

PŮVODNÍ PRÁCE

Fenolové látky v listových inzerciách *Mentha × villosa* Huds. cv. Snežná***Phenolic compounds in leaves insertions of *Mentha × villosa* Huds. cv. Snežná**

Daniela Tekelová • Silvia Bittner Fialová • Jaroslav Tóth • Szilvia Czige

Došlo: 15. júla 2016 / Prijaté: 11. augusta 2016

Súhrn

Rastliny čeľade Lamiaceae obsahujú účinné látky prevažne v listoch. V podčeľadi Nepetoideae, kam patrí rod *Mentha* L., ide hlavne o silicu a fenolové látky s antioxidantnou aktivitou, najmä hydroxyškoricové kyseliny s prevahou kyseliny rozmarínovej a flavonoidy. Medicínsky a priemyselne využívané sú najmä mäty *M. × piperita* a *M. spicata*, druh *M. × villosa* je u nás menej známy. Listové drogy sa spravidla hodnotia ako celok, ojedinele sa hodnotia jednotlivé listové inzercie. V tejto práci sa sledoval liekopisnými metódami v jednotlivých listových pároch *Mentha × villosa* Huds. cv. Snežná celkový obsah hydroxyškoricových derivátov (THD) vyjadrených ako kyselina rozmarínová a flavonoidov luteolínového typu, ktoré sa v tejto rastline vyskytujú v najväčšom množstve. Obsah THD vo vodných extraktoch listových párov kolísal v rozmedzí 6,7–9,4 %, v metanolových extraktoch 6,6–14,0 %. Flavonoidy stanovené ako luteolín-7-*O*-glukozid sa nachádzali vo vodných extraktoch v množstve 4,0–8,8 %, v metanolových extraktoch v množstve 4,0–10,5 %. Antioxidantná aktivita (DPPH) stanovená ako SC₅₀ kolísala vo vodných extraktoch listových párov v rozmedzí 10,2–16,9 µg.ml⁻¹ (suchej hmotnosti drogy), v metanolových extraktoch v rozmedzí 10,7 až 21,6 µg.ml⁻¹. Najvyšší obsah fenolových látok

a najvyššia antioxidantná aktivita bola v extraktoch z vrcholových listov, najnižší obsah fenolových látok a najnižšia antioxidantná aktivita sa zaznamenala v extraktoch listov zo strednej časti stonky.

Kľúčové slová: *Mentha × villosa* Huds. cv. Snežná • hydroxyškoricové deriváty • kyselina rozmarínová • luteolín-7-*O*-glukozid • DPPH

Summary

Lamiaceae plants mostly accumulate active ingredients in their leaves. The subfamily Nepetoideae, including the genus *Mentha* L., is characterized by the presence of essential oil and antioxidant phenolics, chiefly hydroxycinnamic acids with predominance of rosmarinic acid, and flavonoids. *Mentha × piperita* and *M. spicata* are the most broadly used mints in both medicine and industry, while *M. × villosa* is less known in our country. Herbal drugs in the form of leaves are usually analysed unpartitioned, while single leaves insertions have only been studied occasionally. Therefore, the aim of this work was the quantification of the active compounds content in the leaves pairs of *Mentha × villosa* Huds. cv. Snežná, using pharmacopoeial methods: total hydroxycinnamic derivatives expressed as rosmarinic acid (THD) and luteolin-type flavonoids. THD content ranged from 6.7% to 9.4% in the leaves pairs' water extracts, and from 6.6% to 14.0% in methanol extracts. Flavonoids contents, expressed as luteolin-7-*O*-glucoside, ranged from 4.0% to 8.8% in water extracts, and from 4.0% to 10.5% in methanol extracts. Antioxidant activity (DPPH) expressed as SC₅₀ ranged from 10.2 to 16.9 µg.ml⁻¹ (drug dry weight) in water extracts, and from 10.7 to 21.6 µg.ml⁻¹ in methanol extracts. The highest content of phenolic compounds as well as the highest antioxidant activity were found to be in the top sheet, while the lowest content of phenolic compounds and lowest antioxidant activity were detected in the leaves of the middle stem part.

