

VILNIAUS UNIVERSITETAS

MEDICINOS FAKULTETAS

Biomedicinos mokslų institutas (Farmacijos ir farmakologijos centras)

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

Raugines medžiagas kaupiančių vaistinių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis
mikroorganizmams

Studentė: Aurėja Kavaliauskaitė

V kursas, I grupė

Darbo vadovė:

dr. Vita Raudonienė

parašas

Farmacijos ir farmakologijos centro vadovė:

doc. dr. Kristina Garuolienė

parašas

Biomedicinos mokslų instituto direktorius:

prof. dr. Algirdas Edvardas Tamošiūnas

parašas

Darbo įteikimo data: 2023.05.14

Registracijos Nr. _____

Studento elektroninio pašto adresas:

aureja.kavaliauskaite@mf.stud.vu.lt

2023

TURINYS

SANTRAUKA	4
SUMMARY	5
SANTRUMPOS	6
ĮVADAS	7
TIKSLAS IR UŽDAVINIAI	7
1. LITERATŪROS APŽVALGA	9
1.2 Pelkinis gailis (<i>Rhododendron tomentosum</i> L.)	9
1.3 Siauralapė balžuva (<i>Andromeda polifolia</i> L.).....	10
1.4 Juodoji varnauogė (<i>Empetrum nigrum</i> L.)	11
1.5 Mėlynė (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.).....	11
1.6 Miltinė meškauogė (<i>Arctostaphylos uva-ursi</i> L.)	12
1.7 Bruknė (<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.)	13
1.8 Šilinis viržis (<i>Calluna vulgaris</i> L.)	14
1.9 Erškėtinių (Rosaceae) augalų šeima	15
1.10 Paprastoji rasakila (<i>Alchemilla vulgaris</i> L.)	16
1.11 Paprastoji žemuogė (<i>Fragaria vesca</i> L.)	17
1.12 Vaistinė dirvuolė (<i>Agrimonia eupatoria</i> L.)	18
1.13 Žašinė sidabražolė (<i>Potentilla anserina</i> L.)	19
1.14 Fenoliniai junginiai ir jų klasifikacija	20
1.14.1 Fenolinių junginių farmakologinės savybės	24
1.15 Taninai ir jų klasifikacija	25
1.15.1 Taninų farmakologinės savybės	27
1.16 Burnos ir viršutinių kvėpavimo takų mikroflora	28
1.17 Taninų poveikis mikroorganizmams	31
2. TYRIMO METODIKA	32
2.1. Tyrimo objektai	32
2.2. Naudota įranga	33

2.3 Naudoti reagentai	33
2.4. Sausų metanolinių ekstraktų ruošimas	34
2.5 Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas spektrofotometriniu metodu	34
2.6 Bendro taninų kiekio nustatymas spektrofotometriniu metodu	36
2.7 Sausų metanolinių ekstraktų antimikrobinio aktyvumo nustatymas Kirby-Bauer agar difuzijos metodu	36
2.8 Sausų metanolinių ekstraktų antimikrobinio aktyvumo nustatymas terpės mikropraskiedimo metodu	37
2.9 Statistinė duomenų analizė	38
3. TYRIMO REZULTATAI	39
3.1 Bendras fenolinių junginių kiekis Ericaceae šeimos rūšių augalų sausuose metanoliniuose ekstraktuose	39
3.2 Bendras fenolinių junginių kiekis Rosaceae šeimos rūšių augalų sausuose metanoliniuose ekstraktuose	40
3.3 Bendras taninų kiekis Ericaceae šeimos rūšių augalų sausuose metanoliniuose ekstraktuose	42
3.4 Bendras taninų kiekis Rosaceae šeimos rūšių augalų sausuose metanoliniuose ekstraktuose	43
3.5 Sausų augalų ekstraktų antimikrobinis poveikis mikroorganizmams Kirby-Bauer agar difuzijos metodu	44
3.5.1 Ericaceae ir Rosaceae rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis <i>Staphylococcus aureus</i>	45
3.5.2 Ericaceae ir Rosaceae šeimos rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis <i>Moraxella catarrhalis</i>	46
3.5.3 Ericaceae ir Rosaceae šeimos rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis <i>Streptococcus mitis</i>	46
3.5.4 Ericaceae ir Rosaceae šeimos rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis <i>Candida albicans</i>	47
3.6 Sausų augalų ekstraktų antimikrobinis poveikis mikroorganizmams terpės mikropraskiedimo metodu	49
3.6.1 Ericaceae ir Rocaceae rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis <i>Staphylococcus aureus</i>	49
3.6.2 Ericaceae ir Rosaceae rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis <i>Moraxella catarrhalis</i>	51
3.6.3 Ericaceae ir Rosaceae rūšių augalų lapų sausų metanolinių esktraktų poveikis	

<i>Streptococcus mitis</i>	52
3.6.4 Ericaceae ir Rosaceae rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis <i>Candida albicans</i>	54
4. IŠVADOS	56
5. REKOMENDACIJOS	57
6. LITERATŪROS SĄRAŠAS	58

SANTRAUKA

Aurėjos Kavaliauskaitės baigiamasis magistro darbas: **Raugines medžiagas kaupiančių vaistinių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis mikroorganizmams.**

Darbo tikslas: palyginti Lietuvoje augančių erikinių (Ericaceae) ir erškėtinių (Rosaceae) šeimos atstovų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikį burnos ir viršutinių kvėpavimo takų mikroorganizmams.

Uždaviniai: įvertinti suminį fenolinių junginių ir taninų kiekį Ericaceae (siauralapės balžuvos, pelkinio gailio, juodosios varnauogės, mėlynės, bruknės, miltinės meškauogės, šilinio viržio) ir Rosaceae (paprastosios rasakilos, paprastosios žemuogės, vaistinės dirvuolės ir žąsinės sidabražolės) augalų lapų sausuose metanoliniuose ekstraktuose. Ištirti Ericaceae ir Rosaceae šeimos atstovų antimikrobinį poveikį *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis*, *Moraxella catarrhalis* ir *Candida albicans*.

Metodika: sausi metanoliniai ekstraktai pagaminti naudojant rotacinį garintuvą ir liofilizatorių. Suminis fenolinių junginių kiekis sausuose metanoliniuose ekstraktuose nustatytas Folin-Ciocalteu metodu. Suminis taninų kiekis nustatytas naudojant polivinilpirolidono (PVPP) miltelius, surišančius taninus, esančius ekstraktuose. Ekstraktų antimikrobinis—aktyvumas nustatomas dviem būdais: Kirby-Bauer agarų difuzijos metodu ir terpės mikropaskiedimo metodu. Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant „Microsoft Office Excel 2016“.

Rezultatai ir išvados: didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis nustatytas miltinės meškauogės ($72,2 \pm 2,3$ %), mažiausias – paprastosios rasakilos ($16,2 \pm 0,9$ %) lapų sausame metanoliniame ekstrakte. Didžiausias bendras taninų kiekis nustatytas pelkinio gailio ($48,4 \pm 1,4$ %), mažiausias – paprastosios rasakilos ($12,2 \pm 1,3$ %) sausame metanoliniame ekstrakte. Tyrimą atliekant Kirby-Bauer agarų difuzijos ir terpės mikropaskiedimo metodais rezultatai parodė, kad *Candida albicans* buvo atspariausias iš visų tirtų mikroorganizmų. Šio grybo augimui įtakos turėjo tik juodosios varnauogės ir pelkinio gailio lapų sausieji metanoliniai ekstraktai. Iš visų tirtų mikroorganizmų jautriausias buvo *Staphylococcus aureus*. Stipriausiomis antimikrobinėmis savybėmis prieš *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* ir *Streptococcus mitis* iš visų tirtų vaistinių augalų pasižymėjo miltinės meškauogės metanolinis ekstraktas. Stipriausiu antimikrobinio poveikiu prieš *S. aureus* pasižymėjo žąsinės sidabražolės, miltinės meškauogės, siauralapės balžuvos ir juodosios varnauogės ekstraktai, prieš *M. catarrhalis* – paprastosios žemuogės ir miltinės meškauogės ekstraktai, prieš *S. mitis* – žąsinės sidabražolės, paprastosios žemuogės ir paprastosios rasakilos ekstraktai.

SUMMARY

Aurėja Kavaliauskaitė master's thesis: **Effect of dry methanol extracts of medicinal plant leaves accumulating tannins on microorganisms.**

The aim of the study: to compare the effects of dry methanolic extracts of leaves of Ericaceae and Rosaceae family members growing in Lithuania on microorganisms.

Objectives: to evaluate the total amount of phenolic compounds and tannins in the dry methanolic extracts of leaves of Ericaceae (bog-rosemary, marsh Labrador tea, black crowberry, blueberry, lingonberry, mealy bearberry, Scotch heather) and Rosaceae (lady's mantle, wild strawberry, common agrimony or silverweed). To investigate the antimicrobial effect of members of the Ericaceae and Rosaceae family against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis*, *Moraxella catarrhalis* and *Candida albicans*.

Methodology: dry methanolic extracts were prepared using a rotary evaporator and a lyophilizer. The total amount of phenolic compounds in dry methanolic extracts was determined by the Folin-Ciocalteu method. The total amount of tannins was determined using polyvinylpyrrolidone (PVPP) powder, which binds the tannins contained in the extracts. The antimicrobial activity of the extracts is determined by two methods: the Kirby-Bauer agar diffusion method and the microdilution method. Statistical data analysis was performed using Microsoft Office Excel 2016.

Results and conclusions: the highest total amount of phenolic compounds was determined in the dry methanolic extract of the mealy bearberry (72.2 ± 2.3 %), the lowest in the common agrimony (16.2 ± 0.9 %). The highest total amount of tannins was determined in the dry methanolic extract of the marsh Labrador tea (48.4 ± 1.4 %), the lowest in the common agrimony (12.2 ± 1.3 %). The results of the Kirby-Bauer agar diffusion and microdilution methods showed that *Candida albicans* was the most resistant of all microorganisms tested. The growth of this fungus was affected only by the dry methanolic extracts of the leaves of black crowberry and marsh Labrador tea. Of all microorganisms tested, *Staphylococcus aureus* was the most sensitive. The methanolic extract of mealy bearberry had the strongest antimicrobial properties against *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* and *Streptococcus mitis* of all the medicinal plants tested. The strongest antimicrobial effect against *S. aureus* was shown by the extracts of silverweed, mealy bearberry, bog-rosemary and black crowberry, against *M. catarrhalis* – by the extracts of wild strawberry and mealy bearberry, against *S. mitis* – by the extracts of silverweed, wild strawberry and common agrimony.

SANTRUMPOS

GAE – Galo rūgštis ekvivalentas

PVPP – Polivinilpirolidonas

TRE – Tanino rūgštis ekvivalentas

MIK – Minimali inhibuojanti koncentracija

MBK/MFK – Minimali baktericidinė/fungicidinė koncentracija

IVADAS

Burnos ertmės ir viršutinių kvėpavimo takų mikroorganizmai yra viena sudėtingiausia žmogaus organizmo mikroflora. Šiuo metu burnos ertmėje aptikta daugiau nei 700 bakterijų rūšių (1). Sveikos burnos patogeninės ir nepatogeninės bakterijos paprastai palaiko dinamišką pusiausvyrą per sinergetinį ir antagonistinį mikroorganizmų veikimą. Tačiau pakitus mikroflorai, patogeniniai mikroorganizmai sparčiai dauginasi ir taip gali sukelti burnos ir viršutinių kvėpavimo takų ligas (2,3). Burnos sveikata daro labai didelę įtaką bendrai žmogaus gyvenimo kokybei užtikrinant fizinę, socialinę, psichinę gerovę, o prasta burnos būklė yra susijusi su lėtinėmis ir sisteminėmis ligomis (4). Dantų ligos, tokios kaip kariesas ir periodonto ligos, yra vienos iš labiausiai paplitusių ligų mūsų visuomenėje. Vieni iš pagrindinių mikroorganizmų, kurie atsakingi už periodontito išsivystymą yra *Streptococcus mitis* ir *Staphylococcus aureus*. Ankstyvosios vaikystės dantų ėduonis, virulentiška dantų ėduonies forma yra susijusi su dideliu *Streptococcus mutans* ir *Candida albicans* kiekiu dantų apnašose.

Viršutiniai kvėpavimo takai yra kvėpavimo takų mikrobiotos epicentras. Kadangi sveikas suaugęs žmogus per dieną įkvepia daugiau kaip 7000 l oro, viršutiniai kvėpavimo takai yra nuolat apsemiami oro srauto iš išorinės aplinkos. Kartu su oru per parą įkvepiama 10^4 – 10^6 bakterijų ląstelių kubiniame metre (5). Naujausi tyrimai rodo, kad viena iš dažniausiai pasitaikančių bakterijų viršutiniuose kvėpavimo takuose yra granteigiama aerobinė bakterija *Moraxella catarrhalis*, sukianti plaučių uždegimą, sinusų uždegimą, bronchitą ir vidurinės ausies infekciją (6).

Tiek burnos mikroflora, tiek viršutinių kvėpavimo takų mikroflora yra natūralus rezervuaras daugybei oportunistinių mikrobu, sukeliančių platų spektrą ūminių ir potencialiai pavojingų gyvybei kvėpavimo takų infekcijų ir burnos ligas (3,7). Todėl norint išvengti sveikatos problemų yra labai svarbu gerinti burnos būklę, didžiausią dėmesį skiriant jos higienai ir profilaktikai bei užtikrinti viršutinių kvėpavimo takų profilaktiką.

Pastaruoju metu didėjant natūralios kilmės produktų farmacijoje poreikiui, ieškoma potencialių, antimikrobinėmis savybėmis pasižyminčių natūralios kilmės junginių (7). Vaistiniai augalai plačiai naudojami kaip alternatyvios terapinės priemonės profilaktikai ir/ar gydymui nuo daugelio ligų. Antriniai augalų metabolitai gali būti atsakingi už apsaugą nuo mikroorganizmų – dauguma antrinių metabolitų, biologiškai veikliosios medžiagos, pasižymi įvairiu biologiniu aktyvumu, taip pat ir antimikrobinėmis savybėmis (8). Vieni tokių junginių yra aptinkami erikinių (Ericaceae) ir erškėtinių (Rosaceae) šeimos atstovuose (9). Lietuvoje auga nemažai augalų, priklausančių erikinių ir erškėtinių šeimos atstovams (10,11), tačiau žinios apie šių rūšių

augalų antimikrobinį aktyvumą yra menkos, o kai kurių augalų biocidinis poveikis burnos ir viršutinių kvėpavimo takų mikroorganizmams nėra tirtas. Todėl tyrimų rezultatai apie Ericaceae ir Rosaceae šeimų augalų antimikrobinį aktyvumą ateityje gali prisidėti prie sumažėjusių burnos ir kvėpavimo takų ligų.

TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Darbo tikslas: palyginti Lietuvoje augančių erikinių (Ericaceae) ir erškėtinių (Rosaceae) šeimos atstovų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikį burnos ir viršutinių kvėpavimo takų mikroorganizmams.

Darbo uždaviniai:

1. Įvertinti suminį fenolinių junginių ir taninų kiekį Ericaceae (siauralapės balžuvos, pelkinio gailio, juodosios varnauogės, mėlynės, bruknės, miltinės meškauogės, šilinio viržio) augalų lapų sausuose metanoliniuose ekstraktuose.
2. Įvertinti suminį fenolinių junginių ir taninų kiekį Rosaceae (paprastosios rasakilos, paprastosios žemuogės, vaistinės dirvuolės ir žąsinės sidabražolės) augalų lapų sausuose metanoliniuose ekstraktuose.
3. Ištirti Ericaceae ir Rosaceae šeimos atstovų antimikrobinį poveikį *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis*, *Moraxella catarrhalis* ir *Candida albicans* mikroorganizmams.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Erikinių (*Ericaceae*) augalų šeima

Ericaceae šeimą sudaro 126 gentys ir apie 4000 rūšių. Šios šeimos nariai yra plačiai paplitę, kai kurių rūšių arealai siekia subarkktį, o atogrąžose paprastai auga kalnuose. Erikiniai – vasaržaliai, visžaliai ar ilgai žaliuojantys sumedėję augalai, kurių didžioji dalis yra krūmokšniai arba puskrūmiai, su šaknyse būdinga endotrofine mikorize. Lapai stangrūs, ištisiniai, dažniausiai odiški, pražanginiai ar priešiniai, kai kada menturiniai, be prielapių. Žiedai dvilyčiai (retai vienalyčiai), daugiausia taisyklingi, dažniausiai keturnariai ar penkianariai, pavieniai, kekėse arba šluotelėse, kartais netikruose skėčiuose. Pumpurai dažniausiai su keliais čerpiškais žvyneliais, retai pliki. Taurėlė turinti kelis, skirtingus taurėlapius. Taurėlapiai laisvi arba suaugę. Vainiklapiai suaugę, retai laisvi, vamzdiški, tauriški ar varpiški. Mezginė paprastai penkializdė; placentos centrinės, su vienu ar daug apverstinių sėklapradžių; purka galviška. Vaisius uoga, mažasėklis kaulavaisiukas ar daugiasėklė dėžutė. Sėklos dažniausiai išplatintos vėjo, yra labai mažos, kabančios, dygsta šviesoje, gemale gausu baltymingo endospermo. Dauguma šios šeimos atstovų taip pat dauginasi ir vegetatyviniu būdu. Pelkėse erikinių šeimos augalai skatina aukštapelkinių durpių susidarimą, bet dėl lėto augimo, durpėse jų liekanų nedaug. Auga savaimė ir kultūroje rūgščiuose dirvožemiuose, dažnai masiškai. Po jais susidaro rūgštusis humusas. Drėgno ir vėsaus klimato sąlygomis auga jaurėjančiuose dirvožemiuose (11,12)

1.2 Pelkinis gailis (*Rhododendron tomentosum* L.)

Iki 1 m aukščio, kylančiais, stačiais stiebais krūmas. Lapai visžaliai, trumpakočiai, iki 6–7 cm ilgio, žemyn užsiraičiusiais kraštais, apatinė pusė ruda, tarsi aptraukta rūdžių (1 pav). Žiedynai viršūniniai, skėtiški, balti. Žiedkočiai statūs, ilgesni už žiedą, pamate su išliekančiais pumpurų žvynais. Taurėlapiai lipnūs, kiaušiniški. Vainikėlis baltas, žvaigdiškai išsiskleidęs, vainiklapiai buki. Sėklos verpstiškos, jų labai daug, iki 1,5 mm ilgio. Žydi gegužės – liepos mėnesiais. Auga mezotrofinėse ir oligotrofinėse pelkėse, gausu aukštapelkių šlaituose ir paežerėse (11,13).

Pelkinis gailis, gali sukelti galvos skausmą, vėmimą ar net agresyvumą, kadangi turi specifinį, aštrų kvapą, kuris veikia centrinę nervų sistemą. Lietuvoje pelkinis gailis vartojamas gydant reumatą, įvairius skausmus, vabzdžių įkandimus, egzemą ir kitas odos problemas, infekcijas, bronchitą, astmą, peršalimą, tuberkuliozę, gailis stabdant kraujavimą ir kt. (14). Ištirta, kad pelkinio gailio ekstraktai, eteriniai aliejai ar išsiskiriančios lakiosios medžiagos turi antioksidantinį, analgetinį, antibakterinį, antidiabetinį, priešvėžinį, priešgrybelinį ir kt.

poveikį. Buvo tirta Rytų Lietuvoje augančio pelkinio gailio ūgliuose ir žiedynuose susikaupiančio eterinio aliejaus cheminė sudėtis. Tyrimas parodė, kad didžiąją eterinio aliejaus dalį sudaro seskviterpenų angliavandeniliai ($54,1 \pm 1,5$ – $76,1 \pm 4,5$ %), o pagrindiniai junginiai buvo palustrolis ($24,6 \pm 2,6$ % – $33,5 \pm 4,4$ %), ledolis ($18,0 \pm 2,9$ % – $29,0 \pm 5,0$ %). Taip pat dažni buvo tokie junginiai, kaip askaridolio izomerai ($7,0 \pm 2,4$ % – $14,0 \pm 2,4$ %), mircenas ($7,2 \pm 0,3$ % ir $10,1 \pm 1,3$ %), lepalolis ($3,3 \pm 0,3$ % ir $7,9 \pm 3,0$ % ir $7,9 \pm 3,0$ %) (15).



1 pav. Pelkinis gailis (*Rhododendron tomentosum* L.)

1.3 Siauralapė balžuva (*Andromeda polifolia* L.)

Žemaūgis krūmokšnis su toli šliaužiančiu, įsišaknijančiu šakniastiebiu ir su daugeliu kylančių pilkšvų šakelių. Lapai odiški, žiemojantys, linijiškai lancetiški, trumpakočiai, iki 4–5 cm ilgio, lapų apatinė pusė balsva, viršutinė – tamsiai žalia. Žiedynas – reta skėtiška kekė; žiedai balti arba rausvi, nusvirę (2 pav). Taurelės skiautės kiaušiniškai lancetiškos, nusmailėjusios. Sėklos smulkios, kiaušiniškos. Žydi nuo gegužės iki birželio mėnesio. Auga miškų kiminyuose, kiminių pelkėse, apsausintose aukštapelkėse, pelkėjimo židiniuose, eksploatuotuose aukštutinio ir tarpinio tipo durpnyuose (11,13).



2 pav. Siauralapė balžuva (*Andromeda polifolia* L.)

1.4 Juodoji varnauogė (*Empetrum nigrum* L.)

Daugiametis, gausiai šakotas, šliaužiantis, iki 100 cm ilgio, visžalis augalas. Stiebas labai šakotas, gulsčias, šakos kylančios. Lapai liniški arba siaurai lancetiški, pakraščiai žemyn užsiraite, apatinėje pusėje yra baltas ruoželis (3 pav). Žiedai tamsiai raudoni arba rausvi, po vieną lapų pažastyse dvimečių šakelių viršutinėje dalyje. Taurėlapiai plačiai kiaušiniški, šaukštiškai išgaubti, pamate suaugę, pasiliekančios prie vaisiaus. Vainiklapiai siauri, atvirksčiai kiaušiniški arba pleištiški. Sėklos tribriaunės, 2–2,3 mm ilgio ir 1,2–1,4 mm pločio. Žydi gegužės mėnesį, vaisiai subręsta rugpjūčio mėnesį. Dažnai išsilaiko per žiemą. Auga aukštapelkėse ant kupstų. Kai kur pasitaiko retuose kerpiniuose ir žaliasamaniuose pušnyuose, smėlio dirvožemyje. Šviesą mėgstantis augalas (11,13).

