

Mendelova univerzita v Brně

Zahradnická fakulta v Lednici

ZMĚNY V KVALITĚ MĚSÍČKOVÉ DROGY

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce

Ing. Jarmila Neugebauerová, Ph.D.

Vypracoval

Radek Lekeš

Lednice 2015

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Změny v kvalitě měsíčkové drogy

vypracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědom, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:

.....

podpis

.....

Obsah

1	Úvod	5
2	Cíl práce	6
	Literární část	7
3	Charakteristika rostliny <i>Calendula officinalis</i>	7
3.1	Botanický popis <i>Calendula officinalis</i>	7
3.2	Rozšíření	8
3.3	Variabilita	8
3.4	Ekologie	8
4	Charakteristika drogy <i>Calendulae flos</i>	9
4.1	Zkoušky totožnosti	9
4.2	Zkoušky na čistotu	10
5	Neoficinální drogy	11
5.1	<i>Calendulae flos sine calyce</i> (syn. <i>Flos calendulae sine calyce</i>) – měsíčkový květ bez zákrovu	11
5.2	<i>Calendulae flos cum calyce</i> (syn. <i>Flos calendulae cum calyce</i>) – měsíčkový úbor	11
6	Využití	12
6.1	Ve farmacii	12
6.2	Okrasné využití	15
6.3	V kosmetice	16
6.4	V potravinářství	16
7	Obsahové látky	17
7.1	Karotenoidy a xantofyly	17
7.1.1	beta-karoten	18
7.1.2	Lutein	19
7.2	Silice	19
7.3	Fenoly	20
7.3.1	Metody extrakce a identifikace flavonoidů a antokyanů	22
7.3.2	Flavonoidy	22
7.3.3	Antokyany	25
7.4	Saponiny	26
7.4.1	Kalendulozidy	28
7.5	Další obsahové látky	28

7.5.1	Hořčiny	28
7.5.2	Kumariny	28
7.5.3	Oleje	28
7.6	Antioxidanty x Volné radikály	29
8	Faktory a postupy ovlivňující kvalitu drogy <i>Calendulae flos</i>	31
8.1	Vnitřní faktory	31
8.2	Vnější faktory	32
8.2.1	Podmínky pěstování <i>Calendula officinalis</i>	32
8.2.2	Spon a hustota výsadby	33
8.2.3	Expozice porostu	34
8.2.4	Výživa	34
8.2.5	Sběr drogy	36
8.2.6	Posklizňové úpravy drogy <i>Calendulae flos</i>	36
8.2.7	Způsoby uchování drogy	38
8.3	Možnosti ochrany rostlin na základě EZ.....	38
8.3.1	Nepřímé metody a postupy ochrany patří:.....	38
8.3.2	Prostředků přímé ochrany	39
8.3.3	Houbové choroby.....	40
8.3.4	Virózy.....	41
8.3.5	Škůdci	41
9	Závěr.....	45
10	Souhrn a Resume	46
11	Použitá literatura.....	47

1 Úvod

Pěstování léčivých rostlin a jejich využívání jak pro lékařské využití, tak i v lidovém léčitelství se v současnosti začíná rozmáhat více než kdy dříve. Největšího rozmachu rostlinné léčby došlo v posledních dvou desetiletích a to z různých důvodů, které vyplývají z odklonu člověka a společnosti od přírody a jejích zdrojů ve dvacátém století a přechodu k průmyslovým, laboratorním a dalším vědeckým postupům, které měly zajistit nahrazení přírodních léčiv syntetickými. Tyto metody se však ukázaly být značně komplikované především v rámci dosažení komplexnosti, účinnosti a bezrizikovosti většiny rostlinných přípravků. Z tohoto důvodu velice stoupá poptávka po surovinách z některých významných léčivých rostlin. Tato práce se zaměřuje na používané drogy získávané z měsíčku lékařského jako na velice významné rostlinné suroviny, které mají využití ve farmaceutickém, potravinářském a kosmetickém průmyslu a v lidovém léčitelství. Rostlina jako taková se často využívá jako okrasná trvalka nebo řezaná květina s velkými nejčastěji oranžovými úbory, jejichž rozdílná zbarvení jsou dána především odrůdově. Drogy jsou charakterizovány především kvalitou a kvantitou obsahových látek neboli sekundárních metabolitů, z nichž se v úborech měsíčku nejvíce vyskytují flavonoidy, saponiny a karotenoidy. Tyto látky jsou nositeli léčivých (fototerapeutických) účinků rostliny. Na tyto látky působí široké spektrum faktorů, které ovlivňují nejen jejich množství, ale především jejich kvalitu. Odrůdy používané jako farmaceutické je nutné pěstovat v takových podmínkách, které neohrožují jejich léčebné využití, z pravidla jsou tedy při pěstování využívány alespoň některé metody a postupy ekologického zemědělství. Měsíček lékařský byl v historii často používán pro své hojivé účinky. Dnes je zkoumán především pro potenciální využití proti nejnebezpečnějším život ohrožujícím chorobám, jako je rakovina a AIDS.

2 Cíl práce

Cílem této práce je charakterizovat látky obsažené v *Calendula officinalis*, uvést nejvýznamnější faktory ovlivňující množství těchto látek v částech rostliny používaných pro své léčivé účinky a navrhnout možnosti ovlivnění kvality a kvantity účinných látek při pěstování, sklizni a posklizňových úpravách drogy.

Literární část

3 Charakteristika rostliny *Calendula officinalis*

Měsíček spadá do řádu *Asterales* (syn. *Compositae*). Tento řád se člení na tři čeledě a to *Asteraceae* (hvězdnicovité), *Cichoriaceae* (čekankovité) a *Ambrosiaceae* (ambrózovité). Někdy jsou tyto čeledi řazeny do jediné. Měsíček lékařský se řadí do čeledi hvězdnicovité (*Asteraceae*). Pro tuto čeleď je charakteristické, že na značně rozšířeném lůžku jsou směsnány květy úboru (*anthodium*). Na lůžku úboru mohou být u některých druhů pod každým květem zachovány listeny zvané plevky a na spodní straně lůžka úboru vyrůstají listeny, jejich soubor tvoří zákrov (*involucrum*). Zákrovní listeny mohou být zveličelé (např. *Helianthus* – slunečnice), háčkovitě osténkaté (*Arctium* – lopuch) nebo třísnité (*Centaurea* – chrpa). V úboru hvězdnicovitých se mohou vyskytovat dva typy květů: jazykovité a trubkovité (Novák, Skalický, 2009).

3.1 Botanický popis *Calendula officinalis*

Je vytrvalá bylina s charakteristickou vůní, která se pěstuje jako jednoletá.

Hlavní kořen je vřetenovitý s mnoha tenkými postranními kořeny.

Lodyha

Je přímá, (15-)30-60(-70) cm dlouhá, většinou v horní ½ větvená, hranatá a velmi jemně řídce chlupatá.

Listy

Lodyžní listy jsou eliptické, podlouhlé až kopinaté, se zvlněnými okraji, čepel je zašpičatělá, celokrajná nebo velmi oddáleně a velmi mělce zubatá. Nejspodnější listy jsou kopistovitě, zúžené v křídlatý řapík, dolní lodyžní listy jsou eliptické, výše vyrůstající listy jsou podlouhlého až kopinatého tvaru, celokrajné nebo velmi oddáleně a velmi mělce zubaté, na vrcholu jsou většinou zašpičatělé nebo zaokrouhlené, se zvlněnými okraji, uťatou až ouškatou bází přisedlé, na plochách kratičce řídce odstále chlupaté, na okrajích krátce hustě plstnaté, (2-)6-11(-17) cm v průměru. Vzpřímené zůstávají i v době plodu. Zákrov je dvouřadý, zákrovní listeny jsou stejně dlouhé, pýřitě chlupaté, osinkatě špičaté.

Květy

Úbory 3-6-(7) cm v průměru, za plodu vzpřímené, okrajové jazykovité květy sytě žluté až oranžové, nejméně 2x tak dlouhé jako zákrovní listeny. Jazykovité květy jsou oranžové nebo sytě žluté, s 20-25 mm dlouhou ligulou, samičí mají úzkou dvouramennou bliznou, která dozrává v nažky. Trubkovité květy jsou žluté, oranžové nebo hnědavé, morfologicky oboupohlavné, ale funkčně samčí, s malou hlavatou bliznou, nedozrávajících v nažky. Někdy jsou všechny květy jazykovité. Kvete převážně v měsících VI-X, ale často i do zámrazu.

Semena

Vnější nažky (někdy zcela chybějící) jsou asi 2,5-3,0 cm dlouhé, jen mírně dovnitř zahnuté, nekřídlaté, na vrcholu jen s náznakem dvou ostří zobánku, na hřbetě jsou krátce ostnitě, střední nažky jsou zřetelně kratší, půlkruhovitě dovnitř zahnuté a křídlaté (člunkovité, na hřbetě hrbolkaté, avšak neostnitě). Vnitřní nažky jsou nejmenší, podkovovitě zahnuté, nekřídlaté, na hřbetě hrbolkaté. Mezi tvary a velikostmi nažek se mohou vyskytovat přechody, všechny nažky světle hnědé. (Bělohávková, 2004)

3.2 Rozšíření

Druh je znám jen z kultury. Je možné, že jde o kulturní odrůdu neznámého planého druhu z oblasti mezi Kanárskými ostrovy a Íránem nebo o druh odvozený od *Calendula suffruticosa* VAHL anebo o alopolyloidní druh hybridogenního původu. Dnes se pěstuje na všech kontinentech a na mnoha místech také zplaňuje. (Bělohávková, 2004)

3.3 Variabilita

Proměnlivý zejména ve zbarvení a velikosti úborů. Pěstují se především rostliny s úbory plnými se všemi květy jazykovitými, někdy připomínajícími chryzantémy, dále formy s úbory sytě nebo světle oranžovými nebo naopak bledě žlutými. Vzácně se vyskytují rostliny, u nichž ze středu terče úboru vyrůstá nový úbor (proliferace) nebo několik (až 10) 1-15 cm dlouhých, nevětvených lodyh s čárkovitými, drobnými, cca 1 cm dlouhými listy na vrcholu s jedním úbořem. (Bělohávková, 2004)

3.4 Ekologie

Jako stará léčivá a okrasná rostlina se pěstuje na celém území našeho státu od nížin až po zahrádky horských chat. Je nenáročný na pěstování, roste na suchých i vlhkých půdách, i na půdách chudých na živiny. Vysévá se přímo na záhony, na lokalitě se samovolně udržuje řadu let, nažky mají vysoký stupeň klíčivosti. Úbory se otvírají kolem 9. Hodiny a pozdě odpoledne se zavírají. Často zplaňuje na skládkách, rumišťích, v okolí zahrad a hřbitovů. (Bělohávková, 2004)

4 Charakteristika drogy

Calendulae flos

Dle českého lékopisu to jsou celé nebo řezané usušené zcela rozkvetlé květy plnokvětých odrůd druhu *Calendula officinalis* L., květy jsou oddělené od lůžka.

Droga musí mít nejméně 0,4 % flavonoidů, vyjádřeno jako hyperosid ($C_{21}H_{20}O_{12}$; M_r 464,4), počítáno na vysušenou drogu.

4.1 Zkoušky totožnosti

Jazykovité květy se žlutým nebo oranžově žlutým třízubým jazykem asi 3 mm až 5 mm širokým a chlupatou poněkud srpkovitou žlutohnědou až oranžovohnědou trubkou s vyniklou čnělkou a dvojklanou bliznou, někdy s poněkud ohnutým žlutohnědým až oranžově hnědým semeníkem. Trubkovité květy asi 5 mm dlouhé se žlutou, oranžovočervenou nebo červenofialovou pětícípou korunou a žlutohnědou nebo oranžovohnědou trubkou, na spodní části chlupatou, většinou s mírně ohnutým žlutohnědým až oranžovohnědým semeníkem.

Droga se upráškuje. Prášek je žlutohnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: úlomky koruny s buňkami se světle žlutými olejovými kapkami, některé s poměrně velkými anomocytickými průduchy, jiné s krystaly a velmi malými drúzkami šřavelanu vápenatého; krycí chlupy jsou mnohobuněčné, dvouřadé, kuželovité, žláznaté chlupy s mnohobuněčnou jednořadou nebo dvouřadou nohou a velkou vejčitou mnohobuněčnou dvouřadou hlavičkou; pylová zrna kulovitá o průměru asi 40 mikrometru s ostře ostnitou exinou a třemi klíčními póry; někdy úlomky blizny s krátkými bradavčitými papilami.

Tenkvrstvá chromatografie

Zkoušený roztok se skládá z 1,0 g práškové drogy. Zkoušený roztok se smíchá s 10 ml methanolu R a zahřívá se 10 min pod zpětným chladičem na vodní lázni. Po ochlazení se zfiltruje. Porovnávací roztok 1,0 mg kyseliny kávové R, 1,0 mg kyseliny chlorogenové R a 2,5 mg rutinu R se rozpustí v 10 ml methanolu R. Stacionární fáze, deska s vrstvou silikagelu pro TLC R. Mobilní fáze, směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé R, vody R a ethylacetátu R (10 + 10 + 80). Nanášení 20 mikrolitrů zkoušeného roztoku a 10 mikrolitrů porovnávacího roztoku, do proužků. Vyvíjení po dráze 10 cm. Sušení při 100 °C až 105 °C. Detekuje se na ještě teplé desce, která se postříká roztokem difenylboryloxyethylaminu R (10 g/l) v methanolu R a pak roztokem makrogolu 400 R (50 g/l) v methanolu R; suší se 30 min na vzduchu a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm.

Hodnocení. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní části skvrna se světle modrou fluorescencí (kyselina chlorogenová) a v horní části skvrna se světle modrou fluorescencí (kyselina kávová). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je žlutohnědě fluoreskující skvrna v poloze odpovídající polohou a zbarvením skvrně rutinu, v poloze pod i přímo nad skvrnou rutinu je skvrna se žlutozelenou fluorescencí a skvrna se světle modrou fluorescencí odpovídající polohou a zbarvením kyseliny chlorogenové na chromatogramu porovnávacího roztoku. Nad skvrnou odpovídající polohou kyseliny kávové na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další skvrny (Český lékopis, 2009).

4.2 Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi jsou tvořeny nejvýše 5 % zákrovních listenů a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

Ztráta sušením nejvýše 12,0 %; 1,000 g práškové drogy se suší 2 h v sušárně při 105 °C.

Celkový popel tvoří nejvýše 10,0 %.

Stanovení obsahu

Základní roztok 0,800 g práškové drogy se ve 100 ml baňce s kulatým dnem smíchá s 1 ml roztoku methenaminu R (5 g/l), 20 ml acetonu R a 7 ml kyseliny chlorovodíkové RS a vaří se 30 min pod zpětným chladičem. Zfiltruje se přes chomáček vaty do 100 ml odměrné baňky. Droga i chomáček vaty se vaří pod zpětným chladičem ještě dvakrát 10 min s 20 ml acetonu R. Po ochlazení na teplotu místnosti se zfiltruje přes chomáček vaty a potom filtračním papírem do téže odměrné baňky a zředí se acetonem R použitým k promytí baňky a filtru na 100,0 ml. 20,0 ml tohoto roztoku se převede do dělicí nálevky, přidá se 20 ml vody R a protřepává se nejprve 15 ml a pak třikrát 10 ml ethyl-acetátu R, ethyl-acetátové vrstvy se spojí a protřepávají se dvakrát 50 ml vody R a zfiltrují se přes 10 g síranu sodného bezvodého R do 50ml odměrné baňky a zředí se ethyl-acetátem R na 50,0 ml.