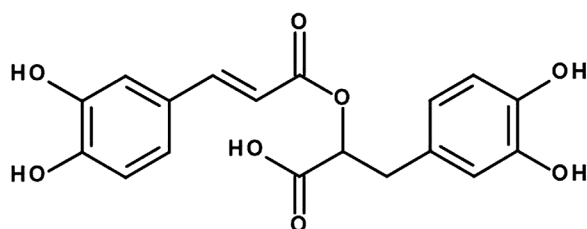
Key words: *Mentha × villosa* Huds. cv. Snežná • hydroxycinnamic derivatives • rosmarinic acid • luteolin-7-*O*-glucoside • DPPH

RNDr. Daniela Tekelová, CSc. (✉) • S. Bittner Fialová • J. Tóth • Sz. Czige
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta, Katedra farmakognózie a botaniky
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, SR
e-mail: Daniela.Tekelova@uniba.sk

*Venované k životnému jubileu Dr. h. c. prof. RNDr. Václava Suchého, DrSc.

Úvod

Rastliny čeľade Lamiaceae sú dobrými zdrojmi fenolových látok, ktoré sa v súčasnosti intenzívne študujú pre ich antioxidačnú aktivitu. Významnou súčasťou tejto čeľade je rod *Mentha* L., ktorý sa zaraduje do podčeľade Nepetoideae, typickej obsahom silice s prevahou monoterpénových zložiek a obsahom hydroxyškoricových derivátov, najmä kyseliny rozmarínovej (obr. 1)¹⁻⁴. Priemyselne a medicínsky využívanými druhmi rodu mäta sú hlavne *Mentha × piperita* L., *M. spicata* L. a *M. crispa* (*M. spicata* L. var. *crispa* (Benth.) Danert), ktorým sa v literatúre venuje veľká pozornosť. Jedným z druhov, ktorý sa javí zaujímavým z hľadiska obsahu biologicky aktívnych látok, je aj druh *M. × villosa* Huds. (mäta huňatá). Na Slovensku sa vyskytuje veľmi vzácné, ako liečivá rastlina sa nepoužíva a pestuje sa len ako aromatická silicová rastlina⁵. Ide o hybrid druhov *M. spicata* L. a *M. suaveolens* Ehrh. Pestuje sa a medicínsky používa najmä v Brazílii pre obsah silice, v ktorej prevládajú *p*-mentány substituované v polohe 6 (piperitenónoxid, karvón, dihydrokarvón) a pre obsah fenolových látok. Využíva sa najmä pre jej účinnok analgetický⁶, antibakteriálny⁷, spazmolytický⁴, hypotenzívny^{4, 8}, antiparazitický v oblasti gastrointestinálneho traktu zvierat⁹. Antioxidačný účinok je daný hlavne prítomnosťou fenolových látok, ako sú deriváty kyseliny hydroxyškoricovej a flavonoidy.



Obr. 1. Kyselina rozmarínová

Antioxidačné pôsobenie vodného extraktu listov *M. × villosa* aj samotnej kyseliny rozmarínovej sa nedávno potvrdilo v pokusoch *in vitro* aj *ex vivo*. V pokuse ischémie-reperfúzie na mezenteriu a ileu potkanov sa zaznamenalo štatisticky významné zníženie prítomnosti reaktívnych foriem kyslíka vo fáze reperfúzie. Pri analýze obsahových látok študovaného vodného extraktu (záparu) sa ako hlavné fenolové látky identifikovali flavonoidy, najmä glykozidy luteolínu a tiež hydroxyškoricové kyseliny, najmä kyselina rozmarínová¹⁰.

Účinné obsahové látky sa v rastlinách čeľade Lamiaceae nachádzajú prevažne v listoch. Ich obsah závisí od pôvodu a vývinového štádia rastliny a iných vonkajších a vnútorných faktorov. Významná je aj ich rôzna tvorba a kumulácia v listoch rôzne starých, a teda na stonke umiestnených v rôznej výške. Rastliny podčeľade Nepetoideae sú typické najmä obsahom silice. Najvyšší obsah silice býva v mladých listoch nachádzajúcich sa na vrchole stonky a jej obsah postupne klesá v starších listoch na nižších inzerciách^{11, 12}. Štúdiu kolísania obsahu fenolových látok v jednotlivých listových inzerciách sa venuje len ojedinelá pozornosť¹³. Poznanie obsahu účin-

ných látok v jednotlivých listových pároch však môže pomôcť pri voľbe správnej výšky rezu vňate pri zbere, aby sa získala celková listová droga požadovanej kvality.

