



**VILNIAUS UNIVERSITETAS
MEDICINOS FAKULTETAS**

Farmacija

Biomedicinos mokslų instituto Farmacijos ir farmakologijos centras

Kevin Švedko, 5 kursas, 3 grupė

*VIENTISŲJŲ STUDIJŲ MAGISTRO
BAIGIAMASIS DARBAS*

**Kietos farmacinės formos su fisetinu gamyba ir antioksidacinių savybių
įvertinimas**

**Manufacturing of Solid Pharmaceutical Forms with Fisetin and
Evaluation of Antioxidant**

Darbo vadovė asist. dr. Rasa Kalėdaitė

Centro vadovė doc. dr. Kristina Garuolienė

Vilnius, 2026

Studento elektroninio pašto adresas:

kevin.svedko@mf.stud.vu.lt

TURINYS

SANTRUMPOS	4
SANTRAUKA.....	5
SUMMARY.....	7
ĮVADAS	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA	10
1.1. Fisetinas ir jo panaudojimas tradicinėje ir šiuolaikinėje medicinoje.....	10
1.1.1. Fisetino ypatybės ir paplitimas	10
1.1.2. Žaliava ir jos gavimas.....	11
1.1.3. Struktūriniai panašumai su kitais flavonoliais	12
1.2. Farmakologinės ir terapinės fisetino savybės	13
1.2.1. Antioksidacinės savybės.....	13
1.2.2. Priešuždegiminės savybės	14
1.2.3. Priešvėžinės savybės.....	14
1.2.4. Antimikrobinės savybės	15
1.2.5. Senolitinės savybės.....	16
1.2.6. Antidiabetinės savybės	17
1.3. Kitos potencialios farmakologinės savybės.....	18
1.3.1. Neuroprotekcinės savybės	18
1.3.2. Antiosteoporozinės savybės	18
1.4. Maisto papildų, maisto produktų su fisetinu apžvalga Lietuvos vaistinėse	19
1.5. Farmacinės fisetino formos ir jų reikšmė	20
1.5.1. Tablečių ir kapsulių privalumai ir trūkumai	20
1.6. Kapsulės ir jų tipai	21
1.7. Antioksidaciniai fisetino tyrimai	22
1.8. Nauda sveikatai ir ilgaamžiškumas	24
1.9. Fisetino nauda ilgaamžiškumo kontekste	25
1.9.1. Antioksidacinės savybės kaip ilgaamžiškumą skatinantys veiksniai ir panaudojimas prevencinėje ir personalizuotoje medicinoje	25
2. TYRIMO METODIKA IR METODAI.....	28

2.1. Tyrime naudotos medžiagos	28
2.2. Tyrimo priemonės.....	28
2.3. Fisetino ekstrakto, MKC 102 ir fisetino granulių birumo nustatymas	29
2.4. Granulių mišinio paruošimas.....	29
2.5. Drėkinamųjų skysčių paruošimas	29
2.6. Granulių gamyba drėgnos granuliacijos būdu	30
2.7. Granulių frakcinės sudėties nustatymas	30
2.8. Kapsuliavimas	31
2.9. Tablečių gamyba tiesioginio tabletavimo būdu.....	32
2.10. Masės vienodumo nustatymas	33
2.11. Kapsulių ir tablečių suirimo nustatymas	34
2.12. Nedengtų tablečių dilumo nustatymas.....	35
2.13. Suminio fenolinių junginių kiekio nustatymas Folin-Ciocalteu reagentu.....	36
2.14. Antioksidacinio aktyvumo įvertinimas DPPH radikalų surišimo metodu.....	37
2.15. Statistinė analizė	38
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS.....	39
3.1. Fisetino sausojo ekstrakto ir MKC (Avicel® PH 102) birumo vertinimas	39
3.2. Drėgnosios granuliacijos būdu pagamintų granulių serijų įvertinimas	41
3.3. Granulių frakcinės sudėties įvertinimas	42
3.4. Pagamintų kapsulių ir tablečių vidutinės masės įvertinimas	43
3.5. Pagamintų kapsulių ir tablečių suirimo įvertinimas	46
3.6. Tablečių dilumo vertinimas	47
3.7. Suminio fenolinių junginių kiekio nustatymas sausajame fisetino ekstrakto	47
3.8. Antioksidacinio aktyvumo nustatymas DPPH metodu sausajame fisetino ekstrakto.....	49
IŠVADOS.....	52
PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS	53
PADĖKA.....	54
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	55

SANTRUMPOS

Carr indeksas – suspaudžiamumo indeksas

DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas

FE – fisetino ekstraktas

GAE – galo rūgšties ekvivalentai

lent. – lentelė

m/m – medžiagos masės dalis

MKC – mikrokristalinė celiuliozė

nr. – numeris

pav. – paveikslas

Ph. Eur. – Europos farmakopėja

p. – poskyris

ROS – reaktyviosios deguonies formos (angl. *Reactive Oxygen Species*)

TE – trolokso ekvivalentai

TEAC – trolokso ekvivalentinis antioksidacinis pajėgumas

Vf – sutankintasis tūris

Vo – suberiamasis tūris

ρ_f – sutankintasis tankis

ρ_o – suberiamasis tankis

žr. – žiūrėti

SANTRAUKA

Kevin Švedko magistro baigiamasis darbas „Kietos farmacinės formos su fisetinu gamyba ir antioksidacinių savybių įvertinimas“, mokslinio darbo vadovė asistentė dr. Rasa Kalėdaitė; Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, Biomedicinos mokslų institutas (Farmacijos ir farmakologijos centras), Vilnius 2026.

Tyrimo tikslas: Įvertinti fisetino antioksidacines savybes DPPH metodu, pagaminti kietas farmacines formas su fisetinu bei įvertinti ir palyginti kapsulių ir tablečių farmacinių formų kokybines savybes

Darbo uždaviniai:

1. Iširti fisetino fenolinių junginių kiekį Folin – Ciocalteu metodu bei šio junginio antioksidacinį aktyvumą taikant DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo) metodą.
2. Parinkti tinkamas pagalbines medžiagas bei rišiklį granulių su fisetinu gamybai ir pagaminti kietas farmacines formas (tabletes ir kapsules).
3. Įvertinti pagamintų fisetino tablečių ir kapsulių kokybines savybes, nustatant tablečių vidutinę masę, dilumą, suirimo laiką ir kapsulių su fisetinu vidutinę masę bei surimo laiką.

Tyrimo metodai: Remiantis farmakopėjiniais metodais (nustatant Carr indeksą ir Hausner santykį) įvertintas sausojo FE ir pagamintų granulių birumas. Gaminant kapsules ir tabletes pasirinktas užpildas buvo Avicel® PH 102, lubrikantas Aerosil® 200 ir magnio stearatas granulių birumui pagerinti. Granulės gaminamos drėgnosios granuliacijos būdu, naudojant 20 % etanolinį povidono tirpalą kaip drėkinamąjį skystį. Pagamintų granulių sudėtis buvo vertinama analitinio sijojo būdu. Keturios serijos kapsulių su FE (fisetino ekstraktu) buvo pagamintos naudojant kapsulių pildymo mašinėlę ir keturios serijos tablečių su FE buvo pagamintos ekscentrine tabletavimo mašina. Pagamintų kapsulių ir tablečių kokybė įvertinta remiantis Ph. Eur. aprašytais kapsulių bei tablečių masės vienodumo, suirimo ir dilumo metodais. Iširtas sausojo fisetino ekstrakto fenolinių junginių kiekis skirtinguose etanolio tirpaluose Folin-Ciocalteu metodu bei antioksidacinis aktyvumas taikant DPPH metodą.

Tyrimo rezultatai ir išvados: FE ir MKC (Avicel® PH 102) milteliai buvo smulkūs ir pasižymėjo blogu birumu. Drėgnasis granuliavimas, naudojant etanolinį povidono tirpalą, pagerino tabletavimo mišinio birumą. Siauriausias granulių dydžio pasiskirstymas nustatytas ketvirtoje (20 % FE ir 80 % MKC) serijoje, beveik 40 % (38,2 %) granulių buvo 1,4 – 1 mm diametro. Plačiausias granulių dydžių pasiskirstymas buvo pirmoje (50 % FE ir 50 % MKC) ir antroje (60 % FE ir 40 % MKC) granulių serijose. Trečios (70 % FE ir 30 % MKC) ir ketvirtos (80 % FE ir 20 % MKC) pagamintų kapsulių serijos neatitiko Ph. Eur. keliamų reikalavimų, maksimalus masės nuokrypis viršijo 10 %. Trečios kapsulių serijos maksimalus nuokrypis siekia 11,68 %, o ketvirtos serijos 14,55 %. Antros, trečios ir

ketvirtos serijų tablečių masės neatitiko Ph. Eur. keliamų reikalavimų, maksimalus masės nuokrypis viršijo 5 %. Antros tablečių serijos nuokrypis siekia 8,42 %, trečios 9,23 %, o ketvirtos 16,09 %. 1 ir 2 serijų kapsulės ir 1 tablečių serija atitiko masės vienodumo tyrimui keliamus reikalavimus. Apibendrinus visų atliktų tyrimų rezultatus galima teigti, kad visus tirtus kokybės reikalavimus atitiko 1 ir 2 kapsulių serijos bei 1 tablečių serija. Šios serijos atitiko Ph. Eur. keliamus reikalavimus masės vienodumui, suirimui ir mechaniniam atsparumui, todėl gali būti laikomos tinkamiausiomis tolesniam farmacinių formų vystymui. Atlikus fisetino ekstrakto fenolinių junginių kiekio įvertinimą ir antioksidacinį aktyvumą pastebėta, kad didesnis fenolinių junginių kiekis ir didžiausias antioksidacinis aktyvumas nustatytas naudojant 70 % etanolinį tirpalą.

Raktiniai žodžiai: Fisetino sausasis ekstraktas, drėgnoji granuliacija, kapsulės, tabletės, birumas, Folin–Ciocalteu metodas, DPPH metodas.

SUMMARY

Master's thesis of Kevin Švedko's "Manufacturing of Solid Pharmaceutical Forms with Fisetin and Evaluation of Antioxidant". Scientific supervisor assistant Dr. Rasa Kalėdaitė; Vilnius University, Faculty of Medicine, Institute of Biomedical Sciences (Pharmaceutical Centre), Vilnius 2026.

Aim of the study: Evaluate the antioxidant properties of fisetin using the DPPH method, develop solid pharmaceutical forms containing fisetin, assess and compare the quality characteristics of capsule and tablet as solid dosage forms.

Objectives:

1. To determine the content of phenolic compounds in fisetin using the Folin–Ciocalteu method and to evaluate its antioxidant activity using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method.
2. To select suitable excipients and a binder for the production of fisetin-containing granules and to manufacture solid pharmaceutical dosage forms (tablets and capsules).
3. To evaluate quality characteristics of manufactured tablets and capsules with fisetin by determining the average mass, friability, and disintegration time of tablets, as well as the average mass and disintegration time of fisetin capsules.

Methods: Based on pharmacopeial methods (Carr index and Hausner ratio), the flow properties of dry fisetin extract and prepared granules were evaluated. Avicel® PH 102 was used as the main excipient, while Aerosil® 200 and magnesium stearate served as lubricants to improve flowability. Granules were produced by wet granulation using a 20% ethanolic povidone solution, and their composition was assessed by analytical sieving. Four batches of capsules and tablets containing fisetin extract were manufactured using a capsule-filling machine and a single punch tablet press. The quality of the dosage forms was evaluated according to European Pharmacopoeia requirements for uniformity of mass, disintegration, and friability. The phenolic content of the extract was determined in different ethanol solutions using the Folin–Ciocalteu method, and antioxidant activity was assessed by the DPPH method.

Results and conclusions: FE and MKC (Avicel® PH 102) powders were fine and had poor flowability. Wet granulation using an ethanolic solution of povidone improved the flowability of the tableting mixture. The narrowest granule size distribution was found in the fourth (20 % FE and 80 % MKC) series, with almost 40 % (38.2 %) of the granules being 1.4–1 mm in diameter. The widest granule size distribution was found in the first (50 % FE and 50 % MKC) and second (60 % FE and 40 % MKC) granule series. The third (70 % FE and 30 % MKC) and fourth (80 % FE and 20 % MKC) batches of prepared capsules did not comply with the requirements of the European

Pharmacopoeia regarding mass uniformity, as the maximum mass deviation exceeded 10 %. The maximum deviation reached 11.68% for the third batch and 14.55 % for the fourth batch. The second, third, and fourth batches of tablets also did not meet the European Pharmacopoeia requirements regarding mass uniformity, as the maximum mass deviation exceeded 5 %. The deviation was 8.42 % for the second batch, 9.23 % for the third batch, and 16.09 % for the fourth batch. In summary, based on the results of all conducted studies, it can be stated that capsule batches 1 and 2, as well as tablet batch 1, met all the investigated quality requirements. These batches complied with the requirements of the European Pharmacopoeia for mass uniformity, disintegration, and mechanical resistance, and therefore can be considered the most suitable for further development of pharmaceutical forms. Evaluation of the phenolic compound content and antioxidant activity of the fisetin extract revealed that the highest phenolic content and antioxidant activity were obtained using a 70 % ethanolic solution.

Keywords: Dry fisetin extract, wet granulation, capsules, tablets, flowability, Folin–Ciocalteu method, DPPH method.

IVADAS

Augalai nuo senų senovės vaidino svarbų vaidmenį žmogaus gyvenime, dėl juose esančių sveikatai naudingų junginių. Fitojunginiai, kaip rodo daugybė tyrimų, iki šiol kelia didelį susidomėjimą, o polifenolių prieinamumas traukia dėmesį dėl jų teigiamo poveikio žmogaus organizmui (1). Dėl sąveikos su tam tikrais receptoriais flavonoidai lemia teigiamą vaidmenį biologinėse sistemose (2). Teigiamas šių junginių poveikis dažniausiai siejamas su kelių molekulinų mechanizmų moduliavimu. Molekulinė struktūra, ypač hidroksilo grupių buvimas, lemia antioksidacines savybes. Taigi, polifenoliai gali būti naudojami kaip priemonė kovojant su oksidacinio streso sukeliomomis ligomis, pvz., širdies ir kraujagyslių sutrikimais ar onkologiniais susirgimais (1).

Fisetinas yra vienas iš pastaruoju metu didelio susidomėjimo sulaukiančių flavonoidų, natūraliai aptinkamas įvairiuose vaisiuose ir daržovėse (3). Didžiausia jo koncentracija nustatyta braškėse, kur siekia apie 160 µg/g (4). Moksliniai tyrimai rodo, kad fisetinas pasižymi įvairiapusių biologiniu aktyvumu, įskaitant chemoterapinį, antimetastazinį, antioksidacinį ir priešūždegiminį poveikį (3). Taip pat nustatyta, kad ši medžiaga turi neurotrofinių savybių (4). Naujausi eksperimentiniai tyrimai parodė, kad fisetinas veikia kaip priešūždegiminis, antioksidacinis ir priešnavikinis agentas, be to, teigiamai veikia neurologines funkcijas – gerina gyvūnų elgseną, mokymosi gebėjimus ir atmintį (6). Apžvalginiai tyrimai taip pat atskleidė, kad fisetinas geba lengvai prasiskverbti pro ląstelių membranas ir efektyviai apsaugo ląstelės komponentus, tokius kaip DNR ir baltymai, nuo oksidacinės pažeidimo (5).

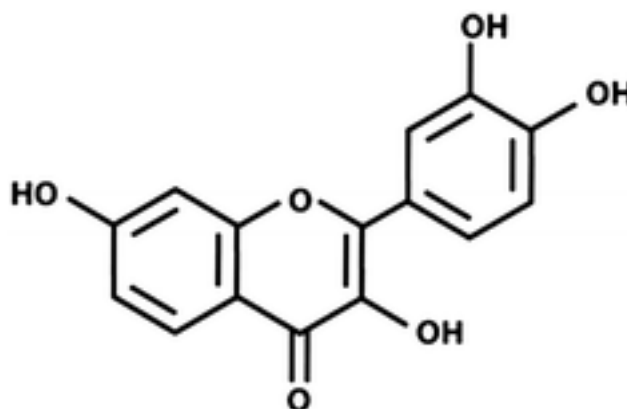
Fisetino nauda organizmui yra didelė, tačiau susiduriama su keletu iššūkių dėl prasto jo tirpumo vandenyje ir mažo biologinio praeinamumo. Vienas iš būdų pagerinti fisetino tirpumą vandenyje - šio flavonoido dalelių smulkinimas (7). Iš miltelių gaminamos kapsulės ar tabletės, kurios yra populiariausios kietosios farmacinės formos dėl savo nesudėtingos gamybos, stabilumo, tikslaus dozavimo bei galimybės modifikuoti atpalaidavimą iš farmacinės formos (7,8).

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Fisetinas ir jo panaudojimas tradicinėje ir šiuolaikinėje medicinoje

1.1.1. Fisetino ypatybės ir paplitimas

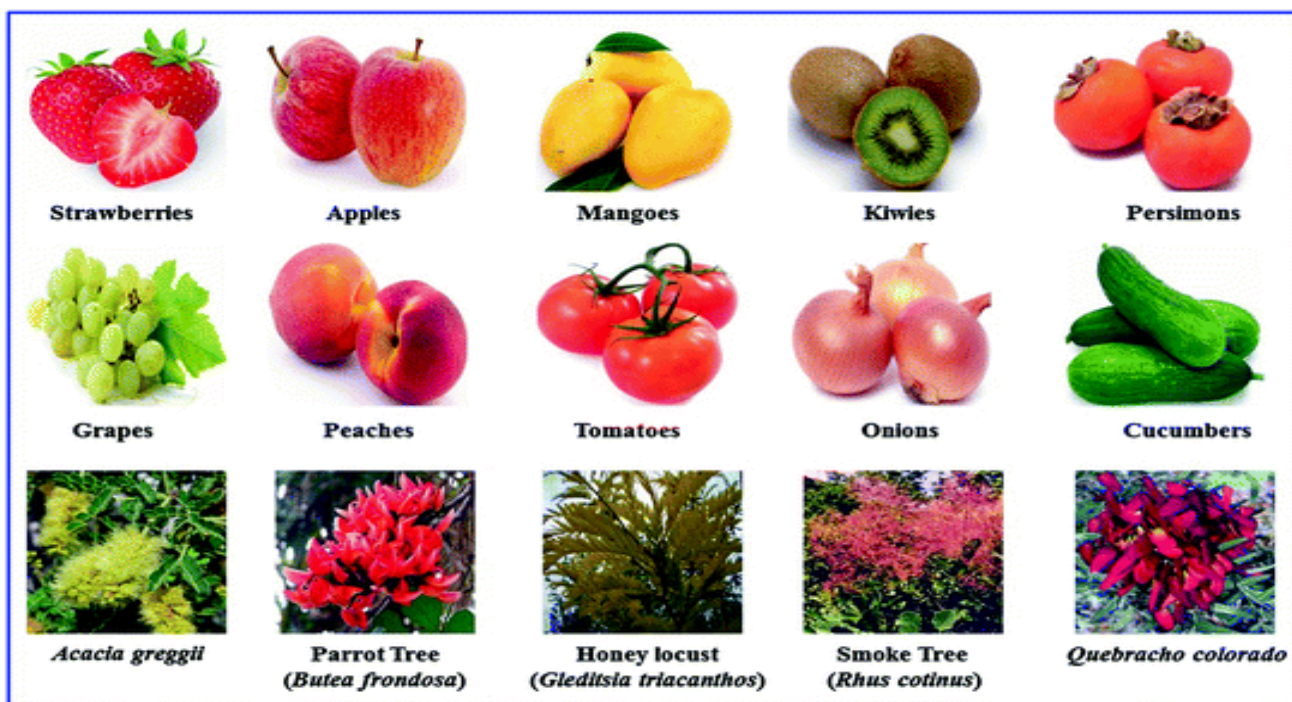
Flavonolis fisetinas tradiciškai apibūdinamas kaip: 2-(3,4-dihidroksifenil)-3,7-dihidroksi-4H-1-benzopiran-4-onas; 3,3',4',7-tetrahidroksiflavonas; arba 5-deoksikvercetas (12). Pirmą kartą jis buvo išskirtas iš pūkenio (arba žagreninio rūgščiojo) (*Rhus cotinus* L.) 1833 m. Cheminė fisetino struktūra pavaizduota 1 paveikslėlyje (1 pav.). Pagrindines junginio chemines charakteristikas keliais dešimtmečiais vėliau pateikė Schmidt (1886 m.), o struktūrą išaiškino ir galiausiai sinteze patvirtino S. Kostanecki. Fisetino molekulinė formulė yra $C_{15}H_{10}O_6$, o molekulinė masė – 286,239 g/mol. Esant 1,688 g/mL tankiui jis lydosi ties 330 °C. Tai rodo jo kristalinę prigimtį (13). Struktūriškai fisetinui būdingi du aromatiniai žiedai, sujungti trijų anglies atomų deguonį turinčiu heterocikliniu žiedu, o struktūrą papildo keturios hidroksilo grupės ir viena okso grupė (11,12).



1 pav. Fisetino struktūra (95)

Fisetinas yra plačiausiai paplitęs biologiškai aktyvus augalinis flavonolis, priklausantis polifenolių – flavonoidų grupei, ir yra sintetinamas antrinio metabolizmo būdu augaluose (9). Jis randamas braškėse, riešutuose ir vyne, taip pat kituose vaisiuose ir daržovėse, įskaitant obuolius, mėlynės, vynuoges, persimonus, kivių, svogūnus, pomidorus ir agurkus (2 pav.). Fisetino gausu įvairiuose akacijų (*Fabaceae* šeimos) medžiuose ir krūmuose, tokiuose kaip *Acacia greggii*, *Acacia berlandieri*, *Gleditsia triacanthos*, taip pat anakardinių (*Anacardiaceae* šeimos) augaluose – papūgmedyje (*Butea frondosa*), medingajame gledičiuje (*Gleditsia triacanthos*). Be to, fisetino galima rasti *Quebracho colorado*, *Rhus cotinus*, lakmedžio (*Rhus verniciflua* Stokes) ekstrakte, dygmedyje (*Cotinus coggygria*), pinoidinių augalų, tokių kaip *Callitropsis nootkatensis* (geltonasis kiparisas), bei kituose medžiuose ir krūmuose. Didžiausias fisetino kiekis nustatytas braškėse (160 µg/g), taip pat obuoliuose ir persimonuose (5,11,12). Fisetinas pasižymi plačiu biologinių funkcijų

spektru, įskaitant antioksidacinį, priešūždegiminį, antimikrobinį, antiosteoporozinį, antidiabetinį, antiangiogeninį, neuroprotektinį ir priešvėžinį poveikį (9-11,13).



