

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
MEDICĪNAS FAKULTĀTE
FARMĀCIJAS BAKALaura STUDIJU PROGRAMMA

**Podagras gārsas (*Aegopodium podagraria*) sakņu
ekstraktu īpašību atšķirības atkarībā no drogu
apstrādes veida**

BAKALaura DARBS

Autore: **Alisa Kurtukova**

Studenta apliecības Nr.: ak20283

Darba vadītājs: doc. Dr. pharm. Kristīne Saleniece

RĪGA 2024

ANOTĀCIJA

Aegopodium podagraria lieto medicīnā kopš seniem laikiem, pateicoties gārsas farmakoloģiski aktīvām vielām.

Bakalaura darba literatūras apskatā apkopota informācija par *Aegopodium podagraria* farmakoloģiskiem efektiem, tostarp antioksidantu īpašībām un pretdiabēta darbību. Darba mērķis ir pētīt un savstarpēji salīdzināt sakņu ekstraktu antioksidatīvo iedarbību un α -amilāzes enzīma aktivitātes atkarību no drogas apstrādes metodēm.

Iegūtie dati liecina, ka visiem ekstraktiem piemīt antioksidanta īpašības. Augstākais polifenolu saturs ir svaigu sakņu etanola ekstraktā; augstāko antiradikālo aktivitāti uzrāda svaigu sakņu etanola ekstrakts (56%); augstāko α -amilāzi inhibējošo darbību novēro svaigu sakņu ūdens ekstraktam (29%).

Atslēgvārdi: *Aegopodium podagraria*, α -amilāzes inhibitors, antioksidants, polifenoli, DPPH, α -amilāzes aktivitātes tests

ABSTRACT

Aegopodium podagraria has been used medicinally since ancient times thanks to the pharmacologically active substances.

The literature review of the bachelor thesis summarises information on the pharmacological effects of *Aegopodium podagraria*, including antioxidant properties and antidiabetic effects. The aim of this work is to investigate and cross-compare the antioxidant activity and α -amylase enzyme activity of root extracts using different drug treatments.

The data obtained show that all extracts possess antioxidant properties. The highest polyphenol content for the ethanolic extract of fresh roots; the highest antiradical activity for the ethanolic extract of fresh roots (56%); the highest α -amylase inhibitory activity for the aqueous extract of fresh roots (29%);

Keywords: *Aegopodium podagraria*, α -amylase inhibitor, antioxidant, polyphenols, DPPH, α -amylase activity assay.

SATURS

APZĪMĒJUMU SARAKSTS	6
IEVADS	7
1. LITERATŪRAS APSKATS	9
1.1 Podagras gārsas (<i>Aegopodium podagraria</i>) apraksts	9
1.2 <i>Aegopodium podagraria</i> ķīmiskais sastāvs	10
1.2.1 Ēteriskā eļļa.....	10
1.2.2 Poliacetilēni.....	10
1.2.3 Mikroelementi.....	11
1.2.4 Polifenoli.....	11
1.3 <i>Aegopodium podagraria</i> farmakoloģiskās īpašības	13
1.3.1 Pretiekaisuma īpašības.....	13
1.3.2 Pretpodagras iedarbība.....	13
1.3.3 Antibakteriālās īpašības.....	14
1.3.4 Antidiabētiskās īpašības.....	14
1.3.5 Antiapoptozes aktivitāte.....	15
1.3.6 Ietekme uz centrālo nervu sistēmu.....	15
1.3.7 Antioksidatīvās īpašības.....	15
1.4 α-amilāze un tās funkcijas	18
1.5 Cukura diabēts	19
1.6 α-amilāzes inhibitori	20
2. MATERIĀLI UN METODES	22
2.1 Materiāli	22
2.1.1 Reāģenti un palīgvielas.....	22
2.1.2 Aparatūra un materiāli.....	22
2.2 Metodes	23
2.2.1 Darbā analizēto paraugu sagatavošana.....	23
2.2.2 Macerācijas metode.....	24
2.2.3 Rotācijas ietvaicēšana.....	24
2.2.4 Kopējo polifenolu noteikšana.....	25
2.2.5 DPPH neitralizēšanas tests.....	25
2.2.6 α -amilāzes aktivitātes tests.....	25
2.2.7 Datu analīze.....	26
3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA	27