Zkoušený roztok. 10,0 ml základního roztoku se smíchá s 1 ml chloridu hlinitého RS1 a zředí se roztokem kyseliny octové ledové R 5% v methanolu R na 25,0 ml.

Kontrolní roztok. 10,0 ml základního roztoku se zředí roztokem kyseliny octové ledové R 5% v methanolu R na 25,0 ml. Po 30 min se měří absorpce zkoušeného roztoku při 425 nm proti kontrolnímu roztoku. Obsah flavonoidů v procentech, vyjádřeno jako hyperosid ($C_{21}H_{20}O_{12}$), se vypočítá podle vzorce: $(A \cdot 1,25)/m$.

(Český lékopis, 2009)

5 Neoficinální drogy

5.1 *Calendulae flos sine calyce* (syn. *Flos calendulae sine calyce*) – měsíčkový květ bez zákrovu

Je to usušený jazykovitý květ druhu *Calendula officinalis* L. Droga je nevýrazného zápachu, nahořkle trpké chuti.

Oranžový až červenooranžový jazykovitý květ, 30 až 40 mm dlouhý, 3 až 5 mm široký. Pokožkové buňky jazykovitých květů papilózně vychlípené, se zvrásněnou kutikulou, s kulovitými chromoplasty, žláznatými chlupy a krycími chlupy s jednobuněčnou nebo vícebuněčnou nohou a zašpičatělou až vejčitou koncovou buňkou. Pokožkové buňky semenníku protáhlé. Pylová zrna 40 mikrometru velká, mírně zaobleně trojhranná, s hrubě ostnitou exinou.

Ztráta sušením je nejvýše 12,0 % (ČSL 4, str 100/I). Jazykovité květy se uchovávají v uzavřených obalech, které jsou chráněny před světlem.

Při jednotlivé terapeutické dávce ve formě nálevu je to při perorálním užití 1,5 g. Na zevní užití se používá 2 až 5 g ve 100 g masti.

5.2 *Calendulae flos cum calyce* (syn. *Flos calendulae cum calyce*) – měsíčkový úbor

Je to usušený úbor druhu *Calendula officinalis* L. Droga je nevýrazného zápachu, nahořkle trpké chuti.

Úbor o průměru 2 až 5 cm, zákrov široce polokulovitý, listeny kopinaté, osinkatě špičaté, hustě chlupaté, lůžko ploché, bez plevek. Oranžové až červenooranžové jazykovité květy dvakrát delší než zákrov. Trubkovité květy jen ojediněle.

Ztráty sušením a způsob uchovávání je stejný jako u jazykovitých květů. Zevně se užívá 4 až 10 g ve 100g masti.

(Český farmaceutický kodex, 1993)

6 Využití

Léčivé a aromatické rostliny jsou bylinné, jednoleté, dvouleté, vytrvalé, nebo dřevnaté druhy, ze kterých se používají listy, květy (květenství), plody, semena, kořeny a jejich metamorfózy. Používají se také běžné rostliny (slunečnice, len, kukuřice, konopí) pro medicínské účely.

V roce 2003, plochy, na kterých se pěstovaly léčivé rostliny, měli vzestupnou tendenci, zahrnující asi 12 200 ha a produkci 10 000 tun drog. V roce 2005, plochy dosahovaly 9 530 ha a produkce dosahovala 5 390 tun. Ceny pohybující se mezi 0,35 a 4-5 Euro/kg, závisících na druhu, používané části, stavu produktu (čerstvý nebo sušený), na pěstebních technologiích (bioekologické, ...), na kvalitě a na poměru mezi poptávkou a nabídkou.

(Pop, Pirsan, Mateoc-Sirb et al., 2007)

Je stará kulturní rostlina používaná v lidovém léčení, v lékařství a v kosmetice, pěstovaná již více než 800 let. Obsahuje silice (ovšem bez azulenu), sérii karotenoidů (jako flavochrom, flavoxanthin, citroxanthin), kyseliny (např. jablečnou, laurovou, palmitovou, myristovou), triterpenické a steroidní alkoholy (alfa- a beta- amyryny, lupeol, taraxasterol) a jejich glykosidy a saponiny a také další důležité obsahové látky, jako jsou glykosidy flavanolů (např. glukosid nebo rutinoid isorhamnetinu). Jako okrasná rostlina se často pěstuje na zahradách a hřbitovech, neboť vydrží dlouho bez závlivy a má velmi dlouhou dobu kvetení. (Bělohávková, 2004)

6.1 Ve farmacii

Odrůdy:

‘Plamen’

‘Plamen Plus’

Pro tuto odrůdu je nejvhodnější spon výsadby 30 x 25 cm, přičemž v jednom gramu osiva je 150 semen, období pro přímý výsev se pohybuje v měsících duben až červen, kdy jsou průměrné teploty 15 °C. Tato odrůda kvete od měsíce června až do zámrazu. Je jednoletá bylina kvetoucí jasně oranžovými velkými úbory.

(Semo, 2012)

V Německu se pěstují odrůdy ‘Meisterstück’, ‘Orangekonig’, ‘Orange-Kugel’ (ISSAC, 1992) in (PLAČKOVÁ, 2011). Odrůda ‘Regina’ se pěstuje pro produkci oleje. Obsahuje ve svých semenech více olejů než ostatní farmaceuticky využívané odrůdy, (HABÁN, 2005) in (PLAČKOVÁ, 2011) může být tedy využita i jako alternativní olejnatá rostlina (Štolcová, 2003) in (Plačková, 2011). Mezi významné kultivary též patří dvě československé a to ‘Plamen’ a

‘Senzace’ a dvě německé ‘Orangestahlen’ a ‘Grosspfluzige’. (Helemiková, 1989) in (Plačková et al., 2011)

Národní institut vědy v Japonsku sledoval tři oranžové odrůdy měsíčku lékařského ‘Alice Orange’, ‘Orange Star’ a ‘Orange Zem’ a tři žluté kultivary ‘Alice Yellow’, ‘Gold Star’ a ‘Golden Zem’ (Kishimoto et al., 2007) in (Plačková, 2011). Z literatury jsou též známé čtyři francouzské odrůdy, které se odlišují v barvě květů. Jde o ‘Esterel Double Orange’ s velkými tmavými oranžovými květy, ‘Esterel Double Jaune’ s velkými citronově žlutými květy. Vysokou a rozvětvenou lodyhu s oranžovými květy má odrůda ‘Radio Extra Selected’. Malá lodyha ukončená žlutooranžovými květy je typická pro odrůdu ‘Bonbon Abricot’ (Pintea et al., 2003) in (Plačková et al., 2011).

Fytoterapeutické skupiny:

Řadí se mezi antiflogistika (protizánětlivé účinky), spasmolytika (proti křečím hladkého svalstva a proti záchvatové účinky), cholagogum (zvyšuje produkci žluče). (WYK, 2004) Dále se řadí mezi dermatologika (přípravek nanášený na pokožku při některých kožních chorobách) a barevné korigens (zlepšuje barvu) (Tomko, 1999; Bremnessová, 2003) in (Plačková et al., 2011).

Fytoterapeutické účinky:

Velký význam spočívá v podpoře tvorby krevního koláče (Tomko, 1999); (Bremnessová, 2003) in (Plačková, 2011), antiseptickém a protizánětlivém působení (Čekman, 2003; Blumenthal, 2000) in (Plačková, 2011). Extrakty měsíčku mají také antioxidační, protinádorové, antivirotické a anti-HIV vlastnosti, které v současné době mají vysoký potenciál (Jiménez-Medina et al., 2006; Kalvatcev et al., 1997) in (ALNUQAYDAN, LENEHAN, HUGHES, SANDERSON, 2015). Extrakty, nálevy a další způsoby extrakce mají v *in vitro* podmínkách cytotoxické a růstově inhibiční účinky na rakovinné buňky v lidském organismu (Matic et al., 2013; Jiménez-Medina et al., 2006) in (ALNUQAYDAN, LENEHAN, HUGHES, SANDERSON, 2015). Preventivní léčba extrakty měsíčku má výsledky v ochraně proti oxidačnímu stresu. Quercetin poskytoval ochranu po celou dobu pokusu. Nejlepší ochranu proti oxidačnímu stresu, který způsobuje poškození buněk, mají nižší dávky flavonoidů užívané po delší dobu než vysoké krátce trvající koncentrace (Ahmad et al., 2012) in (ALNUQAYDAN, LENEHAN, HUGHES, SANDERSON, 2015). Extrakty květů měsíčku chrání HaCaT kožní buňky proti oxidačnímu stresu způsobenému H₂O₂. Takovýto oxidační stres může vést od stavu normálního metabolismu ke zvyšování elektricky nabitých částic, jako jsou °OH a ROS. Toto může vést k oxidaci buněčných struktur, což může vést k zánětu, stárnutí pokožky nebo rakovině. Sušené květy měsíčku lékařského mají funkci antioxidantů, tedy chrání před tímto poškozením. Takovéto extrakty mají potenciální využití jako přísady do produktů, mající ochranné účinky (Alnuqaydan, Lenehan, Hughes, Sanderson et al., 2015).

V moderní medicíně je extrakt složkou mastí na vředy, záněty kůže a křečové žíly (Corea – Ming – Scheffer, 1994) in (Plačková, 2011). Příznivě působí také při poruchách funkcí žlučníku a jater (Kammerer – Schilcher, 2003) in (Plačková, 2011). Droga se přidává do čajových směsí, tyto směsi a extrakty mají čistící a antiseptické účinky (Morton, 1976; Marcina, 1983) in (Plačková, 2011). Používá se dále na záněty spojivek (Williamson, 2009) a Má také baktericidní a anti parazitické účinky vůči rodu *Trichomonas* (bíčenka). (Pop, Pirsan, Mateoc-Sirb et al., 2007)

V lidovém léčitelství se používá většinou ve formě tinktur anebo mastí na proleženiny (Hlava – Halíček, 1997) in (Plačková, 2011).

Použití

Zevně se používá především k lokálně, pro léčení pomalu hojících zranění, spálenin, suché kůže, ekzémů, hemeroidů a moniliáz (afty) dutiny ústní. Vnitřně se používá pro protizánětlivé a spasmolytické účinky a je účinná proti zánětům ústní dutiny a krku, dále zlepšuje trávení, stimuluje produkci žluče, léčí žaludeční vředy a reguluje menstruační poruchy. Sušené květy jsou součástí bylinných čajů i jako jejich korigens (Wyk, 2004).

Droga se používá analogicky k *Flos arnicae*, externě ve výtažcích anebo jako tinktura či mast na hnisavé, špatně se hojící rány, záněty sliznic, vyrážky (dermatitidy, apod.). Užití ve fytofarmakách je převážně jako výtažky z drog s rozsáhlou indikační oblastí (dermatika, prostředky na rány – masti, zásypy apod.), hojivé masti a ochranný pracovní krém typu Indulona (Tomko, 1999).

Dávkování:

Pro typické použití, nálev, tinktury, krémy, pleťové vody a masti se používá 2 – 5 g suroviny na 100 g produktu a 1 – 2 g sušených květů na šálek vroucí vody užívaného dvakrát až třikrát denně. Měsíčkové extrakty by neměly být užívány ve vysokých dávkách nebo po dlouhé období (Wyk, 2004).

Toxicita

Toxicita a ochranné účinky extraktů *Calendula off.* Na HaCaT buňky v *in vitro* podmínkách byly objeveny inkubováním buněk s extrakty po 4, 24 a 48 hodinách. V aktuální studii dva extrakty měsíčku vykazovali pouze minimální toxicitu a to ve vysokých dávkách. Nižší dávky (0,125, 0,5 a 1,0 %) nebyly toxické vůči HaCaT kožním buňkám v žádné části pokusu. Nejvyšší dávky (5 %) extraktů nebyly toxické pouze po první 4 hodiny působení. Extrakty ve vyšších dávkách (2% až 5%) mají značnou toxicitu až po 48 hodinovém působení. Dávky nižší než 1% neměly v průběhu 24 hodin významnou toxicitu.

Pouze vysoké koncentrace složek potenciálně toxických v extraktech, které jsou běžně komerčně používané, by vykazovali významné účinky.

(Matic et al., 2013; Jiménez-Medina et al., 2006) in ((Alnuqaydan, Lenehan, Hughes, Sanderson et al., 2015).

6.2 Okrasné využití

Čerstvá rostlina se též využívá jako okrasná záhonová letnička a v posledním období i pěstovaná rychlením ve sklenicích do květinových vazeb z řezaných květin (Foster – Duke, 2000) in (Plačková et al., 2011). Jako surovina se dováží z východní Evropy a severní Afriky, hlavně z Egypta (Wyk, 2004).

Odrůdy:

‘Antares Flashback’

Výrazné květy vyvolávající pozornost. Květy mají odstíny oranžové, broskvové, světle oranžové, žluté a krémové s výraznou červenou až tmavě červenou spodní stranou.

‘Triangle Flashback’

Broskvově-růžové květy. Vhodná do zahrad i truhlíků. Má dlouhý stonek, pro který je vhodná jako řezaná květina.

‘Sunshine Flashback’

Vhodná jako prvek v kyticích. Konce jazykovitých květů jsou výrazně oranžové, zatímco spodní strany jsou tmavě červené. Stonky jsou dlouhé, rovné a ideální pro řez.

‘Solar Flashback Mix’

Světle růžové jazykovité květy s nádechem žluté na okrajích konců a vínové spodní.

‘Flashback Mix’

Spodní strana jazykovitých květů je tlumeně vínově červená. Má vysoké procento dvojitých a několikanásobných květů. Tato odrůda má také dlouhý, silný stonek.

‘Deja Vu’

Barevné odstíny této odrůdy zahrnují růžovou, oranžovou, žlutou, a krémovou s plameně oranžovou. Některé mají kontrastní tmavý spodek a konce petalů.

K dalším okrasným odrůdám patří 'Green Heart', 'Indian Prince', 'Monarch Orange King' (HABÁN, 2005) in (PLAČKOVÁ, 2011), Alpha s tmavě oranžovými květy, odrůdy 'Jane Harmony' a 'Sun Glow' mají světle žluté květy, 'Pink Surprise' disponuje dvojitými květy s vnitřními kvítky tmavšími než vnějšími a odrůda 'Variegata' se žlutě skvrnitými listy (Flann, 2011) in (Baciu, Pamfil, Mihalte et al., 2012)

6.3 V kosmetice

Extrakt z drogy se používá do kosmetických přípravků používaných na zjemnění pokožky a zlepšení její pružnosti (Chorvátová, 1991) in (Plačková, 2011). Antioxidační aktivita extraktů měsíčku je zdokumentovaná v rámci ochrany před oxidy dusíku. Takováto aktivita může mít mimo jiné potenciál ke zpomalení projevů příznaků stárnutí. (Ahmad et al., 2012) in (Alnuqaydan, Lenehan, Hughes, Sanderson et al., 2015)

6.4 V potravinářství

Pro dobrou rozpustnost karotenoidních barviv v tucích se používá v potravinářství jako přirozené, netoxické barvivo na přibarvování sýrů, paštik, apod.

