriemi, které se chovají jako pevné objekty a odpuzují se navzájem. Dalším typem interakce je agregace

bakterií způsobená přítomností neadsorbujících polymerů. Polymery vytvářejí tlak a tlačí bakterie k sobě. Osmotický tlak je další důležitou silou, která ovlivňuje biofilmy. Rozdíly v koncentraci extracelulární matrix vedou ke změně tlaku. Biofilm pak bobtná nebo se smršťuje a tím se ovlivňuje jeho hustota a míra expanze. Fyzikální interakce mezi různými typy bakterií mohou také ovlivnit strukturu biofilmu. Např. sféroidní bakterie mají tendenci tvořit kapalné, pevné nebo plynné struktury v závislosti na přítomnosti přitažlivých sil. Tyčinkovité bakterie mohou tvořit struktury podobné tekutým krystalům, kde velikost domén závisí na délce buněk a rychlosti růstu. Přechod z dvourozměrného do trojrozměrného biofilmu je často řízen mechanickou nestabilitou způsobenou růstem buněk a jejich adhezí k substrátu. Tento přechod může být také ovlivněn osmotickým tlakem, který reguluje hustotu bakterií a radiální expanzi kolonií (Maier, 2021).

Schopnost mikroorganismů tvořit biofilmy je jedním z důvodů selhání antimikrobiální terapie (Yuan *et al.*, 2021). Biofilmy jsou známe již od 17. století, kdy Antoni van Leeuwenhoek (nizozemský přírodovědec) zjistil při mikroskopickém pozorování zubního plaku, že bakterie tvoří jakési shluky. Biofilmové struktury umožňují uniknout reakcím imunitního systému a způsobit lokální poškození nebo i akutní infekci (Vestby *et al.*, 2020). Infekce ovlivněné přítomností biofilmů představují více než 65 % všech infekcí. Tradiční antibiotika jsou proto proti těmto formám bakterií mnohem méně účinná (Jacqueline a Caillon, 2014). Avšak mnoho mechanismů, které umožňují přežití buněk v biofilmech, zůstává zatím neobjasněno. Hlubší porozumění těmto procesům by mohlo vést k průlomům v boji proti antimikrobiální rezistenci (Van Acker *et al.*, 2014). Bakterie v polymikrobiálních biofilmech mohou chránit i takové druhy, které samy o sobě exopolysacharidy zpravidla neprodukují. Čímž podporují jejich přežití (Balducci *et al.*, 2023). Způsoby odstranění biofilmů zahrnují propojení antibakteriálních látek s chemikáliemi rozkládajícími exopolysacharidy. Tato strategie by mohla zvýšit citlivost buněk na antibiotika a zabránit opakované tvorbě biofilmů (Fulaz *et al.*, 2019). Nadměrné užívání antibiotik může být pro hostitele problematické, ale i nižší dávky nejsou efektivní. Konvenční antibiotika navíc podporují vývoj rezistence (Beyth *et al.*, 2015). Proto je nezbytné hledat nové antimikrobiální látky a cílenější léčebné strategie. Jednou z nových strategií je kombinace různých antimikrobiálních látek pro dosažení synergických účinků, což snižuje riziko vývoje křížové rezistence (Bozic *et al.*, 2013; Lahiri *et al.*, 2022).

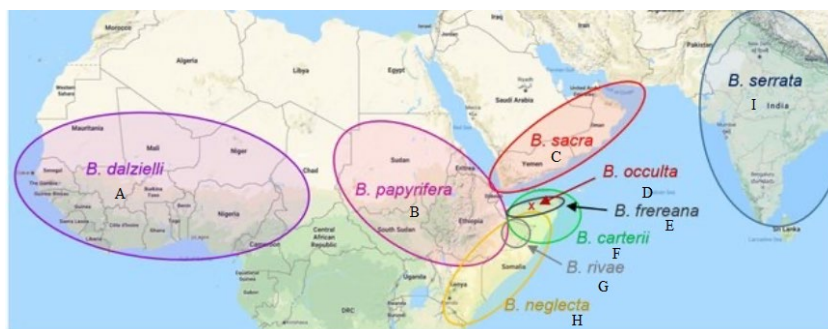
3 Rod *Boswellia*

Rod *Boswellia* je významným zástupcem čeledi březulovitých (*Burseraceae*), a to zejména díky produkci pryskyřic unikátního chemického složení a také vlastností. Do čeledi březulovitých řadíme známé pryskyřicové rostliny jako je myrhovník (*Commiphora*) a kadidlovník (*Boswellia*). Pryskyřice těchto rostlin je ceněna pro své aromatické produkty s širokým využitím ve farmaceutickém průmyslu, parfumerii, a také při náboženských obřadech. *Boswellia* zahrnuje přibližně 25 druhů s počtem chromozomů $2n=22$, což poukazuje na jeho genetickou uniformitu napříč různými druhy (Khan *et al.*, 2022).

Jedním z nejznámějších zástupců tohoto rodu je *Boswellia serrata* neboli kadidlovník pravý. Tato rostlina je známá především pro svoji schopnost produkce kvalitní pryskyřice, která se tradičně používá ve formě kadidla. Kadidlo získané z *Boswellia serrata* je vysoce ceněno pro své charakteristické aroma a je považováno za jedno z nejcistších a nejkvalitnějších na světě. Kadidlo má také dlouhou historii využití v medicíně, kde je aplikováno pro své protizánětlivé a antimikrobiální vlastnosti (Khan *et al.*, 2022).

3.1 Morfologie a geografické rozšíření *Boswellia* spp.

Druhy rostlin rodu *Boswellia* jsou rozšířeny hlavně v suchých a polosuchých regionech Afriky a Arabského poloostrova, vč. Somálska, Etiopie, Ománu a Jemenu. Vyskytují se však také v Indii a Pákistánu. Rozšíření *Boswellia* je znázorněno na obrázku č. 3. Tento rod je adaptovaný na extrémní klimatické podmínky s omezeným přístupem k vodě, což mu umožňuje přežít v drsných pouštních ekosystémech. V Indii je *Boswellia* ceněna jako tradiční léčivá bylina. Využívá se zejména v některých indických státech (např. Radžasthán a Madhjadpradéš), kde přirozené podnebí odpovídá růstovým požadavkům (Siddiqui, 2011).



Obrázek č. 3: Distribuce různých druhů rodu *Boswellia* v Africe a Asii (Schmiech *et al.*, 2021).

Pozn.: (A) *Boswellia dalzielii* – Západní Afrika; (B) *Boswellia papyrifera* – Střední a východní Afrika; (C) *Boswellia sacra* – Arabský poloostrov a severovýchodní Afrika; (D) *Boswellia occulta* – Arabský poloostrov; (E) *Boswellia frereana* – Somálsko; (F) *Boswellia carterii* – Somálsko a okolní oblasti; (G) *Boswellia rivae* – Etiopie; (H) *Boswellia neglecta* – Keňa a okolní oblasti; (I) *Boswellia serrata* – Indie.

Rostliny *Boswellia* mohou nabývat podoby stromů i keřů. Stromy rodu *Boswellia* dosahují výšky několika metrů a mají výrazný kmen se světle žlutohnědou kůrou. Jejich větve nesou lichozpeřené listy s lesklým povrchem a kožovitou texturou. Listy obsahují chlorofyl a jsou adaptovány na suché podmínky díky speciálním buňkám pro uchovávání vody (Iwu, 2014; Miran *et al.*, 2022). Květy *Boswellia* jsou drobné, bílé a tvoří hroznovitá květenství. Desetičetné tyčinky s podlouhlými prašníky umožňují efektivní produkci pylu a následné opylování. Plody kadidlovníků jsou peckovice s jednou až pěti peckami. Po dozrání se otevírají a mají hruškovitý tvar rozdělený do 3–4 oddílů. Anatomie rostliny je znázorněná na obrázku č. 4. Struktura plodů podporuje šíření semen (Miran *et al.*, 2022).



Obrázek č. 4: Morfologie druhu *Boswellia sacra* (Ahmeda a Zangeneh, 2020; Jabar *et al.*, 2020).

Pozn.: (A) Botanická ilustrace *Boswellia sacra* – detailní anatomie rostliny včetně květů, listů, plodů a semen; (B) Vzrostlý strom *Boswellia sacra*.

3.2 Pryskyřice produkované *Boswellia* spp.

Pryskyřice stromů rodu *Boswellia* (známá jako kadidlo nebo olibanum) byla od pradávna využívána v lékařství, obchodu, kultuře a náboženství. Historické texty ji popisují jako cenný produkt, který dosahoval vysoké finanční hodnoty a byl předmětem intenzivního obchodu. První zmínky o kadidle sahají až do roku 1500 př. n. l., kdy bylo považováno za slzy boha Hora. Římané zase kladli důraz na terapeutické účinky kadidla (Moussaieff a Mechoulam, 2009).

Mezi hlavní druhy produkující kadidlo patří *Boswellia serrata* (protizánětlivé a antioxidační účinky) a *Boswellia sacra* (hepatoprotektivní a protinádorové účinky). Oba druhy se tradičně využívají k léčbě astmatu, artritidy, kožních onemocnění a dalších stavů (Mannino *et al.*, 2016). Kadidlo se získává obroušením vnější kůry stromů během suchého období. V závislosti na velikosti, věku a umístění stromu může být obroušen na pryskyřici až osmkrát ročně. Na poranění stromy reagují vypuštěním mléčně viskózní tekutiny, která po odpaření vlhkosti zanechává krystalický materiál. Proces je znázorněn na obrázku č. 5 (Miran *et al.*, 2022). V současné době probíhají snahy o udržitelné způsoby sklizně a ochrany populací stromů rodu *Boswellia*. Toto úsilí zahrnuje zřizování obnovujících se populací a propagaci *in situ* ochrany. Tato opatření jsou důležitá pro zachování druhů a zlepšení produkce pryskyřice, která se ročně odhaduje na 5 000–6 000 tun. Práce na zajištění udržitelné sklizně a minimalizace mortality stromů, která byla v minulosti vysoká kvůli nevhodným metodám získávání pryskyřice, jsou nezbytné pro budoucnost produkce kadidla (Khan *et al.*, 2022).



Obrázek č. 5: Sklizeň a třídění pryskyřice z *Boswellia sacra* (Suhail *et al.*, 2013).

Pozn.: (A) Zářezy na kadidlovníku a vzniklá mléčná pryskyřice; (B) Pryskyřice třídy Hougari Royal sklizená z pouštní oblasti na severu státu Dhofar v Ománu; (C) Pryskyřice třídy Hougari Superior s jasně zeleným nádechem; (D) Pryskyřice třídy Hougari Regular, běžná pryskyřice z kadidlovníku, používaná jako kadidlo; (E) Pryskyřice třídy Hougari Sha'bi (nejnižší třída) sklizená ze starých a odumírajících stromů v pobřežních oblastech a oblastech s monzunovými dešti.