3.1	Kopējais polifenolu daudzums ekstraktos.....	27
3.2	Ekstraktu antioksidatīvās īpašības	32
3.3	Ekstraktu α -amilāzes inhibēšanas spējas	35
4.	<i>SECINĀJUMI</i>	37
5.	<i>PATEICĪBAS</i>	38
6.	<i>IZMANTOTĀ LITERATŪRA</i>	39
	<i>DOKUMENTĀRĀ LAPA</i>	44

APZĪMĒJUMU SARAKSTS

ABTS – 2'-azinobis 3-etilbenzotiazolīn-6-sulfoskābes
cm – centimetrs
CNS - centrāla nervu sistēma
COX-1 – ciklooksigenāze
DMSO – dimetilsulfoksīds
DNS – dezoksiribonukleīnskābe
DNSA – 3,5-dinitrosalicilskābes
DPPH – difenil-2- pikrihidrazila radikāls
FRAP – dzelzs jonu samazināšanas antioksidanta spēja
GSE – galluskābes ekvivalents
HPLC-MS – augstas izšķirtspējas šķidrums hromatogrāfija ar masas spektrometriju
IC50 – Puse no maksimālās inhibējošās koncentrācijas
M – molārs
mg/kg – miligrams uz kilogramu
mg/l – miligrams uz litru
mm – milimetrs
mM – milimolārs
nm - nanometrs
ppm – miljondaļas
PVO – Pasaules Veselības organizācija
ROS – reaktīvas skābekļa formas
SD – standartnovirze
t. sk. – tai skaitā
THP-1 – monocītu šūnu līnija
μg/g – mikrograms uz gramu
μl – mikrolitrs

IEVADS

Mūsdienās dabīgie biogēno vielu avoti ir radījuši lielu interesi par veselību un cilvēka labsajūtu, jo tie potenciāli var novērst dažādas slimības. Augi un to sastāvā esošie savienojumi ir uzskatāmi par alternatīviem risinājumiem to zemo izmaksu, pieejamības un samazinātu blakusparādību dēļ.

Kopš seniem laikiem *Aegopodium podagraria* žāvētu lapu uzlējumus izmantoja tādu slimību ārstēšanai kā podagra un reimatisms, pateicoties kumarīniem, kam piemīt pretiekaisuma un pretspēju īpašības. To lieto arī kā pretstēnīšu un antibakteriālu novārījumu sejas un pēdu ādai. Augu lieto arī tūskas mazināšanai, jo tas palīdz izvadīt lieko šķidrumu no organisma. Turklāt to izmanto imūnsistēmas darbības uzlabošanai. *Aegopodium podagraria* jaunas lapas mēdz izmantot kā pilnvērtīgas pārtikas sastāvdaļu, pagatavojot zupas ar citu augu lapām. Mūsdienās arvien vairāk analizē dažādu augu sastāvu, kā arī savienojumu labvēlīgo ietekmi uz cilvēka veselību. Analizējot literatūru, ir konstatēts, ka lakstaugos ir fitoķīmiskie savienojumi, piemēram, polifenoli, fenola savienojumi, poliacetilēni, ēteriskā eļļa, vitamīni un mikroelementi, kas uzrāda iepriekš minētās farmakoloģiskās darbības. Pieaug interese arī par citām īpašībām, piemēram, pretdiabēta iedarbību.

α -amilāze ir ferments, kam ir svarīga nozīme polisaharīdu sašķelšanā vienkāršos cukuros. α -amilāzes inhibitori ir vielas, kas palēnina vai bloķē α -amilāzes darbību. Tos var izmantot cukura līmeņa regulēšanai diabēta slimniekiem vai gremošanas un ēstgribas kontrolei. Polifenolu savienojumiem ir daudzsološa pretdiabēta iedarbība. Tātad, ekstraktiem, kas satur polifenolu savienojumus, iespējams, ir alfa-amilāzes aktivitāti kavējoša iedarbība. Inhibējošās iedarbības rezultātā polifenolus ir iespējams izmantot kā zāles 2. tipa diabēta ārstēšanai un profilaksei.

