

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4131

Studijní obor: Zemědělství

Katedra: Agroekosystémů

Vedoucí katedry: prof. Ing. Jan, st. Moudrý, CSc.

Bakalářská práce

Pěstování Ostropestřece mariánského (*Silybum marianum* L. Gaertn.).

Obsah biologicky aktivních látek a jejich využití

Vedoucí bakalářské práce: prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Autor: Pavel Hofírek

České Budějovice, 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypouštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích 30. 11. 2014

.....

Poděkování:

Touto cestou bych velice rád poděkoval prof. Ing. Stanislavu Kuželovi, CSc. za cenné rady, připomínky a metodické vedení práce.

Abstrakt

Ostropestřec mariánský [(*Silybum marianum*) L. Gaertn] patří mezi nejdéle známé léčivé rostliny, popisované již ve 4. stoletím před Kristem. V první části mé práce jsem se zabýval studiem technologie pěstování této léčivé rostliny.

Ostropestřec mariánský obsahuje biologicky aktivní látky. Hlavními účinnými látkami jsou silybin, silydianin, isosilybin, silychristin, označované jako silymarinový komplex, a taxifolin. Tyto látky mají hepatoprotektivní vliv na jaterní tkáň. Charakteristice, některým metodám stanovení účinných látek a farmakologickým účinkům jsem se věnoval v druhé části mé práce.

Obsah účinných látek lze ovlivnit jak technologií pěstování, tak aplikací elicitorů. Této problematice a současnému využití rostliny v humánní medicíně, potravinových doplňcích a krmivářství se věnuji v závěru.

Klíčová slova: *Silybum marianum*, silymarin, flavanolignany, hepatoprotektivita, elicitory

Abstract

Milk thistle [(*Silybum marianum*) L. Gaertn] is among the longest known medical plants, described already in the 4th century before Christ. In the first part of my thesis, I studied the technology of cultivation this medical plant.

Milk thistle contains biologically active substances. The main active substances are silybin, silydianin, isosilybin, silychristin, known as silymarin complex, and taxifolin. These substances have hepatoprotective effects on liver tissue. Characteristics, some methods of determination of active substances and pharmacological effect I deal with in the second part of my thesis.

The content of active substances are influenced by growing technologies and applications elicitors. This issue and current use of plants in human medicine, dietary supplements and feed to attend in the end.

Key words: *Silybum marianum*, silymarin, flavanolignans, hepatoprotective, elicitors

OBSAH

| | |
|--|----|
| 1. Úvod | 8 |
| 2. Cíl práce | 9 |
| 2.1. Léčivé rostliny | 10 |
| 2.1.1. Definice léčivých rostlin | 10 |
| 2.1.2. Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny v České Republice | 10 |
| 2.1.3. Ostropestřec mariánský v České Republice | 11 |
| 2.1.4. Historie využití léčivých rostlin | 11 |
| 2.2. Ostropestřec mariánský | 14 |
| 2.2.1. Původ a historie rostliny..... | 14 |
| 2.2.2. Botanická a biologická charakteristika | 15 |
| 2.2.3. Technologie pěstování | 17 |
| 2.2.3.1. Půdní a klimatické podmínky | 17 |
| 2.2.3.2. Zařazení v osevním postupu..... | 17 |
| 2.2.3.3. Výsev | 18 |
| 2.2.3.4. Výživa a hnojení | 18 |
| 2.2.3.5. Plevely choroby a škůdci rostlin | 19 |
| 2.2.3.6. Choroby rostlin | 20 |
| 2.2.3.7. Škůdci rostlin | 21 |
| 2.2.3.8. Sklizeň..... | 21 |
| 2.3. Chemické složení rostliny Ostropestřec mariánský | 22 |
| 2.3.1. Charakteristika lignanů | 22 |
| 2.3.2. Flavanolignany a další účinné látky..... | 24 |
| 2.3.3. Kultivar Silyb a jeho chemické složení..... | 26 |
| 2.4. Metody stanovení některých účinných látek v Ostropestřeci mariánském | 27 |
| 2.4.1 Chromatografie | 27 |
| 2.4.1.1. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie HPLC (high performance.. | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 2.4.1.2 Chromatografie na tenké vrstvě | 30 |
| 2.4.2. Kapilární elektroforéza..... | 33 |
| 2.4.2.1 Kapilární zónová elektroforéza (CZE)..... | 33 |
| 2.4.2.2 Srovnání metod pro stanovení účinných látek | 34 |
| 2.5. Farmakologické účinky účinných látek | 35 |
| 2.6. Současné využití rostliny <i>Silybum marianum</i> a jejich účinných látek v medicíně, potravinových doplňcích a krmivářství..... | 38 |
| 2.6.1. Využití v humánní medicíně | 38 |
| 2.6.1.1. Vedlejší účinky..... | 39 |
| 2.6.2. Využití Ostropestřece mariánského v potravinových doplňcích | 39 |
| 2.6.3. Využití Ostropestřece mariánského v krmivářství..... | 40 |
| 2.7. Vliv technologie pěstování a použití elicitorů na obsah účinných látek..... | 40 |
| 2.7.1. Vliv technologie pěstování na obsah účinných látek | 40 |
| 2.7.2. Využití elicitorů na zvýšení obsahu účinných látek..... | 41 |
| 2.7.2.1. Stresové faktory a obranná reakce rostlin | 41 |
| 2.7.2.2. Elicitory | 42 |
| 2.7.2.3. Vliv elicitorů na obsah účinných látek..... | 43 |
| 2.7.2.3.1. Paraquat..... | 43 |
| 2.7.2.3.2 kyselina acetylsalicylová..... | 44 |
| 3. Závěr..... | 46 |
| 4. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY | 47 |
| 5. Přílohy | 58 |

1. Úvod

Moderní člověk žijící v 21. století se potýká s řadou negativních vlivů, které na něj působí. Život, jakým většina z nás žije je plný stresu, shonu a špatného stravování. Může za to rozvoj moderních technologií. Na neuspokojivém životním stylu se podílí hlavně nevhodná skladba výživy spojená s nízkou tělesnou aktivitou. Vlivem zhoršeného životního prostředí se lidé začínají zajímat o přírodní produkty. V posledních letech zažívá velký rozmach ekologické zemědělství a poskytování kvalitních produktů přímo od farmářů, malých rodinných farem či regionálních výrobců. Spotřebitelé chtějí kvalitní produkty bez přidaných konzervačních látek, dochucovadel, umělých barviv a příchutí.

Se zdravou výživou a zdravým životním stylem v neposlední řadě souvisí prevence před onemocněními a využívání léčivých rostlin a produktů z nich. Léčivé účinky rostlin znali lidé od nepaměti. Už v pravěku měl člověk nejbližší k rostlinám, ať už je využíval jako potravu, nebo prostředek k léčení chorob a zmírnění bolesti. S poznáním léčivých ale i jedovatých účinků rostlin je začal člověk cíleně využívat. Na světě je známo kolem 400 - 500 set tisíc cévnatých rostlin. Dle nejnovějších odhadů je, jako léčivých světově využíváno přes 50 000 rostlinných druhů. Na celém světě se obchoduje přibližně s 2 500 druhy léčivých, aromatických a kořeninových rostlin. V Evropské unii se používá asi 2 000 druhů LAKR, z toho v České republice asi 300 druhů. Díky rozvoji výzkumu přírodních látek, novými postupy získávání účinných látek z rostlin se každoročně zvyšuje počet léčivých rostlin.

Mezi LAKR patří také Ostropestřec mariánský (*Sylibum marianum* L./ Gaertn.). S jeho pěstováním v České republice se začalo počátkem 80. let na Pardubicku a od té doby roste zájem o tuto léčivku. Narůst osevních ploch ovlivňuje zájem zpracovatelských firem a farmaceutického průmyslu, kde jsou využívány jeho plody (*Fructus cardui Mariae*), které obsahují množství účinných látek tzv. sylimarinový komplex. Hlavní obsahovou látkou je sylimarin což je souhrnný název pro flavolignanové sloučeniny a silici (Starý, 2000).

Účinné látky obsažené v semenech rostliny mají hepatoprotektivní vliv na jaterní buňky. Sylimarinový komplex má řadu využití počínaje preventivním užíváním pro ochranu jaterní tkáně. Antioxidačním účinkem chrání jaterní buňky před škodlivými vlivy jako je alkohol, toxické látky z hub, chemické látky z potravin

a další. Prokázány jsou i pozitivní účinky při léčbě některých druhů rakoviny (Tůmová, Gallová, 2006).

Z kvalitativního hlediska je při produkci semen ostropestřce mariánského důležitá jejich technologická kvalita, tedy obsah účinných látek obsažených v nažkách. Producenti nažek se tedy musí zaměřit jak na vysokou a stabilní produkci drogy tak na její kvalitu. Ostropestřec mariánský zaznamenává v poslední době výrazné zvýšení zájmu ze strany tuzemských i zahraničních zpracovatelů (Tošovská, Buchtová, 2012). Účinné látky se získávají z pokrutin po vylisování nažek, olej jako vedlejší produkt se zpracovává v kosmetickém průmyslu. Rozvíjí se také zpracování nažek ostropestřce v krmivářství (Irel, 2011).

Snahou farmaceutických firem a pěstitelů je zvýšení obsahu účinných látek (Spitzová, 1997). Byla publikována řada prací realizujících pokusy o zvýšení účinných biologicky aktivních látek použitím elicitorů při pěstování rostlin ostropestřce mariánského (Dvořáková 2006; Koblic 2012; Gramanová 2009; Hubená 2012; Petr 2012, 2014). Pokrok moderní vědy nám umožňuje přenášet výsledky výzkumu do praxe. Dokážeme tak moderními metodami ovlivnit jakost výsledného produktu (obsah účinných látek a jejich složení) a celkový výnos této plodiny.

2. Cíl práce

Cílem práce je studium technologie pěstování ostropestřce mariánského, botanická charakteristika, agrotechnika, hnojení, ochrana před škůdci a proti chorobám, obsah biologicky aktivních látek, chemické složení a účinné látky, metody stanovení některých účinných látek v rostlinách, vliv technologie pěstování a elicitorů na obsah účinných látek ostropestřce mariánského.

2.1. Léčivé rostliny

2.1.1. Definice léčivých rostlin

Opletal, Volák (1999) uvádějí, že léčivé rostliny obsahují ve svých morfologických orgánech organické sloučeniny schopné určité choroby léčit, předcházet jim nebo zmírňovat jejich průběh. Tyto rostliny se používají k přímému léčení v čerstvém nebo konzervovaném stavu jako tzv. vegetabilní drogy, tj. usušené nebo jiným způsobem konzervované rostliny či jejich části, určené k podání člověku či zvířeti k léčení, mírnění, prevenci nebo k stanovení diagnózy choroby, příp. tělesné abnormality, nebo jejich symptomů. Slouží též jako průmyslová surovina k výrobě čistých léčivých látek, případně jsou zpracovávány do různých léčivých přípravků.

Mezi léčivé rostliny lze zařadit rostliny, jejichž účinné látky jsou schopné léčit, případně zmírňovat nemoc u lidí a zvířat. Z léčivých rostlin se nejčastěji získávají nálevy, výluhy, extrakty, tinktury a chemicky čisté látky (Moudrý, Strašil, 1999).

Baloun, Beneš, Minařík (1978) označuje léčivé rostliny jako ty rostlinné druhy, které slouží k získávání léčiv.

Léčivo definuje ČsL 3 jako látku nebo směs látek, které se podávají člověku nebo zvířeti k profylaxi, diagnóze, léčení či mírnění chorob nebo k ovlivňování fyziologických funkcí (Baloun, Beneš, Minařík, 1978).

2.1.2. Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny v České Republice

Pěstování léčivých, aromatických a kořeninových rostlin (dále LAKR) mají v ČR dlouholetou tradici. Počátky pěstování se datují již od dob středověku a pokusy pěstovat léčivé rostliny ve větším měřítku se objevují ve druhé polovině 19. stol. V posledních letech prošlo pěstování LAKR změnou, která je dána hlavně poptávkou (Prošková, 2008).

Získat přesné údaje o objemu, způsobu využití a zastoupení jednotlivých druhů ve skupině LAKR je obtížné (Neugebauerová, 2006). Dle údajů ČSÚ lze v tuzemské produkci LAKR vyzorovat v období posledních 12 let kolísání pěstebních ploch s vrcholy přes 11 tis. ha v roce 2003 a 2004 a propadem na 4 tis. ha v roce 2008. V roce 2010 se plocha navýšila na 7 864 ha, nárůst pokračoval i v roce 2011 na 8 588 ha, v roce 2012 se pěstební plocha udržela na 7225 ha.

Nejvýznamnějšími velkoplošně pěstovanými komoditami byly i v roce 2010 a 2011 ostropestřec, kmín, námel a mák s využitím makoviny. Rozsah pěstování LAKR je určován nestabilní situací jejich odbytu. Narůstá počet zpracovatelských subjektů, všeobecně roste poptávka po LAKR, pěstitelů je však nedostatek. Důvodem je na jedné straně především ekonomická i odborná náročnost na pěstování LAKR, na druhé pak stagnace výkupních cen (Tošovská, Buchtová, 2012).

2.1.3 Ostropestřec mariánský v České Republice

Ostropestřec mariánský nepatří v žádném případě mezi typické kulturní plodiny a není ani původním zástupcem naší domácí květeny (Spitzová, 1981). S jeho pěstováním se u nás začalo v 80. letech minulého století. Dnes se řadí mezi velkoplošně pěstované léčivé rostliny (Moudrý, 2011).

Ostropestřec zaznamenává v posledních letech výrazné zvýšení zájmu ze strany tuzemských i zahraničních zpracovatelů především z farmaceutického průmyslu, kde se pro izolaci účinných látek využívají pokrutiny po lisování nažek. Rozvíjí se zpracování nažek ostropestřece v krmivářství. Zájem zpracovatelů ovlivňuje nárůst jeho pěstování. V roce 2011 i 2012 byl ostropestřec, dle šetření Sdružení PELERO, pěstován na cca 5 000 ha (Tošovská, Buchtová, 2012).

2.1.4. Historie využití léčivých rostlin

Zájem lidstva o rostliny sahá až do samých začátků kulturních dějin. Tento zájem byl zpočátku pochopitelně motivován praktickými potřebami lidí (Baloun, Beneš, Minařík, 1978). Už pravěký člověk značně trpěl nemocemi, v přírodě měl nejbližší k rostlinám, které mu poskytovaly především potravu. Při konzumování rostlin také objevil jejich léčivé i jedovaté účinky a začal je empiricky používat. Tyto poznatky nezanikaly, ale byly předávány nejprve ústní tradicí, později v podobě různých záznamů. Vznikaly tak prvotní profese kouzelníků – léčitelů, na něž se postižení lidé obraceli o pomoc. Prohlubovaly se znalosti o rostlinách přinášejících nemocným úlevu a o prvotních postupech úpravy a přípravy léčivých drog. Přitom se začala vyčleňovat skupina rostlin nazývaných rostlinami léčivými (Opletal, Volák, 1999).

Doklady o léčení ve vyspělých civilizacích Asie, severní Afriky, Střední a Jižní Ameriky a Dálného východu lze datovat do doby zhruba 4000 let př. n. l. (Opletal, Volák, 1999).

O léčebných prostředcích a lékařských praktikách starých Egyptanů se dozvídáme z hieratických lékařských papyrů. Zvláště cenný je Smithův papyrus z 1. poloviny 17. Stol. př. n. l., tzv. chirurgický papyrus; je opisem starší knihy, datované od roku mezi 2980 – 2700 př. n. l. (The Edwin Smith Surgical Papyrus). Jemu se nejvíce přibližují Kahunský gynekologický a Ebersův papyrus (Hieratic Papyrus from Kahum and Gurob, Papyrus Ebers). Ostatní známé písemnosti a fragmenty jsou recepty, které opisovali žáci lékařských škol (Volák, Stodola, Severa, 1987).

Léčivé prostředky babylonské medicíny jsou známé z klínových tabulek, pečlivě vedených záznamů drog (nejstarší pochází od Sumerů). Materia Medica (soubor poznatků o léčivech) mezi Eufратem a Tigrisem tvořili převážně léčivé rostliny. Babylonský král Mardukapaliddina II. (772 – 710 př. n. l.) nechal založit zahradu, v které se pěstovalo 64 druhů léčivých rostlin. Podle R. C. Thompsona obsahoval mezopotámský receptář asi 250 rostlin. Mnohé z nich se používali i ve starém Egyptě (Volák, Stodola, Severa, 1987).