3.3 Chemické složení kadidla

Kadidlo je získávané z rostlin rodu *Boswellia*. Je bohaté na bioaktivní složky, díky kterým má široké využití v tradiční medicíně, zejména pro jeho schopnost zmírňovat zánětlivé stavy. Chemický profil kadidla je složitý. Kadidlo obsahuje více než 300 mono-, di- a triterpenů a přes 130 různých fytochemikálií. Složitý chemický profil kadidla tak podporuje jeho rozsáhlé využití v tradiční medicíně (Basar *et al.*, 2001). Hlavními aktivními složkami jsou boswellové kyseliny, vč. α -boswellové, β -boswellové kyseliny a 11-keto- β -boswellové kyseliny. Boswellové kyseliny jsou silné protizánětlivé látky. Jsou syntetizovány v rostlinách prostřednictvím dvou hlavních metabolických drah. Jedna z těchto drah se nazývá cesta kyseliny mevalonátové a druhá je známá jako cesta methylerythritol-4-fosfátu. Tyto dvě dráhy jsou základními biochemickými trasami, které mají význam pro syntézu různých typů metabolitů v rostlinách *Boswellia*. Jako stavební bloky dalších složek v pryskyřici mají boswellové kyseliny ověřené protizánětlivé účinky, které byly široce dokumentovány v různých studiích. Pentacyklické triterpenové boswellové kyseliny se rovněž používají jako chemotaxonomické markery. Kadidlo obsahuje také arabinogalaktanové proteiny – rozpustné polymerní látky složené z jednotek D-galaktózy, arabinózy a uronových kyselin, doplněné o aminokyseliny (hydroxyprolin, serin). Tyto proteoglykany mají klíčový vliv na protizánětlivé a imunomodulační vlastnosti pryskyřice. Součástí kadidla je rovněž guma rozpustná ve vodě, která je společně s esenciálními oleji a rozpustnou pryskyřicí využitelná pro různé léčebné aplikace (Basar *et al.*, 2001).

Další podstatnou součástí kadidla jsou esenciální oleje. Tyto látky přispívají charakteristickému aroma, které je pro kadidlo typické. Za charakteristickou vůni jsou zodpovědné terpenoidy (limonen, pinen a sabinen). Tyto látky jsou lehčí než voda a mají výraznou chuť a vůni připomínající jejich rostlinný původ. Esenciální oleje pocházejí z různých pryskyřicových druhů rostlin *Boswellia*, vč. *Boswellia carterii*, známé také jako *Boswellia sacra* (kadidlovník pravý). Současná botanická a vědecká zkoumání uvádějí, že *Boswellia carterii* a *Boswellia sacra*, jsou synonyma. Chemická analýza zaměřená na somálský druh (*B. carterii*) a ománsko/jemenský druh (*B. sacra*) měla za cíl identifikovat případné rozdíly mezi těmito dvěma druhy. Nicméně analýza GC-MS neprokázala výrazné statistické rozdíly. Důležitý rozdíl byl ale pozorován v hodnotách optické otáčivosti. Zatímco *B. sacra* vykazuje hodnotu optické otáčivosti $+30,1^\circ$, *B. carterii* má hodnotu $-13,3^\circ$. Stejně tak enantiomerní poměr (+)/(-) α -pinenu pro *B. sacra* je 8,24, zatímco pro *B. carterii* pouze 0,68. Toto zjištění podporuje hypotézu, že tyto dva druhy nejsou zcela identické, ale spíše jsou odlišnými druhy kadidla.

Předpokládá se, že rozdíly v poměrech enantiomerních párů monoterpenů v pryskyřicích arabských *B. sacra* a afrických *B. carterii* jsou způsobeny rozdíly v množství geneticky exprimovaných chirálně specifických enzymů pro biosyntézu monoterpenů (Woolley *et al.*, 2012). Olej z *Boswellia carterii* obsahuje vysoké množství oktylacetátu, který tvoří asi 60 % boswellových extraktů a často se využívá pro svou ovocnou vůni jako základ umělých aromat. Oleje se z rostlin získávají pomocí hydrodestilace nebo destilace párou. Jedná se o složité, aromatické, lipofilní směsi těkavých sekundárních metabolitů (Basar *et al.*, 2001). Esenciální oleje *Boswellia* mívají více než 50 složek. Avšak zpravidla pouze dvě nebo tři složky jsou přítomny ve vysokých poměrech. Hlavní složkou jsou flavonoidy a jiné sloučeniny podobné povahy, které mají potenciální farmakologickou aktivitu. Produkty na bázi esenciálního oleje jsou velmi žádané v mnoha odvětvích průmyslu (Basavegowda a Baek, 2022).

3.4 Boswellové kyseliny

Zásadním krokem v pochopení antimikrobiálních účinků boswellových kyselin je charakterizace farmakologické aktivity kadidla z různých druhů *Boswellia*. Je však také důležité identifikovat druhově specifické rozdíly. Pryskyřice těchto druhů obsahují pentacyklické a tetracyklické triterpeny. Mezi pentacyklické triterpeny patří některé boswellové kyseliny, které jsou zodpovědné za mnohé farmakologické účinky. Přírodní pryskyřičné triterpenoidy jsou klasifikovány do šesti typů, a to ursanové (typ U), oleananové (typ O), lupanové (typ L), tirukalanské (typ T), damaranské (typ D) a euphanské (typ E) triterpeny. Tyto typy jsou dále rozděleny do dvou tříd podle počtu cyklů na pentacyklické triterpeny (typy U, O a L) a tetracyklické triterpeny (typy T, D a E). U pentacyklických triterpenů jsou rozlišeny tři podtypy na základě počtu dvojných vazeb připojených k aromatickému jádru, zatímco tetracyklické triterpeny jsou klasifikovány podle polohy a počtu dvojných vazeb v aromatickém jádru (Zhang *et al.*, 2013). Kadidla z *Boswellia carterii* a *Boswellia sacra* mají podobné chemické složení, zahrnující kyselinu lupeolovou, boswellové kyseliny a jejich O-acetylové deriváty. Naproti tomu kadidlo z *Boswellia serrata* je charakteristické přítomností tirukalanských a euphanských triterpenoidů, které se běžně nevyskytují v ostatních druzích těchto dřevin. *Boswellia frereana* se odlišuje obsahem pouze lupeolu a 3-epi-lupeolu (Mathe *et al.*, 2004).

Analýza triterpenoidních metabolitů z pryskyřice různých druhů *Boswellia* může napomoci v rozlišení různých druhů této léčivé rostliny. Dříve byly k identifikaci zdroje kadidla používány diterpeny a aromatické látky jako hlavní diagnostické markery. Běžné byly metody

jako mikroextrakce na pevné fázi nebo tenkovrstvá chromatografie (TLC). Další výzkumy však ukázaly užitečnost triterpenoidních pryskyřičných metabolitů jako specifických markerů pro jednotlivé druhy. Hlavními metodami používanými pro detekci těchto markerů jsou dnes TLC a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) (Zhang *et al.*, 2013).

3.4.1 Antimikrobiální vlastnosti boswellových kyselin

Antimikrobiální účinky boswellových kyselin jsou v mnoha studiích dobře zdokumentovány. Hlavním zdrojem těchto kyselin s výraznou antibakteriální aktivitou je *Boswellia serrata*. Zejména 3-hydroxy-11-keto- β -boswellová kyselina vykazuje slibné antiproliferativní a antimikrobiální vlastnosti. Přestože boswellové kyseliny jako celek prokazují dobré antimikrobiální účinky, tyto účinky se vytrácejí při individuálním testování jednotlivých kyselin. (Gupta *et al.*, 2022). Tato konkrétní kyselina působí antimikrobiálně, a to i když byla testována samostatně. Acetyl-11-keto- β -boswellová kyselina byla testována proti různým patogenním bakteriálním izolátům, přičemž prokázala účinnost v lokální léčbě bakteriálních infekcí, jako jsou např. popáleniny infikované *Staphylococcus aureus* (Chhibber *et al.*, 2020). Kromě toho je tato kyselina často obsažena v ústních vodách (Raja *et al.*, 2011). Výtažky z *Boswellia serrata* se 35% směsí acetyl- β -boswellové kyseliny a 3-acetyl-11-keto- β -boswellové kyseliny mají významnou antimikrobiální aktivitu, zejména proti bakteriím rodu *Streptococcus* a *Escherichia coli* (Weckesser *et al.*, 2007). Naopak např. extrakty z *Boswellia dalzielii* vykazují slabší antimikrobiální aktivitu. Toto zjištění zdůrazňuje variabilitu v antimikrobiální aktivitě mezi různými druhy *Boswellia* (Schillaci *et al.*, 2008; Tegasne *et al.*, 2021).

Boswellové kyseliny jsou klíčové pro vývoj nových antimikrobiálních přípravků, neboť jsou schopny inhibovat tvorbu a rozpad biofilmů. Tento efekt je zřejmě spojen s vysokým obsahem terpenových látek v extraktech z *Boswellia serrata*. Další studie ukázaly, že terpenoidy, které jsou součástí boswellových kyselin, mají schopnost rušit proces quorum sensing, tedy proces klíčový pro bakteriální komunikaci a organizaci biofilmů. Tato aktivita může narušit strukturu a stabilitu biofilmů, což představuje nový způsob boje proti bakteriálním infekcím a zvyšuje účinnost léčby (Barbieri *et al.*, 2017).

3.4.1.1 Antimikrobiální účinky acetyl-11-keto- β -boswellové kyseliny

Acetyl-11-keto- β -boswellová kyselina (AKBA) je známá svými výraznými antibakteriálními vlastnostmi. Studie odhalily, že AKBA je účinná proti různým klinickým izolátům a referenčním kmenům Gram-pozitivních bakterií. Byla hodnocena antibakteriální

aktivita acetyl-11-keto- β -boswellové kyseliny např. proti patogenům dutiny ústní. Konkrétně se jednalo o kmeny *Streptococcus mutans* a *Actinomyces viscosus*. Výsledky ukázaly, že AKBA účinně inhibuje růst těchto bakterií a má také schopnost snižovat počty životaschopných buněk v biofilmech. Součástí studie bylo i porovnání účinnosti AKBA s jinými boswellovými kyselinami. Výsledky potvrdily, že AKBA byla antimikrobiálně nejúčinnější ze čtyř testovaných boswellových kyselin. AKBA vykazovala MIC v rozmezí 2–4 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Keto- β -boswellová kyselina a boswellová kyselina měly proti zmíněným Gram-pozitivním bakteriím střední antibakteriální aktivitu (MIC přibližně 8–64 $\mu\text{g}/\text{mL}$), zatímco acetyl-boswellová kyselina neprokázala žádnou antibakteriální aktivitu až do koncentrace 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Všechny testované sloučeniny byly bakteriostatické, s minimální baktericidní koncentrací (MBC) vyšší než 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Výsledky potvrdily bakteriostatickou aktivitu AKBA při všech testovaných koncentracích. Nejvyšší účinek byl pozorován při koncentracích 16 a 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Koncentrace 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ AKBA zcela potlačila vznik rezistentních kmenů *Streptococcus mutans*. AKBA také účinně inhibovala tvorbu biofilmů *Streptococcus mutans* a *Actinomyces viscosus* a snížila počty buněk v již vytvořených biofilmech těchto bakteriálních patogenů. Studie je prvním dokumentovaným důkazem, že AKBA může předcházet tvorbě biofilmů vytvořených těmito bakteriemi nebo je dokonce i redukovat (Raja *et al.*, 2011).