Cieľom našej práce bolo overiť množstvo fenolových látok – hydroxyškoricových derivátov a flavonoidov, resp. celkového obsahu polyfenolov vo vodnom a metanолоvom extrakte z jednotlivých listových párov *Mentha × villosa* ‘Snežná’ a stanoviť antioxidačnú aktivitu extraktov.

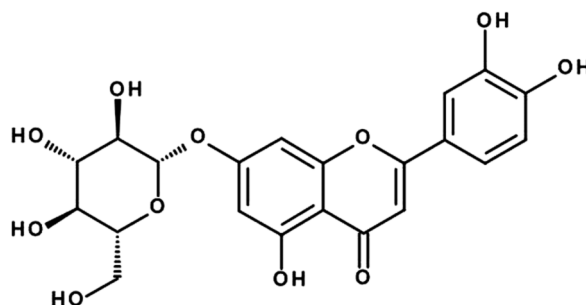
Experimentálna časť

Rastlinný materiál

Analyzovali sa suché listové páry druhu *Mentha × villosa* Huds. cv. Snežná. Rastliny sa pestovali v podmienkach juhozápadného Slovenska v Záhrade liečivých rastlín Farmaceutickej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave. Zbierali sa nekvitujúce výhonky v polovici júna a sušili sa pri izbovej teplote. Uchovávali sa v papierových obaloch v tme pri izbovej teplote. Zo suchých výhonkov sa oddelili jednotlivé listové páry a ich poradie sa označilo bazipetálne ako 1. pár až 15. pár (**1p** – **15p**). Nerozvinuté vrcholové listy sa odobrali ako celok a označili ako rastový vrchol (**RV**). Analyzovalo sa 100 výhonkov. Vzorky sa pomleli tesne pred analýzami.

Stanovenie fenolových látok

Celkový obsah hydroxyškoricových derivátov (**THD**) sa stanovil spektrofotometricky pri 505 nm s Arnouovým skúmadlom a vyjadril ako kyselina rozmarínová¹⁴; kyselina rozmarínová (**RA**) sa stanovila HPLC metódou v metanолоvom extrakte a UV detekciou pri 320 nm¹⁵; flavonoidy sa stanovili spektrofotometricky s $AlCl_3$ podľa Ph. Eur. 8¹⁴ pri 392 nm podľa kalibračnej krivky ako luteolín-7-*O*-glukozid (obr. 2); polyfenoly (**TP**) a triesloviny (**T**) sa stanovili spektrofotometricky pri 760 nm s Folin-Ciocalteuovým skúmadlom a vyjadrili ako pyrogalol¹⁴. Všetky analýzy sa robili v troch opakovaníach a prepočítali sa na sušinu.



Obr. 2. Luteolín-7-*O*-glukozid

Stanovenie antioxidačnej aktivity

Antioxidačná aktivita sa stanovila v extraktoch vodných (H_2O extrakt) a metanолоvých (MeOH extrakt) spektrofotometricky s DPPH radikálom pri 517 nm a vyjadrila sa ako SC_{50} v $\mu g \cdot ml^{-1}$ (suchej hmotnosti drogy)¹⁶.

Chemikálie a skúmadlá

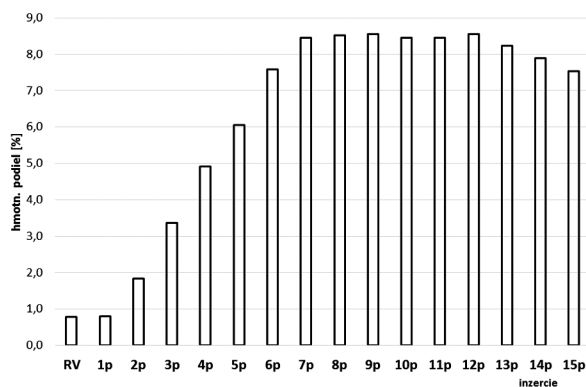
Všetky použité chemikálie mali kvalitu p. a., voda sa použila destilovaná a metanol na HPLC analýzu bol redestilovaný. DPPH (2,2-difeny-1-picrylhydrazyl) sa získal z fy Sigma Aldrich (Švédsko), kyselina rozmarínová z fy Aldrich (UK). Folin-Ciocalteuovo skúmadlo a Arnovovo skúmadlo sa pripravilo podľa Ph. Eur. 8¹⁴⁾. Roztok DPPH sa pripravil rozpustením 2,2 mg DPPH v 100,0 ml metanolu¹⁶⁾.