V oblasti gastronomie se navazuje na staré tradice spojené se současnou orientální kuchyní a začínají se používat jedlé květy jako zpestření a doplnění jídel. Jednou z příčin zájmu o konzumaci jedlých květů jsou také nové poznatky o jejich nutričních hodnotách. Jakost květů, které se pro tyto účely sbírají jako léčivé rostliny, je dána příslušnou technickou normou nebo legislativou EU (Kopec, 2008).

Listy a jazykovité květy jsou jedlé a celá květenství se používají též ke zdobení pokrmů (WYK, 2004). Měsíček se například ve Francii hojně používal jako salátová zelenina a karotenoidní barviva v květech měsíčku slouží jako přirozená, netoxická barviva k přípravě másla, sýrů, paštik nebo jako náhražka šafránu (Kopec, 2008) et (Chorvátová, 1991) in (Plačková et al., 2011). Čerstvé okvětní lístky se přidávají např. do rýže a salátů jako korigens. (Kopec, 2008) et (Fonseca et al., 2010; Ozkol et al., 2012; Re et al., 2009) in (Alnuqaydan, Lenehan, Hughes, Sanderson et al., 2015).

7 Obsahové látky

7.1 Karotenoidy a xantofyly

Z chemického hlediska se řadí mezi tetraterpeny, tedy čtyřiceti uhlíkaté sloučeniny.

Rozdělení:

Karotenoidy dělíme na karoteny, jejichž molekula není substituovaná kyslíkem (bezokyslíkatá mol.) a xantofyly, které mají v molekulární struktuře kyslík (kyslíkaté deriváty). Rozdíly v jejich struktuře jim dávají rozdílné vlastnosti.

Biosyntéza:

Při biosyntéze tetraterpenů se dvě látky C-20 (geranylgeranyldifosfát a geranylinalyldifosfát) kondenzují na C-40 sloučeninu fytoen, který je všeobecným prekurzorem karotenoidů. Systém tří konjugovaných vazeb brání vzniku cyklických sloučenin z fytoenu. Další fáze biosyntézy karotenoidů se týká výhradně změny v C-40 řetězci. Fytoen přechází řadou dehydrogenačních reakcí přes neurosporin na lykopen, nebo na beta-karoten.

Xantofyly vznikají enzymovou hydroxylací, do molekuly se vnáší kyslík až po úplném vybudování polyenového řetězce. (Tomko, 1999)

Význam:

Z terapeutického hlediska mají význam α a β karoten, které živočichové využívají především jako prekurzory vitamínu A1 – retinolu, ale i dalších rozmanitých a fyziologicky významných sloučenin. Barva květů váže jako největší složku dále flavonoidy a antokyany.

Xantofyly nemají provitaminovou aktivitu, ale oproti karotenům jsou barevnější. Dnes známe více než 600 druhů karotenoidů. U rostlin se syntetizují ve velkých množstvích v květech, které zbarvují do oranžova až tmavočervena. Složení karotenoidů je druhově i odrůdově závislé.

Obsah:

Obsah v měsíčku je do 3 %, podmiňuje barvu květů a květních plátků, tvoří je karoteny a xantofyly. Za hlavní tetraterpenové složky květní drogy měsíčku, podmiňující její fytotherapeutické využití, jsou nejčastěji považované β -karoten a lutein. Do skupiny dále patří violaxantin, luteoxantin, flavoxantin, luteinepoxid, rubixantin a α -karoten.

Vlastnosti:

Jsou to žlutá až červená barviva lipofilního charakteru. Barevnost karotenoidů vyvolává mnohonásobná konjugace jejich dvojitých vazeb. Atomy karotenů jsou spojené do dlouhých rozvětvených molekul. Na jednom anebo na obou koncích mají iontová cyklohexanilová jádra. Z hlediska fotosyntézy rostlin jsou nejznámější α a β -karoten. V molekule karotenu je 11 dvojitých vazeb, ze kterých 10 tvoří konjugovaný systém. Obsahují jeden asymetrický uhlík, který způsobuje optickou aktivitu α -karotenu a otáčí rovinu polarizovaného světla napravo. Při působení silnými zásadami v alkoholovém roztoku přechází karoten na izomer β -formy. Na rozdíl od α -karotenu je u β -karotenu všech 11 dvojitých vazeb konjugovaných. Následkem symetrie molekuly je β -karoten sloučeninou, která neotáčí rovinu polarizovatelného světla.

Do xantofylů se řadí alkoholy, aldehydy, ketony, karboxylové kyseliny, případně jejich estery. Malá změna ve složení molekuly xantofylu způsobuje posunutí v absorbované vlnové délce světla, a tedy i v barvě daných sloučenin.

7.1.1 beta-karoten

Je nejznámější z 50 karotenoidů, které mají aktivitu provitamínu A a současně jsou i barvami. Květní droga měsíčku obsahuje různá množství beta-karotenu.

Význam v organismu:

Jednou z nejdůležitějších vlastností je jeho antioxidační aktivita neboli ochrana organismu před reaktivními formami kyslíku (Ksirimoto et al., 2005) in (Plačková, 2011). Vitamín A a β -karoten ovlivňují tvorbu pokožkových tkání a působí jako antioxidanty v případě, že dojde ke tvorbě novotvarových buněk následkem nekontrolovaného oxidačního procesu, chrání buněčné membrány před rakovinotvorným působením volných radikálů. Dokázané je, že až 90 % nových útvarů vzniká právě v pokožkové tkáni, a proto se připisuje příjmu vitamínu A a β -karotenu tak velký význam. Mají velký význam při ochraně sliznic hrdla, ústní dutiny, hltanu, žaludku, střev, dýchacích cest, močového měchýře a prostaty (Meyer, 1986) in (Plačková et al., 2011).

Z dalších vlastností β -karotenu je jeho ochranné působení před reaktivními formami kyslíku vznikajícími následkem ultrafialového záření. Molekula karotenu má značnou schopnost pohlcovat široké spektrum slunečního záření a současně tlumit vznikající radikálový kyslík, a tak působí jako účinný fotoprotektor (Matysik et al., 2005) in (Plačková, 2011). Tato vlastnost se využívá při léčbě porfyrie, kde chrání pokožku citlivou na sluneční záření. Zjištěný efekt se využívá též na ochranu zdravé tkáně při radioterapii (Plačková, 2011). Při hydrolýze β -karotenu na centrální dvojitě vazbě se tvoří dvě molekuly vitamínu A. Prakticky je však v živočišném organismu jen část přijatého β -karotenu přeměněná na vitamín A a zbytek se ukládá v tukových tkáních, tedy v játrech a kůži. Jeho přeměna se řídí stavem vitamínu A v organismu. Pokud má organismus dostatek vitamínu A, přeměna β -karotenu se snižuje (Plačková et al., 2011).

7.1.2 Lutein

Obsah:

Je žlutý xantofylový pigment. V přírodě se lutein vždy nachází společně s jeho izomerem zeaxantinem. Jsou to hlavní xantofyly v úborech měsíčku lékařského (Plačková et al., 2011).

Význam v organismu:

Je nepostradatelné pro uchování tělesných funkcí, jakož i pro látkový metabolismus očí (Plačková, 2011). Karotenoidy lutein a zeaxantin se nacházejí ve vysoké koncentraci v centrální oblasti sítnice (Pintea et al., 2003) in (Plačková et al., 2011). Na tomto místě nejostřejšího vidění jsou oční buňky zastoupené v nejvyšším množství (Mika, 1991) in (Plačková et al., 2011). Jeho molekula absorbuje, podobně jako ochranný světelný filtr, UV záření a chrání tak citlivou buněčnou strukturu před oxidačními změnami (Plačková et al., 2011).

7.2 Silice

Jsou intenzivně vonící těkavé látky, přítomny zejména v rostlinách čeledi *Lamiaceae* a *Apiaceae* a ve spoustě dalších (Pugar, 2008).

Rozdělení:

Silice se skládají z mnoha skupin látek, mezi tyto skupiny látek patří terpeny, které se dále rozdělují na monoterpeny, seskviterpeny, diterpeny, triterpeny, tetraterpeny, polyterpeny a jejich deriváty (Tomko, 1999).

Obsah v měsíčku:

Celkový obsah izolovaných silic je 0,1 – 0,4 %, jazykovité květy obsahují do 0,12 %, lůžko do 0,4 %, hlavními složkami silice měsíčku jsou kadinol a toryol a další složky tvoří menton, izomenton, terpinen a kadinen (Kammerer – Schilcher, 2003) in (Plačková et al., 2011).

V metanolových extraktech měsíčku jsou obsaženy steroly, steroidy, terpenoidy, volné a esterifikované triterpenové alkoholy (Re et al., 2009) in (Alnuqaydan, Lenehan, Hughes, Sanderson et al., 2015). V měsíčku byly nalezeny také triterpenové alkoholy, převážně β -Amyrin, taraxasterol, arnidiol, faradiol, a seskviterpeny (Tomko, 1999).

Helianol je sekundární triterpenový alkohol tvořící mnoho hlavních struktur (29-86 %) ve frakcích triterpenových alkoholů z trubkových květů *Calendula officinalis*. Zkoumány byly též jazykovité květy, které obsahovaly pouze stopová množství Helianolu.

V trubkovitých květech měsíčku byly zjištěny triterpenové alk. v množstvích, Helianol (58,5 %), Dammaradienol (0,8 %), β -Amyrin (7,7 %), Cycloartenol (0,3 %), Tirucalla-7,24-dienol (0,5 %),

α -Amyrin (3,7 %), Lupeol (4,2 %), 24-Methylenecycloartanol (0,2 %), ψ -Taraxasterol (22,8 %) a Taraxasterol (0,9 %). V jazykovitých květech to jsou, Dammaradienol (4,2 %), β -Amyrin (15,7 %), α -Amyrin (11,0 %), Lupeol (11,4 %), ψ -Taraxasterol (52,7 %) a Taraxasterol (5,0 %). Byla tedy prokázána značná rozdílnost mezi jejich zastoupením v trubkovitých a jazykovitých květech (Akihisa, Yasukawa, Oinuma, 1996).

Význam:

Silice jsou různorodá skupina, působící příznivě na nervový systém, podporují vyměšování trávicích šťáv a tím chuť k jídlu, působí dezinfekčně, močopudně a proti nadýmání (PRUGAR, 2008). Z fytotherapeutického aspektu jsou významné azulenogenní seskviterpeny matricin, matrikarin, artabsin a jiné, ze kterých se destilací silice získávají azuleny, ze kterých se dále získává chamazulen (Tomko, 1999).

Studie byla založena na zjištění množství chamazulenu, partenolidu, apigeninu a bisabololu. Tyto složky se zjišťovaly pomocí vysoko účinné chromatografie na tenké vrstvě, dále (HPTLC), samostatně v květech a listech. Chamazulen a bisabolol jsou zastoupeny hlavně v úborech. Chamazulen je degradační produkt proazulenových seskviterpenových laktonů.

Biosyntéza partenolidu je u měsíčku lokalizována v listech, zatímco v úborech se nevyskytuje. Na druhé straně, biosyntéza matricinu a bisabololu je lokalizována v květenstvích. Z výzkumu je jasné, že chamazulen má z těchto látek nejvyšší antioxidační aktivitu, sestupně to jsou dále partenolid a bisabolol. Extrakty z listů měsíčku obsahují pouze malé množství chamazulenu, který se řadí mezi hlavní látky s antioxidační aktivitou v měsíčku, avšak extrakty jeho květů obsahují jak chamazulen tak i bisabolol a mají tedy značnou antioxidační aktivitu. Pouze malé množství partenolidu bylo nalezeno v extraktech listů měsíčku, který se v rámci jiných druhů používá k léčení migrén a bolestí hlavy (Agatonovic-Kustrin, Ortakand, 2015).

Triterpenové alkoholy byly zjišťovány metodou HPLC a plynovou chromatografií z metanolových extraktů. Celkem jich bylo zjišťováno jedenáct a byly u nich pozorovány protizánětlivé účinky na myších. V celých úborech *Calendula officinalis* byla popsána převaha pentacyklických triterpenových alkoholů (β -amyrin, α -amyrin, taraxasterol, a lupeol). Taraxast-20-en-3 β -ol (ψ -Taraxasterol) byl v měsíčku zkoumán pro nejvyšší ochrannou aktivitu vůči krotonovému oleji, který má mimo jiné rakovinotvorné účinky (Akihisa, Yasukawa, Oinuma, et. al., 1996).

7.3 Fenoly

Saponiny a triterpenoidní flavonoidy jsou odpovědné za léčení zranění, jak ukazují jejich protizánětlivé a antimikrobiální vlastnosti. Extrakty jsou také známy pro imunostimulační a estrogenické vlastnosti. (Wyk, 2004)

Flavonoidy jsou polyfenolické látky syntetizované rostlinami, které jsou běžně široce dostupné. S výjimkou flavanolů (např. katechiny) a jejich polymerů, a proantokyanidinů, se obvykle vyskytují přirozeně a vážou se spíše na jednu nebo více molekul cukru (glykosidy flavonoidů) než jako volné aglykony (Williamson, 2009). Jsou součástí prakticky všech potravin a jako velice heterogenní skupina se dělí na skupiny fenolů s individuálními vlastnostmi (Mao, Pan, Que, Fang et al., 2005).

Rozdělení fenolů:

Kyslíkaté heterocyklické sloučeniny, kam náleží množství fenolových sloučenin, zejména flavonoidy, z nichž nejdůležitějšími barvivy jsou antokyany. Flavonoidy jsou velice rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů obsahující v molekule dva benzenové kruhy. Svými vlastnostmi se velice liší od jiných fenolových pigmentů. Flavonoidních látek je dnes známo více než 4 000. Flavonoidy jsou odvozeny od kyslíkaté heterocyklické sloučeniny 2H-chromenu. Podle stupně oxidace C₃ řetězce se rozeznávají následující základní struktury flavonoidů, katechiny (flavan-3-oly), leukoanthokyanidiny (flavan-3,4-dioly), flavanony, flavanonony, flavony, flavonoly, anthokyanidiny, přičemž skupiny leukoanthokyanidiny s flavanony a skupiny flavanonony, flavony, flavonoly a anthokyanidiny mají stejný stupeň oxidace (Tomko, 1999).

Fenoly jsou považovány za nejdůležitější antioxidační látky rostlinného původu. Studené sušení uchová více fenolických látek než horkovzdušné sušení, které působí degradačně na antokyany a vede k výraznému snížení obsahu flavanolů. Fenoly byly spojovány s antioxidační aktivitou a možností důležité role ve stabilizaci peroxidace lipidů. Pozitivní souvislosti byly zjištěny mezi zastoupením fenolických látek a celkovou antioxidační aktivitou, redukční kapacitou, chelatační aktivitou a ochranou aktivitou vůči superoxidovému aniontu (Mao, Pan, Que, Fang et al., 2005).

Fyzikální a chemické vlastnosti fenolů:

Flavony, flavonoly a jejich glykosidy jsou světle žluté až žluté. Chalkony jsou žluté až oranžovo žluté, flavanony a flavanonoly jsou bezbarvé. Charakteristická barva a fluorescence je vidět pod ultrafialovým světlem. Barva se může měnit při styku s amoniakem. Barva antokyanidinů závisí na hodnotě pH, červená (pH < 7), fialová (pH = 8,5), a modrá (pH > 8,5) (Xu et al., 2012).

Vonné vlastnosti vykazují výhradně jednoduché fenoly, například kumariny. Jsou to degradační produkty fenolických kyselin, a deriváty hydroxyfenolových kyselin.