Hlavní cíl staroindického lékařského umění spočíval v prodloužení lidského života jednou z nejdůležitějších součástí lékařské vědy, bylo poznávání léčivých prostředků (jedů). Podle nařízení budhistického krále Asoka (3. tisíciletí př. n. l.) se i cílevědomě pěstovaly. Existovaly dva různé druhy léčiv připravovaných z bylin. První čistily tělo a měly dávnivý a projímavý účinek, druhé zase působily tlumivě. Učebnice medicíny z Vágbhatu zná už určitý druh narkózy a v rukopise z Boweru je píseň o léčivých účincích česneku. Indické drogy byly známé po celé Asii a dostaly se i do lékařských knih západního světa (Volák, Stodola, Severa, 1987).

Za klasiky přírodního léčitelství ve starověku je možno považovat Plinia St., Galena, Hippokrata a Avicenu, ve středověku Paracelsa a Mattioliho. V Evropě byl šířitelem léčivých rostlin Karel Veliký (768 - 814), a zejména mnišské komunity v různých křesťanských kláštorech (St. Galen, Monte Casino aj.). Znalosti byly zaznamenávány v herbářích; soubor těchto léčivých rostlin, používaných v určitém období k léčbě (doplňeny ještě drogami živočišnými a minerály), se obecně nazývají materia medica (Opletal, Volák, 1999).

V raném středověku vzniklo v Evropě opisování rukopisů v kláštorech tzv. klášterní lékařství, které se vyznačovalo záznamy o bylinách a léčivých účincích

rostlin. Velký význam pro širší pěstování léčivých bylin mělo nařízení císaře Karla Velikého (768 – 814), ve kterém se městům a klášterům úředně ukládalo pěstovat zeleninu, léčivé rostliny, květiny a stromy („Capitulare de villis”, rok 812). V 12. stol. se v Německu proslavila Hildegarda von Bingen (1098 – 1179). Spisy sv. Hildegardy měly velký význam pro vývoj německých jmen léčivých rostlin. Od konce 12. stol. nebyl vývoj nauky o bylinách příliš potěšitelný. Dvě převratné události vedly k rozšíření poznatků o léčivých rostlinách. V roce 1450 vynalezl Johannes Gutenberg knihtisk a roku 1492 objevil Kryštof Kolumbus Ameriku. Už v roce 1484 vychází v Mohuči herbář neznámého autora „Herbarius Moguntinae impressus”. Autorem nepochybně nejslavnějšího herbáře byl italský lékař Pietro Andrea Matthioli (1501 – 1577). O oblibě tohoto díla svědčí i počet dalších vydání v Německu, Itálii i v Čechách.

V současnosti se ve výzkumu léčivých rostlin intenzivně pokračuje v mnohých ústavech, farmaceutických podnicích a klinikách. Moderními chemickými a fyzikálně-chemickými metodami přezkoušejí v klinické praxi dávno známé, domácí a v medicíně i lidovém léčitelství používané rostliny včetně jejich farmakologického účinku (Volák, Stodola, Severa, 1987).

2.2. Ostropestřec mariánský

2.2.1. Původ a historie rostliny

V současnosti je nejdůležitějším bodlákem Ostropestřec mariánský – *Silybum marianum* synonymním názvem *Carduus marianus*. Jako bodláčí jej označují i cizojazyčná pojmenování, např. anglické milk thistle, francouzské chardon Marie či německé Mariendistel. Roste v celém Středomoří a jeho areál sahá dále na východ do Malé Asie, oblasti Kavkazu, Íránu a Sýrie. Do dalších teplejších oblastí světa byl zavlečen a často zde zdomácněl (Starý, 2000).

Ostropestřec mariánský patří mezi nejdéle známé léčivé rostliny. Pravděpodobně poprvé je popisován ve spisech Theophrasta (4. St. p.n.l.) pod názvem „Pternix“ (Jegorov, 1996) a poté např. v Dioskuridově „Materia medica“ (1. st. n.l.) (Gromová, 1993) a ve spiscích Pliniových (1. st. n.l.) (Jegorov, 1996). Zatímco mnohé medicínské poznatky byly zapomenuty v temnotách středověku a poté byly znovu objevovány, ostropestřec mariánský je popisován ve všech významných herbářích léčivých rostlin, např. abatyše Hildegardy z Bingenu (1098 – 1179), Hieronyma Bocka (1593), JacobuseTheodoruse (1664), Mattioliho (1626), Valentiniho (1719), Von Hallera (1755) a dalších až do současnosti (JEGOROV, 1996).

G. Madaus v důkladném kompendiu Lehrbuch der biologischen Heilmittel, čili v učebnici léčiv biologického původu, hlavně léčivých rostlin, která vyšla v Lipsku r. 1938, věnuje ostropestřeci značnou pozornost (Starý, 2000).

Rodové jméno *Silybum* vzniklo asi z řeckého silybon – štrapec, zřejmě podle tvaru a velikosti úboru. Druhové jméno *marianum* se opírá o starou legendu, že bílé mramorování na listech pochází od mateřského mléka bohorodičky.

Je možný i další výklad, že Mariino jméno mělo zdůraznit významné léčivé účinky ostropestřce (Starý, 2000).

Zprvu se používala k léčení celá rostlina (Starý, 2000), listy a kořeny méně (Husáková, Lhotská, 1981). V málo přehledném souboru indikací nás zaujme tvrzení, že droga pomáhá od bolesti v boku, patrně způsobených nemocí jater a žlučníku. Až známý německý lékař minulého století Rademacher se vyjádřil jasně. Ostropestřec účinkuje spolehlivě proti jaterním (Starý, 2000) a žlučnickovým chorobám, podporujícím tvorbu a vylučování žluče (Husáková, Lhotská, 1981)

k tomu účelu doporučoval velmi slavnou a dlouho používanou tinkturu ze semen ostropestřece – *Tinktura Cardui mariae* (Starý, 2000).

Bez nadsázky tedy můžeme říct, že od doby, kdy byly léčivé účinky této rostliny poprvé nalezeny až do současnosti, kdy se podařilo izolovat aktivní komponenty a objasnit alespoň částečně jejich mechanismus účinku, uplynulo více než dva tisíce let (Jegorov, 1996).

2.2.2. Botanická a biologická charakteristika

| | |
|-------------------------|--|
| Říše: | rostliny (<i>Plantae</i>) |
| Podříše: | vyšší rostliny (<i>Cormobionta</i>) |
| Oddělení: | krytosemenné (<i>Magnoliophyta</i>) |
| Třída | vyšší dvouděložné (<i>Rosopsida</i>) |
| Podtřída: | <i>Asteridae</i> |
| Řád: | hvězdnicotvaré (<i>Asterales</i>) |
| Čeleď: | hvězdnicovité (<i>Asteraceae</i>) |
| Rod: | ostropestřec (<i>Silybum</i>) |
| Binomické jméno: | <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn. |

(Koblic, 2012)

V našich klimatických podmínkách je Ostropestřec jednoletá, výjimečně i dvouletá bylina (Starý, 2000; Spitzová, 1997). Kořenový systém je značně variabilní, zpravidla je mohutně vyvinut kulový kořen (Zimolka, 2000; Slavík, Štěpánková, 2004).

Nejprve vytváří přízemní listovou růžici ostnitých (Zimolka, 2000), peřenolaločnatých, bíle skvrnitých listů (Jahodář, 2006; Möllerová, 2008). Listy jsou střídavé, přisedlé, tuhé, lesklé, podlouhle eliptické a na okraji vlnité (Husáková, Lhotská, 1981). Stonkové listy obepínají stonek, jsou drobnější, lalokovité, končící silným bělavým ostnem (Gromová, 1993).

Ostropestřec vytváří 1 – 2,5 m vysokou (Zimolka, 2000; Moudrý, 2011), silnou lodyhu, která je v horní polovině bohatě větvená, pavučinatá, lesklá (Husáková, Lhotská, 1981).

Na konci hlavní osy i os postranních vyrůstají úbory (Starý, 2000), zakončené fialově (Zimolka, 2000), červenofialově (Gromová, 1993), či zřídka bledě fialově nebo bíle (Opletal, Volák, 1999) kvetoucími, 50 – 80 mm velkými úbory (Zimolka, 2000). Květy jsou trubkovité (Gromová, 1993), oboupohlavné (Opletal, Volák, 1999). Velké úbory vyrůstají jednotlivě na dlouhých stopkách. Mají kulovitý zákrov a střežovitě uspořádané, ostnitě zubaté listeny (Opletal, Volák, 1999).

Kvete v závislosti na termínu výsevu od června do srpna. Ostropestřec je cizosprašný, hlavními opylovači je včela a čmelák. Uplatňuje se tedy i jako medonosná rostlina (Spitzová, 1997).

Zralá semena jsou tmavohnědě nevýrazně žíhaná, o průměrné velikosti 6,5 x 3 mm a mají 1,5 cm dlouhý, bílý chmýr. Dozrávají v závislosti na termínu výsevu od července do září, kdy celá rostlina fyziologicky zasychá.

Úbory dozrávají postupně od vrcholu rostliny směrem dolů, semena v úboru od středu k obvodu (Zimolka, 2000). Plod – nažka se skládá z embrya – zárodku klíčku, základu radikuly a listů a z dvou děložních listů bohatých na olej, z osemení (*testa*) a oplodí (*perikarp*), (Gromová, 1993). Droga má šedohnědou barvu, je bez pachu a chutná nahořkle (Opletal, Volák, 1999). V jednom úboru se nachází kolem sta plodů. HTS je 25 – 30g (Moudrý, Srašil, 1999).

Semena vzchází 10 – 22 dní po setí (Gromová, 1993). Nejprve vytváří přízemní listovou růžici, ostnitých bíle mramorovaných listů (Spitzová, 1997). Zhruba po dvou měsících přechází rostlina do generativní fáze, charakterizované rychlým, dlouhivým růstem (Zimolka, 2000). Délka vegetace je v průměru čtyři měsíce (Spitzová, 1997).

Květenství lze použít k aranžování váz a suchých kytic. Pro zimní dekoraci se odřezávají úbory těsně před květem a suší se obrácené dolů na vzdušných a suchých místech (Husáková, Lhotská, 1981). Těsně před zralostí se celé, chmýřité hlavice uřežou a uloží na větraných, suchých místech, kde teprve dozrávají. Teprve potom se šištice vymlátí a plody se zbaví chmýru (Janča, Zentrich, 1995).

V současné době se pěstují dva typy ostropestřce, které se navzájem liší kvalitativním a kvantitativním složením silymarinového komplexu. Prvním typem je odrůda SILYB, tato odrůda neobsahuje silydianin, ale má vysokou hladinu silybinu ve výše zmíněném komplexu.

Druhým typem je přemnožovaný materiál nejasného původu, který nemá charakter odrůdy ani po faktické, ani po právní stránce. Složením silymarinového komplexu s převahou silydianinu však vyhovuje požadavkům některých odběratelů. Morfologicky nelze oba typy odlišit. Vzhledem ke vzájemné křížitelnosti je nutno pěstování obou prostorově oddělit (Zimolka, 2000).

2.2.3. Technologie pěstování

2.2.3.1. Půdní a klimatické podmínky

Ostropestřec mariánský není náročný na pěstitelské prostředí, na půdy bohaté na živiny, dostatečně zásobené vláhou bývá vděčný (Gromová, 1993). Ostropestřec je rostlinou značně plastickou, kterou lze pěstovat v širokých podmínkách našeho státu. Nejvyšších výnosů je dosahováno na nejkvalitnějších půdách blízkých areálu původního rozšíření druhu, tzn. v podmínkách odpovídajících řepařskému výrobnímu typu. Podmínkou stabilního výnosu je kvalitní půda. Příznivě se projevuje trvalý půdní humus se všemi pozitivními vlastnostmi, neutrální půdní reakce a struktury půdy, které vytvářejí příznivý vzdušný, tepelný a vláhový režim (Zimolka, 2000). Ostropestřec je relativně přizpůsobivý půdním podmínkám, ve srovnání s obilovinami je však citlivější na málo úrodné půdy. Velký význam má dostatek organické hmoty. Na lehkých půdách trpí nedostatkem vláhy. Zcela nevhodné jsou půdy mělké, písčité a kyselé. V příznivých podmínkách a vhodné expozici pozemku lze ostropestřec pěstovat až do výšky 600 m.n.m. Suma průměrných denních teplot se pohybuje mezi 1800 – 2000°C. Kritickým obdobím růstu je fáze přechodu k tvorbě květonosné lodyhy, kdy vyžaduje rostlina dostatek vody (Moudrý, 2011).

2.2.3.2. Zařazení v osevním postupu

Na předplodinu není ostropestřec náročný. Lze doporučit obecně zlepšující předplodiny, jako jsou jeteloviny, směsky apod., nejsou však rozhodující podmínkou úspěchu. Možné je rovněž pěstování ostropestřce po obilnině. Zařazování ostropestřce po ostropestřci není ideální, nicméně se z obavy před zaplevelením praktikuje. Tento postup má v obecné rovině stejné negativní účinky jako v případě ostatních zemědělských plodin (únava půdy, vytvoření plevelného spektra, nižší výnos, vyšší míra výskytu chorob a škůdců (Zimolka, 2000). Předpokládaný nižší výnos lze kompenzovat hnojením („Anon“, 2009). Bylo prokázáno, že pěstování dva roky po sobě zvyšuje výskyt houbových chorob (Zimolka, 2000). V nadmořských výškách nad 500 m. n. m. a ve vlhkých letech je tento postup rizikovější.

V osevním postupu je ostropestřec považován za zlepšující plodinu. Po sklizni se do půdy dostává velké množství organické hmoty. Vzhledem k mohutné listové růžici a zápoji porostu má i účinek odplevelovací. Semena ostropestřce si

pozdržují klíčivost až 15 let, proto je zde riziko zaplevelování následných plodin. Po ostropestřeci je vhodné zařadit obilovinu, jejíž běžná herbicidní ochrana ostropestřec spolehlivě likviduje (Zimolka, 2000).

2.2.3.3. Výsev

Předseťová příprava půdy je zhruba stejná jak pro jarní obilovinu (Spitzová, 1987). Zaměřuje se na pečlivou povrchovou úpravu, s cílem dodržení stejnoměrné hloubky výsevu jako předpokladu vyrovnaného vzcházení („Anon“, 2009).

V současné době se preferuje širokořádkový výsev přesnými secími stroji. Norma výsevu je dána aktuální klíčivostí a kolísá mezi 5 až 8 kg.ha⁻¹ (Spitzová, 1987), do hloubky 2 – 3 cm a šířce řádků 45 cm (Moudrý, 2011). Zasetá semena mohou vyzobávat bažanti (Husáková, Lhotská, 1981). Při použití klasických obilních secích strojů (rozteč botek 12,5 cm) je možné při vyslepnutí botky dosáhnout optimální šířky řádků 37,5 cm („Anon“, 2009). Ostropestřec vytváří 1 – 2,5 m vysokou (Zimolka, 2000; Moudrý, 2011), silnou lodyhu, která je v horní polovině bohatě větvená, pavučinatá a lesklá (Husáková, Lhotská, 1981).

Na jediném běžném metru má být asi 5 – 7 rostlin (Zimolka, 2000). Moudrý (2011) uvádí 6 -12 jedinců na 1m². Výsev na široko, patří spíše k extenzivnímu pěstování této kultury.

V závislosti na klimatických regionech se termín setí pohybuje od 15. 3. – 15.4. („Anon“, 2009). Rostlina začíná klíčit při 5 °C. To umožňuje časně jarní setí, pozdější, zejména květnové výsevy, jsou rizikové. Cílem přesného setí je vytvoření optimální organizace porostu a jí odpovídajícího habitu rostlin. Optimální porosty jsou takové, kde listová růžice zůstává v přízemní vrstvě, horní jedna třetina rostlin je zcela bez listů, rostliny mají nasazeny první tři úbory ve stejné výšce a listová plocha během dozrávání prvních úborů zasychá, výška porostu je do 150 cm (Zimolka, 2000).

2.2.3.4. Výživa a hnojení

Ostropestřec vyžaduje kvalitní půdu, dobře zásobenou humusem a živinami. Nevhodné jsou půdy písčité či štěrkovité, přemokřené a kyselé. Na podzim je třeba pozemek přihnojit 5 - 6 kg NPK na 1 ar. Pokud jsou po vzejití listové růžice slabé,

přihnojíme ledkem vápenatým nebo amonným, a to 100 - 150 kg na 1 ha (Mikešová, Lutovská, 2004).