Prístroje

Analytické váhy ABJ – 4M (KERN, Nemecko); GENESYS 6 Spectrophotometer, Thermo – Electron corporation (UK); kvapalinový chromatograf so súčasťami: GRADIENT PUMP BETA 10, dávkovací analytický ventil TYP D, UV detektor LCD 2082, dávkovacia slučka s objemom 20 μ l (ECOM, ČR), integrátor s programom CSW v.1.7 (Data Apex, ČR), kolóna Watrex Lichrospher 100 RP-18(e), zrnitosť 5 μ m, rozmer 125 \times 4 mm.

Výsledky a diskusia

Mäta huňatá je pomerne mohutná rastlina (vysoká 60–110 cm), husto ochlpená, s listami vajcovitými až elipsovitými, príjemne voňajúca. Pre analýzy sa zbierala vňat v nekvitnúcej fáze, výhonky s ojedinelými bočnými konárkami dlhými 1–5 cm. Po vysušení sa z vňate oddelili jednotlivé listové páry, ktorých bolo v priemere 15 a predstavovali 53 % hmotnosti vňate, stonka tvorila 42 % hmotnosti a bočné konáriky 5 % hmotnosti. Listy dosahovali dĺžku 10–42 mm a šírku 5–22 mm. Hmotnostný podiel jednotlivých listových párov v celej listovej droge je uvedený na obrázku 3.



Obr. 3. Hmotnostný podiel jednotlivých listových párov *M. x villosa* Huds. 'Snežná' v listovej droge

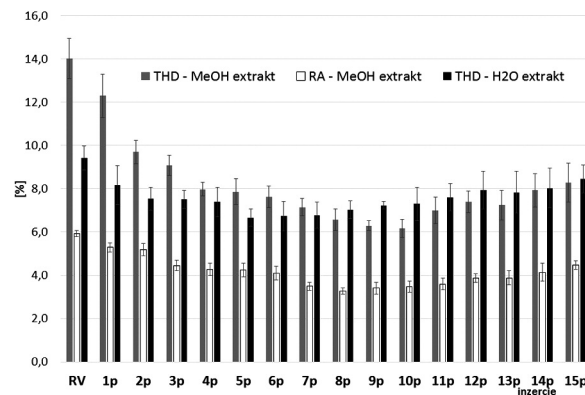
Hodnotenie obsahu fenolových látok v listových inzerciách sa robilo liekopisnými spektrofotometrickými metódami a zameralo sa najmä na tie dve skupiny obsahových látok, ktoré sa pri analýze vodného extraktu (záparu) *M. x villosa* 'Snežná' identifikovali ako látky prítomné v najväčšom množstve – glykozidy flavonoidu luteolínu a hydroxyškoricové kyseliny¹⁰⁾. Hodnotila sa prítomnosť látok tak vo vodnom extrakte, ako aj v metanolovom extrakte, ktorý sa získal pri stanovení kyseliny rozmarínovej.

Na stanovenie THD sa využila metóda s Arnovovým skúmadlom umožňujúca stanovenie tohto typu fenolových látok. Flavonoidy luteolínového typu sa stanovili metódou s chloridom hlinitým v kyslom prostredí, kedy sa u týchto látok tvoria komplexy s absorpčným maximom okolo 390 nm. Pre stanovenie celkového obsahu fenolových látok sa použila metóda s Folin-Ciocalteuovým skúmadlom, bežne používaná na overenie množstva fenolových látok v extraktoch¹⁴⁾. V metanolovom extrakte sa stanovila aj samotná kyselina rozmarínová HPLC metódou, vypracovanou pre tento typ extraktu u rastlín čeľade Lamiaceae¹⁵⁾.