Streptococcus mutans a *Actinomyces viscosus* nejsou jediné Gram-pozitivní bakterie, na které AKBA působí antimikrobiálně. Acetyl-11-keto- β -boswellová kyselina vykazovala antimikrobiální aktivitu i proti methicilin-rezistentnímu *Staphylococcus aureus* (MRSA). U tohoto patogenu byla MIC stanovena v rozmezí 4–8 $\mu\text{g}/\text{mL}$. *Staphylococcus aureus* je všudypřítomný patogen, představující významnou hrozbu svou schopností vyvolávat různé typy infekcí, a to od nozokomiálních až po kožní a invazivní onemocnění. Může formovat perzistentní buňky a biofilmy s vysokou rezistencí k antibiotikům. Významnou skupinou rodu *Staphylococcus* jsou methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA). Tato specifická skupina stafylokoků si vyvinula rezistenci vůči methicilinu a dalším β -laktamázovým antibiotikům. Rezistence MRSA činí léčbu infekcí způsobenou tímto druhem složitější a často vyžaduje použití jiných typů antibiotik nebo kombinaci léčby. Proto se nové studie zaměřují na přírodní látky, které by byly schopné snížit procento rezistentních kmenů tohoto mikroba (Xu, 2020). Po opakovaném vystavení izolátů MRSA a acetyl-11-keto- β -boswellové kyselině nedošlo ke vzniku sekundární rezistence. Mikroby byly vystaveny účinkům AKBA po dobu dvaceti dní. Bylo také zjištěno, že AKBA mimo jiné dokáže inhibovat tvorbu biofilmů MRSA

a efektivně likviduje bakteriální buňky. AKBA testována v modelu abscesu a zapříčinila výraznou redukci abscesu eliminací počtu životaschopných buněk. To se projevilo snížením zánětlivé reakce. Současně s antimikrobiálními účinky byla zkoumána také toxicita AKBA. Důraz byl kladen především na její bezpečnost, analýzu hemolytické aktivity a cytotoxicitu. V těchto testech prokázala minimální, případně žádnou škodlivost, a to i při vyšších koncentracích (Li a Ma, 2024).

3.4.1.2 Synergické působení boswellových kyselin a vybraných antibiotik

Kombinace boswellových kyselin s antibiotiky může poskytnout nové možnosti eliminace biofilmů a zlepšit účinnost antibiotické terapie proti rezistentním bakteriálním kmenům (Raja *et al.*, 2011). Kombinace AKBA např. s gentamicinem nebo amikacinem zesiluje účinek kyseliny proti MRSA (Li a Ma, 2024). Synergické účinky boswellových kyselin byly také testovány spolu s antibiotiky erythromycinem (ERM) a polymyxinem B (PMB). ERM (makrolidové antibiotikum) je účinné zejména na Gram-pozitivní koky, inhibuje syntézu proteinů mikrobiální buňky a je využíván k léčbě mnoha bakteriálních onemocnění. PMB (polypeptidové antibiotikum) je využíván na léčbu infekcí způsobené Gram-negativními bakteriemi. Polymyxin narušuje permeabilitu buněčné membrány díky interakci s fosfolipidy, a je považován za potenciální řešení destrukce bakteriálního biofilmu (Falagas *et al.*, 2014). Studie zaměřená na tento aspekt testovala kombinaci antibiotik s extrakty *Boswellia* proti běžným patogenům. Výsledky ukázaly, že ERM i PMB interagují s extraktem kyseliny boswellové (Jaroš *et al.*, 2022a).

Testované bakterie (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* a *Escherichia coli*) byly pozorovány v suspenzi s nízkou koncentrací bakteriálních buněk (0,3–0,5 mg/L). Byly testovány také kyseliny získané z *B. serrata*. V tomto případě se MIC pohybovala v rozmezí 20–150 mg/L v závislosti na druhu bakterie. Nejsilnější aditivní účinek byl pozorován u bakteriálního kmene *Enterococcus faecalis* v kombinaci s 0,2 mg/L erythromycinu a 16 mg/L extraktu boswellové kyseliny. Samotné boswellové kyseliny, jako acetyl- β -boswellová kyselina (ABA) a 3-acetyl-11-keto- β -boswellová kyselina, mají různé účinky. Např. AKBA dokázala snížit potřebnou účinnou koncentraci antibiotik a vykazovala MIC₈₀ 4 mg/L. V případě *S. epidermidis* vedla kombinace 0,3 mg/L erythromycinu s 42 mg/L extraktu boswellových kyselin k významnému snížení minimální účinné koncentrace tohoto antibiotika. Kombinace polymyxinu B a extraktu boswellové kyseliny byla méně účinná proti Gram-negativní *E. coli*, s nejefektivnější kombinací 0,14 mg/L polymyxinu B a 42 mg/L

extraktu. Kombinace vedla k poklesu růstu na pouze 18 %. Kmeny *E. coli* se ukázaly být odolnější vůči účinkům přírodního extraktu. Všechny testované bakteriální kmeny byly citlivější na účinky antibiotik než na přírodní extrakt *Boswellia* v koncentračním rozmezí 10–100 mg/L, přičemž byl pozorován aditivní účinek antimikrobiálního činidla a přírodního extraktu (Jaroš *et al.*, 2022a).

V rámci studie byly boswellové kyseliny zkoumány jako potenciální inhibitory MurA. Primární screening zahrnoval stovky vzorků přírodních sloučenin a identifikoval β -boswellovou kyselinu, acetyl- β -boswellovou kyselinu a acetyl-11-keto- β -boswellovou kyselinu jako účinné inhibitory. Tyto kyseliny prokázaly MIC₅₀ v rozmezí 30,1–37,6 μ M. Přítomnost substrátu UDP-GlcNAc během předinkubace s inhibitory významně snižovala hodnoty MIC₅₀. Sloučenina tedy interagovala se substrátem. Mechanismus inhibice byl dále prozkoumán pomocí Lineweaver-Burkovy křivky, která odhalila nekompetitivní inhibici vzhledem k substrátům UDP-GlcNAc a PEP. Výsledek vypovídá o navázání boswellové kyseliny na alosterické místo enzymu MurA. Boswellové kyseliny tímto mechanismem zpomalují katalytickou aktivitu enzymu bez přímé konkurence s přirozenými substráty. Toto tvrzení potvrdily i dokingové testy. Významné interakce boswellových kyselin s aminokyselinami v aktivním místě (Arg91 a Lys160) by mohly být klíčové pro jejich inhibiční účinek (Raina *et al.*, 2022).

3.4.2 Protizánětlivé vlastnosti boswellových kyselin

Boswellové kyseliny jsou důležité také pro své výrazné protizánětlivé a imunomodulační účinky. Díky svým vlastnostem jsou tyto kyseliny zkoumány pro možné využití v prevenci a léčbě zánětlivých procesů spojených s mikrobiálními infekcemi. Výzkumy ukazují, že boswellové kyseliny mohou efektivně inhibovat produkci a aktivitu cytokinů, které hrají klíčovou roli v imunitní odpovědi a zánětlivých reakcích. Boswellové kyseliny účinkují protizánětlivě inhibicí enzymů zodpovědných za produkci prozánětlivých mediátorů (leukotrieny a prostaglandiny). Kyseliny efektivně snižují symptomy zánětu a nabízejí alternativní terapii pro pacienty např. s alergickou rinitidou a dalšími atopickými poruchami (Allenova a Darlenski, 2023). Tato vlastnost je zásadní pro potenciální terapeutické využití boswellových kyselin v klinických aplikacích zaměřených na imunomodulaci a zmírnění zánětů. Při zkoumání pryskyřice z rodu *Boswellia* byly pomocí metod destilace s vodní parou a chromatografie izolovány a identifikovány hlavní složky odpovědné za protizánětlivé účinky. Tyto látky představovali hlavně boswellové kyseliny a terpeny. Výsledky GC-MS ukázaly,

že oktylacetát, 3-karen, D-limonen a farnesylacetát jsou hlavními komponentami extrahovaného éterického oleje a jsou zásadní pro protizánětlivé účinky (DeCarlo *et al.*, 2020).

Moderní nanotechnologie otevírají nové možnosti pro aplikaci boswellových kyselin. Byly vyvinuty nanokompozitní systémy na bázi cyklodextrinů, které zvyšují stabilitu, rozpustnost a biologickou dostupnost těchto látek. Nanočástice umožňují přesnější zaměření na zánětlivé tkáně a kontrolované uvolňování účinných látek, což snižuje potřebu častého podávání a omezuje riziko vedlejších efektů. Klinické a modelové studie na zvířatech potvrdily, že nanoformulace boswellových kyselin výrazně redukuje zánětlivé biomarkery a zlepšují symptomy respiračních alergií. Tato pozorování naznačují, že boswellové kyseliny mohou účinně ovlivnit zánětlivé procesy a nabídnout zlepšení kvality života pacientů (Bianco *et al.*, 2000; Bocsan *et al.*, 2022).

3.4.2.1 Vliv boswellových kyselin na enzym 5-lipoxygenázu a syntézu leukotrienů

Boswellové kyseliny, přirozeně se vyskytující ve pryskyřici *Boswellia serrata*, jsou známé svými inhibičními účinky na enzym 5-lipoxygenázu. Jedním z nejúčinnějších inhibitorů 5-(LOX) je 3-O-acetyl-11-keto-boswellová kyselina, a to s hodnotami IC₅₀ mezi 1,5–50 μM. Experimenty s lidskou rekombinantní 5-(LOX) exprimovanou v *E. coli* prokázaly, že AKBA a jiné β-konfigurované boswellové kyseliny inhibují produkci 5-(LOX) produktů koncentračně závislým způsobem (Werz a Steinhilber, 2006). Další výzkum s izolovanými lidskými neutrofilami ukázal, že AKBA a další boswellové kyseliny účinně potlačují tvorbu produktů 5-(LOX). V těchto testech byly hodnoty IC₅₀ pro AKBA 3,2 μM, zatímco pro ostatní testované sloučeniny byly vyšší než 8 μM. Ačkoliv boswellové kyseliny vykázaly významnou *in vitro* aktivitu proti 5-(LOX), jejich účinnost ve fyziologicky relevantních testech (např. zkoušky s plnou krví) byla omezená. Vysoká afinita těchto sloučenin k albuminu může bránit jejich dostupnosti a interakci s 5-(LOX) v těchto testech (Siemoneit *et al.*, 2009).