Problematikou optimální výživy této rostliny se detailně věnují především v oblasti severního Egypta (Ryant, 2005). Na písčitých půdách této oblasti je popisováno pozitivní působení dávek dusíku 120 až 240 kg.ha⁻¹, resp. fosforu 62 kg.ha⁻¹ na výnos nažek, oleje a silymarinu (Omer *et al.*, 1998).

Při srovnání různých druhů dusíkatých hnojiv poskytuje nejvyšší výnos nažek síran amonný a jeho dělená aplikace ve dvou termínech poskytuje také vyšší výnos oleje a všech složek silymarinového komplexu (Omer, 1996). Při sledování vlivu dvou dávek dusíku 70 až 140 kg.ha⁻¹ a tří dávek draslíku (46, 71 a 95 kg.ha⁻¹) bylo zjištěno, že nejvyšší dávky nárůst výnosu nažek, výnosu oleje a obsah oleje v nažkách ve srovnání s nižší hladinou hnojení, ale nemají významný vliv na obsah flavonolignanů (Omer, *et al.*, 1993).

Efekt dusíkatého hnojení ostropestřce mariánského byl zkoumán také v Německu, kde byl výnos nažek ovlivněn negativně a obsah silymarinu se lišil od dusíkem nehnojených rostlin jen o 0,03 % (Schunke, 1992).

Vzhledem k velkému nárůstu nadzemní hmoty vyžaduje ostropestřec odpovídající množství živin. Optimální jsou půdy ve staré půdní síle (Zimolka, 2000). Výživa rostlin je závislá především na předplodině a půdní zásobě živin. Doporučené dávky jsou na podzim 60 – 90 kg/ha P₂O₅ a 80 – 120 kg/ha K₂O (Gondeková 2012, Koblic 2012). Na jaře pak aplikujeme 60 – 90 kg/ha N v dělené dávce – před setím a na začátku dlouhivého růstu (Moudrý, 2011). Dělené dávky jsou vhodné zejména ve srážkově bohatších oblastech (Zimolka, 2000).

Dobrych výsledků dosahuje současná praxe řešící výživu aplikací 300 – 400 kg NPK na 1 ha, zapravených v rámci předset'ové přípravy půdy zejména na horších pozemcích. Dobře se v rámci předset'ové přípravy nebo časně po zasetí osvědčilo použití kapalného hnojiva DAM 390 v dávce 100 l.ha⁻¹ při použití speciálních trysek ve fázi 4. pravých listů plodiny („Anon“, 2009). Při volbě hnojiv je třeba přihlížet k optimálnímu rozmezí pH, které se pohybuje od 5,8 – 7,2 (Zimolka, 2000).

2.2.3.5. Plevelle choroby a škůdci rostlin

Těžištěm kulivačních prací je boj proti plevelům. Ostropestřec se vyznačuje velkou konkurenční schopností. Nicméně platí, že v časných jarních výsevech jsou

plevele nebezpečnější, protože za nízkých teplot roste ostropestřec oproti plevelům pomaleji. V podstatě jde o to udržet kulturu první dva měsíce v bezplevelném stavu. Poté, u nemezerovitého porostu, dojde k zapojení kultury a růst plevelů je prakticky vyloučen. Po vyřádkování až do zapojení porostu je možné plečkování („Anon“, 2009).

2.2.3.6. Choroby rostlin

Zdravotním problémem zejména podhorských oblastí je plíseň šedá (Spitzová, 1997). *Botrytis cinerea* napadá zejména květonosné stvoly ostropestřce. V konečném stádiu vývoje choroby dochází k zaškrcení stonku těsně pod úborem a následně k omezení či úplné zástavě přísunu živin k semenům. Může docházet ke zlomení celého úboru a tím a markantnímu snížení výnosu. Napadené rostliny předčasně zasychají, dochází k snížení obsahu účinných látek v droze i výnosu („Anon“, 2009). Nejspolehlivější ochranou proti této chorobě jsou rajonizace do teplých oblastí, moření osiva, řádkové kultury, dodržování normy výsevu (Zimolka, 2000).

Problémem teplých oblastí z hlediska výskytu chorob jsou houby rodu *Fusarium*. Fusaria přežívají v půdě na zbytcích rostlin jako saprofyti. Příznaky choroby, vedoucí až k úhynu rostlin, se začínají masově objevovat od fáze listové růžice. Rostlina postupně vadne, žloutne, až hnědne. Rozhodujícím faktorem pro výskyt choroby je pozdní výsev. Spolehlivým preventivním opatřením je včasný výsev biologicky hodnotného, mořeného osiva (Zimolka, 2000).

Z dalších patogenních hub je to *Alternaria silybi* – černá skvrnitost listů a *Septoria silybi* (Gondeková 2012) V létě se celé rostliny i s květenstvím mohou pokrýt bílým moučnatým povlakem, který se později zbarvuje do šeda a pak do hněda. Jedná se o padlí článkované – *Erysiphe communis*. nebo o *Botrytis cinerea*. Prevencí proti těmto chorobám je včasný výsev). Pokud by choroba přesáhla práh škodlivosti, je možný postřik přípravky na bázi benomylu (Fundazol), dále pak Rubigan, Bayleton a Karathane v doporučených dávkách. V pozdních vývojových fázích, na již zavadajících listech, parazituje *Alternaria alternata*. Projevuje se hnědými, koncentrickými skvrnami na listech. Protože napadá rostliny až v konečných vývojových fázích, už kulturu neohrožuje („Anon“, 2009).

2.2.3.7. Škůdci rostlin

Na klíčících rostlinách mohou škodit drátovci. V ročnících s větším výskytem mšice makové (*Aphis fabae*) je napadán i ostropestřec. Nepravidelné otvory na listech vykusují nosatcovití brouci – štítonoši (*Cassida sp.*) a dlouháč plevový (*Tanymecus palliatus*). Zpravidla kulturu vážně neohrožují. V posledních letech byl zaznamenán výskyt housenek, vesměs polyfágních škůdců. Při skladování škodí zejména myši, ze skladištních škůdců zejména zavíječ paprikový (*Ploidia interpunctella*). Ochrana proti chorobám a škůdcům musí respektovat ustanovení Státní rostlinolékařské správy (Zimolka, 2000).

2.2.3.8. Sklizeň

Nejnáročnějším článkem agrotechniky je sklizeň limitující jak výnos, tak kvalitu drogy. Obsah účinných látek je přímo úměrný stupni vyžrání semen. Vzhledem k jejich postupnému dozrávání v různých patrech rostlin (Spitzová, 1997), od shora dolů a v úboru od středu ven (Moudrý, 2011), je odhad termínu sklizně obtížný a sklizeň pouze zcela biologicky zralých semen technicky neproveditelná (Spitzová, 1997). Velké větvení rostliny a nerovnoměrné dozrávání působí větší sklizňové ztráty (Moudrý, 2011).

K termínu sklizně má být porost jako celek zbarven bíle. Je-li zbarven do fialova, je sklizeň předčasná. Termín sklizně v teplých, jižních regionech se kryje se sklizní jarního ječmene (červenec), v závislosti na nadmořské výšce se posouvá na září až říjen. Základ výnosu tvoří první 3 – 4 zcela zralé úbory na rostlině, charakterizované bílým chmýrem a tmavě hnědě zbarvenými semeny (Zimolka, 2000). Výnos je 0,75 – 1 t drogy/ha (Moudrý, 2011). Sklizeň by se neměla provádět za slunečného a větrného počasí, protože se úbory otevírají a vypadávání zralých, nejkvalitnějších semen je vyšší (Gondeková, 2012). Je vhodnější sklizeň situovat do ranních hodin za podmračeného počasí, neboť po sklizni následuje sušení a čištění („Anon“, 2009). Sklizňové ztráty kolem 20% a vyšší nejsou výjimkou (Zimolka, 2000). Zralá semena jsou atraktivní pro četné ptactvo (Gondeková, 2012).

V případě pokusů parcelkových a poloprovodních, kde jsou v rámci pokusu kolem každé parcelky, která musí optimální rozměr (např. 1x1m, 1x2m, 5x2m, 20x2m) a má zajištěny po obvodu volné pásy široké 1 až 2m, se zpravidla porost sklízí ručně z důvodu odstranění sklizňových ztrát tvořených nejkvalitnějším

podílem semen. Potom je výhodné sklizeň provádět v poledních a odpoledních hodinách. Sklízí se speciálními vysavači a je dobré, když jsou úbory naopak otevřené. Sklizená semena mají potom také nižší vlhkost, což je výhodné z pohledu posklizňové úpravy (Gramanová, 2009).

Sklizený produkt má vždy vysokou vlhkost (22% - 35%). Na sklizeň tak musí navazovat posklizňová úprava. Dobře vyhovují zařízení, kde na kterých lze ještě vlhký produkt předčistit a poté sušit. Možný je samozřejmě i obrácený postup, který však mírně zvyšuje náklady. Ve všech případech je nutno aktivně sušit teplotou do 50°C, nejlépe pak do 30°C. Možné je i krátkodobé sušení teplotou 80°C, která však může mít negativní dopad na biologickou hodnotu semen. Tento způsob sušení se v praxi běžně používá, avšak pouze u porostů, kde výsledným produktem je droga k farmaceutickému zpracování. U osiva pro množitelské účely je samozřejmě použití tak vysoké teploty z uvedených důvodů nepřijatelné. Používá se i sušení na roštech nebo sítěch, které je vždy pracnější. Výsledná vlhkost vyčištěného a usušeného osiva musí být do 10% („Anon“, 2009).

Posklizňové zbytky se rozdrtí jakýmkoli zařízením, které je schopno vytvořit zaoratelné zbytky. S výhodou lze, spolu s kompenzační dávkou dusíku 30 – 40 kg.ha⁻¹, zaorat a obohatit tak půdu o velké množství organické hmoty. Výhodné ve srážkově bohatších oblastech je ponechat vypadaná semena vyklíčit a vzešlé rostliny zaorat v rámci podzimní přípravy půdy (Zimolka, 2000).

2.3. Chemické složení rostliny *Ostropestřec mariánský*

2.3.1. Charakteristika lignanů

Lignany jsou poměrně rozsáhlou skupinou sekundárních metabolitů cévnatých rostlin se zajímavými fyziologickými účinky. Skládají se ze dvou fenylypropanových jednotek, které jsou spojeny přes centrální (β) uhlíky obou postranních řetězců. Název lignany byl pro tuto skupinu přírodních látek odvozen z toho, že tyto sloučeniny byly původně považovány za meziprodukty při biosyntéze ligninu (C₆ – C₃)_n, polymeru rovněž složeného z fenylypropanových jednotek jako lignany (C₆ – C₃)₂. Dnes je zřejmé, že vzhledem ke struktuře ligninu a lignanů pouze některé z nich mohou sloužit k tomuto účelu. Navíc lignin je na rozdíl od naprosté většiny lignanů opticky inaktivní (Slanina, 2000). Lignany jsou chemicky příbuzné polymerním ligninům rostlinných buněčných stěn a byly nalezeny zejména ve dřevě,

kde slouží jako stavební bloky pro tvorbu ligninu (Beran, 2007). V současné době je známo již téměř 500 těchto sloučenin (Beran, 2007), nacházejících se ve více než 70 čeledích rostlin (Slanina, 2000) a jejich počet stále narůstá (Beran, 2007). Mohou se vyskytovat v rostlinách ve formě glykosidů, většinou jsou však přítomny ve formě aglykonů. Lignany se nacházejí hojně u nahosemenných rostlin (jehličnany) a u dvouděložných rostlin. Byly nalezeny prakticky ve všech částech rostlin, typická je jejich přítomnost ve dřevě a kůře stromů a v pryskyřicích. U některých druhů byl nejvyšší obsah lignanů nalezen v semenech (Slanina, 2000).

Málo je známo o fyziologické funkci lignanů v rostlinách. Protože se jedná o sloučeniny, které vykazují antimikrobiální, antimitotické, antivirové, antioxidační a antinutriční vlastnosti, předpokládá se, že podobně jako jiné sekundární metabolity zvyšují rezistenci rostlin proti různým patogenům (Slanina, 2000).

Nepolární charakter lignanů umožňuje jejich snadnou prostupnost buněčnými membránami a schopnost ovlivnit v buňkách řadu biologických dějů. Některé lignany se používají jako léčiva, např. cytostatika etoposid a teniposid. Vykazují také výraznou antivirovou aktivitu, včetně aktivity vůči viru HIV (Slanina, 2000).

Lignany byly také nalezeny v krvi a moči savců, včetně člověka. Tyto „živočišné“ lignany vznikají ve střevech savců mikrobiální transformací rostlinných lignanů (Slanina, 2000), strukturálně připomínají syntetické estrogeny (ženské pohlavní hormony) a mohou působit jako slabé estrogeny, nebo antiestrogeny. Tyto látky mají celou řadu pozitivních zdravotních účinků, působí např. jako prevence onemocnění srdce a oběhového systému nebo rakoviny (Beran, 2007).

Neustále přibývá důkazů o tom, že příjem potravin s vysokým obsahem lignanů snižuje riziko vzniku kolorektálního karcinomu, rakoviny prsu u žen a rakoviny prostaty u mužů. Lignany mohou působit preventivně vůči nádorovým onemocněním (Konoschima et al. 1991) nejen díky své antiestrogenní aktivitě, ale také díky schopnosti inhibovat klíčivé enzymy biosyntézy steroidních hormonů 5 α -reduktasu a aromatasu a vyvolat indukci syntézy enzymů, které se podílejí na II. fázi detoxikace xenobiotik nebo působit jinými zatím neznámými mechanismy (Slanina, 2000).

Velká pozornost je v současnosti věnována studiu antioxidantů, které jsou schopny potlačit účinky volných kyslíkových radikálů podílejících se na velkém množství patologických stavů v lidském organismu (Slanina, 2000).

2.3.2. Flavanolignany a další účinné látky

Flavonoidy jsou skupinou polyfenolových sloučenin, které se navzájem liší chemickou strukturou a vlastnostmi, nacházející se všudypřítomně v rostlinách. Flavonoidy jsou také součástí lidské stravy. Bylo identifikováno více než 4 000 různých flavonoidů v rámci hlavních tříd, které zahrnují flavanoly, flavony, flavanony, katechiny, isoflavony, dihydroflavonoly, antokyany a chalkony. Flavonoidy jsou účinnými antioxidanty, lapači volných radikálů a inhibují peroxidaci lipidů. Epidemiologické studie také ukazují, inverzní korelaci mezi příjmem flavonoidů v potravě a úmrtností na ischemickou chorobu srdeční (Cook, Samman, 1996).

V roce 1952 se Herzogovi a Hagedornovi podařilo zjistit, že aktivní složkou semen ostropestřece jsou látky flavonoidní povahy. Struktura dvou flavanonů – silybinu a silydianinu pak byla objasněna o 8 let později Janiakem a Hänselem. Dalšími komponentami směsi flavonoidů, souhrnně označován jako silymarin jsou silychristin a iso-silybin. Všechny tyto látky jsou tvořeny flavanonem taxifolinem (dihydrokvercetin) k němuž je oxidativní adicí připojena molekula koniferylalkoholu. Vzhledem k tomu že koniferylalkohol je rovněž složkou ligninu, dostal tento nový typ flavonoidů souhrnné označení flavanolignany (Jegorov, 1996).

Silybin, silydianin, silychristin a iso-silybin tvoří spolu s taxifolinem, kvercetinem, dihydrokampherolem a apigeninem podstatnou část flavonoidů extrahovaných ze semen fialově kvetoucího ostropestřece (Kurkin et al. 2003, Kang Jongsoon et al. 2004, Toklu et al. 2007). Jako minoritní složky byly izolovány analogické flavony odvozené od kvercetinu, např. dehydrosilybin, které pravděpodobně vznikají v důsledku snadné oxidace flavanonů na flavanony. Z bíle kvetoucí variety *Silybum marianum* byly izolovány 3-deoxy-flavanolignany: silandrin, silymonin, silyhermin a neosilyherminy A a B, které se v semenech fialově kvetoucího ostropestřece nevyskytují (Jegorov, 1996).