Chuťové látky představují jednoduché fenoly i polyfenoly, jako jsou např. kondenzované třísloviny zvané flavolany, nositelé trpké chuti.

Přírodní barviva, mezi která patří některé chinony, lignany, flavonoidy a jim příbuzné stilbeny, xanthony aj.

Je velmi obtížné s jistotou předpovědět interakce jednotlivých flavonoidů z různých zdrojů. Úroveň flavonoidů v konkrétní rostlině se může velmi mnoho lišit mezi jedinci, příbuznými druhy a extrakty, což je důležité brát v úvahu při sledování interakcí těchto látek (Tomko, 1999).

7.3.1 Metody extrakce a identifikace flavonoidů a antokyanů

Antokyaniny jsou extrahovány vodou, vodou obsahující SO₂, nebo kyselinotvornými alkoholy. Běžně používána je extrakce metanolem nebo etanolem obsahující malé množství minerální kyseliny (do 1 % HCl). Z extrahovaných flavonoidů jsou jednotlivé využívané sloučeniny izolovány chromatograficky a poté rekrystalizovány.

Koncentráty jsou získávány po vypaření organického rozpouštědla pod sníženým tlakem, za minimalizace vystavení kyslíku a vysokým teplotám. Koncentráty mohou být v prodejnách uskladněny při pokojové teplotě, zmrazené nebo zmrazeny za sucha, mohou být také ve formě suchého spreje (Madhavi, 1996).

7.3.2 Flavonoidy

Jsou to sekundární metabolity syntetizované rostlinami (Tomko, 1999).

Aglykony flavonoidů obsahující asymetrický uhlík. Aglykony jsou částečně rozpustné nebo nerozpustné ve vodě, zcela rozpustné jsou v organických rozpouštědlech, jako je metanol, chloroform, atd.

Glykosidy flavonoidů jsou zcela rozpustné v silných polárních rozpouštědlech, jako jsou voda, metanol, atd. a částečně rozpustné nebo nerozpustné v organických rozpouštědlech jako benzen, chloroform,... Ve struktuře glykosidů jsou monosacharidy a oligosacharidy. Většina flavonoidů obsahuje fenolovou hydroxy skupinu a tím vykazuje kyselost, mohou se rozpouštět v alkalických roztocích (NaCO₃) a alkalických organických rozpouštědlech (pyridin, formylamine). Aktivita glykosidů má větší potenciál než aktivita aglykonů (Xu et al., 2012).

Biosyntéza flavonoidů

Všechny flavonoidy se derivují z prekurzoru chalkonu, produktu kondenzace 4-cumaroyl CoA a tří molekul malonyl-CoA působením enzymu chalkon syntázy. Chalkon je isomerisován na flavanon enzymem chalcone flavanon isomerasa (CHI). Z těchto hlavních mezičlánků, se metabolická dráha rozděluje do několika větví, každá z nich ústí v jinou třídu flavonoidů (TOMKO, 1999). Jsou možné i jejich další modifikace v konkrétních rostlinných druzích (SALTER, 2012). Biosyntetická dráha flavonoidů reaguje na environmentální a vývojové faktory úpravou množství a vlastností generovaných sloučenin. Po syntéze v cytosolu, jsou flavonoidy akumulovány ve vakuolách a buněčných stěnách. MATE (multidrug and toxin extrusion) transportér a glutathion transportér byly identifikovány jako mechanismy transportu do vakuol,

zatímco transport do buněčných stěn je přes endoplasmatické retikulum. Z tohoto mínění vyplývá, že různé druhy rostlin užívají rozdílné mechanismy k distribuci flavonoidů v rámci buněk, nebo že některé druhy rostlin používají více než jeden mechanismus. Jednotlivé flavonoidy se od sebe liší počtem a polohou hydroxylových a methylových skupin (Tomko, 1999).

Obsah flavonoidů v měsíčku:

Flavonoidy vyskytující se v měsíčku se řadí mezi podskupinu Flavonoly. To jsou například quercetin, kaempferol, dále myricetin, isorhamnetin (Williamson, 2009), v metanolovém extraktu byly také zjištěny polární látky, jako jsou fenolické kyseliny a glykosidy flavonoidů, např. rutin, narcissin, 3-glucosid isorhamnetin, isokvercitrin (Matysik et al., 2005) in (Alnuqaydan, Lenehan, Hughes, Sanderson et al., 2015). Rutin (sophorin), neboli kvercetin-3-rutinosid, je běžný glykosid kvercetin (Williamson, 2009).

Obsah flavonoidů v měsíčku je u jazykovitých květů do 0,9 %, v květním lůžku do 0,3 %, nejvíce jsou zastoupeny izorhamnetinové a kvercetinové glykosidy a kaempferol. (Plačková et al., 2011) Kaempferol a kvercetin jsou nejběžnější flavonoly (Xu et al., 2012).

Metabolismus flavonoidů v organismu:

Biodostupnost flavonoidů je relativně nízká kvůli omezenému absorbování a jejich rychlé degradaci, jsou rychle a ve velké míře metabolizovány a eliminovány (Williamson, 2009) et (Madhavi, 1996). Také podléhají značné mikrobiální degradaci za vytvoření neúčinných derivátů v tlustém střevě (Madhavi, 1996). Estery flavonoidů, jejich glykosidy nebo polymery vyžadují hydrolyzaci na volné aglykony před samotnou absorpcí, což se děje prostřednictvím intestinálních enzymů (jako je beta-glukosidáza) a tračnickových bakterií. Během absorpce je aglykon spojený sulfitací, glukuronidací nebo metylací. Tyto sloučeniny jsou poté vyměšovány zpět do střeva a nakonec jsou vyměšovány v moči a žluči, a mohou podstoupit jaterní recyklaci (Williamson, 2009).

Význam flavonoidů

Jako přirozené pigmenty potravin mají největší význam flavony a flavonoly, tzv. bioflavonoidy, tedy flavonoidy s biologickými účinky. Obvykle ve formě O-glykosidů, ve kterých je přítomna D-glukosa, L-rhamnosa, D-galaktosa, L-arabiosa, D-xylosa, D-apiosa nebo D-glukuronová kyselina. Většina flavonoidů se v dále neupravených potravinách účastní reakcí enzymového hnědnutí. Kovové komplexy flavonoidů někdy způsobují v potravinách nežádoucí diskoloraci (Madhavi, 1996).

Studie ukazují, že vysoký příjem na flavonoidy bohaté potraviny je spojen se snížením rizik srdečně cévních nemocí a to snižováním adheze cévních buněk, ale ne všechny flavonoidy vykazují tyto účinky. Další studie ukazují snížení rizika vzniku některých rakovinových

onemocnění. Neobjevili se však žádné studie, které by ukazovaly, zdali izolované flavonoidy naplňují podobné fytotherapeutické vlastnosti jako rostliny obsahující velké spektrum flavonoidů (Williamson, 2009). Optimální denní přísun bioflavonoidů je přibližně 1 g/den (Madhavi, 1996).

Účinky v organismu člověka:

U flavonoidů bylo identifikováno mnoho dalších pozitivních vlastností, jedním z nejvíce uváděných je jejich antioxidační aktivita. Další významné funkce jsou, vyvazování iontů kovů chaláty do heterocyklického kruhu (dále chelatizace), stimulace detoxikačních enzymů, zpomalení rozšiřování a projevů apoptosy (proces geneticky naprogramované smrti buněk prostřednictvím degradačních enzymů), omezení zánětů a zvyšování aktivity endotelialní nitrik oxid syntázy (eNOS) (Williamson, 2009).

Flavonoidy také zpomalují autooxidaci, která vede ke snížení obsahu kyseliny askorbové. Vytváří komplexní sloučeniny s minerálními látkami, zejména kovy. Reakce s kovovými ionty souvisí s antioxidační aktivitou fenolů. Z flavonoidních látek vykazují vysokou antioxidační aktivitu sloučeniny se dvěma hydroxyskupinami v polohách C-3' a C-4'. Flavonoly tvoří komplexy s Cu^{2+} , které patří k nejrozšířenějším žlutým pigmentům rostlin a velmi účinným přirozeným antioxidantům (TOMKO; 1999). V současnosti není důvod vyhýbat se flavonoidů ve stravě, nebo ve formě rostlinných léčiv, mnohé totiž obsahují významné množství přírodních flavonoidů. Nicméně velmi vysoké dávky mohou potenciálně pozměnit metabolismus dalších léčiv, jenž jsou substráty pro CYP3A4 (cytochrom P450 isoenzym) a P-glycoprotein (permeability glykoprotein, také znám jako 'multidrug resistance protein 1') a zvyšují biodostupnost některých léčiv (Williamson, 2009).

Terapeutické využití flavonoidů se zakládá na schopnostech normalizovat permeabilitu kapilár, odstraňovat jejich lámavost, působit antihemorhagicky a antiedematózně. Jsou inhibitory hyaluronidázy, brání rozšiřování mikrobiálních toxinů ve tkáních, a proto jsou podpůrnými prostředky při léčbě infekcí. Některé působí diureticky, rozšiřují cévy a tím snižují krevní tlak. S ionty Ca^{2+} tvoří komplexní soli, čímž brání srážení krve. Zadržují v organismu vápník, zvyšují účinek vitamínu C. Užívají se i v izolovaném stavu – rutin, nebo hesperidin, častěji však jako rostlinné drogy nebo jejich extrakty.

Rutin, neboli 3-ramnoglukosid-5-7-3'-4', - tetrahydroxyflavonolu, se používá k léčbě hemoragie (krvácivosti), hypertenze, alergií a jako adjuvans (zesiluje imunitní reakci) při infekčních chorobách (TOMKO, 1999). Kardiovaskulární aktivitu vykazují zejména flavonoidy rutin a kvercetin, obsažené v měsíčku. Tyto vykazují ochranné účinky proti poškození způsobeným hypoxickou ischemií mozku. Kvercetin a kaemferol představují flavonoidy měsíčku, které mají také antivirové účinky. Rutin má značně inhibiční účinek na artritidu, také vykazuje pozitivní analgetické účinky (XU, 2012). V měsíčku se také nachází fenolové kyseliny a to zejména kyselina salicylová, která se může uplatnit při ošetření svědivých kožních vyrážek, u kožních

defektů spočívajících v rohovatění kůže a může také podpořit protiplísňové účinky (Jaroš, 1992).

7.3.3 Antokyany

Jsou nejdůležitější barviva z flavonoidů (Tomko, 1999).

Z technologického hlediska je nejdůležitější vlastností antokyanů barva a její stabilita, ale ta bývá zpravidla poměrně nízká. Hlavními faktory ovlivňující barvu a stabilitu antokyanů jsou:

Struktura molekuly

V kyselém prostředí je barva neacylovaných a také monoacylovaných antokyanů závislá hlavně na počtu a druhu substituentů aglykonu (antokyanidinu). Ty s větším počtem hydroxylových skupin mají spíše modrý odstín, deriváty s metoxyskupinami spíše červený odstín, glykosidy a jejich acylderiváty mají modré zbarvení (Tomko, 1999).

Přítomnost některých enzymů

Tyto vlastnosti jsou ovlivněny enzymovými reakcemi katalyzovanými 2 skupinami enzymů. Glukosidázami, které hydrolyzují glykosidové vazby antokyanů za vzniku příslušného cukru a aglykonu, jenž je nestabilní a samovolně se transformuje na bezbarvé deriváty. A polyfenoloxidasami, které se uplatňují v reakcích enzymového hnědnutí (Tomko, 1999).

pH prostředí

Antokyany existují jako červeně zbarvené flavyoliové soli při pH 1,0 a nižší. Při zvyšování pH se rovnováha posunuje ve prospěch bezbarvé karbinolové pseudobáze a červená barva slábne. Asi při pH 4,0 – 4,5 dojde k úplnému odbarvení. Zvyšováním pH vzniká opět purpurově červené zbarvení, které je vyvoláno tvorbou neutrální chinoidní báze. Při pH 7,5 – 8 se tvoří její modře zbarvený anion. Po delší době nebo při dalším růstu hodnoty pH se intenzita modrého zbarvení snižuje a postupně se tvoří žlutě zbarvený chalkon (Tomko, 1999).

Teplota

V přítomnosti kyslíku byla pozorována maximální stabilita 3-glykosidů antokyanidinů při vyšších teplotách v oblasti pH 1,8 – 2,0 a 3, 5 - diglykosidů antokyanidinů při pH 4,0 - 5,0. Většina antokyanů vykazuje paradoxně vyšší stabilitu při zvýšených teplotách používaných při zpracování ovoce a zeleniny (Tomko, 1999).

Vliv kyslíku a peroxidů

Vzdušný kyslík oxiduje antokyany na nebarevné či hnědě zbarvené produkty přímo nebo prostřednictvím jiných labilních sloučenin, které se oxidují kyslíkem přednostně (kyselina

askorbová). Destrukce antokyanů vyvolaná askorbovou kyselinou probíhá nepřímo působením peroxidu vodíku, který vzniká její oxidací. (Tomko, 1999)

Vliv záření

Antokyaniny jsou nestabilní, jsou-li vystaveny působení viditelného, UV nebo ionizujícího záření. Rozklad probíhá hlavně v rámci fotooxidace (Tomko, 1999).

7.4 Saponiny

Saponiny jsou glykosidy isoprenoidního původu, které ve vodných roztocích při protřepávání silně pění. Pro tuto podobnost s mýdlem dostali jméno z latinského *sapo* = mýdlo (Tomko, 1999).

Rozdělení:

Z chemické stránky se saponiny jako všechny glykosidy skládají z lipofilního aglykonu (sapogeninu) a hydrofilní sacharidové (glykosidické) složky. Podle struktury aglykonu sapogeninu se dělí na steroidní a triterpenoidní.

Podle funkční skupiny a reakce se rozlišují saponiny neutrální, kyselé a bazické. Kyselý charakter podmiňuje karboxylová skupina aglykonu anebo sacharidová složka. Kyselé saponiny jsou především triterpenoidní, bazické saponiny jsou některé steroidní, obsahují v molekule dusík a patří ke steroidním alkaloidům.

Na sapogenin se glykosidicky nebo ve formě esterů navazuje až 12 monosacharidů anebo uronových kyselin. Oligosacharidová složka saponinů skoro vždy tvoří běžné cukry. Saponiny s dvěma cukernými řetězci se označují jako bidezmozidy, s jedním jako monodezmozidy. Řetězce mohou být rozvětvené, přičemž pentózy se váží až na konec řetězce (Tomko, 1999).

Význam:

Saponiny jsou biologicky aktivní složky a většina z nich jsou přírodní surfaktanty (látky respiračního metabolismu) s lipofilními vlastnostmi aglykonů a hydrofilními projevy jejich cukerných složek. Mohou vykazovat trvalý pěnový efekt po oscilaci teplot. Rostlinné extrakty bohaté na saponiny byly užívány k vytváření emulsifikátorů a pracích prostředků (Xu et al., 2012).

Používají se ve farmaceutických technologiích, v potravinářství, kosmetice a pro emulgační schopnosti se používali jako prací prostředky. Pěnovost je podmíněna jejich schopností snižovat povrchové napětí v heterogenních systémech, například mezi plynem a tekutinou. Mezi dvěma tekutými fázemi působí jako emulgátory a mezi tuhou a tekutou fází jsou dispergujícím činidlem (Tomko, 1999).

Obsah v měsíčku:

Calendula officinalis obsahuje více než 10 % saponinů, které jsou zastoupeny především bisdesmodickými a monodesmodickými saponiny (Wyk, 2004).

