

## *Tribulus terrestris* L. - a review

### Kotvičník zemní - přehled

Jaroslav NEUMANN<sup>1</sup> (✉), KRISTÝNA Š. LÍBALOVÁ<sup>1</sup>, Petr KONVALINA<sup>1</sup>, Pavel SMETANA<sup>1</sup>, Petr VRÁBLÍK<sup>2</sup>, Miloslav ŠOCH<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture and Technology, University of South Bohemia in Ceske Budejovice, Branisovska 1645/31a, 370 05 České Budejovice, Czech Republic

<sup>2</sup> Faculty of Environment, Jan Evangelista Purkyně, University in Usti nad Labem, Pasteurova 3544/1, 400 96 Ústí nad Labem, Czech Republic

✉ Corresponding author: [neumaj01@jcu.cz](mailto:neumaj01@jcu.cz)

Received: September 27, 2023; accepted: February 28, 2024

#### ABSTRACT

*Tribulus terrestris* L. is an annual herb, known worldwide as a noxious weed or as medicinal plant. Phytochemicals from *Tribulus terrestris* are well known in area of fitness supplements for muscle gain, in medicine, where those phytochemicals are used to treat cancer, obesity, diabetes, dyslipidemia, hypercholesterolemia, inflammatory diases and especially fertility in both women and man. Animal studies showed an increase in ovulation, an improvement in spermatogenesis and increase in the number of sperm, lowering serum glucose, triglycerides and cholesterol in diabetic mice.

**Keywords:** saponins, protodioscin, diosgenin, biologically active substances

#### ABSTRAKT

Kotvičník zemní (*Tribulus terrestris* L.) je jednoletá bylina, celosvětově známá jako škodlivý plevel nebo jako léčivá rostlina. Fytochemikálie z kotvičníku zemního jsou dobře známé v oblasti fitness doplňků pro nárůst svalové hmoty, v medicíně, kde se tyto fytochemikálie používají k léčbě rakoviny, obezity, cukrovky, dyslipidémie, hypercholesterolemie, zánětlivých onemocnění a zejména plodnosti u žen i mužů. Studie na zvířatech prokázaly zvýšení ovulace, zlepšení spermatogeneze a zvýšení počtu spermií, snížení sérové glukózy, triglyceridů a cholesterolu u diabetických myší.

**Klíčová slova:** saponiny, protodioscin, diosgenin, biologicky aktivní látky

#### DETAILED ABSTRACT

*Tribulus terrestris* a plant known by many names, among others is considered a weedy plant that is quite difficult to remove, mainly due to the long dormancy of the seeds in the soil, where these seeds can remain on for years. This plant can grow almost anywhere and is very easy to cultivate. This is advantageous for medicinal use but is also dangerous from the point of view of weeding. *Tribulus* is a prostrate C4 plant, which can reach several meters in length. Despite its undemanding cultivation, growing it in practice on large fields is quite difficult due to its growth. The plant forms a carpet that is very difficult to harvest and therefore most growers of this plant take care of cultivation and harvesting by hand. In regions where *Tribulus* grows wild, it is very important to prevent livestock from eating it because of the seeds that the plant produces. The seeds are round with very sharp and up to one-centimeter-long thorns that can harm animals, especially their digestive tract. This plant has been used for thousands of years, especially by Traditional Chinese Medicine and Ayurveda. Thanks to the records from these books, the *Tribulus* plant and of course other plants came to the attention of people and pharmacy. In the last few decades, the plant has become more and more popular, mainly due to the content of the furostanol saponin protodioscin, and especially due to its alleged ability to increase the

level of the male sex hormone, testosterone, for the treatment of infertility and or gaining muscle mass. Studies report conflicting results, and the mechanism of action of how the hormones are modulated is not yet precisely known. Saponins, furostanol and spirostanol compounds are responsible for the modulation of hormones, however, these saponins are not the only bioactive substances that *Tribulus* contains. The plant also contains flavonoids, alkaloids, phytosterols, vitamins, minerals, proteins, carbohydrates, fats and many other substances. Diosgenin is a spirostanol saponin that was used in the 20<sup>th</sup> century to make the first contraceptive and gave birth to the contraceptive we know today. This saponin is used today as a precursor for the synthesis of various therapeutic compounds, such as sex hormones or corticosteroids. However, diosgenin is most often used in the treatment of diabetes, dyslipidemia, hypercholesterolemia, inflammatory diseases, and also in the treatment of cancer. Due to the great variety of biologically active substances, it is difficult to determine exactly which substances are responsible for certain properties that are attributed to the plant. Most often, the plant is administered in the form of an extract, and the extract from the plant is a concentrated preparation of all the substances that can be obtained with a given solvent. However, it is known that possible poisoning of animals is mainly caused by alkaloids. On the other hand, it is precisely the great variety of biologically active substances that gives the plant a potential opportunity to use it in many ways related to human or animal health. One of the possible uses of anchovy is to increase the immunity of animals. It has been reported that anchovy extract can stimulate cells, including macrophages and neutrophils, which has positive effects on the immune system and may be beneficial for animals that are immunocompromised or at high risk of infection.

## ÚVOD

Naši předkové používali rostliny k léčbě mnoha onemocnění už před tisíci lety. Kvůli používání těchto rostlin pro léčebný použití vznikly herbáře a léčitelství. Jednou z rostlin, která je používána tisíce let Tradiční čínskou medicínou a Ajurvédou je kotvičník zemní (*Tribulus terrestris* L.), jednoletá kvetoucí C4 rostlina z čeledi kacíbovitých (*Zygophyllaceae*), ve které se nachází množství biologicky aktivních látek jako jsou saponiny, fytoosteroly, flavonoidy a alkaloidy, které jsou zodpovědné za terapeutické využití této rostliny. Do klasické medicínské praxe kotvičník dostal díky jeho schopnosti léčit ztrátu libida a neplodnost u zvířat (Haghmorad et al., 2019) a lidí (GamalEl Din, 2019; Sahin et al., 2016).

Mezi nejpopulárnější tvrzení o této rostlině je to, že má mít schopnost zlepšit sexuální funkce a zvýšit hladinu testosteronu. Léčba neplodnosti a libida ale nejsou jediným problémem se kterým kotvičník může pomoci. Lék Xinnao-Shutong, ve formě kapslí se používá k léčbě různých srdečních onemocnění (Liu et al., 2012)

Na celém světě existuje mnoho farmaceutických přípravků a bylinných doplňků, které obsahují extrakty standardizované na steroidní saponiny. Neychev a Mitev (2005) zjistili, že rostlinný extrakt z kotvičníku může u

některých subjektů zvýšit hladinu testosteronu v séru. Extrakty jsou indikovány hlavně u poruch libida u mužů i žen, erektilní dysfunkce a abnormální pohyblivosti spermií, ale údaje z literatury jsou poněkud kontroverzní, pokud jde o účinnost extraktů z kotvičníku u takových poruch (GamalEL Din, 2019).

Nicméně, využití kotvičníku je spíše komplikované, jednak kvůli možné rizikovitosti, kdy je možný výskyt vedlejších nepříznivých účinků či nežádané interakce s jinými léky (Kamenov et al., 2017) a také kvůli původu rostlin, kdy Dinchev et al., (2008) detekoval prototribestin pouze ve vzorcích odebraných z Bulharska, Turecka, Řecka, Makedonie, Íránu a Srbska, ale žádný protodioscin nebyl detekován ve vzorcích odebraných z Vietnamu a Indie. Uvažuje se, že tato sloučenina by mohla být markerem pro evropskou odrůdu (Dinchev et al., 2008).

## SLOŽENÍ KOTVIČNÍKU

### Flavonoidy

Flavonoidy jsou rostlinné polyfenoly a Erdelská et al., (2008) jim přisuzuje antibakteriální a kardioprotektivní účinky.

Kotvičník obsahuje některé základní flavonoidy jako kaempferol, astragalin, kaempferol-3-rhamnoglykosid, tribulosid a rutin. Bhutani et al., (1969) je jedním z prvních výzkumníků, kteří uvedl přítomnost flavonoidů, jako je kaempferol, kaempferol-3-glukosid, kaempferol-3-rutinosid, tribulosid a rutin v listech a plodech kotvičníku.