Varnauogių vaisius naudoja liaudies medicinoje, pvz., kaip priešuždegiminius vaistus cistitui, nefritui ir uretritui gydyti. Tokių vaisių poveikį lemia didelis kiekis polifenolių junginių, ypač flavonolių (kvercetino, kempferolio ir miricetino) ir antocianinų. Polifenoliai yra svarbiausi biologiškai aktyvūs junginiai juodųjų varnauogių vaisiuose. Bendras polifenolių kiekis juodųjų varnauogių vaisiuose sudaro $4,3 \pm 0,09$ mg GAE/g (galo rūgšties ekvivalentas) šviežiuose vaisiuose ir $7,51 \pm 0,17$ mg GAE/g džiovintuose vaisiuose. Varnauogių vaisiai taip pat yra vertingas antocianinų (460 mg/100 g vaisių) ir flavonoidų ($2,46 \pm 0,01$ mg/g (katechino ekvivalentais) ir $3,94 \pm 0,106$ mg /g atitinkamai šviežiuose ir džiovintuose vaisiuose) šaltinis (16).



3 pav. Juodoji varnauogė (*Empetrum nigrum* L.)

1.5 Mėlynė (*Vaccinium myrtillus* L.)

Labai išsišakojęs, 15–40 cm aukščio puskrūmokšnis su kylančiomis keturbriaunėmis šakomis ir šliaužiančiu požeminiu stiebu. Lapai apvaliai kiaušiniški, su nusmailėjusia viršūne, trumpakočiai, smulkiai pjūkliški, pliki. Žiedai kaba ant trumpo žiedkočio. Taurelė suaugusi su mezgine, neryškiai penkiaskiautė. Vainikėlis turi 5 bukas, trumpas skiauteles. Mėlynė – mažas (5–9 mm skersmens) vaisius, melsvai juodos spalvos, su daugybe sėklų (4 pav). Sėklos smulkios, rudos, šiek tiek pusmėnuliškos. Žydi nuo gegužės iki birželio

mėnesio. Vaistams vartojami lapai ir prisirpusios uogos. Lapai skinami kol augalas dar žydi. Dažniausiai auga būriais, ne per daug ūksmėtuose, drėgnų, puveningų, bet rūgščių dirvožemių miškuose, viržynuose, pievose. Augimui palankios vidutinio pavėsio ir vidutiniškai drėgnos žemės sąlygos (17,18). Mėlynė yra įtraukta į Europos Farmakopėją. Džiovinėtų mėlynių vaisių sudėties reikalavimai yra mažiausiai 0,8 % taninų, išreikštų pirogaloliu ($C_6H_6O_3$; Mr 126,1), o šviežių vaisių - mažiausiai 0,30 % antocianinų, išreikštų cianidino 3-O-gliukozido chloridu (chrizanteminas, $C_{21}H_{21}ClO_{11}$; Mr 484,8) (19).

Mėlynėse yra įvairių fenolinių junginių, įskaitant flavonolius, taninus, elagitaninus ir fenolio rūgštis, tačiau antocianinai sudaro bene didžiausią dalį. Mėlynėse yra nedidelis kiekis vitamino C. Mėlynės turi antioksidacinių, priešvėžinių, nutukimą mažinančių, priešuždegiminių, antidiabetinių, antimikrobinių, akių apsaugos, kardioprotekcinų ir neuroprotekcinų savybių (18).

Mėlynių lapuose yra didelė įvairovė polifenolinių junginių, kurie, kaip manoma, yra atsakingi už didžiąją dalį terapinio poveikio. Bendras flavonoidų kiekis mėlynės lapuose, priklausomai nuo augimo geografinės vietos, gali labai varijuoti: Bulgarijoje 12–35 mg/g, Lenkijoje 16.36 mg/g, Lietuvoje 8–40 mg/g, Ukrainoje 19.3 mg/g. Iš visų flavonoidų didžiąją dalį sudaro kvercetino dariniai, ypač kvercetino 3-O-rutinozidas ir kvercetino 3-O-galaktozidas. Mėlynių lapuose yra didelis taninų kiekis, paprastai nuo 0,8 iki 6,7% (20).



4 pav. Mėlynė (*Vaccinium myrtillus* L.)

1.6 Miltinė meškauogė (*Arctostaphylos uva-ursi* L.)

Žemaūgis, prie žemės prigludęs kiliminis krūmokšnis, su toli besidriekiančiomis rudomis šakomis. Lapai pailgai atvirksčiai kiaušiniški, apatinė pusė su įdubusiomis gyslomis, viršūnė buka (5 pav). Žiedai susitelkę po kelis trumpose, svyrančiose kekėse; žiedynkotis apaugęs garbanotais trumpais ir pavieniais liaukiniais plaukeliais; žiedkočiai pliki, su kiaušiniškais pažiedėlėmis. Taurelė 1 mm ilgio, giliai penkiaskiautė. Vainikėlis balzganas ar rausvas, kiaušiniškas ar ašotiškas. Miltinė meškauogė žydi gegužės–birželio mėnesiais, o vaisiai

sunoksta rugpjūčio–spalio mėnesiais. Vaistinė žaliava – lapai, kurie skinami krūmokšniams žydint. Auga būriais šviesiuose, sausuose pušnyuose. Telkia rūgštų humusą ir sutvirtina smėlio paviršių (11,17). Miltinė meškauogė yra įtraukta į Europos Farmakopėją. Jos lapų sudėties reikalavimai yra mažiausiai 7,0 % bevandenio arbutino ($C_{12}H_{16}O_7$; Mr 272,3) (džiovintoje žaliavoje) (19).

Pagrindinis terapinis meškauogių lapų ir stiebų poveikis yra antiseptinis ir diuretinis. Lapai taip pat pasižymi antihelmintiniu, sutraukiančiu, raminančiu, tonizuojančiu, hemostatinu ir metaboliniu poveikiu. Tyrimo, kurį atliko Rusijos mokslininkai, rezultatai atskleidė, kad miltinės meškauogės lapuose, kurie buvo rinkti Buriatijos Respublikoje, bendras fenolių kiekis lapuose, stiebuose ir šaknyse atitinkamai buvo 336,78 mg/g, 202,23 mg/g ir 15,73 mg/g, paprastųjų fenolių ir fenologlikozidų – 97,38 mg/g, 87,7 mg/g ir 2,96 mg/g, katechinų – 112,04 mg/g, 74,32 mg/g ir 12,52 mg/g, taninų – 72,58 mg/g, 19,15 mg/g ir 0,66 mg/g, fenilpropanoidų – 5,84 ir 4 mg/g atitinkamai lapuose ir stiebuose (21).



5 pav. Miltinė meškauogė (*Arctostaphylos uva-ursi* L.)

1.7 Bruknė (*Vaccinium vitis-idaea* L.)

Daugiametis, visžalis, 5–15 cm aukščio krūmokšnis ilgu šakotu šakniastiebiu (iki 6 m). Lapai odiški, stori, atvirksčiai kiaušiniški arba elipsiški, viršūnėje įlenktai apskriti, lygiakraščiai arba kiek karbuoti, viršutinė pusė tamsiai žalia, apatinė pusė šviesiai žalia, taškuota. Žiedai kvapnūs, balti, rausvo atspalvio, susitelkę vidutiniškai po 8–12 nusvirusiose kekėse, gali būti ir pavieniai. Taurelė keturskiautė, retai penkiaskiautė, plėniška. Vainikėlis rausvas ar baltas, varpiškas. Vaisius – blizganti, apvali, nelabai sultinga, daugiasėklė uoga (6 pav). Iš pradžių uoga būna balta, vėliau – ryškiai raudona. Vaisiai platinami paukščių, gali išnešioti ir vanduo. Bruknė žydi nuo gegužės iki birželio mėnesio, kartais pakartotinai ir liepos – rugpjūčio mėnesiais. Uogos prinoksta per 21–24 dienas nuo užuomazgų formavimosi pradžios arba po 70–90 dienų nuo žydėjimo pradžios. Vaistinė žaliava – uogos ir lapai. Uogos renkamos prisirpusios. Bruknė daugiausiai auga sausuose pušnyuose, bet pasitaiko ir pušnyuose su eglės pomiškiu, mišriuose

spygliuočių miškuose, ypač su beržais, aukštapelkių ir tarpinio tipo pelkių sausesniuose pakraščiuose (11,22).

Platus bruknių lapų įvairių biologinių savybių spektras, įskaitant antioksidacinį aktyvumą, yra susijęs su jų fenolinėmis sudedamosiomis dalimis. Lietuvoje buvo nustatytas flavonolių ir paprastų fenolių kiekis skirtingų veislių ir žemesniųjų taksonų bruknių lapų ekstraktuose. Tyrimai metu skirtingose bruknių kultūrose aptikta vienuolika fenolinių junginių, priklausančių paprastųjų fenolių, flavonolių, flavanolių, proantocianidinų ir hidroksicinamono rūgščių pogrupiams. Arbutinas buvo gausiausias fenolinis junginys visose tirtose bruknės veislėse ir žemesniuose taksonuose, šis junginys sudarė apie 41–78% viso fenolinių junginių kiekio. Astragalino kiekis buvo žymiai mažesnis nei kitų fenolinių junginių ir varijavo tarp $3,07 \pm 0,13 \mu\text{g/g}$ veislė 'Masovia') ir $120,60 \pm 4,92 \mu\text{g/g}$ veislė 'Rubin'). (+)-Katechino ir (-)-epikatechino kiekio variacijos koeficientai buvo 91% ir 129%, kas rodo labai didelį šių junginių kiekio lapuose variavimą tarp skirtingų bruknių taksonų. Procianidino kiekis tarp tirtų veislių ir žemesniųjų taksonų varijavo tarp $936,48 \pm 38,23 \mu\text{g/g}$ ir $4645,97 \pm 189,67 \mu\text{g/g}$, o didžiausias jo kiekis nustatytas *V. vitis-idaea* var. *Leukokarpumas* lapuose (23).



6 pav. Bruknė (*Vaccinium vitis-idaea* L.)

1.8 Šilinis viržis (*Calluna vulgaris* L.)

Daugiametis, visžalis, iki 70 cm aukščio puskrūmis, su prigulusiai ar įsišaknijančiais ūgliais ir kylančiomis šakelėmis (7 pav). Stiebai šakoti, pilkšvai rudi, ploni; nauji ūgliai kyla iš pereitų metų ūglių kiek didesnių lapelių pažasties. Lapai maži (apie 2 mm ilgio ir 6 mm pločio), ketureiliai, prigludę, žvyniški, priešiniai, linijiškai lancetiški, pliki, bekočiai. Žiedynas – tanki gausiažiedė vanašalė kekė. Žiedai rožiniai, kartais balti, silpno medaus kvapo, smulkūs, trumpakočiai, nusvirę, pamate su 4 mažais, pailgais, karbuotais viršūniniais lapeliais, odišku pakraščiu lapeliais. Taurelė rausva arba balsva, keturnarė, blizganti; vainiklapiai smailūs. Dėžutė daugiasėklė, keturlizdė, apvali, su standžiais plaukeliais. Sėklos šviesiai rusvos, labai

smulkios, pailgai kiaušiniškos. Auga aukštapelkėse, pušynuose, durpynuose, pamiškių pievose. Gali sudaryti didžiulius sąžalynus ir vientisą kilimą. Mėgsta sausas, smėlingas vietas. Žydi nuo liepos iki rugpjūčio mėnesio. Vaistinė žaliava – antžeminė dalis, pjaunama, kai šilinis viržis žydi (11,13,17).

Šilinio viržio žolėje yra antiuždegiminių, centrinę nervų sistemą raminančių, dezinfekuojančių, prakaito ir šlapimo išsiskyrimą skatinančių medžiagų (17). Bioaktyvių junginių randama įvairiose šio daugiamečio augalo dalyse (šaknyse, žieduose, ūgliuose). Verta paminėti, kad viržių cheminė sudėtis priklauso nuo daugelio svarbių veiksnių, iš kurių svarbiausi yra: klimatas, sezonas, aukštis virš jūros lygio, dirvožemio ypatybės arba augalo augimo etapai. Rumunijos mokslininkai, surinkę duomenis iš įvairių duomenų bazių, pabandė įvertinti antrinių metabolitų kiekius meduje, kuris buvo pagamintas bitėms renkant nektarą iš šilinio viržio žiedų ir taip perduodant bioaktyvias medžiagas medui kartu su visais specifiniais šio augalo junginiais. Analizė atskleidė, kad Turkijoje viržių meduje p-kumaro rūgštis buvo $2,98 \pm 1,6 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, kvercetino - $21 \pm 0,5 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, o lenkiško viržių medaus mėginiuose vanilės, chlorogeninės ir ferulo rūgščių neaptikta. Priešingai, medaus mėginiuose iš Lenkijos mokslininkai nustatė didesnius p-kumaro rūgštis ($407 \pm 8 \mu\text{g}/100 \text{ g}$), cistino ($108 \pm 7 \mu\text{g}/100 \text{ g}$), galangino ($154 \pm 34 \mu\text{g}/100$) ir kvercetino ($31 \pm 3 \mu\text{g}/100 \text{ g}$) kiekius. Panašūs latviško viržių medaus rezultatai buvo gauti pagal p-kumaro rūgštis ($2519 \pm 738 \mu\text{g}/\text{kg}$) ir kvercetino ($198 \pm 86 \mu\text{g}/\text{kg}$) kieki (24).



7 pav. Šilinis viržis (*Calluna vulgaris* L.)

1.9 Erškėtinių (Rosaceae) augalų šeima

Rosaceae šeimą sudaro apie 100 genčių ir 3000 rūšių, ir ji yra viena iš pagrindinių gaubtasėklių šeimų. Šios šeimos atstovai paplitę visame pasaulyje, ypač Šiaurės Amerikoje, Europoje ir Azijoje. Daugelis šeimos narių yra sumedėję krūmai ar medžiai. Kiti yra daugiamečiai augalai: kiekvieno sezono pabaigoje stiebai miršta, o šaknys gyvena toliau, kad išaugintų naujus stiebus kitais sezonais. Lapai paprasti arba sudėtiniai, plunksniški, pražanginiai, kartais priešiniai. Dauguma šios šeimos atstovų turi paprastus lapus, tačiau sudėtinius,

dažniausiai plunksniškus lapus turi daugiau nei 30 genčių. Stiebas šakotas, kietas ir sumedėjęs. Žiedai pavieniai ar susitelkę į įvairius žiedynus, aktinomorfiniai, taisyklingi, daugiausia dvilyčiai, sudėtinio apyžiedžiu, retai be vainikėlio, dažnai su patauriu. Žiedsotis įdubęs, sudaro žiedo dubenėlį (hipantiją) kartu su suaugusiais pamate taurėlapiais, kuokelių koteliais ir vainiklapiais. Vaisiai – įvairių rūšių: kaulavaisiai, lapavaisiai, riešutas, erškėtuogės, kartais apokarpiniai vaisiukai sudaro sutelktinį vaisių arba, suaugdami su žiedo dubenėliu, duoda netikruosius vaisius. Sėklos su endospermu arba be endospermo (10,25).

1.10 Paprastoji rasakila (*Alchemilla vulgaris* L.)

Daugiametis, 5–30 cm aukščio žolinis augalas. Paprastosios rasakilos šakniastiebis gulsčias ir storas. Stiebai plaukuoti, šakoti, statūs, kylantys ar gulsti. Lapai pražanginiai, apskriti, plaštakiškai skiautėti, prie vidurinių gyslų klostėti, plaštakiškai skiautėti; stiebo lapai mažesni, trumpakočiai ar bekočiai, o pamatiniai – ilgakočiai. Žiedai gelsvai žali, maži bei susitelkę į skėtiškas šluoteles (8 pav). Vaisius – riešutėlis. Auga paupiuose, pievose, mišriuose ir lapuočių miškuose. Žydi nuo gegužės iki spalio mėnesio. Vaistinė žaliava – visa paprastosios rasakilos antžeminė dalis, kuri pjaunama žydėjimo metu (17). Paprastoji rasakila yra įtraukta į Europos Farmakopėją. Jos džiovintos žaliavos sudėties reikalavimai yra mažiausiai 6,0 % taninų, išreikštų pirogaloliu ($C_6H_6O_3$; Mr 126,1) (19).

Paprastosios rasakilos antžeminės augalo dalys dažnai naudojamos nuo virškinamojo trakto ligų ir uždegiminių procesų, taip pat žaizdų gijimui gerinti dėl stipraus antimikrobinio ir priešuždegiminio poveikio. Šis augalas yra labai populiarus, ypač dėl puikaus poveikio moterų problemoms ir ligoms, tokioms kaip fibroma, cistos, endometriozė, nevaisingumas, menstruacijų problemų palengvinimas ir menstruacinio ciklo bei reprodukcinį ir skydliaukės hormonų balansavimo reguliavimas. Iš Serbijoje surinktos paprastosios rasakilos buvo pagaminti keturi skirtingi ekstraktai – 80 % (v/v) metanolio, 70 % (v/v) etanolio, 70 % (v/v) etilacetato ir distiliuoto vandens. Tyrimo metu gauti rezultatai parodė, kad etilacetato ekstraktas buvo turtingiausias fenolinių junginių ($9,65 \pm 0,02$ mg/g). Šiek tiek mažiau fenolinių junginių buvo metanolio ($7,71 \pm 0,01$ mg/g) ir etanolio ($7,40 \pm 0,03$ mg/g) ekstraktuose, o mažiausiai – distiliuoto vandens ekstrakto ($6,89 \pm 0,03$ mg/g). Be fenolio rūgščių, flavonoidai katechinas ir kvercetas etilacetato ekstrakto buvo nustatyti didelėmis koncentracijomis ($8144,98 \mu\text{g g}^{-1}$). Katechinas taip pat buvo nustatytas metanolio ir etanolio ekstrakto (atitinkamai $704,55 \mu\text{g/g}$ ir $396,16 \mu\text{g/g}$), tačiau daug mažesne verte nei etilacetato ekstrakto. Reikšmingas kvercetino kiekis rastas tik etilacetato ekstrakto ($4541,70 \mu\text{g g}^{-1}$) (26).



8 pav. Paprastoji rasakila (*Alchemilla vulgaris* L.)

1.11 Paprastoji žemuogė (*Fragaria vesca* L.)

Paprastoji žemuogė – daugiametis žolinis augalas su įžambiai arba horizontaliai augančiu šakniastiebiu. Šakniastiebis rudas, trumpas, jį dengia lapų liekanos. Stiebas 5–20 cm aukščio, stačias, rečiau kylantis, nedaug aukštesnis už pamatinius lapus, viršutinėje pusėje daugiausia padengtas prigludusių plaukelių, o apačioje gausiai apaugęs pasišiaušusiais plaukeliais. Pamatiniai lapai trilapiai, ilgakočiai, viršutinėje pusėje tamsiai žali, nedaug apaugę prigulusiais plaukeliais, apatinėje pusėje melsvai žalsvi, šilkaplaukiai, šoninės gyslos neišsišovusios; vidurinis lapelis su trumpu koteliu, rombiškas arba kiaušiniškas; šoniniai lapeliai – įžambiai apskriti ar atvirkščiai kiaušiniški, su vos matomais koteliais arba bekočiai. Viršūniniai lapai paprastai redukuoti. Žiedynas – skėtiška kekė su nedaug žiedų. Žiedai dažniausiai dvilyčiai, balti ar gelsvai balti, iki 2 cm skersmens. Žiedkočiai apaugę prigulusiais arba įstrižais stačiais plaukeliais. Vaisiai iki 2 cm ilgio, kūgiški, kiaušiniški arba beveik apvalūs, prisirpę ryškiai raudoni (9 pav). Vaisiams subrendus žiedsotis pasidaro sultingas, uogos pavidalo, paviršius apkibęs sėklomis, atsiskiria nuo taurelės arba kartu su taurele nuo žiedkočio. Auga lapuočių ir spygliuočių miškuose, krūmuose, žolėmis apaugusiose pašlaitėse, kirtimuose, pievose arba pamiškėse. Žydi gegužės – birželio mėnesiais, kartais vasarą arba rudenį žydi antrą kartą. Uogos prinoksta birželio – liepos mėnesiais. Vaistinė žaliava – lapai ir šviežios ar džiovintos uogos. Uogos renkamos prisirpusios, lapai skinami kai augalas žydi (10,13,17).

Paprastosios žemuogės vaisiai vertinami dėl didelio maistinių medžiagų kiekio, skonio ir maistinės vertės bei yra žmonių organizmui būtinų antioksidantų ir antitrombozinių junginių šaltinis. Liaudies medicinoje šie vaisiai buvo naudojami kaip diuretikas, inkstų ir kepenų ligoms, anemijai gydyti, taip pat atlieka svarbų vaidmenį kovojant su vėžiu ir ateroskleroze. Vaisiuose yra monosacharidų ir mineralinių druskų, vitaminų C, B ir K, karotino ir taninų, pektino, fenolio junginių, flavonoidų ir antocianinų. Rytų Lenkijoje augančios paprastosios žemuogės vaisių metanoliniuose ekstraktuose nustatytas bendras fenolinių junginių kiekis sudarė 20,5 mg/g (išreikštas mg galo rūgštis viename grame sausosios

medžiagos). Džiovinimas sumažino bendrą fenolinių junginių kiekį: kuo aukštesnė džiovinimo temperatūra, tuo didesnis sumažėjimas. Konvekcinis džiovinimas lėmė didesnę fenolinių junginių kiekio sumažėjimą nei džiovinant šalčiu. Bendras fenolinių junginių kiekis buvo nuo 15,0 iki 19,7 mg/g liofilizuotuose ir nuo 10,2 iki 17,4 mg/g konvekciniu būdu džiovintose žemuogėse. Žaliavos antioksidacinis aktyvumas prieš džiovinimą, išmatuotas įvairiais metodais, varijavo 5,2 mg/mL – 27,5 mg/mL reikšmių ribose. Džiovinimas 20 ir 40 °C temperatūroje turėjo mažai įtakos antioksidacinio aktyvumo sumažėjimui. Tačiau aukštesnė temperatūra (60 °C) jau gerokai sumažino iš mėginių gautų ekstraktų antioksidacinį pajėgumą (27).



9 pav. Paprastoji žemuogė (*Fragaria vesca* L.)

1.12 Vaistinė dirvuolė (*Agrimonia eupatoria* L.)

Daugiametis, 30–100 cm aukščio žolinis augalas, su storu, trumpu šakniastiebiu. Stiebas status, nešakotas, apaugęs ilgais ir trumpais plaukeliais. Lapai sudėtiniai, pražanginiai, pertrauktai neporomis plunksniški, prie pamato sudarantys skrotelę, link žiedyno mažėjantys. Lapų apatinė pusė balsva, kartais šviesiai žalsva, gausiai apaugusi veltiniškais plaukeliais, po kuriais pasislėpusios liaukutės, viršutinė pusė – tamsiai žalia, apaugusi išsklaidytais, prigulusiais plaukeliais. Viduriniai ir apatiniai lapai 9–30 cm ilgio, viršutiniai staigiai susmulkėjantys; prielapiai įžambiai kiaušiniški, stambiai dantyti. Vainiklapiai kiaušiniški, viršuje šiek tiek iškirpti. Žiedynas 10–30 cm ilgio. Žiedai geltoni, susitelkę į varpišką kekę. Vaisius beveik iki pamato vagotas, dygliai išsiskėtę arba nukrypę į viršų, bet viršūnėmis nesusiglaudę, subrendę vaisiai 5–8 mm ilgio ir 3–6,5 mm pločio; jų vidiniai dygliai statūs, o išoriniai išsiskėtę į šalis. Auga šlaituose, pagrioviuose, pamiškėse, pakėlese, krūmuose. Vaistinė dirvuolė mėgsta saulėtus ir sausus vietas. Žydi nuo birželio iki rugpjūčio mėnesio. Vaistinė žaliava – antžeminė augalo dalis, kuri pjaunama kol vaisiai dar nesubrendę, liepos mėnesį (10,13,17). Vaistinė dirvuolė yra įtraukta į Europos Farmakopėją. Jos džiovintos žaliavos sudėties reikalavimai: mažiausiai 2,0 % taninų, išreikštų pirogaloliu ($C_6H_6O_3$; Mr 126,1) (19).