Fytoterapeutické vlastnosti:

Většina saponinových drog se terapeuticky používá jako expektorans. Povrchová aktivita saponinů podporuje ztekutění hlenů a sekretů a lokálním drážděním sliznice žaludku se reflektoricky zvyšuje sekrece bronchů (průdušek) (Tomko, 1999).

Pro obsah saponinů a slizů mohou květy měsíčku mít jak účinek mírně projímavý a, vzhledem k současné přítomnosti silice, tak i spasmolytický (Jaroš, 1992). V malém množství slabě dráždí chuťové sliznice zažívacího traktu, působí také močopudně (Prugar, 2008).

Saponiny hrají různé role ve fyziologických funkcích lidského organismu. Ve výzkumu vykazovaly saponiny proti rakovinové, imunomodulační, protizánětlivé, kardiovaskulární, antihepatotoxické a cholesterol snižující účinky (Rao, Yu) in (Xu et al., 2012). Kromě toho mají hemolyzující účinky.

Z hlediska obsahu saponinů v měsíčkové droze jsou dále důležité pro vnější použití kvůli jejich proti plísňovým účinkům. Mechanismus proti plísňového účinku představuje komplex utvářený mezi saponiny a steroly ve dvouvrstvé membráně, který ničí permeabilitu buněčné membrány.

Raná fáze zánětu se často projevuje zvýšením cévní propustnosti, uvolněním histaminu, krevních aminů, atd. Některé saponiny mají anti-edematózní a anti-exudační účinky, které jsou základem protizánětlivého působení měsíčku (Xu et al., 2012).

Toxikologické vlastnosti:

Mají také potenciál k ničení buněčných membrán a vykazují hemolytické a cytotoxické vlastnosti (XU, 2012). Hemolyzující účinky vysokých koncentrací saponinů znemožňují jejich parenterální, tedy jinou než perorální, aplikaci. Mají totiž z pravidla zvýšenou lokální dráždivost, vyvolávají slzení, oční zarudnutí a dráždí ke kašli. Některé se v trávicím traktu vstřebávají, tím se dostávají do krevního oběhu a působí jako hemolyzující jedy (Tomko, 1999).

Metody extrakce saponinů:

Saponiny se z rostlinného materiálu většinou extrahují vodou nebo zředěným etanolem a ze zahuštěných výluhů se vysráží méně polárními rozpouštědly, např. éterem. Je možné využít i jejich schopnost vázat se na cholesterol. Na charakteristických vlastnostech saponinů se zakládá i jejich hodnocení v saponinových drogách (Tomko, 1999).

Metody zjišťování saponinů:

Provádí se měřením povrchového napětí vodných výluhů drog, stanovením čísla pěnovosti, nejčastěji však stanovením hemolytické účinnosti, což je oficiální metodika lékopisů. Hemolytická účinnost se udává v hemolytických jednotkách (h. j.). Nesouvisí s procentuálním množstvím saponinů v droze a s terapeutickým účinkem, ale pouze vyjadřuje relativní obsah saponinů v porovnání s určitým konvenčním standardem (Tomko, 1999).

7.4.1 Kalendulozidy

Kalendulozidy jsou sekundární metabolity obsažené v měsíčku a řadí se mezi saponiny. Obsah těchto látek v *Calendula officinalis* je 4 – 5 %, jsou to hemolyticky působící deriváty kyseliny oleanolové (Göra et al., 1980) in (Plačková et al., 2011). Tato kyselina je jediná látka z měsíčku, která se používá ve farmaceutickém průmyslu (Xu et al., 2012). Tato složka redukuje hladinu aminotransferáz a je používána ke klinickému léčení akutní hepatitidy (Xu et al., 2012) et (Williamson, 2009). Tato kyselina je metabolizována v játrech hydroxylací, ale přesné určení metabolických dějů nebylo zjištěno (Williamson, 2009).

7.5 Další obsahové látky

7.5.1 Hořčiny

Hořčiny zvyšují vylučování žluče a její tok do střeva. Měsíčku lze proto použít zejména u poruch trávení tuků doprovázejících onemocnění žlučníku a žlučových cest (Jaroš, 1992).

Mezi hořčiny v měsíčku patří seskviterpenový lakton kalendin. Jedna metylová skupina bočního izopropylového řetězce (typu kadinanového,...) se zoxiduje na karboxyl, další oxidací vzniklá hydroxylová skupina zreaguje s karboxylem a utvoří se laktonový kruh (Tomko, 1999).

7.5.2 Kumariny

Přírodní kumariny mohou existovat jako aglykony nebo jako glykosidy (Xu et al., 2012) V měsíčkové droze byl zjištěn také kumarin skopoletin.

Kumariny působí tlumivě na CNS a snižují tělesnou teplotu. Některé působí také spasmolyticky a furanokumariny senzibilizují pokožku na sluneční záření, a proto se používají na léčbu vitiliga (ztráta pigmentů v kožních buňkách). Používání kumarinů v potravinářství pro jejich toxicitu je ve většině států zakázané (Tomko, 1999).

7.5.3 Oleje

V nažkách jednotlivých odrůd je zastoupeno různé množství olejů a to v rozmezí 13 – 21 % (Silva et al., 2007) in (Plačková et al., 2011).

Mezi méně významné látky zjištěné v měsíčku patří dále, slizovité látky (Small, 1997) in (Plačková et al., 2011) a kyselina L-askorbová (vitamín C) (Čekman, 2003) in (Plačková et al., 2011).

7.6 Antioxidanty x Volné radikály

Účinky v lidském organismu:

Volné radikály jsou látky nebo molekuly s jedním nepárovým elektronem. Antioxidanty jsou látky různého charakteru, které na sebe váží volné radikály prostřednictvím jejich volného elektronu do elektronového páru.

Volné radikály vznikají v lidském organismu při mnoha metabolických procesech, tyto radikály mají značné destruktivní intracelulární dopady. Proti těmto radikálům nám mimo jiné poskytují značnou ochranu látky nejrůznější povahy zvané antioxidanty, které jsou zastoupeny v květech měsíčku.

K ochraně vůči poškození volnými radikály, má lidský organismus vyvinutý tříúrovňový obranný mechanismus. Hlavní ochranou je preventivní tvorba reaktivních forem částečně zredukovaného kyslíku.

Druhá linie ochrany je zajišťována enzymy, které katalyzují odpadní látky mezičlánků kyslíkové redukce. Vnitrobuněčné enzymy superoxidové dismutasy (SOD) a katalasy jsou extrémně důležité k mírnění oxidujících volných radikálů před jejich reakcí s důležitými buněčnými strukturami.

Enzymy glutathion peroxidasa a glutathion reductasa hrají v tomto ohledu také důležitou ochrannou roli. Kyslíkové radikály jsou eliminovány SOD, která dismutuje $2O_2^-$ na H_2O_2 a O_2 . Peroxid vodíku je poté redukován reakcí kataláz do vody. Odstranění kyslíkového radikálu a peroxidu vodíku zabraňuje vzniku HO° radikálů. Toto je mimořádně důležité, protože enzymatická eliminace HO° je nemožná kvůli jeho extrémní reaktivitě.

Nakonec, tyto dvě úrovně enzymatické ochrany jsou rozšířeny o třetí úroveň biochemické ochrany, která zahrnuje vitamin E (tokoferoly), vitamin C (kyselina askorbová), flavonoidy a další přirozené nebo syntetické látky s antioxidační aktivitou. Jejich individuální vlastnosti nemohou být posuzovány samostatně. Antioxidanty jsou členy poměrně velké a aktivně interagující skupiny chemických sloučenin. Například, aktivita α -tokoferolu v lidském organismu je obnovována kyselinou askorbovou.

Antioxidanty mohou působit na různých úrovních oxidačního řetězce, jako jsou.

Snížení lokální koncentrace kyslíku. Především iniciace volných radikálů, jako je třeba HO° . Vázání iontů kovu (cheláty) do sloučenin, které nebudou generovat tak reaktivní látky jako HO° ,

Fe^{2+} , Fe^{3+} , O_2° a nebudou rozkládat peroxidy lipidů na peroxidové a alkoxylové radikály (Madhavi, 1996). Vázání kovů cheláty je určeno jako jeden z antioxidačních mechanismů, redukuje koncentraci katalyzujících změn kovů v peroxidaci lipidů. Cheláty, které tvoří sloučeniny s kovy, jsou efektivní sekundární antioxidanty, protože snižují redoxní potenciál stabilizací oxidačních forem iontů kovů. Etanolové extrakty produktů sušených za studena mají vyšší chelatizační aktivitu, než další způsoby extrakce (Mao, Pan, Que, Fang et al., 2005). Díle působí rozkládáním peroxidů na bezradikálové produkty, jako jsou alkoholy. Štěpení řetězce, tedy odstraňování mezičlánků radikálů jako jsou peroxi a alkoxy radikály k zabránění trvalé vodíkové abstrakce. Štěpícími antioxidanty jsou často fenoly nebo aromatické aminy (Madhavi, 1996).

Antioxidanty působící prvními třemi mechanismy jsou často známy jako preventivní antioxidanty. Tato působení, nejsou obvykle užívány během průběhu radikálové reakce. Antioxidanty čtvrtého typu jsou také preventivními antioxidanty. Avšak, v závislosti na jejich chemické reaktivnosti, mohou nebo nemusí být užívány v průběhu reakcí volných radikálů. (Madhavi, 1996)

Vliv metod extrakce na antioxidační aktivitu:

Etanolová extrakce vykazuje vyšší antioxidační aktivitu a více fenolů než extrakce vodou. Na druhé straně, sušení studenou cestou má vyšší antioxidační aktivitu s vyšším zastoupením fenolů než horké sušení. Etanolová extrakce produktů sušených studenou cestou má tedy nejvyšší zastoupení fenolických látek a zároveň nejvyšší antioxidační aktivitu, měla by tudíž být prioritní volbou ve zpracovatelském procesu (Mao, Pan, Que, Fang et al., 2005).

8 Faktory a postupy ovlivňující kvalitu drogy *Calendulae flos*

Stále více pozornosti ve výzkumu rostlin se soustřeďuje na zvyšování produkce biomasy a její vztah k množství sekundárních metabolitů. Tvorba těchto metabolitů závisí na endogenních a exogenních faktorech, které se rozdělují na genetickou variabilitu a specifičnost, morfoontogenetickou variabilitu a změny vlivem vnějšího prostředí (Šalamon, 2007a) in (Plačková, 2011). Startovacím signálem tvorby sekundárních metabolitů je stále produkce primárních metabolitů a od procesů tvorby a akumulace sekundárních produktů není možné oddělit tvorbu celkové biomasy (Mann, 1978) in (Plačková, 2011). Při analyzování biosyntetických drah sekundárních metabolitů je zřejmé, že vliv faktorů stanoviště na tyto speciální procesy je nepřímo realizovaný modifikací primárních procesů. Změny v kvalitativně-quantitativních charakteristikách jsou výsledkem enzymatické aktivity, množství prekursoru, formování sekundárního produktu, jeho výsledné akumulace anebo jeho rozkladu (Čupka, 1997) in (Plačková, 2011).

8.1 Vnitřní faktory

Vnitřní faktory jsou takové faktory, které nejsou závislé na podmínkách prostředí, ale vychází z genetické stavby rostliny, jejího šlechtění, či negeneticky vytvořené predispozice k růstu, či odolnosti, apod. Velká genetická variabilita v genotypech umožňuje selekci potenciálně využitelných genů pro další šlechtění, v rámci vhodných dekorativních znaků a rezistence především vůči mšici makové. Některé genotypy mohou být využitelné pro umělou hybridizaci. Jsou to zejména druhy *Calendula suffruticosa* Vahl, *Calendula tripterocarpa* Rupr., které by mohly sloužit k získání kultivarů s velkým počtem květů na rostlinu. Dále *Calendula officinalis* L. a jeho kultivar 'Plamen' k získání většího množství petalů, jazykovitých květů, které se využívají přednostně. Kultivary 'Bon Bon Mix', 'Prycosnovjenie', 'Gaicha Grill', 'Fiesta Hitana', 'Zelenoye Serdtse', 'Plamen' jsou významné kvůli rezistenci, nebo alespoň odolnosti, vůči napadení mšicemi, především mšicí makovou (Baciu, Mihalte, Sestras, et al., 2010).

8.2 Vnější faktory

Mezi tyto faktory patří okolnosti růstu především z pohledu podmínek klimatických, pěstebních, dále z pohledu rizika napadení patogeny, škůdci, používanou ochranou a zpracovatelských technologií. Pro rozvoj užití této rostliny je důležitý právě proces kultivace a vývoj nových technologií. Pro zavedení vyšší výnosové kapacity kultivarů mají významný vliv kultivační technologie. Ohledně obsahu polyfenolů a flavonů bylo pozorováno, že technologie má velký dopad na jejich kvantitu i kvalitu, takže za účelem dosažení nejlepších výsledků bychom měli vzít v úvahu skutečnost, že je nezbytné vylepšit právě kultivační technologie. Hodnota drogy z hlediska kvality i kvantity je dána zastoupením aktivním látek v květenství, jejichž terapeutická významnost se může snadno snížit kvůli těmto faktorům (Pop, Pirsan, Mateoc-Sirb et al., 2007).

8.2.1 Podmínky pěstování *Calendula officinalis*

Měsíček lékařský se v České republice pěstuje zpravidla na malých plochách nebo jako součást ekologického zemědělství v rámci heterogenity porostu. Rozvoj pěstování měsíčku a dalších druhů značně omezují ekonomické důvody (Prugar, 2008).

Pro odplevelení pozemku před setím je možné například překrýt půdu černou umělohmotnou folií, která se přímým slunečním světlem vyhřeje na více než 45°C a hubí semena plevelů, patogeny a škůdce v povrchové vrstvě půdy (Felklová, 2003).

Klimatické podmínky:

Strukturní změny na epidermis vyvolané vnějšími vlivy, především světlem, usměrňují např. počet siličných žlázek a tím i tvorbu silic. Při výzkumu na rostlinách pěstovaných především pro silice, byl zjištěn výrazný nárůst jejich obsahu, při vystavení rostlin suchu a větší světelné intenzitě. Pravděpodobně tyto podmínky, které způsobují uzavření průduchů a nedostatek kyslíku, mají za následek zvýšenou tvorbu terpenů (Vaněk, 2007). Biosyntetická dráha flavonoidů reaguje na environmentální a vývojové faktory úpravou množství a vlastností generovaných sloučenin (Tomko, 1999).

Sluneční záření:

Pouze při dostatečném osvětlení se vytváří chlorofyl a může probíhat fotosyntéza, při níž dochází k redukci CO₂ a transformaci sluneční energie do glycidů, které se mohou ukládat v zásobních orgánech, ale jsou také výchozí látkou pro tvorbu dalších složitých organických sloučenin (Vaněk, 2007).

Teplota:

Ovlivňuje veškeré biologické děje, např. enzymové reakce, transpiraci rostliny, příjem živin, atd. U rostlin zasahuje do dvou zásadních dějů a to jsou asimilace, pro kterou je optimum mezi 25 – 30 °C, a disimilace (Vaněk, 2007). Při optimálních teplotách je dosaženo optimální úrovně růstu a vývoje rostliny. To platí pouze v případě, že jsou splněny i ostatní podmínky potřebné pro optimální růst. Optimální teploty pro léčivé rostliny pěstované v ČR se pohybují v širších mezích okolo 25°C. Význam má spíše průměrná teplota, oproti teplotním výkyvům, v průběhu vegetace. S teplotou rovněž souvisí i kolísání obsahu účinných látek, a to jak v průběhu celé vegetace, tak i v rámci denní periody, což bereme v úvahu zejména při sběru úborů (Felklová, 2003).

