

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmakognosie

FARMAKOLOGICKÉ HODNOCENÍ NATI NEPETA CATARIA
(LAMIACEAE)

(diplomová práce)

Vypracovala: Lucie Jiruchová

Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Jiřina Spilková, CSc.

Oponent: PharmDr. Marie Kašparová, PhD.

Datum zadání: 29.10.2004

Termín odevzdání: 15.5.2006

Datum obhajoby: 6.6.2006

180

Katedra
farmakognosie
Farmaceutická fakulta
v Hradci Králové

Děkuji Doc. RNDr. Jiřině Spilkové, CSc. za odborné vedení a pomoc při zpracování diplomové práce, za cenné připomínky a vstřícný přístup při konzultacích.

Prohlašuji, že jsem na této diplomové práci pracovala samostatně pod odborným dohledem svého školitele a použila pouze uvedenou literaturu.

V Hradci Králové, 9.5.2006

.....*jiřina*.....

OBSAH

1. Úvod	5
2. Cíl práce	6
3. Teoretická část	7
3.1. Charakteristika rodu <i>Nepeta</i> L.-šanta.....	7
3.1.1. <i>Nepeta cataria</i> L.-šanta kočičí.....	7
3.1.2. Další druhy na území ČR.....	9
3.2. Obsahové látky.....	10
3.2.1. Silice.....	10
3.2.2. Flavonoidy.....	11
3.2.3. Další obsahové látky.....	12
3.3. Účinky a použití.....	13
3.3.1. Účinky silice.....	13
3.3.2. Antioxidační aktivita.....	15
3.3.3. Antimikrobiální aktivita.....	15
4. Experimentální část	16
4.1. Materiál, chemikálie, přístroje, pomůcky.....	16
4.2. Stanovení hydroxyskořicových derivátů.....	17
4.3. Stanovení antioxidační aktivity.....	18
4.4. Stanovení obsahu silice.....	18
4.5. Chromatografické hodnocení.....	19
4.5.1. Důkaz flavonoidů.....	19
4.5.2. Důkaz terpenů.....	19
4.5.2. Silice.....	20
4.6. Mikroskopie.....	20
5. Výsledky	21
5.1. Stanovení hydroxyskořicových derivátů.....	21
5.2. Antioxidační aktivita.....	22
5.3. Stanovení obsahu silice.....	27
5.4. Tenkovrstvá chromatografie.....	28
5.5. Mikroskopie.....	31
6. Diskuze	36
7. Závěr	38
8. Literatura	39

1. Úvod

Z velkého počtu rostlin je popsána a využívána stále jen relativně malá část. Pro fytochemický výzkum jsou zajímavé rostliny používané v různých částech světa. Příkladem může být rod *Nepeta* – šanta. Většina druhů jsou rostliny divoce rostoucí zejména ve střední a jižní Evropě, severní Africe a střední a jižní Asii. Několik druhů se ale vyskytuje i na našem území. Jako okrasné léčivé rostliny se pěstují zejména *Nepeta cataria* a *N. cataria* var. *citriodora*.

V Evropě a Číně jsou léčivé účinky šanty (*Nepeta cataria* L.) známy déle než 2000 let [1]. Z historie je o čaji z byliny známo, že byl považován za lék proti nachlazení, kašli, horečnatým onemocněním. Tradičně byla droga používána jako sedativum, ke zklidnění při zažívacích problémech, menstruačních bolestech, nadýmání, průjmeh u dětí. Kojencům se dával kolem krku malý sáček s bylinou, aby vdechovali uklidňující vůni. Směs stejného dílu šanty a šafránu byla v minulosti doporučována k léčbě planých neštovic a spály, listy se žvýkaly, aby si lidé ulevili při bolesti zubů, kouřily se při léčbě bronchitidy a astmatu.

V době královny Alžběty I. se v Anglii ze šanty připravoval čaj, oblíbený až do doby rozšíření používání čaje z čajovníku. Spolu s přistěhovalci se rostlina dostala i do Severní Ameriky a rychle zdomácněla. V oficiálním seznamu léčiv byla v letech 1842 – 1882 zapsána jako lék uklidňující žaludek a ve sbírce lékařských předpisů byla zmiňována až do r. 1950 [1]. Tradičně je známo, že šanta přitahuje kočky, u nichž navozuje euforické stavy.

V evropském lidovém léčitelství se tradičně používaly i další druhy r. *Nepeta*, např. *Nepeta sibthorpii* Bentham, domácí v Řecku, a to obdobně jako *Nepeta cataria*. Některé tradiční způsoby využití jsou současnými výzkumy potvrzeny a rovněž studium obsahových látek přináší zajímavé informace.

Rostlina je považována za nejedovatou, resp. dosud nebyla doložena její nebezpečnost pro člověka.

2. Cíl práce

Cílem práce bylo studium mikroskopických znaků, umožňujících identifikaci drogy *Nepetae catariae herba* a důkaz a stanovení obsahových látek drogy různého původu. Součástí fytochemického hodnocení bylo také testování antiradikálové aktivity etanolových extraktů drogy.



3. Teoretická část

3.1. Charakteristika rodu *Nepeta L.* (syn. *Cataria* ADANS) – šanta [2]

Rod zahrnuje asi 60 druhů v Eurasii a severní Africe, s těžištěm diverzity ve Středozeří a jihozápadní Asii [2].

Jedná se o vytrvalé byliny na bázi někdy dřevnatějící, s vystoupavými nebo přímými, větvenými lodyhami. Listy na lodyze jsou rovnoměrně rozložené, zpravidla celistvé, řapíkaté nebo přisedlé, trojúhelníkovitě vejčité až podlouhle eliptické, vroubkovaně zubaté. Květy se nacházejí ve více méně řídkých, často stopkatých lichopřeslenech nebo víceramenných vrcholcích, skládajících řídké nebo kompaktní lichoklasy. Kalich je trubkovitý nebo trubkovitě zvonkovitý, patnáctižilný, mírně souměrný, s pěti mírně nestejnými (horní zpravidla delší), úzce trojúhelníkovitými, kopinatými až sedlovitými cípy, kališní trubka je zpravidla v horní části mírně dolů ohnutá; koruna souměrná, výrazně dvouplyská, bílá, růžová až modrofialová, s více méně dlouhou trubkou, s horním pyskem plochým, rovným, dvoulaločným a dolním sehnutým, trojlaločným, s nápadně velkým, mističkovitě vně vyklenutým a na okraji zpravidla zubatým středním lalokem; tyčinky čtyři, těsně vedle sebe postavené, souběžně vybíhající pod horní pysk, dvě horní (zadní) delší, nitky pod prašníkem jsou s malým zoubkem. Plodem jsou tvrdky, které jsou zploštělé elipsoidní až obvejcovité, na povrchu nejčastěji s bradavčitou skulpturou, na bázi se zalomenou bílou rýhou (raphe).

3.1.1. *Nepeta cataria L.*- šanta kočičí

Synonymum: *Cataria vulgaris* MOENCH, *Glechoma cataria* (L.)

Vytrvalé aromatické byliny s dřevnatějícím kořenem. Lodyhy jsou jednotlivé nebo po několika vyrůstající z rozvětvené kořenové hlavy, přímé, 30-70 (-100) cm vysoké, v horní polovině větvené, výrazně čtyřhranné s hranami oblými, mírně vystouplými a zpravidla světlejšími, jemně a velmi hustě pýřitě šedochlupaté jednoduchými, cca 0,2mm dlouhými, rovnovážně odstálými a obloukem nazpět zahnutými chlupy.

Listy jsou řapíkaté, čepel trojúhelníkovitá až trojúhelníkovitě vejčitá, nejčastěji 4-6 cm dlouhá, 2-4 cm široká, špičatá, na okraji hrubě pravidelně vroubkovaně pilovitá, na bázi uťatá až mírně srdčitá, na obou stranách kratičce [0,1-0,2(-0,3) mm] hustě pýřitá

(odění na rubu znatelně hustější), s přimíšenými přisedlými siličnými žlázkami, barva listu je na líci zelená až tmavě zelená, na rubu šedozelená; řapík dolních listů až 3(-4)-cm dlouhý, u středních a horních listů nejčastěji 1,0-1,5 cm dlouhý.

Lichoklasy koncové, krátké, 3-4(-8) cm dlouhé, řídké a na bázi často přetřhované, složené z lichopřeslenů vyrůstajících v úžlabí listenů podobných listům. Listence uvnitř květenství jsou drobné, kopinaté až šídlovité, nenápadné; květy jsou krátce stopkaté. Kalich je souměrný, ca 6 mm dlouhý, asi do $\frac{1}{4}$ členěný v trojúhelníkovité, nestejně dlouhé (horní delší), ostře špičaté, ven vyhnuté cípy, vně hustě pýřitý, uvnitř lysý, jen v ústí s několika dlouhými, rovnovážně odstálými chlupy, někdy fialově naběhlý. Kališní trubka je úzká, na bázi asymetricky mírně rozšířená, za plodu baňkovitě nafouklá, mezi tmavě zelenými žilkami bělavě zelená. Koruna je nažloutle (smetanově) bílá, někdy slabě namodralá nebo nafialovělá, s drobnými červenofialovými skvrnkami na středním laloku dolního pysku, s korunní trubkou úzkou, mírně skloněnou, přibližně zděli kalicha; tyčinky i čnělka mírně vyčnívající z korunní trubky, prašníky ca 0,5 mm dlouhé, fialové; podsemeníkový žláznatý val je čtyřlaločný s nejdelším předním a nejkratšími postranními laloky. Laloky jsou celistvé, blizna světle fialová.

Tvrdky jsou zploštěle vejcovité až elipsoidní, 1,2-1,7 mm dlouhé, ca 1 mm široké, hnědé, na vrcholu obvykle tmavší, matné, se zrnitou skulpturou, na vrcholu drobně bradavčité [2].

Nepeta cataria se vyskytuje zejména na rumišťích, patách zdí, kamenitých svazích, okrajích polních cest, pobřežních porostech podél potoků, v blízkosti sídel apod. Nejčastěji na suchých, výhřevných, živinami bohatých půdách.

Druh je v ČR nepůvodní, v nejteplejších oblastech snad jako archeofyt. Jako následek dřívějšího hojného pěstování se vyskytuje roztroušeně po celém území s výjimkou chladnějších oblastí, kde je vzácný nebo chybí. Zpravidla roste v bezprostředním okolí sídel, pouze na jižní Moravě se častěji nalézá mimo obce. Výškového maxima 750 m dosahuje na více nalezištích (Krušné Hory, Pohraniční, 770 m, Krkonoše, Pec pod Sněžkou, 750 m), nejvýše položené nálezy pocházejí z jižních Čech (Přimda, Zámecký vrch, 830 m) [2].