Līdz šim ir veikti daudzi pētījumi, lai apstiprinātu auga farmakoloģisko iedarbību. Tomēr lielākajā daļā pētījumu nav izmantotas visas auga morfoloģiskās daļas. Pašlaik ir ierobežoti pētījumi par auga saknēm. Tāpat ir maz pētījumu, kas aplūkojuši fitoķīmisko savienojumu optimālo izdalīšanu atkarībā no drogas apstrādes veida, ieskaitot liofilizāciju un karstuma žāvēšanu. Šīs tēmas analīze var palīdzēt noteikt, kā dažādi apstrādes veidi ietekmē to savienojumu efektivitāti, kas atbildīgi par antioksidatīvām un pretdiabētiskām īpašībām.

Darba mērķis: Pētīt un salīdzināt ar dažādām metodēm apstrādātu Podagras gārsas ekstraktu ietekmi uz DPPH brīvo radikāļi un alfa amilāzes aktivitāti *in vitro*.

Darba uzdevumi:

1. Ar dažādam metodēm apstrādāt gārsas saknes, tostarp liofilizāciju un žāvēšanu karstumā;
2. Noteikt iegūto ekstraktu polifenolu saturu un savstarpēji salīdzināt apstrādes metodes ietekmi uz saturu;
3. Izvērtēt iegūto ekstraktu antioksidatīvās spējas un savstarpēji salīdzināt atkarību no drogas apstrādes metodes;
4. Noteikt ekstraktu efektus uz α -amilāzes aktivitāti un savstarpēji salīdzināt atkarību no sakņu apstrādes metodes.

Pētījums veikts Latvijas Universitātes Medicīnas fakultātes Zinātņu mājas laboratorijā.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1 Podagras gārsas (*Aegopodium podagraria*) apraksts

Gārsa pieder čemurziežu dzimtai *Apiaceae*. Tas ir daudzgadīgs lakstaugs, kas sastopams gandrīz visā pasaulē, taču visizplatītākie reģioni ir Eiropa un Āzija. Gārsa ir konkurētspējīgā suga, kas spēj viegli pielāgoties dažādiem apstākļiem, kā arī ātri izplatīties pateicoties savai sakņu sistēmai. Augs ir sastopams daudzos biotopos, tostarp lapu un jaukto koku mežos, mežmalās, pagalmos pie mājas vai piekrastēs. Šis lakstaugs var sasniegt no 30 līdz 100 cm augstumā (Jakubczyk et al, 2020).



1.1 att., *Aegopodium podagraria* izskats (*Aegopodium podagraria* attēli)

Lapas ir nesimetriskas, ovālas, trīskārši dalītas, kur vidējā lapa ir vislielākā, zobainas, gaiši zaļas, virsma ir gluda, spīdīga, ar dzīslu līnijām. Lapas ir sakopotas uz kopīga gara kātiņa. Ziedi, 3 mm diametrā, ir lielās saliktās ziedkopās, katrā ziedkopā ir no 12 līdz 30 atsevišķu mazo ziedu, kas novietoti uz vienāda garuma kātiņiem. Ziedam ir 5 baltas vainaglapas, 5 putekšņlapas un 1 auglenīca, ziedēšanas laiks ir no jūlija līdz augustam. Gārsas auglis ir ovālas formas un aptuveni 3-5 mm liels. Sēklas ir brūnas ar divām gaišākām ribām. Gārsai ir attīstīta sakņu sistēma, kas var sasniegt no 5 līdz 300 cm garumā, to veido mietsakne ar smalkākām saknītēm. Sakņu krāsa ir balta (Jakubczyk et al, 2020).

1.2 *Aegopodium podagraria* ķīmiskais sastāvs

Ir noteikts, ka podagras augi satur dažādas fitoķīmisko vielu klases. To vidū ir proteīni, kareinoīdi, ogļhidrāti, mikroelementi, ēteriskās eļļas, poliacetilēni, fenola savienojumi, flavonoīdi, kafijskābe un hlorogēnskābe, tās atvasinājumi un vitamīni C un E. Tāpēc ir konstatēts, ka tie rada dažādas labvēlīgas īpašības veselībai. Līdz šim noteiktās veselībai labvēlīgās īpašības ietver antioksidantu īpašības, kā arī pretdiabēta, brūču dzīšanu veicinošas un pretnovecošanas īpašības (Nizioł-Łukaszewska et al, 2020).