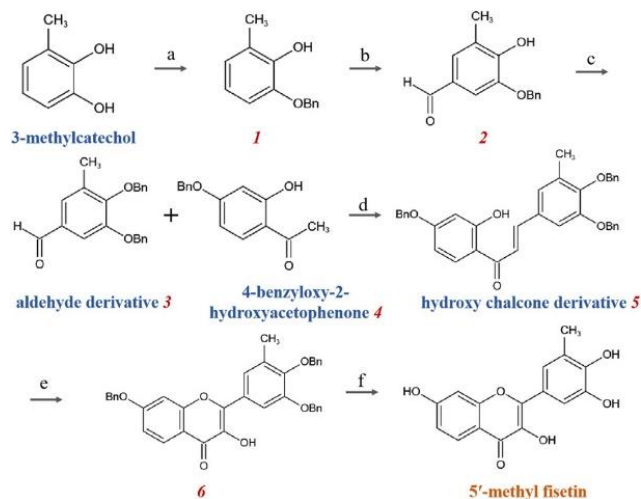
2 pav. Fisetino šaltiniai (94)

1.1.2. Žaliava ir jos gavimas

Pagrindiniai iššūkiai, susiję su flavonoidų gamyba, iš gamtinių išteklių, yra sezoniniai svyravimai, ilgas augimo ciklas ir mažas derlingumas. Ekstrakcijos procesai taip pat gali būti nepraktiški dėl didelių kaštų, produktų eikvojimo ir poveikio aplinkai (14). Žinoma, kad iš 250-330 kilogramų daržovių ar vaisių galima išgauti tik 1 kilogramą flavonoidų. Tai maža išeiga ir kelia susirūpinimą dėl perteklinio resursų eikvojimo (14,15).

Nors išlaidos ir išlieka didelės, tačiau šiandien biotechnologijoje vis dažniau taikomas mikroorganizmų panaudojimas natūralių produktų gamybai, nes tai užtikrina stabilumą, nenutrūkstamą tiekimą ir mažesnę žalą aplinkai (16). Naujausiuose tyrimuose buvo bandyta susintetinti fisetino darinius, turinčius metilo pakaitus, siekiant dar labiau sustiprinti jo biologinį aktyvumą, ypač antioksidacinį poveikį.

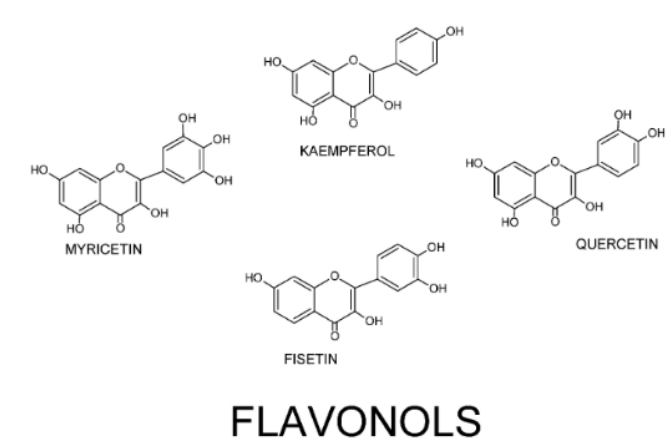
Tarp metilo analogų 5'-metilfisetinas pasižymėjo stipriausiu laisvųjų radikalų šalinimo poveikiu dėl būdingos plokštuminės fisetino struktūros išlaikymo (3 pav.). Atsižvelgiant į tai, kad cheminė sintezė apima toksiškų cheminių medžiagų naudojimą ir atliekų emisiją, fisetino biosintezė gali būti paprastesnė ir ekologiškesnė aplinkai. Todėl fisetino biosintezė pristatoma kaip potencialus šaltinis jo gamybai medicinoje ir maisto papilduose (14).



3 pav. 5'-metilfisetino cheminė sintezė (14)

1.1.3. Struktūriniai panašumai su kitais flavonoliais

Flavonoidai sudaro polifenolinių junginių klasę, kurie yra įprastinės žmogaus mitybos dalis (17). Kvercetas, miricetas, kempferolis ir fisetinas yra pagrindiniai žmogaus mityboje esantys flavonoliai (19) (4 pav.). Visi natūraliai randami flavonoidai turi tris hidroksilo grupes: dvi A žiede 5 ir 7 pozicijose ir vieną B žiede 3 pozicijoje. Įvairios pakaitų padėtys flavonoido molekulėje suteikia jam skirtingas chemines ir fizines savybes, kurios lemia individualų junginio metabolizmą ir biologinį aktyvumą. Chemiškai flavonoliai skiriasi nuo daugelio kitų flavonoidų tuo, kad jie turi dvigubą ryšį tarp 2 ir 3 pozicijų bei deguonį (ketono grupę) 4 pozicijoje C žiede, panašiai kaip flavonai, tačiau nuo jų skiriasi dėl to, kad turi hidroksilo grupę 3 pozicijoje (3-hidroksiflavono karkasas) (18,19). Buvo nustatyta, kad trys struktūrinės grupės yra svarbios flavonoidų biologiniam aktyvumui, įskaitant antioksidacinį ir laisvųjų radikalų šalinimo aktyvumą: o-dihidroksilo grupė B žiede, dvigubas ryšys tarp 2 ir 3 pozicijos, kuris yra susijęs su 4-okso grupe C žiede ir hidroksilo grupės C3 bei C5 pozicijoje. Be to, 3',4'-o-dihidroksilo grupė yra reikšmingo antioksidacinio aktyvumo rodiklis tų flavonoidų, kurie nepriklauso flavonolių poklasiui (18).



4 pav. Skeletinės pagrindinių žmogaus mitybos flavonolių formulės (18)

Dėl plataus biologinio aktyvumo – antioksidacinio, priešuždegiminio, priešvėžinio, antimikrobinio, antiosteoporozinio, antidiabetinio, neuroprotekcinio ir senolitinio poveikių – fisetinas laikomas perspektyviu biologiškai aktyviu junginiu, galinčiu prisidėti prie įvairių ligų prevencijos ir gydymo. Šis flavonoidas pasižymi gebėjimu slopinti oksidacinį stresą, mažinti uždegiminių citokinų gamybą, reguliuoti ląstelių signalinius kelius bei skatinti apoptozę navikinėse ląstelėse. Be to, tyrimai rodo jo potencialą neurodegeneracinių ligų, tokių kaip Alzheimerio ar Parkinsono, profilaktikoje bei senėjimo procesų lėtinime. Vis dėlto fisetino praktinį taikymą farmacijos srityje apsunkina jo cheminis nestabilumas, mažas tirpumas vandenyje ir ribotas biologinis prieinamumas, todėl pastaraisiais metais intensyviai ieškoma inovatyvių pernešimo sistemų, pavyzdžiui, kuriamos chitosano (CS) pagrindu sukurtos nanodalelės (FNPs), siekiant pagerinti jo biologinį prieinamumą ir stabilumą farmacijoje bei užtikrinti efektyvų antiuždegiminį ir antioksidacinį poveikį (5,22).

1.2. Farmakologinės ir terapinės fisetino savybės

1.2.1. Antioksidacinės savybės

Tyrimai rodo, kad fisetinas pasižymi chemopreveciniu, antimetastaziniu, neuroprotekcinu, priešuždegiminiu ir antioksidaciniu poveikiu (3,58). Fisetinas turi potencialų gydomąjį poveikį įvairioms ligoms, įskaitant vėžį, neurologines ligas, diabetą, nutukimą ir širdies bei kraujagyslių ligas (53). Dėl savo pleotropinio farmakologinio poveikio, jis laikomas itin geru chemoterapiniu agentu, pasižyminčiu stipriu priešvėžiniu aktyvumu: jis gali sustiprinti chemoterapijos poveikį, padidinti apoptozę, slopinti metastazes ir sukelti autofaginę ląstelių mirtį. Be to, fisetinas veikia citoprotekciškai normalias ląsteles, apsaugodamas funkcinės makromolekules nuo streso (3,58).

Kalbant apie antioksidacines savybes, fisetinas pasižymi išskirtiniu antioksidaciniu aktyvumu ir yra laikomas ypač efektyvus antioksidantas. Šis antioksidacinis aktyvumas patvirtintas *in vitro* ir *in vivo* modeliais. Manoma, kad jo cheminė struktūra, ypač katecholo žiedo buvimas, leidžia specifinę aromatinę elektronų delokalizaciją, kuri gali apimti chinono ir gretimų diketonų struktūras, veikiančias kaip įvairių ląstelių nukleofilų akceptorai. Be to, antioksidacinis fisetino poveikis, įskaitant glutationo sintezės indukciją, laikomas svarbiu neuroprotekcijai (3,58).

Kitas tyrimas taip pat įrodė, kad fisetino ≥ 10 mg/kg koncentracija reikšmingai sumažino smegenų gama aminosviesto rūgšties kiekį, azoto oksido ir ksantino oksidazės lygį pelėse, kurioms buvo sukelti dirbtiniai traukuliai pentilentetrazolio ir strichnino injekcijomis (21). Intraperitoninė pentilentetrazolio ir strichnino injekcija į pilvaplėvės ertmę sukėlė toninius-kloninius traukulius, po kurių pelės nugaišdavo. Tačiau fisetinu gydytoms pelėms traukuliai prasidėdavo gerokai vėliau ir ženkliai sumažėjo mirtingumas (11).

1.2.2. Priešuždegiminės savybės

Natūralias priešuždegimines medžiagas turintys biologiškai aktyvūs maisto produktai vis labiau traukia dėmesį dėl savo maistinės vertės, mažo toksiškumo, žemos kainos, gero biologinio prieinamumo bei profilaktinio / gydomojo poveikio (25,26). Būtent šias savybes atitinka flavonolis fisetinas. Tyrimų metu buvo įrodyta, kad fisetinas slopino lipopolisacharidų sukeltą neurouždegimą, inhibuodamas NF κ B ir MAPK signalinių kelių aktyvaciją bei mažindamas pro-uždegiminius mediatorius ir uždegiminius citokinus tiek ląstelių kultūroje, tiek smegenų mikroglijoje (5).

Fisetinas demonstruoja ryškų priešuždegiminį aktyvumą (1,47), uždegimą mažinantis poveikis yra susijęs su pro-uždegiminių citokinių, tokių kaip interleukinas-6 (IL-6), TNF- α , IL-1 β gamybos slopinimu, tai buvo pastebėta tyrimuose su dimetilhidrazino (DMH) sukeltu storosios žarnos vėžio modeliu Wistar žiurkėms (65). Be to, fisetinas veikia slopindamas uždegimą sukeliančių baltymų išsiskyrimą, kurį indukuoja lipopolisacharidai (LPS) (66).

Fisetino priešuždegiminis potencialas buvo įvertintas keliais eksperimentiniais modeliais: jis buvo sėkmingai išbandytas karagenino sukeltos pėdų tinimo testu ir sumažino uždegimą bei leukocitų antplūdį pilvaplovės ertmėje. Taip pat buvo atliktas oro maišelių (angl. *air pouch*) testas, siekiant nustatyti fisetino gebėjimą neutralizuoti pro-uždegiminius citokinus (47). Be to, priešuždegiminis ir antioksidacinis fisetino aktyvumas pasirodė esąs naudingas gydant ligas, pavyzdžiui, jis sumažino uždegimą ir citokinių kiekį STZ sukeltos diabetinės nefropatijos žiurkių modelyje, demonstruodamas renoprotekcinį (inkstus apsaugantį) poveikį (67).

1.2.3. Priešvėžinės savybės

Fisetino priešvėžinis aktyvumas yra susijęs su jo gebėjimu moduluoti daugybę molekulinį ir signalinių kelių vėžio ląstelėse (14,68,60). Visų pirma, jis efektyviai slopina vėžio ląstelių proliferaciją, blokuodamas ląstelių ciklą G0/G1 fazėje. G0 fazė žymi ląstelės ramybės būseną, kai ji yra metaboliškai aktyvi, bet nesidalija, o G1 fazė yra pirmoji pasiruošimo dalijimuisi pakopa, kurios metu ląstelė auga ir ruošiasi kritinei S fazei (DNR kopijavimui). Slopinant ląstelių ciklą būtent šioje ankstyvoje G0/G1 fazėje, vėžio ląstelėms užkertamas kelias pereiti į DNR sintezės ir vėlesnės dalijimosi fazes, taip veiksmingai sustabdant jų nekontroliuojamą dauginimąsi. Tai pasiekama slopinant CDK6/ciklino D kompleksą ir didinant ląstelių ciklo inhibitorių, tokių kaip p21 ir p53, ekspresiją (60,68). Antra, fisetinas stipriai indukuoja apoptozę (programuotą ląstelių mirtį). Šis procesas aktyvuojamas mitochondrinio keliu, kuris pasireiškia mitochondrijų membranos potencialo sumažėjimu, proapoptotinių baltymų (Bax, Bak) lygio padidėjimu ir antiapoptotinių baltymų (Bcl-2, Bcl-xL) slopinimu, galiausiai aktyvuojant kaspazes, tokias kaip kaspazė-3 (60,68). Trečia, fisetinas veikia kaip antiangiogeninis agentas, slopindamas naujų kraujagyslių formavimąsi, kuris yra esminis naviko augimui, mažindamas kraujagyslių endotelio augimo faktoriaus (VEGF) ir jo receptoriaus

(VEGFR) ekspresiją (14,68). Ketvirta, jis gali indukuoti autofagiją ir moduluoti gyvybiškai svarbius signalinius kelius, tokius kaip NF-B, PI3K/Akt/mTOR, ir MAPK (14). Fisetino gebėjimas slopinti NF-B kelią yra ypač svarbus, nes tai prisideda prie uždegimo mažinimo ir apoptozės skatinimo (68). Dėl šio daugiakrypčio veikimo, apimančio ląstelių augimo slopinimą, apoptozės indukciją, angiogenezės stabdymą ir signalinių kelių moduliavimą, fisetinas laikomas perspektyviu kandidatu vėžio prevencijos ir gydymo strategijose, turinčiu ir potencialą sustiprinti chemoterapinio gydymo veiksmingumą (14,17,18).

1.2.4. Antimikrobinės savybės

Naujausi tyrimai parodė, kad flavonoidai gali susilpninti patogeninių bakterijų patogeniškumą mažindami esminių patogeniškumo veiksnių aktyvumą. Svarbu pabrėžti, kad fisetinas slopino listeriolizino – svarbaus poras formuojančio toksino, dalyvaujančio *Listeria monocytogenes* patogeniškume – oligomerizaciją ir cholesterolio surišimo aktyvumą (29). Siekiant ištirti fisetino poveikį bakterijoms, šiame darbe išsamiai išanalizuotos APP augimo charakteristikos pridėjus fisetino. Pastebėta, kad fisetinas (32 µg/mL) slopino tiek APP, tiek išgryninto Apx I toksino hemolizinį aktyvumą, o esant 64 µg/mL koncentracijai taip pat sumažino APP augimą. Tuo pačiu metu fisetinas nepakeitė Apx IA mRNR ar baltymo lygių (33).

Qnais et. al. (2023) atliktame tyrime nustatyta, kad fisetinas pasižymi reikšmingu prieš uždegiminiu poveikiu, kuris pasireiškia sumažėjusia leukocitų infiltracija į uždegimo židinius bei sumažėjusia uždegiminių citokinų – TNF-α, IL-1β ir IL-6 – koncentracija. Karagenano sukeltos pėdos edemos modelyje fisetinas priklausomai nuo dozės slopino audinių tinimą, o jo efektyvumas buvo panašus į nesteroidinio prieš uždegiminio vaisto indometacino. Šie rezultatai rodo, kad fisetinas veikia tiek periferinius, tiek centrinius uždegimo mechanizmus ir gali būti veiksmingas natūralios kilmės analgetikas bei prieš uždegiminė veiklioji medžiaga (47).

Be prieš uždegiminio poveikio, fisetinas pasižymi ir reikšmingomis antimikrobinėmis savybėmis. Hamid et. al. (2024) atliktas eksperimentinis bei literatūros apžvalgos tyrimas parodė, kad fisetinas ir jo darinys slopina įvairių patogeninių mikroorganizmų augimą, įskaitant gramteigiamas bakterijas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*) bei kai kurias gramneigiamas rūšis (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*). Šių junginių antimikrobinis poveikis buvo nustatytas taikant *in vitro* difuzijos į agarą metodą, o minimali inhibicinė koncentracija (MIC) svyravo nuo 100 iki 1000 µg/mL. Pastebėta, kad fisetinas nebuvo veiksmingas prieš *Escherichia coli*, tačiau jo struktūriniai analogai, tokie kaip 7,3',4'-trihidroksiflavonas (THF) ir 7,3',4'-trihidroksiflavonolis (THF-), demonstravo aktyvumą prieš šią rūšį (53).

Tyrimų rezultatai leidžia teigti, kad fisetinas ir susiję flavonoidiniai junginiai gali būti perspektyvios natūralios kilmės antimikrobinės ir priešuždegiminės veikliosios medžiagos, galinčios veikti kaip pagalbinės priemonės tradiciniams antibiotikams ar nesteroidiniams priešuždegiminiams vaistams. Šių junginių gebėjimas slopinti mikroorganizmų augimą bei uždegiminiuosius procesus rodo jų potencialą taikymui infekcinių ligų ir uždegiminių būklių gydyme bei profilaktikoje.

1.2.5. Senolitinės savybės

Senoterapija yra eksperimentinė gydymo forma, siekianti sulėtinti ir tam tikru mastu pakeisti senėjimo procesą, pašalinant senstančias ląsteles. Senoterapija apima senolizę (senstančių ląstelių sunaikinimą) ir senomorfinę terapiją (su senėjimu susijusių pokyčių atstatymą). Klinikiniai senoterapijos tyrimai pradėti neseniai, todėl duomenų apie poveikį žmonėms yra itin mažai. Šiame tyrime aprašyti rezultatai gauti „*in vitro*“ kultūrose ir pelių modeliuose. Šiuose modeliuose senoterapija pagerina su senėjimu susijusius susirgimus, prailgina gyvenimo trukmę ir padeda kovoti su negalia (38,39).

Klinikinio senėjimo pagrindą sudaro daugybė biologinių pokyčių, įskaitant lėtinį uždegimą, imuninės sistemos slopinimą, mitochondrijų disfunkciją, tarpląstelių sąsajų praradimą, mikrobiomo pokyčius, medžiagų apykaitos sutrikimus, kamieninių ląstelių išsekimą ir padidėjusį oksidacinį stresą. Lėtinis katabolinis statusas, atsparumas insulinui, riebalų kaupimasis ir sarkopenija yra reikšmingiausi medžiagų apykaitos pokyčiai. Šie visi pokyčiai yra tarpusavyje susiję ir veikdami kartu vienas kitą sustiprina (40-43).

Fisetino senolitinis poveikis pirmą kartą išsamiai aprašytas tyrimuose, kuriuos atliko Yousefzadeh et. al. (2018). Šie autoriai nustatė, kad fisetinas geba selektyviai sumažinti senų ląstelių kiekį pelių organizme, nepaveikdamas jaunų ir sveikų ląstelių. Pelių modeliuose, kuriuose buvo taikytas fisetino gydymas (100 mg/kg per burną), pastebėtas reikšmingas uždegiminių citokinų, tokių kaip IL-6 ir TNF- α , sumažėjimas bei ilgesnė gyvūnų gyvenimo trukmė. Be to, histologiniai audinių tyrimai atskleidė, kad fisetinas mažina senėjimo žymenų, tokių kaip p16^{INK4a} ir SA- β -galaktozidazės, ekspresiją, o tai rodo jo gebėjimą skatinti audinių atsinaujinimą. Panašius rezultatus gavo ir kiti tyrėjai (59), kurie parodė, kad fisetinas *in vitro* slopina senstančių žmogaus fibroblastų proliferaciją, skatindamas apoptozės procesą būtent šiose ląstelėse. Tyrimo metu nustatyta, kad fisetino poveikis susijęs su kaspazių-3/7 aktyvacija bei sumažėjusia BCL-2 ekspresija, o tai rodo, kad fisetinas skatina senescentinių ląstelių mirtį per mitochondrijų priklausomą kelią. Be to, jis veikia mTOR signalinę grandinę – vieną pagrindinių senėjimo reguliatorių – taip užkertant kelią oksidaciniam stresui ir ląstelių pažaidos kaupimuisi (59).

Ahmad ir kt. (2019) tyrime nustatyta, kad fisetinas (20 mg/kg, i.p.) pelėms sumažino LPS sukeltą neurouždegimą, oksidacinį stresą ir neuronų pažeidimą bei padėjo pagerinti atmintį (93). Be

to, tyrimas atskleidė fisetino neuroprotekcinį poveikį – jis sumažino oksidacinį stresą pagumburyje ir pagerino atminties bei mokymosi funkcijas, kurios paprastai blogėja dėl ląstelinio senėjimo. Dėl to jis laikomas perspektyvia „natūralia senolitine molekule“, kuri galėtų būti taikoma senėjimo lėtėjimo, neurodegeneracinių bei širdies ir kraujagyslių ligų prevencijai (58,59,93).