Význam:

Dříve byla rostlina často pěstovaná v zahradách jako léčivá rostlina, ve var. *citriodora* s obdobným použitím jako *Melissa officinalis*. Nežádka záměrně šířena i jako nektarodárná rostlina [2].

3.1.2. Další druhy na území ČR

Nepeta nuda L. – šanta lesostepní

Synonymum: *Nepeta pannonica* L., *N. nuda* subsp. *pannonica* (L.)

U nás se vyskytuje výrazně ostrůvkovitě v severozápadních a středních Čechách a na jižní a střední Moravě. Územím ČR probíhá část sz. hranice celkového rozšíření druhu. Pravděpodobně občas pěstována a zplaňující, primární a sekundární výskyty však není vždy snadné rozlišit [2].

Nepeta Grandiflora M. Bieberstein – šanta velkokvětá

Synonymum.: *Nepeta melissifolia* PERS., *N. colorada* WILLD.

U nás občas pěstována (např. Kolín, Litomyšl, Olomouc, Praha), pravděpodobně od 1. poloviny 19. století jako dekorativní nebo nektarodárná rostlina [2].

Nepeta Racemosa LAM. – šanta hroznovitá

Synonymum: *Nepeta mussinii* SPRENG. ex HENCKEL

Dost často je pěstována jako nenáročná skalnička nebo záhonová trvalka v parcích apod. Pochází z Malé Asie, Kavkazu a Zakavkazí. Na vhodných stanovištích, např. ve starých lomech a na nezastíněných kamenitých stráních poměrně snadno zplaňuje [2].

Nepeta × Faaseni BERGMANS ex STEARN – šanta zkrížená

Synonymum: *Nepeta × faaseni* BERGMANS - *N mussinii* auct.

Jedná se o hybridní taxon vzniklý v kultuře zkřížením kavkazského druhu *N. racemosa* LAM. a pravděpodobně *N. nepetella* L. z jihozápadní Evropy. Občas je pěstována jako skalnička nebo záhonová trvalka; snadno zplaňuje a na místech, kde není ohrožena zástínem, může vytrvávat mnoho let [2].

3.2. Obsahové látky

3.2.1. Silice

Ve složení silice jsou mezidruhové rozdíly. Silice všech druhů *Nepeta* obsahuje nepetalakton, epinepetalakton a karyofylen. *N. cataria* obsahuje asi 0,2% silice [3]. Silici *N. cataria* tvoří ze 77% nepetalakton [3], který byl jako nový monoterpen popsán v roce 1972 [4]. V silici tohoto druhu je dále přítomen kafr (0,8%) [3]. Z dalších látek jsou obsaženy: epinepetalakton (15%), dihydronepetalakton (0,3%), karyofylen (2,8%) a humulen (0,3%) [3].

Poměr mezi nepetalaktonem a epinepetalaktonem v jednotlivých rostlinách pěstovaných v různých oblastech je proměnlivý v závislosti na místě výskytu. Kolísá od 99,9% k 0,1%. [5].

Degradační produkty nepetalaktonu a epinepetalaktonu jsou dimetyl α -nepetalináty a během izolace a analýzy nebyl jejich výskyt potvrzen [5].

Studiem složení těkavých látek *N. cataria* rostoucí v Litvě bylo zjištěno, že silice se skládá z 4 α ,7 α ,7 α β -nepetalaktonu (11,4-56,9%), β -karyofylenu (6,2-24,6%), karyofylen oxidu (14,3-18,2%), 4 α ,7 α ,7 α -nepetalaktonu (1,3-2,8%) a 3,4 β -dihydro-4 α ,7 α ,7 α -nepetalaktonu [6]. Složení se liší v závislosti na vegetačním období. Silice *Nepeta cataria* ze dvou rozdílných bulharských zdrojů je složena převážně z terpenoidů jako je 4 α ,7 α ,7 α -nepetalakton (11 a 6%) a 4 α ,7 α ,7 α β -nepetalakton (24 a 78%), nepetalové kyseliny (1,2 a 1,6%), 3,4 β -dihydro-4 α ,7 α ,7 α β -nepetalakton (10%) a 3,4 α -dihydro-4 α ,7 α ,7 α β -nepetalakton (15%) [6]. Silice z *N. cataria* rostoucí v provincii Cordoba v Argentině je složena převážně z nepetalaktonu (57,3%), karyofylen oxidu (19,35%), β -karyofylenu (8,1%), dihydronepetalaktonu (3,43%), β -farnesenu (2,14%), humulen oxidu (1,63%) a α -humulenu (1,27%) [6].

Při zkoumání hlavních složek silice v *N. cataria var. citriodora* byly zjištěny rozdíly v závislosti na původu rostliny. Např. v silici z oblasti Francie byly hlavní součásti geraniol (25,13-31%), nerol (19,95-30,7%), citronelol (11,44-16,73%) a geranial (4,93-11,05%). Z jiné oblasti jsou to citronelol (15,6%), elemol (11,9%), geraniol (9,5%), β -elemen (7,5%), nerol (3,7%). V další studii byl jako hlavní součást zjištěn 1,8-cineol (28-48%) [6].

Zajímavé je porovnání obsahových látek u *N. cataria L. var. citriodora* a *Melissa officinalis*. Obsah a složení silice u šanty není během vegetace tak proměnlivé jako je tomu u meduňky. Obsah ursolové kyseliny je u šanty přibližně třikrát vyšší než u meduňky, ale rozmarýnové kyseliny asi desetkrát menší než u meduňky. Obsah a složení flavonoidů je podobné [8].

Z provedených studií je zřejmé, že pro rod *Nepeta* je charakteristický chemický polymorfismus těkavých látek. Složení je určováno odrůdou, místem výskytu a klimatickými podmínkami. Obecně jsou tedy dva chemotypy rodu *Nepeta*. Pro jeden jsou dominantní složkou nepetalaktony a pro druhý jsou to deriváty citralu [6].

3.2.2. Flavonoidy

Klasifikace rodu *Nepeta* se dosud opírala zejména o morfologické znaky, které jsou velmi variabilní a neodrážejí fylogenetické vztahy mezi druhy. Některé nejasnosti v klasifikaci jsou důsledkem výskytu malého počtu spolehlivých morfologických znaků u jednotlivých druhů. Proto byly k objasnění vztahů mezi druhy rodu *Nepeta* využívány i rozdíly ve spektru obsahových látek. Zajímavé informace využitelné pro taxonomii jsou získávány ze studia flavonoidů na listovém povrchu [9]. Tyto flavonoidy vyskytující se ve formě aglykonů jsou lipofilní a nejsou obecně rozšířené ve vyšších rostlinách. Flavonoidy na povrchu listů jsou typické pro čeleď *Lamiaceae*, zvláště v podčeledi *Nepetoideae*. Jejich přítomnost je často v korelaci s tvorbou dalších lipofilních sekundárních látek jako jsou terpenoidy v silici [10]. Tyto směsi flavonoidů a terpenoidů slouží jako „clona“ UV záření, pro snížení tepla, jako antimikrobiální látka nebo jako odpuzovač žravého hmyzu [11].

V čeledi *Lamiaceae* (kam patří i rod *Nepeta*) bylo identifikováno nejméně 147 strukturálně rozdílných flavonoidů vyskytujících se na povrchu listů. Chemotaxonomicky

významné jsou flavonoidy např. pro klasifikaci rodu *Thymus* [12], *Teucrium* [13] a *Ocimum* [14].

HPLC analýzou flavonoidů v 38 druzích *Nepeta* rostoucích v Iránu bylo zjištěno, že nejčastěji se vyskytujícími flavonoidy jsou: cirsimaritin (5,4'- dihydroxy- 6,7- dimethoxyflavon), někdy doprovázený jeho 4'-methyleterem (salvigenin), 8- hydroxycirsimaritin, nazývaný isothymusin (dokázaný v 30 druzích) a také genkwanin (5, 4'- dihydroxy- 7- methoxyflavon) dokázaný ve 20 druzích. Isothymusin je velmi nestálý a během sušení se rozkládá [15]. Z tohoto důvodu může v některých extraktech chybět, ale to nemusí znamenat, že se tyto flavonoidy v daných rostlinách netvoří.

Genkwanin je zřejmě prekurzorem v biosyntéze cirsimaritinu a 8-hydroxycirsimaritinu.

Často se vyskytovaly také apigenin a 8-hydroxysalvigenin. Zajímavé je, že thymusin (5,6- dihydroxy-7,8-dimethoxyflavon) byl nalezen jen v jednom druhu *Nepeta*. Tato sloučenina je charakteristická např. pro *Menthae* (*Thymus* sp., *Mentha* sp.) [9], ale není charakteristická pro rod *Nepeta* [17].

Za chemotaxonomický znak typický pro rod *Nepeta* je možno považovat výskyt flavonů s 5- hydroxy, 6, 7- methoxyskupinou na kruhu A (tj. cirsimaritin, salvigenin) a neobvyklé substituce 5, 8- dihydroxy, 6, 7- dimethoxyskupinou na kruhu A (jako je tomu u 8- hydroxycirsimaritinu, 8- hydroxysalvigeninu a 8- hydroxycirsiliolu). Substituce na kruhu A je totiž významná pro *Lamiaceae* z hlediska fylogeneze [17].

3.2.3. Další obsahové látky

Z nati *Nepeta cataria* byly izolovány 1,5,9 – epideoxyloganová kyselina a iridoidní glukosid nepetasid [16].

V nati *Nepeta cataria* var. *citriodora* byly z obsahových látek identifikovány: kys. ursolová (1,3%), glukosid β - sitosterolu, β - sitosterol, kampestrol, α , β - amyrylin, kyselina kávová, kys.rozmarýnová, kys.kumarová (obsah posledních 3 kyselin byl 1,4%), apigenin, luteolin a jejich glykosidy (0,45%). Silice obsahuje citral [8].

Nať *N. sibthorpii* (endemit z Řecka) obsahuje monoterpeny, seskviterpeny a nepetalaktony. Hlavní složka silice je epinepetalakton (4 α , 7 α , 7 β - nepetalakton). Izolovány byly kys.ursolová a polyfenoly. Z dalších látek byly identifikovány: kys.

chlorogenová, flavonoidy rutin, luteolin 7-O-glukosid a blíže neurčený derivát luteolinu [7].