Nadmořská výška:

Je také důležitým faktorem při výběru druhů k pěstování do určitých oblastí. Měsíčku nejvíce vyhovují nížiny a pahorkatiny. Z pokusů na čeledi *Lamiaceae* vyplývá, že nadmořská výška má velký vliv zejména na kvalitu silice. U měsíčku však podobné pokusy neproběhly (Felklová, 2003).

Agroekologické podmínky:

Optimální podmínky pro růst má měsíček lékařský na slunečných, teplých a před větrem chráněných plochách (Small, 1997) in (Plačková, 2011). Rostlina je náročná na vhodný poměr tepla, světla a vlhkosti (Warner a Erwin, 2005) in (Plačková et al., 2011). Vyrovnaný výnos dává měsíček na středně těžkých, hlinitých půdách, dostatečně zásobenými živinami. Nevhodné jsou půdy jílovité. I přes náročnost na půdní vláhu je měsíček citlivý na zamokřené, těžké, velmi přesušené, písčité, a též zastíněné plochy (Šoltysová, 1997) in (Plačková et al., 2011). Zvýšené nároky na vláhu jsou od vzcházení do květu (Plačková et al., 2011). Dobrá klíčivost rostlin je při teplotě 10 – 20 °C (Wang et al., 1993).

Na základě výzkumu, v rámci vztahu mezi produkcí biomasy a tvorbou sekundárních metabolitů bylo zjištěno, že tvorbu sekundárních produktů u měsíčku můžeme jednoduše zvýšit snahou o zvýšení její celkové biomasy. Pro sekundární metabolismus rostlin, jehož produkty jsou právě účinné látky, je významná spojitost s diferenciací a vývojem příslušných orgánů. Sekundární metabolické cesty anebo jejich části se uplatňují na určitém stupni diferenciaci takového orgánu. Rostliny, u kterých je drogou květ, tedy generativní část, mají významnou syntézu a akumulaci sekundárních metabolitů právě v generativní fázi (Plačková et al., 2011).

8.2.2 Spon a hustota výsadby

Polní experiment na vzdálenosti mezi řádky monokultury měsíčku byla různá: 0,3 m, 0,5 m, a 0,7 m. Byla provedena srovnání produkce biomasy všech tří variant a to na základě odebraných vzorků před vlastní sklizní (šestou sklizní). Největší produkce biomasy bylo dosaženo

v monokultuře se vzdáleností řádků 30 cm od sebe, z čehož lze usuzovat, že i v poměrně hustém porostu si rostliny navzájem nekonkurují (Plačková et al., 2007) in (Nitra, 2007).

Výsev 70 rostlin na m^2 vedl ke zvýšení výnosu sušených květenství o 155 kg/ha, na konečných 1102 kg/ha. Nejnižší výsledky v rámci výnosu sušené drogy byly dosaženy v hustotě 30 rostlin na m^2 a to 946 kg/ha. Nejlepší výsledky v obsahu účinných látek byly 0,293 % obsahu polyfenolů při hustotě 70 rostlin/ m^2 . Nejnižší hodnota byla při 30 r/ m^2 (0,275 %). Téměř stejný výsledek byl pozorován při 45 r/ m^2 (0,279 %). Z těchto poznatků můžeme vypozařovat, že hustota výsevu má značný vliv na výnos, ale také na zastoupení polyfenolů (Pop, Pirsan, Mateoc-Sirb et al., 2007).

Před pozdními termíny sklizní již kvůli opakovaným poruchám a nepříznivému podzimnímu počasí, porosty měsíčku často vykazují vysokou individualitu rostlin v míře úmrtnosti. Proto se v populacích měsíčku provádí kontrolní a kompenzační postupy jako jsou zahuřování, odhuřování porostu a stratifikace, čímž se přibližujeme k využití maximálních ekologických možností prostředí. V rámci těchto postupů musí být vzato v úvahu mnoho vzájemných vztahů, jako je velikost rostliny, stáří kultury, produktivita, atd., za účelem optimalizace struktur a architektury porostu měsíčku pro dosažení nevyššího možného výnosu drogy (Plačková et al., 2007) in (Nitra, 2007).

8.2.3 Expozice porostu

Vhodná expozice pěstební plochy ke slunečnímu svitu příznivě ovlivňuje nasazování květních pupenů (Bernáth, 2004) in (Plačková et al., 2011). Měsíček patří mezi světlomilné rostliny, náročné na světlo v průběhu celého vegetačního období. Výzkum potvrdil, že na slunečních polohách mají květy měsíčku přirozeně vyšší obsah silice a ostatních účinných látek (Choi et al., 2006) in (Plačková et al., 2011).

8.2.4 Výživa

Hnojiva se do půdy aplikují v závislosti na agrochemickém rozboru půdy (Ložek, Fecenko, Borecký, 1995) in (Plačková et al., 2011). Měsíček není náročný na obsah živin v půdě, ale na méně úrodných půdách pozitivně reaguje na zapracování hnojiv do půdy před vysetím (Baričević, Zupančič, 2002) in (Plačková et al., 2011). Roste i v půdě chudé na výživné látky, ale na vypěstování větších a bohatších květů je třeba půdu přihnout dusíkatým, fosforečným a draselným hnojivem (Brabenec, Borik, 1990). V případě velkoplošného pěstování se osvědčilo zapracování draselných hnojiv při podzimní orbě v dávce $150 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, jakož i dusíkatých hnojiv v dávce $50 - 100 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ a fosforečných hnojiv v dávce $200 - 250 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, které se zapracují do půdy před setbou na jaře (Habán, 1996) in (Plačková, 2011). Doporučená norma dávek čistých živin na 100 m^2 je 3 – 5 kg dusíku, 4 – 5 kg fosforu a 4 – 8 kg draslíku (Al-Badawy, Abdalla, El-Sayed, 1995) in (Plačková et al., 2011). Z organických hnojiv se může použít na podzim kompost, přímé hnojení statkovým hnojem se nedoporučuje (Fedoreseenko, 2003) in (Plačková

et al., 2011). V podmínkách České republiky se měsíček lékařský může pěstovat ve všech pěstebních oblastech kromě horských poloh (Plačková et al., 2011).

Vliv výživy na výnos:

Je důležitým technologickým postupem. Dávka dusíku je velmi důležitá při zvyšování výnosu u měsíčku. Optimální dávka čistých živin byla $N = 60$, výsledný rozdíl byl 133 kg/ha sušené drogy v porovnání s nehnojenou variantou. Tato dávka dusíku má také důležitý přínos v produkci biomasy, který byl 861 kg/ha sušené drogy, ale také na zastoupení flavonů v rostlině. Ohledně vlivu hnojení můžeme pozorovat, že potřeby měsíčku na dusík jsou velmi vysoké a dokážeme zlepšit výnos, pokud budeme brát v úvahu tuto důležitou technologickou souvislost (Pop, Pirsan, Mateoc-Sirb et al., 2007)

Význam dusíku

Je s uhlíkem nejvýznamnější prvek v koloběhu živin v přírodě. Ionty dusíku přijatelné rostlinami jsou využívány ke tvorbě peptidů, tedy bílkovin, které jsou obsaženy zvláště v mladých orgánech, meristemických pletivech, enzymech, nukleoproteidech a dalších látkách, které se významně podílejí na růstu rostliny a tvorbě nejdůležitějších orgánů. Ke konci vegetace se tvoří větší množství zásobních bílkovin v semenech.

Poruchy v příjmu dusíku se projevují narušením metabolismu, omezením růstu, snížením výnosu a zhoršením kvality produktu (Vaněk, 2007).

Význam fosforu

Fosfor je nepostradatelnou živinou a podílí se na všech důležitých metabolických procesech. Rostlinou přijímané jsou především anionty $H_2PO_4^-$ a HPO_4^{2-} (Felklová, 2003). Přijatý minerální fosfor je rychle zabudován do organických sloučenin a takto transportován do míst jeho nejvyšší potřeby, což jsou mladé listy, vegetační vrcholy, později květy a semena. (Vaněk, 2007). Obsah fosforu se v sušině rostlin pohybuje od 0,1 do 0,5 % a jeho rozdělení je nerovnoměrné. V období květu a zrání plodů je jeho spotřeba rostlinami nejvyšší (Felklová, 2003).

Při dlouhotrvajícím výrazném nedostatku fosforu reagují rostliny projevem vnějších znaků (Vaněk, 2007), které se projevují především na celkovém habitu rostliny. Ty jsou slabé, listy vzpřímené s tmavě zeleným až antokyanového zbarvení, květní orgány jsou zakrnělé (Felklová, 2003).

Význam draslíku

Draslík mohou rostliny přijímat ve vyšších množstvích. Největší nároky mají rostliny poskytující hmotu vegetativního charakteru a rostliny s dlouhou vegetační dobou. Nároky na výživu

draslíkem postupně stoupají s jednotlivými vývojovými fázemi a gradují v generativním stádiu (Felklová, 2003).

Při dostatku draslíku v rostlinách je lepší vyzrávání pletiv a zlepšuje se anatomická stavba pletiv. Jsou silnější buněčné stěny, snižuje se nebezpečí napadení škůdci a je příznivě ovlivněno vybarvení květů (Vaněk, 2007).

Výrazný nedostatek draslíku se projevuje zasycháním starších listů od okraje čepele a později i nekrotizací listů (Vaněk, 2007).

8.2.5 Sběr drogy

Správně organizovaná sklizeň a posklizňová úprava rostlinného materiálu zabezpečuje požadovaný vzhled a kvalitu účinných látek v drogách (Felklová, 2003). Obecně se sklizeň léčivých rostlin provádí v době, kdy obsahují nejvíce účinných látek (Felklová, 2003). Sklizeň se provádí krátce po jejich rozkvětu. Úbory zástupců čeledi *Asteraceae* je vhodné sbírat před rozkvětem všech květů, protože se ještě krátce po sběru rozvíjejí (*Calendula officinalis*, *Chamomilla recutita*). Sbírají se buď celé úbory, nebo jen jazykovité květy během suchého počasí a materiál se suší rychle ve stínu, na slunečním záření způsobuje degradaci antokyanových barviv, což způsobuje ztrátu původní barvy (Tomko, 1999).

Měsíček lékařský sbíráme ručně v době kvetení od června do září v pravidelných intervalech (Stepanovic, 1998) in (Plačková, 2011). Sběr provádíme v dopoledních hodinách po odpaření rosy, nejlépe mezi 10. – 14. hodinou, vždy v době před plným květem. Z malých ploch sbíráme ručně pouze jazykovité květy (Duke, 2006) in (Plačková et al., 2011), které se trhají jen z rozkvetlých úborů postupně každý den (Small, 1997) in (Plačková et al., 2011). Tímto způsobem sběru získáme nejkvalitnější drogu (Foster, Duke, 2000) in (Plačková et al., 2011). Mohou se trhat i celé úbory se zákrovem a potom se po vysušení z nich jazykovité květy oddělí, avšak droga je horší kvality (Plačková et al., 2011). Možná je také mechanizovaná sklizeň, úbory se však poté musí odstopkovat a třídit speciálním zařízením (Felklová, 2003).

8.2.6 Posklizňové úpravy drogy *Calendulae flos*

Droga lehko přijímá vlhkost ze vzduchu, má slabý osobitý, kořeninovo aromatický pach a slabou hořkou a trochu slanou chuť (Tomko, 1999). Čerstvě sklizený materiál se nesmí hromadit ve vysokých vrstvách, protože má sklony k rychlému narušení a zahřívání, což vede k nekontrolovaným enzymatickým reakcím, hnědnutí, ke ztrátě chlorofylu, což vede k posklizňovým ztrátám obsahových látek (Felklová, 2003).

Čerstvé květy jsou těžce skladovatelné a po sklizni se rychle snižuje jejich kvalita. Petaly vykazují viditelné známky degradace již po 24 hodinách od plného rozkvětu. Sušené květy jsou stabilním produktem, který může být snadno zpracovaný a uskladněný po delší dobu a konvenčně použitý při výrobě potravin. Sušení za studena dává vysokou kvalitu produktu, ale je

to relativně drahý způsob úpravy. Poměrně levnější horkovzdušné sušení je běžně používáno v produkci potravin, ale dlouhodobé sušení obvykle má za následek zhoršení kvality produktu.

Sušení

Je jednou z nejdůležitějších operací, které se podílejí na kvalitě drogy. Kvalita se odvíjí od velkého množství faktorů a v neposlední řadě také na sušení. Je to v podstatě proces konzervování čerstvého rostlinného materiálu. V důsledku ztráty vody dochází k fyzikálním i fyzikálně chemickým změnám v buňkách sušené rostliny, což zastaví enzymatické procesy. Z enzymů, které takto působí, to jsou oxidázy a peroxidázy, které jsou příčinou oxidace fenolů, nenasycených mastných kyselin a terpenů. Déle trávající sušení, je za dostatečné vlhkosti prostředí provázeno činností mikroorganismů. Narušení sušených rostlin je ovlivněno také působením vzdušného kyslíku, světla, teploty a pH. Fermentativní změny v droze mají často za následek nežádoucí zbarvení drogy, u květních drog dochází ke žloutnutí a hnědnutí. S takto znatelnou změnou barvy probíhá paralelně i změna kvality drogy (Felklová, 2003).

Květy měsíčku sušíme na lískách ve vrstvě okolo 50 mm, v suché, tmavé a větrané místnosti (Habán, 2005) in (Plačková, 2011). Při sušení je třeba zajistit faktory, zabezpečující kvalitu drogy, zabezpečení teploty, pohyb sušícího prostředí, odvedení uvolňované vodní páry a správná výška vrstvy sušené drogy (Felklová, 2003). Při použití umělého tepla nesmí teplota v sušárně přesáhnout 40 °C. Známý je i postup rychlého sušení teplotou 60 – 70 °C, kdy se získá droga s výraznou barvou. Sesychací poměr úborů se zákrovem je 6 – 7:1, poměr jazykovitých květů 8 – 9:1. Úroda drogy se udává v množství přibližně 15 – 20 kg ze 100 m² (Habán, 2005) in (Plačková et al., 2011).