### Alkaloidy

Studie obsahu alkaloidů v kotvičníku zemním byly provedeny v souvislosti s otravami zvířat, převážně u ovcí (Semerdjieva a Zheljazkov, 2019; Stepanyan 1963). Pomocí chromatografie na tenké vrstvě našli Lutomski et al. (1967) harman v rostlině kotvičníku. Wu et al. (1999) popsal alkaloidy v plodech čínských vzorků kotvičníku, zatímco Bourke et al. (1992) popsal harmanové a norharmanové alkaloidy ve vzorcích z Austrálie.

### Saponiny

Saponiny, jsou heterosidy skládající se z glykosidové části a geninu, které mohou být steroidní nebo triterpenové povahy. Steroidní geniny jsou odvozeny z hexacyklického skeletu o 27 atomech uhlíku, což je spirostanové jádro (Tomova et al., 1978; Tomova et al., 1981). Spirostanolové a furostanolové saponiny jsou považovány za nejcharakterističtější chemikálie v rostlině kotvičníku. Z kotvičníku bylo izolováno více než 58 druhů spirostanolových saponinů a 50 druhů furostanolových saponinů (Viktorov et al., 1982).

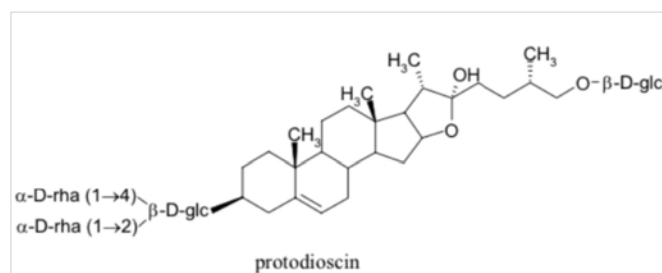
Předpokládá se, že steroidní saponiny, jako je protodioscin a protogracillin, propůjčují kotvičníku jedinečné biologické vlastnosti. Saponiny jsou zodpovědné za pozitivní fyziologické účinky kotvičníku na sexuální výkonnost, koronární srdeční onemocnění, zamezení ischemického poškození srdce a modulaci hypertenze (Tomova et al., 1978; Tomova et al., 1981). Navíc by kotvičník mohl snížit zánět zmírněním svalového poškození (Tabakova et al., 2012) a oxidačního poškození (Dinchev et al., 2008).

Kvalitativní složení saponinů závisí na fenologickém stadiu a zkoumaných vegetativních částech kotvičníku zemního (Dinchev et al., 2008). Od vegetace do fáze květu se obsah saponinů zvyšuje a při tvorbě plodů

klesá (Dinchev et al., 2008). Nejvyšší obsah steroidních saponinů mají listy, dále plody a nať (Dinchev et al., 2008).

### Protodioscin

Protodioscin je specifický typ steroidního saponinu, který se nachází v různých rostlinách, zejména v kotvičníku zemním, ale také v jiných rostlinných druzích, jako je například *Dioscorea*, u kterého byl v klinických studiích testován a následně prokázán vliv na zvýšení libida a zlepšení erekce (Gauthaman et al., 2002). Jeho chemická struktura je znázorněna na obrázku 1.

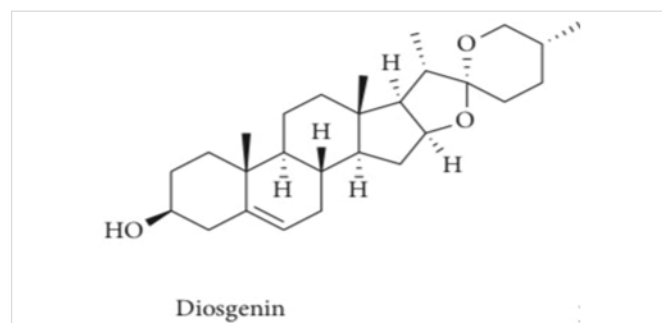


**Figure 1.** Chemical structure of protodioscin (Valentová et al., 2004)

**Obrázek 1.** Chemická struktura protodioscinu (Valentová et al., 2004)

### Diosgenin

Diosgenin je dnes velmi významným saponinem, na který svoji pozornost zaměřuje stále více vědců. V podstatě většina terapeuticky použitelných a fungujících sloučenin, včetně sexuálních hormonů a kortikosteroidů, je vyráběna polysynteticky z přírodních prekurzorů a převážně z diosgeninu (Dong et al., 2015; Al Jasem et al., 2014), jehož chemická struktura je znázorněna na obrázku 2.



**Figure 2.** Chemical structure of diosgenin (Jesus et al., 2016)

**Obrázek 2.** Chemická struktura diosgeninu (Jesus et al., 2016)

Nicméně i přes veliké množství synteticky vyrobených hormonů, diosgenin samotný má veliký význam ve farmacii, díky jeho biologické aktivitě (Chen et al., 2015; Raju 2008). Diosgenin je v literatuře velmi často zmiňován pro své využití ve farmacii s velmi častými odkazy na tradiční medicínu. Mnoho studií v posledních 20 letech se zaměřovalo na důležitost a benefity diosgeninu proti nemocem jako je diabetes, obezita, dyslipidemie anebo hypercholesterolemie, dále také proti zánětlivým onemocněním či dokonce proti rakovině (Chen et al., 2015; Raju 2009; Raju, 2012).

Výsledky z těchto studií ukazují na potenciální využití diosgeninu jako látky, která dokáže léčit více různorodých onemocnění. Dalo by se říci, že diosgenin je jedním z nejvýznamnějších saponinů z celé rostliny kotvičníku. Tento saponin má protizánětlivé a antioxidační vlastnosti (Manivannan et al., 2013) a může být užitečný při krevních či mozkových onemocněních, alergiích, diabetu a obezitě, kdy prokazatelný pozitivní účinek byl pozorován na diabetických myších při dávce diosgeninu 40mg/kg/den po dobu 7 týdnů (Roghani-Dekhorti et al., 2015), menopauzálních symptomech anebo stárnutí kůže.

Také má pravděpodobně obranné schopnosti proti kardiovaskulárním chorobám jako je trombóza a ateroskleróza (Choi et al., 2010; Esfandiarei et al., 2011; Liu et al., 2012; Kalailingam et al., 2014; Gong et al., 2011) a proti rakovině (Chen et al., 2015; Gong et al., 2011; Chen et al., 2011; Kim et al., 2012).

## VLIV KOTVIČNÍKU NA ZDRAVÍ ZVÍŘAT

### *Podpora růstu a využitelnost krmiva*

Zdraví zažívací mikroflóry může vážně ovlivnit zdraví a produktivitu hospodářských zvířat. Bylo zjištěno, že extrakty z této byliny jsou účinné proti některým háďátkům a nabízejí přirozenou alternativu k chemickým anthelmintikům (Ugbogu et al., 2019).

Jedním z možných aspektů využití kotvičníku zemního, potažmo i jiných léčivých rostlin, je snaha o omezení produkce metanu, které je možné dosáhnout změnou fermentačního vzorce bacheru (Khiaosa-Ard a Zebeli, 2013) a to proto, že v bacheru se nachází velké

množství mikroorganismů, včetně bakterií, prvoků a hub (Zábranský et al., 2019).

Kotvičník může pomoci zvířatům vyrovnat se se stresem, který může výrazně zhoršit zdraví a produktivitu zvířat. Má adaptogenní vlastnosti, pomáhá zvířatům vyrovnat se s různými stresory, čímž potenciálně zlepšuje celkové zdraví (Bartolome et al., 2013; Al-Bayati and Al-Mola, 2008).

Jeho antioxidační účinky mohou mít pozitivní vliv na zdraví střev, což vede k lepšímu trávení a vstřebávání živin. Zdravý střevní mikrobiom zajišťuje optimální trávení a efektivní vstřebávání živin, čímž podporuje růst a zlepšuje účinnost krmiva u hospodářských zvířat (Kumar et al., 2016; Ugbogu et al., 2019). To je dnes řešeno používáním probiotik ke zlepšení růstové výkonnosti zvířat, což se jeví jako úspěšné (Zábranský et al., 2015; Zábranský et al., 2021).

Mnoho rostlin produkuje sekundární metabolity, které mají antimikrobiální účinky (Negi, 2012) a snižují degradaci bílkovin, aminokyselin a škrobu v bacheru (Benchaar a Chouinard, 2009). Ovlivnění bacherové fermentace sekundárními metabolity kotvičníku zemního může zlepšit ekologii bacheru a využití živin, tím že se změní mikrobiální populace, tím se zvýší fermentace u hospodářských zvířat (Patra a Saxena, 2011).