1.2.6. Antidiabetinės savybės

Fisetinas išryškėjo kaip perspektyvi natūropatinė alternatyva įprastiniam diabeto gydymui. Keli tyrimai rodo, kad fisetinas turi daugybę naudingų poveikių diabeto kontrolei. 10–20 mg/kg fisetino reikšmingai sumažina streptozotocinu (STZ) sukeltų cukriniu diabetu sergančių žiurkių gliukozės koncentraciją plazmoje, didina insulino sekreciją, jautrumą insulinui ir gliukozės pasisavinimą, kurį tarpininkauja PI3K/Akt priklausoma GLUT4 translokacija. Be to, kepenų gliukoneogeneze yra slopinama represuojant PEPCCK, gliukozės-6-fosfatazę, taip pat dėl antioksidacinio ir priešuždegiminio poveikio, saugančio kasos β -ląsteles (45). Vienas iš tyrimų taip pat parodė, kad fisetinas (skiriamas kiekvienam žiurkės kūno svorio kilogramui kasdien per burną 30 dienų) po vieno mėnesio vartojimo diabetu sergančioms žiurkėms reikšmingai sumažino gliukozės kiekį kraujyje, padidino insulino sekreciją ir sumažino eritrocitų glikozilinimą (46). Panašūs rezultatai buvo gauti su 2,5–10 mg/kg fisetino, kuris sumažino gliukozės kiekį kraujyje diabetu sergančioms Akita pelėms ir diabetu sergančioms žiurkėms, slopindamas gliukoneogeninius fermentus (PEPCCK, G6Pase, piruvato karboksilazę), skatindamas glikolizę ir glikogeno sintezę per heksokinazės ir glikogeno sintazės suaktyvinimą, gerindamas jautrumą insulinui, aktyvindamas PPAR- α , kad padidintų gliukozės oksidaciją širdyje, bei veikdamas priešuždegimiškai (slopindamas NF- κ B) ir antioksidantiškai (aktyvindamas glioksalazę-1). Tai patvirtina fisetino antidiabetines savybes (46,47).

Be savo metabolinio poveikio fisetinas moduliuoja su hiperglikemija susijusį uždegiminį atsaką. Pastebėta, kad gydymas fisetinu sumažina NF- κ B aktyvaciją ir translokaciją, o tai sumažina prouždegiminių citokinų gamybą. Šie priešuždegiminiai veiksmai iš dalies yra tarpininkaujami epigenetinės reguliacijos; fisetinas slopina histonų acetiltransferazės aktyvumą, dėl to sumažėja histonų acetilinimas ir pakinta citokinų ekspresija (38). Be to, fisetinas gali sumažinti su diabetu susijusią dislipidemiją. Streptozotocinu sukeltose diabetu sergančiose žiurkėse fisetino vartojimas normalizavo mažo tankio lipoproteinų ir labai mažo tankio lipoproteinų koncentraciją serume, kartu padidindamas didelio tankio lipoproteinų (DTL) lygį (46). Apibendrinant, šie duomenys pabrėžia fisetino potencialą gydant cukrinį diabetą (47).

1.3. Kitos potencialios farmakologinės savybės

1.3.1. Neuroprotekcinės savybės

Tyrimai nustatė, kad fisetinas yra stiprus antioksidantas ir neutralizuoja laisvuosius radikalus, taip pat fisetinas geba užkirsti kelią įvairioms lėtinėms uždegiminėms būklėms ir jas slopinti (5,55). Įvairūs *in vitro* ir *in vivo* tyrimai, atlikti taikant intraveninę arba intraperitoninę vartojimą, taip pat parodė jo potencialą slopinti kelis apoptotinius ir uždegiminius kelius, susijusius su neurodegeneracinių sutrikimų pradžia ir progresavimu, bei jo neuroprotekcinį poveikį (56).

Šiame tyrime atskleistas teigiamas geriamojo fisetino poveikis moduluojant alkoholio sukeltą neurotoksikaciją, taip pat pagerinant darbinės ir orientacinės atminties klaidas bei mažinant nerimą. Fisetino, ypač jo naujosios formulės FENUMAT-fisetino (FF-20), vartojimas žymiai pagerino elgesį, susijusį su atmintimi ir nerimu, alkoholiu paveiktoms žiurkėms, palyginti su kontrolinėmis grupėmis, po to, kai žiurkėms buvo skiriamas 25% etilo alkoholis (5 g/kg kūno masės) vieną kartą per dieną, 14 dienų iš eilės. Fisetino dozės (50 mg/kg kūno masės) buvo duodamos valandą po alkoholio dozės visą šį 14 dienų laikotarpį. Stebėta nauda taip pat koreliavo su smegenų audinių genų raiška ir neurotransmiteriniu lygiu. Sustiprintas neuroprotekcinis poveikis, pastebėtas vartojant FF-20, gali būti siejamas su jo padidėjusiu biologiniu prieinamumu (>9 kartų) ir pagerintomis farmakokinetinėmis savybėmis, kurios buvo nustatytos taikant tandeminę masių spektrometriją farmakokinetikos tyrimuose (52).

1.3.2. Antiosteoporozinės savybės

Fisetinas, 3,3',4',7-tetrahidroksiflavonas (12), yra bioaktyvus natūralus junginys, išgaunamas iš įvairių vaisių ir daržovių. Jis slopina osteoklastų diferenciaciją ir kaulo rezorbciją. Be to, fisetinas sumažina tarpląstelinę reaktyviųjų deguonies formų lygį, skatindamas antioksidacinių streso atsakui jautrių fermentų veiklą (20,33). Antioksidacinių streso fermentų sumažėjimas atskleidė, kad fisetinas panaikina osteoklastų diferenciaciją per eritroidų kilmės branduolinių faktorių 2 (Nrf2) sukeltą kelią (57).

Atliktas tyrimas su gyvūniniu modeliu su ovariektomizuotomis (OVX) žiurkėmis, sukuriant estrogeno trūkumo sukeltos osteoporozės modelį, patvirtino stiprų fisetino apsauginį poveikį (69). Tyrimo metu fisetinas buvo skiriamas per burną 16 savaitių (69). Tyrime fisetinas buvo skiriamas per burną 10, 20 ir 30 mg/kg kūno svorio dozėmis (66). Buvo stebimi teigiami pokyčiai: žymiai padidėjo kaulų mineralinis tankis (BMD) ypač šlaunikaulio (*femur*) ir blauzdikaulio (*tibia*) srityse (69). Be to, šis gydymas pagerino kaulų biomechaninius rodiklius, tokius kaip maksimalią apkrovą ir standumą, kas rodo didesnę kaulų atsparumą lūžiams (66). Poveikio mechanizmas apėmė uždegiminių citokinių, tokių kaip TNF- α , IL-6 ir IL-1 β , lygio bei estrogeno (E2) sumažinimą (69). Taip pat, fisetinas palankiai pakoregavo kaulų apykaitos žymenis, didindamas kaulų formavimosi

žymens (osteokalcino) lygį ir mažindamas kaulų rezorbcijos žymens (CTX) lygį, kartu stiprindamas organizmo antioksidacinę apsaugą (69), kas patvirtina jo potencialą kaip veiksmingą priemonę kovojant su kaulų nykimu, susijusiu su estrogeno trūkumu (69,57)

Apibendrinant šiame tyrime buvo įrodyta, kad fisetinas veiksmingai apsaugo nuo ovariektomijos ir lipopolisacharidų sukkelto kaulų praradimo, skatina šarminės fosfatazės aktyvumą ir osteoblastų mineralizaciją.

1.4. Maisto papildų, maisto produktų su fisetinu apžvalga Lietuvos vaistinėse

Remiantis Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos (VMVT) pateikta informacija, maisto papildas yra „įprastam racionui papildyti skirtas maisto produktas, kuris yra koncentruotas vienos arba kelių maistinių arba kitų medžiagų, turinčių mitybinį arba fiziologinį poveikį, šaltinis. Maisto papildai tiekiami rinkai dozuotomis formomis – kapsulėmis, pastilėmis, piliulėmis, tabletėmis, kitomis panašiomis formomis bei miltelių maišeliais, skysčių ampulėmis, buteliukais su lašų dozatoriais bei kitomis panašiomis skysčių ir miltelių, skirtų vartoti mažais dozuotais kiekiais, formomis.“ (61).

1 lentelė. Lietuvos Respublikos vaistinėse randami maisto papildai, kurių sudėtyje yra fisetino, jų vartojimas ir gaunamas fisetino kiekis per parą (62-64).

Maisto papildas pavadinimas	Vartojimas	Per parą gaunamas fisetino kiekis
L CELL Fisetinas kapsulės 250 mg, 60 kapsulių	1-2 kapsulės (250-500 mg Fisetino) ryte valgio metu, užgeriant stikline vandens.	250-500 mg
L CELL Fisetinas milteliai 15 g.	1-2 kaušeliai miltelių (250-500 mg Fisetino) ryte. Siekdami geriausio efekto, sumaišykite su riebiu maistu (jogurtu, alyvuogių aliejumi ar kt.).	250-500 mg
SOOO cellular: Kvercetas, Fisetinas, L- Glycinas, N60	Rekomenduojama vartoti po 2 kapsules kasdien, geriausia ryte, po valgio.	200 mg

Nors fisetinas pasaulyje yra gerai žinomas ir pasižymi populiarumu, tačiau Lietuvos vaistinėse papildų su fisetinu nėra itin daug, pagrindinės fisetino naudos įvardijamos kaip pagalba angliavandenių, mikroelementų ir riebalų rūgščių apykaitai bei įvardijama nauda odai ir grožiui. Lietuvos vaistinėse galima rasti šiuos maisto papildus su fisetinu (1 lentelė): L CELL Fisetinas

kapsulės 250 mg, 60 kapsulių, L CELL Fisetinas milteliai, 15 g., SOOO cellular: Kvercetas, Fisetinas, L-Glycinas, N60.

1.5. Farmacinės fisetino formos ir jų reikšmė

1.5.1. Tablečių ir kapsulių privalumai ir trūkumai

Dėl savo struktūros, kurioje išsidėsčiusios keturios hidroksigrupės, fisetinas pasižymi stipriomis antioksidacinėmis, priešuždegiminėmis, antinavikinėmis, neuroprotekcinėmis bei senolitinėmis savybėmis (70,71). Nors šis junginys kelia didelį susidomėjimą dėl plataus farmakologinio poveikio spektro, jo praktinis panaudojimas medicinoje ir farmacijoje yra ribotas dėl mažo tirpumo vandenyje (apie 10 µg/mL), didelio lipofiliškumo ($\log P \approx 3,2$) bei mažo biologinio prieinamumo. Šios savybės lemia sudėtingą fisetino absorbciją žarnyne ir greitą jo biotransformaciją į gliukuronidus bei sulfonatus, dėl ko į sisteminę kraujotaką patenka tik nedidelė veikliosios medžiagos dalis (71).

Dėl šių ribotumų pastaraisiais metais daug dėmesio skiriama tinkamiausių farmacinės formos variantų paieškai. Tradiciškai fisetinas, kaip ir daugelis kitų flavonoidų, yra formuojamas į kietąsias farmacines formas – tabletes ir kapsules (71,72). Šios formos yra plačiausiai naudojamos dėl technologinio paprastumo, dozių tikslumo, cheminio stabilumo bei patogumo vartotojui. Tabletės leidžia tiksliai kontroliuoti veikliosios medžiagos kiekį, užtikrina vienodą paskirstymą, stabilumą ir ilgesnį tinkamumo vartoti laiką. Be to, tokios formos apsaugo fisetiną nuo šviesos ir oksidacijos poveikio, o tai yra itin svarbu, nes flavonoidai, įskaitant fisetiną, yra jautrūs aplinkos veiksniams, ypač temperatūros, pH ir deguonies pokyčiams (71-73). Kapsulės taip pat pasižymi privalumais – jos leidžia įkapsuliuoti veikliąją medžiagą kartu su pagalbiniais tirpikliais, aliejais ar polimeriniais nešikliais, kurie gali pagerinti fisetino tirpumą bei prailginti veikimo laiką. Tokia forma leidžia apsaugoti medžiagą nuo skrandžio rūgšties poveikio ir dalinai išvengti pirminio metabolizmo kepenyse, todėl biologinis prieinamumas gali būti didesnis nei vartojant miltelių ar tirpalo pavidalą (71-73).

Vis dėlto tradicinės tabletės ir kapsulės turi reikšmingų trūkumų, kurie riboja jų efektyvumą. Pagrindinė problema yra labai ribotas fisetino tirpumas vandeninėje terpėje, dėl ko šis junginys prastai absorbuojamas virškinamajame trakte. Net ir panaudojus pagalbines medžiagas, tokias kaip paviršinio aktyvumo junginiai ar tirpumą gerinantys polimerai, fisetino dalelės sunkiai disperguojamos žarnyno skystyje. Be to, įprastinės kietosios formos nesuteikia galimybės tiksliai kontroliuoti veikliosios medžiagos išsiskyrimo greičio, todėl pasisavinimas priklauso nuo individualių fiziologinių sąlygų – pH, fermentinės veiklos bei virškinimo laiko: kaip pažymi Dere ir Khan (2020), flavonoidams būdingas nestabilumas lemia tai, kad net nedidelis aplinkos pokytis gali sukelti jų struktūros degradaciją ar izomerizaciją, o tai tiesiogiai mažina biologinį aktyvumą (74).

Atsižvelgiant į šiuos iššūkius, pastaruoju metu aktyviai tiriamos pažangios tablečių ir kapsulių technologijos, kuriose fisetinas yra įkapsuliuojamas į polimerines ar lipidines matricas. Tokios technologijos leidžia sukurti vadinamąsias modifikuoto atpalaidavimo formas, kuriose veiklioji medžiaga išsiskiria palaipsniui ir tolygiai. Zhong et al. (2022) pabrėžė, kad fisetino įterpimas į nanostruktūrinius nešiklius, tokius kaip liposomos, nanocochleatai, nanoemulsijos ar polimerinės nanodalelės, ženkliai pagerino jo biologinį prieinamumą bei stabilumą. Pavyzdžiui, fisetino įkapsuliavimas į nanocochleatus padidino absorbciją virškinamajame trakte, o liposominė forma leido išvengti greitos degradacijos kepenyse. Tokios sistemos, integruotos į kapsules ar tabletes, pasižymi kontroliuojamu išsiskyrimu, padidintu tirpumu ir prailgintu pusinės eliminacijos laiku (14).

Fisetino įkapsuliavimas polimeriniuose nešikliuose, pavyzdžiui, poli(laktido-ko-glikolio rūgšties) (PLGA) ar polietilenglikolio (PEG) pagrindu, padidino veikliosios medžiagos pusinės eliminacijos laiką nuo 1,84 iki 3,42 valandų ir dvigubai padidino koncentracijos–laiko ploto reikšmę (AUC), lyginant su laisvo fisetino vartojimu (1,75). Be to, šie nanokapsuliuoti junginiai išliko stabilūs 60 dienų be agregacijos požymių, o žarnyno pralaidumo tyrimai parodė 4,9 karto didesnę absorbcijos lygį, ypač dvilykapijė žarnoje. *In vivo* tyrimuose su pelių 4T1 krūties vėžio modeliu nustatyta, kad fisetino nanodalelės, įterptos į polilaktido matricą, sumažino naviko tūrį iki 64,7 % nuo pradinės vertės ir nesukėlė toksinio poveikio sveikiems audiniams. Šie rezultatai leidžia teigti, kad nanostruktūrinės tabletės ar kapsulės, kuriose fisetinas įkapsuliuotas į biologiškai suderinamus nešiklius, gali užtikrinti tiek didesnę biologinį prieinamumą, tiek stipresnę terapinį poveikį (1,75).

Siekiant padidinti flavonolio efektyvumą, būtina taikyti naujos kartos formuliavimo strategijas – mikro- ir nanoinkapsuliaciją, lipidinių nanodalelių ar polimerinių mikrosferų įtraukimą į kietąsias formas. Tokie sprendimai leidžia išlaikyti klasikinių tablečių bei kapsulių privalumus, tačiau suteikia naujų funkcinių savybių – didesnę tirpumą, ilgesnį veikimo laiką, geresnį stabilumą ir tikslingą veikimą organizme (1,75). Ateityje tikslinga plėtoti tyrimus, vertinančius šių modifikuotų formų farmakokinetinį ir klinikinį efektyvumą žmonėms, kad būtų galima pagrįsti jų pranašumą prieš tradicines fisetino tabletes ir kapsules.

1.6. Kapsulės ir jų tipai

Viena iš galimų geriamųjų dozavimo formų yra kapsulės, kurios apibūdinamos kaip kietos vienetinės dozės preparatai, kuriose veiklioji medžiaga ir (arba) pagalbinės medžiagos yra uždaromos minkštame arba kietame tirpiame apvalkale (77). Kapsulės gali būti pildomos milteliais, granulėmis, pusiau kietomis ar skystomis farmacinėmis formomis, todėl jų forma yra tinkama net ir mažai tirpiems junginiams įkapsuliuoti (78). Kietosios želatininės kapsulės sudarytos iš dviejų dalių – korpuso ir dangtelio – ir dažniausiai naudojamos milteliniais ar granuliuotiems užpildams, o

minkštosios želatininės kapsulės pasižymi plastifikuotu, elastingu apvalkalu ir gali būti naudojamos skystoms ar pusiau kietoms farmacinėms formoms (79).

Atsižvelgiant į fisetino ribotą tirpumą, vienas iš perspektyvių būdų yra amorfinių struktūrų kūrimas. Sip et al. (2024) tyrime fisetinas buvo amorfizuotas naudojant superkritinio CO₂ technologiją ir kopovidoną kaip rišiklį, taip suformuojant koamorfinę struktūrą. Autoriai nustatė, kad amorfinė fisetino forma pasižymėjo pagerintu tirpumu, geresniu tirpimo profiliu ir didesniu biologiniu prieinamumu, lyginant su kristaline forma (73). Tokios formos fisetinas gali būti toliau formuojamas į geriamąsias dozavimo formas, įskaitant kapsules, kurios leidžia tiksliai dozuoti ir apsaugoti veikliąją medžiagą nuo aplinkos poveikio. Be to, kietosios kapsulės gali būti užpildomos ne tik sausais milteliais, bet ir skystomis ar pusiau kietomis lipidinėmis sistemomis, kurios dažnai taikomos mažai tirpių junginių biologiniam prieinamumui didinti (79). Tokia technologija yra ypač aktuali junginiams, pasižymintiems mažu tirpumu, ir gali būti pritaikoma fisetinui. Apibendrinant galima teigti, kad dėl riboto fisetino tirpumo vandenyje kapsulių dozavimo formos, ypač derinamos su amorfizacijos ar lipidinių sistemų technologijomis, gali būti perspektyvus būdas pagerinti jo biologinį prieinamumą ir terapinį efektyvumą (73,78,79).

1.7. Antioksidaciniai fisetino tyrimai

Khan et al. (2013) nurodo, kad fisetino antioksidacinis aktyvumas buvo vertintas naudojant Trolox ekvivalentinio antioksidacinio aktyvumo (TEAC) metodą, kuriuo nustatyta, jog fisetino TEAC vertė siekia $2,80 \pm 0,06$. Šis rodiklis rodo, kad fisetinas pasižymi stipriu radikalų surišimo aktyvumu ir yra aktyvesnis už kai kuriuos kitus plačiai tiriamus flavonoidus (80). Be TEAC metodo, fisetino antioksidacinis aktyvumas tiriamas taikant ciklinės voltamperometrijos metodą, kuris leidžia nustatyti junginio oksidacijos potencialą. Khan et al. (2013) apžvelgti tyrimai parodė, kad fisetinas pasižymi žemu oksidacijos potencialu, o tai yra svarbi savybė junginiams, veikiantiems kaip efektyviems elektronų donorams. Šie duomenys buvo papildyti kvantinės chemijos analizės skaičiavimais, kurie parodė, kad fisetino hidroksigrupių išsidėstymas (ypač orto-dihidroksistruktūra B žiede) lemia mažą O–H ryšio disociacijos energiją (80).

In vivo tyrimuose fisetino antioksidacinis poveikis buvo vertinamas naudojant graužikų modelius, kuriuose oksidacinis stresas yra svarbus patologinis mechanizmas. Vienas iš labiausiai paplitusių modelių yra pagreitinoto senėjimo SAMP8 pelių modelis, naudojamas tiriant su amžiumi susijusį oksidacinį stresą ir neurodegeneraciją. Currais et al. (2018) šį modelį taikė siekdami įvertinti ilgalaikį fisetino poveikį smegenų oksidacinei būklei (81). Šiame tyrime fisetinas buvo skiriamas su maistu 500 ppm koncentracija, atitinkančia maždaug 25 mg/kg kūno svorio per parą, nuo 3 iki 10 mėnesių amžiaus. Antioksidacinis poveikis buvo vertinamas analizuojant oksidacinio streso žymenis smegenų audinyje, taip pat baltymų, susijusių su streso atsaku ir uždegimu, ekspresiją. Be to, buvo

taikomas integruotas proteomikos ir metabolomikos metodų derinys, leidęs nustatyti, kad fisetinas sumažino su senėjimu susijusius oksidacinio streso ir metabolinio disbalanso požymius (81). Papildomi *in vivo* tyrimai, aprašyti Maher (2015), kuriuose fisetino antioksidacinis poveikis buvo vertinamas pagal reaktyviųjų deguonies formų kiekio pokyčius, gliutatio koncentraciją ir neuronų išgyvenamumą. Šiuose modeliuose buvo parodyta, kad fisetinas apsaugo nuo oksidacinio streso sukeltos neuronų žūties, o šis poveikis yra tiesiogiai susijęs su jo gebėjimu palaikyti endogeninę antioksidacinę sistemą (82).