Vaistinė dirvuolė, dėl savo teigiamo poveikio plačiai naudojama tradicinėje (liaudies) medicinoje. Šio augalo vandens ekstraktai (užpilai ir nuovirai) naudojami kvėpavimo takų ir šlapimo sistemos ligoms, virškinamojo trakto ligoms, lėtinėms žaizdoms gydyti (28). Mokslininkai ištyrė sausą vaistinės dirvuolės žolės ekstraktą. Tirtame ekstrakte aptikta 11 laisvųjų monosacharidų, iš kurių identifikuoti 3 – D-gliukozė, D-galaktozė ir D-fruktozė, kurių kiekis atitinkamai buvo 120,16 mg/g, 2,82 mg/g ir 116,11 mg/g. Žolės ekstrakte buvo rastas epikatechinas ir epigalokatechinas (atitinkamai 1160 mg/100 g ir 970 mg/100 g). Bendras taninų kiekis vaistinės dirvuolės ekstrakte sudarė 17.16 ± 0.37 mg/g, bendras flavanoidų kiekis - 10.20 ± 0.33 mg/g. Vaistinė dirvuolė turi ne mažiau kaip 2% taninų, iš kurių 3–21% yra kondensuoti taninai, ypač proantocianidinai, kurie daugiausia yra leuko-antocianinų pavidalu ir rūgštinės hidrolizės būdu paverčiami cianidinu. Taninai pasižymėjo antiseptinėmis, sutraukiančiomis, antioksidacinėmis, priešūždegiminėmis ir antimutageninėmis savybėmis (29).



10 pav. Vaistinė dirvuolė (*Agrimonia eupatoria* L.)

1.13 Žąsinė sidabražolė (*Potentilla anserina* L.)

Žąsinė sidabražolė – daugiametis žolinis augalas su mėsingomis, dažnai gumbiškaai sustorėjusiomis šaknimis. Pagrindinė ašis stora, šakota, trumpa, pasidengusi sudžiūvusių prielapių bei lapkočių liekanomis. Žiedus išauginantieji stiebai ploni, šliaužiantys, su palaipomis, plaukuoti, kartais nuplinkantys. Visi lapai pertrauktai plunksniški, skroteliniai ir žemutiniai stiebiniai su 7–15 porų lapelių, apatinė pusė nuo šilkiškų plaukelių balsva; atskiri lapeliai elipsiški arba pailgai atvirkščiai kiaušiniški, iki pamato giliai pjūkliškai dantyti (11 pav). Pamatiniai lapai kotuoti, platesni arba siaurai pailgi, dažniausiai 10–20 cm ilgio; apatiniai stiebo lapai turi trumpesnius kotelius ir mažiau lapelių nei pamatiniai lapeliai; viršutiniai lapai – su nedaug lapelių arba visai redukavęsi. Žiedai pavieniai, retai po 2, stambūs, ilgakočiai, išaugę ties bambliais, 15–20 mm pločio. Taurelė ir vainikėlis penkianariai. Taurelė šilkaplaukė; taurelapiai plačiai kiaušiniški, lygiakraščiai. Vainiklapiai 7–10 mm ilgio, geltoni, atvirkščiai kiaušiniški.

Vaisiukai rutuliški ar kiaušiniški, turi vagelę nugarėlėje. Auga pievose, pajūryje, dykvietėse, ganyklose, prie griovių, upių bei ežerų krantuose, pakelėse. Žydi gegužės – rugpjūčio mėnesiais, pavieniai augalai ir vėliau rudenį. Šaknys kasamos kai sidabražolės antžeminė dalis išdžiūsta - anksti pavasarį arba rudenį. Žiedus, sėklas ir žolę galima rinkti visą sidabražolės augimo laiką (10,30).

Žašinė sidabražolė žinoma kaip kraują atstatanti, raminanti, nuimanti skausmą mėnesinių metu priemonė, pasižymi priešuždegiminiu poveikiu, tinka skalauti gerklę ir burną. Šio augalo šaknys ir šakniastiebiai vartojami kaip antiseptinė priemonė, o žolė – nuo infekcinio viduriavimo kartu su karščiavimu (30). Buvo ištirtas Sibiro regionuose (Jakutijos, Buriatijos, Irkutsko) surinktos žašinės sidabražolės žolės 60 % metanolio ekstrakto fenolinis profilis. Gauti duomenys parodė agrimonino dominavimą visuose žašinės sidabražolės žolės mėginiuose, esant plačiam koncentracijų diapazonui – 18,33–57,29 mg·g⁻¹. Flavonoidų ir fenolio rūgšties kiekis varijavo taip: kavos rūgštis 2,14–6,18 mg·g⁻¹, miricetino-3-O-gliukuronidas 4,18–10,36 mg·g⁻¹, elago rūgštis 0,97–5,77 mg·g⁻¹, mikelianinas 3,07–8,12 mg·g⁻¹, izorhamnetin-3-O-gliukuronidas 1,18–5,27 mg·g⁻¹ ir kaempferol-3-O-ramnozidas 0,62–3,74 mg·g⁻¹. Jakutijos regione rinktos žašinės sidabražolės ekstrakto buvo nustatytas didelis agrimonino (48,83–57,29 mg·g⁻¹) ir mažas flavonoidų (10,45–15,62 mg·g⁻¹) kiekis. Tuo tarpu Irkutsko regione augusioje žašinėje sidabražolėje nustatytas priešingas junginių kaupimosi pobūdis, t. y. mažas agrimonino (18,33–25,11 mg·g⁻¹) ir didelis flavonoidų (22,61–27,32 mg·g⁻¹) kiekis. Buriatijoje augusioje žašinėje sidabražolėje šių junginių kiekių vertės užėmė tarpinę padėtį (agrimoninas 22,17–40,14 mg·g⁻¹; flavonoidai 20,34–21,65 mg·g⁻¹) (31).

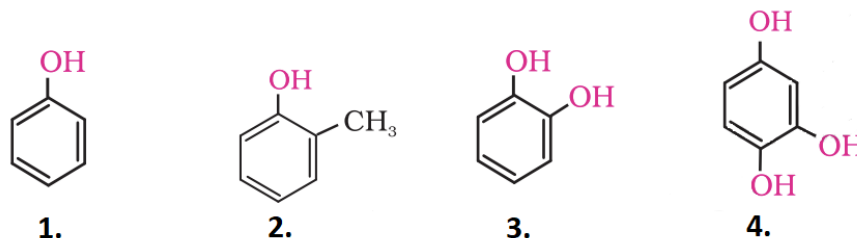


11 pav. Žašinė sidabražolė (*Potentilla anserina* L.)

1.14 Fenoliniai junginiai ir jų klasifikacija

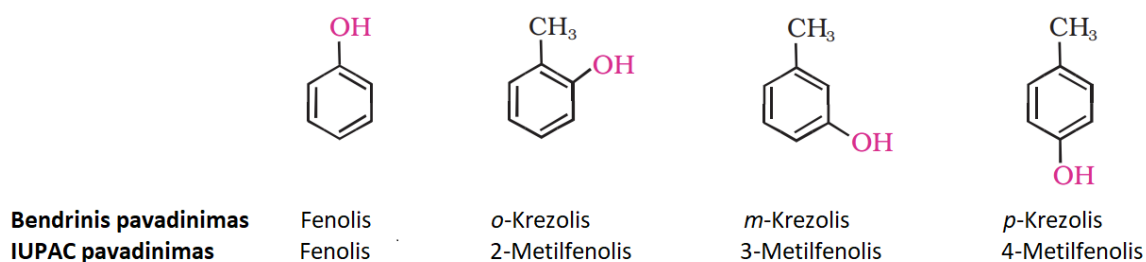
Fenoliniai junginiai yra vieni iš pagrindinių natūraliai augaluose susidarančių junginių, kurių struktūroje yra bent viena fenolio grupė; jie aptinkami augaluose, įskaitant daržoves, vaisius, grūdus, džiovintas ankštines kultūras, taip pat šokolade ir tokiuose gėrimuose

kaip kava, arbata ir kakava. Jie yra augalų antriniai metabolitai, kurie susintetinami per šikiminės rūgšties kelius ir pentozės fosfate metabolizuojant fenilpropanoidą (32–34). Fenoliai gali būti klasifikuojami kaip mono-, di-, tri- arba daugiahidriniai junginiai, priklausomai nuo to, ar juose yra viena, dvi, trys arba daugiau hidroksilo grupių (12 pav.) (35).



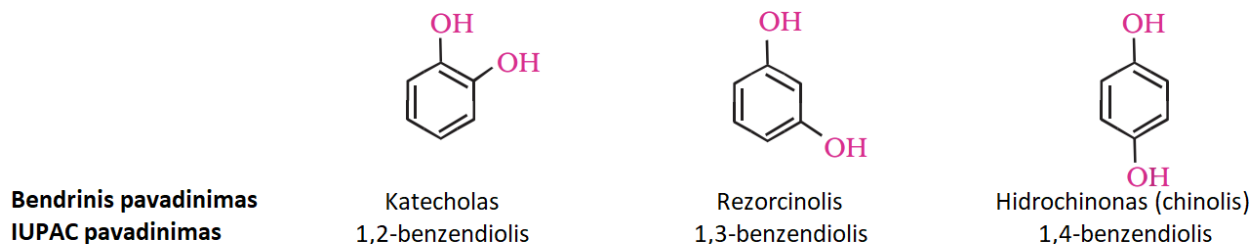
12 paveikslas. Fenolių struktūros: 1 – monohidrinis, 2 – monohidrinis, 3 – dihidrinis, 4 – trihidrinis (35)

Paprasčiausias benzeno hidroksi darinys yra fenolis. Tai yra jo įprastas ir sisteminis (IUPAC) pavadinimas. Fenolis yra homologinės junginių serijos pradinė medžiaga, turinti hidroksilo grupę, tiesiogiai prijungtą prie aromatinio žiedo. Fenolis priklauso alkoholių šeimai dėl OH grupės ir yra paprasčiausias aromatinis šios šeimos narys, kurio cheminė formulė yra C_6H_5OH . Fenolio hidroksilo grupė lemia jo rūgštingumą, o benzeno žiedas – šarmiškumą, todėl fenolis yra karbonilo grupės enolinė forma (36). Kadangi fenolio struktūroje yra benzeno žiedas, jo pakeistuose junginiuose terminai *orto* (1,2-izomeras), *meta* (1,3-izomeras) ir *para* (1,4-izomeras) dažnai vartojami bendriniuose pavadinimuose (13 pav).



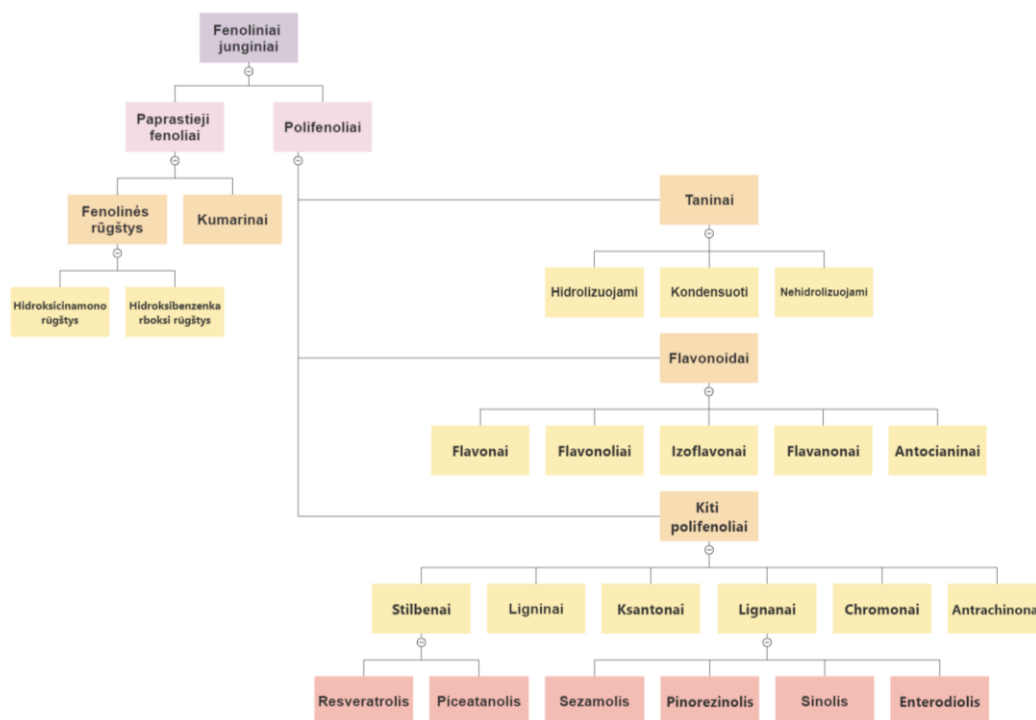
13 paveikslas. Fenolių pavadinimų sudarymo principas (35)

Fenoliniai junginiai skirstomi į paprastus ir polifenolinius junginius. „Paprastais“ fenoliais laikomi tie junginiai, kuriuose yra vienas fenolio vienetas (arba jo darinys), ir jų bendras skeleto modelis yra C_6 . Paprasti pakeisti fenolio junginiai gali būti hidroksifenoliai arba dihidroksibenzenai. Pavyzdžiui, katecholas (1,2-benzendiolis), rezorcinolis (1,3-benzendiolis) ir hidrochinonas (1,4-benzendiolis) (14 pav.) Paprastieji fenoliai skirstomi į kumarinus ir fenolines rūgštis (hidroksibenzenkarboksi ir hidroksicinamono rūgštis) (35,37).



14 paveikslas. Hidroksifenoliai (35)

Fenoliniai junginiai, kuriuose yra daugiau nei vienas fenolio vienetas, laikomi „polifenoliais“. Polifenolinių junginių bendras skeleto modelis yra C₁₅ (32,37). Šiuo metu mokslinėje literatūroje yra aprašyta apie 8000 polifenolių rūšių. Polifenoliai skirstomi į flavanoidus (flavonai, flavonoliai, izoflavonai, flavanonai, antocianinai), taninus (hidrolizuojami, nehidrolizuojami ir kondensuoti taninai) ir kitus, įskaitant stilbenus (resveratrolis, piceatanolis), lignanus (sezamolis, pinorezinolis, sinolis, enterodiolis), ligninus, ksantonus, chromonus, antrachinonus (15 pav.) (37,38).



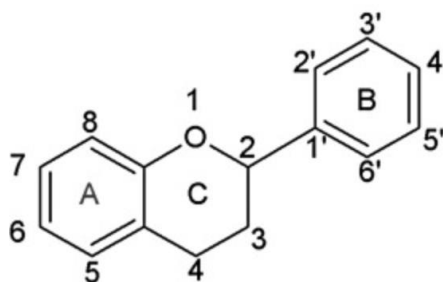
15 paveikslas. Fenolinių junginių klasifikacija (37,38)

Fenolinės rūgštys yra vieni plačiausiai paplitusių augalų ne flavonoidinių fenolinių junginių, esančių laisvomis, konjuguotomis tirpiomis ir netirpiomis surištomis formomis. Sąvoka "fenolinės rūgštys" paprastai apibūdina fenolinius junginius, turinčius vieną karboksirūgšties

grupę. Fenolinės rūgštys skirstomos į du pogrupius: hidroksibenzenkarboksirūgštis ir hidroksicinamo rūgštis. Fenolinės rūgštys pasižymi daug didesniu *in vitro* antioksidaciniu aktyvumu nei gerai žinomi antioksidaciniai vitaminai. Hidroksicinamono rūgštis priklauso aromatinių rūgščių (C_6-C_3) klasei, gaunamai iš cinamono rūgšties, ir ji maisto produktuose dažnai būna paprastų chinino rūgšties arba gliukozės esterių pavidalu. Hidroksibenzoinės rūgštys turi bendrą C_6-C_1 struktūrą ir yra kilusios iš benzenkarboksirūgšties. Jos yra tirpios (konjuguotos su cukrumi arba organinėmis rūgštimis) ar susijungusios su ląstelės sienelės dalimis kaip ligninas (38–40).

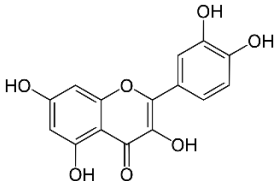
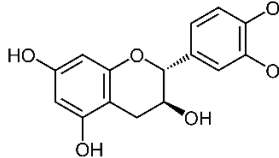
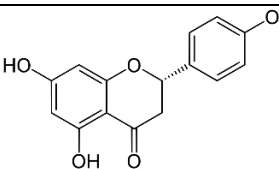
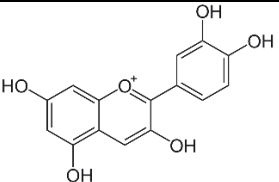
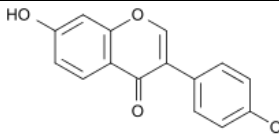
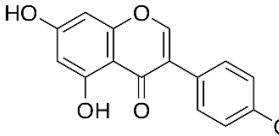
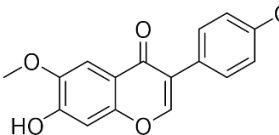
Augaluose fenoliai paprastai yra susiję su apsauga nuo ultravioletinės spinduliuotės arba patogenų, parazitų ir plėšrūnų agresijos, taip pat jie prisideda prie augalų spalvos. Jie aptinkami visuose augalų organuose, todėl yra neatsiejama žmogaus mitybos dalis. Fenoliai yra plačiai paplitę augalinio maisto (vaisių, daržovių, grūdų, alyvuogių, ankštinių augalų, šokolado ir kt.) ir gėrimų (arbatos, kavos, alaus, vyno ir kt.) sudedamosios dalys ir iš dalies yra atsakingi už visas augalinio maisto organoleptines savybes. Pavyzdžiui, dėl fenolinių junginių, daugiausia procianidino, ir seilėse esančių glikoproteinų sąveikos, fenolinės medžiagos lemia vaisių ir vaisių sulčių kartumą ir aitrumą (41).

Flavonoidai yra gausiausiai maiste aptinkami polifenoliai, kurių dažniausi pavyzdžiai yra nurodyti 1 lentelėje. Pagrindinė flavonoido struktūra yra flavano branduolys, kuriame yra 15 anglies atomų, išdėstytų trimis žiedais ($C_6-C_3-C_6$). Flavonoidai skirstomi į pogrupius, priklausomai nuo C žiedo anglies, prie kurios yra prijungtas B žiedas, ir C žiedo neprisotinimo bei oksidacijos laipsnio. Jų struktūros skirtumus kiekviename pogrupyje iš dalies lemia hidroksilinimo, metoksilinimo, renilinimo arba glikozilinimo laipsnis ir pobūdis. Flavonoidai, kurių B žiedas sujungtas su C žiedu 3 pozicijoje, vadinami izoflavonais. Flavonoidai kuriuose B žiedas yra sujungtas 2 padėtyje, skirstomi į keletą pogrupių (flavonai, flavonoliai, flavanonai, antocianinai), remiantis C žiedo struktūrinėmis ypatybėmis (16 pav.) (41,42).



16 paveikslas. Pagrindinė flavonoidų struktūra (42)

1 Lentelė. Kai kurių labiausiai paplitusių flavonoidų pavyzdžiai ir šaltiniai (42)

Junginiai	Struktūra	Šaltiniai
Flavanoliai		
Kvercetas		Brokolis, obuolys, svogūnas
Katechinas		Arbata, obuolys, gervuogė, raudonas vynas, vyšnia
Flavanonai		
Naringenas		Greipfrutas, apelsinas
Antocianinai		
Cianidino glikozidas		Uogos (avietė, gervuogė, juodasis serbentas ir kt.)
Izoflavonai		
Daidzeinas		Sojos pupelė
Genisteinas		Sojos pupelė
Glicitinas		Sojos pupelė

1.14.1 Fenolinių junginių farmakologinės savybės

Fenoliniai junginiai yra įvairūs ir plačiai paplitę augalų antriniai metabolitai, pasižymintys plačiu biologinio aktyvumo spektru. Žinoma, kad fenoliniai junginiai pasižymi įvairiomis biologinėmis savybėmis, pavyzdžiui, antimikrobinėmis, antioksidacinėmis ir priešuždegiminėmis savybėmis (37).

Rosa et al. (2016) patvirtino, kad fenolinės rūgštys yra pagrindinis šaltinis gydant įvairių formų vėžį, daugiausia dėmesio skiriant žmogaus gaubtinės žarnos adenokarcinomos ląstelėms. Vinayagam et al. (2016) apžvelgė fenolinių rūgščių savybes, gerinančias gliukozės ir lipidų profilius, susijusius su patologinėmis ligomis (cukriniu diabetu, širdies ir kraujagyslių

ligomis ir kt.). Taip pat pranešta, kad dieta, kurioje gausu fenolio rūgščių, apsaugo nuo tam tikrų alergijų ir sulėtina Alzheimerio ligos vystymąsi (43).

Kumarinai, kurie pirmą kartą išskirti iš kvapiosios tongapupės (*Dipteryx odorata*), priklauso bespalvių ir kristalinių deguoninių heterociklinių junginių grupei. Deguonimi prisotinti heterocikliniai junginiai yra furano dariniai su 4C atomais arba pirano dariniai su 5C atomais. Pirano dariniai yra ketoniniai junginiai, kurie yra α -pirono arba γ -pirono pavidalo. Antriniai metabolitai, vadinami benzo- α -pironu (kumarinu) ir benzo- γ -pironu (chromonu), atsiranda augaluose dėl pirono darinių kondensacijos su benzeno (44).

Natūralūs kumarinai pasižymi plačiu farmakologinio aktyvumo spektru, įskaitant priešūždegiminį, antikoaguliacinį, priešvėžinį, antibakterinį, antimaliarinį, kazeino kinazę-2 (CK2) slopinantį, priešgrybelinį, antivirusinį, Alzheimerio ligos slopinimo, neuroprotektinį, antikonvulsinį, opaliginį ir antihipertenzinį poveikį (45).