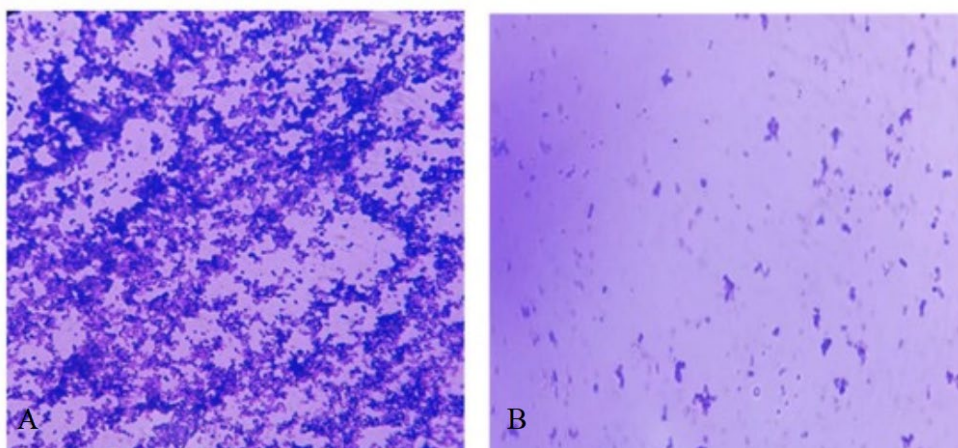
Přípravky z kadidla mohou být účinné při léčbě některých zánětlivých onemocnění, ale potlačení tvorby leukotrienů *in vivo* zůstává nejisté. Boswellové kyseliny prokázaly silnou inhibici 5-(LOX) *in vitro*, ale je důležité vzít v úvahu všechny fyziologické a farmakokinetické faktory, které mohou ovlivnit jejich účinnost *in vivo*. Právě tyto faktory budou klíčem k pochopení a využití protizánětlivých účinků kadidla v medicíně (Siemoneit *et al.*, 2009).

3.5 Antimikrobiální účinky kadidlovníku

Esenciální oleje z kadidla byly běžně používány k léčbě mikrobiálních infekcí již od 11. století (Di Stefano *et al.*, 2020). Studie farmakologických aktivit esenciálních olejů odhalují jejich

široké spektrum léčebných účinků, vč. antimikrobiální a antibiofilmové aktivity proti lidským patogenům (Basar *et al.*, 2005). Zajímavý je účinek výtažku *Boswellia* na patogenní bakterii *Porphyromonas gingivalis*. Extrakt *Boswellia* je schopný efektivně potlačit růst a tvorbu biofilmů *P. gingivalis*. Tento mikrob je hlavním patogenem zánětlivého stavu známého jako chronická parodontitida (CP) (Attallah *et al.*, 2021) v dutině ústní a na povrchu zubů. *Porphyromonas* společně s dalšími mikroorganismy vytváří v subgingiválních kapsách biofilm. K prevenci a řízení tohoto onemocnění je často nutné provést očištění kořenových povrchů zubů, které odstraňuje bakterie a zánětlivé látky. Po několika týdnech však může dojít k opětovnému osídlení bakterií a zhoršení stavu. Při opětovném osídlení subgingiválních prostor je nezbytný další zásah v podobě lokálních antiseptik nebo antibiotik. Také extrakt *Boswellia sacra* prokázal silné antibakteriální účinky proti *Porphyromonas gingivalis* (Nomura *et al.*, 2021).

V nedávné studii byl zkoumán účinek extraktu *Boswellia* na růst a uspořádání biofilmu bakterie *Porphyromonas gingivalis*. Použitím difúzní agarové metody bylo zjištěno, že minimální inhibiční koncentrace (MIC) tohoto extraktu se pohybovala mezi 500–1000 $\mu\text{g/mL}$. Při aplikaci extraktu v koncentraci odpovídající $0,5 \times \text{MIC}$, došlo k významnému poklesu růstu u 58,3 % testovaných izolátů *Porphyromonas gingivalis*. Výsledek vypovídá o poškození bakteriální membrány a uvolnění důležitých organel a zásobních látek z buněk. U 50 % testovaných izolátů bylo po expozici zjištěno také významné snížení hydrofobity povrchu. Pokles hydrofobních vlastností bakteriálních membrán může omezit schopnost tvorby mikrobiálního biofilmu. Schopnost redukce biofilmu extraktem *Boswellia* je patrná z obrázku č. 6. Testovaný biofilm byl složený převážně z bakterií *Porphyromonas gingivalis*. Extrakt *Boswellia* použitý pro testování efektivně potlačil mimo jiné tvorbu biofilmů u pěti izolátů *P. gingivalis*. Tato hodnota představuje přibližně 41,67 % všech testovaných izolátů. Za výsledek je pravděpodobně odpovědná snížená exprese genů zodpovědných za produkci extracelulárních polysacharidů (EPS). Extracelulární polysacharidy mají podstatný význam pro strukturu, funkci a přežití mikrobů v biofilmech. Kromě toho slouží EPS jako zdroj živin a jsou zásadní pro mezibuněčnou komunikaci v biofilmech (Attallah *et al.*, 2021).



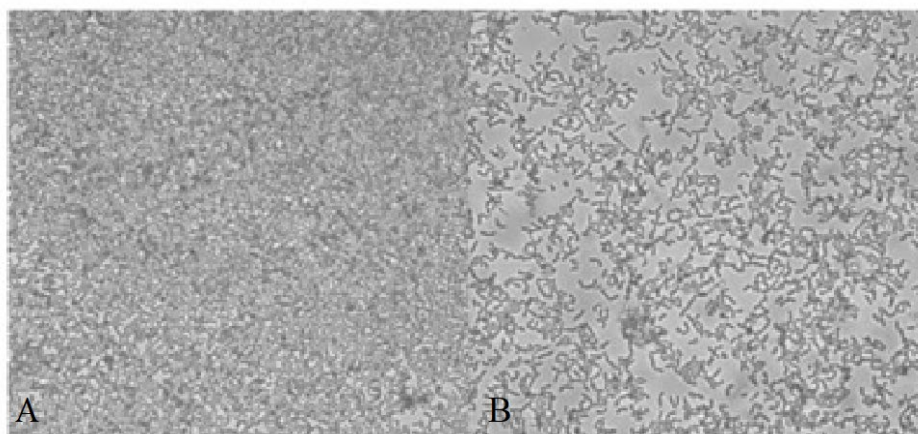
Obrázek č. 6: Snížení tvorby biofilmu u izolátů *P. gingivalis* účinkem extraktu *Boswellia sacra* (Attallah *et al.*, 2021).

Pozn.: (A) Biofilm *P. gingivalis* před aplikací extraktu *Boswellia sacra*; (B) Biofilm *P. gingivalis* po aplikaci extraktu *Boswellia sacra*.

Esenciální olej z *Boswellia serrata* je z velké části tvořen α -pinenem (45 %). Látka působí protizánětlivě a antimikrobiálně prostřednictvím interakce s prostaglandinem E1. Prostaglandin E1 je typ hormonu lipidového charakteru, který se v těle syntetizuje z mastných kyselin. Jedná se o silný regulátor zánětlivých procesů a imunitní odpovědi. Snižuje zánět modulací imunitních reakcí a zlepšuje průtok krve (Nissen *et al.*, 2010). Další významné komponenty esenciálního oleje *B. serrata* jsou α -thujon a sabinen. Stejně jako α -pinen mají tyto monoterpeny protizánětlivé vlastnosti a podílejí se na hojení drobných zranění. Pryskyřice na rozdíl od esenciálního oleje *Boswellia serrata* obsahuje čtyři hlavní pentacyklické triterpenové kyseliny, vč. kyseliny β -boswelové a jejích derivátů. Acetyl-11-keto- β -boswelová kyselina (AKBA), zvláště významná pro svou schopnost inhibovat 5-lipoxygenázu, hraje klíčovou roli v mediaci zánětlivých reakcí. Inhibice 5-lipoxygenázy zasahuje do syntézy DNA, RNA a proteinů, což vede k významnému snížení degradace glykosaminoglykanů, zásadních složek extracelulární matrix mikroorganismů. Výtažky z *Boswellia serrata* vykazují antimikrobiální účinky proti Gram-pozitivním bakteriím.

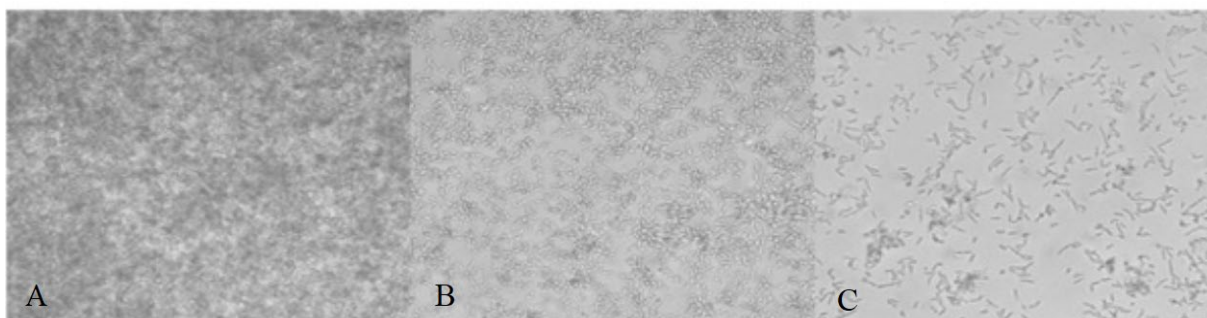
Antimikrobiální účinnost boswelových extraktů se neomezuje pouze na bakterie, ale vykazují také antifungální aktivitu. Příkladem je účinnost extraktů *Boswellia* na kvasinku *Candida albicans* (Jaroš *et al.*, 2022b). *Candida albicans* často vytváří biofilmy na umělých površích jako jsou katétry a zubní náhrady. K léčbě mykóz jsou běžně používány azolové přípravky (např. flukonazol). Kmeny *C. albicans* ale začínají proti těmto přípravkům vykazovat rezistenci. Výzkum byl zaměřen na účinnost extraktu *Boswellia serrata* na planktonní buňky

a biofilmy kmenů *C. albicans*. Studie prokázaly, že extrakt *Boswellia serrata* má výrazný inhibiční účinek na biofilm těchto kvasinek. Minimální inhibiční koncentrace (MIC50) extraktu pro *C. albicans* byla stanovena na 20 mg/L, což svědčí o jeho silné antifungální aktivitě. Filamentózní forma *C. albicans* je pokládána za jeden z hlavních virulentních faktorů, který umožňuje snazší adhezi buněk k povrchům. Obrázky č. 7 a 8 ukazují morfologii buněk *C. albicans* v přítomnosti boswellových kyselin obsažených v extraktu *B. serrata* a v přítomnosti flukonazolu (24 hodin starý biofilm). Není však možné tvrdit, že extrakty *Boswellia* mají vliv na virulenci *C. albicans*. Jak je patrné z obrázků, eliminace planktonních buněk (MIC) není obtížná. Odstranění buněk ve formě vysoce strukturovaného biofilmu je však problematické. Účinné koncentrace různých rostlinných extraktů nebo éterických olejů pro inhibici tvorby biofilmu jsou násobkem MIC pro planktonní buňky. Avšak ani několikanásobně vyšší koncentrace neinhibují tvorbu biofilmu se 100% účinností. Mechanizmy účinku přírodních látek na buňky *Candida* nejsou přesně známy, ale jsou spojeny s aktivitou zaměřenou na inhibici virulence buněk, inhibicí buněčné stěny nebo syntézou buněčné membrány a indukcí apoptózy buněk. Vzhledem k účinkům přírodních látek na rod *Candida* je vhodné testovat je společně s antifungálními léčivými. Podle současných studií mají tyto kombinace synergický efekt (Jaroš *et al.*, 2022b).