Antroje lentelėje pateikiamas *in vitro* ir *in vivo* tyrimų metodų, taikomų fisetino antioksidacinėms savybėms vertinti, palyginimas, išryškinant jų metodologinius skirtumus, vertinamus rodiklius ir tyrimų tikslus. *In vitro* metodai daugiausia orientuoti į tiesioginio antioksidacinio aktyvumo nustatymą, naudojant cheminius testus (pvz., TEAC, ciklinę voltamperometriją) bei ląstelines oksidacinio streso modelius, kuriuose vertinami tokie rodikliai kaip reaktyviųjų deguonies formų kiekis, gliutatio koncentracija ir ląstelių gyvybingumas (68,69).

2 lentelė. *In Vitro* ir *In Vivo* tyrimų metodų palyginimas

Tyrimų tipas	Metodas / modelis	Vertinami rodikliai	Tyrimo paskirtis
<i>In vitro</i> (80)	TEAC (Trolox ekvivalentinio antioksidacinio pajėgumo) testas	Laisvųjų radikalų neutralizavimo pajėgumas (TEAC vertė)	Tiesioginio antioksidacinio aktyvumo įvertinimas
<i>In vitro</i> (73)	DPPH radikalų surišimo testas	Radikalų neutralizavimo procentas	Antioksidacinio aktyvumo įvertinimas
<i>In vitro</i> (80)	Ciklinė voltamperometrija	Oksidacijos potencialas	Antioksidacinių savybių (elektronų donorystės) įvertinimas
<i>In vivo</i> (69)	OVX (ovarietomizuotų žiurkių) osteoporozės modelis	BMD, ALP, osteokalcinas, Ca, P, biomechaniniai rodikliai	Antiosteoporotinio poveikio įvertinimas
<i>In vivo</i> (81)	SAMP8 pelių modelis (pagreitinotas senėjimas)	Kognityvinė funkcija, uždegimo ir oksidacinio streso žymenys	Neuroprotekcinio ir antioksidacinio poveikio įvertinimas
<i>In vivo</i> (82)	Išemijos / neurodegeneracijos modeliai	ROS lygis, gliutatio koncentracija, neuronų išgyvenamumas	Antioksidacinio ir neuroprotekcinio poveikio mechanizmų analizė
<i>In vitro</i> / <i>in vivo</i> (82)	Lipidų peroksidacijos tyrimai	MDA, lipidų peroksidacijos produktai	Oksidacinio streso ir membranų pažeidimo įvertinimas
<i>In silico</i> / teoriniai (82)	Kvantinės chemijos skaičiavimai	O–H ryšio disociacijos energija, molekulinė struktūra	Antioksidacinio aktyvumo molekulinį mechanizmų analizė

Šaltinis: sudaryta autoriaus pagal 69,73,80-82 šaltinius.

Tuo tarpu *in vivo* metodai leidžia įvertinti fisetino antioksidacinį poveikį sudėtingoje biologinėje sistemoje, kur oksidacinis stresas sąveikauja su uždegimu, metaboliniais pokyčiais ir senėjimo procesais. Ypač svarbus yra SAMP8 pelių modelis, kuriame nustatyta, kad ilgalaikis fisetino vartojimas mažina su amžiumi susijusius oksidacinio streso žymenis smegenyse ir normalizuoja metabolinius procesus (81).

Apibendrinant *in vitro* ir *in vivo* tyrimų rezultatus, galima teigti, kad fisetino antioksidacinis aktyvumas pasižymi kompleksiniu ir daugialypiu poveikiu, kuris apima tiek tiesioginį reaktyviųjų deguonies formų (ROS) neutralizavimą, tiek netiesioginį ląstelių antioksidacinių ir apsauginių sistemų reguliavimą. Skirtingai nei kai kurie kiti flavonoidai, fisetinas išsiskiria gebėjimu veikti ne vieną, bet kelis su oksidaciniu stresu susijusius mechanizmus vienu metu (70).

Cheminiiais *in vitro* metodais nustatyta, kad fisetinas pasižymi dideliu laisvųjų radikalų surišimo pajėgumu. TEAC testais nustatyta, jog fisetino Trolox ekvivalentinė vertė siekia apie 2,8, o tai rodo stiprų tiesioginį antioksidacinį aktyvumą (80). Šie duomenys buvo patvirtinti elektrocheminiais metodais, tokiais kaip ciklinė voltamperometrija, kuri parodė žemą fisetino oksidacijos potencialą ir jo gebėjimą veikti kaip efektyvų elektronų donorą. Kvantinės cheminės analizės rezultatai atskleidė, kad antioksidacinį aktyvumą lemia fisetino struktūrinės savybės, ypač orto-dihidroksigrupės B žiede ir 3-hidroksigrupė C žiede, kurios mažina O–H ryšio disociacijos energiją ir palengvina vandenilio atidavimą laisviesiems radikalams (80).

Ląsteliuose modeliuose fisetino antioksidacinis poveikis pasireiškia ne tik ROS kiekio mažinimu, bet ir endogeninės antioksidacinės sistemos stiprinimu. Tyrimuose su HT22 hipokampo neuronų ląstelėmis nustatyta, kad fisetinas palaiko intraceliulinio gliutatio (GSH) koncentraciją net esant oksidacinio streso sąlygoms, kai GSH sintezė paprastai yra slopinama. Ši savybė laikoma išskirtine, nes dauguma flavonoidų neturi reikšmingo poveikio GSH homeostazei (82). Be to, fisetinas aktyvina Nrf2 signalinį kelią, kuris reguliuoja antioksidacinių fermentų, tokių kaip hemo oksigenazė-1 (HO-1), superoksido dismutazė ir katalazė, ekspresiją (82,83).

In vivo tyrimai patvirtina, kad fisetino antioksidacinis aktyvumas išlieka biologiškai reikšmingas sudėtingose organizmo sistemose. Pagreitinto senėjimo SAMP8 pelių modelyje nustatyta, kad ilgalaikis fisetino vartojimas sumažina su amžiumi susijusius oksidacinio streso žymenis smegenyse, normalizavo streso baltymų ekspresiją ir sumažina neurouždegimą (81).

1.8. Nauda sveikatai ir ilgaamžiškumas

Fisetino antioksidacinis aktyvumas yra glaudžiai susijęs su jo teigiamu poveikiu sveikatai ir potencialiu vaidmeniu ilgaamžiškumo skatinimo kontekste, nes oksidacinis stresas laikomas vienu pagrindinių senėjimo ir su amžiumi susijusių ligų patogeniniu veiksnio. Ilgalaikis ROS perteklius

lemia baltymų, lipidų ir DNR pažeidimus, kurie kaupiasi su amžiumi ir prisideda prie neurodegeneracinių, metabolinių ir uždegiminių ligų vystymosi (85).

Gyvūnų modeliai rodo, kad fisetinas gali sumažinti šių procesų intensyvumą. SAMP8 pelių modelyje fisetinas ne tik sumažino oksidacinį stresą smegenyse, bet ir pagerino kognityvines funkcijas, įskaitant mokymąsi ir atmintį, bei sumažino su senėjimu susijusį elgesio pablogėjimą (80). Šie efektai buvo siejami su sumažėjusia mikroglijų aktyvacija, mažesniu uždegiminių mediatorių kiekiu ir normalizuotu metaboliniu profiliu, tai rodo, jog antioksidacinis poveikis yra glaudžiai susijęs su priešuždegiminiais ir neuroprotekciniais mechanizmais. *In vivo* tyrimai rodo, kad fisetino antioksidacinės savybės turi reikšmės ne tik nervų sistemai, bet ir sisteminei sveikatai. Eksperimentiniuose diabetinės retinopatijos, kepenų pažeidimo, nutukimo ir išemijos modeliuose nustatyta, kad fisetinas mažina oksidacinio streso žymenis, gerina audinių histologinę būklę ir stiprina antioksidacinių fermentų aktyvumą, taip prisidedamas prie organų funkcijos išsaugojimo (80-82). Svarbu pažymėti, kad fisetino poveikis sveikatai nėra grindžiamas vien tik ROS neutralizavimu. Fisetinas taip pat moduliuoja signalinius kelius, susijusius su uždegimu (NF- κ B, MAPK), mitochondrijų funkcija ir ląstelių išlikimu, todėl jo antioksidacinis poveikis laikomas integralia platesnio citoprotekcinio veikimo dalimi (70,85). Tokia daugiafunkcinė veikla yra ypač svarbi ilgaamžiškumo kontekste, nes senėjimas yra daugiaveiksnis procesas, kuriam negali būti efektyviai priešinamasi veikiant tik vieną biologinį taikinį.

Fisetinas dėl savo antioksidacinių, priešuždegiminių ir neuroprotekcinų savybių, gali būti laikomas perspektyviu junginiu sveiko senėjimo ir su amžiumi susijusių ligų prevencijos kontekste, nors tolimesni klinikiniai tyrimai yra būtini siekiant patvirtinti šį potencialą žmonių populiacijoje.

1.9. Fisetino nauda ilgaamžiškumo kontekste

1.9.1. Antioksidacinės savybės kaip ilgaamžiškumą skatinantys veiksniai ir panaudojimas prevencinėje ir personalizuotoje medicinoje

Antioksidacinės savybės laikomos vienu iš esminių mechanizmų, siejančių bioaktyvių augalinių junginių poveikį su ilgaamžiškumo skatinimu, nes oksidacinis stresas yra vienas pagrindinių senėjimo ir su amžiumi susijusių ligų patogenezės veiksnių. Pagal laisvųjų radikalų teoriją, reaktyviųjų deguonies formų perteklius sukelia kumuliacinę DNR, baltymų ir lipidų oksidacinę žalą, kuri ilgaiui lemia ląstelių funkcijos sutrikimus, audinių pažeidimus ir organizmo senėjimą (73).

Flavonoidai, įskaitant fisetiną, išsiskiria gebėjimu ne tik tiesiogiai neutralizuoti ROS, bet ir moduluoti endogenines antioksidacines bei streso atsako sistemas, kurios yra ypač svarbios ilgaamžiškumo reguliavimui (86). *In vitro* ir *in vivo* tyrimai parodė, kad fisetinas pasižymi stipriu antioksidaciniu aktyvumu, kuris pasireiškia tiek tiesioginiu laisvųjų radikalų surišimu, tiek ląstelių

antioksidacinės sistemos stiprinimu. Park et al. (2022) *Caenorhabditis elegans* modelyje nustatė, kad fisetinas reikšmingai sumažina intraceliulinį ROS kiekį ir padidina atsparumą oksidaciniam stresui, sukeltam vandenilio peroksidu. Šis poveikis buvo priklausomas nuo dozės ir lydimas statistiškai reikšmingo tiek vidutinės, tiek maksimalios gyvenimo trukmės pailgėjimo (86). Be to, fisetinas išsiskiria gebėjimu palaikyti intraceliulinio gliutationo (GSH) koncentraciją oksidacinio streso sąlygomis (4,82). GSH yra pagrindinis ląstelinis antioksidantas, kurio lygio sumažėjimas yra glaudžiai susijęs su senėjimu ir neurodegeneracija. Fisetino gebėjimas palaikyti GSH homeostazę laikomas viena iš priežasčių, kodėl jis efektyviai apsaugo neuronus nuo su amžiumi susijusios oksidacinės žalos (4,82). Gyvūnų modeliuose taip pat parodyta, kad fisetino antioksidacinis poveikis yra susijęs su realiais funkciniais ilgaamžiškumo rodikliais. Senų pelių modeliuose fisetinas sumažina lipidų peroksidacijos ir baltymų oksidacijos žymenis, kartu padidindamas antioksidacinių fermentų, tokių kaip superoksido dismutazė ir katalazė, aktyvumą. Šie pokyčiai buvo susiję su pailgėjusia gyvenimo trukme ir pagerėjusia sveikatos būkle (76).

Be to, fisetinas laikomas ne tik antioksidantu, bet ir senoterapiu junginiu, nes jis selektyviai mažina senescentinių ląstelių kaupimąsi, kurios yra reikšmingas lėtinio oksidacinio streso ir uždegimo šaltinis senstančiame organizme (68,69,71). Senescentinių ląstelių eliminacija mažina oksidacinę ir uždegiminę mikroaplinką audiniuose, taip netiesiogiai prisidedant prie ilgaamžiškumo ir sveiko senėjimo skatinimo. Prevencinėje medicinoje ypač svarbūs junginiai, galintys sumažinti su amžiumi susijusių ligų riziką dar iki struktūrinių audinių pažeidimų atsiradimo.

Caenorhabditis elegans modelyje nustatyta, kad fisetino vartojimas ne tik pailgina gyvenimo trukmę, bet ir pavėlina funkcinio senėjimo požymių atsiradimą, tokių kaip judrumo mažėjimas ir padidėjęs jautrumas oksidaciniam stresui (86). Tokie rezultatai yra ypač svarbūs prevencinės medicinos požiūriu, nes jie atspindi ne tik ilgaamžiškumą, bet ir sveikatos trukmės (angl. *healthspan*) pailgėjimą. Gyvūnų modeliuose taip pat parodyta, kad fisetinas sumažina su amžiumi susijusių neurodegeneracinių procesų riziką. Alzheimerio ligos ir Parkinsono ligos modeliuose fisetinas mažina neuronų degeneraciją, slopino neurouždegimą ir gerino kognityvinius rodiklius, o šie efektai buvo siejami su oksidacinio streso ir uždegiminių signalinių kelių slopinimu (81,86). Tokie duomenys leidžia svarstyti fisetino vartojimą kaip profilaktinę priemonę didelės rizikos grupėms, pavyzdžiui, asmenims su genetiniu polinkiu neurodegeneracinėms ligoms.

Personalizuotoje medicinoje didelis dėmesys skiriamas individualiems biologiniams skirtumams, tokiems kaip genetiniai veiksniai, metabolinis statusas ir streso atsako ypatumai. Fisetino poveikis ilgaamžiškumui ir ligų prevencijai yra glaudžiai susijęs su konkrečiais signaliniais keliais, kurių aktyvumas gali skirtis tarp individų. Park et al. (2022) parodė, kad fisetino sukeltas gyvenimo trukmės pailgėjimas *C. elegans* modelyje buvo priklausomas nuo DAF-16/FOXO ir SKN-1/Nrf2

transkriptinių faktorių aktyvumo. Šie keliai yra evoliuciškai natūralūs ir žmogaus organizme atlieka svarbų vaidmenį reguliuojant oksidacinį stresą, metabolizmą ir ląstelių išgyvenamumą (86).

Taigi, fisetino antioksidacinės savybės prisideda prie ilgaamžiškumo ne tik per tiesioginį ROS neutralizavimą, bet ir per sudėtingą signalinių kelių, susijusių su streso atsaku, metaboline homeostaze ir ląstelių senėjimu, reguliavimą. Toks įvairus veikimo mechanizmas išskiria fisetiną iš kitų flavonoidų ir pagrindžia jo potencialą ilgaamžiškumo tyrimų ir intervencijų kontekste.

2. TYRIMO METODIKA IR METODAI

2.1. Tyrime naudotos medžiagos

1. Fisetino sausasis ekstraktas, CHENG LANG BIO TECH CO, Kinija, serijos Nr. CL20240906
2. MKC Avicel® PH 102 E, Farmalabor, Italija, serijos Nr. R2000320
3. Akacijų sakai, Farmalabor, Italija, serijos Nr. R1913705
4. Aerosil® 200 PH, Farmalabor, Italija, serijos Nr. R2017310
5. Magnio stearatas, Molar Chemicals KFT, serijos Nr. CX0907918
6. Kietosios želatinos kapsulės, 1 dydžio;
7. Išgrynintas vanduo, VU MF laboratorija, Lietuva
8. Etanolis, VWR Chemicals, Prancūzija
9. Povidonas, Sigma-Aldrich, Vokietija, serijos Nr. 9003-39-8
10. Folin–Ciocalteu reagentas, Sigma-Aldrich, JAV
11. Galo rūgštis, Carl Roth, Vokietija
12. Natrio karbonatas, Carl Roth, Vokietija
13. DPPH, ThermoFisher (Kandel) GmbH, Vokietija
14. Troloksas, Acros Organics, Thermo Fisher Scientific, Belgija

2.2. Tyrimo priemonės

1. Analitinės svarstyklės, Kern ADB 200 – 4, Kern & Sohn GmbH, Vokietija, 0,0001 tikslumas;
2. Elektroninės svarstyklės, Scale House HDL 600, 0,001 tikslumas;
3. Elektrinė kaitlentė, OKKO HD 1011B Shaoxing Haoda Electrical Appliance Co., Ltd, Kinija;
4. Maišyklė, ERWEKA AR 403;
5. Grūstuvė;
6. Piestelė;
7. Matavimo stiklinė;
8. Džiovinimo spinta ESCO[®] Isotherm[®] OFA – 110 – 8;
9. Kapsulių pildymo mašinėlė ProFiller[®] 1100;
10. Tiesioginio tabletavimo mašina ERWEKA EP-1, Vokietija;
11. Tablečių ir kapsulių suirimo prietaisas Electrolab;
12. Analitinių siėtų rinkinys FILTRA VIBRACION FTL – 0200, Ispanija;
13. Sutankinimo aparatas, Electrolab ETD – 1020x, Indija;
14. Dilumo mašina, Electrolab EF – 2L, Indija;
15. Automatinės pipetės, CAPP bravo 2 – 20 µl, 20 – 200 µl, Danija;
16. Automatinės pipetės, Eppendorf research plus 10 – 100 µl, Vokietija;

2.3. Fisetino ekstrakto, MKC 102 ir fisetino granulių birumo nustatymas

Fisetino sausojo ekstrakto, mikrokristalinės celiuliozės Avicel® PH 102 ir fisetino granulių birumui įvertinti buvo naudojama Ph. Eur. reikalavimus atitinkanti *Electrolab tap density tester* įranga (5 pav.). Tyrimui pasverta po 50 g fisetino ekstrakto, po 80 g Avicel® PH 102 ir po 30 g kiekvienos serijos granulių elektroninėmis svarstyklėmis. Mėginiai laisvai, nepurtant, suberti į 250 ml tūrio cilindrą, fiksuojant pradinį birųjį tūrį (V_0). Vėliau mėginiai buvo sutankinami atliekant 250 mechaninių judesių, po kurių nustatytas galutinis tūris (V_f). Remiantis gautais duomenimis, pagal atitinkamas formules apskaičiuoti Carr indeksas ir Hausner santykis. Kiekvienas matavimas kartotas tris kartus, o rezultatai pateikti kaip vidutinės reikšmės. Granulių birumas buvo apskaičiuojamas pasitelkiant Carr indeksą ir Hausner santykį. Kiekvienos serijos granulių buvo atsverama po 30g elektroninėmis svarstyklėmis, o tolimesnė tyrimo eiga atitiko fisetino sausojo ekstrakto su MKC 102 birumo tyrimo eigą.



5 pav. *Electrolab tap density tester ETD-1020X 2203005*

2.4. Granulių mišinio paruošimas

Granulių gamybai naudota fisetino sausasis ekstraktas ir Avicel® PH 102. Reikalingi abiejų medžiagų kiekiai pasverta elektroninėmis svarstyklėmis (3 lentelė). Pasverti milteliai persijoti per sietą ir maišyti maišyklėje ERWEKA penkias minutes.

2.5. Drėkinamųjų skysčių paruošimas

Drėgnajai granuliacijai reikalingas drėkinamasis skystis gamintas iš povidono ir etanolio. Elektroninėmis svarstyklėmis pasverta 20 g povidono ir 100 g etanolio. Etanolis supiltas į stiklinę, o povidono milteliai, nuolat maišant, suberti dalimis, kol visiškai ištirpo.

2.6. Granulių gamyba drėgnos granuliacijos būdu

Miltelių mišinys grūstuvėje maišytas su drėkinamuoju skysčiu. Reikalingas drėkinamojo skysčio kiekis nustatytas eksperimentiškai. Palaipsniui pilant povidono etanolinį tirpalą ir piestele maišant miltelius, stebima, kada bus gauta tinkamos drėgmės granuliuojama masė. Drėgoji masė pertrinta per specialų sieta, norint išgauti granules. Gautos drėgnos granulės džiovinamos džiovinimo spintoje 40 °C temperatūroje 24 valandas.

3 lentelė. Granulių su sausuoju fisetino ekstraktu gamybai naudotos medžiagos.

Serija	Santykis fisetino ekstraktas: MKC	Sausojo fisetino ekstrakto kiekis, g	Avicel® PH 102 kiekis, g	20% etanolinio povidono tirpalo masė, g
1	50 : 50	50	50	72,94
2	60 : 40	60	40	68,45
3	70 : 30	70	30	66,38
4	80 : 20	80	20	66,57

2.7. Granulių frakcinės sudėties nustatymas

Granulių frakcinei sudėčiai įvertinti naudotas vibracinis sietų aparatas FILTRA VIBRACION FTL–0200 (6 pav.). Sietų akučių dydžiai pateikti 4 lentelėje.

Kiekvienos pagamintos granulių serijos frakcinė sudėtis tirta atskirai. Elektroninėmis svarstyklėmis atsverta 50 g granulių, kurios subertos ant viršutinio sieto ir sandariai uždengtos specialiu dangčiu. Paruoštas sietų komplektas buvo tvirtinamas prie aparato ir sijoamas 5 minutes.

Pasibaigus siojimo procesui, ant kiekvieno sieto, taip pat ir surenkamajame inde, likusios granulės buvo atskirai pasveriamos analitinėmis svarstyklėmis. Remiantis gautais duomenimis, apskaičiuotas granulių frakcinis pasiskirstymas, išreiškiant jį procentais.



6 pav. Analitinių sietų rinkinys FILTRA VIBRACION FTL – 0200

4 lentelė. Prietaiso FILTRA VIBRACION FTL – 0200 sietų angelių ir sulaikomų dalelių diametrai.

Sieto numeris	Angelių diametras, mm	Sulaikytų dalelių diametras, mm
1 (viršutinis sietas)	1,4	> 1,4
2	1	1,4 - 1
3	0,710	1 - 0,710
4	0,5	0,710 - 0,5
5	0,355	0,5 - 0,355
6	0,250	0,355 - 0,250
7	0,125	0,250 - 0,125
8	0,09	0,125 - 0,09
9 (surenkamasis indas)	< 0,09	< 0,09

2.8. Kapsuliavimas

Reikalingas granulių kiekis maišyklėje 5 min maišytos su pagalbinėmis medžiagomis – 0,5 % m/m Aerosil® 200 PH ir 1 % m/m Magnio stearatu.