Kita svarbi fenolinių junginių klasė yra polifenoliai, kurie skirstomi į flavonoidus, kitus fenolius ir taninus. Įrodyta, kad polifenoliai pasižymi antioksidaciniu poveikiu, kuris naudingas širdžiai ir gali apsaugoti nuo oksidacinio streso, tiesiogiai susijusio su degeneracinėmis ligomis, cukriniu diabetu ir vėžiu (33). Daugybė flavonoidų ir kitų fenolių turi reikšmingą poveikį imuninės sistemos funkcijai ir uždegiminiams procesams. Kiti fenoliai ir flavonoidai naudojami kaip antibakterinė priemonė prieš *Propionibacterium acnes*, kuris yra pagrindinė odos spuogų atsiradimo priežastis. Vaistiniuose augaluose aptikti antriniai metabolitai, tokie kaip flavonoidai ir kiti fenoliai, gali padėti išvengti neigiamo šalutinio sintetinių vaistų poveikio, nes antriniai metabolitai gali kauptis gyvų organizmų ląstelėse ir audiniuose (46). Buvo pranešta apie daugelio flavonoidų anticholinesterazinį aktyvumą. Acetilcholinesterazė yra pagrindinis centrinės nervų sistemos fermentas, kurį slopinant padidėja nervinio acetilcholino kiekis, kuris padeda palengvinti lengvo ir vidutinio sunkumo Alzheimerio ligos simptomus. Todėl cholinesterazių slopinimas yra vienas svarbiausių vaistų nuo Alzheimerio ligos kūrimo aspektų (42).

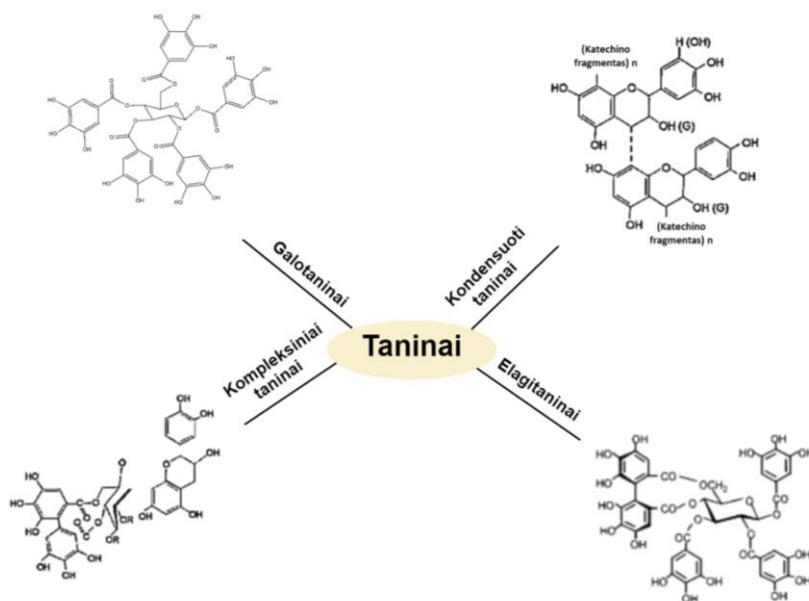
1.15 Taninai ir jų klasifikacija

Taninai – tai natūralių fenolinių junginių grupė, kurios pagrindinis vaidmuo yra apsaugoti augalus nuo vabzdžių ir parazitinių grybų. Augalai susintetintus taninus kaupia vakuolėse. Taninai jungiasi su vabzdžių seilių baltymais ir virškinimo fermentais (tripsinu ir chimotripsinu), todėl baltymai nukenksminami. Dėl šio poveikio taninai tampa toksiški vabzdžiams (47,48).

Taninai yra didelės molekulinės masės (nuo 500 iki 20 000 Da) ir vandenyje tirpūs polifenoliniai junginiai. Dėl didelio hidroksilo grupių skaičiaus taninai gali jungtis su

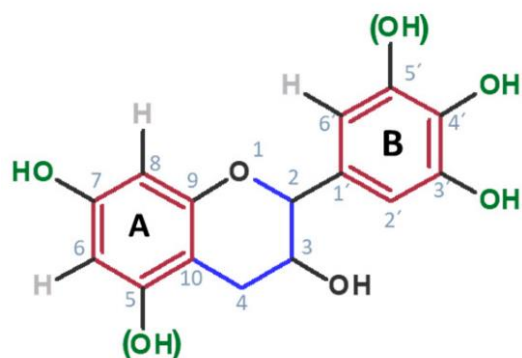
angliavandeniais ir baltymais, tačiau iki riboto kiekio. Šis ypatingas reaktyvumas su baltymais vadinamas sutraukimu (49,50).

Nors ši junginių grupė apima daugybę oligomerų ir polimerų, galima išskirti pagrindines taninų grupes: hidrolizuojamus taninus, proantocianidinus, dar vadinamus kondensuotais flavonoidiniais taninais, kurie yra atsparūs hidrolitiniam skilimui, ir kompleksinius taninus. Hidrolizuojami taninai skirstomi į dvi grupes – galotaninus ir elagitaninus (17 pav.) (48,51).



17 paveikslas. Taninų klasifikacija (52).

Kondensuoti taninai yra gausiausia taninų grupė, kuri sudaro daugiau kaip 90 % visame pasaulyje pagaminamų komercinių taninų. Kondensuoti taninai yra oligomeriniai arba polimeriniai flavonoidai, sudaryti iš flavan-3-olio (catechino) vienetų, kurie dažniausiai yra susieti per C4 → C8 padėtis, tačiau gali atsirasti ir C4 → C6 jungčių. Kiekvienas monoflavonoidinis vienetas susideda iš dviejų fenolio žiedų (A ir B žiedų), kurių reaktyvumas skiriasi. Skirtingai nuo B žiedo, A žiedas turi daugiau reaktyvių nukleofilinių centrų (A žiedo aktyvacijos vieta C6 ir C8), nes skiriasi šių žiedų hidroksilo grupių išsidėstymas (18 pav.) (50,51).



18 paveikslas. Kondensuotų taninų monomerinis flavonoidinis vienetas, kuris paprastai yra prijungtas prie gretimų vienetų 4 ir 6 arba 8 padėtyse (51)

Galotaninų ir elagitaninų pavadinimas "hidrolizuojami taninai" susijęs su tuo, kad šią taninų klasę lengvai hidrolizuoja silpnos bazės arba rūgštys. Pagrindinė hidrolizuojamų taninų taikymo sritis - rauginimo pramonė. Tačiau jų prieinamumas yra ribotas, nes jie sudaro mažiau nei 10 % pasaulinės komercinės taninų produkcijos, todėl hidrolizuojamų taninų gamybos sąnaudos yra didelės. Hidrolizuojami taninai yra galo rūgščių ir poliolio, daugiausia d-gliukozės, esteriai, tačiau taip pat randama fruktozė, ksilozė, sacharozė ir tokios struktūros kaip hamamelozė (51,53). Galotaninus suskaidžius hidrolizės būdu, susidaro galo rūgštis ir poliolio šerdis. Jiems būdinga tai, kad gliukozės šerdis esterifikuota su 10–12 galo rūgšties vienetų, tiesiogiai arba per depsidinius ryšius tarp galo rūgšties vienetų (50).

Elagitaninams būdinga gliukozės šerdis, esterifikuota bent vienu heksahidroksidifeno rūgšties vienetu, kuris susidaro oksidaciniu būdu sujungus du galo rūgšties vienetus. Jie yra didžiausia taninų grupė, kurioje yra daugiau nei 500 junginių (50,54).

1985 m. buvo atrasta papildoma taninų grupė – kompleksiniai taninai, susidedantys iš elagitanino ir flavanoido vieneto, todėl jų struktūra yra sudėtinga. Ryšys susidaro per C-C jungtį tarp gliukozės elagitanino C1 vieneto ir flavan-3-olio darinio C8 arba C6. Pirmiausia ši taninų klasė buvo pažymėta kaip "neklasifikuoti" taninai, o vėliau buvo įvestas terminas "sudėtingi taninai". Dėl sudėtingos struktūros ir palyginti nedidelio taninų kiekio šios klasės taninų naudojimas yra ribotas (51,55).

1.15.1 Taninų farmakologinės savybės

Taninai plačiai paplitę augaliniame pasaulyje. Jų galima rasti daržovėse, vaisiuose, medienoje ir žievėje, daugelyje augalų rūšių. Kava ir arbata taip pat yra gausus taninų šaltinis. Arbatos spalva priklauso nuo taninų kiekio – kuo arbata tamsesnė, tuo joje daugiau taninų. Juodoji ir žalioji arbata, vynas, šokoladas ir tam tikri vaisiai bei daržovės, kuriuose yra daug taninų, padeda išvengti ligų ir apriboti oksidacinę žalą, atsirandančią dėl laisvųjų radikalų

susidarymo gyvūnų ir augalų organizmuose (56,57). Ilgą laiką taninų farmakologinės savybės nebuvo tiksliai įvertintos, tačiau dabar mokslininkai pradėjo atskleisti jų potencialą, išryškindami priešuždegiminį, antimikrobinį, antioksidacinį ir priešvėžinį poveikį, taip pat jų dalyvavimą širdies ir kraujagyslių, neuroprotekcinį ir medžiagų apykaitos ligų prevencijoje (58). Buvo nustatyta, kad kondensuoti taninai yra veiksmingi kovojant su alergijomis, širdies ir kraujagyslių sistemos sutrikimais ir kt. Tyrimai atskleidė, kad kondensuoti taninai gali padėti gydyti auglius, trombocitų agregaciją ir sumažinti vėžio riziką. Kai kurie tyrimai parodė, kad taninai, kurių gausu raudonajame vyne, turi apsauginį poveikį širdies ir kraujagyslių sistemai. Hidrolizuojama tanino forma plačiai naudojama medicinoje ir vadinama tanino rūgštimi. Nors tyrimai rodo, kad abi taninų rūšys, t. y. kondensuotas taninas ir hidrolizuojamasis taninas, turi stiprų gydomąjį potencialą sergant įvairiomis ligomis ir negalavimais, tačiau Europos ir Amerikos šalyse tinkamu vartoti vaistu laikomas hidrolizuojamasis taninas. Pastaraisiais metais tanino rūgštis sulaukė daug dėmesio dėl savo plataus fiziologinio poveikio, pavyzdžiui, antioksidacinio, priešvėžinio, antimikrobinio ir priešuždegiminio poveikio, taip pat dėl gebėjimo sąveikauti su įvairiais baltymais ir pritaikomumo inžinerijoje. Taip pat tyrimai rodo, kad tanino rūgštis pasižymi sinergetiniu gydomuoju poveikiu, naudojama žaizdoms, skrandžio opoms, viduriavimui, gyvatės įkandimui, uždegimams gydyti. Naudojant tanino rūgštį nudegimams gydyti, sumažėjo mirčių nuo nudegimų skaičius (57,59).

1.16 Burnos ir viršutinių kvėpavimo takų mikroflora

Burnos mikrobiomas, burnos mikrobiota arba burnos mikroflora – tai žmogaus burnos ertmėje esantys mikroorganizmai. Po žarnyno tai yra antra pagal dydį žmogaus mikrobu bendruomenė. Burnos ertmėje yra dviejų tipų paviršiai, ant kurių gali kolonizuotis bakterijos: kietieji ir minkštieji dantų audiniai bei burnos gleivinė. Kolonizacija prasideda gimimo metu arba netrukus po jo. Pradiniai kolonizatoriai iškart po gimimo vadinami pionierių rūšimis. Pirmaisiais metais į burnos ertmę daugiausia įsiskverbia aerobai, tarp kurių gali būti *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Neisseria* ir *Veillonella*. Išdygus visiems dantims mikrobu kolonizacijai atsiranda daugiau tinkamų paviršių – susidarius dantenų plyšiams apsigyvena periodonto mikrobai, kaupiantis apnašomis vystosi didelė rūšių įvairovė ir mikrobu sukcesija. Sveikos burnos patogeninės ir nepatogeninės bakterijos paprastai palaiko dinamišką pusiausvyrą per sinergetinį ir antagonistinį mikroorganizmų veikimą. Tačiau pakitus burnos ertmės mikroflorai, patogeniniai mikroorganizmai sparčiai dauginasi ir taip gali sukelti įvairias burnos ligas (1,2).

Dantų ėduonis ir periodontitas yra dvi labiausiai paplitusios burnos ertmės ligos (2). Dantų ėduoniui vystytis padeda acidogeninės gramteigiamos bakterijos, kurios metabolizuoja

sacharozę į organines rūgštis (daugiausia pieno rūgštį), tirpdančias dantų kalcio fosfatą ir sukeliančias dekalifikaciją ir galiausiai ėduonį. Priešingai, periodonto ligos yra susijusios su anaerobinėmis gramneigiamomis bakterijomis. Sergant periodonto ligomis, dantenu plyšyje ar žemiau esančios sritys užsikrečia, sukeldamos ląstelių uždegiminį dantenu ir aplinkinio jungiamojo audinio atsaką. Šios uždegiminės reakcijos gali pasireikšti kaip gingivitas (labai dažnas, pasireiškiantis dantenu ar dantenu audiniu kraujavimu) arba periodontitas (paprastai skirstomas pagal audiniu nykimo sunkumą ir pažeistų dantų skaičių) (4).

Candida albicans yra viena iš daugelio grybų rūšių, sukeliančių žmonių ligas. *C. albicans* gali besimptomiskai kolonizuoti daugumos žmonių virškinimo traktą, reprodukcinį traktą, burnos ertmę ir odą. Asmenims, kurių imuninė sistema yra sveika, *C. albicans* dažnai yra nekenksmingas mikroorganizmas, nes palaiko pusiausvyrą su kitais vietinės mikrobiotos nariais. Tačiau, kai šeimininko imuninė sistema pažeista (pavyzdžiui, dėl antibiotikų, streso, užsikrėtimo kitu mikrobu ar gydymo imunosupresantais metu arba yra vietinių predisponuojančių sąlygų (pavyzdžiui, pH ar maisto medžiagų kiekio pokyčių)), šie grybeliai gali sukelti burnos ertmės ir sisteminę infekciją (kandidozę) (60). *Candida* dažniausiai kolonizuoja burnos ertmę kartu su *Streptococcus mutans* ir yra susiję su sumažėjusiu burnos pH lygiu. Tyrimai rodo, kad šių mikroorganizmų rūšių sąveika gali padėti vystytis dantų ėduoniui (61). Taip pat, yra pripažinta, kad *C. albicans* koinfekcija yra glaudžiai susijusi su vis dažniau pasitaikančiomis vaikų odontologijos ligomis, pvz., sunkiu vaikų ėduonimi (62).

Kadangi viršutiniai kvėpavimo takai yra "įėjimo į kvėpavimo sistemą vartai" ir yra arti išorinės aplinkos, joje gali prisitvirtinti ir kolonizuotis įvairi ir gausi mikrobiota. Sveika viršutinių kvėpavimo takų mikrobiota veikia sinergijoje su savo šeimininku, daugiausia kolonizuojant priekines šnerves ir nosiaryklę, kad būtų sukurtas įgimtas barjeras, apsaugantis nuo patogenų ir moduluojantis imuninį atsaką, atsirandantį veikiant išoriniams veiksniams (dūmams, dulkioms, alergenams, cheminiams dirgikliams, temperatūros pokyčiams ir mikroorganizmams). Vystantis viršutinių kvėpavimo takų mikrobiotai, gimdymo būdas ir kūdikio maitinimo būdas atlieka svarbų vaidmenį bakterijų įvairovės ir gausos vystymuisi. 1,5 mėnesio amžiaus vaikams vyrauja penkios mikroorganizmų grupės: *Moraxella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* arba *Corynebacterium/Dolosigranulum*, o pagyvenusių žmonių nosies ir ryklės mikrobiota labai pasikeičia (3,63).

Viršutinių kvėpavimo takų infekcijoms priskiriamas nealerginis rinitas (peršalimas), rinosinusitas, faringitas, tonzilitas ir vidurinės ausies uždegimas. Viršutinių kvėpavimo takų infekcijos yra labai dažna problema, ypač tarp kūdikių, vaikų ir pagyvenusių žmonių. Šias infekcijas gali sukelti virusai arba bakterijos, tačiau vyrauja virusinės infekcijos (3,63).

Streptococcus mitis yra gramteigiama sferinės arba elipsės formos bakterija. Ši bakterija formuoja nedideles stiklines kolonijas ir labai nedaug jos padermių gali suformuoti tipišką lipnias kolonijas. *S. mitis* yra dažnas viršutinių kvėpavimo takų ir burnos ertmės streptokokas, kurį galima aptikti žmogaus burnos gleivinėje, seilėse, ekskrementuose arba skrepliuose (64). *S. mitis* yra viena iš pagrindinių bakterijų rūšių, galinčių sukelti bakteremiją, kuri yra tiesioginis periodontito padarinys bei lemia daugelio širdies ir kraujagyslių ligų patologiją. Tyrimai rodo, kad periodontitas yra susijęs su kitų uždegiminių ligų, tokių kaip reumatoidinis artritas, etiologija, vėlai prasidėjusia Alzheimerio liga ir II tipo cukriniu diabetu (65).

S. aureus yra fakultatyvinis viduląstelinis patogenas, galintis įsiskverbti į įvairių tipų ląsteles ir jose išgyventi. Gebėjimas išgyventi tarpląstelinio būdu suteikia šiam patogeniui dar vieną būdą išvengti antibiotikų ir imuninių reakcijų infekcijos metu. *S. aureus* turi daugybę virulentiškumo veiksnių ir sudėtingą reguliatorių tinklą, kuris leidžia jam išgyventi, daugintis ir išvengti daugelio imuninių ir neimuninių šeimininko ląstelių (66). *S. aureus* gali sukelti daugybę infekcijų, įskaitant burnos ligas, tokias kaip kampinis cheilitas, mukozitas, periodontitas ir su dantų implantais susijusias infekcijas. Atlikti tyrimai atskleidė, kad *S. aureus* dažniau yra dantų protezus nešiojančių asmenų burnos mikrofloros sudedamoji dalis. Pacientai, sergantys periodonto ligomis, burnoje turi daugiau *S. aureus* nei sveiki periodonto ligomis nesergantys asmenys. *S. aureus* padermės, išskirtos iš periodonto ligomis sergančių pacientų, yra toksiškesnės nei padermės, išskirtos iš sveikų asmenų (67,68). *Staphylococcus aureus* yra dažnas antrinės bakterinės pneumonijos sukėlėjas. Nuolatiniai *S. aureus* nešiotojai yra linkę sirgti invazinėmis ligomis, įskaitant antrinę stafilokokinę kvėpavimo takų infekciją; *S. aureus* gali patekti iš nosies į plaučius ir sukelti kvėpavimo takų infekciją šeimininkui, kuris yra imlus gripui (69).

Moraxella catarrhalis, anksčiau vadinta *Neisseria catarrhalis* arba *Micrococcus catarrhalis*, yra gramteigiamas aerobinis diplokokas, dažnai aptinkamas viršutiniuose kvėpavimo takuose. *Moraxella catarrhalis* yra normalios vaikų nosiaryklės bakterinės floros dalis, tačiau per pastaruosius du dešimtmečius ji tapo svarbia patogenine bakterija. Suaugusiesiems *M. catarrhalis* yra susijęs su ūminiais lėtinio bronchito paūmėjimais ir yra trečias pagal dažnumą izoliatas po *H. influenzae* ir *S. pneumoniae*. *Moraxella catarrhalis* kartais gali sukelti invazines infekcijas, įskaitant bakteremiją, meningitą ir endokarditą (6).

1.17 Taninų poveikis mikroorganizmams

Taninai slopina įvairių gramteigiamų ir gramneigiamų bakterijų augimą. Dažniausi antibakteriniu poveikiu pasižyminčių taninų pavyzdžiai yra tanino rūgštis, elago rūgštis ir epigalokatechino galatas. Atlikti tyrimai parodė, kad stebimas antibakterinis taninų aktyvumas gali būti paaiškintas laisvų fenolio hidroksilo grupių buvimu, kurios gali paveikti, pavyzdžiui, fermentinį aktyvumą per kovalentinę arba nekovalentinę ryšį. Taip pat tyrimuose aprašyti kiti antimikrobinio taninų veikimo mechanizmai, pavyzdžiui, peptidoglikano susidarymo sutrikimas, geležies chelatavimas, membranos ardyimas, išstūmimo siurblio slopinimas ir riebiųjų-rūgščių sintezė. Yra atlikti tyrimai, kad taninai turi savybę sumažinti bioplėvelės susidarymą. Bioplėvelės yra bakterijų konglomeratai, dažniausiai tarpfazėje (kietas-oras, kietas-skystis, skystas-oras), kuriuos supa apsauginis ekstraląstelinių polimerinių medžiagų tinklelis. Tai padidina bakterijų gebėjimą išgyventi dehidrataciją, dezinfekavimo priemones ir antibiotikus (70).

2. TYRIMO METODIKA

2.1. Tyrimo objektai

Tyrimo metu buvo analizuojama 11 augalų rūšių – 7 rūšys priklausančios Ericaceae šeimai, 4 – Rosaceae šeimai. Iš erškėtinių šeimos pasirinktos šios vaistinių augalų rūšys – žąsinė sidabražolė, vaistinė dirvuolė, paprastoji žemuogė, paprastoji rasakila, o iš erikinių šeimos – šilinis viržis, miltinė meškauogė, bruknė, mėlynė, juodoji varnauogė, pelkinis gailis ir siauralapė balžuva. Juodosios varnauogės, siauralapės balžuvos ir pelkinio gailio augalinė žaliava buvo rinkta 2022-07-14 Raudonosios balos pelkėje (Maišiagalos seniūnija, Vilniaus rajonas) (19 paveikslas). Surinktos vaistinių augalų antžeminės dalys džiovintos gerai vėdinamoje, vėsioje, sausoje ir nuo tiesioginių saulės spindulių apsaugotoje patalpoje. Išdžiūvus augalinei žaliai, lapai atskirti nuo stiebų. Žąsinė sidabražolė, vaistinė dirvuolė, paprastoji žemuogė, paprastoji rasakila, šilinis viržis, miltinė meškauogė, bruknė ir mėlynė tyrimams buvo surinkti anksčiau, 2019 metais, skirtingose vietose (miške, pievoje); minėtus augalus surinko ne šio darbo autorė.



19 paveikslas. Juodosios varnauogės, siauralapės balžuvos ir pelkinio gailio augalinės žaliavos surinkimo vieta

2.2. Naudota įranga

1. Svarstyklės (*Scaltec SPO 51*);
2. Analitinės svarstyklės (*Kern ABS 80-4N*);
3. Termostatai (*Memmert IN 160 – 37 °C, Incucell – 26 °C, Medcenter Einrichtungen GmbH (CO₂ %) – 37 °C, Whirpool – 3 °C*);
4. Autoklavas (*Tuttnauer*);
5. Laminaras (*SafeFAST Elite*);
6. Liofilizatorius („MAXI dry Lyo“, Danija);
7. Spektrofotometras (*Thermo Scientific Evolution 60S, Jungtinės Amerikos Valstijos*);
8. *Eppendorff* automatinės pipetės (5 ml, 1 ml, 0,1 ml);
9. Centrifuga (*Sigma 2-16 KL*);
10. Kompiuteris *Dell* su spektrofotometro programine įranga;
11. Rotacinis garintuvas („Buchi Rotavapor R-3“, Šveicarija);
12. Kratytuvas (KS 501 digital IKA- WERKE);
13. Purtyklė (IKA Vortex Genius 3, Vokietija);
14. Elektrinis smulkintuvas-malūnas („Retsch GM 200“, Vokietija);
15. Spektrofotometras („Biochrom libra S32 PC“, Jungtinė Karalystė);
16. Centrifuga (Ependorf 5430R“, Vokietija).