Obrázek č. 7: Účinek flukonazolu na tvorbu biofilmu *C. albicans* (Jaroš *et al.*, 2022b).

Pozn.: (A) Biofilm *C. albicans* před aplikací flukonazolu; (B) Biofilm *C. albicans* po aplikaci flukonazolu o koncentraci 100 mg/L (MBIC50).



Obrázek č. 8: Účinek boswellových kyselin na tvorbu biofilmu *C. albicans* (Jaroš *et al.*, 2022b).

Pozn.: (A) Biofilm *C. albicans* před aplikací boswellových kyselin (kontrolní vzorek); (B) Biofilm *C. albicans* po kultivaci v médiu s obsahem boswellových kyselin (100 mg/L); (C) Biofilm *C. albicans* po kultivaci v médiu s obsahem boswellových kyselin (500 mg/L).

3.5.1 Chemická analýza a antimikrobiální účinky kouře z kadidla *Boswellia sacra*

Kouř vznikající spalováním kadidla *Boswellia sacra* představuje zajímavý výzkumný objekt z hlediska potenciálního antimikrobiálního účinku. Chemická analýza kouře byla provedena využitím metody GC-MS (plynová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií). Byly identifikovány monoterpeny jako α -pinen a limonen, které jsou známy svými antimikrobiálními vlastnostmi. Kouř dále obsahoval seskviterpeny a různé aromatické sloučeniny, které mohou též přispívat k celkové antimikrobiální aktivitě (Gurib-Fakim, 2006). Bylo zjištěno, že kadidlový kouř je složen z pevných částic různých velikostí. Částice měly široké rozpětí průměrné velikosti od 0,8 μM až po 2287,4 μM . Tato variabilita ukazovala na heterogenní povahu pevných částic v kouři. Částice měly nepravidelný tvar, což mohlo ovlivnit jejich schopnost usazovat se v respiračním traktu (Vaou *et al.*, 2021).

Dále byly testovány účinky kadidlového kouře na různé bakterie a kvasinky (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Candida albicans*). Pryskyřice *Boswellia* byla spalována na hliníkové misce umístěné nad zdrojem tepla. Vzduch obsahující kouř byl poté zaveden do kontaktních komor s přítomností testovaných mikroorganismů (Tulp a Bohlin, 2004). K vyhodnocení antimikrobiální účinnosti kouře byly využity dvě metody. Disková difúzní metoda zahrnovala aplikaci sterilních disků nasycených kouřem na agarové destičky, na kterých byly inokulovány testované mikroorganismy. Po inkubaci byly analyzovány zóny inhibice kolem disků. Mikrodiluční metodou v bujónu byly testovány různé koncentrace kouře na jejich schopnost inhibovat růst mikroorganismů. Růst mikrobů byl kvantifikován měřením absorbance. Výsledky ukázaly, že kouř z kadidla vykazoval střední až vysokou antimikrobiální účinek proti *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*, avšak účinek na *Candida albicans* byl slabší (Al-Kharousi *et al.*, 2023).

Tyto závěry naznačují, že kouř z kadidla by mohl být efektivním přírodním antimikrobiálním prostředkem proti některým bakteriím, i když účinnost se liší v závislosti na typu mikroorganismu (Al-Kharousi *et al.*, 2023). Jeho schopnost inhibovat růst mikroorganismů by mohl být využit pro sanitaci vzduchu v prostorách, kde je zvýšené riziko mikrobiální kontaminace. Kouř z kadidla může sloužit také jako přírodní konzervační prostředek při zpracování potravin, kde by jeho aplikace mohla pomoci snížit používání syntetických konzervantů (Mothana a Lindequist, 2005). Přestože kadidlový kouř vykazoval slibné výsledky v laboratorních testech, je nutné provést další studie k potvrzení jeho bezpečnosti a účinnosti v reálných aplikacích. Výzkum by měl také pokračovat v izolaci a charakterizaci jednotlivých aktivních složek kadidlového kouře, a to pro lepší pochopení mechanismů jejich antimikrobiálního účinku a potenciálně vyvinout nové antimikrobiální substance založené na těchto přírodních sloučeninách (Khalifa *et al.*, 2023).

3.5.2 Vliv extraktů *Boswellia* na nozokomiální patogeny

Nozokomiální infekce představují značný problém, zvláště když jsou spojeny s rezistencí mikroorganismů na léčiva. K těmto infekcím dochází během hospitalizace pacienta v nemocničním zařízení. Bylo zjištěno, že 7 % hospitalizovaných pacientů trpí nějakou nozokomiální infekcí. Vysoká prevalence těchto onemocnění je spojena s delším pobytem v nemocnici, antimikrobiální rezistencí původců těchto infekcí, zvýšenou mírou invalidity a úmrtnosti. Mezi typické nozokomiální infekce získané v nemocnicích patří např. infekce chirurgických ran nebo měkkých tkání. Multirezistentní bakterie (např. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae*) jsou hlavními původci těchto infekcí (Khan *et al.*, 2022).

Pryskyřice *Boswellia serrata* byla zkoumána kvůli jejím možným antibakteriálním vlastnostem proti patogenům zodpovědným za nozokomiální infekce. V rámci studie byla využita *in silico* metoda molekulového dokování, která se zaměřila na fytoaktivní sloučeniny *Boswellia* s možnými antimikrobiálními účinky. Zvláštní pozornost byla věnována interakci těchto extraktů s adenzinmonofosfátovým cyklem (AMPc) dané mikrobiální buňky. AMPc je u mikroorganismů důležitý pro přenos signálů. Cyklus umožňuje mikrobům adaptovat se na změny v externím prostředí aktivací nebo inhibicí specifických enzymatických drah. Tyto dráhy mají zásadní vliv na metabolismus mikroorganismů, expresi genů a interakce s hostitelskými buňkami. Studie se soustředila na vyhodnocení antibakteriálního účinku extraktů získaných z pryskyřice *Boswellia serrata* proti významným nozokomiálním patogenům (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter baumannii*).

Jednotlivé složky extraktu byly identifikovány a získány pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. V různých extraktech *Boswellia serrata* bylo odhaleno patnáct fytochemických sloučenin. Nejdůležitější identifikovanou sloučeninou byl β -santalol, který představoval 45,36 % chromatografické plochy píku. Dále byly identifikovány významné sloučeniny jako pyren, kyselina cholanová a 3,12-bis(acetyloxy)cholanová (Vakayil *et al.*, 2024).

Dokingové studie ukázaly afinitu bioaktivních sloučenin z *Boswellia serrata* ke klinicky účinným antibiotikům. Mezi testovaná antibiotika patřil tetracyklin a vankomycin, která prokázala vysokou odolnost proti β -laktamázám sledovaných mikroorganismů. Výsledky dokingové analýzy potvrdily silnou afinitu těchto antibiotik. Antibiotika tedy proti β -laktamáza-pozitivním kmenům působí stabilně. Kyselina cholanová a 3,12-bis(acetyloxy)cholanová prokázaly významnou vazebnou afinitu proti všem testovaným bakteriím. Dále se ukázalo, že ligandy jako 5(1H)-azulenon a pyren mají vysokou afinitu k různým testovaným patogenům, což naznačuje jejich potenciální širokospektré inhibiční účinky. Dokování molekul na β -laktamázu u různých bakteriálních druhů ukazuje, že ligand CID14969 má u bakterie *Acinetobacter baumannii* nejsilnější interakci (skóre je 8,8). Tento ligand je vysoce afinitní k proteinu díky mnoha vazebným a nevazebným interakcím mezi ligandem a aktivními místy enzymu. Efektivně blokuje enzymatickou aktivitu vazbou na klíčová místa, nezbytnou pro katalytickou funkci β -laktamázy. Vazba potenciálně inhibuje schopnost enzymu štěpit β -laktamová antibiotika. Tato skutečnost může vést k vývoji účinného inhibitoru pro léčbu bakteriálních infekcí způsobených nozokomiálními patogeny. Naopak nejslabší interakci (nejvyšší skóre) vykázal ligand CID10807 u *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter baumannii* s hodnotami 3,7 a 3,8. Slabší interakce znamenají nedostatečnou afinitu ligandu k aktivnímu místu enzymu. Nedostatečná afinita ligandu je způsobena strukturálními nekompatibilitami mezi ligandem a enzymem nebo nedostatečným pokrytím klíčových vazebních míst na proteinu. Tyto ligandy pravděpodobně nebudou účinné jako klinicky využitelné inhibitory (Vakayil *et al.*, 2024).

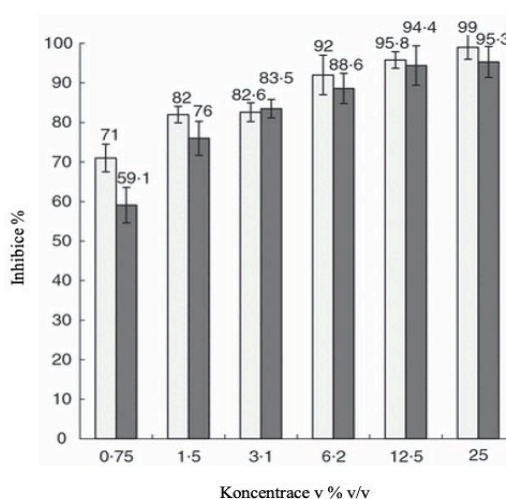
Výzkum prokázal přítomnost bioaktivních sloučenin v *Boswellia serrata*, které vykazují antibakteriální účinky proti nozokomiálním patogenům odolným vůči antibiotikům. Testované fytoextrakty účinně potlačily růst těchto bakterií, přičemž každý extrakt působil rozdílně v závislosti na druhu patogenní bakterie. Největší efektivitu proti *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* prokázaly hydroethanolicke a vodné extrakty *Boswellia*, zatímco proti *Acinetobacter baumannii* byla antimikrobiální aktivita pouze střední úrovně. Nejvyšší inhibice

bakteriálního růstu byla zaznamenána při koncentracích 60 µg/mL. Dále bylo zjištěno, že tyto patogeny (vč. *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *A. baumannii*) jsou méně citlivé na vankomycin než na extrakt z *B. serrata* (Vakayil *et al.*, 2024).