Sahin (2009) odhalil, že denní příjem krmiva a hmotnost vnitřních orgánů brojlerů nebyly ovlivněny práškem z kotvičníku zemního, nicméně prášek z kotvičníku pozitivně ovlivňuje růstovou výkonnost a imunitní reakce brojlerových kuřat, tím lze dosáhnout menší spotřeby krmiva.

Samani et al. (2016) uvádí, že flavonoidy a saponiny kotvičníku zemního jsou zodpovědné za snížení sérové glukózy, triglyceridů a cholesterolu u diabetických myší.

### *Podpora imunity*

Extrakty z rostliny kotvičníku stimulují aktivitu makrofágů, čímž podporují agresivnější reakci vůči patogenům. Toto zlepšení lze přičíst přítomnosti saponinů v rostlině (Abdel-Daim et al., 2015).

Další skupina fagocytárních buněk jsou neutrofilny, které jsou životně důležité pro rané stadium obrany proti infekcím. Studie na zvířatech ukázaly zvýšení aktivity neutrofilů po podání extraktů z kotvičníku. Tato zjištění předpokládají, že kromě makrofágů by se bylina mohla také napojit na další ramena vrozeného imunitního systému, aby zvýšila celkovou fagocytární aktivitu (Al-Bayati and Al-Mola, 2008; Ziyat et al., 1997).

Díky svému potenciálu zesilovat fagocytární aktivitu je kotvičník příslibem v terapeutických intervencích, zejména u zvířat s narušeným imunitním systémem nebo u zvířat s vysokým rizikem infekcí. To by mohlo být zvláště cenné ve veterinární medicíně, protože nabízí přírodní alternativu nebo doplňkový lék k syntetickým imunostimulantům (Rajendar et al., 2011).

Yazdi et al. (2014) provedl výzkum na brojlerch, které před podáváním prášku z kotvičníku naočkoval proti ptačí chřipce a newcastleské nemoci, ke stimulaci imunitního systému. Brojleři, kteří dostávali 1 – 5g/kg prášku z kotvičníku měli více protilátek ( $P < 0.05$ ) proti newcastleské nemoci než kontrolní skupina brojlerů a brojleři, kteří dostávali 1g/kg prášku z kotvičníku měli více protilátek proti ( $P < 0.05$ ) viru ptačí chřipky.

### **Protizánětlivé vlastnosti**

Potenciální protizánětlivé vlastnosti kotvičníku přisuzované především jeho obsahu saponinů, upoutaly pozornost nejen veterinárních lékařů (Deepak et al., 2002).

Experimentální studie na zvířatech prokázaly, že extrakty z kotvičníku mohou vést k významnému snížení zánětlivých markerů. Například u hlodavců vedla léčba extrakty z kotvičníku ke snížení hladin cytokinů a dalších prozánětlivých molekul, čímž se zmírnily zánětlivé reakce (Amin et al., 2006).

Artritida a další zánětlivé stavy kloubů představují významné výzvy v oblasti zdraví zvířat. Kotvičník se ukázal jako slibný při snižování závažnosti zánětu kloubů na zvířecích modelech, pravděpodobně díky svému potenciálu inhibovat klíčové dráhy, které řídí zánětlivé procesy v kloubech (Al-Ali et al., 2003).

### **Použití k hormonální stimulaci**

Martino-Andrade et al. (2010) zjistil, že kotvičník zemní může zvýšit množství a kvalitu spermií u potkanů a Clément et al. (2012) toto zjistil u hospodářských zvířat.

Wu et al. (2017) zjistil, že potkani, kteří byli podrobena fyzické aktivitě a dostávali extrakt z kotvičníku zemního měli zvýšenou fyzickou výkonost a větší nárůst svalové hmoty díky zvýšení hladiny IGF-1.

Studie provedené na albínských krysách (Gauthaman et al., 2004) celkově prokázaly zvýšení ovulace, zlepšení spermatogeneze a zvýšení počtu spermií, spermatogonií a spermatocytů.

Martino-Andrade et al. (2010) testovali extrakty z kotvičníku na kastrovaných králících, aby stanovili změnu hladin testosteronu v séru a účinky u samic králíků. Došli k závěru, že u kastrovaných králíků nebyla žádná androgenní a estrogenní aktivita. Kotvičník zemní nestimuloval endokrinní systém a prostatu, u albínských potkanů nebyla žádná aktivita na semenném váčku, děloze nebo vagíně (Martino-Andrade et al., 2010). Možným důvodem, proč nedošel k pozitivnímu závěru může být rozdílné složení saponinů a dalších biologicky aktivních látek, protože výzkum ukazuje, že kotvičník zemní z Indie a jiných částí Asie má odlišný profil saponinů ve srovnání s kotvičníkem zemním z Bulharska (Dinchev et al., 2008; Kostova a Dinchev, 2005).

Marques et al. (2019) zjistil, že fytochemikálie získané z kotvičníku zemního mohou být použitelné k ochraně úbytku kostní hmoty způsobenou deficitem estrogenu během osteoporózy související s věkem.

### **Snášenlivost**

V oblasti veterinární medicíny je prvořadé zajištění bezpečnosti a snášenlivosti léčby. Vzhledem k tomu, že alternativní a doplňkové terapie, jako například využití rostlin, jsou zkoumány pro jejich imunomodulační potenciál u zvířat, pochopení jejich bezpečnostního profilu se stává zásadní. Historicky byl kotvičník používán v systémech tradiční medicíny bez významných zpráv o nežádoucích účincích (Adaikan et al., 2000; Samani et al., 2016).

Při podávání v terapeutických dávkách byl prokázán, v různých studiích na zvířatech, příznivý bezpečnostní profil rostliny. Nicméně, stejně jako u mnoha bylinných léčeb, je dávkování a příprava klíčové, to znamená, že nadměrné nebo nevhodné dávky mohou vést k nežádoucím vedlejším účinkům nebo toxickým reakcím (Dinchev et al., 2008).

Chen et al. (2019) zjistil, že nadměrná konzumace kotvičníku zemního může vyvolat fotosenzibilitu u lidí i zvířat.

Sellami et al. (2018) uvádí, že nadměrná konzumace kotvičníku může způsobit poruchy spánku, únavu, hypertenzi a vysokou srdeční frekvenci.

Jedna obava vznesená v literatuře se točí kolem potenciálních účinků kotvičníku na funkci jater a ledvin, vzhledem k tomu, že tyto orgány hrají ústřední roli při metabolizaci a vylučování látek. Studie na zvířatech, zejména ty na potkanech, do značné míry neprokázaly žádné významné změny ve funkcích jater a ledvin po podání rostliny, což podporuje jeho bezpečnost (El-Tantawy et al., 2007; Dou et al., 2007).

Jakákoli požitá látka může mít účinky na gastrointestinální systém. Naštěstí studie na zvířatech zkoumající použití kotvičníku ukázaly minimální gastrointestinální poruchy a to i při relativně vysokých dávkách. To dále podtrhuje potenciál kotvičníku jako dobře tolerované bylinné léčby (Kamenov et al., 2017; Martino-Andrade et al., 2010).

Vzhledem k údajným účinkům kotvičníku na hladiny testosteronu, někteří výzkumníci vyjádřili obavy ohledně jeho použití u zvířat a potenciálních endokrinních poruch. Nicméně, zatímco některé studie na zvířatech zaznamenaly modulaci hormonálních hladin, neukázaly škodlivou nerovnováhu nebo narušení při doporučených dávkách (Seyedan et al., 2015; Neychev et al., 2016).

## VLIV KOTVIČNÍKU NA ZDRAVÍ LIDÍ

Kotvičník zemní byl zkoumán na přítomnost bioaktivních sloučenin, které vykazují různé farmakologické aktivity a mají méně vedlejších účinků ve srovnání se syntetickými léky. Kotvičník zemní je

známá léčivá rostlina s uváděnými antimikrobiálními, antihypertenzními, protinádorovými farmakologickými vlastnostmi a má účinky na kardiovaskulární systém (Bedir a Khan, 2000).