3.3. Účinky a použití

Některé druhy rodu *Nepeta* se používají v Iránu v lidové medicíně nebo jako koření [17]. Listy a výhonky se používají do omáček, polévek a dušeného masa, jako koření v několika patentovaných nápojích, stolních vínech, středně sladkých likérech a šašlikových omáčkách [6].

Využití v lidové medicíně v Iránu nacházejí rostliny pro obsah silice a flavonoidů. Řada druhů se používá pro antiseptické a adstringentní účinky, ve formě lihových extraktů při kožních vyrážkách u dětí, štípnutí hmyzem nebo hadem [17].

Nepeta cataria má také antispasmodické, karminativní, sedativní, stimulační a posilující vlastnosti, díky nimž je v lidové medicíně používána. Působí také jako repelent proti hmyzu. Suché listy a kvetoucí vrcholky se používají k přípravě sedativních čajů [18]. Na začátku 17. století byla tato rostlina používána jako tonikum nebo jako dezinfekční prostředek při rýmě [6]. Prudký vzestup zaznamenalo využití šanty při léčbě různých potíží v lidové medicíně v 90. letech 20. století ve Spojených státech. Čaje, tinktury i pilulky, které obsahovaly šantu se používaly při horečkách, průjmech nebo např. slabé menstruaci [19].

Nepetalaktony, iridoidy obsažené v některých druzích rodu *Nepeta* působí antibakteriálně, fungicidně a antivirově [7].

V Řecku se lidově používají: *N. parnassica*, *N. troodi* – čerstvé listy se žvýkají při bolestech zubů, alkoholový macerát je vhodný k léčbě pohmoždění a revmatických bolestí. Methanolový extrakt nati *Nepeta sibthorpii* je aktivní na CNS, působí tlumivě, patrně přes GABAergní mediátory [7].

3.3.1. Účinky silice

Hlavní monoterpenoid v silici, nepetalakton, dokáže samice mšic (*Phorodon humuli*) přeměnit na nepetalaktoly, které jsou sexuálními feromony pro lákání samců těchto mšic [20, 21]. Bylo pozorováno velké přemnožení mšic na zkoumaných rostlinách a to bylo způsobeno pravděpodobně právě nepetalaktony. Např. švábi se *Nepeta cataria* vyhýbají, protože jsou pro ně nepetalaktony přirozeným hmyzím repelentem [22].

Mutantní forma *N. cataria* by mohla mít rozdílné typy nebo množství monoterpenoidů, a proto je vyhledávání těchto nových mutantů vhodné ke studování pro potencionální ekonomické využití [19].

N. cataria je pěstována např. ve Velké Británii a její nať je surovinou k výrobě feromonů (nepetalaktonu a nepetalaktolu) využitelných v zemědělství [23].

Insekticidní aktivita silice byla studována u několika druhů rostlin proti larvám *Spodoptera littoralis*. Bylo zjištěno, že silice z *N. cataria* aplikovaná jako fumigant je v koncentraci $LC_{50} \leq 10,0 \text{ ml/m}^3$ účinná proti larvám *S. littoralis* (podobně silně působila i silice *Thuja occidentalis*), při topické aplikaci byla $LD_{50} \leq 0,05 \mu\text{l/larva}$ [24].

Působení na kočky:

Je pravděpodobné, že deriváty nepetalaktonu nebo i jiných látek z *N. cataria* jsou feromony pro kočkovité. Reakce na šantu je specifická pro většinu kočkovitých, ne však pro všechny [19].

Tření zvířecí srsti o křehké štítnaté trichomy na listech šanty způsobuje rychlé porušení kutikuly a uvolnění silice ze subkutikulární dutiny. Silice pak buď přilne na zvířecí srst nebo se odpaří do vzduchu. Na srst koček se mohou zachytit i prodloužené trichomy s kutikulárními uzlinkami. Je možné, že se nepřímo podílejí na přenosu silic. Tyto voskovité útvary se možná chovají jako ostny, umožňující aby se prodloužené trichomy zachytily na zvířecí srsti dostatečně dlouho na to, aby se srst dostala do styku i se žlaznatými trichomy, které jsou o mnoho kratší a přisedlé na listech mezi krycími. „Lepivé“ kapky silic se pak uvolňují ze žlaznatých trichomů šanty a přiléhají na srst koček. V sekretu jsou přenášeny nepetalaktony a halucinogenní alkaloidy aktinidin a β -fenylethylalkohol. Tyto alkaloidy jsou i pro člověka halucinogenní a u koček mohou za nevypočitatelné chování, které se po styku s těmito látkami projevuje jako blouznění. Délka takového působení šanty je vzácně až 15 minut, což je snad maximální doba na to, aby kapičky silic vyprchaly z kočičí srsti do ovzduší. Usuzuje se, že při tření obličeje a lízání genitálií se halucinogenní složky primárně nejvíce absorbují přes mukózní membrány v nose, ústech a gonádách. Reakci koček na šantu pravděpodobně způsobuje pach, nikoli chuť nebo vstřebání fyziologicky aktivních složek do krve. Jiný závěr je, že halucinogenní látky reagují s látkami v kočičích análních nebo obličejových žlázách anebo s močí a vytvářejí feromony, které mohou být rozpoznány čichem [19].

3.3.2. Antioxidační aktivita

Antioxidační aktivita (AA) *N. cataria* původem z Řecka byla zjišťována Rancimátovým testem. AA byla vyjádřena jako tzv. ochranný faktor (PF) a pro vzorek nati činil 2,5, pro metanolový extrakt 2,1 (mezi testovanými rostlinami patřila k vysoce aktivním). Nositelem AA jsou fenolické látky, celkový obsah (vyjádřený v mg kys. gallové/g vysušené drogy) byl $19,2 \pm 0,3$. Zastoupení jednotlivých látek (v mg/100g vysušené nati) v extraktu bylo následující: kys.gallová: $1,9 \pm 0,02$, kys.kávová: $38,4 \pm 0,06$, kys.ferulová: $30,8 \pm 0,07$.

Množství flavonoidů (v mg/100g sušené drogy) v tomtéž extraktu bylo: luteolin: $3,6 \pm 0,02$, eriodictyol: $1,4 \pm 0,01$, (-) epikatechin: $1,2 \pm 0,01$. V rostlinách často se nacházející kvercetin, apigenin, rutin, naringenin, (+) katechin nebyly dokázány [25].

S antioxidační aktivitou spojená protizánětlivá aktivita byla zjištěna u methanolového extraktu z *Nepeta sibthorpii*. Závisí na synergickém působení všech obsahových látek extraktu. Za hlavního nositele aktivity může být považována ursolová kyselina [7].

3.3.3. Antimikrobiální aktivita

Hlavní složka *N. cataria*, nepetalaktony, vykazují antimikrobiální aktivitu [26]. Jiné druhy rodu *Nepeta* (*N. leucophylla*, *N. clarkei*) a jejich metabolity jsou sledovány pro antifungální aktivitu a *Nepeta hindostana* byla při použití proti plísňovým onemocněním účinnější než běžné syntetické fungicidy [27,28].

Eterový extrakt *N. cataria* je aktivní proti plísním a G + bakteriím [18]. Zkoumán byl také metanolový extract *N. cataria* a jeho antimikrobní aktivita na bakterie *E. coli*, *Salmonella enteridis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* a *Pseudomonas putida* a jen u poslední jmenované bakterie byla zjištěna nízká antimikrobiální účinnost [25].

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1. Materiál, chemikálie, přístroje, pomůcky

Materiál:

Nař *Nepeta cataria*

vzorek č. 1 - zakoupen v prodejně léčivých rostlin (dodavatel Natura s.r.o., Děčín)

vzorek č. 2 - modře kvetoucí, sběr rok 2005 na zahradě léčivých rostlin Farmaceutické fakulty v Hradci Králové

vzorek č. 3 - bíle kvetoucí, sběr rok 2004 na zahradě léčivých rostlin Farmaceutické fakulty v Hradci Králové

vzorek č. 4 - nař rostliny pěstované v květináči v laboratoři

vzorek č. 5 - modře kvetoucí, sběr rok 2004 na zahradě léčivých rostlin Farmaceutické fakulty v Hradci Králové

Chemikálie:

anisaldehyd č.

anisaldehyd 0,5% roztok v methanolu

bezvodý síran sodný p.a.

diphenylboryloxyethylamin (C. Roth, SRN)

diphenylboryloxyethylamin 1% roztok v methanolu (NST)

dusitan sodný p.a.

hydroxid sodný p.a.

hydroxid sodný zředěný 8,5%

chloralhydrát č.

roztok chloralhydrátu ve vodě (80g rozpuštěno ve 20ml vody)

kys.chlorovodíková p.a.

kys. chlorovodíková 0,5 mol/l

líh 50%

methanol p.a.

molybdenan sodný p.a.

xylén č.

1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, SRN)

Přístroje a pomůcky:

analytické váhy (Kern, SRN)
spektrofotometr (UV 1601, Shimadzu, Austrálie)
chromatografické desky SILUFOL
ultrazvuková lázeň SONOREX (Fisher Scientific)
vyhřív. box ISOTEMP (Fisher Scientific)
mikroskopy Olympus BX 41 a Olympus SZ 40

4.2. Stanovení hydroxyskořicových derivátů

Stanovení jsem provedla postupem podle článku *Melissae folium* (ČL 2002).

Příprava výluhu:

K 0,20 g práškované drogy (vzorek 1, 2) jsem přidala 190 ml lihu 50%, vařila 30 minut ve vodní lázni pod zpětným chladičem a po ochlazení zfiltrovala. Filtr jsem promyla 10 ml lihu 50%. Filtrát a promývací tekutinu jsem spojila v odměrné baňce a zředila lihem 50% na 200,0 ml.

Zkoušený roztok:

K 1,0 ml výluhu jsem ve zkumavce přidala 2 ml HCl 0,5 mol/l, 2 ml činidla připraveného rozpuštěním 10,0 g dusitanu sodného a 10,0 g molybdenanu sodného ve 100,0 ml vody, 2 ml NaOH zředěného, objem jsem doplnila vodou na 10,0 ml a promíchala. Ihned jsem měřila absorbanci zkoušeného roztoku při 505 nm proti kontrolnímu roztoku.

Kontrolní roztok:

Ve druhé zkumavce jsem k 1,0 ml výluhu přidala 2 ml HCl 0,5 mol/l, 2 ml NaOH zředěného a zředila vodou na 10,0 ml.

Obsah všech hydroxyskořicových derivátů v %, vyjádřeno jako kys. rozmarýnová, jsem vypočítala podle vzorce:

$$\frac{5A}{m}, \text{ kde } A \dots \text{ absorbance zkoušeného roztoku při } 505 \text{ nm}$$

m ... hmotnost drogy v gramech

U obou vzorků byla provedena 3 stanovení. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 1.