3.6 Antibiofilmové vlastnosti *Boswellia*

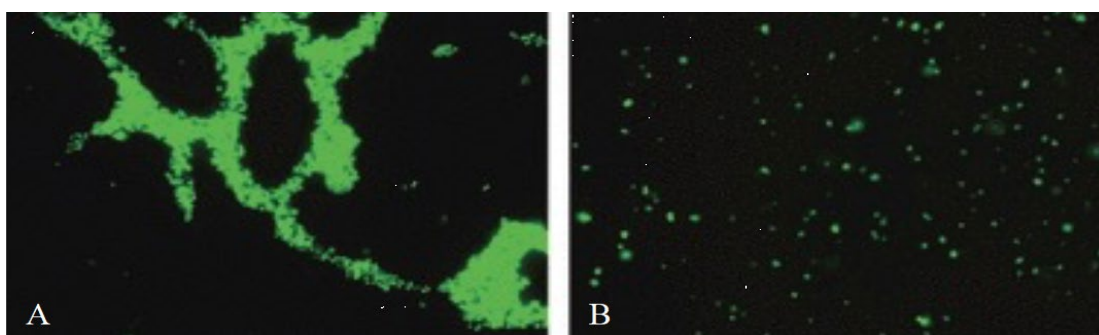
Díky svým antimikrobiálním vlastnostem jsou extrakty *Boswellia* i možnými antibiofilmovými činidly. Antibiofilmová aktivita výtažků *Boswellia* byla popsána na komerčně dostupných produktech, které tyto látky obsahují. Byly např. testovány esenciální oleje čtyř druhů pryskyřic *Boswellia* (*Boswellia carteri*, *Boswellia papyrifera*, *Boswellia serrata* a *Boswellia rivae*). Studie hodnotila antibiofilmové vlastnosti esenciálních olejů *B. papyrifera* a *B. rivae*. Tyto dva druhy EO byly vybrány, protože vykazovaly nejlepší aktivitu z hlediska MIC proti planktonním referenčním kmenům stafylokoků a *C. albicans* (Camarda *et al.*, 2007). Esenciální oleje byly analyzovány pomocí plynového chromatografu. V EO *Boswellia papyrifera* byly hlavními složkami n-oktylacetát a n-oktanol. Olej *Boswellia rivae* obsahoval především limonen (Schillaci *et al.*, 2008).

Methylthiazotetrazoliovou metodou byla testovaná citlivost stafylokokových biofilmů na esenciální olej z pryskyřice *B. papyrifera*. MTT testu byly podrobeny předem vytvořené 24 hodin staré biofilmy *S. epidermidis* a *S. aureus*. Jak zobrazuje graf na obrázku č. 9, při koncentracích esenciálních olejů 6,8–217 µg/mL (0,75–25 % v/v) vykazoval olej výraznou aktivitu. Procenta inhibice se pohybovala v rozmezí 71–99 %. Proti biofilmům *S. epidermidis* a *S. aureus* byla procenta inhibice v hodnotách 59,1–95,32 % (Schillaci *et al.*, 2008).



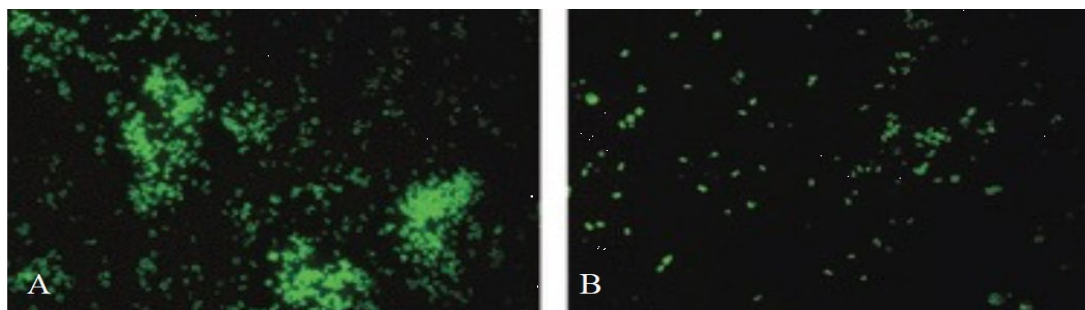
Obrázek č. 9: *In vitro* antibiofilmová aktivita esenciálního oleje *B. papyrifera* proti biofilmům *S. epidermidis* a *S. aureus* (Schillaci *et al.*, 2008).

Mimo jiné byla také hodnocena antibiofilmová aktivita EO proti methicilin-rezistentním kmenům *S. epidermidis*. Výsledky byly hodnoceny pomocí fluorescenční mikroskopie a jsou znázorněny na obrázcích č. 10 a 11. Esenciální olej získaný z pryskyřice *B. papyrifera* vykazoval antibiofilmový účinek při koncentraci 4,5 µg/mL (0,5 % v/v). Látky obsažené v EO zabránily adhezi bakterií a tvorbě biofilmu již při sub-minimální inhibiční koncentraci (sub-MIC) 0,27 µg/mL. Antibiofilmová aktivita byla zjištěna v rozmezí koncentrací 42,6–98,8 % (Schillaci *et al.*, 2008).



Obrázek č. 10: Antibiofilmová aktivita esenciálního oleje *Boswellia papyrifera* v případě biofilmu *S. epidermidis* po 48 h (Schillaci *et al.*, 2008).

Pozn.: (A) 48 hodin starý biofilm *S. epidermidis*; (B) 48 hodin starý biofilm *S. epidermidis* po ošetření 0,5% esenciálním olejem *Boswellia papyrifera*.



Obrázek č. 11: Antibiofilmová aktivita esenciálního oleje *Boswellia papyrifera* v případě biofilmu *S. epidermidis* po 24 h (Schillaci *et al.*, 2008).

Pozn.: (A) 24 hodin starý biofilm *S. epidermidis*; (B) 24 hodin starý biofilm *S. epidermidis* po ošetření 0,3% esenciálním olejem *Boswellia papyrifera*.

Pro studium účinků extraktů *Boswellia* na *Candida albicans* byly použity esenciální oleje z *Boswellia rivae*. Byla aplikována methylthiazotetrazoliová metoda. Esenciální oleje z pryskyřice *Boswellia rivae* prokázaly vysokou antibiofilmovou aktivitu. Nejvyšší testovaná koncentrace 88,3 µg/mL (10 % v/v) způsobila 81,5% inhibici. Tato koncentrace je několikanásobně vyšší než MIC stanovená pro planktonní formu *C. albicans*, která byla 2,6 µg/mL (0,3 % v/v). Koncentrace 8,83 µg/mL (1 % v/v) byla méně účinná a inhibice dosahovala hodnoty 48,8 %. Inhibice biofilmu *C. albicans* byla pozorována i při koncentraci

44,1 µg/mL (5 % v/v), ve které dosáhla 68,5% inhibice. Pro srovnání lze uvést, že antifungální léčivo mikonazol vykazuje antibiofilmovou aktivitu při koncentraci 125 µg/mL. Mimo jiné byla také zkoumána preventivní účinnost esenciálního oleje z *Boswellia rivae* na tvorbu biofilmu *Candida albicans*. Byla použita koncentrace oleje nižší než MIC, konkrétně 0,88 µg/mL (0,1 % v/v). Inhibice biofilmu byla zaznamenána ve výši 37,9 % ve srovnání s kontrolním testem bez přítomnosti sledovaného esenciálního oleje. Avšak při nižší koncentraci 0,01 % v/v (0,088 µg/mL) nebyl pozorován žádný účinek (Schillaci *et al.*, 2008). Boswellové extrakty byly také testovány na biofilmech bakteriálních kmenů jako *Enterococcus faecalis* a *E. coli*. MIC stanovená pro boswellové extrakty u těchto patogenů ale naznačuje, že extrakty jsou méně účinné proti biofilmům, než doposud využívaná antibiotika. Nicméně v kombinaci s antibiotiky mohou významně snížit potřebné dávky léčiva pro eliminaci biofilmu (Jaroš *et al.*, 2022b).

Závěr

Boswellové kyseliny mají nejen antimikrobiální účinky, ale také antibiofilmovou aktivitu a protizánětlivé vlastnosti. Tyto vlastnosti zdůrazňují jejich široký terapeutický potenciál. Důležitým poznatkem je jejich schopnost bojovat proti tvorbě biofilmů. Biofilmy chrání bakterie před účinky antibiotik a zvyšují jejich odolnost, což je problematické při léčbě infekcí. Boswellové kyseliny jsou schopné inhibovat tvorbu biofilmů.

Kombinace boswellových kyselin s klinicky využívanými léčivy může přinést synergické efekty. Tím se zvyšuje jejich terapeutický účinek. V kombinaci s antibiotiky vykazují aditivní účinky na inhibici růstu bakterií. Výsledky studií naznačují potenciál boswellových kyselin (zejména kyseliny AKBA) jako nové třídy antimikrobiálních látek v léčbě bakteriálních infekcí. Jejich schopnost působit na různé typy bakterií, vč. rezistentních kmenů, a omezení tvorby biofilmů jsou slibné vlastnosti pro další výzkum a vývoj.

Nicméně je třeba provést další studie a klinické zkoušky, aby byla potvrzena účinnost a bezpečnost boswellových kyselin jako léčebného prostředku proti bakteriálním infekcím u lidí. Je také důležité zkoumat možné vedlejší účinky a interakce s jinými léky. Boswellové extrakty představují zajímavý potenciál v boji proti bakteriálním infekcím. Mohou přispět k rozvoji nových terapeutických strategií v léčbě infekčních onemocnění.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. **AHMEDA A., ZANGENEH M.M.** (2020). Novel green synthesis of *Boswellia serrata* leaf aqueous extract conjugated gold nanoparticles with excellent anti-acute myeloid leukemia property in comparison to mitoxantrone in a leukemic mice model: Introducing a new chemotherapeutic drug. *Applied Organometallic Chemistry*. 34(3). DOI: 10.1002/aoc.5344.
2. **AL-KHAROUSI Z. S., MOTHERSHAW A. S., NZEAKO B.** (2023). Antimicrobial activity of frankincense (*Boswellia sacra*) oil and smoke against pathogenic and airborne microbes. *Foods*. 12(18). DOI: 10.3390/foods12183442.
3. **ALLEN OVA A., DARLENSKI R.** (2023). The hen and the egg question in atopic dermatitis: allergy or eczema comes first. *Asthma Research and Practice*. 9(1). DOI: 10.1186/s40733-023-00090-2.
4. **ATTALLAH N. G. M., NEGM W. A., ELEKHNWY E.** (2021). Antibacterial activity of *Boswellia sacra* flueck. Oleoresin extract against *Porphyromonas gingivalis* periodontal pathogen. *Antibiotics*. 10(7), 859. DOI: 10.3390/antibiotics10070859.
5. **BALDUCCI E., PAPI F., CAPIALBI D. E., DEL BINO L.** (2023). Polysaccharides structures and functions in biofilm architecture of antimicrobial-resistant (AMR) pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*. 24(4), 4030. DOI: 10.3390/ijms24044030.
6. **BARBIERI R., COPPO E., MARCHESE A., DAGLIA M., SOBARZO-SÁNCHEZ E., NABAVIS. F., NABAVIS. M.** (2017). Phytochemicals for human disease: an update on plant-derived compounds antibacterial activity. *Microbiological Research*. 196, 44–68. DOI: 10.1016/j.micres.2016.12.003.
7. **BARKA E. A., VATSA P., SANCHEZ L.** (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 80(1), 1–43. DOI: 10.1128/MMBR.00019–15.
8. **BASAR S., KOCH A., KÖNIG W.A.** (2001). A verticillane-type diterpene from *Boswellia carterii* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*. 16(5), 315–318. DOI: 10.1002/ffj.992.
9. **BASAVEGOWDA N., BAEK K.-H.** (2022). Combination strategies of different antimicrobials: an efficient and alternative tool for pathogen inactivation. *Biomedicines*. 10(9), 2219. DOI: 10.3390/biomedicines10092219.