Fytochemikálie z kotvičníku zemního ve formě alkoholového extraktu v dávce 2 mg.mL<sup>-1</sup> jsou vysoce účinné proti bakteriím *E. faecali*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* a *E. coli* a mohou tak být slibnou náhradou rutinních antibiotik a antivirotik (Shaheen et al., 2019).

Přímé a nepřímé androgenní působení extraktů kotvičníku zemního by také mohlo přispět ke zlepšení glykemického profilu diabetických pacientů, protože je známo, že androgeny zvyšují toleranci sacharidů a podporují glykogenezi (Navarro et al., 2015).

V roce 2016 vědci z Íránu prokázali, že etanolový extrakt z kotvičníku účinně snižuje hladinu glukózy ve srovnání s placebem u žen s diabetem 2. typu (Samani et al., 2016). Mechanismus hypoglykemického účinku je s největší pravděpodobností spojen s inhibicí aktivity  $\alpha$ -glukosidázy v tenkém střevě (Ercan a El, 2016; Ghareeb et al., 2014).

Rovněž byl prokázán mírný inhibiční účinek na  $\alpha$ -amylázu (Ercan a El, 2016). Randomizovaná, dvojité zaslepená, placebem kontrovaná studie potvrdila vysokou účinnost kotvičníku v léčbě ženské sexuální dysfunkce (Akhtari et al., 2014).

### Kardiovaskulární zdraví

Jedním z kritických faktorů přispívajících ke kardiovaskulárnímu zdraví je regulace hladiny cholesterolu. Studie poukázaly na to, že kotvičník může mít schopnost snižovat špatný cholesterol (LDL) a zároveň zvyšovat dobrý cholesterol (HDL). Tato rovnováha je zásadní pro snížení rizika aterosklerózy a souvisejících kardiovaskulárních onemocnění (Samani et al., 2016; Asadmobini et al., 2017).

Kromě své role při řízení krevního tlaku a cholesterolu může mít kotvičník přímé kardioprotektivní účinky. Některé studie ukázaly, že jeho extrakty mohou snížit poškození myokardu v případech indukované ischemie, což naznačuje potenciální použití v prevenci srdečních chorob (Al-Ali et al., 2003).

### **Sexuální a reprodukční zdraví**

Kotvičník je nejznámější díky možnému zvýšení libida a léčby sexuálních dysfunkcí. Vědecké výzkumy začaly podporovat tato tvrzení a ukázaly, že kotvičník může zvýšit pohyblivost spermií, zvýšit hladinu testosteronu a potenciálně zlepšit erektilní funkci u mužů. Podobně u žen může hrát roli při zlepšování plodnosti a libida (Gauthaman et al., 2002; Neychev a Mitev, 2005).

Různé studie ukázaly, že obsah saponinů v rostlině, zejména protodioscin, může potenciálně zvýšit hladinu testosteronu u mužů, a tím zvýšit libido (Sellandí et al., 2012). Pozitivní účinky kotvičníku na mužskou plodnost jsou široce zdokumentovány. Předpokládá se, že rostlina může zvýšit mobilitu, koncentraci a celkovou kvalitu spermií, což může potenciálně pomoci při řešení problémů mužské neplodnosti (Samani et al., 2016).

Spolu s potenciálem zvýšit hladinu testosteronu a kvalitu spermií existují důkazy, které naznačují, že kotvičník může pomoci při zvládnání erektilní dysfunkce. Vasodilatační vlastnosti byliny, pravděpodobně kvůli obsahu flavonoidů, mohou zvýšit průtok krve do genitálních oblastí a potenciálně zlepšit erektilní funkci (Gauthaman et al., 2002), kdy Do et al. (2013) toto potvrdil studií, kde byl prokázán pozitivní účinek na topořivá tělesa při podávání extraktu v dávce 0.5mg/kg/den po dobu jednoho měsíce.

Zatímco většina studií se soustředila na muže, objevují se důkazy o přínosech kotvičníku i pro ženy. Rostlina může hrát roli při vyrovnávání ženských hormonů a zvyšování plodnosti, což z ní činí potenciální přírodní lék pro ženy s problémy s reprodukčním zdravím (Akhtari et al., 2014; Sanagoo et al., 2019).

### **Diuretické zdraví**

Diuretický účinek je připisován flavonoidům a saponinům přítomným v rostlině (Antonio et al., 2000). Zejména jeho použití v ajurvédské medicíně lze vysledovat staletí zpět, kde se používal k podpoře průtoku moči a léčbě onemocnění močových cest (Amin et al., 2006).

Některé studie naznačují, že by mohl stimulovat renální filtraci, a tím zvýšit objem moči. Předpokládá se také, že jeho obsah flavonoidů hraje roli v jeho diuretických vlastnostech, potenciálně napomáhá vylučování přebytečných tekutin (El-Tantawy et al., 2007). Tím, že podporuje vylučování tekutin, může bylina potenciálně pomoci při vyplavování toxinů a snižuje riziko tvorby ledvinových kamenů.

### **Nervový systém**

Oblastí rostoucího zájmu je potenciální role kotvičníku při snižování stresu a úzkosti. Několik studií naznačuje, že pravidelná konzumace této byliny může modulovat stresovou reakci těla, potenciálně ovlivněním hladiny kortizolu. Kromě toho zvířecí modely prokázaly snížené chování podobné úzkosti po podání extraktů z této rostliny (Zhang et al., 2010).

Funkce mozku a regulace nálady jsou úzce spojeny s rovnováhou a funkcí neurotransmiterů. Existují důkazy, které naznačují, že kotvičník může ovlivňovat hladiny určitých neurotransmiterů, jako je dopamin a serotonin, a tím hrát roli v regulaci nálady a celkové neurologické funkce (Amin et al., 2006; Qureshi et al., 2014).

### **Imunitní systém**

Kotvičník zemní byl tradičně používán v různých kulturách pro svou údajnou schopnost posilovat imunitní systém. Studie ukázaly, že určité saponiny v kotvičníku mohou modulovat imunitní reakce stimulací aktivity makrofágů a bílých krvinek, které jsou klíčové pro detekci, pohlcování a ničení patogenů (Amin et al., 2006; Singh et al., 2012).

Stejně jako u dalších přínosů souvisejících se zdravím jsou imunomodulační účinky kotvičníku nejprínosnější, když se bylina konzumuje v doporučených dávkách. I když jsou jeho vlastnosti posilující imunitu zřejmé, potenciální uživatelé by se měli vždy poradit se zdravotníky, aby zajistili jeho vhodnost, zejména pokud je užíván společně s jinými léky nebo spolu s imunosupresivní léčbou (Neychev and Mitev, 2005; Sharifi et al., 2003).

**Table 1.** Composition of *tribulus* from different region around the world in µg/g dry weight**Tabulka 1.** Složení kotvičníku z různých regionů světa v µg/g sušiny

Sample/plant parts Vzorek/rostlinná část	1	2	3	4	5	6	7
<b>Bulgaria</b>							
<b>Bulharsko</b>							
Haskovo hirsut. fr.							
Haskovo, drsné plody							
Aerial part Nadzemní hmota	6518.8	2266.0	384.1	100.6	24.1	77.3	1455.2
Fruits Plody	567.9	280.6	442.0	26.1	9.2	26.5	762.9
Leaves Listy	10003.5	7317.5	357.6	895.7	627.3	7.9	2037.3
Stems Stonky	193.3	408.8	157.5	8.7	27.7	1.7	92.4
Pomorie hirsut. fr.							
Pomorie, drsné plody							
Aerial part Nadzemní hmota	1917.2	1346.4	0.7	921.9	2266.4	1.8	41.9
Petrich hirsut. fr.							
Petič, drsné plody							
Aerial part Nadzemní hmota	4305.6	1899.1	41.4	587.1	623.8	1.1	2196.9
Svistov hirsut. fr.							
Svištov, drsné plody							
Aerial part Nadzemní hmota	3619.2	3319.1	8.9	201.3	692.6	4.9	450.0
Ropotamo hirsut. fr.							
Ropotamo, drsné plody							
Fruits Plody	549.9	217.2	78.7	61.2	34.6	-	167.2
Smokinia glabr. fr.							
Smokinya, drsné plody							
Fruits Plody	597.5	226.3	44.2	56.1	21.9	-	121.2
<b>Turkey</b>							
<b>Turecko</b>							
Marmaris hirsut. fr.							
Marmaris, drsné plody							
Aerial part Nadzemní hmota	3426.9	3948.4	40.9	129.2	286.1	0.3	170.3