Kapsuliavimui naudotos 1 dydžio kietosios želatinos kapsulės ir kapsulių pildymo mašinėlė ProFiller®, (7 pav.). Kapsulės įstatytos į kiekvieną mašinėlės angelę, po to mechanškai atskiriant kapsulės viršutinę dalį nuo apatinės. Viršutinės kapsulių dalys, esančios viršutinėje plokštelėje, pakeltos, o apatinės kapsulių dalys liko apatinėje plokštelėje.

Apatinės kapsulių dalys užpildytos paruoštu granulių mišiniu. Užpildžius kapsules, viršutinė plokštelė sujungiama atgal prie apatinės, taip uždariant kapsules. Siekiant užtikrinti tinkamą kapsulių užsidarymą, jos papildomai buvo atsargiai prispaudžiamos naudojant specialų presavimo įrankį.



7 pav. Kapsulių pildymo mašinėlė ProFiller®.

2.9. Tablečių gamyba tiesioginio tabletavimo būdu

Tablečių gamybai naudoti mišiniai (serija nr. 1-4) (žr. p. 2.9.). Tablečių gamybai buvo naudojama tabletavimo mašina Erweka EP-1 (8 pav.). Kiekvienos serijos tabletės buvo presuojamas 60 tab/min greičiu.



8 pav. Tabletavimo mašina Erweka EP-1, Vokietija.

2.10. Masės vienodumo nustatymas

Masės vienodumo tyrimas buvo atliekamas kiekvienai pagamintų tablečių ir kapsulių serijai, vadovaujantis Ph. Eur (Ph. Eur.) monografija. Svėrimai buvo atliekami naudojant analitines svarstyklės Kern ADB 200–4 (78), kurių matavimo tikslumas siekė 0,001 g.

Kapsulių masės vienodumui įvertinti pirmiausia pasverta pilnai užpildyta kapsulė. Vėliau kapsulė atidaryta, jos turinys išbertas, o tuščias kapsulės apvalkalas pasvertas atskirai. Kapsulės turinio masė buvo apskaičiuojama iš pilnos kapsulės masės atimant tuščio kapsulės apvalkalo masę. Tokiu pačiu būdu buvo įvertinta 20 atsitiktine tvarka atrinktų tos pačios serijos kapsulių.

Atlikus visus svėrimus, apskaičiuotas dvidešimtys kapsulių turinio masės vidurkis, taip pat nustatytos didžiausia ir mažiausia kapsulių masės reikšmės. Be to, kiekvienos kapsulės masės procentinis nuokrypis nuo apskaičiuoto vidurkio buvo įvertintas atskirai. Gauti rezultatai buvo lyginami su Ph. Eur. pateiktais masės vienodumo kriterijais (5 lentelė), pagal kuriuos nustatyta, ar kapsulės atitiko keliamus reikalavimus.

Atsitiktiniu būdu atrinktos 20 tos pačios serijos tablečių, iš kurių kiekviena buvo pasverta atskirai bei visos tabletės kartu. Remiantis gautais duomenimis, apskaičiuotas tablečių vidutinės masės dydis ir kiekvienos tabletės procentinis nuokrypis nuo šio vidurkio. Pagal Ph. Eur. pateiktus

vertinimo kriterijus (5 lentelė) buvo nustatyta, ar tirtos tabletės atitiko nustatytus masės vienodumo reikalavimus.

5 lentelė. Kietų farmacinių formų masės nuo bendros vidutinės tablečių masės procentinės nuokrypio ribos.

Farmacinė forma	Vidutinė masė	Procentinis nuokrypis
Tabletė (plėvele dengta ir nedengta)	80 mg ar mažiau	10 %
	Daugiau nei 80 mg, bet mažiau nei 250 mg	7,5 %
	250 mg ar daugiau	5 %
Kapsulės, granulės (nedengtos, vienadozės) ir milteliai (vienadoziai)	Mažiau nei 300 mg	10 %
	300 mg ar daugiau	7,5 %

2.11. Kapsulių ir tablečių suirimo nustatymas

Kapsulių ir tablečių suirimo tyrimui atlikti naudotas dezintegratorius ELECTROLAB EF-2W (9 pav.). Kiekvienai serijai tirti atrinktos šešios kapsulės arba tabletės atsitiktiniu būdu, kurios įdėtos į atskirus prietaiso stiklinius vamzdelius.

Įdėtos kapsulės ar tabletės buvo uždengiamos diskais, po to visi vamzdeliai panardinami į distiliuotą vandenį, kurio temperatūra palaikoma 37 ± 2 °C. Tyrimo metu suirimo įranga kilnojo stiklinius vamzdelius 28–32 ciklą per minutę greičiu.

Suirimo testas buvo atliekamas 15 minučių, viso bandymo metu vizualiai stebint kapsulių ir tablečių būklę ir fiksuotas laikas, per kurį kapsulės ar tabletės visiškai suirdavo. Remiantis *Ph. Eur.* pateiktais suirimo laiko vertinimo kriterijais, įvertinta, ar tiriamos kapsulės ir tabletės atitiko nustatytus reikalavimus.



9 pav. Dezintegratorius ELECTROLAB EF-2W.

2.12. Nedengtų tablečių dilumo nustatymas

Tablečių dilumo tyrimui atsitiktiniu būdu atrinkta 10 tos pačios serijos tablečių. Prieš atliekant bandymą, tabletės nuvalytos šepetėliu, siekiant pašalinti paviršiaus dulkes, ir nustatyta jų bendra masė, naudojant analitinės svarstyklės.

Pasvertos tabletės sudėtos į friabiliatoriaus būgną, po to aparatas įjungiamas. Bandymo metu būgnas sukosi 25 apsisukimų per minutę greičiu, o tyrimas truko 4 minutes. Pasibaigus nustatytam laikui, tabletės išimtos iš būgno, pakartotinai nuvalomos ir vizualiai įvertinamos, siekiant nustatyti, ar nėra mechaninių pažeidimų.

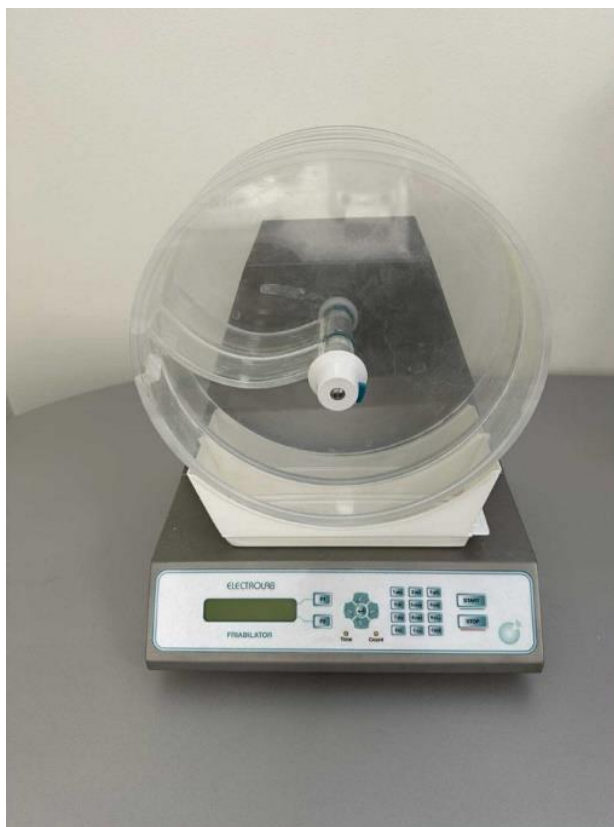
Tablečių dilumas (U) apskaičiuojamas pagal Ph. Eur. pateiktą formulę:

$$U = \frac{G_h - G_k}{G_h} \times 100\%$$

Tablečių atsparumas dilumui (P) apskaičiuojamas pagal formulę:

$$P = 100 - \frac{G_h - G_k}{G_h} \times 100\%$$

G_h – pradinė tablečių masė, g; G_k – masė po testo, g.



10 pav. *Tablečių dilumo nustatymo prietaisas Electrolab Friabilator EF-2W 2202169*

2.13. Suminio fenolinių junginių kiekio nustatymas Folin-Ciocalteu reagentu

Tyrimas atliktas pagal Harabi et al (2024) aprašytą metodiką (88) šiame tyrime bendras fenolinių junginių kiekis augalinėje žaliavoje nustatomas taikant Folin–Ciocalteu reagentą. Standartinių tirpalų ruošimas: 0,1 mL galo rūgšties etaloninio tirpalo sumaišoma su 6 mL distiliuoto vandens ir 0,5 mL Folin–Ciocalteu reagento, kuris prieš naudojimą praskiedžiamas distiliuotu vandeniu santykiu 1:10. Paruoštas mišinys laikytas tamsoje 8 minutes. Po inkubacijos į tirpalą įpilama 1,5 mL 20 % natrio karbonato tirpalo, sumaišyta ir papildyta distiliuotu vandeniu iki 10 mL tūrio. Toliau mišinys dar 15–20 minučių inkubuojamas tamsoje, kad susidarytų spalvinis kompleksas. Kontroliniam (nuliniam) tirpalui paruošti atliekama ta pati procedūra, tačiau be galo rūgšties. Optinis tankis nustatomas spektrofotometru, esant 765 nm bangos ilgiui. Gautos absorbcijos vertės braižomos atsižvelgiant į žinomą galo rūgšties koncentraciją ir sudaroma tiesinės regresijos lygtis.

Tiriamųjų mėginių paruošimas vykdomas tuo pačiu principu, tik vietoje galo rūgšties standartinių tirpalų naudojama 0,1 mL augalinės žaliavos ekstrakto. Kiekvieno ekstrakto matavimai atliekami trimis pakartojimais. Užfiksuotos absorbcijos reikšmės palyginamos su kalibracinės kreivės duomenimis ir pagal ją apskaičiuojamas bendras fenolinių junginių kiekis tiriamajame ekstrakte, išreiškiamas mg GAE/mL.

Bendras fenolinių junginių kiekis sausajame fisetino ekstrakte (mg GAE/g) apskaičiuojamas pagal atitinkamą formulę, įvertinant prieš analizę atliktą fisetino ekstraktų praskiedimą.

$$F = \frac{c \times V}{m}; mg \text{ GAE}/g$$

kur:

c – bendras fenolinių junginių kiekis tiriamajame ekstrakte (mg GAE/ml), nustatytas pagal kalibracinę kreivę (mg/mL);

V – pagaminto tiriamojo augalinės žaliavos ekstrakto tūris (mL);

m – ekstrakcijai naudotos augalinės žaliavos masė (g).

2.14. Antioksidacinio aktyvumo įvertinimas DPPH radikalų surišimo metodu

Tyrimas buvo atliktas remiantis Chen, Xiaoqiong, et al. (2022) aprašyta metodika, ją modifikuojant pagal kitų autorių taikytus tyrimo metodus (1,2,90). Antioksidacinis aktyvumas vertinamas nustatant tiriamų antioksidantų gebėjimą neutralizuoti DPPH radikalus. Pirmiausia paruošiamas darbinis DPPH tirpalas. Analitinėmis svarstyklėmis pasveriamas 0,0017 g DPPH reagento, kuris skiedžiamas 96 % (V/V) etanoliu, kol, matuojant spektrofotometru 1 cm storio tirpalo sluoksnį, esant 515 nm bangos ilgiui, šviesos absorbcija pasiekia $1,0 \pm 0,2$. Kontrolinis (lyginamasis) tirpalas ruošiamas sumaišant 10 µL 96 % etanolio su 3 mL paruošto darbinio DPPH tirpalo. Pirminis trolokso tirpalas gaunamas 0,025 g trolokso ištirpinus 96 % etanolyje ir tūriui papildžius iki 25 mL, taip paruošiant 1 mg/mL koncentracijos tirpalą. Kalibracinei kreivei sudaryti ruošiami skirtingų koncentracijų (0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1 mg/mL) trolokso etaloniniai tirpalai, kurie gaminami skiedžiant pirminį tirpalą. Kiekvienu atveju 10 µL etaloninio trolokso tirpalo sumaišoma su 3 mL darbinio DPPH tirpalo ir mišinys 30 minučių laikomas tamsioje vietoje kambario temperatūroje. Po inkubacijos matuojama absorbcija 515 nm bangos ilgyje ir sudaroma kalibracinė kreivė: Tiriamųjų mėginių analizė atliekama analogiškai: 10 µL augalinio ekstrakto sumaišoma su 3 mL DPPH tirpalo ir laikomasi tos pačios procedūros. Kiekvieno ekstrakto matavimai atliekami trimis pakartojimais. Nustatytos absorbcijos reikšmės lyginamos su kalibracinės kreivės duomenimis ir apskaičiuojamas tiriamojo ekstrakto antioksidacinis aktyvumas, išreiškiamas standartinio antioksidanto trolokso ekvivalentais (mg TE/mL). Antioksidacinis aktyvumas augalinėje žaliavoje, išreikštas trolokso ekvivalentais (mg TE/g), perskaičiuojamas taikant formulę, įvertinus prieš analizę atliktą ekstraktų skiedimą:

$$TEAG_{DPPH} = \frac{c \times V}{m}; mg \text{ TE}/g$$

kur:

c – tiriamojo ekstrakto antioksidacinis aktyvumas, išreikštas trolokso ekvivalentais (mg TE/ml), nustatytas iš kalibracinės kreivės.

V – pagaminto tiriamojo augalinės žaliavos ekstrakto tūris (mL);

m – ekstrakcijai naudotos augalinės žaliavos masė (g).

DPPH slopinimo procentinė išraiška apskaičiuojama taikant formulę:

$$DPPH \text{ slopinimas } \% = \frac{A(b) - A(a)}{A(b)} \times 100\% ;$$

kur:

$A(b)$ – palyginamojo tirpalo šviesos absorbcija;

$A(a)$ – tiriamojo tirpalo šviesos absorbcija.

2.15. Statistinė analizė

Tyrimo metu gauti duomenys buvo statistiškai analizuojami pasitelkiant programines sistemas IBM SPSS Statistics (31.0.2.0) ir MS Excel (16.107.1.). IBM SPSS Statistics buvo naudojama nepriklausomų imčių tarpusavio palyginimui, taikant neparametrinius statistinius metodus – Kruskal–Wallis bei Spearmano testus. Ši programa taip pat pasitelkta vidurkių ir standartinių paklaidų skaičiavimui. Atliekant Kruskal–Wallis ir Spearmano testus, skirtumai laikyti statistiškai reikšmingais, kai reikšmingumo lygis buvo mažesnis nei 0,05 ($p < 0,05$). Kapsulių ir tablečių masės procentinis pasiskirstymas, pavienių mėginių nuokrypiai nuo vidutinės masės bei granulių frakcinė sudėtis procentais buvo apskaičiuoti ir pateikti naudojant MS Excel (16.107.1) programą.

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Fisetino sausojo ekstrakto ir MKC (Avicel® PH 102) birumo vertinimas

Fisetino sausojo ekstrakto ir Avicel® PH 102 birumas vertintas apskaičiuojant Carr indeksą ir Hausner santykį. Šie rodikliai nustatomi išmatavus laisvai subertų (nususistovėjusių) miltelių tūrį (V_o) ir sutankintų (nususistovėjusių) miltelių tūrį (V_f). Tyrimo metu nustatyta, kad Avicel® PH 102 pasižymėjo blogu birumu – medžiaga sunkiai byrėjo ir lengvai lipo prie matavimo cilindro sienelių. Fisetino sausasis ekstraktas byrėjo sunkiai, stipriai prilipo prie cilindro sienelių, todėl po kiekvieno matavimo cilindrą reikėjo kruopščiai išvalyti, siekiant užtikrinti matavimo tikslumą. Abi tirtos medžiagos buvo vienalytės. Kiekvienos medžiagos birumo tyrimas atliktas trimis pakartojimais. Iš apskaičiuotų rezultatų vidurkių nustatyti fisetino sausojo ekstrakto ir MKC Carr indeksas bei Hausner santykis (6 lentelė).

6 lentelė. Fisetino sausojo ekstrakto ir MKC miltelių birumo rezultatai.

Medžiagos pavadinimas	Miltelių masė, g	V_o , ml	V_f , ml	Carr indeksas, %	Hausner santykis	Birumas
Fisetino sausasis ekstraktas	50,01 ± 0,06	180,67 ± 3,01	127,33 ± 1,15	29,51 ± 0,82	1,42 ± 0,02	Blogas
Avicel® PH 102	80,03 ± 0,01	218,00 ± 0,00	161,67 ± 0,56	25,84 ± 0,26	1,35 ± 0,01	Blogas

Buvo pagamintos 4 granulių serijos (11 pav.)



11 pav. Granulės su sausuoju fisetino ekstraktu.

Remiantis Ph. Eur. pateikta Carr indekso ir Hausner santykio vertinimo lentelė (žr. 7 lentelę), nustatyta, kad abi analizuotos medžiagos pasižymi prastu birumu. Gauti rezultatai rodo netinkamas miltelių reologines savybes. Siekiant pagerinti fisetino ekstrakto birumą ir technologines charakteristikas, pritaikytos pagalbinės medžiagos bei drėgnosios granuliacijos metodas. Fisetino

sausojo ekstrakto birumui gerinti drėgnųjų granulių gamybos metu buvo naudota MKC Avicel® PH 102 ir etanolinis povidono drėkinamasis tirpalas. Pagamintų granulių birumas buvo įvertintas, o gauti rezultatai pateikiami 8 lentelėje.

7 lentelė. Birumo vertinimas remiantis Eur. Ph. (74).

Carr indeksas %	Birumas	Hausner santykis
1 - 10	Puikus	1,00 - 1,11
11 - 15	Geras	1,12 – 1,18
16 - 20	Pakankamas	1,19–1,25
21 - 25	Vidutinis	1,26–1,34
26 - 31	Blogas	1,35–1,45
32 - 37	Labai blogas	1,46–1,59
> 38	Labai, labai blogas	>1,60

Aštuntoje lentelėje pateikti granulių birumo rezultatai.

8 lentelė. Fisetino ekstrakto su MKC granulių birumo rezultatai.

Serijos numeris	Granulių masė, g	Vo, ml	Vf, ml	Carr indeksas, %	Hausner santykis	Birumas
1	30,00	84,00	66,00	21,43±1,19	1,27±0,02	Vidutinis
2	30,00	90,00	70,67±0,58	21,48±0,64	1,27±0,01	Vidutinis
3	30,00	96,67±0,58	70,67±0,58	26,89±0,90	1,37±0,02	Blogas
4	30,00	100,67±0,58	78,33±0,58	22,19±0,52	1,29±0,01	Vidutinis

Gauti rezultatai rodo, kad milteliai, kurių Carr indeksas siekia 26–31 %, o Hausner santykis – 1,35–1,45, pasižymi prastu birumu. Tokį vertinimą pateikė R. L. Carr ir H. H. Hausner, kurių pasiūlyta klasifikacija plačiai taikoma farmacinėje praktikoje. Nustatyti fisetino ekstrakto ir Avicel® PH 102 rodikliai patenka į šį intervalą, todėl jie gali būti priskiriami prastą birumą turintiems milteliams. Panašius rezultatus aprašo ir Obarisiagbon (2018), kuris, tirdamas augalinės kilmės ekstraktus, nustatė, kad tokie milteliai dėl smulkių dalelių dydžio, nevienodos formos ir didelės

kohezijos dažnai pasižymi prastomis birumo savybėmis. Todėl galima teigti, kad šiame darbe gauti rezultatai atitinka literatūroje aprašytas augalinių ekstraktų technologines savybes (79). Prieš granuliaciją tiek fisetino ekstrakto, tiek MKC (Avicel® PH 102) milteliai pasižymėjo prastu birumu, tai sutampa su literatūroje aprašomomis smulkių dalelių pasiskirstymo problemomis (80). Atlikus drėgnąją granuliaciją nustatyta, kad granuliacinio skysčio kiekis turėjo reikšmingą įtaką granulių birumui – tabletavimo mišinio birumas pagerėjo.

Vertinant skirtingas serijas, nustatyta, kad didesnis granuliacinio skysčio kiekis gerino granulių birumą (mažesnis Carr indeksas), o mažiausias panaudotas kiekis (3 serija – 66,38 g etanolinio povidono tirpalo) lėmė prasčiausias birumo savybes. Tuo tarpu 1 serijoje, kur panaudota daugiau granuliacinio skysčio (72,94 g), nustatytas geresnis dalelių sukibimas. Siekiant kiekybiškai įvertinti ryšį tarp granuliacinio skysčio kiekio ir granulių birumo, buvo taikyta Spearmano koreliacijos analizė. Nustatyta labai stipri neigiama koreliacija ($\rho = -1,00$), rodanti, kad didėjant granuliacinio skysčio kiekiui Carr indekso reikšmės mažėja, t. y. gerėja granulių birumo savybės. Kadangi mažesnės Carr indekso reikšmės siejamos su geresniu birumu, šie rezultatai patvirtina, jog granuliacinio skysčio kiekis yra vienas svarbiausių veiksnių, lemiančių granulių technologines savybes.

Panašios tendencijos aprašomos ir kituose tyrimuose, kuriuose nurodoma, kad rišiklio kiekio didinimas gerina dalelių aglomeraciją, mažina smulkių frakcijų kiekį ir pagerina miltelių birumo charakteristikas (79,80). Tačiau per didelis rišamojo skysčio kiekis gali lemti per stiprų granulių sukibimą ir neigiamai veikti tolesnius technologinius procesus, todėl būtina optimizuoti granuliacijos sąlygas. Taip pat nustatyta, kad bandymai granuliuoti naudojant akacijų sakus nebuvo sėkmingi, nes granuliacinis skystis nesusimaišė su mišiniu, todėl šis rišiklis tolesniuose eksperimentuose nebuvo naudojamas. Atsižvelgiant į tai, buvo pasirinktas kitas rišiklis – povidonas. Atliekant bandymus buvo nuspręsta didinti povidono koncentraciją iki 20 %, tai įtakojo tinkamesnes granulių savybes. Remiantis gautais rezultatais, galima teigti, kad fisetinui tinkamas granuliacinis skystis yra 20 % etanolinis povidono tirpalas.