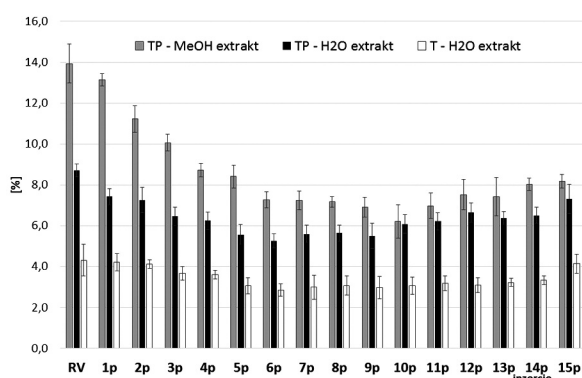
Na extrakciu hydroxyškoricových kyselín a flavonoidných glykozidov je vhodný zriedený etanol, resp. metanol. Voda je vylúhovadlom pri príprave bylenných čajov. Vodné extrakty sa podľa Ph. Eur. 8 (ktorý je v súčasnosti platný na území Slovenskej republiky) využívajú na stanovenie obsahu polyfenolov, resp. trieslovín metódou s kožným práškom, kde sa látky trieslovinej povahy identifikujú práve na základe ich schopnosti adsorbovať sa na kožný prášok¹⁴⁾. V čeľadi Lamiaceae sa nenachádzajú typické triesloviny, ale látky typu derivátov hydroxyškoricovej kyseliny (nazývané „triesloviny čeľade Lamiaceae“), ktoré tiež majú schopnosť adsorbovať sa kožným práškom a táto metóda bola v minulosti jedným z postupov na ich stanovenie¹⁷⁾.

Vodný extrakt

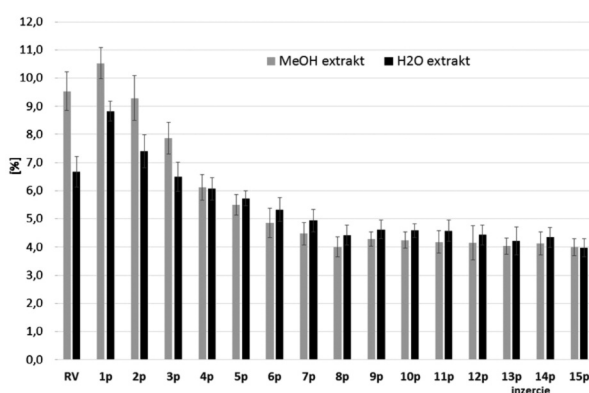
Analýza vodných extraktov ukázala, že celkový obsah hydroxyškoricových derivátov vyjadrených ako kyselina rozmarínová stanovených s Arnovovým skúmadlom kolísal v listových pároch od 6,7 % do 9,4 %. Najvyšší obsah bol vo vrcholových listoch, najnižší v listoch umiestnených v strede stonky (obr. 4). Táto tendencia sa prejavila aj pri stanovení celkového obsahu polyfenolov s Folin-Ciocalteuovým skúmadlom (5,3–8,7 %), kde látky adsorbované kožným práškom (2,9 % do 4,2 %), ku ktorým sa zaraďujú aj hydroxyškoricové kyseliny, predstavovali podiel okolo 55 % celkových polyfenolov (obr. 5). Flavonoidy vyjadrené ako luteolín-7-O-glukozid (4,0–8,8 %) sa z jednotlivých listových párov extrahovali v inom pomere ako THD a ich najvyšší obsah nebol v najmladších, ešte nerozvinutých listoch. V najväčšom množstve boli prítomné v 1. listovom páre,



Obr. 4. Celkový obsah hydroxyškoricových derivátov vyjadrených ako kyselina rozmarínová (THD) vo vodných extraktoch a obsah THD a kyseliny rozmarínovej (RA) v metanolových extraktoch listových párov *M. x villosa* Huds. 'Snežná'



Obr. 5. Celkový obsah polyfenolov (TP) a „triestrovin“ (T) vyjadrených ako pyrogalol vo vodných a metanolových extraktoch listových párov *M. x villosa* Huds. 'Snežná'



Obr. 6. Obsah flavonoidov stanovených ako luteolín-7-O-glukozid vo vodných a metanolových extraktoch listových párov *M. x villosa* Huds. 'Snežná'

ich obsah výraznejšie klesal po listy umiestnené v strede stonky a potom sa ich obsah smerom k bazálnym listom ustálil (obr. 6). V najmenších vrcholových listoch, ktoré tvorili súčasť našej vzorky RV, nezistili prítomnosť flavonoidov ani Voirin et al. pri štúdiu listových inzercií *M. x piperita*¹³⁾.