## Continued. Table 1

## Continued. Tabulka 1

Sample/plant parts Vzorek/rostlinná část	1	2	3	4	5	6	7
Fruits Plody	254.9	727.0	-	18.6	10.9	-	287.9
<i>Marmaris glabr. fr.</i> Marmaris, hladké plody							
Aerial part Nadzemní hmota	3439.1	2710.4	92.9	66.1	84.0	10.2	84.0
Fruits Plody	170.3	59.5	83.1	21.9	5.5	-	124.4
<i>Ankara</i>							
Aerial part Nadzemní hmota	10270.3	4989.1	748.7	93.4	68.9	17.4	349.1
Fruits Plody	652.6	187.3	12.2	21.7	9.5	1.4	240.8
<i>Ayvalak hirsut. fr.</i> Ayvalik, drsné plody							
Aerial part Nadzemní hmota	3126.8	3698.2	30.7	111.9	131.7	2.2	524.6
<i>Yatagan glabr. fr.</i> Yatağan, hladké plody							
Aerial part Nadzemní hmota	4649.2	3781.9	38.6	130.5	136.5	-	118.7
<b>Greece</b> <b>Řecko</b>							
<i>Rhodes hirsut. fr.</i> Rhodos, drsné plody							
Aerial part Nadzemní hmota	7968.7	3463.2	801.3	311.7	244.3	13.0	1213.6
<i>Kalambaka glabr. fr.</i> Kalabaka, hladké plody							
Aerial part Nadzemní hmota	2265.7	1526.7	302.5	260.3	0.4	24.0	1007.7
<b>Macedonia</b> <b>Makedonie</b>							
<i>Novo Selo glabr. fr.</i> Novo Selo, hladké plody							
Aerial part Nadzemní hmota	4230.9	1961.1	14.3	135.7	73.8	-	408.6

Continued. Table 1

Continued. Tabulka 1

Sample/plant parts Vzorek/rostlinná část	1	2	3	4	5	6	7
<i>Bogdanci glabr. fr.</i> Bogdanci, hladké plody							
Aerial part Nadzemní hmota	9996.1	7429.0	1049.3	158.6	106.7	6.8	1620.5
<b>Serbia</b> <b>Srbsko</b>							
<i>Nish</i> Niš							
Aerial part Nadzemní hmota	2033.4	1698.3	198.9	879.5	2151.8	22.4	801.0
<b>Georgia</b>							
<i>Tbillissi hirsut. fr.</i> Tbilisi, drsné plody							
Aerial part Nadzemní hmota	5661.9	2419.1	534.3	80.1	67.2	5.6	1278.4
<b>Vietnam</b>							
Aerial part Nadzemní hmota	32.7	-	1.3	0.4	-	220.5	4.8
<b>India</b>							
<i>Rajasthan hirsut. fr.</i> Rádžasthán, drsné plody							
Fruits Plody	2.4	-	1.1	-	-	11.2	465.5
Leaves Listy	14.0	-	10.0	-	-	6442.1	76.8
Stems Stonky	4.0	-	-	-	-	1850.8	110.7
<i>Bangalore hirsut. fr.</i> Bengalúr, drsné plody							
Fruits Plody	6.5	-	-	-	-	10.9	76.2

Sample/plant part, taken from Dinchev et al. (2008): 1. Protodioscin, 2. Prototribestin, 3. Pseudoprotodioscin, 4. Dioscin, 5. Tribestin, 6. Tribulosin, 7. Rutin (Dinchev et al., 2008)

Vzorek/část rostlin, převzato od Dinchev et al. (2008): 1. Protodioscin, 2. Prototribestin, 3. Pseudoprotodioscin, 4. Dioscin, 5. Tribestin, 6. Tribulosin, 7. Rutin (Dinchev et al., 2008)

## Farmakologie

Chen et al. (2011) pozoroval v preklinické studii zcela průkazný efekt diosgeninu proti rakovině prostaty, konkrétně PC3 a DU-145 buňky, kdy hlavním mechanismem účinku diosgeninu byla apoptóza těchto buněk.

Jiang et al. (2016) uvádí, že diogenin lze efektivně použít v podmínkách *in vitro* proti myeloidní leukémii, konkrétně buňkám K562.

Kamenov et al. (2017) hodnotil účinnost a bezpečnost standardizovaného extraktu Tribestan®, což jsou tablety obsahující 250mg extraktu kotvičníku zemního pro léčbu mírné až středně těžké erektilní dysfunkce, kdy na konci studie, po 12 týdnech, bylo prokázáno signifikantní zlepšení erekce.

## Snášlivost

Mezi běžně hlášené vedlejší účinky spojené s konzumací kotvičníku patří gastrointestinální poruchy. Někteří jedinci, zejména ti, kteří nejsou na bylinku zvyklí nebo ti, kteří ji konzumují nalačno, mohou pociťovat příznaky jako žaludeční křeče, nevolnost nebo průjem (Qureshi et al., 2014; Dinchev et al., 2008).

Jednou z hlavních schopností kotvičníku je jeho údajná schopnost zvyšovat hladiny testosteronu, zejména u mužů. Existují však obavy z nadměrné konzumace vedoucí k hormonální nerovnováze, která se může u žen projevit jako změny nálad, agresivita nebo nepravidelný menstruační cyklus (Roayah et al., 2016; Sellandi et al., 2012).

Stejně jako u mnoha bylinných léků může kotvičník interagovat s určitými léky a potenciálně snížit nebo zvýšit jejich účinky. Zejména jedinci, kteří užívají léky na srdce, antihypertenziva nebo diuretika, by měli být opatrní a před použitím byliny se poradit se svým poskytovatelem zdravotní péče kvůli jejímu potenciálnímu vlivu na krevní tlak a hladiny elektrolytů (Gauthaman et al., 2008).

## Rozdíly ve složení kotvičníku

Výzkum, který byl vedl Kostova a Dinchev (2005) prokázal významné rozdíly v koncentracích saponinů

a poměr mezi různými saponiny mezi populacemi kotvičníku zemního ve světě, což potvrzuje obrázek číslo 1. Ty se také měnily v závislosti na podmínkách prostředí a letech sběru.

Je obtížné standardizovat produkty kotvičníku zemního kvůli pozorované kvantitativní a kvalitativní dynamice saponinů. Kontrolované pěstování kotvičníku zemního by překonalo řadu problémů souvisejících s koncentrací biologicky aktivních látek a zajistilo by produkci vstupních surovin se stálou kvalitou. O standardizaci přípravků a produktů kotvičníku zemního je ve vědecké literatuře málo. Nedostatek jasných standardů podle kterých vyrábět například protodioscin a diosgenin a při přípravě extraktů, může být pravděpodobně příčinou pozorovaných rozdílů ve farmakologické aktivitě. V mnoha studiích se používají komerční produkty s neznámým obsahem saponinů, případně rostliny ze kterých je produkt vyrobený je neznámého původu (Semerdjieva a Zheljzakov, 2019).

## ZÁVĚR

Kotvičník zemní, rostlina která je součástí tradiční medicíny mnoha zemí na světě, používaná k léčbě mnoha nemocí je dnes stále častěji předmětem výzkumů. Nejčastěji byla tato rostlina používána k léčbě sexuálních poruch ale i k ulevování od bolesti.

Složení kotvičníku z různých zemí světa, jako Čína, Indie, Bulharsko a Moldavsko je sice dobře známé, ale důvod proč tomu tak je stále není velmi dobře prozkoumán a je důležité provést další výzkumy týkající se korelace mezi morfologií a složením biologicky aktivních látek. Je zjištěno, že kotvičník z těchto zemí má různé složení saponinů, což může být vhodné pro stanovení léčby, na druhou stranu to zapříčiňuje nekontrolované množství různé kvality na trhu s potravinovými doplňky.

Vliv kotvičníku na hladinu testosteronu stále není plně prokázán, kdy studie si velmi často protiřečí. Navíc studie, které pozitivní efekt na hladinu testosteronu potvrdily nebyly schopny uvést přesné působení rostliny na hormonální systém. Je proto nezbytně nutné provést další studie, které budou schopny přesně určit mechanismus působení.

Genom kotvičníku také není přesně známý a právě genom může být jednou z příčin rozdílného složení biologicky aktivních látek z různých regionů.