Zatímco biosyntéza flavonoidů z fenyllalaninu představuje řadu specifických enzymatických reakcí, nízká stereospecifita následné oxidativní adice koniferylalkoholu je v souladu s předpokládaným radikálovým mechanismem této reakce probíhající v podmínkách jak *in vitro*, tak *in vivo*. Struktura flavanolignanů je neobyčejnou ukázkou stereochemických možností oxidativní adice olefinu (koniferylalkoholu) na fenol (taxifolin). Tvorba 1,4-benzodioxanů, v níž reagují obě

sousední fenolické skupiny (3', 4'), poskytuje čtyři stereomery nalezené v přírodní směsi: dva silybiny, kde je α -uhlík koniferylalkoholu vázán na 3'-O a dva iso-silybiny u nichž je α -uhlík koniferylalkoholu vázán na 4'-O náležící C-kruhu taxifolinu. Vzhledem k přítomnosti dalších chirálních center v molekule mají jednotlivé stereomery odlišné vlastnosti a lze je tudíž rozpoznat kapalinovou chromatografií v achirálním systému. Podle pořadí vyluhování byly jednotlivé silybiny a iso-silybiny označeny A a B. Koniferylalkohol se může adovat i na pozici jedné ze dvou OH skupin C-kruhu taxifolinu (3'nebo 4') a současně na jeden ze sousedících uhlíků (2'nebo 5') jako je tomu v případě silychristinu (4'-O- α , 5'-C- β), iso-silychristinu (3'-O- α , 2'-C- β), silyherminu (4'-O- α , 5'-C- β = 3-deoxy-silychristin) nebo neo-silyherminu A (3'-O- α , 2'-C- β = 3-deoxy-iso-silychristin). Ještě lepší trojrozměrnou představivost vyžadují struktury silydianinu a silymoninu (3-deoxy-silydianin), kde je koniferylalkohol navázán na třech místech C-kruhu taxifolinu (5'-C- α , 2'-C- β , 3'-O- γ -O). Tento typ adice vede pouze k jedinému stereomeru, jehož absolutní konfigurace byla prokázána RTG-difrakcí (Jegorov,1996).

Účinné látky ze skupiny flavonolignanů, jsou lokalizovány v oplodí a osemení plodů a jsou označovány jako tzv. silymarinový komplex (Indrák, Chytilová, 1992) Izomerický poměr silybinu k izosilybinu, silychristinu a k silydianinu je 3:1:1:1 (Tůmová, Gallová, 2006). Standardizovaný extrakt ze semen *S. marianum*, silymarin, deklarovaný v různých zemích jako lék nebo potravní doplněk, obsahuje 70 – 80 % silymarinového komplexu (směs flavonolignanů silybinu, silychristinu, silydianinu, isosilybinu, dehydrosilybinu a několika flavonoidů, např. taxifolinu) a 20 – 30 % polymerních a různě oxidovaných polyfenolických sloučenin. Hlavní komponenta silymarinového komplexu, silybin představuje směs dvou diastomerů A a B v přibližném poměru 1:1 (Křen, Waltrová, 2005). Z těchto chemických komponentů je terapeuticky využíván, vzhledem k výraznému hepatoprotektivnímu účinku, silydianin a zejména silybin (Indrák, Chytilová, 1992).

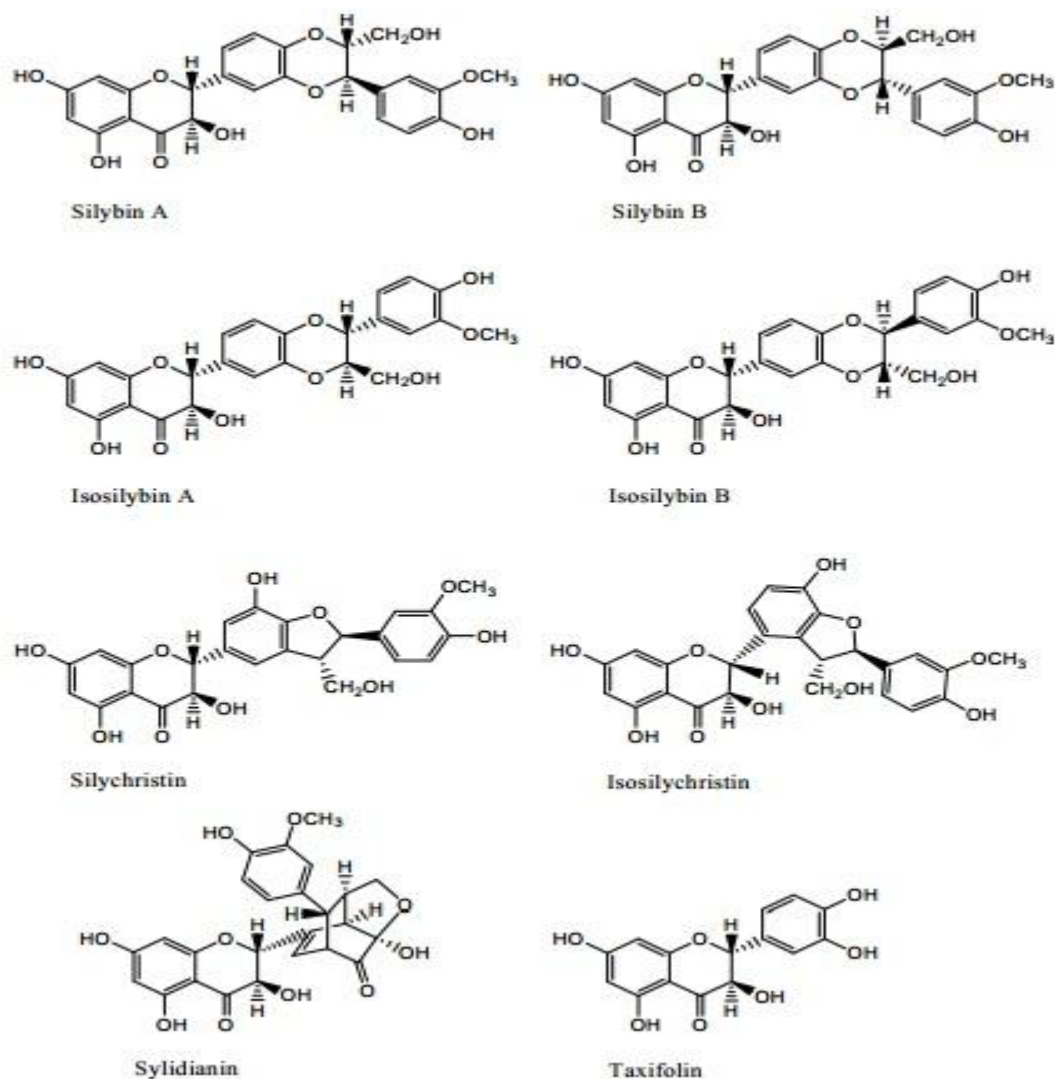
Nažky obsahují asi 26 až 28 % bílkovin, asi 25 – 35 % oleje s vysokým podílem kyseliny linolové (55 až 72 %) a olejové (15 až 26 %) a 8 až 12 % nasycených mastných kyselin (Baranyk, Zelený, Zukalová, Hořejš, 1995). Mezi další obsahové látky této drogy patří aminokyseliny se značným podílem zástupců obsahující síru, cukry (glukóza, fruktóza a blíže neurčená pentóza), hořčiny, silice.

Pro obsah biogenních aminů (tyramin, histamin) se droga kdysi doporučovala jako náhražka za náměl (*Secale cornutum*), jeho účinnosti však nemohla dosáhnout (Tůmová, Gallová, 2006).

2.3.3. Kultivar Silyb a jeho chemické složení

Předpokladem každé výroby je kvalitní surovina. V daném případě jsou to nažky ostropestřece mariánského s odpovídajícím kvalitativním a kvantitativním složením silymarinového komplexu. Přirozené populace představují v tomto směru velice nesourodý rostlinný materiál nepoužitelný jako standardní surovinový zdroj (Spitzová, 1997). Vznikl proto úkol vyšlechtit kultivar ostropestřece, který bude obsahem účinných látek vyhovovat potřebám farmacie a výnosy zemědělskému pěstování. Šlechtění tak stálo před otázkou, zda šlechtit odrůdu s rovnovážným poměrem silybinu a silydianinu, nebo jít cestou dvou samostatných odrůd – chemovariet, z nichž jedna by obsahovala pouze silybin a druhá pouze silydianin. Po izolaci by bylo možné míchat obě látky v libovolném poměru. První možnost se posléze ukázala jako šlechtitelsky neschůdná, došlo tedy k realizaci druhé, vyhovující i současným tendencím směřujícím k vývoji nového, originálního léčiva založeného pouze na bázi silybinu jako nositeli nejvýraznějšího terapeutického účinku (Spitzová, 1986). Z toho vyplývá, že droga jako průmyslová surovina by měla mít v silymarinovém komplexu zastoupen především silybin, a to v množství které umožní jeho ekonomickou izolaci (Spitzová, 1991).

Vzhledem k tomu, že v původní pěstované kultuře byly koncentrace silybinu nízké (0,2 – 0,6 %) a vzájemný poměr silybinu a silydianinu v droze kolísal (Indrák, Chytilová, 1992) bylo zahájeno cílené novošlechtění završeného posléze cv. Sylib, zapsaným do Listiny povolených odrůd v roce 1984 (Spitzová, 1997).



Obr. 1. Chemická struktura hlavních složek silymarinového komplexu (TŮMOVÁ, TŮMA, 2009)

2.4. Metody stanovení některých účinných látek v Ostropestřeci mariánském

2.4.1 Chromatografie

Chromatografické metody, jako jsou například vysokoúčinná kolonová kapalinová chromatografie (HPLC), plynová chromatografie (GLC) či chromatografie na tenké vrstvě (TLC), slouží k dělení a identifikaci mnoha organických a anorganických látek obsažených v přírodních i technických směsích v širokém koncentračním pásmu Kopřiva 2002; Fremerová 2004; Votavová 2004; Kužel a kol. 2008; Gramanová 2009; Koblíček 2012; Petr 2012, 2014. Jedná se tedy o jedny z nejdůležitějších analytických a separačních metod (Drbal, Křížek, 1999), jejichž výstupem jsou kvalitativní a kvantitativní údaje o vzorku (Coufal, 2004a; Chmel et al., 1987).

Jednotlivé složky se rozdělují mezi pohyblivou (mobilní) a nepohyblivou (stacionární) fázi. Stacionární fáze, označovaná jako sorbent, vytváří tzv. chromatografické lože, kterým protéká mobilní fáze, označována také jako eluent. Jako mobilní fáze slouží kapalina či plyn, jako stacionární fáze pak tuhé části o velikosti v řádech mikrometrů, kapalina na povrchu inertního nosiče či film kapaliny na vnitřní stěně kapiláry (Drbal, Křížek, 1999).

Při nástřiku vzorku do chromatografické kolony se nejprve vytvoří směs jednotlivých složek, které se pak pohybují mobilní fází směrem k sorbentu, s rozdílnou rychlostí, čímž dochází k jejich separaci. Tento proces je většinou podmíněn více mechanismy. Používá členění na chromatografii na tenké vrstvě, plynovou a kapalinovou chromatografii (Drbal, Křížek, 1999).

Jednotlivé látky v podobě eluátu, tj. roztoku v mobilní fázi, se pohybují kolonou, až dosáhnou jejího konce a jsou zaznamenány detektorem, načež opustí kolonu. Jsou unášeny odlišnou rychlostí v závislosti na distribuční konstantě mezi oběma fázemi, na míře zadržení ve stacionární a mobilní fázi (Chmel et al., 1987). Jejich cestu popisuje tzv. eluční pík (Drbal, Křížek, 1999), jehož vrchol určuje konkrétní látku (kvalitativní analýza) a plocha určuje její koncentraci ve směsi (kvantitativní analýza). Údaje jsou vyhodnocovány porovnáním s tzv. standardní směsí (Chromatografie, 2009).

Výsledkem je chromatogram, který má svůj start na začátku chromatografického děje. Místo, kde se v daném okamžiku nacházejí složky s nulovou aktivitou vůči stacionární fázi, které bylo původně na startu, se nazývá čelo mobilní fáze. Místa výskytu ostatních jednotlivých složek se nazývají pásy, zóny a někdy též skvrny (Hubáček, 1988).

2.4.1.1. Vysokoučinná kapalinová chromatografie HPLC (high performance liquid chromatography)

HPLC je jednou z nejdokonalejších forem sloupcové kapalinové chromatografie využívaných k dělení směsí velmi příbuzných látek. Její vznik souvisel s rozvojem přístrojové techniky, především v oblasti detekce chromatografovaných látek. Velké pozitivum této metody spočívá ve vysoké účinnosti a rozlišovací schopnosti (Sklenák, 2003).

HPLC probíhá v uzavřeném systému, klíčovou roli má mobilní fáze, která je kapalná a může být do kolony vedena přes odplyňovač a vysokotlaké čerpadlo při isokratické eluci, nebo přes směšovač a čerpadlo při gradientové eluci. (Drbal, Křížek, 1999).

Tlaky v koloně se běžně pohybují od 1 do 60 MPa, průtoky od 0,1 do 10 ml.min⁻¹, délky rovné kolony od 10 - 100 cm, nejčastěji 10 - 20 cm s vnitřním průměrem od 0,2 do 2 cm, velikost zrn sorbentu tvořených vysoce homogenními částicemi (Sklenák, 2003) se pohybuje mezi 3 – 50 μm. Vzorokly se dávkují mikro stříkačkou pomocí tzv. stop flow ventilu. (Drbal, Křížek, 1999). Jako kolony se využívají skleněné, kovové (Sklenák, 2003) či křemenné trubice (Štern, 2003). V separační koloně složené ze sorbentu a eluentu dochází k oddělení jednotlivých složek. Jejich rychlost průtoku může být rozdílná, vytvářejí oddělené zóny, které odpouštějí postupně kolonu ve formě eluátu.

Jejich vývoj popisují na vnějším chromatogramu eluční křivky, tzv. eluční píky (Kopřiva, 2002), jejichž plocha je úměrná množství složky (Garaj et al., 1987). Na výstupu z kolony protéká eluát detektorem, který je nejčastěji v podobě průtokového fotometrického detektoru, fluorimetrického detektoru či tepelně vodivostního detektoru (Drbal, Křížek, 1999). Garaj et al. (1987) rozlišují detektory HPLC na koncentrační, kam spadají diferenciální refraktometry a fotometrické UV detektory, a selektivní, mezi něž patří elektrochemické detektory, infračervený detektor a flourescenční detektor. Velmi účinným řešením detekce je i hmotnostní spektrometr, který je však technicky a finančně velmi náročný (Štern, 2003).

Detektor bývá spojen se zapisovacím a vyhodnocovacím zařízením. V současné době mohou automatizované systémy HPLC za pomoci digitalizovaných zařízení pro registraci a vyhodnocení průběhu analýzy uskutečnit až několik set analýz za den (Drbal, Křížek, 1999).

2.4.1.2 Chromatografie na tenké vrstvě

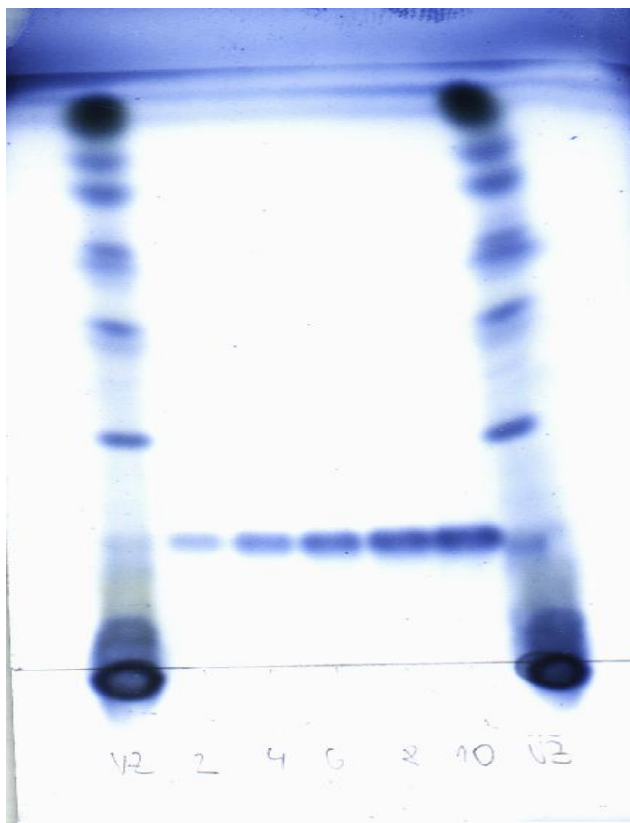
Tenkovrstvá chromatografie (Thin Layer Chromatography) má dvě podoby: rozdělovací, kdy stacionární fáze je kapalina zachycená v tenké vrstvě a mobilní fáze je též kapalná, a adsorpční, kdy stacionární fáze je tuhý adsorbent, který je součástí tenké vrstvy, a mobilní fáze je kapalná (Coufal, 2004)

Jedná se o jednoduchou a často používanou chromatografickou metodu, lze ji charakterizovat jako chromatografii v otevřené koloně. Na tenké vrstvě je podstatně méně stacionární fáze a tudíž analýza může být velmi rychlá v porovnání s kolonou (Sobotníková, 2007).