10. **BEYTH N., HOURI-HADDAD Y., DOMB A., KHAN W., HAZAN R.** (2015). Alternative antimicrobial approach: nano-antimicrobial materials. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015, 1–16. DOI: 10.1155/2015/246012.
11. **BIANCO A., WHITEMAN S. C., SETHI S. K., ALLEN J. T., KNIGHT R. A., SPITERI M. A.** (2000). Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in nasal epithelial cells of atopic subjects: a mechanism for increased rhinovirus infection? *Clinical and Experimental Immunology*. 121(2), 339–345. DOI: 10.1046/j.1365–2249.2000.01301.x.
12. **BOCSAN I. C., MUNTEAN I. A., MIRON N., PINTEA I., DOBRICAN C. T., URECHE C., BUZOIANU A. D., DELEANU D.** (2022). Are markers of allergic inflammation in grass pollen allergy influenced by H1 antihistamines. *Journal of Clinical Medicine*. 11(1). DOI: 10.3390/jcm11010113.
13. **BOZIC I., REITER J. G., ALLEN B.** (2013). Evolutionary dynamics of cancer in response to targeted combination therapy. *ELife*. 2, 00747. DOI: 10.7554/eLife.00747.
14. **CAMARDA L., DAYTON T., DI STEFANO V., PITONZO R., SCHILLACI D.** (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of some oleogum resin essential oils from *Boswellia spp.* (*Burseraceae*). *Annali di Chimica*. 97(9), 837–844. DOI: 10.1002/adic.200790068.
15. **CLARKE J. A., HERON A. J., SEDDON J. M., LAW R. V.** (2006). The diversity of the liquid ordered phase of phosphatidylcholine/cholesterol membranes: a variable temperature multinuclear solid-state NMR and X-ray diffraction study. *Biophysical Journal*. 90(7), 2383–2393. DOI: 10.1529/biophysj.104.056499.
16. **CUI G., PAN CH., XU P., LI Y., WANG L., GONG B., LI X., HUANG S.** (2020). Purification and characterization of a novel bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* from human saliva. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 34(1), 1224–1233. DOI: 10.1080/13102818.2020.1830714.
17. **DAVIS J. H., CLAIR J. J., JUHASZ J.** (2009). Phase equilibria in DOPC/DPPC-d62/cholesterol mixtures. *Biophysical Journal*. 96(2), 521–539. DOI: 10.1016/j.bpj.2008.09.042.
18. **DECARLO A., ALI S., CERONI M.** (2020). Ecological and economic sustainability of non-timber forest products in post-conflict recovery: a case study

- of the frankincense (*Boswellia* spp.) resin harvesting in Somaliland. *Sustainability*. 12(9). DOI: 10.3390/su12093578.
19. **DI STEFANO V., SCHILLACI D., CUSIMANO M. G., RISHAN M., RASHAN L.** (2020). *In vitro* antimicrobial activity of frankincense oils from *Boswellia sacra* grown in different locations of the Dhofar region. *Antibiotics*. 9(4). DOI: 10.3390/antibiotics9040195.
 20. **DINCER S., SÜMENGİN ÖZDENEFE M., ARKUT A.** (2020). Bacterial biofilms. 1. *IntechOpen*. DOI: 10.5772/intechopen.82929.
 21. **ELISSAWY A. M., SOLEIMAN DEHKORDI E., MEHDINEZHAD N., ASHOUR M. L., MOHAMMADI POUR P.** (2021). Cytotoxic alkaloids derived from marine sponges: a comprehensive review. *Biomolecules*. 11(2), 258. DOI: 10.3390/biom11020258.
 22. **ELLIOTT A. G., HUANG J. X., NEVE S.** (2020). An amphipathic peptide with antibiotic activity against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Nature Communications*. 11(1), 3184. DOI: 10.1038/s41467-020-16950-x.
 23. **FALAGAS M. E., GRAMMATIKOS A. P., MICHALOPOULOS A.** (2014). Potential of old generation antibiotics to address current need for new antibiotics. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 6(5), 593–600. DOI: 10.1586/14787210.6.5.593.
 24. **FELTH J., LESIAK-MIECZKOWSKA K., D'ARCY P.** (2013). Gambogic acid is cytotoxic to cancer cells through inhibition of the ubiquitin-proteasome system. *Investigational New Drugs*. 31(3), 587–598. DOI: 10.1007/s10637-012-9902-y.
 25. **FULAZ S., VITALE S., QUINN L., CASEY E.** (2019). Nanoparticle biofilm interactions: the role of the EPS matrix. *Trends in Microbiology*. 27(11), 926. DOI: 10.1016/j.tim.2019.07.004.
 26. **GALIÉ S., GARCÍA-GUTIÉRREZ C., MIGUÉLEZ E. M., VILLAR C. J., LOMBÓ F.** (2018). Biofilms in the food industry: health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiology*. 9, 898. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00898.
 27. **GUPTA M., VERMA S. K., SINGH S.** (2022). Anti-proliferative and antibacterial activity of oleo-gum-resin of *Boswellia serrata* extract and its isolate 3-hydroxy-11-keto- β -boswellic acid. *Journal of Herbal Medicine*. 32, 100546. DOI: 10.1016/j.hermed.2022.100546.

28. **GURIB-FAKIM A.** (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. 27(1), 1–93. DOI: 10.1016/j.mam.2005.07.008.
29. **HØIBY N.** (2017). A short history of microbial biofilms and biofilm infections. *APMIS*. 125(4), 275. DOI: 10.1111/apm.12686.
30. **CHEN C., CHEN X., JIANG M., RUI X., LI W., DONG M.** (2014). A newly discovered bacteriocin from *Weissella hellenica* D1501 associated with Chinese Dong fermented meat. *Food Control*. 42, 124. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.01.031.
31. **CHHIBBER T., GONDIL V. S., SINHA V. R.** (2020). Development of chitosan-based hydrogel containing antibiofilm agents for the treatment of *Staphylococcus aureus*-infected burn wound in mice. *AAPS PharmSciTech*. 21(2), 554. DOI: 10.1208/s12249-019-1537-2.
32. **IWU M. M.** (2014). *Handbook of African medicinal plants*. 2nd ed. CRC Press. 105–110. DOI: 10.1201/b16292.
33. **JABAR A., HUSSEIN S.F., AL-KHAFAJI B.A.H., AL-EDANI M.** (2020). Evaluation of the activity of alcoholic extract of Gujarat plant (*Hibiscus sabdariffa* L.) against some dermatophytes. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 928. DOI: 10.1088/1757-899X/928/6/062009.
34. **JACQUELINE C., CAILLON J.** (2014). Impact of bacterial biofilm on the treatment of prosthetic joint infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 69 (suppl 1), i40. DOI: 10.1093/jac/dku254.
35. **JAROŠ P., TIMKINA E., MICHAILIDU J., MARŠÍK D., KULIŠOVÁ M., KOLOUCHOVÁ I., DEMNEROVÁ K.** (2022a). Boswellic acids as effective antibacterial antibiofilm agents. *Molecules*. 27(12), 3795. DOI: 10.3390/molecules27123795.
36. **JAROŠ P., VRUBLEVSKAYA M., LOKOČOVÁ K., MICHAILIDU J., KOLOUCHOVÁ I., DEMNEROVÁ K.** (2022b). *Boswellia serrata* extract as an antibiofilm agent against *Candida* spp. *Microorganisms*. 10(1), 171. DOI: 10.3390/microorganisms10010171.
37. **JONES F. T., RICKE S. C.** (2003). Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds. *Poultry Science*. 82(4), 613–617. DOI: 10.1093/ps/82.4.613.

38. **KHALIFA S. A.M., KOTB S. M., EL-SEEDI S. H.** (2023). Frankincense of *Boswellia sacra*: traditional and modern applied uses, pharmacological activities, and clinical trials. *Industrial Crops and Products*. 203. DOI: 10.1016/j.indcrop.2023.117106.
39. **KHAMENEH B., IRANSHAHY M., SOHEILI V., FAZLY BAZZAZ B.S.** (2019). Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 8(1). DOI: 10.1186/s13756-019-0559-6.
40. **KHAN A. L., AL-HARRASI A., WANG J-P.** (2022). Genome structure and evolutionary history of frankincense producing *Boswellia sacra*. *iScience*. 25(7), 104574. DOI: 10.1016/j.isci.2022.104574.
41. **KAMATOU G. P., VERMAAK I., VILJOEN A. M.** (2012). Eugenol—from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*. 17(6), 6953-6981. DOI: 10.3390/molecules17066953.
42. **LAHIRI D., NAG M., DEY A., SARKAR T., PATI S., RAY R. R.** (2022). Nanoparticles based antibacterial vaccines: novel strategy to combat antimicrobial resistance. *Process Biochemistry*. 119, 82–89. DOI: 10.1016/j.procbio.2022.05.011.
43. **LEÓN-BUITIMEA A., GARZA-CÁRDENAS C. R., GARZA-CERVANTES J. A., LERMA-ESCALERA J. A., MORONES-RAMÍREZ J. R.** (2020). The demand for new antibiotics: antimicrobial peptides, nanoparticles, and combinatorial therapies as future strategies in antibacterial agent design. *Frontiers in Microbiology*. 11, 01669. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01669.
44. **LEWIS K., AUSUBEL F. M.** (2006). Prospects for plant-derived antibacterials. *Nature Biotechnology*. 24(12), 1504–1507. DOI: 10.1038/nbt1206-1504.
45. **LI Y., MA H.** (2024). Drug repurposing: insights into the antimicrobial effects of AKBA against MRSA. *AMB Express*. 14(1), 5. DOI: 10.1186/s13568-024-01660-0.
46. **MAGHEMBE R., DAMIAN D., MAKARANGA A., NYANDORO S. S., LYANTAGAYE S. L., KUSARI S., HATTI-KAUL R.** (2020). Omics for bioprospecting and drug discovery from bacteria and microalgae. *Antibiotics*. 9(5), 229. DOI: 10.3390/antibiotics9050229.

47. **MAIER B.** (2021). How physical interactions shape bacterial biofilms. *Annual Review of Biophysics*. 50(1), 401-417. DOI: 10.1146/annurev-biophys-062920-063646.
48. **MANNINO G., OCCHIPINTI A., MAFFEI M. E.** (2016). Quantitative determination of 3-O-acetyl-11-keto- β -boswellic acid (AKBA) and other boswellic acids in *Boswellia sacra* Flueck (syn. *B. carteri* Birdw) and *Boswellia serrata* Roxb. *Molecules*. 21(10), 1329. DOI: 10.3390/molecules21101329.
49. **MATHE C., CULIOLI G., ARCHIER P., VIEILLES CAZES C.** (2004). High-performance liquid chromatographic analysis of triterpenoids in commercial frankincense. *Chromatographia*. 60(9–10), 493–499. DOI: 10.1365/s10337-004-0417-3.
50. **MILLER L. H., SU X.** (2011). Artemisinin: discovery from the Chinese herbal garden. *Cell*. 146(6), 855–858. DOI: 10.1016/j.cell.2011.08.024.
51. **MIRAN M., AMIRSHAHROKHI K., AJANII Y., ZADALI R., RUTTER M. W., ENAYATI A., MOVAHEDZADEH F., BOURHIA M.** (2022). Taxonomical investigation, chemical composition, traditional use in medicine, and pharmacological activities of *Boswellia sacra* Flueck. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2022(8779676), 1–14. DOI: 10.1155/2022/8779676.
52. **MOTHANA R. A.A., LINDEQUIST U.** (2005). Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqatra. *Journal of Ethnopharmacology*. 96(1–2), 177–181. DOI: 10.1016/j.jep.2004.09.006.
53. **MOUSSAIEFF A., MECHOULAM R.** (2009). Boswellia resin: from religious ceremonies to medical uses; a review of *in vitro*, *in vivo* and clinical trials. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 61(10), 1281–1293. DOI: 10.1211/jpp.61.10.0003.
54. **NARAYANA J. L., HUANG H. N., WU C. J., CHEN J. Y.** (2015). Efficacy of the antimicrobial peptide TP4 against *Helicobacter pylori* infection: *in vitro* membrane perturbation via micellization and *in vivo* suppression of host immune responses in a mouse model. *Oncotarget*. 6(15), 12936-12954. DOI: 10.18632/oncotarget.4101.
55. **NEWMAN D. J., CRAGG G. M.** (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*. 83(3), 770–803. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285.