3.2. Drėgnosios granuliacijos būdu pagamintų granulių serijų įvertinimas

Siekiant pagerinti miltelių birumą, granulės buvo gaminamos drėgnosios granuliacijos būdu. Visų 4 serijų granulių gamyboje kaip drėkinamasis skystis buvo naudojamas etanolinis povidono tirpalas. Įvertinus granulių technologines savybes ir birumą (žr. 8 lentelę), nustatyta, kad visos granulių serijos buvo tinkamos tolesniam kapsulių ir tablečių formavimui, tačiau jų savybės skyrėsi. Geriausiomis birumo charakteristikomis pasižymėjo 1, 2 ir 4 serijų granulės, tuo tarpu 3 serijos granulės pasižymėjo prasčiausiu birumu, kas galėjo turėti įtakos tolesnių farmacinių formų kokybei.

3.3. Granulių frakcinės sudėties įvertinimas

Galutinio produkto kokybę lemia granuliavimo proceso parametrai, taip pat rišiklio, pagalbinių medžiagų ir augalinio ekstrakto kiekis granulėse. Ilgesnė drėgnosios masės maišymo trukmė bei lėtesnis drėkinamojo skysčio įvedimas gali sudaryti sąlygas tolygesniam komponentų pasiskirstymui ir siauresniam granulių dydžio intervalui (73). Plačiausias granulių dydžio pasiskirstymas nustatytas pirmoje ir antroje granulių serijoje. Siauriausias granulių dydžio pasiskirstymas nustatytas ketvirtoje serijoje, beveik 40% (38,2%) granulių buvo 1,4 – 1 mm diametro (9 lentelė).

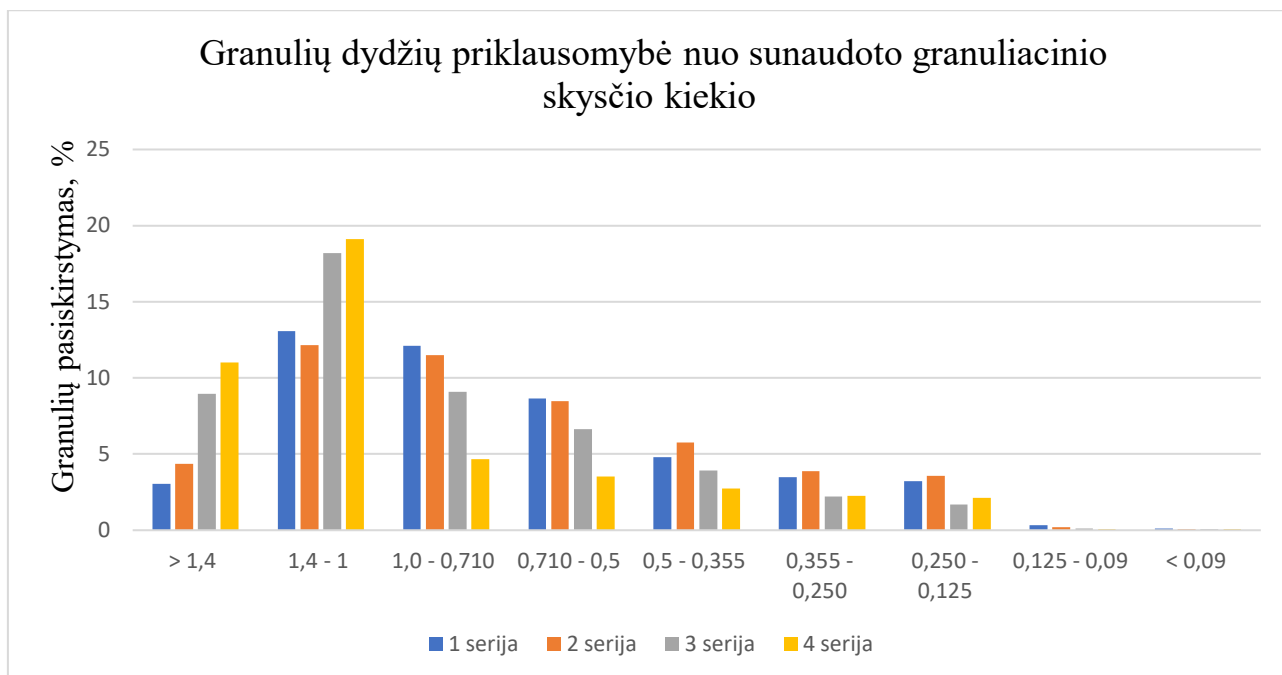
9 lentelė. Granulių serijų frakcinė sudėtis.

Granulių frakcinis pasiskirstymas (g)

Granulių diametras, mm		1 serija	2 serija	3 serija	4 serija
	> 1,4	3,04	4,38	7,96	11,01
	1,4 - 1	13,08	12,14	18,20	19,10
	1,0 - 0,710	12,12	10,50	8,11	4,65
	0,710 - 0,5	8,65	8,46	6,05	3,51
	0,5 - 0,355	4,81	5,75	3,91	2,73
	0,355 - 0,250	3,49	3,86	2,22	2,26
	0,250 - 0,125	3,21	3,59	1,70	2,11
	0,125 - 0,09	0,35	0,18	0,13	0,08
	< 0,09	0,13	0,08	0,09	0,05

Pastaba. Lentelėje paryškintos didžiausios granulių frakcijos (gramais).

Remiantis gautais rezultatais, matyti, jog visose serijose dominuoja 1,4 – 1 mm granulės. Pirmos serijos, kurioje augalinio ekstrakto ir MKC santykis 50 : 50, ir antros serijos, kurioje augalinio ekstrakto 60 % ir pagalbinės medžiagos 40 %, granulių frakcinis pasiskirstymas yra labai panašus.



12 pav. Granulių frakcinės sudėties priklausomybė nuo sunaudoto granuliacinio skysčio.

Rišamųjų ir drėkinamųjų medžiagų kiekis turi įtakos susidarančių granulių dydžiui, nes didėjant rišamosios medžiagos koncentracijai stiprėja dalelių tarpusavio sukibimas ir koalescencijos procesas (73). Įvertinus granulių frakcinę sudėtį (12 pav.), nustatyta, kad trečios ir ketvirtos serijų granulės pasižymėjo didesniu dalelių dydžiu, nors šiose serijose granuliacinio skysčio kiekis buvo mažesnis nei pirmoje ir antroje serijose (atitinkamai 66,38 g ir 66,57 g). Pirmos ir antros serijų granulės buvo smulkesnės ir pasižymėjo platesniu dalelių dydžio pasiskirstymu. Siekiant įvertinti, ar granulių dydžio pasiskirstymas statistiškai reikšmingai skiriasi tarp skirtingų serijų, buvo taikytas Kruskal–Wallis testas, lyginant keturių nepriklausomų imčių duomenis (1–4 serijų granulių frakcijų procentinį pasiskirstymą pagal dydį). Gauti rezultatai (9 lentelė) parodė, kad statistiškai reikšmingo skirtumo tarp serijų nenustatyta ($p = 0,845$). Granuliacinio skysčio kiekis neturėjo statistiškai reikšmingos įtakos granulių dydžio pasiskirstymui šiame tyrime, nors literatūroje nurodoma, kad rišiklio kiekis dažnai yra vienas svarbiausių veiksnių, lemiančių granulių dydį (73). Gauti rezultatai parodė, kad statistiškai reikšmingo granulių dydžio pasiskirstymo skirtumo tarp serijų nenustatyta ($p = 0,845$). Tai rodo, kad skirtingas granuliacinio skysčio kiekis neturėjo reikšmingos įtakos granulių frakciniam pasiskirstymui.

3.4. Pagamintų kapsulių ir tablečių vidutinės masės įvertinimas

Remiantis Ph. Eur., kapsulių, kurių masės vidurkis yra mažesnis nei 300 mg, yra kokybiškos, jei ne daugiau kaip dviejų kapsulių masės nukrypsta daugiau nei 10 % nuo apskaičiuoto vidurkio (10 lentelė). Masės vienodumo tyrimo rezultatai pateikti 10 lentelėje. Ph. Eur. kriterijų neatitiko ir leistiną 10 % nuokrypį viršijo trečia granulių serija, pagaminta iš 70 % sausojo fisetino ekstrakto ir 30 %

MKC, bei ketvirta serija kapsulių, pagaminta iš 80 % sausojo fisetino ekstrakto ir 20 % MKC. Didžiausia vidutinė kapsulės masė ($0,2433 \pm 0,007$ g) yra kapsulių, kurios užpildytos 1 serijos granulėmis. Mažiausia vidutinė masė ($0,2245 \pm 0,0174$ g) yra kapsulių, užpildytų 4 serijos granulėmis.



13 pav. 1 dydžio užpildytos želatininės kapsulės.

Kitame tyrime, kuriame buvo tiriamos kapsulės su *Curcuma mangga* ekstrakto granulėmis, nustatyta geresnis granulių birumas – Carr indeksas siekė 7,28–9,82 %, o Hausner santykis 1,08–1,11 (91). Tokie rezultatai rodo, kad granulių forma gali reikšmingai pagerinti ekstrakto birumo savybes.

10 lentelė. Kapsulių vidutinė masė.

Kapsulių serija	20 kapsulių masė, g	Vidutinė vienos kapsulės masė, g (standartinis nuokrypis)	Minimali masė, g	Maksimali masė, g	Minimalus nuokrypis, %	Maksimalus nuokrypis, %
1	4,87	$0,24 \pm 0,01$	0,23	0,26	0,04	5,96
2	4,51	$0,23 \pm 0,01$	0,20	0,24	0,01	9,96
3	4,73	$0,24 \pm 0,01$	0,22	0,26	0,37	11,68
4	4,49	$0,22 \pm 0,02$	0,19	0,25	0,25	14,55

Pastaba. Lentelėje paryškintos kapsulių serijos neatitiko masės vienodumo tyrimo rezultatus.

Remiantis 11 lentelėje nurodytais duomenimis, nustatyta, jog tik pirmoji tablečių serija atitiko Ph. Eur. keliamus reikalavimus tablečių masės vienodumui. Didžiausias maksimalus nuokrypis nuo masės vidurkio yra 4-oje tablečių serijoje. Mažiausias maksimalus masės nuokrypis nuo vidurkio nustatytas 1-oje serijoje. Nustatyti tablečių masės vienodumo skirtumai tarp serijų gali būti siejami su granulių fizikinėmis savybėmis, ypač jų birumu ir dalelių dydžio pasiskirstymu. Kaip

nurodo Kotamarchy et al. (2024), per didelis smulkių dalelių kiekis gali lemti prastą granulių birumą ir sukelti tablečių masės variaciją dėl netolygaus matricos užsipildymo (92). Taip pat nustatyta, kad granulių dalelių dydžio pasiskirstymas ir smulkių frakcijų kiekis tiesiogiai veikia tolesnius procesus, tokius kaip tabletavimą ir tūrio vienodumą. Be to, Chivte et al. (2025) pabrėžia, kad granuliacija yra esminis etapas, lemiantis miltelių birumo savybes, suspaudžiamumą ir vienodą dozės pasiskirstymą, todėl netinkamos granulių savybės gali lemti tablečių masės netolygumus (87).

Svarbu pažymėti, kad augalinės kilmės ekstraktai pasižymi didesniu fizinių savybių kintamumu, kuris apsunkina tablečių gamybą. Qusaj et al. (2012) teigia, kad dėl natūralios žaliavos įvairovės ir prastų tabletavimo savybių augaliniai ekstraktai dažnai lemia sudėtingesnę dozavimo tikslumo užtikrinimą bei didesnę galutinių tablečių masės variaciją (54). Todėl galima teigti, kad šiame darbe nustatyti masės neatitikimai yra susiję tiek su granulių birumo charakteristikomis, tiek su augalinio ekstrakto prigimtimi, kuri didina technologinio proceso jautrumą ir apsunkina tolygų matricos užpildymą tabletavimo metu.



14 pav. Pagamintos tabletės su sausuoju fisetino ekstraktu.

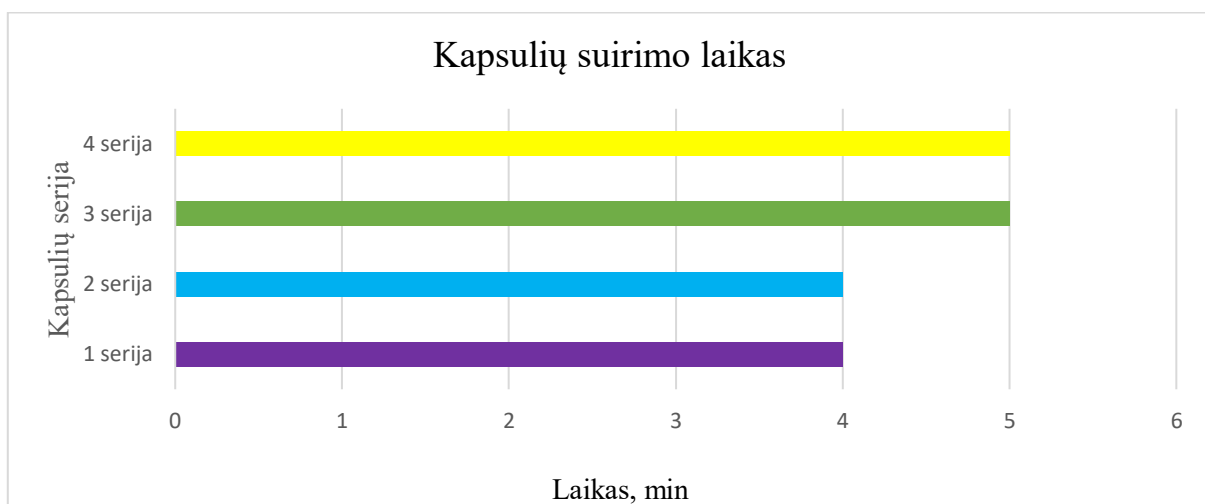
11 lentelė. Tablečių vidutinė masė.

Tablečių serija	20 tablečių masė, g	Vidutinė vienos tabletės masė, g	Minimali masė, g	Maksimali masė, g	Minimalus nuokrypis, %	Maksimalus nuokrypis, %
1	8,58	0,43±0,01	0,41	0,45	0,20	4,26
2	9,33	0,47±0,02	0,43	0,49	0,07	8,42
3	8,02	0,40±0,02	0,38	0,44	0,09	9,23
4	10,08	0,50±0,03	0,46	0,58	0,51	16,09

Pastaba. Lentelėje paryškintos tablečių serijos neatitiko masės vienodumo tyrimo rezultaty.

3.5. Pagamintų kapsulių ir tablečių suirimo įvertinimas

Suirimo laikas yra reikšmingas kokybės parametras, turintis esminę įtaką veikliųjų ir pagalbinių medžiagų atsipalaidavimui organizme, jų bioprieinamumui bei absorbcijai (78). Vadovaujantis Ph. Eur. nustatytais reikalavimais, kapsulės ir nedengtos tabletės turi suirti ne ilgiau kaip per 15 minučių. Šiame tyrime buvo analizuotos keturios kapsulių ir keturios tablečių serijos. Visų esančių serijų kapsulės ištirpo greičiau nei per 5 minutes. Pirmos serijos kapsulės (santykis 50 % fisetino ekstrakto su 50 % MKC) ir antros serijos kapsulės (santykis 70 % fisetino ekstrakto su 30 % MKC) suiro greičiau nei per 4 min. Trečios serijos (santykis 60 % fisetino ekstrakto su 40 % MKC) ir ketvirtos serijos (santykis 80 % fisetino ekstrakto su 20 % MKC) suiro greičiau nei per 5 min.



15 pav. Kapsulių suirimo laikas.

12 lentelė. Tablečių suirimo laikas.

Tablečių serija	1 bandymas (suirusių tablečių kiekis)	2 bandymas (suirusių tablečių kiekis)	3 bandymas (suirusių tablečių kiekis)	Iš viso suirusių tablečių kiekis	Ar atitinka reikalavimus (<15 min.)?
1	6	6	6	18	Taip
2	6	5	5	16	Taip
3	3	5	4	12	Ne
4	0	0	0	0	Ne

Pirmos ir antros tablečių serijos tirpumas atitiko Ph. Eur. keliamus reikalavimus tablečių tirpumui. Visos pirmos serijos tabletės ištirpo per 15 minučių. Iš 18 antros serijos tablečių ištirpo 16

tablečių. Trečios ir ketvirtos tablečių serijos neatitiko Ph. Eur. keliamus reikalavimus. Bandymai buvo kartojami po 3 kartus. Joanna Szymczak ir Judyta Cielecka-Piontek straipsnyje nurodyta, jog fisetinas sunkiai tirpsta vandenyje. Didelis fisetino ekstrakto kiekis tabletėse gali turėti įtakos jų suirimui (1).

3.6. Tablečių dilumo vertinimas

13 lentelėje pateikiami duomenys apie tablečių dilumą ir atsparumą nusitrynimui.

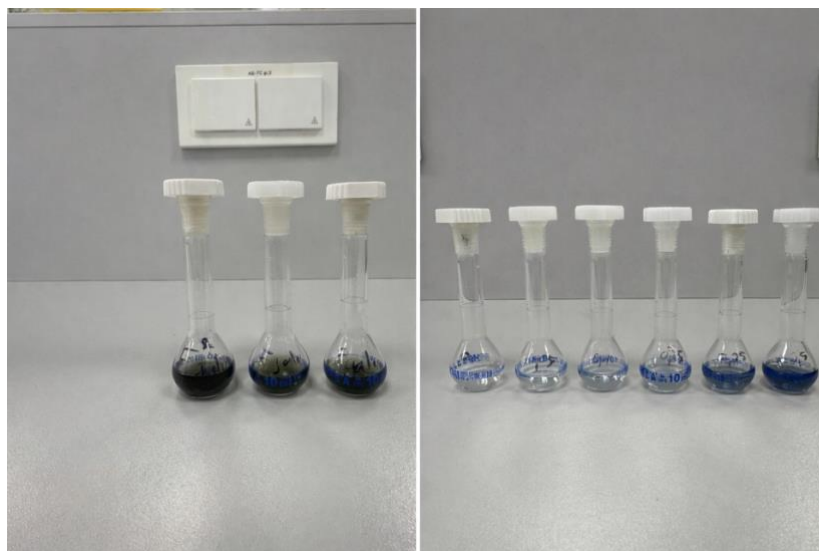
13 lentelė. Tablečių atsparumas dilumui ir nusitrynimui.

Tablečių serija	10 tablečių svoris prieš tyrimą, g	10 tablečių svoris po tyrimo, g	Dilumas, %	Atsparumas nusitrynimui, %
1	4,29	4,28	0,14	99,86
2	4,68	4,67	0,14	99,86
3	4,04	4,04	0,13	99,87
4	5,10	5,09	0,18	99,82

Po dilumo bandymo kiekviena tabletė papildomai įvertinta vizualiai, siekiant nustatyti galimus mechaninius pažeidimus. Nustatyta, kad visos tirtos tablečių serijos atitiko Ph. Eur (Ph. Eur.) reikalavimus – nei vienos serijos dilumas neviršijo leistinos 1 % ribos. Tyrimo metu nustatyta, kad tablečių dilumas svyravo nuo 0,13 iki 0,18 %, kas rodo labai gerą mechaninį atsparumą. Tokios reikšmės leidžia teigti, kad tabletės yra pakankamai atsparios mechaniniam poveikiui gamybos, transportavimo ir laikymo metu. Panašius rezultatus aprašė Shrivastav et al. (2023), kurie nustatė, kad tablečių su flavanoidais masės sumažėjimas po dilumo bandymo siekė 0,35–0,48 % (89). Tuo tarpu Chavan et al. (2020) teigė, kad augalinių ekstraktų tabletėse dilumas gali siekti 0,81–1,8 %, ir tokios reikšmės vis dar laikomos priimtinomis vertinant tablečių fizines savybes (10).

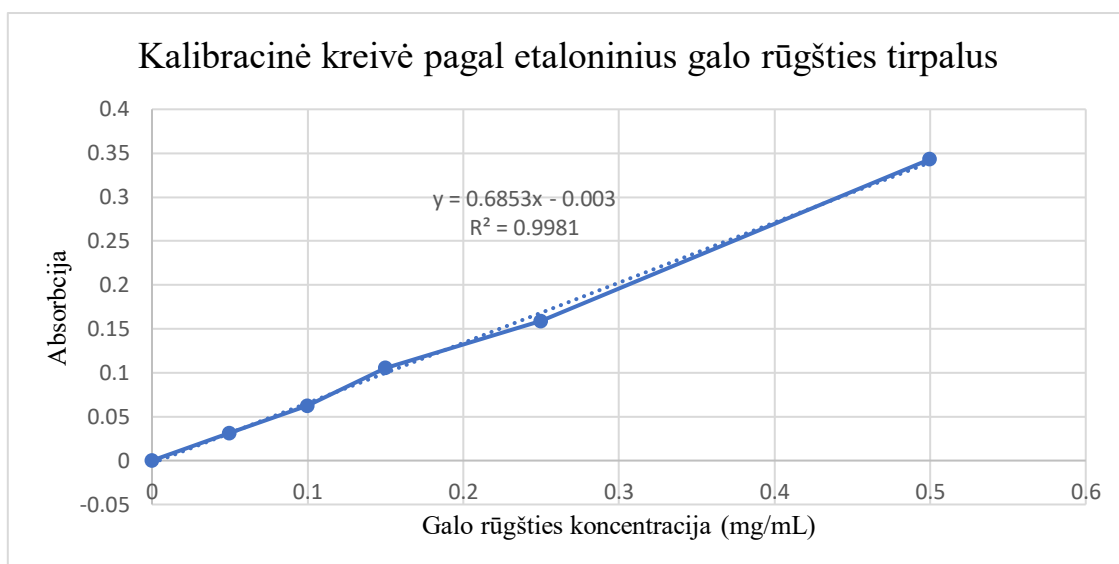
3.7. Suminio fenolinių junginių kiekio nustatymas sausajame fisetino ekstrakto

Remiantis 2.13. skyriuje pateikta metodika, kalibracinei kreivei sudaryti buvo paruošti tirpalai su Folin–Ciocalteu reagentu ir galo rūgštimi. Tyrimo metu nustatytas ryškus spalvos pokytis: kontrolinis tirpalas be galo rūgšties išliko visiškai skaidrus, o didėjant galo rūgšties koncentracijai tirpaluose, mėlynos spalvos intensyvumas didėjo. Šis spalvinis pokytis susijęs su reakcija tarp Folin–Ciocalteu reagento ir fenolinių junginių (šiuo atveju – galo rūgšties), kurios metu susidaro chromogeniniai kompleksai. Spalvos intensyvumas yra tiesiogiai proporcingas fenolinių junginių kiekiui tirpale (79).