Používají se prakticky všechny stacionární fáze jako pro kolonovou chromatografii se zrnitostí 5 až 40 μm , např. oxid hlinitý, silikagel, celulóza, iontoměniče, polyamid naneseny na skleněných deskách nebo hliníkových fóliích. Jako mobilní fáze slouží cyklohexan, toluen, chloroform, dichlormetan, voda, aceton, etanol, metanol, amoniak, kyselina octová a jejich směsi (Coufal, 2004).

Provádí se na deskách, na kterých je nanesena tenká vrstva sorbentu. Na místo, vhodně vzdálené od okraje desky (start), se nanese kapka dělené směsi (Drbal, Křížek, 1999). Nanáší se 0,1 % až 5 % roztoky v množství 200 nl až 20 μl do skvrn o průměru 2 až 6 mm (Coufal, 2004).

Po odpaření rozpouštědla se deska umístí do chromatografické komory, do níž se předem nasadí určité množství mobilní fáze a komora se nechá saturovat parami rozpouštědel. Vyvíjení se obvykle provádí vzestupně, tzn., že okraj desky se ponoří do rozpouštědla šikmo tak, aby skvrna vzorku byla nad jeho hladinou. Rozpouštědlo vzlíná vrstvou sorbentu a unáší s sebou dělené složky. Po určité době se deska vyjme z rozpouštědla, to se nechá odpařit a provede se detekce, a to vybarvením skvrn jednotlivých složek po postřiku chromatogramu vhodným činidlem (Kopřiva 2002), nebo prohlížením chromatogramu v ultrafialovém světle či jinou technikou (Drbal, Křížek, 1999).



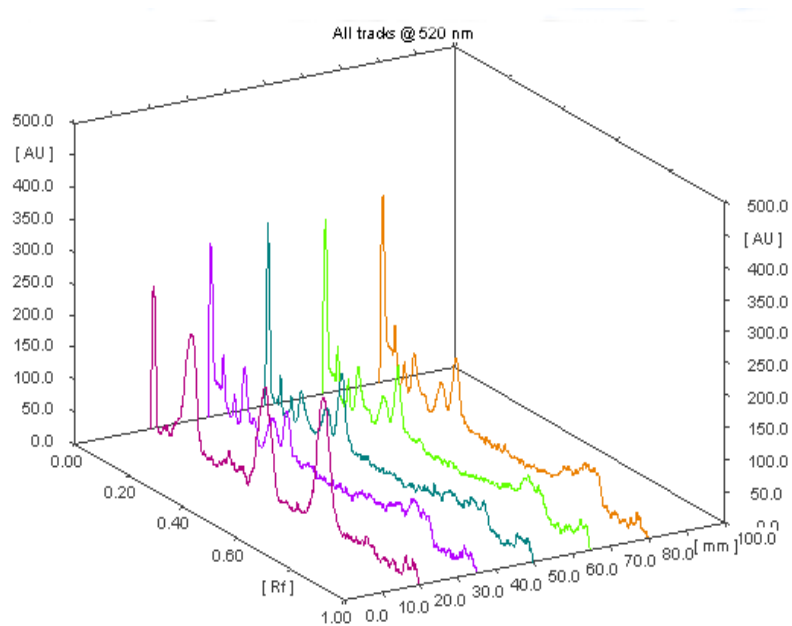
Obr. 2 TLC stanovení ekdysteronu v *Leuzea Saflorová* (Kopřiva 2002)

Analyty lze stanovit přímo na chromatogramu pomocí fotodozimetru (densitometru), který převede skvrny analytů na chromatogram s píky, jejichž plocha je úměrná množství příslušného analytu ve skvrně, nebo se analyty extrahují z chromatogramu a stanoví se vhodnou metodou v roztoku (Coufal, 2004).

Kvalitativní vyhodnocování chromatogramů se provádí změřením hodnot retardačním faktorem R_F jednotlivých složek a jejich porovnáním se standardními vzorky chromatografovanými za stejných podmínek. Vyhodnocení je možno provést několika způsoby, z nichž nejjednodušší je vizuální porovnání velikosti skvrn stanovované složky ve vzorku a ve standardu (Drbal, Křížek, 1999).

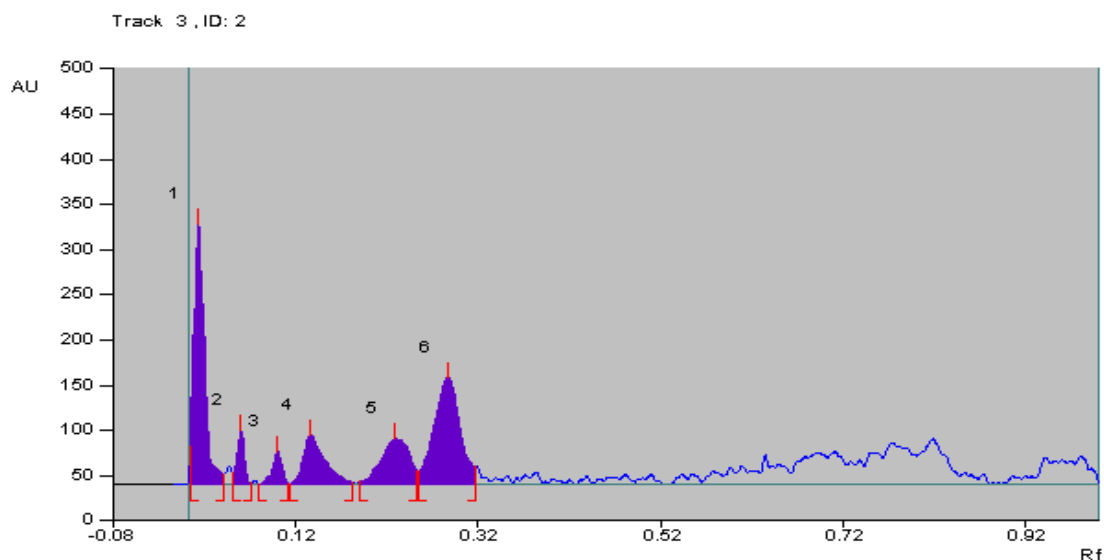
Jinou možností je vymytí skvrn jednotlivých složek (např. po rozstříhání chromatogramu) a použití některé z technik kvantitativní analýzy (např. fotometrie) ke stanovení (Drbal, Křížek, 1999; Kužel 2008).

Pro vyhodnocení TLC-desek byl použit přístroj Scanner 3 od firmy CAMAG. Jedná se o denzitometr, tj. spektrofotometr měřící odražené světlo v absorbančním i fluorescenčním módu. Výsledky byly následně zpracovány pomocí programu winCATS, verze 1.3.0.



Obr. 3 Vyhodnocení TLC-desek na přístroji Scanner 3 od firmy CAMAG (Kužel a kol. 2008)

Pomocí denzitometru byly získány velikosti ploch jednotlivých skvrn a jejich R_f hodnoty. Následně byly porovnány plochy skvrn se shodnými R_f , tj. stejnými skupinami látek. Vliv elicitorů se zjistil porovnáním plochy kontrolního vzorku s plochami vzorků s různou koncentrací elicitorů. Jednotlivé plochy skvrn byly přepočítány na $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ suché hmoty.



Obr. 4 Vyhodnocení TLC desek pomocí diastomeru (Kužel a kol., 2008)

2.4.2. Kapilární elektroforéza

Kapilární elektroforéza je velmi rychlou elektromigrační metodou s vysokou rozlišovací schopností (Coufal, 2004). Aplikuje se nejčastěji ve vodných roztocích a využívá rozdílné pohyblivosti nabitých částic ve stejnosměrném elektrickém poli (Drbal, Křížek, 1999).

Kapilára je ne naplněna základním elektrolytem a její konce jsou ponořeny do zásobníků elektrolytu společně s elektrodami z inertního materiálu. Mezi elektrody se aplikuje vysoké napětí (10 - 30 kV) a fotometrický detektor zachycuje pohyb nabitých částic, který je vyhodnocován v podobě elektroforegramu podobného chromatogramu. Poloha píku vyjadřuje kvalitu, plocha a výška kvantitu (Klouda, 2003)

2.4.2.1 Kapilární zónová elektroforéza (CZE)

Kapilární zónová elektroforéza (Capillary Zone Electrophoresis) čili kapilární elektroforéza ve volném roztoku (Free Solution Capillary Electrophoresis) využívá elektroosmotického toku iontů v kapiláře směrem k detektoru (Drbal, Křížek, 1999). Oba konce kapiláry jsou ponořeny v tlumivém roztoku, kapilára z taveného křemene je potažena ochranným polyamidovým povlakem, který v délce několika milimetrů chybí na katodovém konci, aby byla umožněna fotometrická detekce.

Kapilára je dlouhá od 25 do 100 cm (Klouda, 2003) a má běžně průměr 25 - 75 μm (Drbal, Křížek, 1999). Na anodovém konci je do kapiláry nasáván vzorek v množství přibližně tisíckrát menším než u chromatografických metod (1 - 10 nl). Okolní prostor by měl být striktně termostatický. Svorkové napětí dosahuje hodnot 10-30 kV, což zapříčiňuje velmi vysokou rychlost přenášených iontů (Drbal, Křížek, 1999). Separace iontů uvnitř kapiláry je dána jejich rozdílnou elektroforetickou rychlostí (Coufal, 2004c), kvalita separace je pak určována délkou kapiláry, pohyblivostí dělených iontů a rychlostí elektroosmotického toku, která je závislá na teplotě a pH roztoku (Drbal, Křížek, 1999). Přesnost a účinnost metody kapilární zónové elektroforézy byly porovnávány s metodou HPLC (Quaglia et al., 1999; Kvasnička, et al. 2003; Velikinac et al., 2004). Bylo prokázáno, že obě metody poskytují obdobné výsledky, přičemž HPLC stanovuje mírně vyšší obsah flavanolignanů oproti CZE, neboť udává vyšší úroveň silydianinu a silychristinu.

Obsah silybinu je u obou metod podobný. Analýza kapilární zónovou elektroforézou je dvakrát rychlejší než metodou HPLC.

Metoda CZE umožňuje na rozdíl od HPLC separaci diastereomerů isosilybinu, je tedy citlivější.

2.4.2.2 Srovnání metod pro stanovení účinných látek

Při porovnání metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) a chromatografie na tenké vrstvě (TLC) byla v některých pokusech nalezena vyšší koncentrace silybinu, přestože příprava vzorku k analýze jak TLC, tak i HPLC byla stejná. Statisticky bylo prokázáno, že mezi stanovením obsahu silybinu v droze metodou HPLC a stanovením spektrofotometrickou metodou, po rozdělení na jednotlivé komponenty pomocí TLC, existuje vysoce průkazný rozdíl. Důvodem se stala reakce mezi diazotovanou kyselinou sulfanilovou a silybinem a iso-silybinem, které nejsou na tenké vrstvě rozděleny. U HPLC byla odečtena koncentrace pouze silybinu, resp. iso-silybinu, neboť u těchto komponent dochází na koloně k rozdělení a jsou detekovány samostatně (Indrák, Chytilová, 1992; Gramanová 2009).

Při porovnávání HPLC a kapilární zónové elektroforézy (CZE) bylo různými autory dosaženo podobných výsledků (Velikinac, et. al., 2004, Quaglia, et. al., 1999, Kvasnička, et. al., 2003). Obsah silymarinových komponentů v droze dokonce koreloval s jejich antioxidačními účinky. Zajímavostí se stala čistota extraktů ostropestřce mariánského, kdy se při vyšší čistotě snižoval antioxidační účinek, což bylo pravděpodobně způsobeno tím, že nečistoty samotné měly vyšší antioxidační účinek než identifikované flavonolignanů, a proto se stanou předmětem dalšího bádání (Kvasnička, et. al., 2003, Gramanová 2009).

Experimenty za podobně popsáných podmínek prokázaly, že metoda CZE je více selektivní, zatímco metoda HPLC více senzitivní (Velikinac, et. al., 2004) s tím, že metoda CZE neseparovala diastereomery isosilybinu a metoda HPLC jejich separaci umožňuje (Quaglia, et. al., 1999) a v konečném výsledku udává nepatrně vyšší celkové obsahy flavonolignanů. Na druhou stranu metoda CZE je dvakrát rychlejší a oproti metodě HPLC poskytuje lepší separaci silychristinu a silydianinu a díky své přesnosti vyhovuje veškerým farmakologickým kritériím (Kvasnička, et. al., 2003).

Obečně lze říci, že při použití metody HPLC a CZE se dosahuje srovnatelných výsledků. Při porovnávání metody HPLC a TLC (Gramanová 2009; Kopřiva 2002) bylo prokázáno, že vliv na výsledek má vzhledem k obsahu účinných látek rovněž i stupeň umletí semen (rozdíl až 26 %), doba ponechání mleté drogy před další extrakcí (rozdíl až 12 %), způsob utěsnění baňky – vlivem netěsnosti může dojít k částečnému odpaření extrakčního činidla (aceton, bod varu 56,3 °C), a tím vlastně k zakoncentrování silybinu (rozdíl až 13 %), kvalita použitého extrakčního činidla a standardních látek (Indrák, Chytilová, 1992) a způsob extrakce (Subramaniam, et. al., 2007).

2.5. Farmakologické účinky účinných látek

Drogou jsou plody (*Fructus cardui Mariae*). Účinné látky jsou bezprostředně pod osemením (tyramin, histamin, silybin) (Korbelář, Endris, 1981).

Lidově se dosud hojně užívá list (*Folium cardui Mariae*), trhaný na jaře v květnu a červnu, mezi 14. a 16. hodinou. Zřídka je užíván i kořen (*Radix cardui Mariae*), kopaný na jaře (Janča, Zentrich, 1995).

Ostropestřec mariánský je využíván v evropské medicíně po staletí jako nejúčinnější lék na choroby jater. Systematické studie aktivních složek začaly v 60. letech 20. století. Wagner et al. (1967) poprvé izolovali silymarin ze semen ostropestřece, přičemž později odhalili, že se nejedná o jednu látku, ale celý komplex flavanolignanů. Byly učiněny pokusy získat silymarin biotechnologickými metodami, výsledky zatím nedokazují, že by v blízké budoucnosti mohlo dojít k nahrazení polní plodiny ostropestřece jako základního zdroje farmaceutického materiálu (Cacho et al. 1999, Alikaridis et al. 2000, Sanchez-Sampedro et al. 2008).

Produkce silymarinu a na jeho bázi založených léků celosvětově stále roste, mezi největší producenty se řadí Čína, Španělsko, Česká republika, Indie a Brazílie.