56. **NISSEN L., ZATTA A., STEFANINI I., GRANDI S., SGORBATI B., BIAVATI B., MONTI A.** (2010). Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.). *Fitoterapia*. 81(5), 413–419. DOI: 10.1016/j.fitote.2009.11.010.
57. **NIU S., LI S., CHEN Y., WANG Y., WANG Y.** (2011). Lobophorins E and F, new spirotetronate antibiotics from a South China Sea-derived *Streptomyces* sp. SCSIO 01127. *Journal of Antibiotics*. 64(11), 716. DOI: 10.1038/ja.2011.78.
58. **NOMURA Y., MOROZUMI T., SAITO A., SAITO A., SAITO A.** (2021). Prospective Longitudinal Changes in the Periodontal Inflamed Surface Area Following Active Periodontal Treatment for Chronic Periodontitis. *Journal of Clinical Medicine*. 10(6), 1165. DOI: 10.3390/jcm10061165.
59. **O'NEILL P.M., BARTON V.E., WARD S.A.** (2010). The molecular mechanism of action of artemisinin—The debate continues. *Molecules*. 15(3), 1705–1721. DOI: 10.3390/molecules15031705.
60. **ORLOV D. S., SHAMOVA O. V., ELISEEV I. E., ELISEEV I. E., ELISEEV I. E.** (2019). Redesigning Arenicin-1, an Antimicrobial Peptide from the Marine Polychaeta *Arenicola marina*, by Strand Rearrangement or Branching, Substitution of Specific Residues, and Backbone Linearization or Cyclization. *Marine Drugs*. 17(6), 376. DOI: 10.3390/md17060376.
61. **PAL M. K., LAVANYA M.** (2022). Microbial influenced corrosion: understanding bioadhesion and biofilm formation. *Journal of Bio- and Tribo-Corrosion*. 8(3). DOI:10.1007/s40735-022-00677-x.
62. **PATRA J. K., DAS G., FRACETO L. F., FRACETO L. F., FRACETO L. F.** (2018). Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *Journal of Nanobiotechnology*. 16(1), 71. DOI: 10.1186/s12951-018-0392-8.
63. **PUUPPONEN-PIMIA R., NOHYNEK L., MEIER C., KAHKONEN M., HEINONEN M., HOPIA A., OKSMAN-CALDENTY K.-M.** (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*. 90(4), 494–507. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2001.01271.x.
64. **RAINA D., KHAN F., TIWARI H., SANGWAN P.L., NARGOTRA A., KUMAR V., KHAN I.A., SARAN S.** (2022). Boswellic acids, as novel inhibitor targeting peptidoglycan biosynthetic enzyme UDP-N-acetylglucosamine

- enolpyruvyl transferase (MurA) in *Escherichia coli*. *Archives of Microbiology*. 204(8), 472. DOI: 10.1007/s00203-022-03066-7.
65. **RAJA A. F., ALI F., KHAN I. A., SHAWL A. S., ARORA D. S., SHAH B. A., TANEJA S. C.** (2011). Antistaphylococcal and biofilm inhibitory activities of acetyl-11-keto- β -boswellic acid from *Boswellia serrata*. *BMC Microbiology*. 11(1), 54. DOI: 10.1186/1471-2180-11-54.
 66. **SHANKAR E.S., GUPTA J., GUPTA S.** (2010). Chamomile: a herbal medicine of the past with a bright future (review). *Molecular Medicine Reports*. 3(6). DOI: 10.3892/mmr.2010.377.
 67. **SHWAIKI L. N., LYNCH K. M., ARENDT E. K.** (2021). Future of antimicrobial peptides derived from plants in food application – A focus on synthetic peptides. *Trends in Food Science & Technology*. 112, 312–324. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.04.010.
 68. **SCHILLACI D., ARIZZA V., DAYTON T., CAMARDA L., DI STEFANO V.** (2008). *In vitro* anti-biofilm activity of *Boswellia* spp. oleogum resin essential oils. *Letters in Applied Microbiology*. 47(5), 433–438. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2008.02469.x.
 69. **SCHMIECH M., ULRICH J., LANG S.J., BÜCHELE B., PAETZ C., ST-GELAIS A., SYROVETS T., SIMMET T.** (2021). 11-keto- α -boswellic acid, a novel triterpenoid from *Boswellia* spp. with chemotaxonomic potential and antitumor activity against triple-negative breast cancer cells. *Molecules*. 26(2). DOI: 10.3390/molecules26020366.
 70. **SIDDIQUI M. Z.** (2011). *Boswellia serrata*, a potential antiinflammatory agent: an overview. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 73(3), 255–261. DOI: 10.4103/0250-474X.93507.
 71. **SIEMONEIT U., PERGOLA C., JAZZAR B., NORTHOFF H., SKARKE C., JAUCH J., WERZ O.** (2009). On the interference of boswellic acids with 5-lipoxygenase: mechanistic studies *in vitro* and pharmacological relevance. *European Journal of Pharmacology*. 606(1–3), 246–254. DOI: 10.1016/j.ejphar.2009.01.044.
 72. **STAN D., ENCIU A-M., MATEESCU A. L., ION A. C., BREZEANU A. C., TANASE C.** (2021). Natural compounds with antimicrobial and antiviral effect and nanocarriers used for their transportation. *Frontiers in Pharmacology*. 12, 723233. DOI: 10.3389/fphar.2021.723233.

73. **STERMITZ F. R., LORENZ P., TAWARA J. N., ZENEWICZ L. A., LEWIS K.** (2000). Synergy in a medicinal plant: Antimicrobial action of berberine potentiated by 5'-methoxyhydrnocarpin, a multidrug pump inhibitor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 97(4), 1433–1437. DOI: 10.1073/pnas.030540597.
74. **STRÖMSTEDT A. A., FELTH J., BOHLIN L.** (2014). Bioassays in natural product research – strategies and methods in the search for anti-inflammatory and antimicrobial activity. *Phytochemical Analysis*. 25(1), 13–28. DOI: 10.1002/pca.2468.
75. **SUHAIL M.M., LIN H.K., FUNG K.M., WOOLLEY C.L., YOUNG D.G.** (2013). Extraction of biologically active compounds by hydrodistillation of *Boswellia* species gum resins for anti-cancer therapy. *OA Alternative Medicine*. 1(1). DOI: 10.13172/2052-7845-1-1-385.
76. **TEGASNE C., KAPCHE G. D. W. F., MAWABO I. K.** (2021). Bioguided chemical study of *Boswellia dalzielii* Hutch. (Burseraceae) for antibacterial agents and a new glucopyranoxylmethoxybenzyle. *Natural Product Research*. 35(23), 5199–5208. DOI: 10.1080/14786419.2020.1794863.
77. **TULP M., BOHLIN L.** (2004). Unconventional natural sources for future drug discovery. *Drug Discovery Today*. 9(10), 450–458. DOI: 10.1016/S1359-6446(04)03066-1.
78. **VAKAYIL R., MURUGESAN K., GNANASEKARAN A.** (2024). Determination of phyto-moieties from the traditional therapeutic plant *Boswellia serrata* Roxb. extract against nosocomial pathogens: *in vitro* and silico approaches. *Journal of Herbal Medicine*. 43. DOI: 10.1016/j.hermed.2023.100823.
79. **VAN ACKER H., VAN DIJCK P., COENYE T.** (2014). Molecular mechanisms of antimicrobial tolerance and resistance in bacterial and fungal biofilms. *Trends in Microbiology*. 22(6), 326–333. DOI: 10.1016/j.tim.2014.02.001.
80. **VAOU N., STAVROPOULOU E., VOIDAROU CH., TSIGALOU CH., BEZIRTZOGLU E.** (2021). Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: a review study on challenges and future perspectives. *Microorganisms*. 9(10), 2041. DOI: 10.3390/microorganisms9102041.
81. **VESTBY L. K., GRØNSETH T., SIMM R., NESSE L. L.** (2020). Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. *Antibiotics*. 9(2), 59. DOI: 10.3390/antibiotics9020059.

82. **WAGNER B.A., STRAW B.E., FEDORKA-CRAY P.J., DARGATZ D.A.** (2008). Effect of antimicrobial dosage regimen on *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates from feeder swine. *Applied and Environmental Microbiology*. 74(6), 1731–1739. DOI: 10.1128/AEM.01132-07.
83. **WANG M., FIRRMAN J., LIU L., YAM K.** (2019). A review on flavonoid apigenin: dietary intake, ADME, antimicrobial effects, and interactions with human gut microbiota. *BioMed Research International*. 1-18. DOI: 10.1155/2019/7010467.
84. **WECKESSER S., ENGEL K., SIMON-HAARHAUS B., WITTMER A., PELZ K., SCHEMPP C. M.** (2007). Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*. 14(7–8), 508–516. DOI: 10.1016/j.phymed.2006.12.013.
85. **WERZ O., STEINHILBER D.** (2006). Therapeutic options for 5-lipoxygenase inhibitors. *Pharmacology & Therapeutics*. 112(3), 701-718. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2006.05.009.
86. **WOOLLEY C. L., SUHAIL M. M., SMITH B. L.** (2012). Chemical differentiation of *Boswellia sacra* and *Boswellia carterii* essential oils by gas chromatography and chiral gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1261, 158-163. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.06.073.
87. **XU Z.** (2020). 1,2,3-Triazole-containing hybrids with potential antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *European Journal of Medicinal Chemistry*. 206, 112686. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112686.
88. **YE L., ZHANG J., XIAO W., LIU S.** (2020). Efficacy and mechanism of actions of natural antimicrobial drugs. *Pharmacology & Therapeutics*. 216, 107671. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107671.
89. **YUAN L., SADIQ F. A., WANG N., YANG Z., HE G.** (2021). Recent advances in understanding the control of disinfectant-resistant biofilms by hurdle technology in the food industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 61(22), 3876–3891. DOI: 10.1080/10408398.2020.1809345.
90. **ZHANG Y., NING Z., LU Ch., ZHAO S., WANG J., LIU B., XU X., LIU Y.** (2013). Triterpenoid resinous metabolites from the genus *Boswellia*: pharmacological activities and potential species-identifying properties. *Chemistry Central Journal*. 7(1). DOI: 10.1186/1752-153X-7-153.