16 pav. Sausojo fisetino ekstrakto ir galo rūgšties standartiniai tirpalai.

Sudarant kalibracinę kreivę iš etaloninių galo rūgšties tirpalų nustatyta tiesinė priklausomybė tarp galo rūgšties koncentracijos ir absorbcijos, matuotos 765 nm bangos ilgyje (17 pav.). Gauta tiesinės regresijos lygtis: $y = 0,6853x - 0,003$. Determinacijos koeficientas $R^2 = 0,9981$ rodo labai stiprią koreliaciją tarp absorbcijos ir galo rūgšties koncentracijos, taip pat patvirtina kalibracinės kreivės patikimumą. Remiantis šia kreive galima apskaičiuoti fenolinių junginių kieki ekstraktuose, išreikštą galo rūgšties ekvivalentais (mg GAE/mL), pagal išmatuotas absorbcijos reikšmes.



17 pav. Kalibracinė kreivė sudaryta pagal etaloninius galo rūgšties tirpalus ir išmatuotą šviesos absorbciją.

Nustatyta, kad žaliavose, kurios buvo paruoštos su 96%, 70% ir 40% etanoliniais ekstraktais, fenolinių junginių kiekis, perskaičiuotas pagal 2.13. skyriuje pateiktą formulę ir rezultatai pateikti 14 lentelėje.

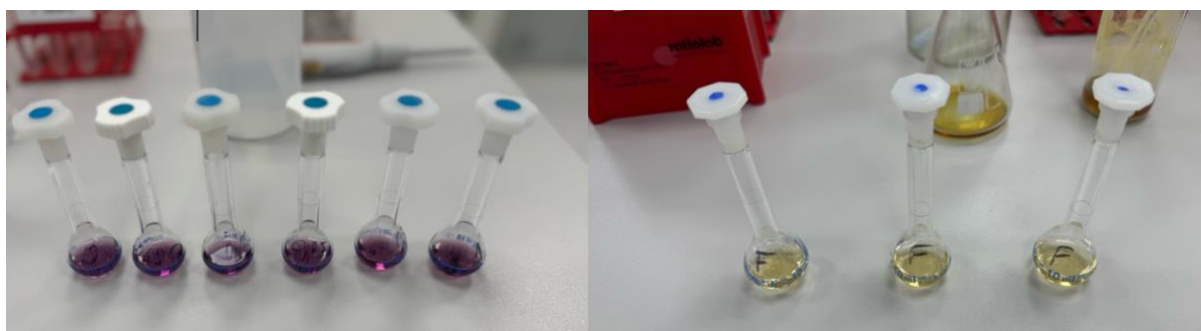
14 lentelė. Bendras fenolinių junginių kiekis skirtinguose etanoliniuose fisetino tirpaluose.

Tirpiklis	Bendras fenolinių junginių kiekis (mg GAE/g)
96 % etanolis	17,38 ± 0,60
70 % etanolis	20,21 ± 0,63
40 % etanolis	15,33 ± 0,16

Atlikus Spearmano koreliacijos analizę nustatyta vidutinio stiprumo teigiama koreliacija tarp etanolio koncentracijos ir fenolinių junginių kiekio ($p = 0,50$), tačiau šis ryšys nebuvo statistiškai reikšmingas ($p = 0,667$). Tai rodo, kad didėjant etanolio koncentracijai fenolinių junginių kiekis turi tendenciją didėti, tačiau ši priklausomybė šiame tyrime nebuvo patvirtinta. Panašias tendencijas aprašo ir kiti autoriai, nurodydami, kad fenolinių junginių ekstrakcijos efektyvumas priklauso nuo tirpiklio poliarumo, o optimalus rezultatas dažniausiai pasiekiamas naudojant vidutinės koncentracijos etanolį. Kaip pažymi Qusaj et al. (2012), augalinių ekstraktų sudėtis ir išgaunamų junginių kiekis gali reikšmingai kisti dėl natūralios žaliavos variabilumo bei ekstrakcijos sąlygų (54).

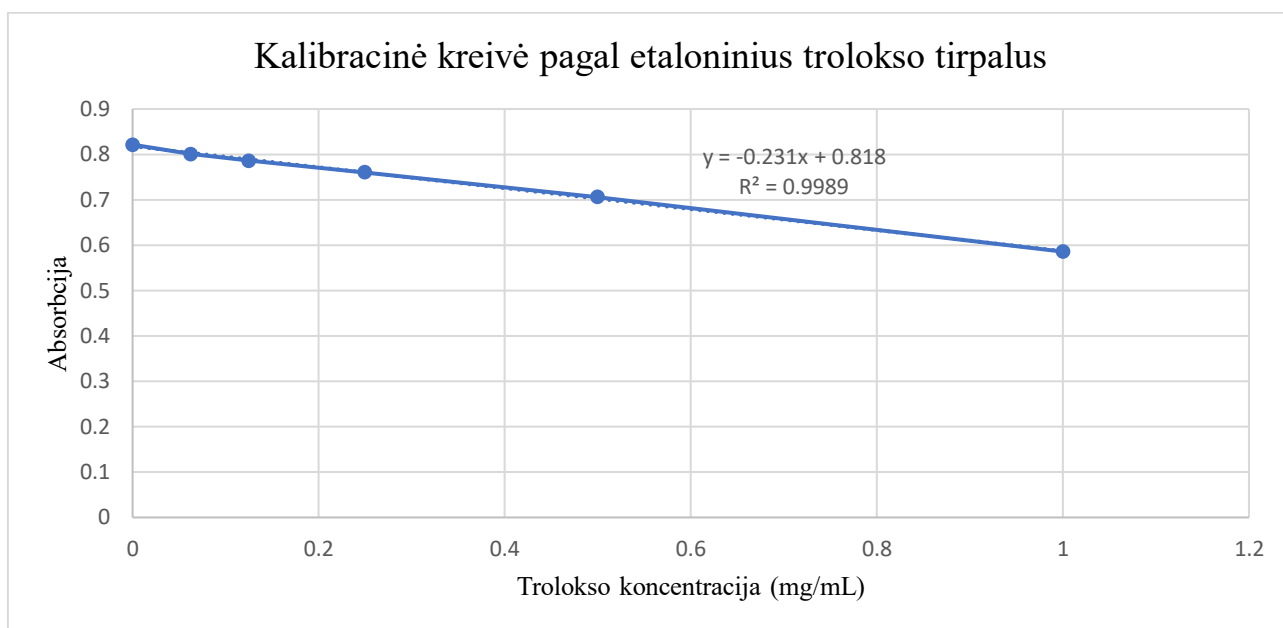
3.8. Antioksidacinio aktyvumo nustatymas DPPH metodu sausajame fisetino ekstrakte

Remiantis 2.14. skyriuje pateikta metodika, kalibracinei kreivei sudaryti buvo paruošti etaloniniai tirpalai, naudojant darbinį DPPH tirpalą ir skirtingų koncentracijų troloksos tirpalus. Tiriamųjų tirpalų spalvos intensyvumo sumažėjimas, pastebėtas 0,5 ir 1,0 koncentracijos mėginiuose, yra susijęs su DPPH radikalų redukcija, kurią lemia tirpale esantis antioksidantas troloksas. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazilis) yra stabili laisvojo radikalo forma, tirpale pasižyminti intensyvia violetine spalva dėl nesuporuotų elektronų. Reaguodamas su antioksidantais, tokiais kaip troloksas, DPPH redukuojamas į neaktyvią formą, todėl tirpalo spalva palaipsniui šviesėja ir įgauna gelsvą atspalvį (83) (18 pav.).



18 pav. Etaloniniai trolokso tirpalai kalibracinės kreivės sudarymui ir tiriamieji fisetino tirpalai.

Kalibracinė kreivė, sudaryta iš etaloninių trolokso tirpalų, parodė tiesinę priklausomybę tarp trolokso koncentracijos ir absorbcijos, išmatuotos 515 nm bangos ilgyje (19 pav.). Apskaičiuota tiesinės regresijos lygtis: $y = -0,231x + 0,818$. Determinacijos koeficientas $R^2 = 0,9989$ rodo labai stiprią koreliaciją tarp absorbcijos reikšmių ir trolokso koncentracijos bei patvirtina kalibracinės kreivės patikimumą. Remiantis šia kreive galima kiekybiškai nustatyti ekstraktų antioksidacinį aktyvumą, išreiškiant jį trolokso ekvivalentais (mg TE/mL), pagal išmatuotas absorbcijos reikšmes.



19 pav. Kalibracinė kreivė sudaryta pagal etaloninius trolokso tirpalus ir išmatuotą šviesos absorbciją.

Žaliavoje, iš kurios buvo paruošti etanoliai ekstraktai, antioksidacinis aktyvumas, perskaičiuotas pagal 2.14. skyriuje pateiktą formulę ($TEAG_{DPPH}$) ir vėliau apskaičiuotas $DPPH$ slopinimas % (15 lentelė).

15 lentelė. Antioksidacinis aktyvumas skirtinguose fisetino etanoliniuose tirpaluose.

Tirpiklis	DPPH slopinimas (%)	Antioksidacinis aktyvumas (mg TE/g)
96 % etanolis	87,73 ± 6,52	62,00 ± 4,60
70 % etanolis	93,56 ± 0,49	66,20 ± 0,40
40 % etanolis	89,39 ± 7,34	63,20 ± 5,20

Siekiant palyginti gautus rezultatus su kitais tyrimais, pažymėtina, kad literatūroje dažnai nurodoma, jog fenolinių junginių kiekis yra susijęs su antioksidaciniu aktyvumu. Pavyzdžiui, nustatyta, kad augaliniuose produktuose didesnis fenolinių junginių kiekis siejamas su didesniu

antioksidaciniu aktyvumu (78). Taip pat pabrėžiama, kad fenoliniai junginiai pasižymi antioksidacinėmis savybėmis ir yra svarbūs augalinių ekstraktų bioaktyvūs komponentai (82). Vis dėlto, skirtingai nei daugelyje literatūros šaltinių, šiame tyrime statistiškai reikšmingas ryšys nenustatytas, kas gali būti susiję su mažu imties dydžiu ar eksperimentinių sąlygų įtaka.

Apibendrinant technologinių savybių tyrimus, nustatyta, kad tiek fisetino sausasis ekstraktas, tiek MKC (Avicel® PH 102) pasižymėjo prastu birumu, tai įrodo aukštos Carr indekso ir Hausner santykio reikšmės. Tokie rezultatai rodo didelę dalelių koheziją ir prastas birumo savybes, būdingas smulkiems milteliams. Literatūroje nurodoma, kad milteliai, kurių Carr indeksas viršija 25 %, pasižymi prastu birumu ir nėra tinkami tiesioginiam tablečių formavimui be papildomo apdorojimo (92).

Atlikus drėgnąją granuliaciją nustatyta, kad granulių birumas pagerėjo, o didesnis granuliacinio skysčio kiekis lėmė geresnes birumo savybes. Tai atitinka literatūroje aprašomus dėsningumus, kad rišikliai skatina dalelių aglomeraciją, mažina smulkių dalelių kiekį ir pagerina miltelių birumą (92). Vertinant galutines farmacines formas nustatyta, kad kapsulės pasižymėjo geresniu masės vienodumu nei tabletės. Tablečių neatitikimai gali būti siejami su prastesniu granulių birumu ir netolygiu matricos užsipildymu, kas literatūroje aprašoma kaip dažna problema dirbant su augalinės kilmės ekstraktais (79).

Tablečių suirimo rezultatai parodė, kad didesnis fisetino ekstrakto kiekis gali bloginti suirimą. Tai gali būti susiję su prastu veikliosios medžiagos tirpumu vandenyje, kuris yra svarbus veiksnys, lemiantis vaisto formos suirimą ir veikliųjų medžiagų atsipalaidavimą (83).

Fenolinių junginių ir antioksidacinio aktyvumo tyrimai parodė, kad geriausi rezultatai gauti naudojant 70 % etanolį. Literatūroje nurodoma, kad fenolinių junginių ekstrakcijos efektyvumas priklauso nuo tirpiklio poliškumo, todėl skirtingos etanolio koncentracijos gali lemti skirtingą išgaunamų junginių kiekį (84). Taip pat šiame tyrime nustatyta teigiama tendencija tarp fenolinių junginių kiekio ir antioksidacinio aktyvumo, kas iš dalies sutampa su kitų autorių duomenimis (78), jog fenoliniai junginiai reikšmingai prisideda prie antioksidacinio poveikio.

IŠVADOS

1. Nustatyta, kad didžiausias fisetino ekstrakto antioksidacinis aktyvumas (66,20 mg TE/g) ir fenolinių junginių kiekis (20,21 mg GAE/g) buvo užfiksuoti naudojant 70 % etanolį.
2. Parinkus tinkamas pagalbines medžiagas ir rišiklius, sėkmingai pagamintos fisetino granulės bei kietos farmacinės formos – tabletės ir kapsulės. Granulės pasižymėjo geresnėmis takumo savybėmis nei miltelių mišinys (mažesnis Carr indeksas ir Hausner santykis). Granulių frakcinis pasiskirstymas parodė, kad visose serijose dominavo 1,4–1 mm frakcijos.
3. Masės vienodumo testas parodė, kad 1 ir 2 kapsulių serijos bei 1 tablečių serija atitiko Ph. Eur reikalavimus. Suirimo testas parodė, kad 1 ir 2 tablečių serijos bei visos kapsulių serijos atitiko Ph. Eur reikalavimus. Dilumo testas parodė, kad visos tablečių serijos atitiko Ph. Eur reikalavimus.

PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

1. Drėgnajai granuliacijai su fisetinu ir mikrokristaline celiulioze kaip drėkinamąjį skystį galima naudoti 20 % etanolinį povidono tirpalą.
2. Rekomenduojama granulių gamyboje su povidonu naudoti ne didesnę kaip 80 % fisetino ekstrakto ir 20 % mikrokristalinės celiuliozės santykį, siekiant užtikrinti tinkamas technologines savybes.

PADĖKA

Už nuoširdžias konsultacijas ir vertingus patarimus dėkoju mokslinio darbo vadovei asist. dr. Rasai Kalėdaitei. Už pagalbą laboratorijoje dėkoju laborantui Edgarui Vasiljevui ir Monikai Jokūbaitei.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Szymczak J, Cielecka-Piontek J. *Fisetin—In Search of Better Bioavailability—From Macro to Nano Modifications: A Review*. International Journal of Molecular Sciences [Internet]. 2023 Sep 15 [cited 2025 Apr 10];24(18):14158. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/18/14158/htm>
2. Imran M, Saeed F, Gilani SA, Shariati MA, Imran A, Afzaal M, et al. *Fisetin: An anticancer perspective*. Food Sci Nutr [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2025 Apr 10];9(1):3–16. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/fsn3.1872>
3. Sari EN, Soysal Y. *Molecular and Therapeutic Effects of Fisetin Flavonoid in Diseases*. J Basic Clin Health Sci [Internet]. 2020 [cited 2025 Apr 10];4:190–6. Available from: <https://doi.org/10.30621/jbachs.2020.1171>
4. Maher P. *Preventing and Treating Neurological Disorders with the Flavonol Fisetin*. Brain Plasticity. 2020 Jun 23;6(2):155–66.
5. Pal HC, Pearlman RL, Afaq F. *Fisetin and its role in chronic diseases*. Adv Exp Med Biol [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2025 Apr 10];928:213–44. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-41334-1_10
6. Naeimi AF, Alizadeh M. *Antioxidant properties of the flavonoid fisetin: An updated review of in vivo and in vitro studies*. Trends Food Sci Technol. 2017 Dec 1;70:34–44.
7. Kumar R, Khurana N, Sharma N, Khurana S, Kumar R, Pandey NK, et al. *Formulation of liquisolid powder of fisetin*. European Journal of Molecular & Clinical Medicine.
8. Dzakwan M, Priyanto W. *Inovasi sediaan oral fisetin dengan teknologi smart edible paper*. Journal of Pharmacopolium [Internet]. 2019 [cited 2025 Apr 11];2(3):130–6. Available from: https://ejurnal.universitاسbth.ac.id/index.php/P3M_JoP/article/view/536
9. Sundarraj K, Raghunath A, Perumal E. A review on the chemotherapeutic potential of fisetin: In vitro evidences. Biomed Pharmacother. 2018 Jan;97:928–940. doi: 10.1016/j.biopha.2017.10.164. Epub 2017 Nov 7. PMID: 29136771.
10. Chavan P, Kalshetti M, Navindgikar N. Formulation and evaluation of herbal tablets containing *Nyctanthes arbor-tristis* leaves. Int J Curr Pharm Res. 2020;12(3):22–24. doi:10.22159/ijcpr.2020v12i3.38299.
11. Antika LD, Dewi RM. Pharmacological aspects of fisetin. Asian Pac J Trop Biomed. 2021;11(1):1–9. doi:10.4103/2221-1691.300726.
12. Gryniewicz G, Demchuk OM. New Perspectives for Fisetin. Front Chem. 2019 Oct 30;7:697. doi: 10.3389/fchem.2019.00697. PMID: 31750288; PMCID: PMC6842927.

13. Bartels M, Duffy C, Beland H. Pathophysiology, medical management, and acute rehabilitation of stroke survivors. In: Stroke rehabilitation. Elsevier; 2016. doi:10.1016/B978-0-323-17281-3.00001-0.
14. Zhong R, Farag MA, Chen M, He C, Xiao J. Recent advances in the biosynthesis, structure-activity relationships, formulations, pharmacology, and clinical trials of fisetin. *eFood*. 2022;3:e3. doi:10.1002/efd2.3.
15. Rodriguez A, Strucko T, Stahlhut SG, Kristensen M, Svenssen D, Forster J, et al. Metabolic engineering of yeast for fermentative production of flavonoids. *Bioresour Technol*. 2017;245:1645–1654. doi:10.1016/j.biortech.2017.06.043.
16. Stahlhut SG, Siedler S, Malla S, Harrison SJ, Maury J, Neves AR, Forster J. Assembly of a novel biosynthetic pathway for production of the plant flavonoid fisetin in *Escherichia coli*. *Metab Eng*. 2015 Sep;31:84-93. doi: 10.1016/j.ymben.2015.07.002. Epub 2015 Jul 17. PMID: 26192693.
17. Crocetto F, di Zazzo E, Buonerba C, Aveta A, Pandolfo SD, Barone B, Trama F, Caputo VF, Scafuri L, Ferro M, et al. Kaempferol, Myricetin and Fisetin in Prostate and Bladder Cancer: A Systematic Review of the Literature. *Nutrients*. 2021; 13(11):3750. <https://doi.org/10.3390/nu13113750>
18. Kubina R, Iriti M, Kabała-Dzik A. Anticancer Potential of Selected Flavonols: Fisetin, Kaempferol, and Quercetin on Head and Neck Cancers. *Nutrients*. 2021; 13(3):845. <https://doi.org/10.3390/nu13030845>
19. Veiko AG, Sekowski S, Olchowik-Grabarek E, et al. Molecular structure and interactions of flavonols with liposomal membranes. *Research Square* [Preprint]. 2024. doi:10.21203/rs.3.rs-4477073/v1.
20. Maurya BK, Trigun SK. Fisetin Modulates Antioxidant Enzymes and Inflammatory Factors to Inhibit Aflatoxin-B1 Induced Hepatocellular Carcinoma in Rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:1972793. doi: 10.1155/2016/1972793. Epub 2015 Nov 22. PMID: 26682000; PMCID: PMC4670673.
21. Raygude K, Ghosh P, Bodhankar S. Anticonvulsant effect of fisetin by modulation of endogenous biomarkers. *Biomed Prev Nutr*. 2012. doi:10.1016/j.bionut.2012.04.005.
22. Nabizadeh Z, Nasrollahzadeh M, Shabani AA, et al. Evaluation of the anti-inflammatory activity of fisetin-loaded nanoparticles in an in vitro model of osteoarthritis. *Sci Rep*. 2023;13:15494. doi:10.1038/s41598-023-42844-1.
23. Sinha M, Gautam L, Shukla PK, Kaur P, Sharma S, Singh TP. Current perspectives in NSAID-induced gastropathy. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:258209. doi: 10.1155/2013/258209. Epub 2013 Mar 12. PMID: 23576851; PMCID: PMC3610380.