Nicméně léčba neplodnosti byla u kotvičníku potvrzena a extrakty z této rostliny nebo usušené části rostliny jsou používány k podpůrné léčbě neplodnosti, zejména u mužů, kdy je kotvičník používán ke zvětšení počtu spermií a jejich pohyblivosti. Neznamená to ale, že další studie by tyto schopnosti, které rostlina propůjčuje, by neměly být dále zkoumány, protože studie, které pozitivní účinky potvrdily jsou už staršího data a nové, efektivnější postupy monitorování a vyhodnocování mohou být v dnešní době kritické pro ověření.

Některé biologicky aktivní látky, zejména diosgenin jsou využívány jako prekurzory moderních léků, jako například kortikosteroidů. Použití biologicky aktivních látek, zejména saponinů, samostatně ke zlepšení zdravotního stavu zvířat nebo lidí je i přes mnohé studie stále nedostatečně prozkoumáno a proto by měl být kladen důraz na podrobnější výzkum.

Nicméně, potenciál této rostliny je nepopiratelný, výzkumy ukazují na příznivé působení na zdraví lidí a zvířat, ale přesné mechanismy působení je potřeba teprve ještě pochopit. S tím ruku v ruce jde výzkum dávkování a interakcí s jinými léky

## PODĚKOVÁNÍ

Tato studie byla financována z grantu Grantové agentury Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (projekt č. GAJU 085/2022/Z) a z grantu od Grantové agentury NAZV (projekt č. NAZV QK21020304 a NAZV QK1910174).

## LITERATURA

- Abdel-Daim, M. M., Abdelkhalek, N. K., Hassan, A. M. (2015) Antagonistic activity of dietary allicin against deltamethrin-induced oxidative damage in freshwater Nile tilapia; *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 111, 146-152. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.10.019>
- Adaikan, P. G., Gauthaman, K., Prasad, R. N., Ng, S. C. (2000) Proerectile pharmacological effects of *Tribulus terrestris* extract on the rabbit corpus cavernosum. *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*, 29 (1), 22-26.
- Akhtari, E., Raisi, F., Keshavarz, M., Hosseini, H., Sohrabvand, F., Bioos, S., Kamalinejad, M., Ghobadi, A. (2014) *Tribulus terrestris* for treatment of sexual dysfunction in women: randomized double-blind placebo-controlled study. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22 (1), 1-7.
- Al Jasem, Y., Khan, M., Taha, A., Thiemann, T. (2014) Preparation of steroidal hormones with an emphasis on transformations of phytosterols and cholesterol-a review. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 3 (2), 796-830.
- Al-Ali, M., Wahbi, S., Twajj, H., Al-Badr, A. (2003) *Tribulus terrestris*: preliminary study of its diuretic and contractile effects and comparison with *Zea mays*. *Journal of Ethnopharmacology*, 85 (2-3), 257-260. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00014-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00014-X)
- Al-Bayati, F. A., Al-Mola, H. F. (2008) Antibacterial and antifungal activities of different parts of *Tribulus terrestris* L. growing in Iraq. *Journal of Zhejiang University Science B*, 9, 154-159.
- Amin, A. M. R., Lotfy, M., Shafullah, M., Adeghate, E. (2006) The protective effect of *Tribulus terrestris* in diabetes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1084 (1), 391-401. DOI: <https://doi.org/10.1196/annals.1372.005>
- Antonio, J., Uelmen, J., Rodriguez, R., Earnest, C. (2000) The effects of *Tribulus terrestris* on body composition and exercise performance in resistance-trained males. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 10 (2), 208-215. DOI: <https://doi.org/10.1123/ijsnem.10.2.208>
- Asadmobini, A., Bakhtiari, M., Khaleghi, S., Esmaeili, F., Mostafaei, A. (2017) The effect of *Tribulus terrestris* extract on motility and viability of human sperms after cryopreservation. *Cryobiology*, 75, 154-159. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2017.02.005>
- Bartolome, A. P., Villaseñor, I. M., Yang, W. C. (2013) *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): botanical properties, traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. Evidence-based complementary and alternative medicine, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/340215>
- Bedir, E., Khan, I. A. (2000) New steroidal glycosides from the fruits of *Tribulus terrestris*. *Journal of natural products*, 63 (12), 1699-1701. DOI: <https://doi.org/10.1021/np000353b>
- Benchaar, C., Chouinard, P. Y. (2009) Assessment of the potential of cinnamaldehyde, condensed tannins, and saponins to modify milk fatty acid composition of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92 (7), 3392-3396. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2111>
- Bhutani S. P., Chibber S. S., Seshadri P. R., *Tribulus* I. *Phytochemistry* (1969); 8, 299-303.
- Bourke, C. A., Stevens, G. R., Carrigan, M. (1992) Locomotor effects in sheep of alkaloids identified in Australian *Tribulus terrestris*. *Australian Veterinary Journal*, 69 (7), 163-165. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1992.tb07502.x>
- Clément, C., Witschi, U., Kreuzer, M. (2012) The potential influence of plant-based feed supplements on sperm quantity and quality in livestock: A review. *Animal Reproduction Science*, 132 (1-2), 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.04.002>
- Deepak, M., Dipankar, G., Prashanth, D., Asha, M. K., Amit, A., Venkataraman, B. V. (2002) Tribulosin and  $\beta$ -sitosterol-D-glucoside, the anthelmintic principles of *Tribulus terrestris*. *Phytomedicine*, 9 (8), 753-756. DOI: <https://doi.org/10.1078/094471102321621395>
- Dinchev, D., Janda, B., Evstatieva, L., Oleszek, W., Aslani, M. R., Kostova, I. (2008) Distribution of steroidal saponins in *Tribulus terrestris* from different geographical regions. *Phytochemistry*, 69 (1), 176-186. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.07.003>