4.3. Stanovení antioxidační aktivity

Příprava roztoku činidla DPPH:

2,2 mg DPPH jsem kvantitativně převedla do odměrné baňky na 100,0 ml a rozpustila v methanolu. Baňku jsem pak na 5 minut umístila do ultrazvukové lázně a poté nechala ustálit hladinu na rysce.

Příprava výluhu:

Do baňky jsem odvážíla 0,025 g rozdrobněné drogy (355) (vzorky 1-5) a přidala 50 ml methanolu. Pak jsem baňku na 15 minut umístila do ultrazvukové lázně. Poté jsem výluh zfiltrovala do odměrné baňky a doplnila methanolem do 50,0 ml.

Postup stanovení:

Z připravených výluhů jsem postupně prováděla u každého vzorku 6 stanovení a to se zvyšujícím se množstvím výluhu od 0,1 ml do 0,6 ml. Přidávala jsem 1,8 ml roztoku činidla DPPH a reakční směs jsem doplňovala methanolem do 3,0 ml. Kontrolní roztok obsahoval 1,8 ml roztoku činidla DPPH a ethanol. Takto připravené směsi jsem pak ve zkumavkách nechala temperovat 30 minut při 37°C. Absorbanci jsem měřila při vlnové délce 517 nm. Antioxidační aktivitu jsem vypočítala ze vztahu :

$$\left(1 - \frac{A_{\text{vzorek}}}{A_{\text{DPPH}}}\right)100 = AA \text{ [% redukce DPPH]}$$

Výsledky jsou uvedeny v tabulkách č. 2-6 a grafu č.1.

4.4. Stanovení obsahu silice

Obsah silice jsem zjišťovala destilací postupem dle lékopisu.

25,0 g drogy (vzorek 1) jsem vpravila spolu s 500 ml vody a několika varnými kuličkami do baňky o objemu 1 litr a připojila k destilačnímu přístroji. Destilovala jsem do 0,5 ml xyleny. Po 4 hodinách jsem destilaci ukončila a ze stupnice na trubici odečetla množství získané silice. Trubicí jsem propláchla ještě 1,5 ml xyleny a silici vypustila přes nálevku s malým chomáčkem vaty a bezvodým síranem sodným do

předem zvážené váženky. Stanovení obsahu silice jsem provedla dvakrát, výsledky stanovení obsahu silic jsou uvedeny v tabulce č. 7.

4.5. Chromatografické hodnocení

4.5.1 Důkaz flavonoidů

Příprava výluhu:

K 0,25 g rozdrobněné drogy (vzorky 3, 5) jsem přidala 10 ml methanolu a 5 minut zahřívala pod zpětným chladičem při 60°C. Výluh jsem pak zfiltrovala do odměrné baňky na 10,0 ml a doplnila methanolem po rysku.

Mobilní fáze: ethylacetát - kys. octová - kys. mravenčí - voda (50+5,5+5,5+13,5)

Detekční činidlo: NST

Dělicí dráha: 10 cm

Nanáška : 30 µl vzorku, 5 µl roztoků standardů: rutin, hyperosid, chlorogenová kys., vše 0,1% roztok v ethanolu

Postup.

Po vyvinutí v mobilní fázi jsem desku zahřívala 5 minut v sušárně a pak postříkala detekčním činidlem NST. Chromatogram je schématicky znázorněn na obrázku č. 1.

4.5.2. Důkaz terpenů

Použit výluh i vzorky jako u TLC flavonoidů.

Mobilní fáze: toluen - ethylacetat (93+7)

Detekční činidlo: anisaldehyd, NST, 0,5% DPPH

Dělicí dráha: 10 cm

Nanáška : 50 µl vzorku, 10 µl roztoku standardu : hyperosid 0,01% v methanolu

Postup:

První detekci jsem provedla postřikem NST (flavonoidy). Druhou chromatografickou desku jsem po postřikání anisaldehydem vysoušela až do objevení skvrn. Třetí chromatografickou desku jsem postříkala roztokem činidla DPPH a čekala do objevení žlutých skvrn na fialovém pozadí.

Schéma chromatogramu je na obr. č.2.

4.5.3. Silice

Materiál: roztok silice získané destilací v xylenu

Mobilní fáze: toluen - ethylacetat (93+7)

Detekční činidlo: 0,5% DPPH a anisaldehyd

Dělicí dráha: 10 cm

Nanáška: 10 μ l roztoku silice v xylenu, 5 μ l roztoku standardů: citral a cineol (0,1% roztoky v ethanolu)

Postup:

Chromatogramy jsem po vysušení a odvětrání rozpouštědel postříkala detekčním činidlem. Po postřiku roztokem anisaldehydu jsem desku vyhřívala do objevení skvrn.

Schéma chromatogramu je na obr. č. 3.

4.6. Mikroskopie

Příprava mikroskopických preparátů: listy jsem projasňovala zahříváním v roztoku chloralhydrátu po dobu 20-30 minut. Objekty jsem pozorovala z lícové i rubové strany listu. výsledky pozorování jsou na obr. 1.-5. U pozorovaných trichomů jsem zjišťovala jejich počet na listech a velikost. Výsledky jsou v tab. č. 8, 9, 10.

5. Výsledky

5.1. Stanovení hydroxyskořicových derivátů

Tabulka č.1: Stanovení hydroxyskořicových derivátů v nati různého původu. (vzorek č.1 – Natura s.r.o., vzorek č.2 sběr rok 2005, modře kvetoucí šanta)

	a	A ₁	A ₂	A ₃	% ₁	% ₂	% ₃	\bar{x} %
vzorek č.1	0,2	0,017	0,023	0,018	0,43	0,57	0,46	0,49 ±0,0737
vzorek č.2	0,2	0,101	0,078	0,091	2,53	1,94	2,28	2,25 ±0,2961

5.2. Antioxidační aktivita

Tabulka č. 2: Stanovení antioxidační aktivity ve vzorku č. 1 – Natura s.r.o.

n drogy [mg]	A _{slepý vzorek}	A _{testovaný vzorek}	AA [%redukce DPPH]	\bar{x} AA [%redukce DPPH]
0,05	0,467	0,456	2,36	3,78 ±1,2512
		0,445	4,71	
		0,447	4,28	
0,1	0,453	0,448	1,10	2,13 ±1,4180
		0,446	1,55	
		0,436	3,75	
0,15	0,302	0,284	5,96	6,62 ±0,5716
		0,281	6,95	
		0,281	6,95	
0,2	0,295	0,281	4,75	4,64 ±0,1963
		0,282	4,41	
		0,281	4,75	
0,25	0,441	0,427	3,17	2,94 ±0,3926
		0,427	3,17	
		0,430	2,49	
0,3	0,453	0,426	5,96	5,74 ±0,2200
		0,427	5,74	
		0,428	5,52	

Tabulka č. 3: Stanovení antioxidační aktivity ve vzorku č.2 (sběr rok 2005, modře kvetoucí šanta).

n drogy [mg]	$A_{\text{slepý vzorek}}$	$A_{\text{testovaný vzorek}}$	AA [%redukce DPPH]	\bar{x} AA [%redukce DPPH]
0,05	0,533	0,430	19,32	18,20 ±1,0426
		0,441	17,26	
		0,437	18,01	
0,1	0,549	0,338	38,43	35,60 ±2,8200
		0,369	32,79	
		0,352	35,59	
0,15	0,363	0,179	50,69	50,69 ±0,00
		0,179	50,69	
		0,179	50,69	
0,2	0,367	0,141	61,58	61,76 ±0,3175
		0,139	62,13	
		0,141	61,58	

Tabulka č. 4: Stanovení antioxidační aktivity ve vzorku č.3 (sběr rok 2004, bílé kvetoucí šanta).

n drogy [mg]	A _{slepý vzorek}	A _{testovaný vzorek}	AA [%redukce DPPH]	\bar{x} AA [%redukce DPPH]
0,05	0,515	0,506	1,80	3,90 ±2,1050
		0,484	6,01	
		0,495	3,90	
0,1	0,515	0,438	14,95	11,91 ±2,8426
		0,456	11,45	
		0,467	9,32	
0,15	0,430	0,386	10,23	10,08 ±0,1328
		0,387	10,00	
		0,387	10,00	
0,2	0,437	0,378	13,50	14,34 ±1,0813
		0,376	13,96	
		0,369	15,56	
0,25	0,373	0,346	7,24	6,53 ±1,0187
		0,347	6,98	
		0,353	5,36	
0,3	0,406	0,296	27,10	29,07 ±2,2564
		0,290	28,57	
		0,278	31,53	

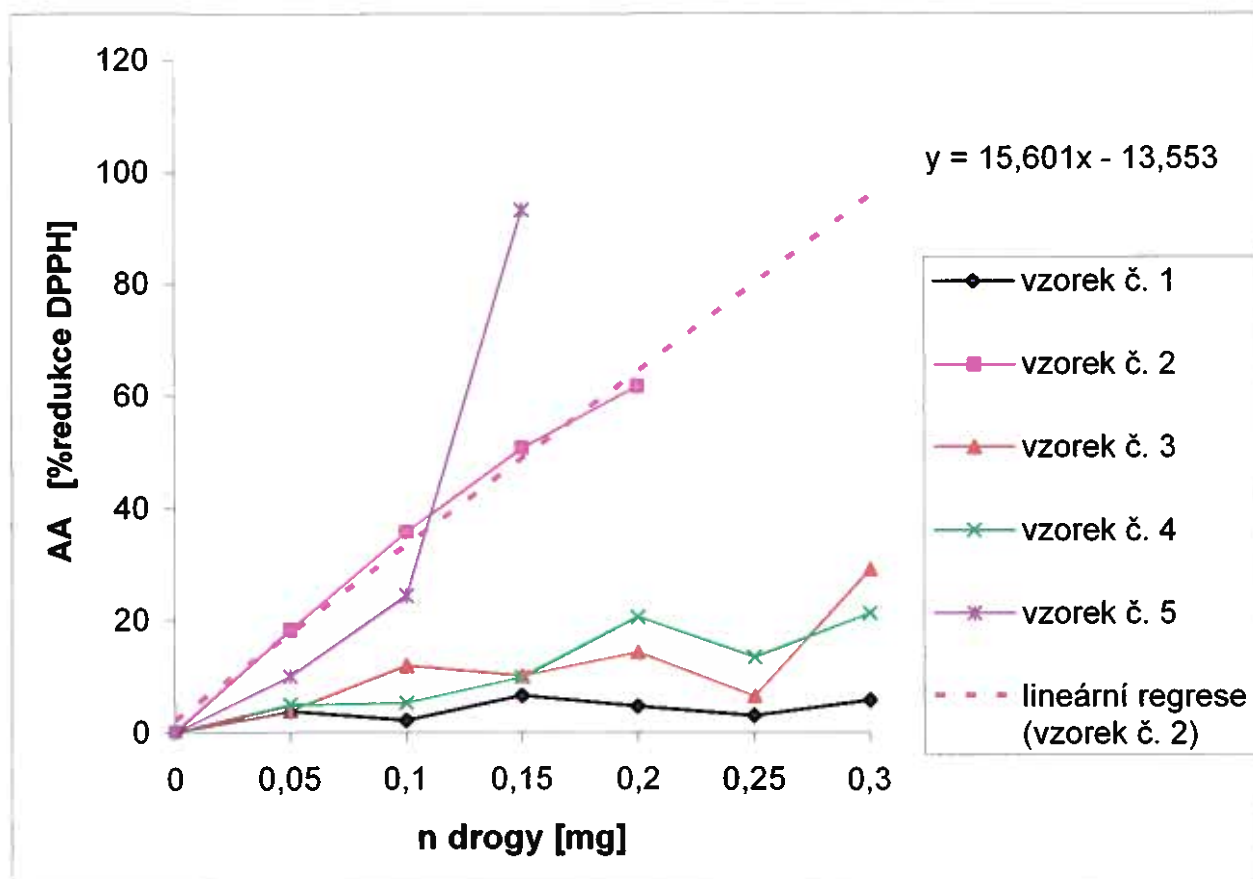
Tabulka č. 5: Stanovení antioxidační aktivity ve vzorku č. 4 (šanta pěstovaná v květináči).