Lyofilizace

Je jedním ze způsobů uskladnění rostlinného materiálu, který obsahuje bioaktivní látky. Je to specifický proces, který se používá na odstranění vody z citlivých materiálů, zvláště biologického původu, při kterém nedochází k jeho poškození. Tímto způsobem se může uchovat po delší dobu bez speciálních požadavků na uskladnění a po opětovném zvýšení vlhkosti produktu je vhodný pro další použití. Vymrazování znamená přeměnu základního produktu abstrahováním tepla do stádia, které je vhodné pro sublimační sušení. Rychlost vymrazování, složení základního produktu, obsah vody, viskozita tekutiny a přítomnost nekystalických substancí jsou rozhodující faktory determinující velikost a tvar krystalů a ovlivňují následný proces sublimace. Vymrazování čisté vody probíhá při teplotě 0 °C. Přítomnost dalších substancí rozpuštěných ve vodě snižuje bod vymrazování. Přítomnost anorganických solí značně snižuje tento bod. Když je zmrazovaný slabý roztok, první ledové krystalky se odseparují, tím se zvýší koncentrace rozpuštěných složek ve zbytku roztoku, u kterého se následně snižuje bod vymrazování. Efekt vymrazování je z toho důvodu od produktu k produktu odlišný, což je potřebné zohledňovat při tvorbě metodiky lyofilizace pro konkrétní materiál. Dvě metody používané hlavně pro farmaceutické produkty jsou tyto. První metoda je

statická vymrazovací technika, kde univerzální vymrazovací sušič musí být schopný nastavit hodnotu zmrazování pro specifický produkt, a taktéž musí kontrolovat rychlost zmrazování. Finální teplota -50 °C musí být dostatečná pro splnění všech větších požadavků v mnoha případech. Druhá metoda se využívá jako zmrazovací technika pro větší objemy tekutých produktů. Na konec je podstatou finálního sušení, odstranit vlhkost v produktu tak, aby byl následně produkt stabilní a vhodný na uskladnění. Na dosažení takového stavu je často potřebné překonat kapilární síly molekul vody. Fáze sekundárního sušení musí být precizně kontrolována. Terminální fáze nastává po skončení lyofilizace, kdy je důležité zabezpečit zpracovaný materiál, aby znovu nenasál vlhkost. Nádoby by měli být zapečetěné pod vakuem nebo pod ochrannou atmosférou. Použitá metoda závisí na charakteru produktu. (Plačková et al., 2011)

8.2.7 Způsoby uchování drogy

Usušený materiál se rychle transportuje do sběren nebo k výrobci. Delší skladování se nedoporučuje. Při neodborném uchovávání drog dochází často ke snížení její kvality. Teplota uchovávání by neměla překročit 20 °C. Optimální skladovací teplota se pohybuje mezi 10 – 15 °C. Je nutné, aby byla teplota uchovávání konstantní, aby se zabránilo vysrážení vody. Také vliv světla působí negativně. Nesmí být také uloženy v blízkosti těkavých chemikálií. Květní drogy je nejvýhodnější uchovávat v pevných nádobách, které zamezí drobení drogy, která je citlivá na mechanické působení (Felklová, 2003).

8.3 Možnosti ochrany rostlin na základě EZ

Cílem ochrany rostlin v ekologickém zemědělství není vyhubení patogenů, ale jen jejich regulace. Vzhledem k využívání květů měsíčku nejsou povoleny žádné chemické prostředky ochrany. Z toho důvodu je význam ochrany podle zásad ekologického zemědělství pro pěstování léčivých rostlin ideální. Tuto ochranu rozdělujeme na nepřímou a přímou (Urban, 2003).

8.3.1 Nepřímé metody a postupy ochrany patří:

Biodiverzita

Živé organismy mají v přírodě přirozené nepřátele, proto je vedle dobrého stavu půdy a dalších podmínek velmi důležitá pestrost života v agroekosystému, která je základem pro schopnost těchto systémů vyrovnat se i s šířením chorob a škůdců (Urban, 2003).

Střídání plodin

Je opatření, které se proti dormantním a aktivním stádiím patogenů orientuje na vynechání hostitelských rostlin z pěstebního procesu, čímž přerušíme vývojový cyklus patogena. Dále se soustředí na narušování dormance patogenů, tak aby klíčily v nesprávnou dobu, a na pěstování

takových předplodin a následných plodin, jejichž kořenové výhonky vyprovokují dormantní stadia patogenů k činnosti (Urban, 2003).

Smíšené porosty

V těchto porostech dochází ke snižování výskytu chorob a škůdců z důvodu menšího množství hostitelských rostlin, podíl napadených rostlin se snižuje se sníženým výnosem a jednotlivé rostliny pěstované ve směsi jsou různě náchylné k napadení specifickými chorobami či škůdci.

Využití pozitivních dopadů smíšených porostů se opírá o alelopatické vztahy rostlin mezi sebou. Čím více se k sobě jednotlivé druhy rostlin hodí, tím více je kladně ovlivněna jejich kvalita a kvantita (Urban, 2003).

Podpora užitečných organismů

Je důležité vytvářet v porostu útočiště s dostatkem potravy pro tyto organismy, které jsou přirozenými regulátory škůdců. Dnes je již možnost i jejich umělého vysazení do agroekosystémů. Další živočichy, jako jsou např. dravci či hmyzožraví ptáci, lze podporovat opatřeními pro vytvoření hnízdišť apod (Urban, 2003).

8.3.2 Prostředků přímé ochrany

Biologická ochrana

Spočívá především v cíleném nasazování bioagens, jako jsou draví roztoči, parazitoidi a mikrobiální biopreparáty. Aplikace biologické ochrany vylučuje používání chemických postřiků k hubení škůdců či chorob, protože tím by došlo k vymícení potravy pro nasazené bioagens, případně k jejich přímému hubení.

Bioagens pro ochranu proti patogenům měsíčku jsou uvedeny u jednotlivých druhů škůdců a chorob (Urban, 2003).

Chemické, minerální a organické přípravky

Měďnaté preparáty jsou přípravky na bázi oxychloridu či hydroxidu mědi. Postřik se používá proti houbovým chorobám.

Horninové moučky jako je například mletý vápenec alkalizuje povrch rostlin a posiluje jejich odolnost.

Minerální oleje, například parafinový olej, účinkují fyzikálně na drobné škůdce, jako jsou puklice, štítenky, červci a třásněnky, udušením. Mají výrazný efekt v ochraně před viry, přenášenými vektory jako jsou mšice a další.

Draselné soli mastných kyselin mají insekticidní účinnost na molice, mšice, larvy ploštic atd.

Koloidní síra je účinná proti houbám ze skupiny padlí a proti některým původcům skvrnitostí.

Hydrogenuhličitan sodný má poměrně vysokou účinnost na některé houbové choroby.

Albumin, mléčný kasein, lecitin působí proti padlí (Urban, 2003).

Rostlinné výtažky a oleje

Přírodní pyrethrum je účinné proti širokému spektru škůdců, tato látka však není selektivní a tudíž postihuje i užitečné organismy.

Azadirachtin, výtažek ze semen tropické dřeviny *Azadirachta indica*, vykazuje vysokou insekticidní účinnost na skupiny především savého hmyzu.

Neemový olej je rostlinný olej s fungicidní účinností např. proti padlí.

Řepkový olej účinkuje především proti savým škůdcům, jako sviluškám, larvám molic, mšicím apod. Je možné jej také kombinovat s lecitinem, tento přípravek poté působí také proti padlí (URBAN, 2003).

Výluhy z bylin, jako jsou přesličky, kopřivy, břečťan aj. mají také potenciál v ochraně rostlin (Urban, 2003).

8.3.3 Houbové choroby

Sphaeroteca fuliginea

Padlí poškozuje zelené, nadzemní části rostlin, nejvíce listy. Napadené orgány postupně žloutnou, hnědnou a odumírají (Lust, 1974) in (Plačková et al., 2011).

Způsobuje až 30% ztráty na výnosu, ale i výrazné zhoršení kvality drogy (Šafránková, 2014). Ve vyspělém stádiu houby pokrývá listy a stonky bílé mycelium a značně poškozuje vývoj nových květenství. Kontaktní fungicidy jsou aplikovány spreji v intervalech 8 – 14 dnů. První aplikace se provádí, jakmile se objeví první náznaky choroby. Pro produkci květů měsíčku jsou používány zejména fungicidy na bázi síry (DROGEN REPORT, 1991).

Alternaria calendulaea

Tvoří na napadených listech, květech, poupatech a stoncích nepravidelné tmavé, později šedobílé skvrny (Šafránková, 2014).

Cercospora calendulae

Způsobuje nepravidelné tmavohnědé tečkovité skvrny na listech, které se mohou spojovat a velmi rychle rozšířit po celé rostlině (Šafránková, 2014).

Entyloma calendulae

Mezi méně známé choroby patří sněť, která tvoří na listech měsíčku nejprve drobné bělavé tečkovité skvrny, které se velmi rychle zvětšují na 5-10 mm, poté hnědnou, až černají a pletivo nekrotizuje. Objevuje se nejprve na nejstarších listech, napadeny ale mohou být již děložní lístky. Sněť se vyskytuje především za vlhkého počasí, napadení vrcholů převážně začátkem podzimu. Spory jsou přenášeny větrem a vodou, přezimuje v napadeném pletivu posklizňových zbytků a v půdě (Šafránková, 2014).

Ochrana vůči houbovým chorobám

Mezi přípustná ochranná opatření u léčivých rostlin patří střídání osevních ploch, snížení hustoty výsevu umožňující proudění vzduchu mezi rostlinami a tím rychlé osychání povrchu pletiv, přerušení pěstování minimálně na 2-3 roky. Při prvních příznacích je nutné omezení závlivky a odstranění napadených rostlin za účelem zabránění šíření patogenu. Použití fungicidů není na odrůdy pro lékařské využití povoleno (Šafránková, 2014).

Na ochranu proti houbovým chorobám je možné nasadit bakterii *Bacillus subtilis*, která produkuje enzymy mající baktericidní a fungicidní účinky. Aplikuje se postřikem. Perspektivnější využití pro měsíček má však *Trichoderma harzianum*, nasazují se spory hyperparazitické houby parazitující na myceliu patogenních hub. Používá se na moření, či inkrustaci osiva nebo k zapracování do substrátu (Urban, 2003).

8.3.4 Virózy

Z viróz se může vyskytnout skvrnitost listů, kterou způsobuje virus mozaiky okurky, přenašečem jsou mšice. Listy rostliny jsou pestře skvrnité, někdy s chlorotickými okrouhlými skvrnami (DeTommasi et al, 1991) in (Plačková et al., 2011). Často se na nich objevují nekrózy, anebo jsou listy i květy deformované. Onemocnění značně snižuje výnos a množství účinných látek. Preventivním ochranným opatřením je dodržení osevního postupu, nepřehustěný a nezaplevelený porost (Kinkorová, 1997) in (Plačková et al., 2011)

8.3.5 Škůdci

V letních měsících, v letech 2006 a 2007, byl v porostech měsíčku lékařského zjišťovaný výskyt škůdců. Jednotlivé sběry škůdců na měsíčku probíhaly v lokalitě Kolířany. Jednotlivé druhy hmyzu vyskytující se na rostlinách byli zjišťované po sběru smýkáním pomocí smýkadla o průměru 50 cm. Smýkání probíhalo ve třech opakováních a v jednom opakování bylo provedeno 50 smyků. Odebraný hmyz byl následně usmrcen a determinován.

Nejpočetnějším zjištěným druhem v porostu měsíčku lékařského byl pidikřísek polní (*Eupterix atropunctata*). Na měsíčku byl zaznamenán i výskyt klopušky chlupaté (*Lygus rugulipennis*), dřepčíku zelného (*Phyllotreta nemorum*), mouchy vrtule (*Trypanea stellata*), klopušky

bramborové (*Lygus pabulinus*) a bodrušky obilné (*Cephus pigmaeus*). Zjištěné druhy škodí sáním rostlinné šťávy a poškozují rostlinná pletiva. Poškozené bývají hlavně mladé listy a vegetační vrcholy. Při silném výskytu škůdců dochází k deformacím listů, květenství a celkovému vadnutí rostlin. Nepřímá škodlivost savého hmyzu spočívá v přenosu velkého množství virových chorob (Bokor, Šimanská, 2007).

vrtalka zahradní (*Phytomyza atricornis*)

Je to drobná, asi 2 mm dlouhá muška z čeledi *Agromyzidae*. (Velgosová, Velgos, 1988) in (Plačková et al.; 2011) Je kosmopolitní, polyfágní druh, který poškozuje listy plodin čeledi *Fabaceae*, petržele, brambor a léčivých rostlin. in (Studzinski, 1987) Dospělé mušky se objevují v květnu a oplodněné samičky kladou vajíčka do listových pletiv různých rostlin (Small, 1997) in (Plačková, 2011) V čepeli listů tvoří dlouhé chodbičky, ve kterých se nachází larvy škůdců, anebo v její koncové části její nepravý zámotek (Studzinski, 1987). Vylíhnuté larvy v měsíčku vyžírají otvory s průměrem až 5 cm (Small, 1997) in (Plačková et al., 2011). Dospělý hmyz se objevuje od měsíce dubna. Pokožka nad chodbičkami odumírá. Silně napadené rostliny reagují snížením výnosu v důsledku zmenšení fotosynteticky aktivní plochy. U tohoto škůdce je přezimujícím stadiem kukla. V době vegetace dospělci následujících generací létají od srpna. Škůdce má za rok dvě i více generací (Studzinski, 1987).

Na ochranu proti larvám vrtalek je možné nasadit parazitoidy druhu *Dacnusa sibirica* a *Diglyphus isae* (Urban, 2003).

mšice maková (*Aphis fabae*)

Škodí měsíčku sáním na mladých listech a na stonku pod úbory. Při silném výskytu mohou rostliny vadnout a úbory se deformovat (Small, 1997) in (Plačková, 2011) Rostliny slabě rostou a kvetou. Úroda na pozemku, který je hodně napadený, je tak malá, že není ekonomicky výhodné ji sklízet. Kromě toho semena nemají správný tvar a nejsou vhodná na setbu ani lisování oleje.

Dospělé bezkřídle formy jsou dlouhé okolo 2 mm, jsou matné, černé se zeleným anebo rezavým odstínem. Okřídlení jedinci jsou lesklí, černozelení nebo červeno bronzoví. Přezimují vajíčka, a to na větvích brslenu a kaliny. Na jaře je třeba keře hostitelských rostlin rostoucích blízko polí stříkat ještě před objevením okřídlených forem některým z povolených přípravků proti mšicím. Velký význam má i ničení plevelů, nejvíce merlíku, na kterém se mšice mohou rozmnožovat. (Studzinski, 1987).

K biologické ochraně proti mšicím je možné použít bioagens *Aphidius colemani*, *Aphidius aphidimyza*, *Hyppodamia convergens*. (Urban, 2003)

Eupterix atropunctata

Patří do čeledi *Cicadellidae* (křískovití), je to nejpočetnější skupina křísů. Jsou drobní, nevýrazně zbarvení (Studzinski, 1987). Na temeni jsou přítomna dvě jednoduchá očka. Dlouhé zadní končetiny mají mnoho pohyblivých trnitých set na holeních. Během roku vytvářejí 1 – 3 generace. Přezimují ve stadiu vajíčka. Škodí především přenosem rostlinných patogenů nebo sáním na okrasných rostlinách. Tento druh škodí hlavně na zemědělských plodinách, škodlivý vliv na porosty léčivých nebyl pozorován (Šefrová, 2006).

Lygus rugulipennis

Patří do čeledi *Miridae* (klopuškovití). Tělo je málo sklerotizované, protáhlé. Nohy jsou relativně dlouhé, 3. pár skákavý. Tykadla složená ze čtyř článků. Přezimují ve stadiu vajíčka. Na jaře migruje ze zimovišť na byliny. Během roku vytváří většinou jednu, méně často dvě generace. Tento preferuje mladá pletiva (Šefrová, 2006). Na poškozených místech rostlinné buňky odumírají, hnědnou a zasychají. Mladé listy dále rostou s výjimkou poškozených míst, v důsledku čehož se okraje listů ohýbají směrem nahoru a na listové čepeli vznikají větší anebo menší díry a pukliny. Tím dochází ke zmenšení asimilující plochy rostliny a snížení výnosu. Květní pupeny předčasně opadávají. Silně napadené rostliny nasazují málo plodů, což znamená, že je i menší výnos semen, které mají sníženou kvalitu. Přezimují v suchém listí. Brzy na jaře přechází na hostitelské rostliny a sají šťávu z mladých pletiv. Po skončení sání samičky kladou vajíčka na mnohé rostliny i plevele. Larvy se líhnou po 2-3 týdnech a žerou na rostlinách rostoucích poblíž. Dospělci se objevují v polovině července. Samičky kladou vajíčka v druhé polovině července a v srpnu. Ochrana spočívá především v ničení plevelných rostlin (Studzinski, 1987).