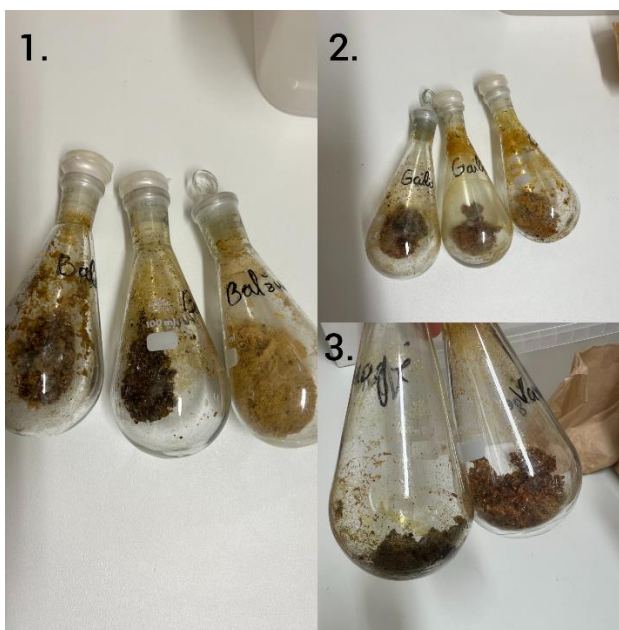
2.3 Naudoti reagentai

1. Mueller-Hinton broth terpė;
2. Mueller-Hinton agaras;
3. Kalcio karbonatas
4. Dekstrozė
5. Mielių ekstraktas
6. Bakteriologinis agaras
7. Metanolis
8. Distiliuotas vanduo
9. Skystas azotas
10. 5 % arklio kraujas
11. Polivinilpirolidono (PVPP) milteliai;
12. Folin-Ciocalteu reagentas
13. Natrio karbonatas
14. Tanino rūgštis
15. Antibiotikų diskai: Vankomicinas VA, Flukonazolas FLU, Trimetoprimo-sulfametoksazolas SXT

2.4. Sausų metanolinių ekstraktų ruošimas

Sausi metanoliniai ekstraktai buvo ruošiami susmulkinant kiekvieno vaistinio augalo lapus elektriniu smulkintuvu-malūnu (0,20 min/sec, 1000rpm) ir persijojant per 0,5 mm ir 2 mm akučių dydžio sietelius. Tada susmulkinti augalų lapai buvo užpilti 70 % (v/v) metanoliu ir purtyklėje purtyti 1 valandą (120 k/min) kambario temperatūroje. Gauti ekstraktai filtruoti ir rotacinio garintuvo pagalba iš jų išgarintas metanolis (vonelės temperatūra 35 °C). Vėliau ekstraktai dar vieną parą liofilizuoti, naudojant skystą azotą, 110 °C temperatūroje. Liofilizavimą atliko Kauno technologijos universiteto, Cheminės technologijos fakulteto, Maisto mokslo ir technologijos katedros jaunesnioji mokslo darbuotoja Ramutė Maždzierienė.

Pelkinio gailio, siauralapės balžuvos ir juodosios varnaugės sausius metanolinius ekstraktus gamino pati šio darbo autorė (20 paveikslas). Žašinės sidabražolės, paprastosios žemuogės, paprastosios rasakilos, šilinio viržio, bruknės, mėlynės, miltinės meškauogės ir vaistinės dirvuolės sausius metanolinius ekstraktus buvo gauti iš Gamtos tyrimų centro, Ekonominės botanikos laboratorijos.



20 paveikslas. Sausi metanoliniai ekstraktai: 1 – siauralapės balžuvos; 2 – pelkinio gailio; 3 – juodosios varnaugės.

2.5 Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas spektrofotometrinio metodu

Bendras fenolinių junginių kiekis Rosaceae ir Ericaceae šeimos tirtų augalų lapuose nustatytas Folin-Ciocalteu metodu (71). Tirtų augalų lapų pradiniai sausius metanoliniai ekstraktai buvo praskiesti distiliuotu vandeniu santykiu 1:10 (Ericaceae) arba 1:5 (Rosaceae), išskyrus

paprastosios žemuogės lapų sausą ekstraktą, kuris buvo praskiestas distiliuotu vandeniu santykiu 1:10 (21 pav).

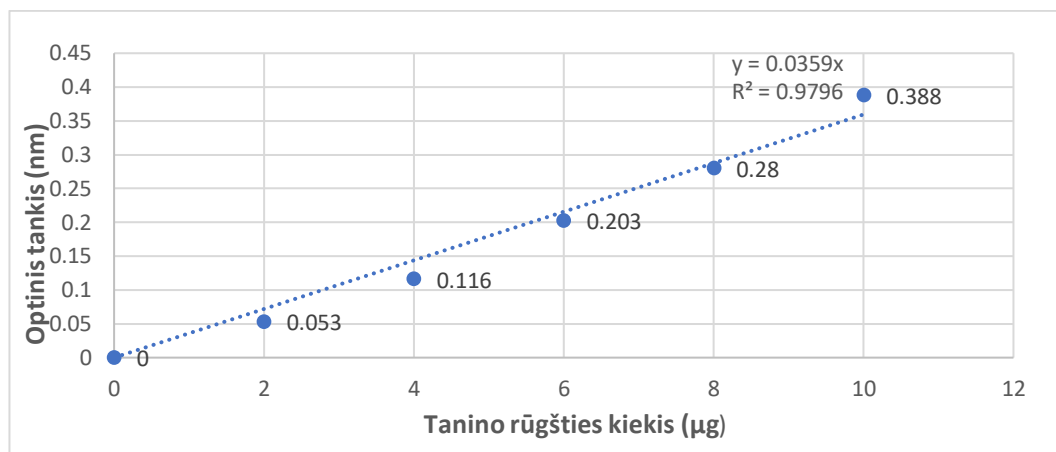


21 paveikslas. Sausi metanoliniai ekstraktai praskiesti vandeniui

Po 0,05 ml kiekvieno ekstrakto perpilta į laboratorinius mėgintuvėlius, kuriuose distiliuotu vandeniu praskiesti iki 0,5 ml, pridėta 0,25 ml Folin-Ciocalteu reagento (praskiesto distiliuotu vandeniu santykiu 1:10) ir 1,25 ml 20 % natrio karbonato tirpalo. Laboratoriniai mėgintuvėliai supurtyti ir laikyti 40 minučių kambario temperatūroje. Praėjus 40 min išmatuota tirpalų absorbcija spektrofotometru, esant 725 nm bangos ilgiui. Paruoštas lyginimasis tirpalas: 0,5 ml distiliuoto vandens, 0,25 ml Folin-Ciocalteu reagento ir 1,25 ml 20 % natrio karbonato tirpalo mišinys laikytas kambario temperatūroje 40 minučių. Bendras fenolinių junginių kiekis apskaičiuotas iš kalibracinės lygties, kuri gauta pagaminus 5 žinomo tanino rūgšties kiekio etaloninius tirpalus (2 μg , 4 μg , 6 μg , 8 μg ir 10 μg) (22 paveikslas). Etaloniniai tanino rūgšties tirpalai buvo ruošiami kaip ir tiriamieji tirpalai, tik vietoje augalų ekstraktų piltas šviežiai pagamintas 0,1 mg/ml tanino rūgšties tirpalas (atitinkamai 20 μg , 40 μg , 60 μg , 80 μg ir 100 μg). Kalibracinės kreivės lygtis $y = 0,0359x$, kur x – tanino rūgšties kiekis (μg), o y – optinis tankis (nm), koreliacijos koeficientas $R^2 = 0,9925$ (23 pav.)



22 paveikslas. Kalibracinės kreivės nustatymui paruošti skirtingos koncentracijos tanino rūgšties tirpalai



23 paveikslas. Kalibracinė tanino rūgšties kreivė

2.6 Bendro taninų kiekio nustatymas spektrofotometriniu metodu

Bendras taninų kiekis Rosaceae ir Ericaceae šeimos tirtų augalų lapuose nustatytas metodu, kuris aprašytas laboratorijos vadove „Quantification of Tannins in Tree Foliage“ (2000) (71). Taninų kiekiui nustatyti buvo naudojami polivinilpirolidono (PVPP) milteliai, surišantys taninus, esančius ekstraktuose. Po 0,1 g PVPP miltelių supilama į centrifuginius mėgintuvėlius ir tuomet sumaišoma su 1 ml distiliuoto vandens ir 1 ml praskiesto (1:5 arba 1:10) augalų sauso ekstrakto. Centrifuginiai mėgintuvėliai gerai supurtomi ir laikomi 15 min. šaldytuve 4 °C temperatūroje. Po 15 minučių mėgintuvėliai vėl gerai supurtomi ir centrifuguojami 10 minučių (4 °C temperatūroje, 3000 rpm jėga). Susidaręs supernatantas, kuriame yra likę tik fenoliniai junginiai (taninus surišo PVPP milteliai ir jie nusėdo mėgintuvėlio dugne) nupilamas. Bendras fenolinių junginių kiekis supernatante nustatomas spektrofotometriškai pagal ankstesniame skyrelyje aprašytą metodiką. Bendras taninų kiekis apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\text{Taninų kiekis pagal tanino rūgšties ekvivalentą} = x - y,$$

kur x – bendras fenolinių junginių kiekis; y – fenolinių junginių kiekis be taninų, po nusodinimo PVPP milteliais

2.7 Sausų metanolinių ekstraktų antimikrobinio aktyvumo nustatymas Kirby-Bauer agarų difuzijos metodu

Sausų augalų ekstraktų antimikrobiniam aktyvumui nustatyti buvo naudojami *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus mitis* ATCC 6249, *Moraxella catarrhalis* ATCC 7104 ir *Candida albicans* CBS 2730 mikroorganizmai. Augalų ekstraktų poveikis mikroorganizmams buvo tiriamas Kirby-Bauer agarų difuzijos metodu naudojant Mueller-Hinton terpę bakterijoms; *Candida albicans* – Mueller-Hinton terpę su 2 % gliukoze, o

Streptococcus mitis ir *Moraxella catarrhalis* su 5% arklio krauju. Skirtingos sausų augalų ekstraktų (100 mg/ml, 200 mg/ml ir 400 mg/ml) koncentracijos gaunamos tirpinant juos metanolyje. Paruoštos tiriamų bakterijų ląstelių suspensijos matuojamos spektrofotometru („Thermo Scientific Evolution 60S“, JAV), esant 625 nm bangos ilgiui, o *Candida albicans* – 530 nm. Inokuliavimui buvo naudota mikroorganizmų suspensija, kurios koncentracija buvo 10^6 KSV/ml. Ant terpės buvo dedami sterilūs filtrinio popieriaus diskeliai (6 mm), ant kurių užlašinta 10 µl tiriamų augalų ekstraktų. Bandyamas atliekamas 3 pakartojimais. Kaip neigiama kontrolė buvo naudotas 70 % (v/v) metanolis, kaip teigiama – antibiotikų diskai (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis* – vankomicinas; *Moraxella catarrhalis* – trimetoprimo-sulfametoksazolas; *Candida albicans* – flukonazolas). Petri lėkštelės su pasėliais inkubuotos termostate 24 val., esant 35°C temperatūrai, išskyrus *S. mitis*, kuris buvo kultivuojamas anaerobinėmis sąlygomis. Vaistinių augalų metanolinių ekstraktų antimikrobinis aktyvumas buvo įvertintas pagal mikroorganizmų augimo slopinimo zonos diametrą (mm).

2.8 Sausų metanolinių ekstraktų antimikrobinio aktyvumo nustatymas terpės mikropraskiedimo metodu

Sausų metanolinių ekstraktų poveikis tirtiems mikroorganizmams taip pat buvo tiriamas terpės mikropraskiedimo metodu. Terpės buvo naudojamos tokios pačios kaip aprašyta 2.7 skyriuje. Skirtingos sausų augalų lapų ekstraktų (100 mg/ml, 200 mg/ml ir 400 mg/ml) koncentracijos gaunamos tirpinant metanolyje (70 % arba 40 %). Paruoštos tiriamų bakterijų ląstelių suspensijos matuojamos spektrofotometru („Thermo Scientific Evolution 60S“, JAV), esant 625 nm bangos ilgiui, o *Candida albicans* – 530 nm. Inokuliavimui buvo naudota mikroorganizmų suspensija, kurios koncentracija buvo 10^5 KSV/ml. Į šulinėlius buvo įpilama 100 µl atitinkamos terpės. Tada į pirmuosius šulinėlius buvo įpilama 100 µl skirtingos augalų ekstraktų koncentracijos, kurios šulinėliuose buvo praskiestos 9 kartus. Į dešimtąjį šulinėlį buvo įlašinamas metanolis 70 % arba 40 %, į vienuoliktą šulinėlį – tik tiriamo mikroorganizmo suspensija, į dvyliktą – tik terpė. Paruošta mikroorganizmų suspensija taip pat buvo įpilta į 1–10 šulinėlius po 100 µl. Viską supilsčius šulinėlių lėkštelės 24 val. inkubuotos termostate, esant 35°C temperatūrai, išskyrus *S. mitis*, kuris buvo kultivuojamas anaerobinėmis sąlygomis. Sausų augalų metanolinių ekstraktų antimikrobinis aktyvumas buvo įvertintas pagal mažiausią antimikrobinės medžiagos koncentraciją, kuri visiškai inhibuoja mikroorganizmo augimą (MIK). Iš šulinėlių, kuriuose vizualiai augimo nėra buvo išsėta po 10 µl į lėkšteles ir žiūrėtas jų augimas (MFK/MBK).

2.9 Statistinė duomenų analizė

Statistinė duomenų analizė buvo atlikta naudojant „Microsoft Office Excel 2016“. Su šia programa buvo apskaičiuotos standartinės paklaidos, vidurkis, nubraižyti grafikai.

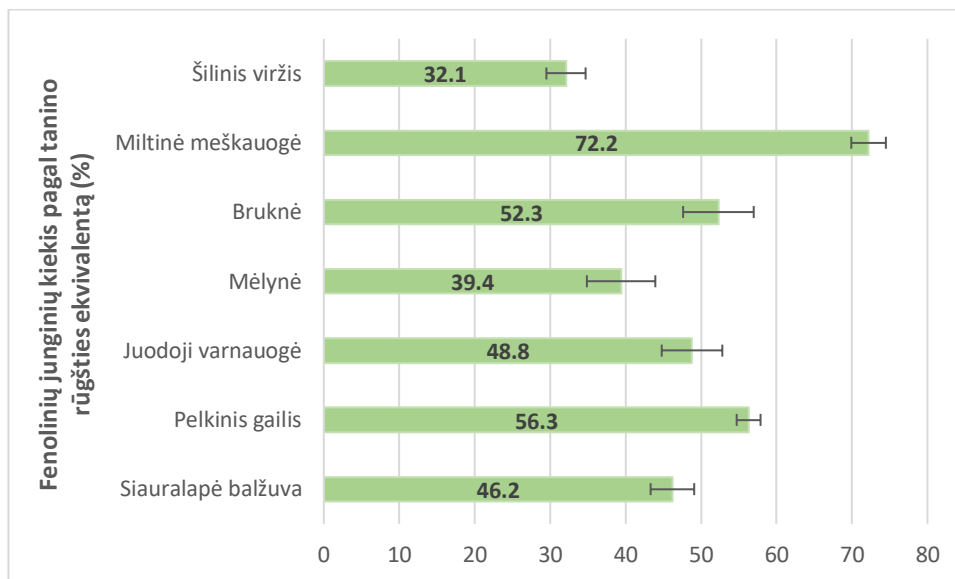
3. TYRIMO REZULTATAI

3.1 Bendras fenolinių junginių kiekis Ericaceae šeimos rūšių augalų sausuose metanoliniuose ekstraktuose

Iš 24 paveiksle pateikto fenolinių junginių kiekio Ericaceae šeimos atstovų lapų sausuose metanoliniuose ekstraktuose galima matyti, kad didžiausią šių junginių kiekį turi miltinės meškauogės sausasis ekstraktas – 72,2 %. Pelkinio gailio ir bruknės sausuose ekstraktuose nustatyti labai panašūs fenolinių junginių kiekiai – atitinkamai 56,3 % ir 52,3 % bei 1,3 ir 1,4 karto mažesni nei miltinės meškauogės lapų sausuose ekstraktuose. Siauralapės balžuvos ir juodosios varnauogės lapų sausuose ekstraktuose taip pat buvo nustatyti panašūs fenolinių junginių kiekiai: lyginant su miltinės meškauogės lapų sausais ekstraktais skirtumas atitinkamai 36 % ir 32 %. Mažiausias, bet panašus fenolinių junginių kiekis, nustatytas mėlynės lapų (39,4 %) ir šilinio viržio lapų ir žiedų mišinio sausuose ekstraktuose (32,1 %). Mėlynės lapų sausuose ekstraktuose fenolinių junginių kiekis 1,2 karto didesnis nei šilinio viržio žaliavos sausuose ekstraktuose, o lyginant su miltine meškauoge mėlynės lapų sausajame ekstrakto nustatyta 1,8 karto mažiau fenolinių junginių.

Atlikti tyrimai parodė, kad miltinės meškauogės lapų vandeniniuose ekstraktuose bendras fenolinių junginių kiekis tarpusavyje labai skyrėsi ir varijavo nuo 165,63 mg GAE g⁻¹ iki 214,84 mg GAE g⁻¹. Bendras fenolinių junginių kiekis miltinės meškauogės etanoliniuose ekstraktuose varijavo nuo 258,03 mg GAE g⁻¹ iki 298,52 mg GAE g⁻¹. Statistinė analizė rodė, kad vidutinės bendro fenolinių junginių kiekių vertės tarp vandeninių ir etanolinių ekstraktų patikimai skyrėsi (72). 2010 m. rugpjūčio mėnesį netoli Lodžės (Vidurio Lenkijoje) surinktų mėlynių lapų acetono-vandens (70:30, v/v) ekstrakto bendras fenolinių junginių kiekis sudarė 399,94 ± 15,31 mg/g (73). Mėlynės, augusios Juodkalnijoje, lapų etanoliniuose ekstraktuose bendras fenolinių junginių kiekis varijavo nuo 173,19 iki 217,59 mg GAE/g, o vaisių ekstraktuose – nuo 53,95 iki 69,32 mg GAE/g (ekstraktai buvo gauti maceracijos būdu arba Soksleto ekstrakcijos būdu) (74). Literatūros duomenimis fenolinių junginių yra visose šilinio viržio dalyse, tačiau jų kiekis gali skirtis skirtingais augalo augimo etapais arba priklausomai nuo skirtingų aplinkos veiksnių, pavyzdžiui, aukščio virš jūros lygio ar dirvožemio savybių (24). Todėl Chepel ir kt. (2020) skirtingais vystymosi etapais (vegetacijos pradžioje, žiedų formavimosi, žydėjimo, sėklų brendimo) stebėjo įvairių fenolinių junginių kiekių pokyčius šilinių viržių lapuose, stiebuose, šaknyse, šakniastiebiuose, žieduose ir sėklose. Tyrimo autoriai nurodė, kad vegetacijos pradžioje didžiausias fenolinių junginių (ypač taninų, flavonoidų ir proantocianidinų) kiekis nustatytas šaknyse (31,66 ± 0,53 mg/g), o mažiausias – lapuose (14,52 ± 1,85 mg/g). Didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis buvo nustatytas žieduose žydėjimo

metu ($27,88 \pm 0,18$ mg/g). Taigi, fenolinių junginių kiekis keitėsi augalui vystantis, daugiau fenolinių junginių (flavonoidų, antocianinų, proantocianidinų ir hidroksicinamo rūgšties) lapuose buvo nustatyta žiedų formavimo ($28,15 \pm 0,76$ mg/g) ir sėklų brendimo ($32,67 \pm 0,12$ mg/g) tarpsniu (75).



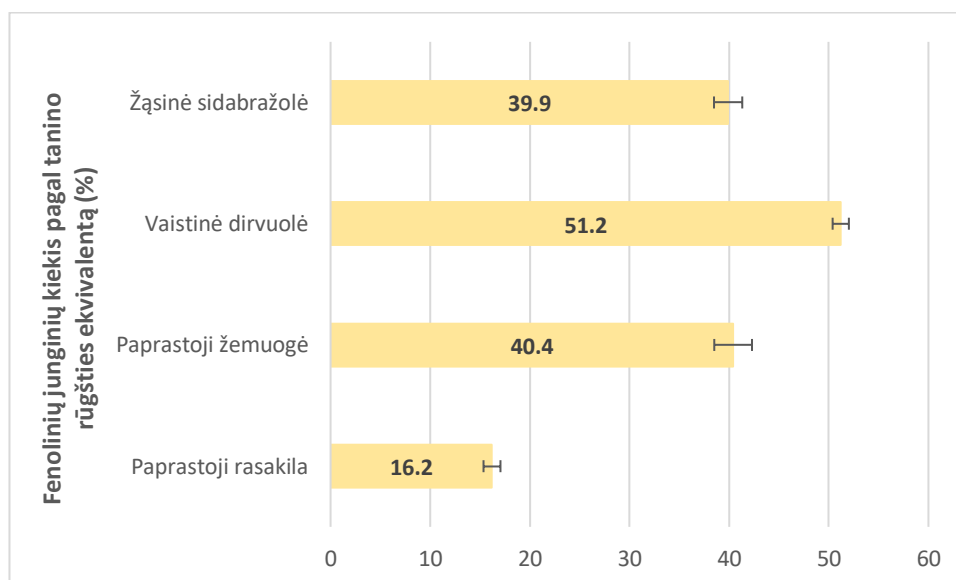
24 paveikslas Fenolinių junginių kiekio pasiskirstymas Ericaceae šeimos rūšių augalų lapų sausuose metanoliniuose ekstraktuose

3.2 Bendras fenolinių junginių kiekis Rosaceae šeimos rūšių augalų sausuose metanoliniuose ekstraktuose

Iš 25 paveiksle pateikto grafiko galima matyti, kad didžiausias fenolinių junginių kiekis tarp tirtų Rosaceae šeimos atstovų nustatytas vaistinės dirvuolės lapų sausajame metanoliniame ekstrakte – 51,2 %. Lyginant su Ericaceae šeimos atstovės miltinės meškauogės sausu ekstraktu, turinčiu daugiausiai fenolinių junginių (24 pav.), tai 1,4 karto mažesnis kiekis. Šiek tiek mažesni, bet labai panašūs, fenolinių junginių kiekiai nustatyti paprastosios žemuogės (40,4 %) ir žąsinės sidabražolės (39,9 %) lapų sausuose metanoliniuose ekstraktuose: skirtumas nesiekė net 2 %. Paprastosios žemuogės ir žąsinės sidabražolės lapų sausuose ekstraktuose procentiniai fenolinių junginių kiekiai beveik nesiskiria nuo šių junginių kiekio mėlynės, kuri priklauso Ericaceae šeimai, lapų sausuose ekstraktuose nustatytų fenolinių junginių kiekio (39,4 %). Mažiausias fenolinių junginių kiekis tarp Rosaceae šeimos atstovų buvo nustatytas paprastosios rasakilos sausame ekstrakte – 16,2 %, tai yra 3,2 karto mažesniau nei vaistinės dirvuolės sausajame ekstrakte.