n drogy [mg]	A _{slepý vzorek}	A _{testovaný vzorek}	AA [%redukce DPPH]	\bar{x} AA [%redukce DPPH]
0,05	0,541	0,508	6,10	4,93 ±1,1149
		0,520	3,88	
		0,515	4,81	
0,1	0,533	0,522	2,10	5,39 ±3,2653
		0,487	8,63	
		0,504	5,44	
0,15	0,365	0,325	10,96	9,96 ±0,8793
		0,330	9,59	
		0,331	9,32	
0,2	0,360	0,306	15,00	20,65 ±5,1239
		0,270	25,00	
		0,281	21,94	
0,25	0,340	0,299	12,10	13,44 ±2,1139
		0,286	15,88	
		0,298	12,35	
0,3	0,351	0,272	22,51	21,18 ±1,1866
		0,280	20,23	
		0,278	20,80	

Tabulka č. 6: Stanovení antioxidační aktivity ve vzorku č.5 (sběr rok 2004, modře kvetoucí šanta).

n drogy [mg]	A _{slepý vzorek}	A _{testovaný vzorek}	AA [%redukce DPPH]	\bar{x} AA [%redukce DPPH]
0,05	0,663	0,600	9,50	10,05 ±1,3668
		0,586	11,61	
		0,603	9,05	
0,1	0,520	0,416	20,00	24,42 ±4,3284
		0,392	24,62	
		0,371	28,65	
0,15	0,377	0,025	93,3	93,3 ±0,00

Graf č.1: Závislost antioxidační aktivity na množství drogy



vzorek č.1 ... Natura s.r.o.

vzorek č.2 ... modře kvetoucí šanta. sběr rok 2005

vzorek č.3 ... bíle kvetoucí šanta. sběr rok 2004

vzorek č.4 ... nař pěstovaná v květináči v laboratoři

vzorek č.5 ... modře kvetoucí šanta, sběr 2004

5.3. Stanovení obsahu silice

Tabulka č. 7: Stanovení obsahu silice v nati (získáno destilací).

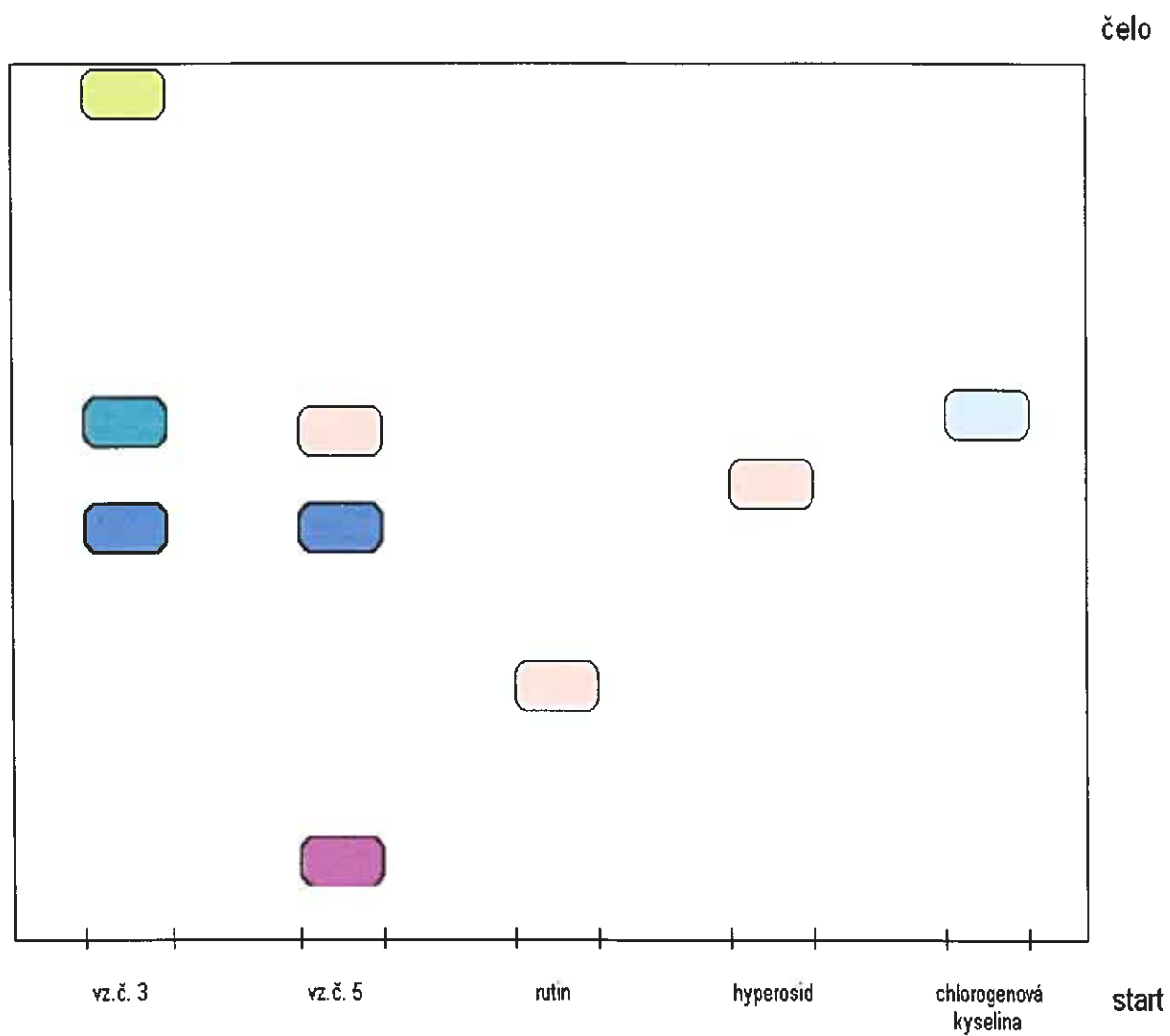
a [g]	nadestil. objem [ml]	obsah[ml/100g]	\bar{x} obsahu[ml/100g]
25,0	0,38	1,5	1,56 ±0,071
25,0	0,40	1,6	

5.4. Tenkovrstvá chromatografie

Obr. 1: Schema chromatogramu – důkaz flavonoidů.

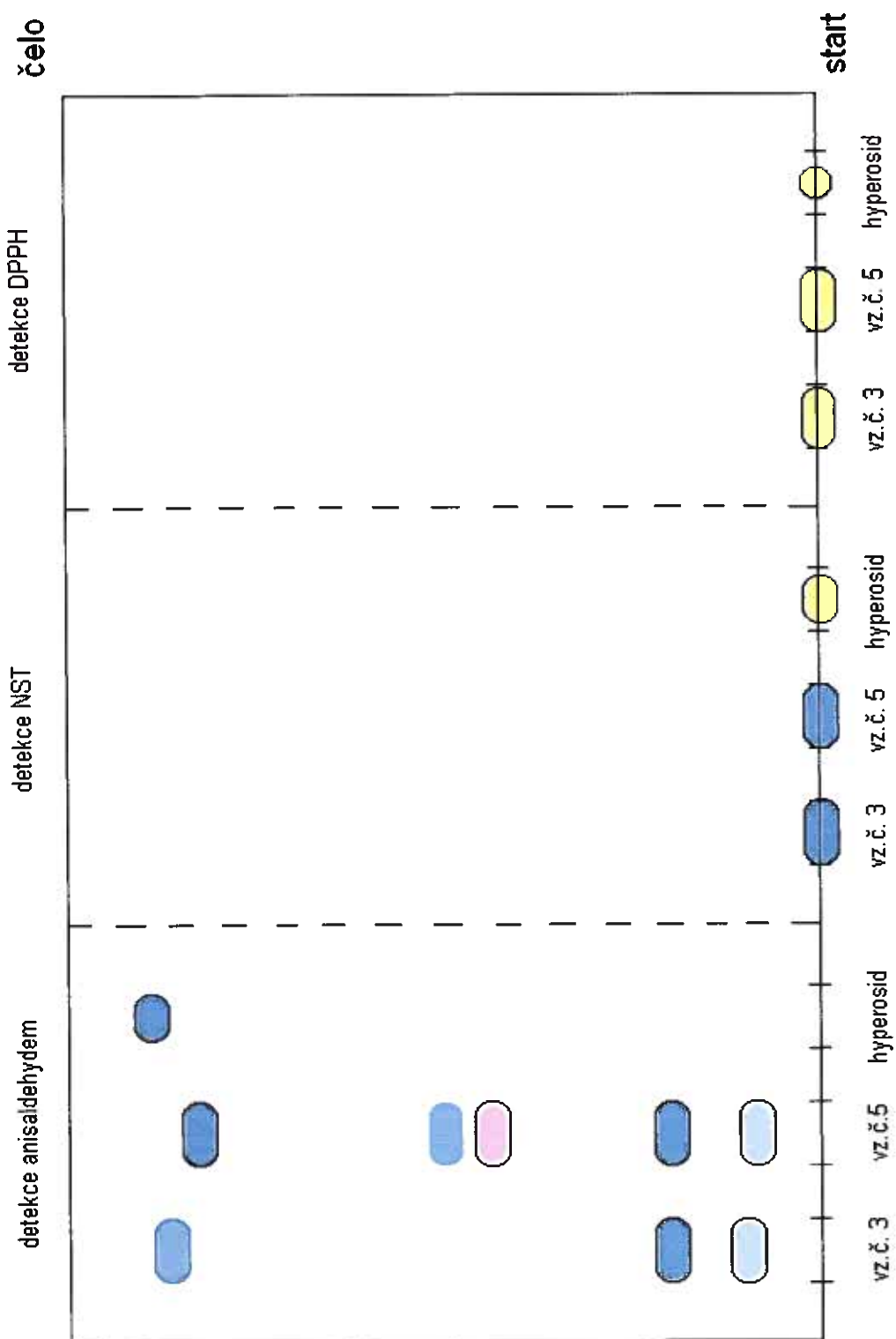
Soustava: ethylacetát - kys. octová - kys. mravenčí - voda (50+5,5+5,5+13,5)

Detekce: NST



Obr. 2: Schema chromatogramu – důkaz terpenů.