Tab. 1 Seznam některých schválených a používaných prostředků z rostliny druhu *Ostropestřec mariánský* v ČR (Hubená 2012)

| | | | | |
|--|--|---|---------|------------------------------------|
| Apotheke Ostropestřec mariánský čaj | Mediate s. r.o. Dolní Libchavy | podporuje látkovou výměnu, ovlivňuje tvorbu a vylučování žluče, napomáhá při doléčování chorob jater a žlučniku | čaj | Fytofarmakum, hepatoprotektivum |
| Apotheke Ostropestřec mariánský- plod sypaný | Mediate s. r.o. Dolní Libchavy | podporuje látkovou výměnu, ovlivňuje tvorbu a vylučování žluče, napomáhá při doléčování chorob jater a žlučniku | čaj | Fytofarmakum, hepatoprotektivum |
| Herbex Cechia, s. r. o., Nedašov | Herbex Cechia, s. r. o., Nedašov | Onemocnění jater | čaj | Fytofarmakum, hepatoprotektivum |
| HERBEX Ostropestřec mariánský | Herbex Cechia, s. r.o., Nedašov | Onemocnění jater | čaj | Fytofarmakum, hepatoprotektivum |
| LEROS Ostropestřec mariánský plod sypaný | | Onemocnění jater | čaj | Fytofarmakum, hepatoprotektivum |
| Megafyt Ostropestřec mariánský bylinný čaj | Megafyt – R, Vrané nad Vltavou | Onemocnění jater | čaj | Fytofarmakum, Hepatoprotektivum |
| Megafyt Ostropestřec mariánský plod | Megafyt – R, Vrané nad Vltavou | Onemocnění jater | čaj | Fytofarmakum, Hepatoprotektivum |
| Ostropestřec mariánský - granulovaný plod | | Onemocnění jater | čaj | Fytofarmakum, Hepatoprotektivum |
| Harmony Line- Ostropestřec blistr tob. | Favea s r.o., Kopřivnice | pomáhá chránit játra před toxickými látkami, snižuje riziko vzniku žlučových kamenů. Má antioxidační účinky | tobolky | fytofarmakum, hepatoprotektivum |

| | | | | |
|-------------------------------------|--|--|--|---|
| Silymarin maka tbl. | Favea s.r.o., Kopřivnice | Snižuje riziko aterosklerotických změn cévního systému a chrání játra před toxickými vlivy chemických škodlivin | tablety | Fytofarmakum, Hepatoprotektivum |
| MedinTerra- Ostropestřec tbl. | MedinTerra s.r.o., Brno | Působí příznivě při jaterních chorobách, hlavně cirhóze a zánětu jater, zmiňuje poškození jater alkoholem a pomáhá jako prevence při žlučových kamenech | tablety | Fytofarmakum, Hepatoprotektivum |
| LEGALON SIL | Madaus GmbH, Köln, SRN | Otrava muchomůrkou zelenou, příp. závažné intoxikace jinými hepatotoxickými látkami | Prášek pro přípravu injekčního roztoku | Hepatoprotektivum |
| IBEROGAST Steigerwald | Arzneimittel GmbH, Darmstadt, SRN | Poruchy funkce motility střev, křeče žaludku a střev | kapky | Fytofarmakum, Digestivum, Spazmolytikum |
| SILYMARIN AL | Aliud Pharma GmbH, Laichingen, SRN. | chronická perzistující a aktivní hepatitida, alkoholická hepatitida, jaterní cirhóza, toxickometabolická poškození jater (např. steatóza jater) | tablety | Hepatoprotektivum |

Oceňován je především příznivý účinek na obnovu a stabilizaci buněčných stěn jater a pozitivní vliv na metabolismus hepatocytů. Indikace nejrozšířenějších léků zahrnují především toxicko metabolické alterace jater (steatózu, poléková poškození, otravy) a akutní hepatitidy (Kummer et al. 2000).

Látky silymarinového komplexu účinkují pozitivně při bakteriálních, virových, mykotických onemocněních a akutních otravách jaterními jedy tím, že pohlcují volné radikály, inhibují činnost oxidáz a peroxidáz, váží se na buněčné membrány a pronikají i do buněčných jader, kde stimulují syntézu bílkovin, čímž dochází k opravě poškozených buněk a tvorbě nových jaterních enzymů. Tyto účinky jsou příčinou výjimečného vlivu flavanolignanů na jaterní parenchym a jeho regeneraci (Jegorov, 1996).

Studie prokázaly příznivé účinky silymarinu v prevenci a léčbě rakoviny prsou, prostaty (Vidlar et al. 2010, Vostalova et al. 2013) a kůže (Pepping, 1999), jakož i rakoviny tlustého střeva (Hogan et al. 2007) či plic (Agarwal et al. 2006). Využití selenu a silymarinu snižuje také výskyt symptomů dolních močových cest a prostatického specifického antigenu u mužů. Kombinace selenu a silymarinu snížila potíže s močením u mužů s benigní hyperplazií prostaty (Vostalova et al, 2013). *Silybum marianum* je také pokládán za významný antioxidant s cytoprotektivními a hypocholesterolemickými účinky (Škottová, Krečman, 1998; Vidlar et al, 2010). Je dobře snášen a nejsou známy žádné nepříznivé účinky nebo vzájemné působení silymarinu s běžně užívanými léčivy (Jancová et al, 2007).

Lidové léčitelství využívá semena, kořen i listy ostropestřce ve formě odvarů či tinktur. Odvar z kořene pomáhá při bílém výtoku a při slabé menstruaci, odvar z listů pak při žloutence, zánětu pohrudnice a plic a žlučnickových kamenech (Janča a Zentrich, 1995). Semena se mohou využívat celá, mletá či drcená. Jedna čajová lžička drogy se nechá přibližně dvacet minut louhovat a poté se dvě minuty vaří (Jaroš, 1992). V lidovém léčitelství je ostropestřec také doporučován s řepíkem, pampeliškou, čekankou, zemědýmem, třezalkou, oddenkem pýru, vlašovičником, meduňkou a benediktem (Janča a Zentrich, 1995).

Využití ostropestřce mariánského jakožto adaptogenní a imunogenní rostliny zvyšující všeobecnou odolnost organismu má, mimo výše uvedené účinky, i značný doposud neprobádaný potenciál pro budoucnost (Hubená, 2012).

2.6. Současné využití rostliny *Silybum marianum* a jejich účinných látek v medicíně, potravinových doplňcích a krmivářství

2.6.1. Využití v humánní medicíně

Teprve nedávno byl Ostropestřec mariánský potvrzen vědou, jako velmi efektivní léčebný prostředek jater, zejména při formách žloutenky, kdy je napadán jaterní parenchym (Evans, 2009). Zjistilo se, že tato rostlina má také vlastnosti choleretické (zvyšuje tvorbu žluče) a cholagogické (podporuje vylučování žluče). Ochranně účinkuje především na poškozenou jaterní tkáň, je tedy hepatoprotektivní (Brabenec, 1990). Na základě pokusů se zvířaty se dokázal také antipyretický účinek, tedy snižování horečky. Pro obsah biogenních aminů (tyramin, histamin) se kdysi droga doporučovala jako náhražka za náměl (*Secale cornutum*), jeho účinnosti však

ani zdaleka nedosahuje. Rozhodující použití je však na všechny jaterní onemocnění. Zlepšuje činnost jater při příznacích akutních i chronických onemocnění (Evans, 2009, Agarwal et al. 2006).

Ostropestřec mariánský spolu s játry léčí také žlučník a některé další onemocnění trávicího ústrojí. Droga napravuje poruchy krevního oběhu, prospívá při nízkém krevním tlaku, posiluje cévy, má příznivý vliv na snížení rizika srdečně – cévních onemocnění, pomáhá i při migrénách a závratích. Posiluje organismus, léčí různé druhy alergií, například kopřivku a sennou rýmu, pomáhá při astmatických záchvatech a odstraňuje nevolnosti při cestování (Dugas, 2004).

Ostropestřec také podporuje tok mléka při kojení a má tišící až antidepresivní účinky. Předchůdci dnešních homeopatů předepisovali drogu také při léčbě křečových žil, menstruačních potíží, ledvin a žlučových kamenů (Ody, 2004).

2.6.1.1. Vedlejší účinky

Plody a další požívané části byliny mohou vyvolat alergickou reakci u osob přecitlivělých na rostliny z této čeledi. Ostropestřec mariánský má jen výjimečně vedlejší účinky, kromě mírných projímavých účinků. Podle klinických testů se může objevit nevolnost, mírné gastrointestinální podráždění, průjem nebo bolesti hlavy. Těhotné a kojící ženy a osoby s onemocněními, která vyžadují hormonální léčbu, by měly ostropestřec užívat opatrně. Může také snížit tvorbu inzulínu diabetiků s alkoholickou cirhózou jater (Farmer – Knowles, 2011). Nedoporučuje se brát u osob trpících vysokým krevním tlakem (Dugas, 2004).

2.6.2. Využití Ostropestřece mariánského v potravinových doplňcích

Na trhu existuje široká škála těchto produktů obsahující výtažky ze *Silybum marianum* i v kombinaci s dalšími léčivými rostlinami ve formě tablet, tobolek, tinktur a čajů (Grünwald, 2008). Jelikož jsou hlavní účinné látky špatně rozpustné ve vodě je užívání čajových přípravků sporné z hlediska jejich efektivního účinku (Baumann, 2009). Doporučené dávkování pro zajištění hepatoprotektivního účinku je 420 mg standardizovaného extraktu denně rozděleného do tří dávek, po dobu 6 až 8 týdnů, poté udržovací dávka 280 mg na den. Obsah aktivních složek je závislý na mnoha proměnných faktorech, proto je doporučeno používat standardizované výtažky, které jsou zkoncentrovány na 70 – 80 % silymarinu (Baumann, 2009).

2.6.3. Využití Ostropestřece mariánského v krmivářství

Účinné látky ostropestřece mariánského lze s úspěchem využít také ve veterinární medicíně. Silymarinový komplex, který se nejvíce vyskytuje v tvrdém osemeni perikarpu ostropestřcových plodů, se získává po odlisování oleje a následné homogenizaci slupky semen ve formě krmného expeleru (Irel, 2011).

Výhodou přímého zkrmování ostropestřcového expeleru je především vysoká využitelnost silymarinového komplexu a dalších flavanolignanů, které se zde nachází v nejpříjemnější amorfní formě. Při farmaceutickém zpracování dochází ke krystalizaci silymarinu a tím k snížení jeho dostupnosti. Dalšími výhodami zkrmování expeleru je vysoký obsah bezlepkových bílkovin (až 18%), 8 – 9 % oleje s obsahem omega-6 kyseliny linolové a 20 % vlákniny, která podporuje správnou funkci trávicí soustavy (Irel, 2011). Po podávání krmného expeleru do krmné dávky došlo prokazatelně ke zvýšení odolnosti vůči některým chorobám, zlepšení funkce jater, stavu pokožky, srsti a kopyt a zlepšení celkového zdravotního stavu zvířat (Irel, 2012). Bylo zjištěno, že silymarinový komplex působí také při chronických onemocněních a předpokládá se i možnost prevence některých nádorových onemocnění zvířat (Irel, 2012).

2.7. Vliv technologie pěstování a použití elicitorů na obsah účinných látek

2.7.1. Vliv technologie pěstování na obsah účinných látek

Nažky obsahují látky ze skupiny flavanolignanů, tzv. silymarinový komplex. Drogu tvoří semena, kvalita drogy je dána obsahem zmíněných účinných látek. Ten je přímo úměrný stupni vyžrání semen. Protože se droga získává z polního pěstování ostropestřece, mohou některá agrotechnická opatření její kvalitu ovlivnit (Spitzová, Placr, 1994).

Dříve provedené experimenty v Polsku ukázaly, že oddálení termínu výsevu od 1. dubna do 22. dubna způsobily snížení výnosu nažek o 0,23 t.ha⁻¹, ale došlo ke zvýšení obsahu silymarinu z 0,3% na 0,5% (Andrzejewska et al., 2010). Celková průměrná denní teplota vzduchu má značný vliv na květenství, sklizeň a obsah silymarinu. Odložení termínu setí způsobuje, že rostlina dosahuje generativní fáze při vyšších teplotách, což má za následek zvýšenou akumulaci flavanolignanů (Andrzejewska et al., 2010).

Výživa a hnojení také ovlivňují množství účinných látek v rostlině. Obsahem flavonolignanů v závislosti na hnojení se věnují Omer (1993), Omer et al. (1996, 1998), Schunke (1992) a Ryant (2005).

Negativně může kvalitu ovlivnit také desikace. Spitzová a Placr (1994) sledovali vliv desikačních přípravků na kvalitu drogy a biologickou hodnotu semen. Prokázalo se, že při použití desikačních přípravků je ve vztahu ke kvalitě drogy rozhodující termín aplikace, nikoliv přípravek. Zatímco při postřiku 11 dní před sklizní je ve srovnání s kontrolou obsah silybinu o 1,55 % nižší, při ošetření 5 dní před sklizní je naopak o 0,51 % vyšší než u kontroly. Pomaleji působící desikanty jsou méně rizikové. Do kultur ostropestřece mariánského lze použít přípravky Harvade 25F a Roundup v dávce 3 l/ha při aplikaci jeden týden před předpokládaným termínem sklizně. Přípravky Reglone v dávce 3 l/ha, DAM 390 (200 l/ha) a mix Reglone + DAM 390 (3 + 100 l/ha) je nutno aplikovat dva dny před sklizní. Při dodržení výše uvedených podmínek nemají zmíněné přípravky negativní vliv na klíčivost, HTS a obsah účinných látek. Droga pocházející z takto ošetřených porostů je použitelná pouze pro průmyslové zpracování na izolaci účinných látek.

2.7.2. Využití elicitorů na zvýšení obsahu účinných látek

2.7.2.1. Stresové faktory a obranná reakce rostlin

Nepříznivé vlivy vnějšího prostředí, které závažně ohrožují rostlinu, označujeme jako stresové faktory neboli stresory. Stres rostlin se dělí dle charakteru působícího stresoru na stres abiotický a biotický. Biotický stres pozorujeme při napadení rostliny patogenem, herbivory a při vzájemném ovlivňování rostlin (alelopatie, parazitismus). Abiotický stres je způsoben přírodními faktory (např. UV záření, nedostatek nebo nadbytek vody, vysoké a nízké teploty) nebo stresory plynoucí z antropogenní činnosti (např. působení toxických látek ve vzduchu, v půdě, herbicidů, pesticidů) (Mittler, 2006). Vzhledem k tomu, že rostliny žijí přisedlým způsobem života, který jim neumožňuje únik před působením stresových faktorů, vyvinuly se u nich obranné mechanismy potřebné pro přežití v jejich přirozeném prostředí. Jestliže není rostlina schopna zvládnout působení stresorů, dochází u ní ke zpomalení fyziologických funkcí, poškození jednotlivých orgánů, k odumření nebo uhynutí celé rostliny (Buchanan a kol., 2000).

Dojde-li k napadení rostliny patogenem nebo poranění rostlinné tkáně, dochází k indukci obranného mechanismu. Mechanismy proti stresu lze rozdělit do dvou kategorií. Prvními jsou mechanismy zabraňující tomu, aby byla hostitelská rostlina vystavena stresu („avoidance mechanisms“). Tento způsob obrany zahrnuje mechanickou bariéru rostlin, která má převážně pasivní a dlouhodobý charakter (např. silná kutikula na listech, výrazná impregnace buněčných stěn, atd.). Druhou skupinou obranných mechanismů je aktivní obrana rostlin („tolerance mechanisms“), která omezuje negativní dopad stresorů až po jejich proniknutí k plasmatické membráně buněk a do symplastu. V takovém případě dochází ke spuštění řetězce změn, tzv. stresové reakci (Adámková a kol., 2006).

Někdy mohou jako stresory působit i tzv. stimulanty. Jsou to látky, přípravky, preparáty, v širším pojetí postupy biologické, fyzikální, chemické a jiné, které mají schopnost, přímo nebo nepřímo ovlivňovat růst či vývin rostlin, mohou ovlivňovat rostlinné tkáně v nadzemní i podzemní hmotě, obsah žádoucích i nežádoucích metabolitů. Tyto metabolity obsahují velké množství látek, z nichž některé jsou zároveň látkami účinnými. Tento tlak působící na rostlinu vede k obranným reakcím a následnému utváření sekundárních metabolitů (Dvořáková, 2006).

2.7.2.2. Elicitory

Produkcí sekundárních metabolitů v rostlinách i rostlinných kulturách *in vitro* je možné stimulovat metodou elicítace. K elicítaci se používají látky se signálním účinkem, tzv. elicitory, které působí jako stresové faktory – spouští obranou odpověď exponovaných buněk. Dávají podnět k expresi genů, syntéze enzymů a tímto způsobem navozují zvýšení syntézy sekundárních metabolitů a látek podílejících se na ochraně rostliny nebo explantátu. Elicitory se rozdělují na biotické (např. mikroorganismy a jejich součásti, fytohormony) a abiotické (fyzikální např. záření, nebo chemické, např. těžké kovy). Dosavadní poznatky naznačují, že elicítace představuje potenciálně ekonomický výhodný způsob získávání přírodních látek, který může v budoucnosti nabývat na významu (Kašparová a kol., 2012). Základním předpokladem úspěšné elicítace je mimo jiné nalezení vhodného elicitoru, jeho koncentrace (Cacho et al. 1999) a optimální doby jeho působení na rostlinnou kulturu *in vivo* (Tůmová, Tůma, 2009).

Kužel et al. (2005) elicitaci definují jako indukci obranných mechanismů rostlinného organismu, například zvýšení tvorby sekundárních metabolitů, vyvolanou aplikací vnějšího stresového faktoru chemického, biologického, světelného, tepelného či mechanického charakteru. Elicitor stojí na počátku všech obranných reakcí jako spouštěcí faktor (Tůmová, Tůma, 2009).

2.7.2.3. Vliv elicitorů na obsah účinných látek

2.7.2.3.1. Paraquat

Methylviologen neboli paraquat lze zařadit mezi bipyridilové herbicidy, které jsou využívány jako kontaktní herbicidy či vysušovačla polí. Základní mechanismus působení oxidativního stresu bipyridilů je dán tím, že po jejich působení dochází ke vzniku volných hydroxylových radikálů, které jsou toxické a reagují s membránovými lipidy (peroxidace lipidů). Působením methylviologenu se zvyšuje v rostlinách či kulturách *in vitro* množství aktivních forem kyslíku (ROS). Jako zdroj ROS je často používán ke sledování působení oxidačního stresu na rostliny a může tudíž ovlivnit produkci sekundárních látek (Tůmová, Tůma, 2009).