Mūsų atlikto tyrimo ir mokslinio straipsnio palyginimas rodo, kad žąsinės sidabražolės, surinktos Jakutijos regione Sibire, žolės sausame 60 % metanoliniame ekstrakte

fenolinių junginių kiekis beveik nesiskyrė (16,18 %) nuo mūsų tirtame žąsinės sidabražolės sausame 70 % metanoliniame ekstrakte nustatyto fenolinių junginių kiekio (16,2 %) (31). Michal Tomczyk ir kt. (2010) tyrė 10-ies skirtingų sidabražolių rūšių antžemines dalis, kad nustatytų polifenolinių junginių kiekius jose. Žąsinė sidabražolė buvo trečia pagal didžiausią bendrą fenolinių junginių kiekį – $89,8 \pm 2,1$ mg/g (76). Serbijos mokslininkai tyrė fenolių koncentraciją vaistinės dirvuolės vandeniuose, dietileteriniuose, acetoniniuose ir etanoliniuose ekstraktuose. Bendras fenolių kiekis buvo nustatyta Folin-Ciocalteu metodu, kaip standartas naudota galo rūgštis, o bendras fenolinių junginių kiekis išreikštas miligramais galo rūgšties ekvivalentų/gramui ekstrakto (mg GAE/g ekstrakto). Tyrimo rezultatai parodė, kad didžiausias suminis fenolinių junginių kiekis nustatytas acetoniniame ekstrakte ($220,31 \pm 0,00$ mg GAE/g). Dietilo eterio ekstrakte nustatyta mažiausia bendro fenolinių medžiagų kiekio koncentracija ($19,61 \pm 0,10$ mg GAE/g). Acetonas yra veiksmingas ekstrahentas, pasižymintis mažu toksiškumu ir dideliu ekstrahavimo pajėgumu, todėl tai galėjo lemti didžiausią fenolinių junginių kiekį acetoniniame ekstrakte (77). 2005 m. balandžio mėnesį 2650 – 3300 m aukštyje virš jūros lygio Bolivijoje, netoli Soratos, surinktų paprastųjų žemuogių lapuose bendras fenolinių junginių kiekis varijavo 9,7–21 mmol/g ribose, didžiausias kiekis buvo nustatytas 3250 m aukštyje surinktų paprastųjų žemuogių lapuose (78).



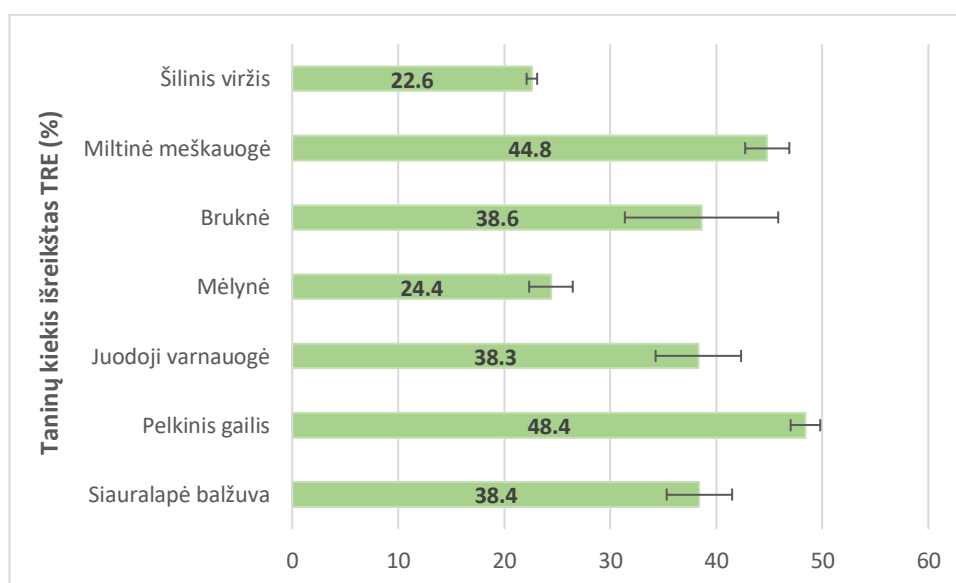
25 paveikslas. Fenolinių junginių kiekio pasiskirstymas Rosaceae šeimos rūšių augalų lapų sausuose metanoliniuose ekstraktuose

Vidutinis fenolinių junginių kiekis Rosaceae šeimos tirtų rūšių augalų lapų sausuose metanoliniuose ekstraktuose buvo 1,3 karto mažesnis, nei Ericaceae šeimos tirtų augalų ekstraktuose.

3.3 Bendras taninų kiekis Ericaceae šeimos rūšių augalų sausuose metanoliniuose ekstraktuose

Tarpusavyje lyginant tirtų Ericaceae šeimos atstovų sausus metanolinius ekstraktus, galima matyti, kad didžiausias taninų kiekis nustatytas pelkinio gailio lapų ekstrakto – 48,4 % (26 pav.). Šiek tiek mažesnis, bet panašus taninų kiekis nustatytas miltinės meškauogės lapų sausame ekstrakto – 44,8 %. Beveik du kartus mažesnis taninų kiekis nustatytas mėlynės (24,4 %) ir šilinio viržio (22,6 %) lapų sausuose ekstraktuose. Bruknės, siauralapės balžuvos ir juodosios varnauogės lapų sausuose metanoliniuose ekstraktuose taninų kiekiai tarpusavyje buvo labai panašūs (atitinkamai 38,6 %, 38,4 % ir 38,3 %) ir tarpusavyje nesiskyrė daugiau nei 1 %.

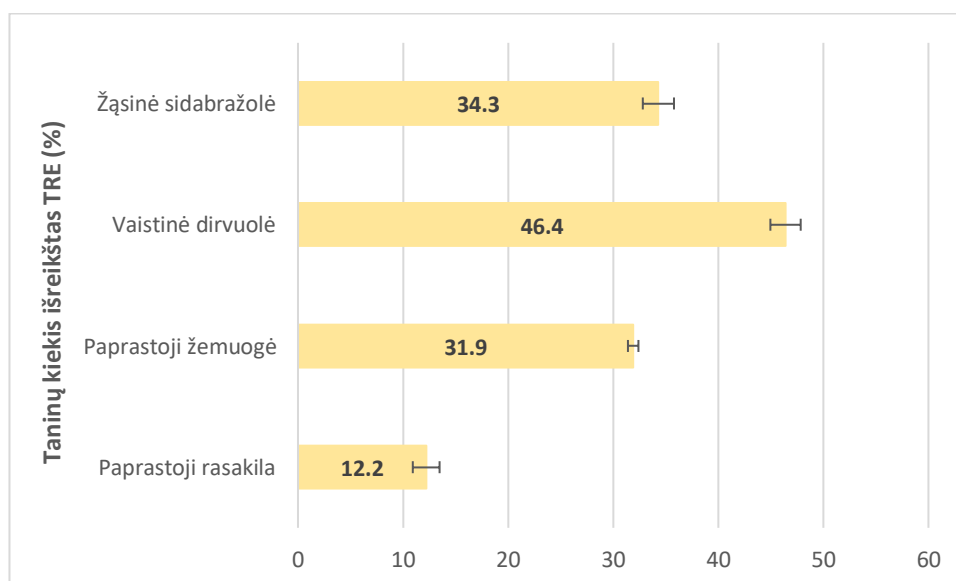
Jussi Suvanto ir kt. (2017) tyrė 12 augalų rūšių, iš kurių kelios buvo Ericaceae šeimos atstovai – mėlynė, bruknė ir juodoji varnauogė. Tirdami šiuos augalus mokslininkai palygino taninų kiekius, naudodami acetono/vandens (4:1, v/v) ekstraktus. Tyrimas atskleidė, kad visų anksčiau išvardytų augalų ląstelių kultūrose nebuvo rasta elagitaninų ir kvino rūgšties, o galo rūgšties buvo rasti tik pėdsakai (79). Devyni miltinės meškauogės lapų mėginiai buvo surinkti iš trijų skirtingų Ispanijos provincijų; atlikus tyrimą lapuose buvo atrasti 33 hidrolizuotieji taninai, iš kurių galotanas buvo dominuojantis junginys. (+)-Katechino ir (-)-epikatechino 3-galato koncentracija ekstraktuose buvo atitinkamai 125–624 ir 152–385 mg/kg sausos masės. Galo rūgšties kiekis varijavo nuo $0,61 \pm 0,09$ iki $1,51 \pm 0,11$ mg/g (80).



26 paveikslas. Taninų kiekio pasiskirstymas Ericaceae šeimos rūšių augalų lapų sausuose metanoliniuose ekstraktuose (TRE – taninų rūgšties ekvivalentas)

3.4 Bendras taninų kiekis Rosaceae šeimos rūšių augalų sausuose metanoliniuose ekstraktuose

Iš 27 paveiksle pateikto grafiko galima matyti, kad bendras mažiausias taninų kiekis tarp Rosaceae šeimos atstovų nustatytas paprastosios rasakilos lapų sausuose ekstraktuose – 12,2 %. Šis procentinis taninų kiekis yra 3,8 karto mažesnis nei nustatytas paprastosios dirvuolės lapų sausame ekstrakto (46,4 %). Taninų kiekio skirtumas tarp žąsinės sidabražolės ir paprastosios žemuogės lapų sausų metanolinių ekstraktų buvo labai nedidelis – tarpusavyje skyrėsi tik 7 %. Didžiausias suminis taninų kiekis buvo nustatytas vaistinės dirvuolės lapų ekstrakto (46,4 %) ir šis procentinis kiekis labai panašus į kiekius Ericaceae šeimos atstovų pelkinio gailio ir miltinės meškauogės lapų sausuose ekstraktuose (atitinkamai 48,4 % ir 44,8 %). Lenkijoje buvo atliktas tyrimas, kurio tikslas buvo įvertinti pasirinktų *Potentilla* rūšių antžeminių dalinių vandeninių ekstraktų poveikį kariogeninėms *Streptococcus* padermėms. Žąsinės sidabražolės vandeniniame ekstrakto bendras taninų kiekis siekė 4.9 ± 0.2 mg/g – ji buvo ketvirta iš visų tirtų *Potentilla* rūšių (76). T. Boroja ir kt. (2018) atliko tyrimą, siekdami iširti paprastosios rasakilos antžeminių dalių ir šaknų metanolinių ekstraktų, kurie buvo paruošti 72 val. maceruojant, fitocheminę sudėtį. Atliktos fenolinių junginių analizės rezultatai atskleidė, kad šių medžiagų dideli kiekiai yra ir antžeminių dalių, ir šaknų metanoliniuose ekstraktuose. Antžeminių dalių ekstrakto dominuojantys fenoliai buvo kondensuoti taninai (proantocianidinai) ir galotaninai (atitinkamai 386,70 mg/g ir 97,80 mg/g), šaknų ekstrakto buvo šiek tiek mažesnis kondensuotų taninų kiekis (360,88 mg/g), o galotaninų nebuvo aptikta (81).

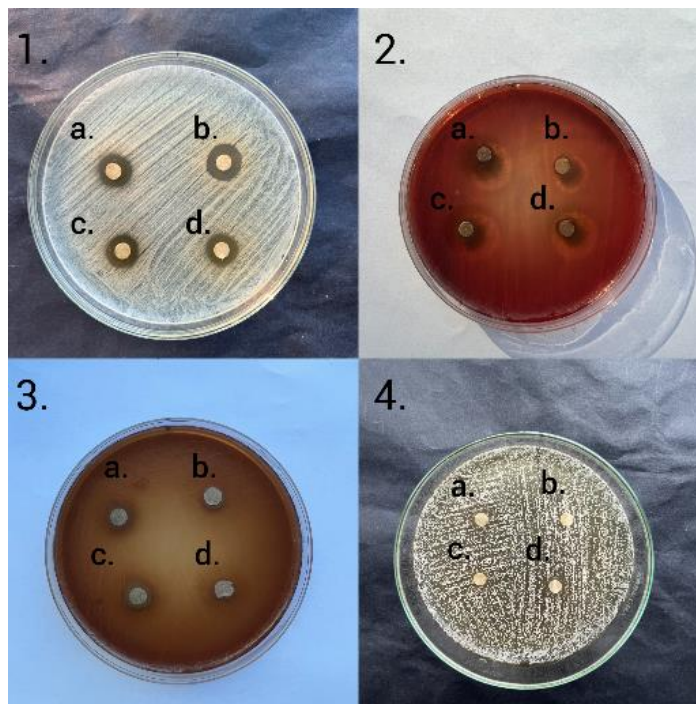


27 paveikslas. Taninų kiekio pasiskirstymas Rosaceae šeimos augalų rūšių lapų sausuose metanoliniuose ekstraktuose (TRE – taninų rūgšties ekvivalentas)

Vidutinis taninų kiekis Rosaceae šeimos tirtų rūšių augalų lapų sausuose metanoliniuose ekstraktuose buvo 1,2 karto mažesnis, nei Ericaceae šeimos tirtų rūšių augalų sausuose ekstraktuose.

3.5 Sausų augalų ekstraktų antimikrobinis poveikis mikroorganizmams Kirby-Bauer agaro difuzijos metodu

Tyrimo rezultatai parodė, kad visų tirtų erikinių ir erškėtinių šeimos vaistinių augalų sausi metanoliniai ekstraktai slopino *S. aureus*, *S. mitis* ir *M. catarrhalis* bakterijų augimą (ekstraktų koncentracijos – 100 mg/ml ir 200 mg/ml). Tuo tarpu *C. albicans* augimo visiškai neveikė žąsinės sidabražolės, vaistinės dirvuolės, paprastosios žemuogės, paprastosios rasakilos, šilinio viržio, bruknės, mėlynės, miltinės meškauogės ir siauralapės balžuvos lapų sausieji metanoliniai ekstraktai (ekstrakto koncentracija – 400 mg/ml) (2 lentelė, 28 pav.). Taip pat tyrimo rezultatai parodė, kad antibiotikai vankomicinas, flukonazolas, trimetoprimo-sulfametoksazolas (teigiama kontrolė) turėjo antimikrobinį poveikį visų tirtų mikroorganizmų augimui, o metanolis (neigiama kontrolė) neturėjo jokio poveikio tirtiems mikroorganizmams (2 lentelė).



28 paveikslas. Tiriamų vaistinių augalų sausų ekstraktų antimikrobinis poveikis 1 – *S. aureus*, 2 – *M. catarrhalis*, 3 – *S. mitis* ir 4 – *C. albicans* augimui (a – žąsinė sidabražolė, b – vaistinė dirvuolė, c – paprastoji žemuogė, d – paprastoji rasakila)

3.5.1 Ericaceae ir Rosaceae rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis *Staphylococcus aureus*

Mažiausią atsparumą augalų sausiems ekstraktams turėjo *Staphylococcus aureus* bakterijos. Gauti tyrimo rezultatai parodė, kad stipriausiu baktericidiniu poveikiu prieš *S. aureus* pasižymėjo miltinės meškauogės lapų sausas ekstraktas (100 mg/ml koncentracijos ekstrakto slopinimo zona buvo $19,0 \pm 0,3$ mm). Miltinės meškauogės lapų sausųjų metanolinių ekstraktų antimikrobinis poveikis prieš *S. aureus* buvo 1,7 karto stipresnis nei kontrolėje naudoto antibiotiko vankomicino poveikis. Šiek tiek silpnesnį, bet labai panašų antimikrobinį poveikį *S. aureus* bakterijai turėjo 100 mg/ml koncentracijos bruknės lapų sausas ekstraktas – slopinimo zona $18,0 \pm 0,5$ mm. Gauti rezultatai parodė, kad silpniausią poveikį *S. aureus* augimo slopinimui turėjo mėlynės ir paprastosios rasakilos (ekstraktų slopinimo zonos $9,0 \pm 0,5$ mm ir $10,0 \pm 0,3$ mm atitinkamai) sausi ekstraktai.

Lyginant Ericaceae ir Rosaceae augalų šeimas, galima matyti, kad stipriau *S. aureus* augimą slopino Ericaceae šeimos augalų sausieji ekstraktai (išskyrus mėlynės ir siauralapės balžuvos). Nors pelkinio gailio sausajame ekstrakto buvo nustatytas didžiausias taninų kiekis iš visų tirtų augalų, stipriausią baktericidinį poveikį prieš *S. aureus* bakteriją turėjo miltinė meškauogė. Du kartus nei miltinė meškauogė silpnesniu antibakteriniu poveikiu pasižymėjusiame mėlynės sausame metanoliniame ekstrakto buvo nustatytas beveik dvigubai mažesnis taninų kiekis nei miltinės meškauogės sausajame ekstrakto. Nors paprastosios rasakilos lapų sausame ekstrakto taninų buvo nustatyta 3,8 karto mažiau nei vaistinės dirvuolės ekstrakto, paprastosios rasakilos ekstraktas *S. aureus* silpniau veikė tik 16,3 % nei vaistinės dirvuolės ekstraktas (2 lentelė, 26 paveikslas, 27 paveikslas).

Mėlynės ekstrakto antimikrobinį poveikį yra tyrusi Rumunijos, Rusijos ir Vengrijos mokslininkų grupė. Tyrimo metu naudodami mėlynių neskiestą hidroalkoholinį ekstraktą mokslininkai nustatė, kad fenolinių junginių slopinimo zonos skersmuo mėlynių, rinktų Rusijoje, buvo 7,0 mm, o mėlynės, rinktos Rumunijoje, *S. aureus* augimo neveikė (82). Lyginant rezultatus su mūsų atliktu tyrimu matome, kad mūsų mėlynės sausasis ekstraktas stipriau slopino *S. aureus* augimą. Rumunijos mokslininkai tyrė paprastosios bruknės ir mėlynės lapų, rinktų trijose skirtingose buveinėse (Smida, Borsa, Turda), 40 % (v/v) etanolinių ekstraktų antimikrobinį poveikį prieš *S. aureus* bakteriją. Mėlynių lapų antibakterinis aktyvumas *S. aureus* atžvilgiu geriausias mėlynėse rinktose Turdoje ir Borsoje (minimali baktericidinė koncentracija 0,12 mg/ml). Bruknių rūšių atveju buvo užregistruotos tokios pat minimalios baktericidinės koncentracijos (0,24 mg/ml) prieš *S. aureus* bakteriją (83).

3.5.2 Ericaceae ir Rosaceae šeimos rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis *Moraxella catarrhalis*

Atlikus tyrimus nustatyta, kad tiek erikinių, tiek erškėtinių šeimos atstovų lapų sausi metanoliniai ekstraktai slopino *M. catarrhalis* augimą (2 lentelė). Miltinės meškauogės 200 mg/ml koncentracijos ekstraktas pasižymėjo stipriausiu antimikrobinu aktyvumu prieš *M. catarrhalis* (slopinimo zona $21,0 \pm 0,5$ mm) ir veikė 1,1 karto stipriau nei *S. aureus* augimą. Šiek tiek silpniau *M. catarrhalis* bakterijų augimą veikė paprastosios rasakilos ir žąsinės sidabražolės ekstraktai – jų slopinimo zonos buvo panašios (atitinkamai $17,0 \pm 0,3$ mm ir $16,0 \pm 0,3$ mm). Mažiausią poveikį *M. catarrhalis* bakterijų augimui turėjo šilinio viržio ir mėlynės sausieji ekstraktai (slopinimo zonos $10,8 \pm 0$ mm). Lyginant šilinio viržio ir mėlynės ekstraktus su miltinės meškauogės ekstraktu, stebima, kad jų slopinimo zonos mažesnės beveik 2 kartus. Kontrolėje naudoto antibiotiko trimetopimo-sulfametoksazolo poveikis pasižymėjo stipriu antimikrobinu poveikiu prieš *M. catarrhalis* (slopinimo zona $31,0 \pm 0$ mm) ir turėjo 21 % stipresnį baktericidinį poveikį nei miltinės meškauogės ekstraktas bei 65 % stipresnį poveikį nei mėlynės ir šilinio viržio ekstraktai.

Įvertinus erikinių ir erškėtinių atstovų poveikį *M. catarrhalis* bakterijai, galima matyti, kad *M. catarrhalis* augimą labiau veikė erškėtinių šeimos augalų sausieji ekstraktai. Miltinės meškauogės ekstrakto nustatytas 3,7 karto didesnis taninų kiekis nei paprastosios rasakilos ekstrakto, ir nors miltinės meškauogės ekstraktas pasižymėjo stipriausiu baktericidiniu poveikiu prieš *M. catarrhalis* bakteriją, tačiau miltinės meškauogės ekstrakto inhibicinė zona turėjo tik šiek tiek didesnę inhibicinę zoną nei paprastosios rasakilos ekstraktas. Tuo tarpu mėlynės ir šilinio viržio ekstraktas pasižymėjo vienodu antibakteriniu poveikiu prieš *M. catarrhalis*, nors šilinio viržio sausame ekstrakto nustatyta 7,4 % mažiau taninų nei mėlynės ekstrakto (2 lentelė, 26 paveikslas).

3.5.3 Ericaceae ir Rosaceae šeimos rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis *Streptococcus mitis*

Stipriausiu antimikrobinu poveikiu prieš *S. mitis* tarp tirtų augalų sausų ekstraktų pasižymėjo miltinės meškauogės 100 mg/ml koncentracijos ekstraktas (slopinimo zona $14,0 \pm 0,5$ mm). Tačiau lyginant miltinės meškauogės ekstrakto baktericidinį poveikį *S. aureus*, *M. catarrhalis* ir *S. mitis* bakterijoms, galima matyti, kad *M. catarrhalis* buvo atspariausia. Pelkinio gailio ekstraktas taip pat turėjo stiprų slopinantį poveikį *S. mitis* bakterijų augimui (slopinimo

zona $11,8 \pm 0$ mm). Paprastosios žemuogės, bruknės ir juodosios varnauogės ekstraktai turėjo vienodą antimikrobinį poveikį prieš *S. mitis* (slopinimo zonos $10,0 \pm 0,3$ mm). Paprastosios rasakilos ir mėlynės ekstraktai silpniausiai slopino *S. mitis* bakterijų augimą, tačiau labai panašiai veikė ir vaistinės dirvuolės ekstraktas – inhibicinė zona buvo tik 1,02 karto didesnė už paprastosios rasakilos ir mėlynės.