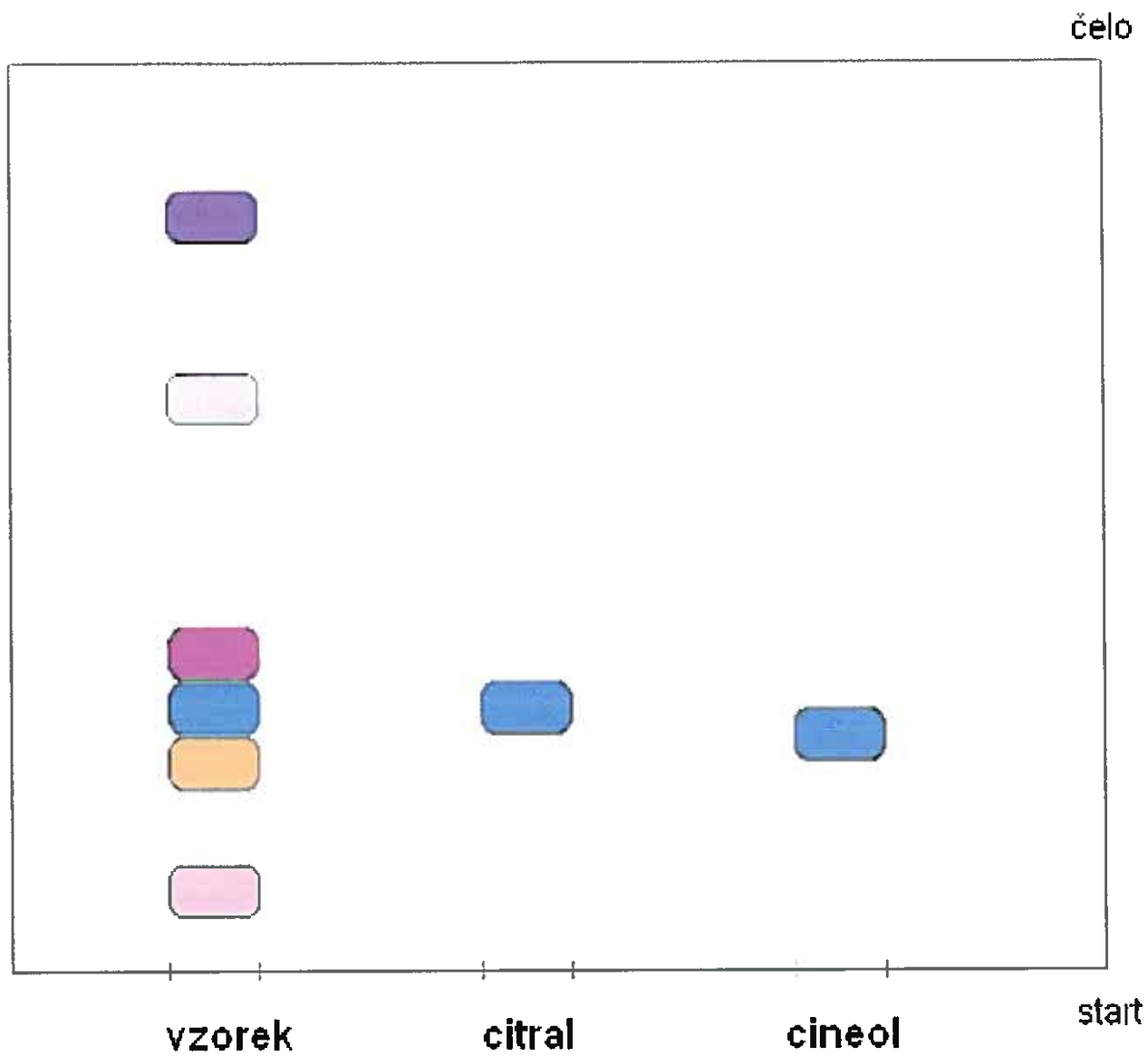
Soustava: : toluen - ethylacetat (93+7)



Obr.3: Schema chromatogramu – důkaz silice.

Soustava: toluen - ethylacetat (93+7)

Detekce: anisaldehyd



5.5. Mikroskopie

Na rubu listu se nacházejí žlázy *Lamiaceae*, velké jsou kolem 50 μm . U rostliny modře kvetoucí je žlázek výrazně více než u bíle kvetoucích rostlin (tab.9.). Na líci listu žlázy pozorovány nebyly.

Na líci i na rubu se vyskytují drobné žlaznaté trichomy s krátkou nohou a jednobuněčnou, zřídka dvoubuněčnou hlavičkou. U modře kvetoucích rostlin jich je více. Další žlaznaté trichomy, s nohou dvoubuněčnou a malou baňkovitou hlavičkou, byly nalezeny na listech rostlin pěstovaných v laboratoři. Jsou dlouhé 70 – 120 μm , na rubu kratší a četnější.

Krycí trichomy se nacházejí na líci i na rubu. Jsou 2 – 4 buněčné, u rostlin pěstovaných v laboratoři až 7 buněčné, dlouhé a štíhlé, na povrchu s kutikulárním proužkováním. U bíle kvetoucích rostlin je většina krycích trichomů na rubu s poslední buňkou protáhlou a háčkovitě zahnutou. Rozměry uvádí tabulka č. 8.

Pokožkové buňky líce i rubu mají stěny vlnitě chobotnaté, průduchy jsou diacytické, na rubu hojně, na líci v menším počtu, tvar mají téměř kulovitý. Velikost uvádí tabulka č. 8-10.

Tab. 8. *Nepeta cataria* – bíle kvetoucí, hodnocená plocha listu 0,5 mm²

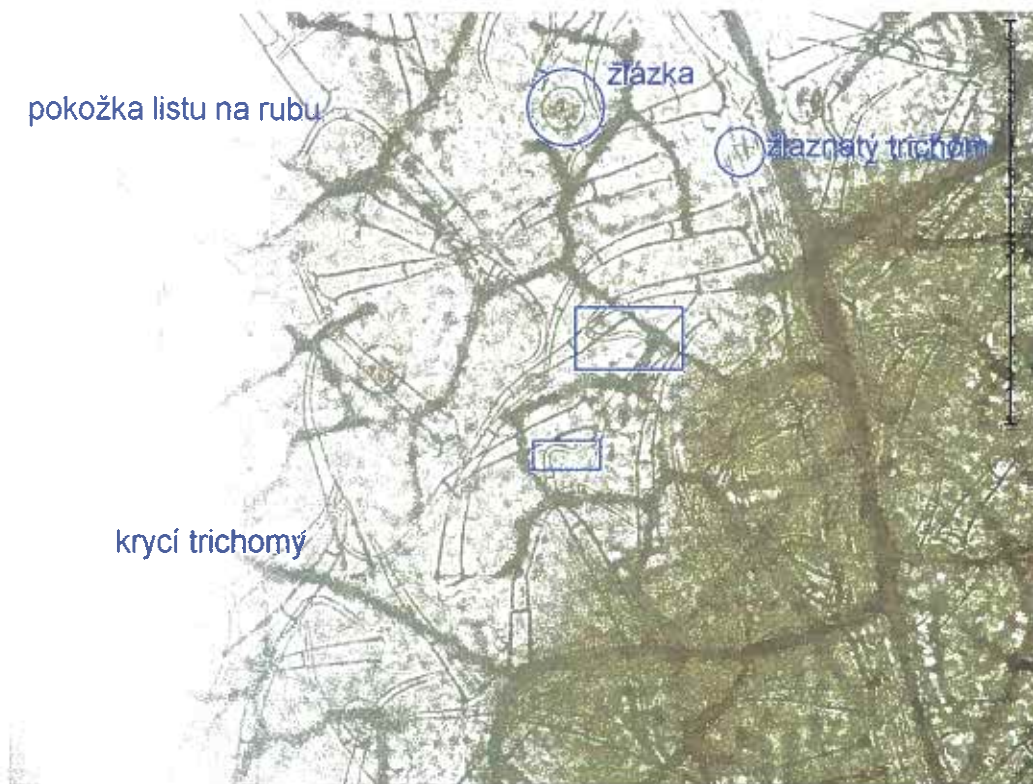
pozorovaný útvar	líc		rub	
	velikost v μm	počet	velikost v μm	počet
žláзка <i>Lamiaceae</i>	-	-	53,4 \pm 2,5	5
žlaznatý trichom	20,3 \pm 2,7	9	15,9 \pm 3,2	8
krycí trichom	159,2 \pm 17,3	9	246,9 \pm 36,8	13
průduch	d. 25,3 \pm 1,2 š. 17,3 \pm 2,1		d. 22,7 \pm 2,2 š. 15,7 \pm 1,2	