24. Prasad, S. and Aggarwal, B.B. (2014) Chronic Diseases Caused by Chronic Inflammation Require Chronic Treatment: Anti-Inflammatory Role of Dietary Spices. *Journal of Clinical and Cellular Immunology*, 5, 238. <https://doi.org/10.4172/2155-9899.1000238>
25. Cencic A, Chingwaru W. The Role of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements in Intestinal Health. *Nutrients*. 2010; 2(6):611-625. <https://doi.org/10.3390/nu2060611>
26. Gupta SC, Kim JH, Prasad S, Aggarwal BB. Regulation of survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis of tumor cells through modulation of inflammatory pathways by nutraceuticals. *Cancer Metastasis Rev*. 2010 Sep;29(3):405-34. doi: 10.1007/s10555-010-9235-2. PMID: 20737283; PMCID: PMC2996866.
27. Renault-Mahieux M, Vieillard V, Seguin J, Espeau P, Le DT, Lai-Kuen R, Mignet N, Paul M, Andrieux K. Co-Encapsulation of Fisetin and Cisplatin into Liposomes for Glioma Therapy: From Formulation to Cell Evaluation. *Pharmaceutics*. 2021 Jun 26;13(7):970. doi: 10.3390/pharmaceutics13070970. PMID: 34206986; PMCID: PMC8309049.
28. Eberhardt WE, De Ruyscher D, Weder W, Le Péchoux C, De Leyn P, Hoffmann H, Westeel V, Stahel R, Felip E, Peters S; Panel Members. 2nd ESMO Consensus Conference in Lung Cancer: locally advanced stage III non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2015 Aug;26(8):1573-88. doi: 10.1093/annonc/mdv187. Epub 2015 Apr 20. PMID: 25897013.
29. Alaswad M. Locally advanced non-small cell lung cancer: current issues and recent trends. *Rep Pract Oncol Radiother*. 2023 Jun 26;28(2):286-303. doi: 10.5603/RPOR.a2023.0019. PMID: 37456701; PMCID: PMC10348324.
30. Antonio-Andres G, Morales-Martinez M, Jimenez-Hernandez E, Huerta-Yepez S. The Role of PTEN in Chemoresistance Mediated by the HIF-1 α /YY1 Axis in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Mol Sci*. 2024 Jul 16;25(14):7767. doi: 10.3390/ijms25147767. PMID: 39063014; PMCID: PMC11276810.
31. Wu Y, Ma Y, Li J, Zhou XL, Li L, Xu PX, Li XR, Xue M. The bioinformatics and metabolomics research on anti-hypoxic molecular mechanisms of Salidroside via regulating the PTEN mediated PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway. *Chin J Nat Med*. 2021 Jun;19(6):442-453. doi: 10.1016/S1875-5364(21)60043-2. PMID: 34092295.
32. Yao H, Wang D, Ye J, Cong H, Yu B. Investigation on the antitumor effects of fisetin extracted from *Hedyotis diffusa* Willd based on network pharmacology and experimental validation. *J Ethnopharmacol*. [2025:120288](https://doi.org/10.1016/j.jep.2025.120288).

33. He Q, Ye C, Qi S, Zheng Y, Yan K, Chen Y, Chen H, Bei W. Effects of fisetin on virulence of *Actinobacillus Pleuropneumoniae*. *Microb Pathog*. 2025 Aug;205:107692. doi: 10.1016/j.micpath.2025.107692. Epub 2025 May 12. PMID: 40368071.
34. Tan Z, Deng J, Ye Q, Zhang Z. The Antibacterial Activity of Natural-derived Flavonoids. *Curr Top Med Chem*. 2022;22(12):1009-1019. doi: 10.2174/1568026622666220221110506. PMID: 35189804.
35. Zhang Z, Cao M, Shang Z, Xu J, Chen X, Zhu Z, Wang W, Wei X, Zhou X, Bai Y, et al. Research Progress on the Antibacterial Activity of Natural Flavonoids. *Antibiotics*. 2025; 14(4):334. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14040334>
36. Wang C-H, Hsieh Y-H, Powers ZM, Kao C-Y. Defeating Antibiotic-Resistant Bacteria: Exploring Alternative Therapies for a Post-Antibiotic Era. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(3):1061. <https://doi.org/10.3390/ijms21031061>
37. Sakari M, Laisi A, Pulliainen AT. Exotoxin-Targeted Drug Modalities as Antibiotic Alternatives. *ACS Infect Dis*. 2022 Mar 11;8(3):433-456. doi: 10.1021/acsinfecdis.1c00296. Epub 2022 Jan 31. PMID: 35099182; PMCID: PMC8922280.
38. Wang J, Qiu J, Tan W, Zhang Y, Wang H, Zhou X, et al. Fisetin inhibits *Listeria monocytogenes* virulence by interfering with the oligomerization of listeriolysin O. *J Infect Dis*. 2015;211(9):1376–1387. doi:10.1093/infdis/jiu520.
39. Aratani S, Nakanishi M. Recent Advances in Senolysis for Age-Related Diseases. *Physiology (Bethesda)*. 2023 Sep 1;38(5):0. doi: 10.1152/physiol.00003.2023. Epub 2023 May 16. PMID: 37191645.
40. Zhang, L., Pitcher, L.E., Prahalad, V., Niedernhofer, L.J. and Robbins, P.D. (2023), Targeting cellular senescence with senotherapeutics: senolytics and senomorphics. *FEBS J*, 290: 1362-1383. <https://doi.org/10.1111/febs.16350>
41. Balducci L, Falandry C, Silvio Monfardini. Senotherapy, cancer, and aging. *J Geriatr Oncol*. 2024 May;15(4):101671. doi: 10.1016/j.jgo.2023.101671. Epub 2023 Nov 17. PMID: 37977898.
42. Donati Zeppa S, Agostini D, Ferrini F, Gervasi M, Barbieri E, Bartolacci A, Piccoli G, Saltarelli R, Sestili P, Stocchi V. Interventions on Gut Microbiota for Healthy Aging. *Cells*. 2023; 12(1):34. <https://doi.org/10.3390/cells12010034>
43. Palmer AK, Jensen MD. Metabolic changes in aging humans: current evidence and therapeutic strategies. *J Clin Invest*. 2022 Aug 15;132(16):e158451. doi: 10.1172/JCI158451. PMID: 35968789; PMCID: PMC9374375.

44. Hajam YA, Rani R, Ganie SY, Sheikh TA, Javaid D, Qadri SS, Pramodh S, Alsulimani A, Alkhanani MF, Harakeh S, et al. Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. *Cells*. 2022; 11(3):552. <https://doi.org/10.3390/cells11030552>
45. ALTamimi JZ, BinMowyna MN, AlFaris NA, Alagal RI, El-Kott AF, Al-Farga AM. Fisetin protects against streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy in rats by suppressing fatty acid oxidation and inhibiting protein kinase R. *Saudi Pharm J*. 2021 Jan;29(1):27-42. doi: 10.1016/j.jsps.2020.12.003. Epub 2020 Dec 14. PMID: 33603537; PMCID: PMC7873759.
46. Prasath GS, Subramanian SP. Antihyperlipidemic effect of fisetin, a bioflavonoid of strawberries, studied in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Biochem Mol Toxicol*. 2014;28:442–449. doi:10.1002/jbt.21583.
47. Qnais E, Alqudah A, Bseiso Y, Gammoh O, Wedyan M, Alotaibi B. Exploring the therapeutic potential of fisetin: a comprehensive study on its anti-nociceptive and anti-inflammatory effects. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2023 Nov;27(21):10773-10784. doi: 10.26355/eurrev_202311_34357. PMID: 37975402.
48. Pan PY, Bölte S, Kaur P, Jamil S, Jonsson U. Neurological disorders in autism: A systematic review and meta-analysis. *Autism*. 2021 Apr;25(3):812-830. doi: 10.1177/1362361320951370. Epub 2020 Sep 9. PMID: 32907344.
49. GBD 2015 Neurological Disorders Collaborator Group. Global, regional, and national burden of neurological disorders during 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Neurol*. 2017 Nov;16(11):877-897. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30299-5. Epub 2017 Sep 17. PMID: 28931491; PMCID: PMC5641502.
50. Venkataraman A, Kalk N, Sewell G, Ritchie CW, Lingford-Hughes A. Alcohol and Alzheimer's disease—Does alcohol dependence contribute to beta-amyloid deposition, neuroinflammation and neurodegeneration in Alzheimer's disease? *Alcohol Alcohol*. 2017;52(2):151–158. doi:10.1093/alcalc/agw092.
51. Athira K, Das S, Swick A, Krishnakumar IM, Vahab A. Oral bioavailability and neuroprotective effect of a novel food-grade formulation of fisetin using fenugreek-galactomannan hydrogel scaffolds. *PharmaNutrition*. 2023;23:100329. doi:10.1016/j.phanu.2023.100329.
52. Oral bioavailability and neuroprotective effect of a novel food-grade formulation of fisetin using fenugreek-galactomannan hydrogel scaffolds. *PharmaNutrition*. 2023;23:100329. doi:10.1016/j.phanu.2023.100329.
53. Wiegmann C, Mick I, Brandl EJ, Heinz A, Gutwinski S. Alcohol and Dementia - What is the Link? A Systematic Review. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2020 Jan 9;16:87-99. doi: 10.2147/NDT.S198772. PMID: 32021202; PMCID: PMC6957093.

54. Qusaj Y, Leng A, Alshihabi F, Krasniqi B, Vandamme T. Development strategies for herbal products reducing the influence of natural variance in dry mass on tableting properties and tablet characteristics. *Pharmaceutics*. 2012 Oct 8;4(4):501-16. doi: 10.3390/pharmaceutics4040501. PMID: 24300367; PMCID: PMC3834931.
55. Visioli F, Ingram A, Beckman JS, Magnusson KR, Hagen TM. Strategies to protect against age-related mitochondrial decay: Do natural products and their derivatives help? *Free Radic Biol Med*. 2022 Jan;178:330-346. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.12.008. Epub 2021 Dec 8. PMID: 34890770.
56. Mehta P, Pawar A, Mahadik K, Bothiraja C. Emerging novel drug delivery strategies for bioactive flavonol fisetin in biomedicine. *Biomed Pharmacother*. 2018 Oct;106:1282-1291. doi: 10.1016/j.biopha.2018.07.079. Epub 2018 Jul 20. PMID: 30119198.
57. Sakai, E., Farhana, F., Yamaguchi, Y., & Tsukuba, T. (2022). Potentials of natural antioxidants from plants as antiosteoporotic agents. In A.-u.-R. (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 72, pp. 1–28). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823944-5.00002-8>
58. Hamid, Mohamed E, Fatma Alamri, I M Abdelrahim, Martin R Joseph, Maria M Elamin and Al Hafez M. Alraih. “Effects of Antimicrobial Flavonoids Against Representative Bacteria and Fungi: A Review of the Literature.” *Cureus* 16 (2024): n. pag.
59. Yousefzadeh MJ, Zhu Y, McGowan SJ, Angelini L, Fuhrmann-Stroissnigg H, Xu M, Ling YY, Melos KI, Pirtskhalava T, Inman CL, McGuckian C, Wade EA, Kato JI, Grassi D, Wentworth M, Burd CE, Arriaga EA, Ladiges WL, Tchkonja T, Kirkland JL, Robbins PD, Niedernhofer LJ. Fisetin is a senotherapeutic that extends health and lifespan. *EBioMedicine*. 2018 Oct;36:18-28. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.09.015. Epub 2018 Sep 29. PMID: 30279143; PMCID: PMC6197652.
60. Rahmani AH, Almatroudi A, Allemailem KS, Khan AA, Almatroodi SA. The Potential Role of Fisetin, a Flavonoid in Cancer Prevention and Treatment. *Molecules*. 2022; 27(24):9009. <https://doi.org/10.3390/molecules27249009>
61. Valstybinė vaistų kontrolės tarnyba prie Lietuvos Respublikos sveikatos apsaugos ministerijos. *Apie maisto papildus* [Internet]. [cited 2025 Apr 10]. Available from: <https://vvkt.lrv.lt/lt/gyventojams/apie-maisto-papildus/>
62. Eurovaistinė. *Paieškos rezultatai „fisetin“* [internetas]. [žiūrėta 2025 Apr 10]. Prieiga per: <https://www.eurovaistine.lt/paieska/rezultatai?q=fisetin>
63. Gintarinė vaistinė. *Paieškos rezultatai „fisetinas“* [internetas]. [žiūrėta 2025 Apr 10]. Prieiga per: <https://www.gintarine.lt/search?q=fisetinas>

64. BENU vaistinė. *Paieškos rezultatai „fisetinas“* [internetas]. [žiūrėta 2025 Apr 10]. Prieiga per:
<https://www.benu.lt/paieska?search=fisetinas>
65. Fan, Qingling & Wang, Xiaoye & Chinnathambi, Arunachalam & Alharbi, Sulaiman & Wang, Qingkui. (2020). Fisetin suppresses 1,2-dimethylhydrazine-induced colon tumorigenesis in Wistar rats. *Journal of King Saud University - Science*. 32. 10.1016/j.jksus.2020.01.042.
66. Hada, Yoshiko, Uchida, Haruhito A., Wada, Jun, Fisetin Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Responses in Macrophage, *BioMed Research International*, 2021, 5570885, 8 pages, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/5570885>
67. Mohajeri, S., Jouneghani, A. S., Heidari-Soureshjani, S., Sherwin, C. M., & Beigi, F. (2026). Emerging Therapeutic Potential of Fisetin for Nephrotoxicity, Kidney Injury, and Nephropathy: A Systematic Review. *Current diabetes reviews*, 22(3), e15733998369114. <https://doi.org/10.2174/0115733998369114250512094027>
68. Wang, K., Hu, D. N., Lin, H. W., Yang, W. E., Hsieh, Y. H., Chien, H. W., & Yang, S. F. (2018). Fisetin induces apoptosis through mitochondrial apoptosis pathway in human uveal melanoma cells. *Environmental toxicology*, 33, 527–534. <https://doi.org/10.1002/tox.22538>
69. Feng, Peng & Shu, Shijun & Zhao, Feifei. (2022). Anti-osteoporosis Effect of Fisetin against Ovariectomy Induced Osteoporosis in Rats: In silico , in vitro and in vivo Activity. *Journal of Oleo Science*. 71. 105-118. 10.5650/jos.ess21252.
70. Belka, Marta, Maciej Stawny, Michal M. Masternak, and Violetta Krajka-Kuźniak. 2026. "Mechanistic Analysis of Fisetin in Liver Diseases and Its Potential Therapeutic Application in IFALD—A Review of In Vitro and In Vivo Studies" *Nutrients* 18, no. 1: 102. <https://doi.org/10.3390/nu18010102>
71. Kumar A, Amita. Fisetin in malignant nervous system tumors: molecular insights and translational advances. *Explor Neurosci*. 2026;5:1006130. <https://doi.org/10.37349/en.2026.1006130>
72. Kumar, H., Chand, P., Pachal, S., Mallick, S., Jain, R., Madhunapantula, S. V., & Jain, V. (2023). Fisetin-Loaded Nanostructured Lipid Carriers: Formulation and Evaluations against Advanced and Metastatic Melanoma. *Molecular pharmaceutics*, 20(12), 6035–6055. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.3c00309>
73. Sip, Szymon, Natalia Rosiak, Anna Sip, Marcin Żarowski, Katarzyna Hojan, and Judyta Cielecka-Piontek. 2024. "A Fisetin Delivery System for Neuroprotection: A Co-Amorphous Dispersion Prepared in Supercritical Carbon Dioxide" *Antioxidants* 13, no. 1: 24. <https://doi.org/10.3390/antiox13010024>

74. Dere, Mahesh & Khan, Ayesha. (2020). Potentials of Encapsulated Flavonoids in Biologics: A Review. *American Journal of Biomedical and Life Sciences*. 8. 97. 10.11648/j.ajbls.20200804.16.
75. Feng, C., Yuan, X., Chu, K., Zhang, H., Ji, W., & Rui, M. (2019). Preparation and optimization of poly (lactic acid) nanoparticles loaded with fisetin to improve anti-cancer therapy. *International journal of biological macromolecules*, 125, 700–710. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.003>
76. Elsallabi, O., Patruno, A., Pesce, M., Cataldi, A., Carradori, S., & Gallorini, M. (2022). Fisetin as a Senotherapeutic Agent: Biopharmaceutical Properties and Crosstalk between Cell Senescence and Neuroprotection. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27, 738. <https://doi.org/10.3390/molecules27030738>
77. Sony Priyanka Bandi, Deepanjan Datta, Anilkumar Parambath, 9 - Capsule-forming polymers, Editor(s): Anilkumar Parambath, In *Woodhead Publishing Series in Biomaterials, Polymers for Oral Drug Delivery Technologies*, Elsevier Science Ltd, 2025, Pages 389-462, ISBN 9780443137747, <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-13774-7.00009-8>.
78. Aliyu, Abubakar Babando, Jonathan Ilemona Achika, Joseph Adesina Adewuyi, Patience Gangas, Hamisu Ibrahim, and Adebayo Ojo Oyewale. "Antioxidants from Nigerian." *Lipid Peroxidation Research* (2020): 43
79. Johnbull, Obarisiagbon. (2018). STUDIES ON TABLET AND CAPSULE FORMULATIONS OF VERNONIA AMYGDALINA DRY LEAF EXTRACT FOR THE MANAGEMENT OF DIABETES. 10.13140/RG.2.2.27935.18083.
80. Khan N, Syed DN, Ahmad N, Mukhtar H. Fisetin: a dietary antioxidant for health promotion. *Antioxid Redox Signal*. 2013 Jul 10;19(2):151-62. doi: 10.1089/ars.2012.4901. Epub 2012 Dec 18. PMID: 23121441; PMCID: PMC3689181.
81. Currais, A., Farrokhi, C., Dargusch, R., Armando, A., Quehenberger, O., Schubert, D., & Maher, P. (2018). Fisetin Reduces the Impact of Aging on Behavior and Physiology in the Rapidly Aging SAMP8 Mouse. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*, 73(3), 299–307. <https://doi.org/10.1093/gerona/glx104>
82. Maher P. (2015). How fisetin reduces the impact of age and disease on CNS function. *Frontiers in bioscience (Scholar edition)*, 7(1), 58–82. <https://doi.org/10.2741/S425>
83. Zhang, Huihui, Wan Zheng, Xiangling Feng, Fei Yang, Hong Qin, Shusong Wu, De-Xing Hou, and Jihua Chen. 2019. "Nrf2–ARE Signaling Acts as Master Pathway for the Cellular Antioxidant Activity of Fisetin" *Molecules* 24, no. 4: 708. <https://doi.org/10.3390/molecules24040708>

84. Liu, S., Liu, J., Wang, Y., Deng, F., & Deng, Z. (2025). Oxidative Stress: Signaling Pathways, Biological Functions, and Disease. *MedComm*, 6, e70268. <https://doi.org/10.1002/mco2.70268>
85. Hassan, S. S. U., Samanta, S., Dash, R., Karpiński, T. M., Habibi, E., Sadiq, A., Ahmadi, A., & Bunagu, S. (2022). The neuroprotective effects of fisetin, a natural flavonoid in neurodegenerative diseases: Focus on the role of oxidative stress. *Frontiers in pharmacology*, 13, 1015835. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1015835>
86. Park, Suhyeon, Bo-Kyoung Kim, and Sang-Kyu Park. 2022. "Effects of Fisetin, a Plant-Derived Flavonoid, on Response to Oxidative Stress, Aging, and Age-Related Diseases in *Caenorhabditis elegans*" *Pharmaceuticals* 15, no. 12: 1528. <https://doi.org/10.3390/ph15121528>
87. Chivte, V. K., Choudhary, O. B., Kale, V., Thakare, M., & Narwade, V. (2025). *A critical review on wet and dry granulation in pharmaceuticals. Journal of Emerging Technologies and Innovative Research (JETIR)*, 12.
88. Harabi, Malak & Tlili, Hajer & Rim, Gatran & Ben Arfa, Abdelkarim & Neffati, Mohamed & Najjaa, Hanen. (2024). Phytochemical composition and in vitro biological activities of *Fumaria officinalis* leaves collected from a Tunisian arid region. *Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration*. 10. 1-16. 10.1007/s41207-024-00689-8.
89. Shrivastav, S., Rathore, K., & Prasad, N. (2023). Formulation and evaluation of dispersible tablets of flavonoid PGAL isolated from *Saraca asoca* leaves. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 15(4), 125–130. <https://doi.org/10.22159/ijap.2023v15i4.47855>
90. Chen, Xiaoqiong, Ying Yang, Xiaoli Yang, Guoxu Zhu, Xuanzong Lu, Feng Jia, Binqian Diao et al. "Investigation of flavonoid components and their associated antioxidant capacity in different pigmented rice varieties." *Food Research International* 161 (2022): 111726. *Processes* journal article. <https://www.mdpi.com/2227-9717/11/8/2248>
91. Yuandani, Laila, L., Nugraha, S. E., Hasibuan, W., Nasution, R., & Satria, D. (2023). Formulation and evaluation of herbal capsule containing *Curcuma mangga* Valetton & Zijp. extract and its immunostimulatory effects. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 15(6), 172–177. <https://doi.org/10.22159/ijap.2023v15i6.49061>
92. Kotamarthy L, Karkala S, Dan A, Román-Ospino AD, Ramachandran R. Investigating the Effects of Mixing Dynamics on Twin-Screw Granule Quality Attributes via the Development of a Physics-Based Process Map. *Pharmaceutics*. 2024; 16(4):456. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16040456>
93. Ahmad, A., Ali, T., Rehman, S. U., & Kim, M. O. (2019). Phytomedicine-Based Potent Antioxidant, Fisetin Protects CNS-Insult LPS-Induced Oxidative Stress-Mediated

- Neurodegeneration and Memory Impairment. *Journal of clinical medicine*, 8(6), 850.
<https://doi.org/10.3390/jcm8060850>
94. ChemicalBook. (2023, December 19). *The source and biological activity of fisetin*. ChemicalBook. <https://www.chemicalbook.com/article/the-source-and-biological-activity-of-fisetin.htm>
95. Krajčíková, Kristína & Suváková, Mária & Glinská, Gabriela & Ohlasová, Jana & Tomecková, Vladimíra. (2020). Stability of natural polyphenol fisetin in eye drops Stability of fisetin in eye drops. *Open Chemistry*. 18. 325-332. 10.1515/chem-2020-0029.