Vliv methylviologenu byl testován na kultuře *Silybum marianum in vitro*. Ke zjištění statistické významnosti vlivu elicitoru na obsah flavanolignanů použili Tůmová a Tůma (2009) t-test rozdílu dvou průměrů. Pro zvolenou hladinu významnosti $P=0,05$ a pro 4 stupně volnosti $v = 4$ je kritická hodnota testovacího kritéria 2,78.

V kalusové kultuře *Silybum marianum* (L.) Gaertn. Došlo ke statisticky významnému nárůstu obsahu flavanolignanů pouze po 6 hodinové elicitaci methylviologenum o koncentraci $c_2 = 2,19 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ a to o 1250 %. Po 12, 24, 48, 72 a 186 hodinách se obsah flavanolignanů zvýšil jen nepatrně nebo naopak významně poklesl. U zbývajících testovaných koncentrací elicitoru při aplikaci k suspenzní kultuře byl nárůst produkce flavanolignanů minimální (Tůmová, Tůma, 2009).

V suspenzní kultuře *Silybum marianum* byla produkce flavanolignanů po aplikaci u všech tří koncentrací methylviologenu nepatrná, jen jednou dosáhla stejné produkce ve srovnání s kontrolním vzorkem, a to po 6 hodinové elicitaci methylviologenum o koncentraci $c_2 = 2,19 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ (Tůmová, Tůma, 2009). Gallová (2003) detegovala v kalusové kultuře *Silybum marianum* pouze silychristin.

V kalusových kulturách *Silybum marianum* nalezla Římáková (2005) po elicitaci prekurzorem konyferylalkoholem taxifolin a silydianin a to silydianin u kontrolních vzorků i v živném médiu, taxifolin pouze v živném médiu. Ve studii provedené Tůmovou a Tůmou (2009) byla detekována v kalusové kultuře kromě taxifolinu, silychristinu ještě další složka silymarinového komplexu – isosilybin B a to pouze v nepatrném množství (0,002%) po 6 hodinovém působení ellicitoru methylviologenu o koncentraci $c_2 = 2,19 * 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$.

U suspenzních i kalusových kultur *Silybum marianum* po působení různých koncentrací methylviologenu bylo zajímavé zvýšení obsahu taxifolinu. Dá se tedy předpokládat, že methylviologen působí jako stresový faktor vyvolávající zvýšenou tvorbu obranných látek – flavonoidů (v tomto případě taxifolinu) (Tůmová, Tůma, 2009).

Sánchez-Sampedro a spol. (2005) ve své studii dosáhli největší produkce silymarinu použitím ellicitoru methyljasmonátu v koncentraci 100 μM a to o 600% oproti kontrole.

2.7.2.3.2 kyselina acetylsalicylová

Kyselina acetylsalicylová (*Acidum Salicylum* – ASA) je fenolickou sloučeninou, chemicky 2 – acetoxybenzoovou kyselinou, derivátem kyseliny salicylové (*Acidum Salicylicum* – SA), chemicky 2 hydroxybenzoové kyseliny (Janda a Valentová, 2014). Skládá se z 60 % uhlíku, 35,5 % kyslíku a 4,5 % vodíku, její bod tání činí 136 °C a bod varu 140 °C. Při pokojové teplotě jde o bílý krystalický prášek, jehož hustota činí 1,40 g.cm^{-3} (Myers, 2007).

Kyselina salicylová je rostlinným hormonem, který mimo svou funkci ve fyziologických procesech (klíčení, buněčný růst, dýchání, výnos plodů a další) zastává také klíčovou funkci v reakci na infekci patogenními organismy (převážně biotrofními patogeny). Zde přenáší signál o napadení do dalších částí rostliny, v nichž se spouští nespécifické obranné reakce spojené s tvorbou obranných proteinů. Tato forma rezistence – tzv. systémově získaná rezistence (SAR), nesměruje k programované buněčné smrti, nýbrž k přežití a záchraně rostlinných buněk. Přímou v místě infekce však nastává programovaná buněčná smrt (Janda a Valentová, 2014).

Dvořáková (2006) sledovala v maloparcelkovém pokusu nepatrné snížení obsahu účinných látek v ostropestřci mariánském oproti kontrole při nízké koncentraci ASA o 0,5 %, zvýšení obsahu účinných látek o 22,5 % při střední koncentraci ASA a pokles o téměř 43 % při aplikaci vysoké koncentrace ASA. Statistická průkaznost na 5 % hladině významnosti však nebyla v žádném z případů potvrzena.

3. Závěr

Cílem mé bakalářské práce bylo studium rostliny ostropestřce mariánského [(*Silybum marianum*) L. Gaertn.]. Pro pochopení významnosti této léčivé rostliny byla zpracována její historie. Ostropestřec mariánský je nejdéle známou rostlinou, která se využívala již v dávné antice na léčení nemocí trávicího traktu.

Výjimečnost této původem středomořské rostliny spočívá v obsahu tzv. silymarinového komplexu. Tento komplex je složen z účinných látek, silybinu, silydianinu, silychristinu kterým se souhrnně říká silymarin. Oceňován je především jeho příznivý účinek na obnovu buněčných stěn jater a pozitivní vliv na metabolismus hepatocytů.

Látky silymarinového komplexu účinkují pozitivně při bakteriálních, virových, mykotických onemocněních a akutních otravách jaterními jedy. Studie těchto látek prokázaly dokonce i příznivé účinky silymarinu v prevenci a léčbě rakoviny prsu, prostaty a kůže, jakož i rakoviny tlustého střeva či plic.

Z prostudované literatury je zřejmé, že obsah účinných látek jsme schopni ovlivnit agrotechnickými zásahy. Z provedených pokusů lze vyvodit, že obsah účinných látek ovlivňují různé faktory. Při odsunutí termínu setí se kvetení přesouvá do období s vyššími teplotami, což způsobuje vyšší akumulaci flavanolignanů a obsah silymarinu v semenech stoupá z 0,3 % na 0,5 %. Ovlivnit produkci účinných látek lze také metodou elicítace. K elicítaci se používají látky, které působí jako stresové faktory a tím spouští obranou reakci rostliny. Rostlina zvyšuje tvorbu a ukládání sekundárních metabolitů do generativních orgánů a tím zvyšuje obsah silymarinového komplexu v semenech.

Ostropestřec mariánský je ve všech ohledech zajímavá rostlina, která nabývá na svém významu. Již dnes je velmi oblíbená na což ukazuje nepřeberné množství potravinových doplňků, které se vyrábí s obsahem silymarinu. Nové laboratorní metody umožňují podrobné studium jejich účinných látek a mechanismu jejich účinku na různá onemocnění. Ostropestřec se tedy bude těšit velkému významu i v budoucnu, má jistě obrovský a neprobádaný potenciál.

4. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ADÁMKOVÁ, L., M. PERTŘIVALSKÝ, P. PEČ a L. LUHOVÁ. Chemické listy. Role l-fenylalaninamoniulyasy při obranné reakci rostlin [online]. 2006, č. 100, 486 - 494 [cit. 2014-10-13]. DOI: 0009-2770. Dostupné z:

http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2006_07_486-494.pdf

AGARWAL, R., Ch. AGARWAL, H. ICHIKAWA, R. P. SINGH a B. B. AGGARWAL. Anticancer Potential of Silymarin: From Bench to Bed Side. Anticancer research [online]. 2006, vol. 26, no. 6B, s. 4457-4498 [cit. 2014-11-17]. Dostupné z: <http://ar.iijournals.org/content/26/6B/4457.full.pdf+html>

ALIKARIDIS, F., D. PAPADAKIS, K. PANTELIA a T. KEPHALAS. Flavonolignan production from *Silybum marianum* transformed and untransformed root cultures. Fitoterapia [online]. 2000, vol. 71, no. 4, s. 379-384 [cit. 2014-11-17]. DOI: 10.1016/S0367-326X(00)00134-9. Dostupné z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X00001349>

ANDRZEJEWSKA J., K. SADOWSKA a S. MIELCAREK. Effect of sowing date and rate on the yield and flavonolignan content of the fruits of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) grown on light soil in a moderate climate. Industrial Crops and Products [online]. 2010, vol. 33, issue 2, s. 462-468 [cit. 2014-9-14]. DOI: 10.1016/j.indcrop.2010.10.027. Dostupné z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669010002724>

ANON: Interní materiál Ivax Pharmaceuticals s.r.o., 2009

BALOUN, J., K. BENEŠ a J. MINAŘÍK. Farmaceutická botanika. první. Praha: Avicenum, 1978. ISBN (Váz.).

BARANYK, P., V. ZELENÝ, H. ZUKALOVÁ a P. HOŘEJŠ, Olejnatost vybraných druhů alternativních olejnin. Rostlinná výroba. 1995, roč. 41, č. 9. DOI: ISSN 0370-663X.

BAUMAN, M., Doplnky stravy. [online]. Brno: Masarykova univerzita. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, 2009, s. 83 [cit. 2014-11-17]. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/101215/1_fb/.

BERAN, M., Vaše dotazy - Naše odpovědi. In: [online]. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.vupp.cz/czvupp/aktualit/index.htm>

BRABENEC, M., Pestovanie liečivých a koreninových rastlín na malých plochách. Ilustrace Jozef Bôrik. Bratislava: Svépomoc, 1990, 324 s. ISBN 80-851-6809-X.

BUCHANAN, B. GRUISSEM, W. R. JONES, (2000) Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists

CACHO, M., M. MORÁN, P. CORCHETE a J. FERNÁNDEZ-TÁRRAGO, Influence of medium composition on the accumulation of flavonolignans in cultured cells of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. Plant Science [online]. 1999, vol. 144, issue 2, s. 63-68 [cit. 2014-11-17]. DOI: 10.1016/S0168-9452(99)00056-4. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168945299000564>

COOK, N. C. a S. SAMMAN, Flavonoids—Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. The journal of nutritional biochemistry. 1996, vol. 7, issue 2, pages 66 - 76.

COUFAL, P., Separation methods [online]. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, 2004a [cit. 2014-01-08]. Dostupné z: <http://www.natur.cuni.cz/~pcoufal/sepmet.html>

DRBAL, K. a M. KRÍŽEK, Analytická chemie. Skripta, Zemědělská fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, 1999. 185 s. ISBN 80-7040-352-7

DUGAS, D., Zdravý život s babiččinými bylinkami. Překlad Věra Škrobánková. Ostrava: Knižní expres, 2004, 255 s. ISBN 80-734-7001-2.

DVOŘÁKOVÁ J., Studium vlivu elicitorů na obsah některých účinných látek v rostlině Ostropestřec mariánský *Silybum marianum* (L.) Gaertn. České Budějovice, 2006. Diplomová práce. Jihočeská univerzita.

EVANS, W. C., D. EVANS a G. E. TREASE., Trease and Evans pharmacognosy. 16th ed. / . Překlad Věra Škrobánková. New York: Saunders/Elsevier, 2009, vi, 603 p. ISBN 07-020-2934-3.

FARMER-KNOWLES, H., D. EVANS a G. E. TREASE., Léčivé rostliny od A do Z: nejnovější průvodce světem bylin, stromů a květin: [podrobný přehled květin,

stromů a plodů s uzdravovací silou]. Vyd. 1. Překlad Věra Škrobánková. V Praze: Metafora, 2011, 400 s. ISBN 978-80-7359-270-7.

FREMEROVÁ M., Identifikace látek z extraktu rostliny Echinacea purpurea. České Budějovice, 2004. Diplomová práce. Jihočeská univerzita.

GALLOVÁ K., Rigorózní práce. Univerzita Karlova, Praha 2003: In **TŮMOVÁ, L. a J. TŮMA**. Chemické listy. Ovlivnění produkce sekundárních metabolitů v buněčné kultuře Silybum marianum přidavkem elicitoru Paraquat [online]. 2009, roč. 103, č. 6, 503 - 510 [cit. 2014-11-17]. DOI: 0009-2770. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_06_503-510.pdf

GARAJ, J., D. BUSTIN a Z. HLADKÝ, Analytická chémie. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1987. 740 s.

GONDEKOVÁ, H., Agrotechnika pěstování a obsah některých biologicky aktivních látek v rostlinách rodu Echinacea. České Budějovice, 2012. Bakalářská práce, Jihočeská univerzita.

GRAMANOVÁ, H., Technologie pěstování ostropestřece mariánského Silybum marianum ve vztahu ke kvalitě produktu a jeho zpracování. České Budějovice, 2009. Diplomová práce. Jihočeská univerzita.

GROMOVÁ, Z. Pestovanie špeciálnych plodín. Skripta Vysoká škola poľnohospodárska v Nitre, Agronomická fakulta, Katedra rastlinnej výroby. Nitra: Vydavateľské a edičné stredisko VŠP, 1993. 165 s. ISBN 80-7137-115-7.

GRÜNWARD, J., CH. JÄNICKE a G. E. TREASE. Zelená lékárna: nejnovější průvodce světem bylin, stromů a květin: [podrobný přehled květin, stromů a plodů s uzdravovací silou]. 1. české vyd. Překlad Věra Škrobánková. Praha: Svojtka, 2008, 408 s. ISBN 978-80-7352-600-9.

HOGAN, F. S., N. K. KRISHNEGOWDA, M. MIKHAILOVA a M. S. KAHLBERG. Flavonoid, Silibinin, Inhibits Proliferation and Promotes Cell-Cycle Arrest of Human Colon Cancer. Journal of Surgical Research [online]. 2007, vol. 143, issue 1, s. 58-65 [cit. 2014-11-18]. DOI: 10.1016/j.jss.2007.03.080. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022480407002417>

HUBÁČEK, J. Chemie pro vysoké školy zemědělské, 1. vyd. Praha: SZN, 1988. 767 s.

HUBENÁ, L. Význam adaptogenních a imunogenních rostlin v boji proti civilizačním chorobám, jejich agrotechnika, hnojení, sklizeň a zpracování. České Budějovice, 2012. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita.

HUSÁKOVÁ, J. a M. LHOTSKÁ. Ostropestřec mariánský - okrasná a léčivá rostlina. Živa: časopis pro biologickou práci. 1981, roč. 29, č. 4, s. 133. DOI: ISSN 0044 - 4812.

CHMEL, K., Z. CVAK, M. DĚDEK, V. GAJDŮŠKOVÁ, V. Chromatografie na tenké vrstvě, její využití pro průkaz cizorodých látek v potravinářství a v zemědělství. 1. vyd. Praha: VÚPP, 1987. 172 s.

CHROMATOGRFIE [online]. 2009 [cit. 2014-01-08]. Dostupný z: http://old.lf3.cuni.cz/chemie/cesky/materialy_B/chromatografie.doc

INDRÁK, P. a D. CHYTILOVÁ. K problematice stanovení silybinu v droze ostropestřece mariánského. Zahradnictví. 1992, roč. 19, č. 4, 309 - 312.

IREL. Zázračná rostlina ostropestřec mariánský [online]. 2011 [cit.2012-03-15]. Dostupný z: <http://www.irel.eu//public/uplod/files/zazracna-rostlina-ostropestrec-mariansky.pdf>

IREL. Krmné doplňky [online]. 2012 [cit.2012-03-15]. Dostupný z: <http://www.irel.eu/kategorie/krmne-doplňky>

JAHOĐÁŘ, L., Farmakobotanika: semenné rostliny. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2006, 258 s. ISBN 80-246-1225-9.

JANDA, M. a O. VALENTOVÁ. Kyselina salicylová. Bioprospect [online]. 2014, roč. 24, č. 1, 9 - 12 [cit. 2014-10-17]. DOI: ISSN 1210-1737. Dostupné z: http://bts.vscht.cz/sites/default/files/Bioprospect_c1_2014.pdf

JANCOVA, P., E. ANZENBACHEROVA, B. PAPOUSKOVA, K. LEMR, P. LUZNA, A. VEINLICOVA, P. ANZENBACHER a V. SIMANEK. Silybin Is Metabolized by Cytochrome P450 2C8 in Vitro. Drug Metabolism and Disposition [online]. 2007, vol. 35, issue 11, s. 2035-2039 [cit. 2014-10-11]. DOI: 10.1124/dmd.107.016410. Dostupné z:

<http://dmd.aspetjournals.org/content/35/11/2035.full.pdf+html>

JANČA, J. a J. A. ZENTRICH. Herbář léčivých rostlin. 1. vyd. Praha: Eminent, 1995. s. 216 - 219. ISBN 80-85876-14-0.