1.2.1 Ēteriskā eļļa

Tika analizēts Ukrainā augošo gārsas ziedu ēterisko eļļu sastāvs un pētījuma dati atklāja, ka galvenās ēterisko eļļu sastāvdaļās bija β -farnēzēns (43,94 %), α -bergamotēns (15,32 %), (E, E)- α -farnēzēns (8,84 %) un 1,5,9,9-tetrametil-1,4,7-cikloundezatrīns (5,51 %). Pārējie savienojumi bija sastopami mazākā daudzumā (< 4 %). Tika konstatēts, ka galvenā ēteriskās eļļas sastāvdaļu grupa ir seskviterpēni, to saturs bija 90,7 % Monoterpēni gārsas ziedu sastāvā bija tikai salīdzinoši nelielā daudzumā (6,8 %). Tika pierādīts, ka augā esošām vielām piemīt diurētiska iedarbība (Koyro et al, 2012). Kapetanos vadītās grupas pētījumā, kur analizēts ēterisko eļļu sastāvs augā, ir minēts, ka dominējošs savienojums bija α -pinēns (13,3%). Kā arī, salīdzinājumā ar parējām sugām, šajā sugā bija lielāks p-cimēna saturs (8,8 %). Tomēr pētījumā netiek minēta auga daļa, kura tika analizēta (Kapetanos et al, 2008). Atklāts, ka Krievijas izcelsmes gārša ziedēšanas laikā satur vairāk sabinēna (63%), bet citu reģionu ēteriskās eļļās bija sastopamas mazākā daudzumā, t. sk., α -pinēns (3,6 %), β -pinēns (3,79 %), mircēns (2,17 %), α -tujons (0,63 %), etilacetāts (4,82 %), dehidro-p-cimols (3,39 %) un β -felandrēns (0,65 %) (Jakubczyk et al, 2020). Ēterisko eļļu saturs ir atkarīgs gan no veģetācijas perioda, gan no auga izcelsmes un auga daļas.

1.2.2 Poliacetilēni

Poliacetilēni ir vieni no bioloģiski aktīviem sekundāriem metabolītiem. Daži no poliacetilēniem ir sastopami *Apiaceae* dzimtas augos. *Aegopodium podagraria* lapās un stublājos ir sastopami falkarinola tipa alifātiskie C17 – poliacetilēni, piemēram, falkarinols un falkarindiols. Lielākā daļa poliacetilēnu biosintezējas no taukskābēm. Savukārt, falkarinola tipa poliacetilēnus iegūst oksidējot un dehidrogenējot oleīnskābi. Augi poliacetilēnus sintezē reaģējot uz stresu, ko var izraisīt infekcijas, vīrusi, baktērijas un sēnītes. Turklāt, falkarinolam un falkarindiolam ir pierādīta pretiekaisuma iedarbība, kas ir saistīta ar spēju inhibēt lipoksigenāzi un stimulēt prostaglandīnu katabolismu (Christensen et al, 2006). Tiek minēts, ka

poliacetilēni ir sastopami visās auga daļās, tostarp ziedos, saknēs, lapās, stublājos un sēklās. To daudzums un veids ir atšķirīgs gan atkarībā no gadalaika, gan no auga daļas (Jakubczyk et al, 2020).