Tab. 9. *Nepeta cataria* – modře kvetoucí, hodnocená plocha listu 0,5 mm²

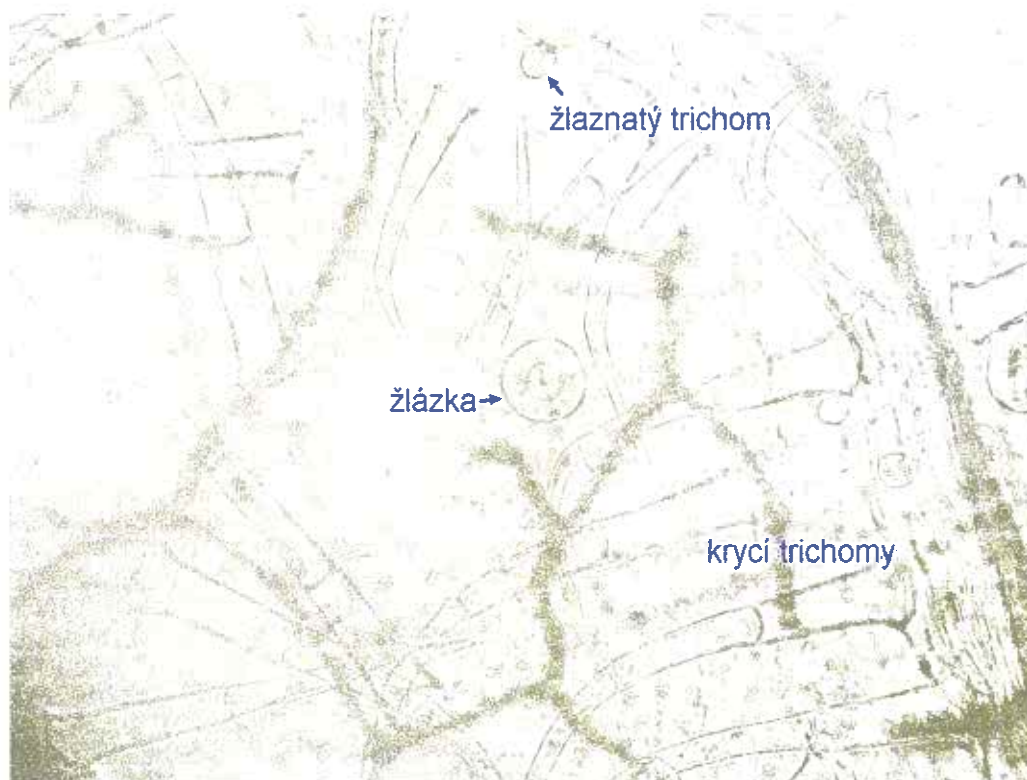
pozorovaný útvar	líc		rub	
	velikost v μm	počet	velikost v μm	počet
žláзка <i>Lamiaceae</i>	-	-	50,9 ± 4,3	24
žlaznatý trichom	23,4 ± 3,0	5	20,0 ± 1,5	43
krycí trichom	88,4 ± 28,6	19	54,2 ± 12,2	55
průduch	d. 24,2 ± 2,8 š. 16,4 ± 1,5		d. 23,3 ± 0,5 š. 20,0 ± 1,5	

Tab. 10 *Nepeta cataria* – květináč, hodnocená plocha listu 0,5 mm²

pozorovaný útvar	líc		rub	
	velikost v μm	počet	velikost v μm	počet
žláзка <i>Lamiaceae</i>	-	-	53,5 ± 1,5	3
žlaznatý trichom	17,3 ± 1,8	9	16,8 ± 3,5	17
žlaznatý trichom 3b.	120,5 ± 11,5	2	70,3 ± 14,2	7
krycí trichom	352,8 ± 66,9	6	300,5 ± 61,0	6
průduch	-		d. 19,5 ± 1,0 š. 19,0 ± 2,5	



Obr. 4.: Pokožka na rubu listu – celkový pohled (bíle kvetoucí rostlina; zvětšení 10x 10)



Obr. 5.: Pokožka s trichomy na rubu listu (bíle kvetoucí rostlina; zvětšení 10 x 20)

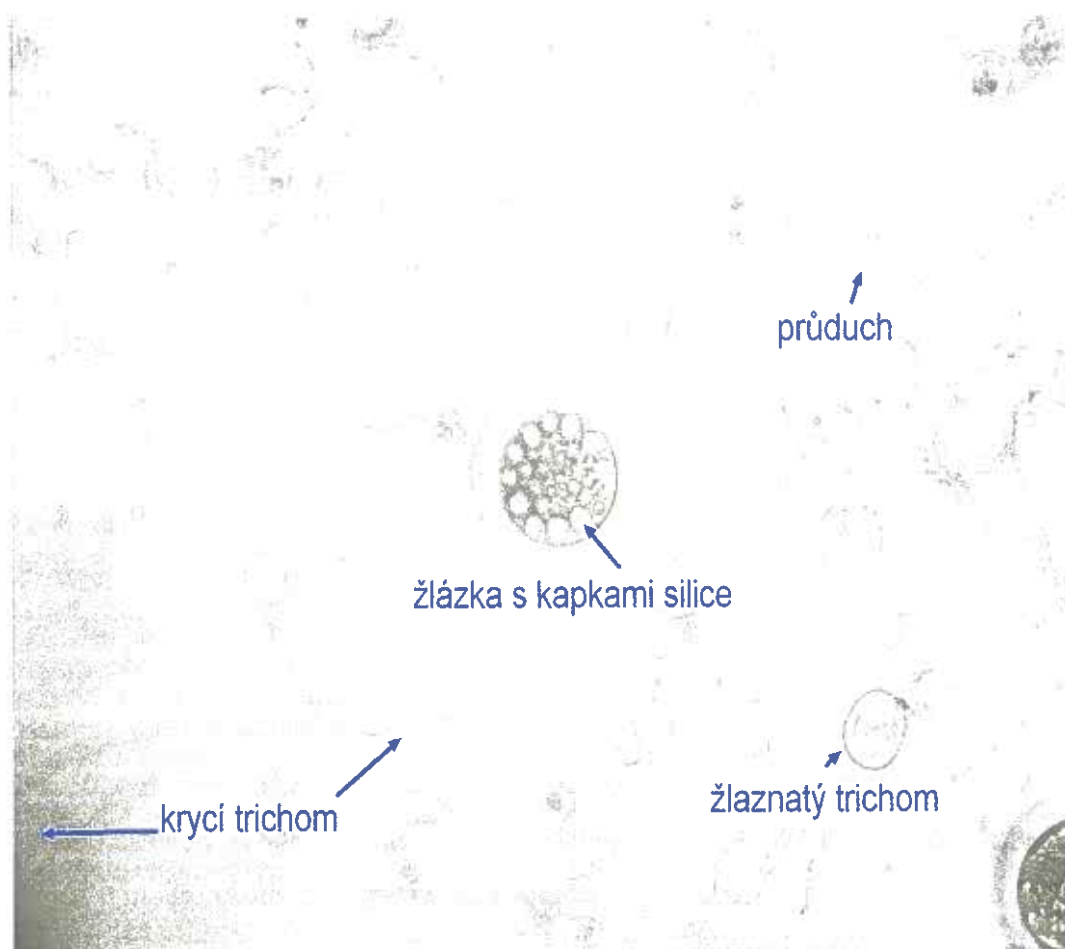


detail žlázky

Obr. 6.: Žlázka typu Lamiaceae (bíle kvetoucí rostlina; 10 x 40)



Obr. 7.: Pokožka listu na rubu (modře kvetoucí rostlina; zvětšení 10 x 20)



Obr. 8: Pokožka listu na rubu – detail žlázky (modře kvetoucí rostlina; zvětšení 10 x 40)

6. Diskuse

Nepeta cataria L. se lidově používá jako sedativum, spasmolytikum, karminativum [1,7,18]. Zájem je také o repelentní účinky silice [18,22].

Nepeta cataria var. *citriodora* je zmiňována také jako rostlina vhodná pro velkoplošné pěstování v kulturách pro produkci semen s vysokým podílem kyseliny linolenové v oleji [31].

Ve své práci jsem se zaměřila na mikroskopický popis znaků na listech a důkaz a stanovení obsahových látek nati.

Mikroskopické znaky byly studovány na listech rostlin pěstovaných na Zahradě léčivých rostlin farmaceutické fakulty a v laboratoři v květináči. V porostu byly jak rostliny modře kvetoucí, tak i bíle kvetoucí, proto byly sebrány vzorky z obou typů rostlin. Na listech byly zjištěny žlaznaté trichomy, a to především žlázy typu *Lamiaceae*, které jsou pro tuto čeleď typické (obr. č. 4-8). Vyskytovaly se pouze na rubu listů. Velikost byla od 50,9 μm do 53,5 μm (tab. č. 8-10). Další žlaznaté trichomy se vyznačovaly jednobuněčnou nohou a malou kulatou hlavičkou (obr. 4,5,8). Vyskytovaly se více na rubu, u modře kvetoucích rostlin jejich počet výrazně převyšoval ostatní vzorky. Průměrná velikost byla 20,0 μm na rubu a 23,4 μm na líci u modře kvetoucích, 15,9 μm na rubu a 20,3 μm na líci u bíle kvetoucích rostlin a 16,8 μm na rubu a 17,3 μm na líci u vzorku šanty pěstované v laboratoři. U rostlin pěstovaných v laboratoři byl navíc zaznamenán výskyt ještě delších trichomů s baňatou hlavičkou. I z literatury je známé, že vzhled trichomů vykazuje drobné rozdíly, např. mezi divoce rostoucí rostlinou a mutantní formou šanty. Drobné žlaznaté trichomy divoce rostoucích rostlin mají dvoubuněčnou hlavu a hladký, nafouklý povrch žlázek [19]. Rozdíly mezi žlaznatými trichomy jsou i v obsahu sekretovaných látek, žlázy *Lamiaceae* obsahují v subkutikulární dutině nepetalaktony, akridin nebo citronelol [19].

Na studovaných listech byly dále krycí trichomy. Jsou jednak kratší, dvoubuněčné, dlouhé průměrně od 54,2 μm do 88,4 μm a jednak čtyřbuněčné, statné, na bazi o průměru $36,9 \pm 4,2 \mu\text{m}$, dlouhé až $246,9 \pm 36,8 \mu\text{m}$, opatřené kutikulárními výrůstky (obr. 4,5). U rostlin bíle kvetoucích byly na rubu trichomy zakončené dlouhými tenkými háčky, u rostlin pěstovaných v laboratoři byly trichomy štíhlé, až sedmi buněčné, dlouhé až $352,8 \pm 66,9 \mu\text{m}$. Nápadné trichomy se nalézají i u jiných druhů rodu *Nepeta* [32].

Tenkovrstvou chromatografií byly sledovány obsahové látky v etanolových extraktech nati. Zvoleny byly dvě chromatografické soustavy – jedna pro důkaz

flavonoidů, druhá pro důkaz terpenů. Detekcí postřikem 1% roztoku diphenylboryloxyethylaminu v methanolu byl dokázán jeden flavonoid, na obr.1 oranžově zbarvená skvrna. K detekci terpenických látek byl použit postřik roztokem anisaldehydu. Schéma chromatogramu na obr.2. Ukazuje pět pozitivně reagujících látek, skvrny zbarvené růžově a modře. Ke screeningu látek s antioxidační aktivitou jsem detekovala chromatografické desky roztokem DPPH v methanolu, skvrny látek s antioxidačním účinkem jsou znázorněny na obr.2. Projevily se na desce jako žluté skvrny na fialovém pozadí, R_f 0,24 a 0,56.