Nors Ericaceae ir Rosaceae šeimos rūšių augalų ekstraktai skyrėsi taninų kiekiu, abiejų šeimų augalų sausųjų ekstraktų baktericidinis poveikis *S. mitis* bakterijos augimui beveik nesiskyrė. Bruknės ir paprastosios žemuogės bei mėlynės ir paprastosios rasakilos ekstraktų inhibuojantis poveikis prieš *S. mitis* buvo identiškas, nors taninų kiekiai tarpusavyje skyrėsi atitinkamai 1,2 ir 2 kartus (2 lentelė, 26 paveikslas, 27 paveikslas).

Duomenų apie biocidinį poveikį *S. mitis* erškėtinių ir erikinių mūšų tirtų rūšių vaistinių augalų ekstraktams yra mažai. Čenajaus mokslininkai atliko tyrimą apie miltinės meškauogės antimikrobinį poveikį (apie jį plačiau 3.6.3 skyrelyje).

3.5.4 Ericaceae ir Rosaceae šeimos rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis *Candida albicans*

C. albicans grybo augimą veikė tik dviejų Ericaceae augalų rūšių 400 mg/ml koncentracijų ekstraktai – stipriausiu fungicidiniu poveikiu prieš *C. albicans* pasižymėjo juodosios varnauogės ekstraktas (slopinimo zona $14,0 \pm 0,5$ mm), šiek tiek silpnesniu poveikiu pasižymėjo pelkinio gailio ekstraktas (slopinimo zona $12,0 \pm 0,5$ mm). Kaip teigiama kontrole naudoto antibiotiko flukonazolo fungicidinis poveikis buvo 1,4 stipresnis nei juodosios varnauogės ir 1,6 karto stipresnis nei pelkinio gailio ekstraktai.

Stipriausiu *C. albicans* augimą inhibuojančiu poveikiu pasižymėjo juodosios varnauogės sausasis metanolinis ekstraktas, nors jame nustatytas taninų kiekis buvo 1,3 karto mažesnis nei pelkinio gailio ekstrakto. Vaistinės dirvuolės lapų sausame ekstrakto nustatytas taninų kiekis mažesnis tik 4,1 % nei pelkinio gailio ekstrakto, tačiau vaistinės dirvuolės ekstraktas visiškai neveikė *C. albicans* grybo augimo. Rezultatai rodo, kad erškėtinių šeimos augalai neturi jokio antimikrobinio poveikio prieš *C. albicans*, nepriklausomai nuo augaluose esančio taninų kiekio (2 lentelė, 26 paveikslas, 27 paveikslas).

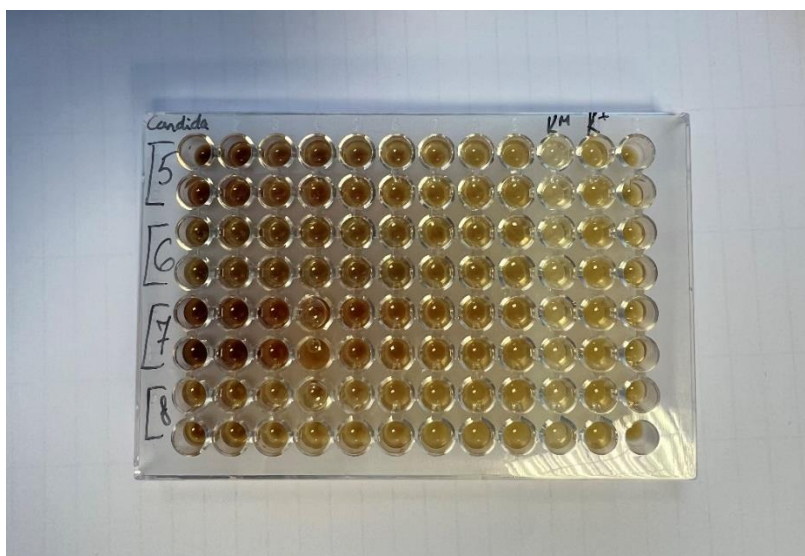
Georgescu ir kt. (2022) tyrimų metu nustatė, kad mėlynių, rinktų Rusijoje, ekstraktas turėjo įtakos *C. albicans* augimui – fenolinių junginių slopinimo zonos skersmuo buvo 10,0 mm, o mėlynės rinktos Rumunijoje *C. albicans* grybo augimo neveikė (82).

2 lentelė. Ericaceae ir Rosaceae rūšių vaistinių augalų sausų ekstraktų poveikis mikroorganizmams

	Mikroorganizmai			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Candida albicans</i>
	Slopinimo zona, mm			
	100 mg/ml	200 mg/ml	100 mg/ml	400 mg/ml
Rosaceae šeimos atstovai				
Žąsinė sidabražolė <i>Potentilla anserina</i>	13,0±0	16,0±0,3	10,0±0	0
Vaistinė dirvuolė <i>Agrimonia eupatoria</i>	12,0±0,3	13,0±0,3	8,0±0,5	0
Paprastoji žemuogė <i>Fragaria vesca</i>	11,0±0,3	16,8±0	10,0±0,3	0
Paprastoji rasakila <i>Alchemilla vulgaris</i>	10,0±0,3	17,0±0,3	8,0±0,3	0
Ericaceae šeimos atstovai				
Šilinis viržis <i>Calluna vulgaris</i>	14,0±0,5	10,8±0	10,8±0	0
Miltinė meškauogė <i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	19,0±0,3	21,0±0,5	14,0±0,5	0
Bruknė <i>Vaccinium vitis-idaea</i>	18,0±0,5	11,0±0,5	10,0±0,3	0
Mėlynė <i>Vaccinium myrtillus</i>	9,0±0,5	10,8±0	8,0±0,3	0
Juodoji varnauogė <i>Empetrum nigrum</i>	14,0±0	15,8±0	10,0±0,3	14,0±0,5
Pelkinis gailis <i>Rhododendron tomentosum</i>	13,0±0,3	12,0±0	11,8±0	12,0 ± 0,5
Siauralapė balžuva <i>Andromeda polifolia</i>	11,8±0	11,0±0,3	10,0±0	0
Vankomicinas	11,0±0,5	–	21,0±0,3	–
Trimetoprimo-sulfametoksazolas	–	31,0±0	–	–
Flukonazolas	–	–	–	20,0±0
Metanolis	0	0	0	0

3.6 Sausų augalų ekstraktų antimikrobinis poveikis mikroorganizmams terpės mikropaskiedimo metodu

Tyrimas atskleidė, kad visų tirtų erikinių ir erškėtinių šeimos vaistinių augalų lapų sausi metanoliniai ekstraktai slopino *S. aureus* ir *M. catarrhalis* bakterijų augimą (ekstraktų koncentracijos – 100 mg/ml ir 200 mg/ml), *S. mitis* bakterijos augimo neveikė tik miltinės meškauogės sausas metanolinis ekstraktas (ekstrakto koncentracija 100 mg/ml). Tuo tarpu *C. albicans* mielės augimo visiškai neveikė žąsinės sidabražolės, vaistinės dirvuolės, paprastosios žemuogės, paprastosios rasakilos, šilinio viržio, bruknės, mėlynės, miltinės meškauogės ir siauralapės balžuvos sausieji metanoliniai ekstraktai (ekstrakto koncentracija – 400 mg/ml) (3, 4, 5, 6 lentelės, 29 pav). Atliktas tyrimas parodė, kad metanolis (neigiama kontrolė) neturėjo jokio poveikio tirtų mikroorganizmų augimui, o antibiotikai vankomicinas, flukonazolas, trimetoprimo-sulfametoksazolas (teigiama kontrolė) – turėjo poveikį (3, 4, 5, 6 lentelės).



29 pav. Sausų ekstraktų poveikis *Candida albicans* augimui (5 – šilinis viržis, 6 – miltinė meškauogė, 7 – bruknė, 8 – mėlynė, K^m - neigiama kontrolė, K⁺ - teigiama kontrolė)

Sausų ekstraktų poveikis *Candida albicans* augimui

3.6.1 Ericaceae ir Rocaceae rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis *Staphylococcus aureus*

Žąsinės sidabražolės, vaistinės dirvuolės, paprastosios žemuogės, paprastosios rasakilos, šilinio viržio, bruknės, mėlynės, miltinės meškauogės, pelkinio gailio, juodosios varnaugės ir siauralapės balžuvos sausų metanolinių ekstraktų antimikrobinio poveikio rezultatai *S. aureus* pateikti 3 lentelėje. Gautos minimalios inhibuojančios koncentracijos (MIK) reikšmės svyravo nuo 6,1 µg/ml iki 97,66 µg/ml. Rezultatai parodė, kad *S. aureus* yra jautresnis

Ericaceae šeimos augalams. Duomenys, gauti taikant terpės mikropraskiedimo metodą, atskleidė reikšmingą žąsinės sidabražolės, miltinės meškaugės, juodosios varnaugės ir siauralapės balžuvos sausų ekstraktų antimikrobinį aktyvumą prieš *S. aureus*, kai buvo naudojama 100 µg/ml koncentracija. Minimalios baktericidinės koncentracijos (MBK) svyravo nuo 6,1 µg/ml iki 244,15 µg/ml. MKB tyrimas atskleidė, kad bruknės ir juodosios varnaugės sausasis ekstraktas turi 40 kartų stipresnį antibakterinį poveikį nei mėlynės sausasis ekstraktas. Atliekant Kirby-Bauer agaro difuzijos metodą stipriausiu antibakteriniu poveikiu pasižymėjo miltinės meškaugės ir bruknės sausieji ekstraktai, silpniausiu – mėlynės ir paprastosios rasakilos ekstraktai, kai tuo tarpu tyrimą atliekant mikropraskiedimo metodu stipriausiu baktericidiniu poveikiu pasižymėjo miltinės meškaugės, žąsinės sidabražolės, juodosios varnaugės ir siauralapės balžuvos ekstraktai (MIK 6,1 µg/ml), silpniausiu – mėlynės ir paprastosios rasakilos sausieji ekstraktai (MIK 97,66 µg/ml) (2, 3 lentelės).

2010 m. rugpjūčio mėnesį miške netoli Lodzės (Vidurio Lenkijoje) buvo surinkti mėlynės lapai ir vėliau ekstrahuoti acetonu-vandeniu (70:30, v/v). Vertinant minimalią slopinimo koncentraciją buvo naudota etaloninė *S. aureus* ATCC 29213 padermė ir klinikinė *S. aureus* H9 padermė. Mėlynės lapų ekstraktas pasižymėjo stipriu antistafilokokiniu aktyvumu, kurio MIK rezultatai – 750 µg/ml ir 1500 µg/ml (atitinkamai *S. aureus* ATCC 29213 ir *S. aureus* H9). Tirtame mėlynės ekstrakto buvo įvairių fenolinių darinių ir kitų atliekų, tačiau gautos MIK/MBK reikšmės, lygios 750 µg/ml laikomos labai perspektyviomis (73).

3 lentelė. Ericaceae ir Rosaceae rūšių vaistinių augalų sausų ekstraktų antimikrobinis poveikis *S. aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213		
	MIK (µg/ml)	MBK (µg/ml)
	100 mg/ml	
Rosaceae šeimos atstovai		
Žąsinė sidabražolė <i>Potentilla anserina</i>	6,1	24,41
Vaistinė dirvuolė <i>Agrimonia eupatoria</i>	24,41	24,41
Paprastoji žemuogė <i>Fragaria vesca</i>	24,41	97,66
Paprastoji rasakila <i>Alchemilla vulgaris</i>	97,66	97,66
Ericaceae šeimos atstovai		
Šilinis viržis <i>Calluna vulgaris</i>	24,41	24,41
Miltinė meškaugė <i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	6,1	6,1
Bruknė	24,41	24,41

<i>Vaccinium vitis-idaea</i>		
Mėlynė <i>Vaccinium myrtillus</i>	97,66	244,15
Juodoji varnauogė <i>Empetrum nigrum</i>	6,1	61,03
Pelkinis gailis <i>Rhododendron tomentosum</i>	24,41	24,41
Siauralapė balžuva <i>Andromeda polifolia</i>	6,1	24,41
Vankomicinas	500	–

3.6.2 Ericaceae ir Rosaceae rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis

Moraxella catarrhalis

Ericaceae ir Rosaceae šeimų augalų lapų metanolinių ekstraktų antibakterinio poveikio *M. catarrhalis* rezultatai pateikti 4 lentelėje. Stipriausiu antibakteriniu poveikiu pasižymėjo paprastosios žemuogės ir miltinės meškauogės sausieji ekstraktai (MIK 0,76 µg/ml), silpniausiu – vaistinės dirvuolės ir paprastosios rasakilos ekstraktai (MIK 12,21 µg/ml). Jokio antimikrobinio poveikio *M. catarrhalis* neturėjo siauralapės balžuvos ekstraktas, tačiau jam buvo nustatyta minimali baktericidinė koncentracija 3,05 µg/ml. Miltinės meškauogės ekstraktas turėjo stiprų baktericidinį poveikį prieš *M. catarrhalis*. Remiantis visų tirtų erškėtinių ir erikinių šeimos augalų rezultatais, šilinio viržio ir bruknės ekstraktai pasižymėjo mažiausiu antibakteriniu poveikiu, kurių MBK reikšmės atitinkamai buvo 122,07 µg/ml ir 195,31 µg/ml), o žašinės sidabražolės, miltinės meškauogės ir paprastosios žemuogės – didžiausiu (0,76 µg/ml). Atliekant tyrimą tiek terpės mikropaskiedimo metodu, tiek Kirby-Bauer agarų difuzijos metodu stipriausiu antimikrobinio poveikiu pasižymėjo miltinės meškauogės ekstraktai (2, 4 lentelės).

Duomenų apie antimikrobinį poveikį *M. catarrhalis* Rosaceae ir Ericaceae mūšų tirtų rūšių vaistinių augalų ekstraktams nėra. L. Apaza Ticona ir kt. (2022) tyrė vandeninio *Gnaphalium polycaulon* (Asteraceae šeimos atstovo) ekstrakto antibakterinį poveikį. Rezultatai parodė, kad *M. catarrhalis* minimali slopinanti koncentracija (MIK) buvo 0.017–0.021 µM, tuo tarpu teigiamos kontrolės, ofloksacino, MIK reikšmė buvo 27,64–27,67 µM (84).

4 lentelė. Ericaceae ir Rosaceae rūšių vaistinių augalų sausų ekstraktų antimikrobinis poveikis *M. catarrhalis*

<i>Moraxella catarrhalis</i> ATCC 7104		
	MIK (µg/ml)	MBK (µg/ml)
	200 mg/ml	
Rosaceae šeimos atstovai		
Žąsinė sidabražolė <i>Potentilla anserina</i>	3,05	0,76
Vaistinė dirvuolė <i>Agrimonia eupatoria</i>	12,21	12,21
Paprastoji žemuogė <i>Fragaria vesca</i>	0,76	0,76
Paprastoji rasakila <i>Alchemilla vulgaris</i>	12,21	12,21
Ericaceae šeimos atstovai		
Šilinis viržis <i>Calluna vulgaris</i>	3,05	122,07
Miltinė meškauogė <i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	0,76	0,76
Bruknė <i>Vaccinium vitis-idaea</i>	3,05	195,31
Mėlynė <i>Vaccinium myrtillus</i>	3,05	3,05
Juodoji varnauogė <i>Empetrum nigrum</i>	3,05	3,05
Pelkinis gailis <i>Rhododendron tomentosum</i>	3,05	103,76
Siauralapė balžuva <i>Andromeda polifolia</i>	–	3,05
Trimetoprimsulfametoksazolas	94	–

3.6.3 Ericaceae ir Rosaceae rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis *Streptococcus mitis*

Tirtų Ericaceae ir Rosaceae rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų antimikrobinis aktyvumas *S. mitis* rezultatai pateikti 5 lentelėje. Tyrimo rezultatas atskleidė, kad augalų sausieji ekstraktai (ekstraktų koncentracija 100 mg/ml) pasižymi skirtingu antimikrobinio aktyvumu prieš *S. mitis* (MIK reikšmės svyravo nuo 1,53 µg/ml iki 97,66 µg/ml, MBK reikšmės nuo 61,1 µg/ml iki 6250 µg/ml). Stipriausią antibakterinį poveikį prieš *S. mitis* parodė žąsinės sidabražolės, paprastosios žemuogės ir paprastosios rasakilos sausieji ekstraktai (MIK 1,53 µg/ml), kai tuo tarpu šių ekstraktų MBK buvo maži (atitinkamai 1562,5 µg/ml, 390,63 µg/ml ir

6250,0 µg/ml). Silpniausiu antimikrobinu poveikiu pasižymėjo šilinio viržio ir mėlynės metanoliniai ekstraktai, kurių MIK reikšmės buvo 97,66 µg/ml, o MBK – 1562,5 µg/ml. Miltinės meškauogės sausasis ekstraktas neturėjo jokio poveikio *S. mitis*.

Miltinės meškauogės, rinktos Indijoje, lapų ekstrakto antimikrobinį poveikį yra tyrę Čenajaus mokslininkai, kurie nustatė, kad miltinės meškauogės etanolinio lapų ekstrakto minimali baktericidinė koncentracija prieš *S. mitis* yra 5 mg/ml (85).

5 lentelė. Ericaceae ir Rosaceae rūšių vaistinių augalų sausų ekstraktų antimikrobinis poveikis *S. mitis*

<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 6249		
	MIK (µg/ml)	MBK (µg/ml)
	100 mg/ml	
Rosaceae šeimos atstovai		
Žašinė sidabražolė <i>Potentilla anserina</i>	1,53	1562,5
Vaistinė dirvuolė <i>Agrimonia eupatoria</i>	6,1	97,66
Paprastoji žemuogė <i>Fragaria vesca</i>	1,53	390,63
Paprastoji rasakila <i>Alchemilla vulgaris</i>	1,53	6250,0
Ericaceae šeimos atstovai		
Šilinis viržis <i>Calluna vulgaris</i>	97,66	1562,5
Miltinė meškauogė <i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	–	–
Bruknė <i>Vaccinium vitis-idaea</i>	24,41	6250
Mėlynė <i>Vaccinium myrtillus</i>	97,66	1562,5
Juodoji varnauogė <i>Empetrum nigrum</i>	61,1	61,1
Pelkinis gailis <i>Rhododendron tomentosum</i>	24,41	1562,5
Siauralapė balžuva <i>Andromeda polifolia</i>	6,1	1562,5
Vankomicinas	190	–

3.6.4 Ericaceae ir Rosaceae rūšių augalų lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis

Candida albicans

Kaip rodo duomenys pateikti 6 lentelėje, mūsų tirti Rosaceae šeimos augalų sausi ekstraktai neturėjo jokio poveikio *C. albicans* grybui, o iš Ericaceae šeimos augalų antimikrobinį poveikį turėjo tik juodosios varnauogės ir pelkinio gailio sausi metanoliniai ekstraktai (ekstraktų koncentracija 400 mg/ml). Stipresniu antimikrobinium poveikiu pasižymėjo juodosios varnauogės sausasis ekstraktas, kuris buvo 16 kartų stipresnis nei pelkinio gailio sausasis ekstraktas (atitinkamai MIK 24,41 µg/ml ir 390,63 µg/ml bei MFK 97,66 µg/ml ir 625 µg/ml). Lyginant atliktus tyrimus terpės mikroskiedimo metodu ir Kirby-Bauer agarų difuzijos metodu galima matyti, kad rezultatai yra vienodi – antimikrobinį poveikį *C. albicans* mikroorganizmui turėjo tik juodosios varnauogės ir pelkinio gailio lapų sausieji metanoliniai ekstraktai (2, 6 lentelės).

Bianca-Eugenia Ștefănescu ir kt. (2020) tyrė paprastosios bruknės ir mėlynės lapų, rinktų trijose skirtingose vietose (Smida, Borsa, Turda), 40 % (v/v) etanolinių ekstraktų antimikrobinį poveikį prieš *Candida albicans*. Tyrimo rezultatai atskleidė, kad tiek paprastosios bruknės, tiek mėlynės visų rūšių ekstraktai *C. albicans* neturėjo jokio poveikio, (MIK 125 mg/ml ir MFK 25 mg/ml), lyginant su kontroliniu flukonazolu (MIK 15,62 mg/ml ir MFK 31,25 mg/ml) (83). Literatūroje taip pat nurodoma, kad žemuogės ekstraktai yra veiksmingi prieš bakterijas, pavyzdžiui, *E. coli* (kiekiai svyruoja nuo 0,8 iki 7 ml arba 15 µL praskiesto ekstrakto steriliame distiliuotame vandenyje (0,1 m/V)), bet visiškai neveikia grybelių, pavyzdžiui, *C. albicans* (82).

6 lentelė. Ericaceae ir Rosaceae rūšių vaistinių augalų sausų ekstraktų antimikrobinis poveikis *C. albicans*

<i>Candida albicans</i> CBS 2730		
	MIK (µg/ml)	MFK (µg/ml)
	400 mg/ml	
Rosaceae šeimos atstovai		
Žąsinė sidabražolė <i>Potentilla anserina</i>	–	–
Vaistinė dirvuolė <i>Agrimonia eupatoria</i>	–	–
Paprastoji žemuogė <i>Fragaria vesca</i>	–	–
Paprastoji rasakila <i>Alchemilla vulgaris</i>	–	–
Ericaceae šeimos atstovai		
Šilinis viržis <i>Calluna vulgaris</i>	–	–
Miltinė meškauogė <i>Arctostaphylos uva-</i>	–	–

<i>ursi</i>		
Bruknė <i>Vaccinium vitis-idaea</i>	–	–
Mėlynė <i>Vaccinium myrtillus</i>	–	–
Juodoji varnauogė <i>Empetrum nigrum</i>	24,41	97,66
Pelkinis gailis <i>Rhododendron tomentosum</i>	390,63	625
Siauralapė balžuva <i>Andromeda polifolia</i>	–	–
Flukonazolas	3000	–

4. IŠVADOS

1. Didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis nustatytas miltinės meškauogės ($72,2 \pm 2,3$ %), mažiausias – paprastosios rasakilos ($16,2 \pm 0,9$ %) lapų sausame metanoliniame ekstrakte. Vidutinis fenolinių junginių kiekis Rosaceae šeimos tirtų rūšių augalų sausuose metanoliniuose ekstraktuose buvo 1,3 karto mažesnis, nei Ericaceae šeimos tirtų rūšių augalų ekstraktuose.

2. Didžiausias bendras taninų kiekis nustatytas pelkinio gailio ($48,4 \pm 1,4$ %), mažiausias – paprastosios rasakilos ($12,2 \pm 1,3$ %) sausame metanoliniame ekstrakte. Vidutinis taninų kiekis Rosaceae šeimos tirtų rūšių augalų sausuose metanoliniuose ekstraktuose buvo 1,2 karto mažesnis, nei Ericaceae šeimos tirtų rūšių augalų ekstraktuose.