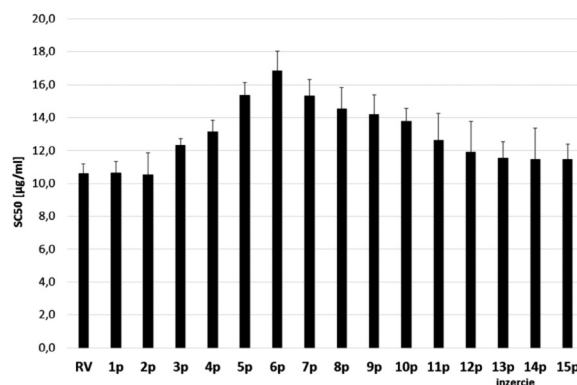
Metanolový extrakt

Pri analýze metanolových extraktov jednotlivých listových párov sa zaznamenala podobná tendencia kolísania obsahu uvedených fenolových látok ako pri vodných extraktoch. Množstvo THD stanovené s Arnowovým skúmadlom sa v listových inzerciách pohybovalo od 6,6 % do 14,0 % (obr. 4) a množstvo polyfenolov (TP) stanovené s Folin-Ciocalteuovým skúmadlom od 6,2 % do 13,9 % (obr. 5). V metanolových extraktoch sa stanovila aj samotná kyselina rozmarínová, ktorá predstavovala väčšinou 45–55 % obsahu THD a jej množstvo v jednotlivých listových pároch kolísalo od 3,3 % do 5,9 % (obr. 4). Obsah flavonoidov bol 4,0–10,5 %, v najväčšom množstve boli prítomné opäť v 1. listovom páre, ich obsah následne klesal a od stredných listov smerom k bazálnym bol vyrovnaný (obr. 6).

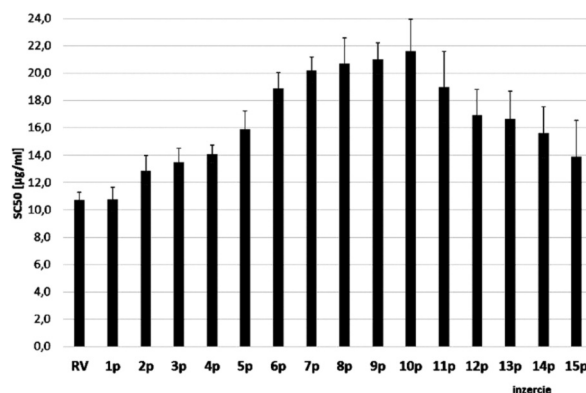
Antioxidačná aktivita

Antioxidačná aktivita sa stanovila s DPPH radikálom a vyjadřila sa ako SC_{50} v $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Pri vodných extraktoch

sa hodnoty SC_{50} pohybovali v rozmedzí 10,2 až 16,9 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (obr. 7), pri metanolových extraktoch boli hodnoty $SC_{50} = 10,7 - 21,6 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (obr. 8). Antioxidačná aktivita korelovala najmä s obsahom hydroxyškoricových derivátov, resp. celkovým obsahom polyfenolov – v metanolovom extrakte sa prejavil najväčší vplyv kyseliny rozmarínovej ($R^2 = 0,8751$), vo vodnom extrakte vplyv celkového obsahu polyfenolov ($R^2 = 0,8575$). Korelácia s obsahom flavonoidov bola výrazne nižšia. Ich vplyv sa však prejavil najmä v listoch rastového vrcholu tak u vodných ako aj u metanolových extraktov, kde sa napriek najvyššiemu obsahu THD, resp. TP nezaznamenala najvyššia antioxidačná aktivita, pretože listy RV obsahovali výrazne nižšie množstvo flavonoidov typu luteolín-7-O-glukozidu (obr. 7 a 8). Luteolín-7-O-glukozid je bežnou obsahovou látkou rastlín čeľade Lamiaceae a je známy vyššou antioxidačnou aktivitou^{16, 18)}. Určitý vplyv flavonoidov sa ukázal aj pri vodných extraktoch listov zo strednej a bazálnej časti stonky, vyššie množstvo flavonoidných glykozidov extrahovaných do vody zo stredných a bazálnych listov (obr. 6) sa prejavilo mierne vyššou antioxidačnou aktivitou v porovnaní s metanolovými extraktami (obr. 7 a 8). Všeobecne najvyššiu antioxidačnú aktivitu mali extrakty listových párov z vrcholu stonky, nižšie extrakty listov z bazálnej časti stonky. Najnižšiu antioxidačnú aktivitu mali vodné extrakty 5. až 6. páru listov, čo koreluje