1.2.3 Mikroelementi

Podagras gārša ir ar mikroelementiem bagāts augs. Gāršas lapas un stublāji satur dzelzi, varu, mangānu, magniju un kāliju. Vara daudzums lapās ($3,7 \pm 0,21 \mu\text{g/g}$) ir ievērojami lielāks nekā stublājos ($1,85 \pm 0,13 \mu\text{g/g}$), bet kālija daudzums divreiz mazāks – lapās ($38372 \pm 360 \mu\text{g/g}$) un stublājos ($76848 \pm 128 \mu\text{g/g}$) (Orav et al, 2010). Viens no pētījumiem liecina, ka no gāršas pagatavotie uzlējumi var kalpot par papildus fluorīda avotu ikdienas uzturā. Rezultāti parādīja, ka sakneņu uzlējumos ir mazs fluora saturs (no $0,060 \pm 0,004 \text{ mg/l}$ līdz $0,064 \pm 0,005 \text{ mg/l}$) un tā daudzums nebija atkarīgs no ekstrakcijas temperatūras. Savukārt, sēkļu uzlējumos fluora saturs sasniedza vislielāko vērtību (no $0,26 \pm 0,05 \text{ mg/l}$ līdz $0,33 \pm 0,04 \text{ mg/l}$) (Debia et al, 2018).

1.2.4 Polifenoli

Viena no visplašāk pētītajām fitoķīmisko savienojumu klasēm ir polifenolu savienojumi. Polifenolu savienojumi ir sekundārie metabolīti, kas nav barības vielas, tomēr tiem ir būtiska loma auga augšanas procesos un aizsardzībā pret patogēniem un ultravioleto starojumu. Polifenolu savienojumi satur divas vai vairākas fenolu grupas. Savukārt, fenoli ir ķīmiskie savienojumi, kas satur vienu vai vairākas hidroksilgrupas aromātiskajā gredzenā. Polifenolu atvasinājumi veidojas šikimskābes un etiķskābes biosintēzes ceļā. Etiķskābes biosintēzes ceļā galvenokārt veidojas fenoli. Savukārt kombinējot divus biosintēzes ceļus, veidojas flavonoīdi (Bie et al, 2023). Polifenoli augos var būt atrodami gan glikozīdu, gan aglikonu veidā (Singla et al, 2019).

Polifenoli tiek klasificēti pēc to sastāvā esošo fenola gredzenu skaita un strukturālajiem elementiem, kas saista šos gredzenus savā starpā. Polifenoli tiek iedalīti divās grupās: flavonoīdi un ne flavonoīdi. Savukārt flavonoīdi veido sešas apakšklases, proti, flavonolus, flavonus, izoflavonus, flavanonus, antociānīdīnus un flavanolus. Ne flavonoīdu galvenās apakšklases ir fenolskābes, lignāni un stilbēni (Bie et al, 2023). Flavoni ir vislielākā apakšklase starp visiem polifenoliem. Svarīgākie flavoni ir luteolīns un apigenīns. Flavonoli ir flavanonu 3-hidroksi atvasinājumi. No flavoniem tie atšķiras ar hidroksilgrupas klātbūtni pie trešā oglekļa atoma. Visvairāk pētītie flavonoli ir kempferols un kvercētīns (Singla et al, 2019). Katehīni turpretī pieder flavanolu apakšklasei. Flavanolu lielā koncentrācijā galvenokārt sastopami citrusaugļos, piemēram, apelsīnos un citronos. Antociānīni izplatīti ziedos, augļos un dārzeņos.

Tie ir pigmenti, kuri šķīst ūdenī. Antioksidatīvā aktivitāte antociānīnu klasēm kā cianīds, delfinidīns, malvidīns, peonidīns, petunidīns un pelargonidīns ir atkarīga no strukturālās dažādības (Bie et al, 2023). Galvenā ne flavonoīdu grupas apakšklase ir fenolskābes. Fenolskābes ir organiskās skābes, tās sintezējas auga augšanas procesā. Pēc uzbūves tās iedala hidroksibenzoskābēs un hidroksikanēļskābēs. Hidroksikanēļskābes augos var būt sastopamas brīvā veidā, piemēram, p-kumārskābe, kafijskābe un ferulskābe, kā arī saistītā veidā, piemēram, hlorogēnskābe, kas sastāv no kafijskābes un hinīnskābes. Hidroksikanēļskābju piemēri ir vanilīnskābe, siringskābe, galluskābe un p-hidroksibenzoskābe. Fenola daļa darbojas kā ūdenraža atomu donors un nodrošina antioksidatīvo spēju. Pamatojoties uz šo darbības mehānismu tika konstatēts, ka galluskābe, siringskābe, kafijskābe efektīvi darbojas pret brīviem radikāļiem, kuri veidojas oksidatīvā stresa laikā. Resveratrols, pterostilbēns un piceatanols ir tipiski stilbēnu pārstāvji. Stilbēni ir labi pazīstami kā antioksidantu komponenti. Pētījumā tika pierādīts, ka acetilētām resveratrolam piemīt augstāka iedarbības spēja pret difenil-2-pikrihidrazila (DPPH) radikāli (Lang et al, 2024).