Pro rostliny z čeledi *Lamiaceae* je typický obsah silice. Destilací postupem dle ČL 2002 jsem zjistila, že nať obsahuje průměrně 1,56 ml/100g silice. Podle údajů v literatuře [1] bylo v čerstvých kvetoucích vrcholcích destilací vodní parou zjištěno 0,3 – 1 % silice. Tenkovrstvou chromatografií jsem v silici dokázala přítomnost pravděpodobně pěti terpenických látek, z nichž skvrna s R_f 0,3 je shodná se skvrnou citralu, resp. cineolu (obr.3). V rostlinách z čeledi *Lamiaceae* se také často nacházejí hydroxyskořicové kyseliny, nejvýznamnějším zástupcem je kyselina rozmarýnová. Tyto látky se také vyznačují antioxidační aktivitou. Proto jsem zjišťovala obsah hydroxyskořicových kyselin v nati různého původu. Výsledky uvádí tabulka č.1. Obsah HSK se pohybuje od $0,49 \pm 0,0737$ % do $2,25 \pm 0,2961$ %, počítáno jako kyselina rozmarýnová. K testování antioxidační aktivity jsem použila stanovení s radikálem DPPH. Extrakt jsem přidávala v množství odpovídajícím 0,05 mg – 0,3 mg drogy. Výsledky měření jsou v tabulkách č.2 - 6 a grafu č.1. Nejvyšší aktivita byla zaznamenána u extraktu nati sbírané na zahradě léčivých rostlin (vzorek č.2), hodnota $IC_{50} = 0,1535$ mg drogy. Extrakt nati zakoupené v prodejně léčivých rostlin vykazoval ve srovnatelné koncentraci jen malou antioxidační aktivitu (viz graf č.1). Vzorek nati sbírané na zahradě léčivých rostlin byl sušen velmi rychle, manipulace s ním byla jen minimální. Je tedy pravděpodobné, že většina žlázek *Lamiaceae*, které obsahují především monoterpeny [19], zůstala neporušena a mohla se plně projevit antioxidační aktivita.

Zhášení radikálu DPPH extrakty z *N. cataria* literatura neuvádí. Publikována byla pouze práce, v níž byla testována možnost využít extrakty z léčivých rostlin, mezi nimi i šanty, k zabránění oxidace slunečnicového oleje za různých podmínek skladování [33]. Antioxidační aktivita extraktu z *N. cataria* testovaná stanovením produktů oxidace slunečnicového oleje a emulze 20% oleje ve vodě byla rozdílná v obou modelových systémech. Zatímco v emulzi působilo 600 μ g extraktu jako účinný inhibitor oxidace a tvorba konjugovaných dienů byla snížena více než po přidání 300 μ g butylhydroxytoluenu,

v oleji byla stejná dávka extraktu neúčinná nebo působila prooxidačně. Testování antioxidační aktivity extraktů *N. sibthorpii* s DPPH ukázalo, že etanolvý extrakt drogy (50 g/500 ml) má IC_{50} 97,18 $\mu\text{g/ml}$ a frakce směsi izolovaných látek (kyselina chlorogenová, rutin, luteolin a jeho deriváty) má IC_{50} 23,95 $\mu\text{g/ml}$ [7].

7. Závěr

Z listů *Nepeta cataria* L. byly připraveny mikroskopické preparáty a zjištěny charakteristické znaky drogy. Jsou to především žlázy *Lamiaceae*, vyskytující se na rubu listu, velikost mírně kolísá podle původu drogy. Dalším výrazným znakem je přítomnost vícebuněčných dlouhých krycích trichomů, velmi statných, dosahujících délky až $352,8 \pm 66,9 \mu\text{m}$. Průduchy jsou diacyticky uspořádané. Šťavelan vápenatý není přítomen.

Tenkovrstvou chromatografií byly v extraktu nati dokázány látky zhášející radikál DPPH, zejména flavonoidy a terpeny.

Obsah hydroxyskořicových kyselin, typických pro rostliny čeledi *Lamiaceae* se pohybuje v rozmezí od $0,49 \pm 0,0737 \%$ do $2,25 \pm 0,2961 \%$, podle původu nati.

Obsah silice je průměrně 1,56ml/100g.

Antioxidační aktivita extraktů testovaná zhášením radikálu DPPH vykazuje rozdíly v závislosti na původu drogy. Nejvyšší aktivita s $IC_{50} = 0,1535 \text{ mg}$ drogy byla zjištěna u extraktů z nati pěstované na zahradě Léčivých rostlin fakulty.

8. Literatura

1. Duke, J.A.: Handbook of medicinal herbs. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, 1985; 325-326.
2. Slavík, B.: Květena České republiky 6., Academia, Praha, 628-634, (2000).
3. Regnier, F.E., Waller, G.R., Eisenbraun, E.J.: Studies on the composition of the essential oils of three *Nepeta* species. *Phytochem.*, 1967; 6, 1281-1289.
4. Sastry, S.D., Springstube, W.R., Waller, G.R.: Identification of 5,9-dehydronepetalactone, a new monoterpene from *Nepeta cataria*. *Phytochem.*, 1972; 11, 453-455.
5. Regnier, F.E., Eisenbraun, E.J., Waller, G.R.: Nepetalactone and epinepetalactone from *Nepeta cataria* L.. *Phytochem.*, 1967; 6, 1271-1280.
6. Baranauskiene, R., Venskutonis, R.P., Demyttenaere, J.C.R.: Sensory and instrumental evaluation of Catnip (*Nepeta cataria* L.) Aroma. *Food Chem.*, 2003; 51, 3840-3848.
7. Miceli, N.: Antiinflammatory activity of extract and fractions from *Nepeta sibthorpii* Benth. *J. Ethnopharmacol.*, 2005; 97, 261-266.
8. Modnicki, D., Klimel, B.: Lemon catnip – chemical constituents and possibilities of use in phytotherapy. *Herba Polonica* 2005; 51 (Suppl.1), 125.
9. Barberán-Tomás, F.A., Gill, M.I., 1992. Chemistry and natural distribution of flavonoids in the Labiatae. In: Harley, R.M., Reynolds, T. (Eds.), *Advances in Labiate Science*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK, 299-305. Citace podle 16.
10. Harborne, J.B., Mabry, T.J. (Eds.), *The flavonoids, Advances in Research*. London, Chapman and Hall, 1982; 189-260.
11. Porsch, P., Rodriguez, E.: *Biologie in unsere Zeit.*, 1985; 15, 75. Citace podle 16.
12. Hernández, L.M., Tomás-Barberán, F.A., Tomás-Lorente, F.: A chemotaxonomic study of free flavone aglycones from some Iberian *Thymus* species. *Biochem. Systematic. Ecol.*, 1987; 15, 61-67.
13. Harborne, J.B. et al.: A chemotaxonomic study of flavonoids from European *Teucrium* species. *Phytochem.* 1986; 25, 2811-2816.
14. Grayer, R.J. et al.: Distribution of 8-oxygenated leaf surface flavones in the genus *Ocimum*. *Phytochem.* 2001; 56, 559-567.
15. Grayer, R.J., Veitch, N.C.: An 8-hydroxylated external flavone and its 8-O-glucoside from *Becium grandiflorum*. *Phytochem.* 1998; 47, 779-782.

16. Shan Xie, Shinichi Uesato et al.: Absolute structure of nepetaside, a new iridoid glucoside from *Nepeta cataria*. *Phytochem.*, 1988; 27, 469-472.
17. Jamzad, Z. et al.: Leaf surface flavonoids in Iranian species of *Nepeta* (Lamiaceae) and some related genera. *Biochem. Systematic. Ecol.*, 2003; 31, 587-600.
18. Nostro, A. et al.: The effect of *Nepeta cataria* extract on adherence and enzyme production of *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2001; 18, 583-585.
19. Scott, H.: Catnip, *Nepeta cataria*, a morphological comparison of mutant and wild type specimen to gain an ethnobotanical perspective. *Ekonom. Botany*, 2003; 57, 135-142.
20. Campbell, C.A.M. et al.: Sex attractant pheromone of damson-hop aphid *Phorodon humuli* (Homoptera, Aphididae). *J. Chemic. Ecol.*, 1990; 16, 3455-3465.
21. Dawson, G.W. et al.: Identification of an aphid sex pheromone. *Nature*, 1989; 325, 614-616.
22. Hecht, J.: Love it or hate it. *New Scientist*, 1999; 163, 22.
23. Birkett, M., Pickett, L.A.: Aphid sex pheromones: from discovery to commercial production. *Phytochem.*, 2003; 62, 651-656.
24. Pavela, R.: Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia*, 2005; 76, 691-696.
25. Proestos, C. et al.: Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Food Chem.*, 2006; 95, 664-671.
26. Bourrel, C. et al.: Catnip (*Nepeta cataria* L.) essential oil: analysis of chemical constituents, bacteriostatic and fungistatic properties. *J. Essent. Oil Res.*, 1993; 5, 159-167.
27. Saxena, J., Mathela C.S.: Antifungal activity of new compounds from *Nepeta leucophylla* and *Nepeta clarkei*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996; 62, 702-4.
28. Kishore, N., Dwivedi, R.S.: *Nepeta*-oil a potential fungitoxic factor against damping-off pathogens. *J. Indian. Bot. Soc.*, 1992; 72, 73-5.
29. Kolalite, H.P.: Osobennosti morfologii i ultrastruktury železistych trichom listjev *Nepeta cyanea* Ster., *Nepeta cataria* L. var. *citriodora* Balb. i *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Rast. Resursy*, 1996; (3), 65-73.
30. Castleman, M.: *Velká kniha léčivých rostlin*. Praha Columbus, 2004; s.493.
31. Domokos, J., Peredi, J., Halasz-Zelnik, K.: Characterization of seed oils of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) and catnip (*Nepeta cataria* var. *citriodora* Balb.). *Industrial Crops and Products*, 1994; 3, 91-94.

32. Rapisarda, A. et al.: *Nepeta sibthorpii* Bentham (Lamiaceae): micromorphological analysis of leaves and flowers. II Farmaco, 2001; 56, 413-415.
33. Abdala, A.E., Rozen, J.P.: Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. Food Chem., 1999; 64, 323-329.