3. Tyrimo rezultatai parodė, kad *Candida albicans* grybas buvo atspariausias visų tirtų rūšių vaistinių augalų lapų sausiems metanoliniais ekstraktams lyginant su *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* ir *Streptococcus mitis* bakterijomis. Mažiausią atsparumą augalų sausų metanolinių ekstraktų koncentracijoms turėjo *Staphylococcus aureus* bakterijos.

4. Stipriausiomis antimikrobinėmis savybėmis prieš mikroorganizmus iš tirtų vaistinių augalų pasižymėjo miltinės meškauogės lapų sausasis metanolis ekstraktas, išskyrus *C. albicans* – šio grybo augimui įtakos turėjo tik juodosios varnauogės ir pelkinio gailio sausieji metanoliniai ekstraktai. Stipriausiu antimikrobinio poveikiu prieš *S. aureus* pasižymėjo žąsinės sidabražolės, miltinės meškauogės, siauralapės balžuvos ir juodosios varnauogės ekstraktai, prieš *M. catarrhalis* – paprastosios žemuogės ir miltinės meškauogės ekstraktai, prieš *S. mitis* – žąsinės sidabražolės, paprastosios žemuogės ir paprastosios rasakilos ekstraktai.

5. REKOMENDACIJOS

Rekomenduojama toliau plėtoti tyrimus apie Ericaceae šeimos augalus, jų cheminę sudėtį, siekiant identifikuoti biologiškai aktyvius junginius ir jų kiekius bei siekiant nustatyti suminį fenolinių junginių ir taninų kiekį ne tik augalų lapuose, bet ir kitose jų dalyse. Taip pat tirti iš kitų Ericaceae šeimos augalų atstovų išskirtų taninų ir fenolinių junginių antimikrobinį poveikį mikroorganizmams, sukeliantiems burnos ir viršutinių kvėpavimo takų ligas. Kadangi miltinės meškauogės sausasis metanolinis ekstraktas turėjo stipriausią antimikrobinį poveikį *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* ir *Streptococcus mitis* bakterijoms, o juodosios varnauogės sausasis metanolinis ekstraktas pasižymėjo stipriausiu baktericidiniu poveikiu prieš *Candida albicans*, be to, šių augalų ekstraktuose nustatyti nemaži taninų kiekiai, todėl miltinė meškauogė ir juodoji varnauogė potencialiai gali būti naudojama burnos ligų gydymui ir profilaktikai bei viršutinių kvėpavimo ligų gydymui ir profilaktikai.

Tirti Ericaceae šeimos augalai gali būti potenciali augalinė žaliava kuriant eterinius aliejus ir juos panaudojant terapiniams tikslams – aromaterapijai arba kuriant žolelių inhaliatorius.

Darbo sklaida:

Kavaliauskaitė Aurėja, Raudonienė Vita, Švedienė Jurgita, Ložienė Kristina. Vaistinių augalų, kuriuose kaupiasi rauginės medžiagos, lapų sausų metanolinių ekstraktų poveikis mikroorganizmams. ŽMOGAUS IR GAMTOS SAUGA, 29-oji tarptautinė mokslinė–praktinė konferencija; 2023 m. gegužės 10 d.

6. LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Deo PN, Deshmukh R. Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *J Oral Maxillofac Pathol JOMFP*. 2019 m.;23(1):122–8.
2. Tong Z, Ni L, Ling J. Antibacterial peptide nisin: A potential role in the inhibition of oral pathogenic bacteria. *Peptides*. 2014 m. spalio 1 d.;60:32–40.
3. Nesbitt H, Burke C, Haghi M. Manipulation of the Upper Respiratory Microbiota to Reduce Incidence and Severity of Upper Respiratory Viral Infections: A Literature Review. *Front Microbiol* [Prieiga per internetą]. 2021 m. rugpjūčio 27 d. [žiūrėta 2023 m. gegužės 13 d.];12. Adresas: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.713703/full>
4. Palombo EA. Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity against Oral Bacteria: Potential Application in the Prevention and Treatment of Oral Diseases. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011 m. sausio 12 d.;2011:enep067.
5. Kumpitsch C, Koskinen K, Schöpf V, Moissl-Eichinger C. The microbiome of the upper respiratory tract in health and disease. *BMC Biol*. 2019 m. lapkričio 7 d.;17:87.
6. *Moraxella catarrhalis* - an overview | ScienceDirect Topics [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2023 m. gegužės 13 d.]. Adresas: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/moraxella-catarrhalis>
7. Stan D, Enciu AM, Mateescu AL, Ion AC, Brezeanu AC, Stan D, ir kt. Natural Compounds With Antimicrobial and Antiviral Effect and Nanocarriers Used for Their Transportation. *Front Pharmacol* [Prieiga per internetą]. 2021 m. [žiūrėta 2023 m. kovo 7 d.];12. Adresas: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2021.723233>
8. Waksmundzka-Hajnos M, Sherma J, Kowalska T. *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry*. CRC Press; 2008. 898 p.
9. Patel A, Rasheed A, Reilly I, Pareek Z, Hansen M, Haque Z, ir kt. Modulation of Cytoskeleton, Protein Trafficking, and Signaling Pathways by Metabolites from Cucurbitaceae, Ericaceae, and Rosaceae Plant Families. *Pharmaceuticals*. 2022 m. lapkričio;15(11):1380.
10. Aleksandravičiūtė B, Bagdonaitė A, Butkienė S, et al. *Lietuvos TSR flora IV*. Vilnius: Mokslas; 1971.
11. Butkus V, Galinis V, Jankevičienė R, et al. *Lietuvos TSR flora V*. Vilnius: Mokslas; 1976.

12. Ericaceae - an overview | ScienceDirect Topics [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2023 m. gegužės 13 d.]. Adresas: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/ericaceae>
13. Lekavičius A. Vadovas augalams pažinti. Vilnius: Mokslas; 1989.
14. Judžentienė Asta. Review: Marsh rosemary (*Rhododendron tomentosum* Harmaja (ex *Ledum palustre* Linn) growing in Lithuania) essential oils and their properties. Lietuvos mokslų akademija; 2020.
15. Judzentiene A, Budiene J, Svediene J, Garjonyte R. Toxic, Radical Scavenging, and Antifungal Activity of *Rhododendron tomentosum* H. Essential Oils. *Molecules*. 2020 m. balandžio 5 d.;25(7):1676.
16. Jurikova T, Mlcek J, Skrovankova S, Balla S, Sochor J, Baron M, ir kt. Black Crowberry (*Empetrum nigrum* L.) Flavonoids and Their Health Promoting Activity. *Molecules*. 2016 m. gruodžio 7 d.;21(12):1685.
17. Kaunienė Vilma, Kaunas Egidijus. Vaistingieji augalai. Kaunas: Varpas; 1991. 446 p.
18. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects, Second Edition [Prieiga per internetą]. Routledge & CRC Press. [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. Adresas: <https://www.routledge.com/Herbal-Medicine-Biomolecular-and-Clinical-Aspects-Second-Edition/Benzie-Wachtel-Galor/p/book/9781439807132>
19. European Pharmacopoeia Online [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2023 m. gegužės 10 d.]. Adresas: <https://pheur.edqm.eu/home>
20. Ștefănescu R, Laczkó-Zöld E, Ósz BE, Vari CE. An Updated Systematic Review of *Vaccinium myrtillus* Leaves: Phytochemistry and Pharmacology. *Pharmaceutics*. 2022 m. gruodžio 21 d.;15(1):16.
21. Shamilov AA, Bubenchikova VN, Chernikov MV, Pozdnyakov DI, Garsiya ER, Larsky MV. Bearberry (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.): chemical content and pharmacological activity. *J Excip Food Chem*. 2021 m. rugsėjo 24 d.;12(3):49–66.
22. Bruknė (*Vaccinium*) - VU Botanikos sodas [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. Adresas: <https://www.botanikos-sodas.vu.lt/puslapiai/augal%C5%B3-gentys/brukn%C4%97>

23. Raudone L, Vilkickyte G, Pitkauskaite L, Raudonis R, Vainoriene R, Motiekaityte V. Antioxidant Activities of *Vaccinium vitis-idaea* L. Leaves within Cultivars and Their Phenolic Compounds. *Molecules*. 2019 m. vasario 27 d.;24(5):844.
24. Cucu AA, Baci GM, Cucu AB, Dezsı Ş, Lujerdean C, Hegeduş IC, ir kt. *Calluna vulgaris* as a Valuable Source of Bioactive Compounds: Exploring Its Phytochemical Profile, Biological Activities and Apitherapeutic Potential. *Plants*. 2022 m. sausio;11(15):1993.
25. Rosaceae | Encyclopedia.com [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. Adresas: <https://www.encyclopedia.com/plants-and-animals/botany/botany-general/rosaceae>
26. Vlaisavljević S, Jelača S, Zengin G, Mimica-Dukić N, Berežni S, Miljić M, ir kt. *Alchemilla vulgaris* agg. (Lady's mantle) from central Balkan: antioxidant, anticancer and enzyme inhibition properties. *RSC Adv*. 9(64):37474–83.
27. Krzykowski A, Dziki D, Rudy S, Gawlik-Dziki U, Janiszewska-Turak E, Biernacka B. Wild Strawberry *Fragaria vesca* L.: Kinetics of Fruit Drying and Quality Characteristics of the Dried Fruits. *Processes*. 2020 m. spalio;8(10):1265.
28. PALUCH Z, BIRICZOVÁ L, PALLAG G, MARQUES EC, VARGOVÁ N, KMONÍČKOVÁ E. The Therapeutic Effects of *Agrimonia eupatoria* L. *Physiol Res*. 2020 m. gruodžio 1 d.;69(Suppl 4):S555–71.
29. Huzio N, Grytsyk A, Raal A, Grytsyk L, Koshovyi O. Phytochemical and Pharmacological Research in *Agrimonia eupatoria* L. Herb Extract with Anti-Inflammatory and Hepatoprotective Properties. *Plants*. 2022 m. rugsėjo 11 d.;11(18):2371.
30. Žasinė sidabražolė | liaudiesismintispataria.lt [Prieiga per internetą]. 2018 [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. Adresas: <https://www.liaudiesismintispataria.lt/zasine-sidabrazole/>
31. Olennikov DN, Kashchenko NI, Chirikova NK, Kuz'mina SS. Phenolic Profile of *Potentilla anserina* L. (Rosaceae) Herb of Siberian Origin and Development of a Rapid Method for Simultaneous Determination of Major Phenolics in *P. anserina* Pharmaceutical Products by Microcolumn RP-HPLC-UV. *Molecules*. 2014 m. gruodžio 24 d.;20(1):224–48.
32. Mutha RE, Tatiya AU, Surana SJ. Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: an overview. *Future J Pharm Sci*. 2021 m. sausio 20 d.;7(1):25.
33. Alnsour L, Issa R, Awwad S, Albals D, Al-Momani I. Quantification of Total Phenols and Antioxidants in Coffee Samples of Different Origins and Evaluation of the Effect of Degree of Roasting on Their Levels. *Molecules*. 2022 m. vasario 28 d.;27(5):1591.

34. Phenolic Compound - an overview | ScienceDirect Topics [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. Adresas: <https://www.sciencedirect.com/topics/food-science/phenolic-compound>
35. Chemistry Part-II. Alcohols, Phenols and Ethers. 2023.
36. Kaftory M. The Structural Chemistry of Phenols. The Chemistry of Phenols [Prieiga per internetą]. John Wiley & Sons, Ltd; 2003 [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. p. 199–221. Adresas: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/0470857277.ch2>
37. Mamari H. Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis. 2021.
38. Prabhu S, Molath A, Choksi H, Kumar S, Mehra R. Classifications of polyphenols and their potential application in human health and diseases. *Int J Physiol Nutr Phys Educ.* 2021 m. birželio 24 d.;6:293–301.
39. Kumar N, Goel N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnol Rep.* 2019 m. rugpjūčio 20 d.;24:e00370.
40. Phenolic Acids - an overview | ScienceDirect Topics [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. Adresas: <https://www.sciencedirect.com/topics/food-science/phenolic-acids>
41. Dai J, Mumper RJ. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules.* 2010 m. spalio 21 d.;15(10):7313–52.
42. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci.* 2016 m. gruodžio 29 d.;5:e47.
43. Kiokias S, Proestos C, Oreopoulou V. Phenolic Acids of Plant Origin—A Review on Their Antioxidant Activity In Vitro (O/W Emulsion Systems) Along with Their in Vivo Health Biochemical Properties. *Foods.* 2020 m. balandžio;9(4):534.
44. Küpeli Akkol E, Genç Y, Karpuz B, Sobarzo-Sánchez E, Capasso R. Coumarins and Coumarin-Related Compounds in Pharmacotherapy of Cancer. *Cancers.* 2020 m. liepos 19 d.;12(7):1959.
45. Sharifi-Rad J, Cruz-Martins N, López-Jornet P, Lopez EPF, Harun N, Yeskaliyeva B, ir kt. Natural Coumarins: Exploring the Pharmacological Complexity and Underlying Molecular Mechanisms. *Oxid Med Cell Longev.* 2021 m. rugpjūčio 23 d.;2021:6492346.

46. Tungmunnithum D, Thongboonyou A, Pholboon A, Yangsabai A. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. *Medicines*. 2018 m. rugsējo;5(3):93.
47. Abubakar Y, Tijjani H, Egbuna C, Adetunji CO, Kala S, Kryeziu TL, ir kt. Chapter 3 - Pesticides, History, and Classification. Egbuna C, Sawicka B, sudarytojai. *Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control* [Prieiga per internetą]. Academic Press; 2020 [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. p. 29–42. Adresas: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128193044000038>
48. Szczurek A. Perspectives on Tannins. *Biomolecules*. 2021 m. kovo 16 d.;11(3):442.
49. Farooq U, Shafi A, Akram K, Hayat Z. Chapter 1 - Fruits and nutritional security. Srivastava AK, Hu C, sudarytojai. *Fruit Crops* [Prieiga per internetą]. Elsevier; 2020 [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. p. 1–12. Adresas: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128187326000010>
50. Falcão L, Araújo ME. Tannins Characterisation in New and Historic Vegetable Tanned Leather Fibres by Spot Tests. *J Cult Herit*. 2011 m. balandžio 1 d.;12:149–56.
51. Koopmann AK, Schuster C, Torres-Rodríguez J, Kain S, Pertl-Obermeyer H, Petutschnigg A, ir kt. Tannin-Based Hybrid Materials and Their Applications: A Review. *Molecules*. 2020 m. sausio;25(21):4910.
52. Fig. 1 Main chemical structures of the tannins [Prieiga per internetą]. ResearchGate. [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. Adresas: https://www.researchgate.net/figure/Main-chemical-structures-of-the-tannins_fig4_6305611
53. Hydrolysable Tannin - an overview | ScienceDirect Topics [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. Adresas: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/hydrolysable-tannin>
54. Ellagitannin - an overview | ScienceDirect Topics [Prieiga per internetą]. [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. Adresas: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/ellagitannin>
55. Evans WC, Evans D, Trease GE. *Trease and Evans pharmacognosy*. 16th ed. Edinburgh ; New York: Saunders/Elsevier; 2009. 603 p.
56. Pizzi A. Tannins medical / pharmacological and related applications: A critical review. *Sustain Chem Pharm*. 2021 m. rugsējo 1 d.;22:100481.

57. Ghosh D. Tannins from Foods to Combat Diseases. *Int J Pharma Res Rev*. 2015 m. balandžio 17 d.;
58. Maugeri A, Lombardo GE, Cirimi S, Süntar I, Barreca D, Laganà G, ir kt. Pharmacology and toxicology of tannins. *Arch Toxicol*. 2022 m. gegužės 1 d.;96(5):1257–77.
59. Jing W, Xiaolan C, Yu C, Feng Q, Haifeng Y. Pharmacological effects and mechanisms of tannic acid. *Biomed Pharmacother*. 2022 m. spalio 1 d.;154:113561.
60. Gulati M, Nobile CJ. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes Infect Inst Pasteur*. 2016 m. gegužės;18(5):310–21.
61. Bergamo AZN, Matsumoto MAN, Nascimento CD, Andrucioi MCD, Romano FL, Silva RAB, ir kt. Microbial species associated with dental caries found in saliva and in situ after use of self-ligating and conventional brackets. *J Appl Oral Sci*. 2019 m.;27:e20180426.
62. Muzio LL, Ballini A, Cantore S, Bottalico L, Charitos IA, Ambrosino M, ir kt. Overview of *Candida albicans* and Human Papillomavirus (HPV) Infection Agents and their Biomolecular Mechanisms in Promoting Oral Cancer in Pediatric Patients. *BioMed Res Int*. 2021 m. lapkričio 2 d.;2021:7312611.
63. Santacroce L, Charitos IA, Ballini A, Inchingolo F, Luperto P, De Nitto E, ir kt. The Human Respiratory System and its Microbiome at a Glimpse. *Biology*. 2020 m. spalio 1 d.;9(10):318.
64. Zhou X, Li Y, sudarytojai. Chapter 5 - Oral Mucosal Microbes. *Atlas of Oral Microbiology* [Prieiga per internetą]. Oxford: Academic Press; 2015 [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. p. 95–107. Adresas: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128022344000057>
65. Emery DC, Cerajewska TL, Seong J, Davies M, Paterson A, Allen-Birt SJ, ir kt. Comparison of Blood Bacterial Communities in Periodontal Health and Periodontal Disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 m. sausio 5 d.;10:577485.
66. Watkins KE, Unnikrishnan M. Chapter Three - Evasion of host defenses by intracellular *Staphylococcus aureus*. Gadd GM, Sariaslani S, sudarytojai. *Advances in Applied Microbiology* [Prieiga per internetą]. Academic Press; 2020 [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.]. p. 105–41. Adresas: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065216420300198>
67. Garbacz K, Jarzembowski T, Kwapisz E, Daca A, Witkowski J. Do the oral *Staphylococcus aureus* strains from denture wearers have a greater pathogenicity potential? *J Oral Microbiol*. 2019 m. sausio 1 d.;11(1):1536193.

68. Passariello C, Lucchese A, Virga A, Pera F, Gigola P. Isolation of *Staphylococcus Aureus* and Progression of Periodontal Lesions in Aggressive Periodontitis. *Eur J Inflamm*. 2012 m. rugsējo;10(3):501–13.
69. Mulcahy ME, McLoughlin RM. *Staphylococcus aureus* and Influenza A Virus: Partners in Coinfection. *mBio*. 2016 m. gruodžio 13 d.;7(6):e02068-16.
70. Villanueva X, Zhen L, Ares JN, Vackier T, Lange H, Crestini C, ir kt. Effect of chemical modifications of tannins on their antimicrobial and antibiofilm effect against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Front Microbiol* [Prieiga per internetą]. 2023 m. [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.];13. Adresas: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.987164>
71. FAO/IAEA Working Document. Quantification of Tannins in Tree Foliage. VIENNA; 2000.
72. Sugier P, Sęczyk Ł, Sugier D. Variation in Population and Solvents as Factors Determining the Chemical Composition and Antioxidant Potential of *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. Leaf Extracts. *Molecules*. 2022 m. kovo 30 d.;27(7):2247.
73. Sadowska B, Paszkiewicz M, Podśędek A, Redzynia M, Różalska B. *Vaccinium myrtillus* leaves and *Frangula alnus* bark derived extracts as potential antistaphylococcal agents. *Acta Biochim Pol* [Prieiga per internetą]. 2014 m. kovo 20 d. [žiūrėta 2023 m. gegužės 14 d.];61(1). Adresas: <https://ojs.ptbioch.edu.pl/index.php/abp/article/view/1939>
74. Brasanac-Vukanovic S, Mutic J, Stankovic DM, Arsic I, Blagojevic N, Vukasinovic-Pesic V, ir kt. Wild Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L., Ericaceae) from Montenegro as a Source of Antioxidants for Use in the Production of Nutraceuticals. *Mol J Synth Chem Nat Prod Chem*. 2018 m. liepos 26 d.;23(8):1864.
75. Chepel V, Lisun V, Skrypnik L. Changes in the Content of Some Groups of Phenolic Compounds and Biological Activity of Extracts of Various Parts of Heather (*Calluna vulgaris* (L.) Hull) at Different Growth Stages. *Plants*. 2020 m. rugpjūčio;9(8):926.
76. Tomczyk M, Pleszczyńska M, Wiater A. Variation in Total Polyphenolics Contents of Aerial Parts of *Potentilla* Species and Their Anticariogenic Activity. *Molecules*. 2010 m. birželio 29 d.;15(7):4639–51.
77. Muruzović MŽ, Mladenović KG, Stefanović OD, Vasić SM, Čomić LR. Extracts of *Agrimonia eupatoria* L. as sources of biologically active compounds and evaluation of their antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm activities. *J Food Drug Anal*. 24(3):539–47.

78. Peñarrieta M, Alvarado J, Bergenståhl B, Akesson B. Total Antioxidant Capacity and Content of Phenolic Compounds in Wild Strawberries (*Fragaria vesca*) Collected in Bolivia. *Int J Fruit Sci.* 2009 m. gruodžio 10 d.;9.
79. Suvanto J, Nohynek L, Seppänen-Laakso T, Rischer H, Salminen JP, Puupponen-Pimiä R. Variability in the production of tannins and other polyphenols in cell cultures of 12 Nordic plant species. *Planta.* 2017 m.;246(2):227–41.
80. Song XC, Canellas E, Dreolin N, Nerin C, Goshawk J. Discovery and Characterization of Phenolic Compounds in Bearberry (*Arctostaphylos uva-ursi*) Leaves Using Liquid Chromatography–Ion Mobility–High-Resolution Mass Spectrometry. *J Agric Food Chem.* 2021 m. rugsėjo 22 d.;69(37):10856–68.
81. Boroja T, Mihailovic V, Katanić Stanković J, Pan SP, Nikles S, Imbimbo P, ir kt. The biological activities of roots and aerial parts of *Alchemilla vulgaris* L. *South Afr J Bot.* 2018 m. balandžio 14 d.;116.
82. Georgescu C, Frum A, Virchea LI, Sumacheva A, Shamtsyan M, Gligor FG, ir kt. Geographic Variability of Berry Phytochemicals with Antioxidant and Antimicrobial Properties. *Molecules.* 2022 m. sausio;27(15):4986.
83. Ştefănescu BE, Călinoiu LF, Ranga F, Fetea F, Mocan A, Vodnar DC, ir kt. Chemical Composition and Biological Activities of the Nord-West Romanian Wild Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) Leaves. *Antioxidants.* 2020 m. birželio 5 d.;9(6):495.
84. Apaza Ticona L, Puerto Madorrán MJ, Hervás Povo B, Ortega Domenech M, Rumero Sánchez A. Isolation and characterisation of antibacterial and anti-inflammatory compounds from *Gnaphalium polycaulon*. *J Ethnopharmacol.* 2022 m. sausio 10 d.;282:114661.
85. Lakshmi T, Aravind K, Arun A. V. INVITRO ANTIBACTERIAL SCREENING OF ARCTOSTAPHYLOS UVA URSI LEAF EXTRACT ON SELECTED ORAL PLAQUE FORMING MICROORGANISMS. *International Journal of Current Research;* 2012.