- Do, J., Choi, S., Choi, J., Hyun, J. S. (2013) Effects and mechanism of action of a *Tribulus terrestris* extract on penile erection. *Korean Journal of Urology*, 54 (3), 183-188.  
DOI: <https://doi.org/10.4111/kju.2013.54.3.183>
- Dong, J., Lei, C., Lu, D., Wang, Y. (2015) Direct biotransformation of dioscin into diosgenin in rhizome of *Dioscorea zingiberensis* by *Penicillium dioscin*. *Indian Journal of Microbiology*, 55, 200-206.
- Dou, J., Lee, V. S., Tzen, J. T., Lee, M. R. (2007) Identification and comparison of phenolic compounds in the preparation of oolong tea manufactured by semifermentation and drying processes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (18), 7462-7468.  
DOI: <https://doi.org/10.1021/jf0718603>
- El-Tantawy, W. H., Temraz, A., El-Gindi, O. D. (2007) Free serum testosterone level in male rats treated with *Tribulus alatus* extracts. *International Brazilian Journal of Urology*, 33, 554-559.  
DOI: <https://doi.org/10.1590/S1677-55382007000400015>
- Ercan, P., El, S. N. (2016) Inhibitory effects of chickpea and *Tribulus terrestris* on lipase,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Food Chemistry*, 205, 163-169.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.012>
- Erdelská, O., Erdelský, K., Kvačala, M., Hálová, O. (2008) Atlas léčivých rostlin. Nakladatelstvo Príroda, sro Bratislava.
- Esfandiarei, M., Lam, J. T., Yazdi, S. A., Kariminia, A., Dorado, J. N., Kuzeljevic, B., van Breemen, C. (2011) Diosgenin modulates vascular smooth muscle cell function by regulating cell viability, migration, and calcium homeostasis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 336 (3), 925-939.  
DOI: <https://doi.org/10.1124/jpet.110.172684>
- GamalEl Din, S. F. (2018) Role of *Tribulus terrestris* in male infertility: is it real or fiction? *Journal of dietary Supplements*, 15 (6), 1010-1013.  
DOI: <https://doi.org/10.1080/19390211.2017.1402843>
- Gauthaman, K., Ganesan, A. P. (2008) The hormonal effects of *Tribulus terrestris* and its role in the management of male erectile dysfunction—an evaluation using primates, rabbit and rat. *Phytomedicine*, 15 (1-2), 44-54.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2007.11.011>
- Gauthaman, K., Adaikan, P. G., Prasad, R. N. V. (2002) Aphrodisiac properties of *Tribulus terrestris* extract (Protodioscin) in normal and castrated rats. *Life sciences*, 71 (12), 1385-1396.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(02\)01858-1](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(02)01858-1)
- Gauthaman, K., Ganesan, A. P., Prasad, R. N. V. (2004) Sexual effects of puncturevine (*Tribulus terrestris*) extract (protodioscin): an evaluation using a rat model. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 9 (2), 257-265.  
DOI: <https://doi.org/10.1089/10755530360623374>
- Ghareeb, D. A., ElAhwany, A. M., El-Mallawany, S. M., Saif, A. A. (2014) *In vitro* screening for anti-acetylcholinesterase, anti-oxidant, anti-glucosidase, anti-inflammatory and anti-bacterial effect of three traditional medicinal plants. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 28 (6), 1155-1164.  
DOI: <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.969877>
- Gong, G., Qin, Y., Huang, W. (2011) Anti-thrombosis effect of diosgenin extract from *Dioscorea zingiberensis* CH Wright *in vitro* and *in vivo*. *Phytomedicine*, 18 (6), 458-463.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.08.015>
- Haghmorad, D., Mahmoudi, M. B., Haghghi, P., Alidadiani, P., Shahvazian, E., Tavasolian, P., Mahmoudi, M. (2019) Improvement of fertility parameters with *Tribulus terrestris* and *Anacyclus Pyrethrum* treatment in male rats. *International Brazilian Journal of Urology*, 45, 1043-1054.  
DOI: <https://doi.org/10.1590/S1677-5538.IBJU.2018.0843>
- Chen, P. S., Shih, Y. W., Huang, H. C., Cheng, H. W. (2011) Diosgenin, a steroidal saponin, inhibits migration and invasion of human prostate cancer PC-3 cells by reducing matrix metalloproteinases expression. *PLoS one*, 6 (5), e20164.
- Chen, Y., Quinn, J. C., Weston, L. A., Loukopoulos, P. (2019) The aetiology, prevalence and morbidity of outbreaks of photosensitisation in livestock: A review. *PLoS One*, 14 (2), e0211625.  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211625>
- Choi, K. W., Park, H. J., Jung, D. H., Kim, T. W., Park, Y. M., Kim, B. O., Pyo, S. (2010) Inhibition of TNF- $\alpha$ -induced adhesion molecule expression by diosgenin in mouse vascular smooth muscle cells via downregulation of the MAPK, Akt and NF- $\kappa$ B signaling pathways. *Vascular pharmacology*, 53 (5-6), 273-280.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vph.2010.09.007>
- Jayaprakasam, B., Zhang, Y., Seeram, N. P., Nair, M. G. (2003) Growth inhibition of human tumor cell lines by withanolides from *Withania somnifera* leaves. *Life sciences*, 74 (1), 125-132.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.07.007>
- Jesus, M., Martins, A. P., Gallardo, E., Silvestre, S. (2016) Diosgenin: recent highlights on pharmacology and analytical methodology. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*.  
DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/4156293>
- Jiang, S., Fan, J., Wang, Q., Ju, D., Feng, M., Li, J., Guan, Z., Ye, L. (2016) Diosgenin induces ROS-dependent autophagy and cytotoxicity via mTOR signaling pathway in chronic myeloid leukemia cells. *Phytomedicine*, 23 (3), 243-252.
- Kalailingam, P., Kannaian, B., Tamilmani, E., Kaliaperumal, R. (2014) Efficacy of natural diosgenin on cardiovascular risk, insulin secretion, and beta cells in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 21 (10), 1154-1161.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.04.005>
- Kamenov, Z., Fileva, S., Kalinov, K., Jannini, E. A. (2017) Evaluation of the efficacy and safety of *Tribulus terrestris* in male sexual dysfunction—a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Maturitas*, 99, 20-26.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2017.01.011>
- Khiaosa-Ard, R., Zebeli, Q. (2013) Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. *Journal of Animal Science*, 91 (4), 1819-1830.  
DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5691>
- Kim, D. S., Jeon, B. K., Lee, Y. E., Woo, W. H., Mun, Y. J. (2012) Diosgenin induces apoptosis in HepG2 cells through generation of reactive oxygen species and mitochondrial pathway. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.  
DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/981675>
- Kostova, I., Dinchev, D. (2005) Saponins in *Tribulus terrestris*—chemistry and bioactivity. *Phytochemistry reviews*, 4, 111-137.
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. (2016) MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33 (7), 1870-1874.  
DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Liu, K., Zhao, W., Gao, X., Huang, F., Kou, J., Liu, B. (2012) Diosgenin ameliorates palmitate-induced endothelial dysfunction and insulin resistance via blocking IKK $\beta$  and IRS-1 pathways. *Atherosclerosis*, 223 (2), 350-358.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.06.012>
- Lutowski, J., Kowalwski, Z., Drost, K., Schmidt, K. (1967) Simple carboline alkaloids in thin layer chromatography of harman alkaloids occurring in plant material and in preparations of *Passiflora incarnata*, *Zygophyllum fabago*, *Tribulus terrestris*. *Herba Polonica*, 13, 44-52.