Obr. 7. Antioxidačná aktivita vyjadrená ako SC_{50} v $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (suchej hmotnosti drogy) vodných extraktov listových párov *M. x villosa* Huds. 'Snežná'



Obr. 8. Antioxidačná aktivita vyjadrená ako SC_{50} v $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (suchej hmotnosti drogy) metanolových extraktov listových párov *M. x villosa* Huds. 'Snežná'

s najnižším obsahom TP (obr. 5 a 7). Metanolové extrakty mali najnižšiu antioxidačnú aktivitu u listov 8. až 10. páru, kde sa zaznamenal najnižší obsah kyseliny rozmarínovej a THD (obr. 4 a 8).

Záver

Fenolové látky typu hydroxyškoricových kyselín (kyselina rozmarínová) a flavonoidov luteolínového typu resp. celkový obsah polyfenolov sa vo vňati *M. × villosa* cv. Snežná nachádzal v najväčšom množstve vo vrcholových listoch (RV – 3. pár), ktoré však v celkovom listovom podiele tvorili menej ako 7 %. Najnižší obsah uvedených fenolových látok bol v listoch umiestnených v strede stonky. Pretože tieto listy tvorili najväčší podiel všetkých listov na stonke, ich kvalita je rozhodujúca pre výsledné hodnoty celej listovej drogy. Bočné konáriky majú podľa našich skúseností rovnakú tendenciu kolísania obsahu fenolových látok v listových pároch ako listy na hlavnej stonke. Podobné výsledky v kolísaní obsahu fenolových látok v listových inzerciách sme v minulosti zaznamenali aj v iných druhoch čelade Lamiaceae^{11, 19, 20}. Všeobecne možno konštatovať, že pri zbere mäty huňatej pre získanie listovej drogy s vyšším obsahom fenolových látok je vhodné zbierať celú olistenú časť stonky.

Práca bola podporená grantovým projektom VEGA MŠ SR č. 1/0290/16 (Komplexná analýza látok prírodného pôvodu s terapeutickým potenciálom v humánnej medicíne).

Za technickú spoluprácu ďakujeme pani laborantke Magdaléne Országovej.

Stret záujmov: žiadny.