Phyllotreta nemorum

Patří do čeledi *Chrysomelidae* (mandelinkovití) a je zařazen do rodu *Phyllotreta*. Má podlouhlý tvar těla a neuspořádané tečky na krovkách, tento druh má také dva podélné žluté pruhy na krovkách (Šefrová, 2006). Škody způsobují nejvíce brouci, kteří v listech vyhrzávají malé okrouhlé otvory, poškozují i děložní lístky vzházejících rostlin. Silně poškozené kultury zaostávají v růstu, jsou náchylnější k dalšímu napadení a velmi často hynou. Brouci přezimují v suchém listí a v horní vrstvě půdy, na jaře opouštějí zimní skrýše. Ochrana spočívá v prevenci, ničení plevelných rostlin převážně z čeledi *Fabaceae* (Studzinski, 1987). Dále z mikrobiálních prostředků ochrany lze využít zejména bakterii *Bacillus thuringiensis tenebrionis*, která napadá larvy brouků (Urban, 2003).

Cephus pygmeus

Patří do čeledi *Cephidae* (bodruškovití). Tento druh je leskle černý se žlutou kresbou, dlouhými tykadly a krátkým pilovitým kladélkem. Škodí především na obilovinách, více napadá ozimy, protože jsou dostatečně vyrostlé v době, kdy začíná klást (Šefrová, 2006).

Ochrana:

V rámci ekologického pěstování na ochranu rostlin se proti škůdcům na měsíčku mohou používat standardizované extrakty z vybraných cévnatých rostlin přesličky rolní (*Equisetum arvense*), kopřivy dvojdomé (*Urtica dioica*) a česneku kuchyňského (*Allium sativum*) (Bokor, 2004) in (Plačková et al., 2011).

9 Závěr

Na základě shrnutých poznatků bylo zjištěno, že na množství a kvalitu obsahových látek má vliv celá řada faktorů. Během pěstování je pro jejich ovlivnění důležitá především hustota výsadby, přičemž můžeme pěstovat měsíček v relativně hustém sponu a to i 30 rostlin na m², který zajistí dostatečný výnos drogy. Na základě fyziologické potřeby živin je pro správný vývoj úborů dostatečný příjem živin, které jsou aplikovány ve správné formě. V porostech měsíčku se vyskytují též choroby a škůdci, jejichž vysoký výskyt se odráží hlavně na obsahu a kvalitě účinných látek, případně může způsobit i odumírání rostlin. Způsoby ochrany kultur jsou omezené na základě způsobu využití produktu, v tomto ohledu mají značný význam spíše metody ochrany ekologického než konvenčního zemědělství. Avšak, i pokud jsou naplněny všechny klimatické a pěstební podmínky, je zajištěna správná ochrana a pěstována správná výnosná odrůda, může dojít při posklizňových postupech, pokud jsou provedeny nesprávným způsobem, ke značné degradaci účinných látek. Mezi tyto procesy řadíme sběr úborů, který je třeba provádět ve správném termínu, sušení horkou nebo studenou cestou a následné skladování drogy.

10 Souhrn a Resume

Změny v kvalitě měsíčkové drogy

Na základě charakterizace používaných orgánů měsíčku byla zaměřena pozornost na způsoby ovlivnění obsahových látek v úborech, jejichž využití se zdaleka nevztahuje pouze na léčebné účinky. Každá skupina látek vykazuje rozdílné působení, přičemž v rostlinném materiálu působí komplex látek, z nichž jsou některé významnější než druhé. Tyto látky jsou značně náchylné ke každé patologické změně v rostlině nebo ve sklizené droze. Degradaci těchto látek se dá zabránit více způsoby, musí být však v souladu s příslušným právním předpisem. Tyto metody a postupy se aplikují na základě znalostí o ovlivňujících faktorech. Do vnitřních se řadí především odrůda, případně rezistence apod., mezi vnější patří vnější podmínky, výživa, či působení patogenů.

Klíčová slova

antioxidant, degradace, flavonoidy, ochrana, saponiny

Changes in quality of marigold drug

On the base of characterization using organs of mangold was attention focus on possibilities to influence substances in inflorescence, whose application is not relate just to terapeutic effects. Every group of substances has diferent curative properties, while in plant material affect complex of substances and some of them are more important than others. These are very sensitive to every pathological change in plant or in harvested drug. Degradation of these substancies is posible to prevent by, more ways, which have to be in harmony with law. These motheds and proceses are aplicated on the base of knowledges about influence factors. Varieties, rezistence etc., are include in internal factors. Between external factors belong fertilization, or patogens.

Key words

antioxidant, degradation, flavonoids, protection, saponins

11 Použitá literatura

1st International Scientific Conference on Medicinal, Aromatic and Spice Plants: Book of Scientific Papers and Abstracts. Nitra: Slovak University of Agriculture, 2007. ISBN 9788080699734

AGATONOVIC-KUSTRIN, S., D. BABAZADEH ORTAKAND, D.W. MORTON a A.P. YUSOF. Rapid evaluation and comparison of natural products and antioxidant activity in calendula, feverfew, and German chamomile extracts. *Journal of Chromatography A* [online]. 2015, č. 1385, 103 - 110 [cit. 2015-04-21]. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.01.067. Dostupné z: <http://www.scopus.com/record/display.url?eid=2-s2.0-84925130797&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=Calendula&sid=76550C13098A39D8D01DB1FAC5FCD2E2.I0QkgbljGqqLQ4Nw7dqZ4A%3a420&sot=b&sdt=b&sl=24&s=TITLE-ABS-KEY%28Calendula%29&relpos=8&relpos=8&citeCnt=0&searchTerm=TITLE-ABS-KEY%28Calendula%29#>

AKIHISA, T., K. YASUKAWA, H. OINUMA, Y. KASAHARA, S. YAMANOUCI, M. TAKIDO, K. KUMAKI a T. TAMURA. Triterpene alcohols from the flowers of Compositae and their anti-inflammatory effects. *Phytochemistry (United Kingdom)* [online]. 1996 [cit. 2015-04-21]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942296003433#>

Aktuální otázky pěstování léčivých, aromatických a kořeninových rostlin: odborný seminář s mezinárodní účastí: [sborník příspěvků]. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, [2014]-. ISSN 9788073759339.

ALNUQAYDAN, A.M., B.J. SANDERSON, C.E. LENEHAN a R.R. HUGHES. Extracts from *Calendula officinalis* offer in vitro protection against H₂O₂ induced oxidative stress cell killing of human skin cells. *Phytotherapy Research* [online]. 2015, roč. 29, č. 1, 120 - 124 [cit. 2015-04-21]. DOI: 10.1002/ptr.5236. Dostupné z: <http://www.scopus.com/record/display.url?eid=2-s2.0-84920936343&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=Calendula&sid=76550C13098A39D8D01DB1FAC5FCD2E2.I0QkgbljGqqLQ4Nw7dqZ4A%3a420&sot=b&sdt=b&sl=24&s=TITLE-ABS-KEY%28Calendula%29&relpos=6&relpos=6&citeCnt=0&searchTerm=TITLE-ABS-KEY%28Calendula%29#>

BACIU, A-D., L. MIHALTE, A. F. SESTRAS a R. E. SESTRAS. Variability of Decorative Traits, Response to the *Aphis fabae* Attack and RAPD Diversity in Different Genotypes of *Calendula*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Clu-Napoca* [online]. 2010, č. 38 [cit. 2015-05-03]. Dostupné z: <http://www.notulaebotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/5457/5107>

- BACIU, A.-D., D. PAMFIL, L. MIHALTE, A. F. SESTRAS a R. E. SESTRAS. Phenotypic variation and genetic diversity of *Calendula officinalis* (L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2013, č. 1.
- BĚLOHLÁVKOVÁ, Radmila. *Květena České republiky*. Vyd. 1. Editor Bohumil Slavík, Jitka Štěpánková. Ilustrace Anna Skoumalová-Hadačová, Eva Smrčinová. Praha: Academia, 2004, 767 s. ISBN 8020011617
- BOKOR, Peter a Adriana ŠIMANSKÁ. The occurrence of insects on marigold (*Calendula officinalis* L.). 1st International Scientific Conference on Medicinal, Aromatic and Spice Plants: Book of Scientific Papers and Abstracts. 2007, č. 1.
- Cantrell, C. L., Franzblau, S. G., & Fischer, N. H. (2001). Antimycobacterial plant terpenoids. *Planta Medica*, 67(8), 685-694. Retrieved from www.scopus.com
- Český lékopis 2009. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2009, 1176 s. ISBN 978-802-4729-947.
- DROGEN REPORT, Mitteilunge uber Arznei- und Gewurzpflanzen, Heft 5; 1991
- FELKLOVÁ, Melanie a Blanka KOCOURKOVÁ. Pěstování léčivých rostlin: (pro farmaceuty). Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2003, 100 s. ISBN 80-7305-458-2.
- FU, Maorun, Zhiping HE, Yuying ZHAO, Jing YANG a Linchun MAO. Antioxidant properties and involved compounds of daylily flowers in relation to maturity. *Food Chemistry* [online]. 2009, roč. 114, č. 4, s. 1192-1197 [cit. 2015-04-21]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.10.072. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608012934>
- JAROŠ, Zdeněk. *Léčivé látky z rostlin*. Vyd. 1. České Budějovice: Dona, 1992, 79 s. ISBN 80-85463-04-0
- JOHNNY'S. Selected Seeds: An employee-owned company. Winslow, 2011.
- KOMISE PRO LÉKOPIS VĚDECKÉ RADY MINISTERSTVA ZDRAVOTNICTVÍ ČESKÉ REPUBLIKY SE SPOLUPRACOVNÍKY. *Český farmaceutický kodex*. 1. vyd. Praha: X-EGEM, 1993.
- KOPEC, Karel a Josef BALÍK. Kvalitologie zahradnických produktů: nauka o hodnocení a řízení jakosti produktů a produkčních procesů. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2008, 171 s. ISBN 978-80-7375-198-2.
- Léčivé rostliny*. Bratislava: HERBA, spol. s.r.o., 2014, roč. 51, č. 5. ISSN 13359878.
- MADHAVI, D, S DESHPANDE a D SALUNKHE. *Food antioxidants: technological, toxicological, and health perspectives*. New York: Marcel Dekker, c1996, viii, 490 p. ISBN 082479351x-

MAO Lin- Chun, PAN Xin, QUE Fei, FANG Xue-Hua. Antioxidant properties of water and ethanol extracts from hot air-dried and freeze-dried daylily flowers. *European Food Research* [online]. 2006, roč. 222, 3/4, s. 236-241 [cit. 2015-04-21]. Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00217-005-0007-0>

NOVÁK, Jan a Milan SKALICKÝ. *Botanika: cytologie, histologie, organologie a systematika*. 2. doplněné vydání. Praha: Powerprint, 2009. ISBN 9788090401150

OKUMA, C.H., N.R. MACIEL, J.F. TOPAN, P.A. ROCHA-FILHO, T.A.M. ANDRADE, G.F. CAETANO, M.A.C. FRADE, L.I. FINCI, L.C. CEFALI, V.L.B. ISAAC, A.C.M. POLIZELLO, A.C.C. SPADARO, T. CARLO a A.P. ROGERIO. Development of lamellar gel phase emulsion containing marigold oil (*Calendula officinalis*) as a potential modern wound dressing. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2015, č. 71, 62 - 72 [cit. 2015-04-21]. DOI: 10.1016/j.ejps.2015.01.016. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098715000342#>

PLAČKOVÁ, Andrea a Ivan ŠALAMON. Row distances of Marigold (*Calendula officinalis* L.), monocultures and production of biomass. *1st International Scientific Conference on Medicinal, Aromatic and Spiece Plants: Book of Scientific Papers and Abstracts*. 2007, č. 1.

PLAČKOVÁ, Andrea a Ivan ŠALAMON. Tvorba biomasy v monodominantných porastoch nechtíka lekárskeho (*Calendula officinalis* L.) pri ich roznej denzite a kvantitatívne stanovenie vybraných sekundárnych metabolitov. 1. vyd. Prešov: GRAFOTLAČ PREŠOV, s.r.o., 2011. ISBN 9788089561025

POP, Georgeta, Paul PÍRSAN, Nicoleta MATEOC-SÍRB, Vladan D. MIRCOV a T. MATEOC. Influence of technological elements on yield quantity and quality in marigold (*Calendula officinalis* L.) cultivated in cultural conditions of Timisoara. *Book of Scientific Papers and Abstracts*. 2007, 1.

POPISY SORTIMENTU. 12. doplněné vydání. Smržice: -, 2012. SEMO. Dostupné z: <http://www.semo.cz>

PRUGAR, Jaroslav. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2008, 327 s., [13] s. barev. obr. příl. ISBN 9788086576282.

SALTER, Andrew M, Helen WISEMAN a G TUCKER. *Phytonutrients*. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2012, xviii, 294 p

STUDZINSKI, A., F. KAGAN a Z. SOSNA. *Atlas chorob a škodcov zeleniny*. Bratislava-Krasňany: Polygrafické závody, 1987.

ŠEFROVÁ, Hana. *Rostlinolékařská entomologie*. 1. vyd. Brno: Konvoj, 2006, 257 s. ISBN 80-7302-086-6

TOMKO, *Farmakognózia: učebnica pre farmaceutické fakulty*. 2., opr. vyd. Martin: Osveta, 1999, 422 s. ISBN 80-8063-014-3

URBAN, Jiří a Bořivoj ŠARAPATKA. *Ekologické zemědělství: učebnice pro školy i praxi*. 1. vyd. Praha: MŽP, 2003, 280 s. ISBN 80-7212-274-6.

VAN WYK, Ben-Erik a Michael WINK. *Medicinal plants of the world: an illustrated scientific guide to important medicinal plants and their uses*. 1st ed. Portland: Timber Press, 2004, 480 p. ISBN 0881926027.

VANĚK, Václav, BALÍK, Jiří, PAVLÍKOVÁ, Daniela, TLUSTOŠ, Pavel. *Výživa polních a zahradních plodin*. Praha: Profi Press, 2007, 167 s. ISBN 978-80-86726-25-0.

VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. 2. vyd. Tábor: OSSIS, 2002, 303 s. ISBN 8086659011

VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3*. 2. vyd. Tábor: OSSIS, 2002, 343 s. ISBN 808665902x

WILLIAMSON, Elizabeth M, Samuel DRIVER a Karen BAXTER. *Stockley's herbal medicines interactions: a guide to the interactions of herbal medicines, dietary supplements and nutraceuticals with conventional medicines*. [Chicago: Pharmaceutical Press, 2009, viii, 423 p. ISBN 0853698643

XU, Rensheng, Yang YE a Weimin ZHAO. *Introduction to natural products chemistry*. Boca Raton: CRC Press, 2012, xviii, 363 s. ISBN 978-1-4398-6076-2.