- Manivannan, J., Arunagiri, P., Sivasubramanian, J., Balamurugan, E. (2013) Diosgenin prevents hepatic oxidative stress, lipid peroxidation and molecular alterations in chronic renal failure rats. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 3 (3), 289-293.
- Marques, M. A. A., Lourenço, B. H. L. B., Reis, M. D. P., Pauli, K. B., Soares, A. L., Belettini, S. T., Donatel, G., Palozzi, R. A. C., Froehlich, D. L., Livero, F. A., Gasparotto, A., Lourenço, E. L. B. (2019) Osteoprotective Effects of *Tribulus terrestris* L.: Relationship Between Dehydroepiandrosterone Levels and Ca<sup>2+</sup>-Sparing Effect. *Journal of medicinal food*, 22 (3), 241-247. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2018.0090>
- Martino-Andrade, A. J., Morais, R. N., Sperscoski, K. M., Rossi, S. C., Vechi, M. F., Golin, M., Lombardi, N. F., Greca, C. S., Dalsenter, P. R. (2010) Effects of *Tribulus terrestris* on endocrine sensitive organs in male and female Wistar rats. *Journal of ethnopharmacology*, 127 (1), 165-170. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.031>
- Navarro, G., Allard, C., Xu, W., Mauvais-Jarvis, F. (2015) The role of androgens in metabolism, obesity, and diabetes in males and females. *Obesity*, 23 (4), 713-719. DOI: <https://doi.org/10.1002/oby.21033>
- Negi, P. S. (2012) Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International journal of food microbiology*, 156(1), 7-17. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodmicro.2012.03.006>
- Neychev, V. K., Mitev, V. I. (2005) The aphrodisiac herb *Tribulus terrestris* does not influence the androgen production in young men. *Journal of Ethnopharmacology*, 101 (1-3), 319-323. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.017>
- Neychev, V., Mitev, V. I. (2016) Pro-sexual and androgen enhancing effects of *Tribulus terrestris* L.: fact or fiction. *Journal of Ethnopharmacology*, 179, 345-355. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.055>
- Patra, A. K., Saxena, J. (2011) Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91 (1), 24-37. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4152>
- Qureshi, A., Naughton, D. P., Petroczi, A. (2014) A systematic review on the herbal extract *Tribulus terrestris* and the roots of its putative aphrodisiac and performance enhancing effect. *Journal of Dietary Supplements*, 11 (1), 64-79. DOI: <https://doi.org/10.3109/19390211.2014.887602>
- Rajendar, B., Bharavi, K., Rao, G. S., Kishore, P. V. S., Kumar, P. R., Kumar, C. S., Patel, T. P. (2011) Protective effect of an aphrodisiac herb *Tribulus terrestris* Linn on cadmium-induced testicular damage. *Indian journal of pharmacology*, 43(5), 568.
- Raju, J., Mehta, R. (2008) Cancer chemopreventive and therapeutic effects of diosgenin, a food saponin. *Nutrition and cancer*, 61 (1), 27-35. DOI: <https://doi.org/10.1080/01635580802357352>
- Raju, J., Rao, C. V. (2012) Diosgenin, a steroid saponin constituent of yams and fenugreek: emerging evidence for applications in medicine. *Bioactive Compounds in Phytomedicine*, 125 (143), 1-19.
- Roaiah, M. F., El Khayat, Y. I., GamalEl Din, S. F., Abd El Salam, M. A. (2016) Pilot study on the effect of botanical medicine (*Tribulus terrestris*) on serum testosterone level and erectile function in aging males with partial androgen deficiency (PADAM). *Journal of Sex and Marital Therapy*, 42 (4), 297-301. DOI: <https://doi.org/10.1080/0092623X.2015.1033579>
- Roghani-Dehkordi, F., Roghani, M., Baluchnejadmojarad, T. (2015) Diosgenin mitigates streptozotocin diabetes-induced vascular dysfunction of the rat aorta: the involved mechanisms. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 66 (6), 584-592.
- Şahin, A. (2009) Effects of dietary *Tribulus terrestris* L. Powder on growth performance, body components and digestive system of broiler chicks. *Journal of Applied Animal Research*, 35 (2), 193-195. DOI: [https://doi.org/10.1501/Tarimbil\\_0000001147](https://doi.org/10.1501/Tarimbil_0000001147)
- Sahin, K., Orhan, C., Akdemir, F., Tuzcu, M., Gencoglu, H., Sahin, N., Turk, G., Yilmaz, I., Ozercan, I. H., Juturu, V. (2016) Comparative evaluation of the sexual functions and NF-κB and Nrf2 pathways of some aphrodisiac herbal extracts in male rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16, 1-11.
- Samani, N. B., Jokar, A., Soveid, M., Heydari, M., Mosavat, S. H. (2016) Efficacy of *Tribulus terrestris* extract on the serum glucose and lipids of women with diabetes mellitus. *Iranian Journal of Medical Sciences*, 41 (3 Suppl), S5.
- Sanagoo, S., Oskouei, B. S., Abdollahi, N. G., Salehi-Pourmehr, H., Hazhir, N., Farshbaf-Khalili, A. (2019) Effect of *Tribulus terrestris* L. on sperm parameters in men with idiopathic infertility: A systematic review. *Complementary therapies in medicine*, 42, 95-103. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2018.09.015>
- Sellami, M., Slimeni, O., Pokrywka, A., Kuvačić, G., D Hayes, L., Milic, M., Padulo, J. (2018) Herbal medicine for sports: a review. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 15 (1), 14. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12970-018-0218-y>
- Sellandi, T. M., Thakar, A. B., Baghel, M. S. (2012) Clinical study of *Tribulus terrestris* Linn. in Oligozoospermia: A double blind study. *An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda*, 33 (3), 356.
- Semerdjieva, I. B., Zheljazkov, V. D. (2019) Chemical constituents, biological properties, and uses of *Tribulus terrestris*: A Review. *Natural Product Communications*, 14 (8), 1934578X19868394. DOI: <https://doi.org/10.1177/1934578X19868394>
- Seyedan, A., Alshawsh, M. A., Alshagga, M. A., Koosha, S., Mohamed, Z. (2015) Medicinal plants and their inhibitory activities against pancreatic lipase: a review. *Evidence-based complementary and alternative medicine*. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/973143>
- Shaheen, G., Akram, M., Jabeen, F., Ali Shah, S. M., Munir, N., Daniyal, M., Riaz, M., Tahir, I. M., Ghauri, A. O., Sultana, S., Zainab, R., Khan, M. (2019) Therapeutic potential of medicinal plants for the management of urinary tract infection: A systematic review. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 46 (7), 613-624. DOI: <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13092>
- Sharifi, A. M., Darabi, R., Akbarloo, N. (2003) Study of antihypertensive mechanism of *Tribulus terrestris* in 2K1C hypertensive rats: role of tissue ACE activity. *Life Sciences*, 73 (23), 2963-2971. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.04.002>
- Singh, E., Sharma, S., Pareek, A., Dwivedi, J., Yadav, S., Sharma, S. (2012) Phytochemistry, traditional uses and cancer chemopreventive activity of Amla (*Phyllanthus emblica*): The Sustainer. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, (Issue), 176-183.
- Stepanyan, M. S. (1963) Some alkaloids in plants-behavior and toxicity in the winter pasture of the Jeyranjala Masivi. *Izvestia Academia Science Armenian SSR, Biologist Science*, 16, 77-83.
- Tabakova, P., Dimitrov, M., Tashkov, B. (2012) Clinical studies on *Tribulus terrestris* protodioscin in women with endocrine infertility or menopausal syndrome. *Herbpharm USA*.
- Tomova M, Gyulemetova R (1978) Steroid saponin. VI. Furostanol bisglykosidaus *Tribulus terrestris* L. *Planta medica* 34, 188-191.
- Tomova, M., Gyulemetova, R., Zarkova, S., Peeva, S., Pangarova, T., Simova, M. (1981, September) Steroidal saponins from *Tribulus terrestris* L. with a stimulating action on the sexual functions. In: *Proceedings of the First International Conference on Chemical, Biotechnological and Biologically Active Natural Products*, Vol. 3, pp. 299-303.

- Ugbogu, E. A., Elghandour, M. M., Ikpeazu, V. O., Buendía, G. R., Molina, O. M., Arunsi, U. O., Emmanuel, O., Salem, A. Z. (2019) The potential impacts of dietary plant natural products on the sustainable mitigation of methane emission from livestock farming. *Journal of Cleaner Production*, 213, 915-925.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.233>
- Valentová K., Entnerová P., Urbaníková J., Šimánek V. (2004) Chemie mužské sexuality. *Chemické listy*, Roč. 98, č. 12, s. 1125
- Viktorov, I. V., Kaloyanov, A. L., Lilov, L., Zlatanova, L., Kasabov, V. (1982) Clinical investigation on Tribestan in males with disorders in the sexual function. *Med. Biol. Inform. (Pharmachim, Bulgaria, company documentation)*.
- Wu, T. S., Shi, L. S., Kuo, S. C. (1999) Alkaloids and other constituents from *Tribulus terrestris*. *Phytochemistry*, 50 (8), 1411-1415.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)01086-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)01086-8)
- Wu, Y., Yang, H., Wang, X. (2017) The function of androgen-androgen receptor and insulin growth factor 1-insulin growth factor 1 receptor on the effects of *Tribulus terrestris* extracts in rats undergoing high intensity exercise. *Molecular Medicine Reports*, 16 (3), 2931-2938.  
DOI: <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6891>
- Yan, C. H. E. N., You-Mei, T. A. N. G., Su-Lan, Y. U., Yu-Wei, H. A. N., Jun-Ping, K. O. U., Bao-Lin, L. I. U., Bo-Yang, Y. U. (2015) Advances in the pharmacological activities and mechanisms of diosgenin. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 13 (8), 578-587.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(15\)30053-4](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(15)30053-4)
- Yazdi, F. F., Ghalamkari, G., Toghyani, M., Modaresi, M., Landy, N. (2014) Efficiency of *Tribulus terrestris* L. as an antibiotic growth promoter substitute on performance and immune responses in broiler chicks. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4, S1014-S1018.
- Zábranský, L., Gálik, B., Poborská, A., Hadačová, V., Šoch, M., Lád, F., Petrášková, E., Frejlich, T. (2019) Influence of probiotic feed supplements on functional status of rumen. *Journal of Central European Agriculture*, 20 (4), 1044-1054.  
DOI: <https://doi.org/10.5513/JCEA01/20.4.2157>
- Zabransky, L., Poborska, A., Mala, G., Galik, B., Petraskova, E., Kernerova, N., Hanusovsky, O., Kucera, J. (2021) Probiotic and prebiotic feed additives in Calf nutrition. *Journal of Central European Agriculture*, 22 (1), 14-18. DOI: <https://doi.org/10.5513/JCEA01/22.1.3057>
- Zábranský, L., Šoch, M., Brouček, J., Novák, P., Tejml, P., Jírotková, D., Petrášková, E., Raabová, M., Smutný, L., Jahnová, Z., Smutná, Š. (2015) Influence of selected feed supplements on the growth and health of calves depending on the sex, season of birth, and number of the dam's lactations. *Acta Veterinaria Brno*, 84 (3), 269-275.
- Zhang, S., Li, H., Yang, S. J. (2010) Tribulosin protects rat hearts from ischemia-reperfusion injury. *Acta Pharmacologica Sinica*, 31 (6), 671-678.
- Ziyyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Dassouli, A., Serhrouchni, M., Benjelloun, W. (1997) Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of Ethnopharmacology*, 58 (1), 45-54.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00077-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00077-9)