Literatúra

1. Grayer R. J., Eckert M. R., Veitch N. C., Kite G. C., Marin P. D., Kokubun T., Simmonds M. S. J., Paton A. J. The chemotaxonomic significance of two bioactive caffeic acid esters, nepeptoidins A and B, in the Lamiaceae. *Phytochemistry* 2003; 64(2), 519–528.
2. Lamaison J. L., Petitjean-Freytet C., Duband F., Carnat A. Rosmarinic acid content and antioxidant activity in French Lamiaceae. *Fitoterapia* 1991; 62(2), 166–171.
3. Pedersen J. A. Distribution and taxonomic implications of some phenolics in the family Lamiaceae determined by ESR spectroscopy. *Biochem. Syst. Ecol.* 2000; 28(3), 229–253.
4. Lahlou S., Ferreira Lima Carneiro-Leão R., Leal-Cardoso J. H. Cardiovascular effects of the essential oil of *Mentha × villosa* in DOCA-salt-hypertensive rats. *Phytomedicine* 2002; 9(8), 715–720.
5. Bertová L., et al. Flóra Slovenska. V/1. Bratislava: Veda 1993; 393.
6. De Sousa D. P. Analgesic-like Activity of Essential Oils Constituents. *Molecules* 2011; 16(3), 2233–2252.
7. Arruda T. A., Rossana M. P., Antunes R. M. P., Catão R. M. R., Lima E. O., Sousa D. P., Nunes X. P., Pereira M. S. V., Barbosa-Filho J. M., da Cunha E. V. L. Preliminary study of the antimicrobial activity of *Mentha × villosa* Hudson essential oil, rotundifolone and its analogues. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2006; 16(3), 307–311.
8. Nunes Guedes D., Silva D. F., Barbosa-Filho J. M., Almeida de Medeiros I. Endothelium-dependent hypotensive and vasorelaxant effects of the essential oil from aerial parts of *Mentha × villosa* in rats. *Phytomedicine* 2004; 11(6), 490–497.
9. Macedo I. T. F., Bevilaqua C. M. L., de Oliveira L. M. B., Camurca-Vasconcelos A. L. F., Morais S. M., Machado L. K. A., Ribeiro W. L. C. In vitro activity of *Lantana camara*, *Alpinia zerumbet*, *Mentha villosa* and *Tagetes minuta* decoctions on *Haemonchus contortus* eggs and larvae. *Vet. Parasitol.* 2012; 190(3–4), 504–509.
10. Fialová S., Veizerova L., Nosalova V., Drabikova K., Tekelova D., Grancai D., Sotnikova R. Water Extract of *Mentha × villosa*: Phenolic Fingerprint and Effect on Ischemia-Reperfusion Injury. *Nat. Prod. Commun. (NPC)* 2015; 10(6), 937–940.
11. Tekelová D., Felklová M. *Salvia officinalis* L. cv. Krajová. 5. Gehalt an ätherischem Öl, Asche und Hydroxyzimtsäurederivaten in einzelnen Blattinsertionen. *Pharmazie* 1993; 48(12), 938–940.
12. Mrlianová M., Tekelová D., Felklová M., Reinöhl V., Tóth J. The influence of the harvest cut height on the quality of the herbal drugs *Melissae folium* and *Melissae herba*. *Planta Med.* 2002; 68(2), 178–180.
13. Voirin, B., Bayet CH. Developmental variations in leaf flavonoid aglycones of *Mentha × piperita*. *Phytochemistry* 1992; 31(7), 2299–2304.
14. European Pharmacopoeia. 8th Edition (Ph. Eur. 8). Strasbourg: Council of Europe; 2013; 275, 1232, 1369.
15. Tóth J., Mrlianová M., Tekelová D., Koreňová M. Rosmarinic acid – an important phenolic active compound of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Acta Fac. Pharm. Univ. Comen.* 2003; 50, 139–146.
16. Nagy M., Spilková J., Vrchovská V., Kontšeková Z., Šeršeň F., Mučaji P., Grancai D. Free radical scavenging activity of different extracts and some constituents from the leaves of *Ligustrum vulgare* and *L. delavayanum*. *Fitoterapia* 2006; 77(5), 395–397.
17. Petersen M., Abdullah Y., Benner J., Eberle D., Gehlen K., Hücherig S., Janiak V., Kim K. H., Sander M., Weitzel C., Wolters S. Evolution of rosmarinic acid biosynthesis. *Phytochemistry* 2009; 70(15–16), 1663–1679.
18. Wang M., Li J., Rangarajan, M., Shao Y., LaVoie E. J., Huang Ch.-T. Antioxidative Phenolic Compounds from Sage (*Salvia officinalis*). *J. Agric. Food Chem.* 1998; 46(12), 4869–4873.
19. Tekelová D., Mrlianová M., Fialová S., Grancai D. Fenolové látky v listových inzerciách *Mentha × piperita* L. cv. Perpeta. In: Zborník Medzinárodnej konferencie o liečivých rastlinách a ich využití v terapeutickú praxi. Stará Lubovňa: 2014; 48–50.
20. Tekelová D., Tóth J., Czige Sz., Koutsoulas A. Hydroxycinnamic derivatives content in plant organs linked to harvest time of *Salvia officinalis* L. cv. Krajová. *Acta Fac. Pharm. Univ. Comen.* 2015; 62(1), 40–46.