JAROŠ, Z. Léčivé látky z rostlin. Dona, 1992. 79 s. ISBN 80-85463-04-0.

JEGOROV, A., Flavanolignany - novověká chemie léčivé rostliny známé již před křesťanstvím. Chemické listy. 1996, roč. 90, č. 11. ISSN 0009-2770.

KANG, J. S., Y. J. JEON, S. -K. PARK, K.- H. YANG a H. M. KIM. Protection against lipopolysaccharide-induced sepsis and inhibition of interleukin-1 β and prostaglandin E2 synthesis by silymarin. Biochemical Pharmacology [online]. 2004, vol. 67, issue 1, s. 175-181 [cit. 2014-11-17]. DOI: 10.1016/j.bcp.2003.08.032.

KAŠPAROVÁ, M., T. SIATKA, V. KLIMEŠOVÁ a J. DUŠEK. Vliv syntetického benzylsulfanylpyridinového derivátu na produkci suspenzní kultury trifolium pratense L. Chemické listy [online]. 2012, roč. 106, č. 7, 660 - 664 [cit. 2014-10-8]. DOI: 0009-2770. Dostupné z:

http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_07_660-664.pdf

KLOUDA, P. Moderní analytické metody [online]. 2003 [cit. 2014-01-08]. Dostupný z: <http://klouda.webpark.cz/mam.htm>

KOBLIC P. Agrotechnika pěstování a obsah některých biologicky aktivních látek v rostlinách Silybum marianum (L.) Gaertn. České Budějovice, 2012. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita.

KONOSHIMA, T., M. KOZUKA, H. TOKUDA, H. NISHINO, A. IWASHIMA, M. HARUNA, K. ITO a M. TANABE. Studies on Inhibitors of Skin Tumor Promotion, IX. Neolignans from Magnolia officinalis. Journal of Natural Products [online]. 1991, vol. 54, issue 3, s. 816-822 [cit. 2014-11-18]. DOI: 10.1021/np50075a010. Dostupné z:

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np50075a010>

KOPŘIVA Z. Leuzea saflorová (Leuzea carthamoides) jako alternativní rostlina. České Budějovice, 2002. Diplomová práce. Jihočeská univerzita.

KORBELÁŘ, J. a Z. ENDRIS, Naše rostliny v lékařství 5. Vyd. Praha Avicenum. 1981. 501 s.

KREN, V. a D. WALTEROVA. Silybin and silymarin - new effects and applications. Biomedical Papers [online]. 2005-7-1, vol. 149, issue 1, s. 29-41 [cit. 2014-11-18]. DOI: 10.5507/bp.2005.002. Dostupné z:

<http://biomed.papers.upol.cz/doi/10.5507/bp.2005.002.html>

KUMMER, V., J. MAŠKOVÁ, Z. ZRALÝ a J. ČANDERLE. Vedlejší účinky zkrmování výlisků semen ostropestřce mariánského u krav. Veterinářství. Praha. 2000, roč. 50, č. 2, 55 - 58.

KURKIN, V. A., A. A. LEBEDEV, G. G. ZAPESOCHNAYA, A. V. VOLOTSUEVA, E. A. LEBEDEVA a M. V. BULATOVA, 2003. Antioxydative properties of flavoligands *Silybum marianum* (L.) Gaertn. Fruits. Rastitelnye Resursy, 39(1), 89–94

KUŽEL, S., J. TRÍSKA, L. KOLÁŘ, J. ŠPIČKA, P. CÍGLER, M. HRUBÝ, J. VYDRA a M. VRCHOTOVÁ, Technologie pěstování rostlin *Echinacea purpurea* a *Schizandra chinensis* a extrakce účinných látek. Závěrečná zpráva o realizaci projektu Kontakt ME 704, 2005. s. 101.

KUŽEL S., L. KOLÁŘ, J. TRÍSKA, P. CÍGLER, M. VRCHOTOVÁ, J. PETERKA, J. MAROUŠEK, Š. SILOVSKÁ, J. VYDRA a M. HRUBÝ, Technologie pěstování a zpracování *Echinacea purpurea* na extrakt s požadovanými prvky jakosti a podklady pro jeho certifikaci. ZF JU v Českých Budějovicích, Vědecká monografie, 2008, 116 s..

KVASNIČKA, F, B BÍBA, R ŠEVČÍK, M VOLDŘICH a J KRÁTKÁ. Analysis of the active components of silymarin. Journal of Chromatography A [online]. 2003, vol. 990, 1-2, s. 239-245 [cit. 2014-11-18]. DOI: 10.1016/S0021-9673(02)01971-4. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967302019714>

MIKEŠOVÁ, I. a M. LUTOVSKÁ. Léčivé rostliny: O sběru a pěstování. první. Praha: Dokořán, 2004. ISBN 80-86569-68-3.

MITTLER, R., Abiotic stress, the field environment and stress combination. Trends in Plant Science [online]. 2006, vol. 11, issue 1, s. 15-19 [cit. 2014-9-12]. DOI: 10.1016/j.tplants.2005.11.002. Dostupné z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138505002918>

MOUDRÝ, J., Alternativní plodiny. 1. vyd. Praha: Profi Press, 2011, 142 s. ISBN 978-80-86726-40-3.

MOUDRÝ, J. a STRAŠIL, 1999 Pěstování alternativních plodin. ZF JU v Českých Budějovicích, 1999, 165 s.

MÖLLEROVÁ, M., 2008. Silybum marianum (L.) Gaertner – ostropestřec mariánský/ silybum marianske. [online] [citace 2012-07-10]. Dostupné z: <http://botany.cz/cs/silybum-marianum/>

MYERS, R. L., The 100 most important chemical compounds: a reference guide. Westport, Conn.: Greenwood Press, 2007, xxvi, 326 p. ISBN 03-133-3758-6.

NEUGEBAUEROVÁ, J., Pěstování léčivých a kořeninových rostlin. Vyd. 1. V Brně: Mendelova lesnická a zemědělská univerzita, 2006, 122 s. ISBN 80-715-7997-1.

ODY, P., Velký atlas léčivých rostlin. Vyd. 2., (V Euromedia Group 1.). Praha: Balios, 2004, 192 s. ISBN 80-242-1259-5.

OMER, E. A., Effect of different nitrogen sources on Romanian Silybum marianum Cultivated in sandy and clay soils. Egyptian Journal of Horticulture, 1996, vol. 23, no. 1, s. 63 – 67.

OMER, E. A., REFAAT, A. M., AHMED, S. S., KAMEL, A., HAMMOUDA, F. M. Effect of Spacing and Fertilization on the Yield and Active Constituents of Milk Thistle, Silybum marianum L. Journals of Herbs, Spices & Medicinal Plants. 1993, vol. 1, no. 4, s. 17 -23.

OMER, E. A. – AHMED, S. S. – FAYED, T. B. – EZZEL-DIN, A. A. Seed yield of Silybum marianum L. as affected by row spacing and fertilization in new reclaimed lands of Egypt. Egyptian Journal of Horticulture. 1998, 25: 3, 281-293

OPLETAL, L. a J. VOLÁK. Rostliny pro zdraví. Vyd. 1. Ilustrace Jindřich Krejča. Praha: Aventinum, 1999, 176 s. ISBN 80-715-1074-2.

PEPPING, J., Silybum marianum. American Journal of Health-System Pharmacy. vol. 56, no. 12, 1195 – 7

PETR, J. Vliv ošetření elicitory na obsah některých biologicky aktivních látek. České Budějovice, 2012. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita.

PETR, J. Vliv ošetření elicitory na obsah některých biologicky aktivních látek ve vybrané rostlině. České Budějovice, 2014. Diplomová práce. Jihočeská univerzita.

PROŠKOVÁ, J., Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny. Farmář. 3/2008, 30 - 31. DOI: 1210-9789.

QUAGLIA, M.G, E BOSSÙ, E DONATI, G MAZZANTI a A BRANDT. Determination of silymarine in the extract from the dried silybum marianum fruits by high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis [online]. 1999, vol. 19, 3-4, s. 435-442 [cit. 2014-11-18]. DOI: 10.1016/s0731-7085(98)00231-3. Dostupné z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708598002313>

RYANT, P. Alternativní olejniny. Agrochemická fakulta Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně [online]. 2005 [cit. 2014-11-18]. Dostupné z:

http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/hnojeni_plodin/html/olejniny/a_index_olejniny.htm

ŘÍMÁKOVÁ, J.: Disertační práce, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova 2005, s. 49

SÁNCHEZ-SAMPEDRO, M. A., J. FERNÁNDEZ-TÁRRAGO a P. CORCHETE. Yeast extract and methyl jasmonate-induced silymarin production in cell cultures of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. Journal of Biotechnology [online]. 2005, vol. 119, issue 1, s. 60-69 [cit. 2014-9-5]. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2005.06.012. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168165605003263>

SCHUNKE, U. Holy thistle. First experiences with cultivation and harvest. Landtechnik. 1992, vol. 47, no. 11, s. 548-550.

SKLENÁK, L. Experimentální metody biofyziky: Učební texty KFY PřF OU. Ostrava: Ostravská univerzita, 2003. 61 s. ISBN 80-7042-899-6.

SLANINA, J. Biologická a farmakologická aktivita lignanů. Chemické listy [online]. 2000, č. 94, 111 - 116 [cit. 2014-02-25]. Dostupné z:

<http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/archiv/2000-PDF/02-PDF/111-116.pdf>

- SLAVÍK, B., J. ŠTĚPÁNKOVÁ**, 2004. Květena České republiky 7. Academia, Praha,
- SOBOTNÍKOVÁ, J.** Chromatografie [online]., 2007 [cit. 2009-02-28]. Dostupné z: http://www.natur.cuni.cz/~suchan/PC_TLC.pdf
- SPITZOVÁ, I.**, Ostropestřec mariánský a jeho význam pro farmaceutický průmysl. Živa: časopis pro biologickou práci. 1981, roč. 29, č. 4, s. 133. DOI: ISSN 0044 - 4812.
- SPITZOVÁ, I.**, Léčivé rostliny - suroviny pro farmaceutický průmysl. Živa: časopis pro biologickou práci. 1986, roč. 34, č. 5, 174 - 175. DOI: ISSN 0044 - 4812
- SPITZOVÁ, I.**, Kultivar sylib, nová surovina farmaceutického průmyslu. Živa. 1991, roč. 39, č. 3. DOI: ISSN 0044-4812.
- SPITZOVÁ, I.**, Ostropestřec mariánský - staronová léčivá rostlina. Úroda: časopis pro rostlinnou produkci. 1997, roč. 45, č. 8, 28 - 29. DOI: ISSN 0139-6013.
- SPITZOVÁ, I. a M. PLACR.** Vliv desikantů na biologickou hodnotu semen a kvalitu drogy Ostropestřece mariánského (SILYBUM MARIANUM /L./ GAERTN). Zahradnictví. 1994, roč. 21, č. 2, 93 - 101. DOI: ISSN 0862-867X
- STARÝ, F.**, Léčivé bodláky: (Ze světa léčivých rostlin 5). Živa: časopis pro biologickou práci. 2000, roč. 48, č. 5, 208 - 210. DOI: ISSN 0044-481.
- SUBRAMANIAM, S., K. VAUGHN, D. J. CARRIER a E. C. CLAUSEN.** Pretreatment of milk thistle seed to increase the silymarin yield: An alternative to petroleum ether defatting. Bioresource Technology [online]. 2008, vol. 99, issue 7, s. 2501-2506 [cit. 2014-11-18]. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.04.071. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852407004634>
- ŠKOTTOVÁ, N. a V. KREČMAN.** Silymarin as a potential hypocholesterolaemic drug. Physiological Research. 1998, vol. 47, Issue 1, 1 - 7.
- ŠTERN, P.** Základy instrumentální analýzy v klinické biochemii [online]. Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Praha, 2003 [cit. 2014-01-08]. Dostupný z: <http://www1.lfl.cuni.cz/~kocna/biochem/text11.htm>
- TOKLU, H. Z., T. TUNALI-AKBAY, G. ERKANLI, M. YÜKSEL, F. ERCAN a G. ŞENER.** Silymarin, the antioxidant component of Silybum marianum, protects

against burn-induced oxidative skin injury. *Burns* [online]. 2007, vol. 33, issue 7, s. 908-916 [cit. 2014-9-17]. DOI: 10.1016/j.burns.2006.10.407. Dostupné z:

http://www.researchgate.net/publication/6310639_Silymarin_the_antioxidant_component_of_Silybum_marianum_protects_against_burn_induced_oxidative_skin_injury

TOŠOVSKÁ, M. a I. BUCHTOVÁ, MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ. Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny: Situační a výhledová zpráva [online]. Praha, 2012 [cit. 2014-02-24]. Dostupné z:

http://eagri.cz/public/web/file/188525/SVZ_2012_konecna_verze.pdf

TŮMOVÁ, L. a K. GALLOVÁ, Terapeutické účinky *Silybum marianum*. Praktické lékarenství. 2006, č. 4, 185 - 187

TŮMOVÁ, L. a J. TŮMA. Chemické listy. Ovlivnění produkce sekundárních metabolitů v buněčné kultuře *Silybum marianum* přidávkem elicitoru Paraquat [online]. 2009, roč. 103, č. 6, 503 - 510 [cit. 2014-11-17]. DOI: 0009-2770. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_06_503-510.pdf

VELIKINAC, I., O. ČUDINA, I. JANKOVIĆ, D. AGBABA a S. VLADIMIROV. Comparison of capillary zone electrophoresis and high performance liquid chromatography methods for quantitative determination of ketoconazole in drug formulations. *Il Farmaco* [online]. 2004, vol. 59, issue 5, s. 419-424 [cit. 2014-11-18]. DOI: 10.1016/j.farmac.2003.11.019. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014827X04000357>

VIDLAR, A., J. VOSTALOVA, J. ULRICHOVA, V. STUDENT, M. KRAJICEK, J. VRBKOVA a V. SIMANEK. The safety and efficacy of a silymarin and selenium combination in men after radical prostatectomy - a six month placebo-controlled double-blind clinical trial. *Biomedical Papers* [online]. 2010, vol. 154, issue 3, s. 239-244 [cit. 2014-10-8]. DOI: 10.5507/bp.2010.036. Dostupné z: <http://biomed.papers.upol.cz/pdfs/bio/2010/03/08.pdf>

VOLÁK, J., J. STODOLA a SEVERA. Velká kniha léčivých rostlin. první. Bratislava: Příroda, 1987.

VOSTALOVA, J., A. VIDLAR, J. ULRICHOVA, J. VRBKOVA, V. SIMANEK a V. STUDENT. Use of selenium–silymarin mix reduces lower urinary tract symptoms and prostate specific antigen in men. *Phytomedicine* [online]. 2013, vol.

21, issue 1, s. 75-81 [cit. 2014-10-22]. DOI: 10.1016/j.phymed.2013.07.018.
Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S094471131300281X>

VOTAVOVÁ T. Stanovení účinných látek chromatografií na tenké vrstvě v rostlině *Echinacea purpurea*. České Budějovice, 2004. Diplomová práce. Jihočeská univerzita.

WAGNER, H., L. HÖRHAMMER a R. MUNSTER. The chemistry of silymarin (silybin), the active principle of the fruits of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (*Carduus marianus* L.). *Arzneimittel-Forschung* [online]. 1967, vol. 18, no. 6, s. 688-696

ZIMOLKA, J. a kol. Speciální produkce rostlinná - rostlinná výroba: (Polní a zahradní plodiny, základy pícninářství) [skripta]. první. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2000, 245 s. [cit. 27. 1. 2014]. ISBN 80-7157-451-1.

5. Přílohy

Obr. 1 Ostropestřec mariánský a jeho typicky bílé mramorované listy



Foto: prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Obr. 2 Detail rostliny ve fázi tvorby listové růžice



Foto: prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Obr. 3 Listová růžice Ostropestřce mariánského



Foto: prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Obr. 4 Začátek fáze Dlouživého růstu



Foto: prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Obr. 5 Ruční vysavač používaný ke sklizni *Ostropestřce mariánského* v maloparcelkových pokusech



Foto: prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Obr. 6 Fáze dlouhivého růstu rostliny a počátek jejího kvetení



Foto: prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Obr. 7 Detail květu



Foto: prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Obr. 8 Zralý úbor rostliny a typická hnědo-žihaná semena s bílým chmýrem



Foto: prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Obr. 9 Detail nažek



Foto: prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Obr. 10 Nažky Ostropestřce mariánského



Foto: prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.