Augšpoles pētījumā tika analizēts polifenolu sastāvs gārsas lapās, kas tika analizēti svaigā augā un no sasaldēta. Rezultāti liecināja, kā sastāvā galvenie polifenoli ir vanilīnskābe $3,56 \pm 0,15 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ un katehīna hidrāts $1,96 \pm 0,08 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Svaigā veidā tie bija vislielākā daudzumā. Savukārt, sasaldētā paraugā konstatēja tādu savienojumu satura pieaugumu kā kvercetin, rutīns, sinapīnskābe, α -rezorcilskābe un kempferols, attiecīgi par 88 %, 80 %, 60 %, 60 %, 41 % un 38 % (Augšpole et al, 2017). Citā pētījumā, gārsas polifenolu saturu analizēja, izmantojot augstas izšķirtspējas šķidrums hromatogrāfiju ar masas spektrometriju (HPLC-MS). *Aegopodium podagraria* lapās tika atrasti tādi savienojumi, kā hlorogēnskābe, kvercetin-3-acetilglikozīds, kumārhinīnskābe, kempferol-3-glikozīds (Engelhardt et al, 2022). Pētījuma Jakubczyk et al (2018) atklāja, ka polifenolu saturs ir atkarīgs no ekstrakcijas temperatūras un no auga daļas. Polifenolu koncentrācijas rādītājs ekstraktos svārstījās no 6,3 līdz 34,5 miljondaļām (ppm). Tātad, lielākais polifenolu daudzums tika konstatēts ziedu ekstraktos (34,5 ppm un 23,6 ppm), bet mazākais sēklu ekstraktos (6,3 ppm un 15,5 ppm), attiecīgi 25 °C un 80 °C temperatūrā. Polifenolu saturs no saknēs bija 12,2 un 19,9 ppm (Jakubczyk et al 2018).

Kumarīniem, kas arī ir fenolu savienojumu grupa, piemīt pretiekaisuma un antioksidantu īpašības. Pētījumā ar Somijā augošo *Aegopodium podagraria* tika pierādīts, ka gārsas lapas satur kumarīnus – angelicīnu un apterīnu. Tomēr pētījumā par bioloģiskajām īpašībām tiem bija neliela aktivitāte. Šis pētījums liecina, ka literatūrā aprakstītais tradicionālais lietojums kā līdzeklis pret artrītu, visticamāk, nav izskaidrojams ar kumarīnu klātbūtni šajā augā (Ojala, 2001).

1.3 *Aegopodium podagraria* farmakoloģiskās īpašības

1.3.1 Pretiekaisuma īpašības

Gārsas pretiekaisuma darbība ietekmē dažādus iekaisuma stāvokļus, piemēram, tādus kā artrīts. Ir pierādīts, ka gārsas ekstrakti mazina muskuļu sāpes un mazina artrīta simptomus. Spēja samazināt iekaisuma reakcijas ir saistīta ar lipīdu mediatoru un iekaisuma citokīnu veidošanās samazināšanu. Gārsas ekstrakti nomāc prostaglandīnu un tromboksāna veidošanos, inhibējot arahidonskābes kaskādes ciklooksigenāzes (COX-1) enzīma biosintēzi. Tika pētīta ūdens, metanola, heksāna, acetona, dihlormetāna un etilacetāta lapu, sakņu, stublāju un podagras ziedu ekstraktu pretiekaisuma iedarbība. Tās inhibējošais efekts bija 30 reižu lielāks nekā indometacīnam, sintētiskam pretiekaisuma līdzeklim. Vislielākā pretiekaisuma iedarbība tika novērota ziediem, kas ievākti ziedēšanas laikā (Jakubczyk et al, 2020).

1.3.2 Pretpodagras iedarbība

Podagra ir viena no iekaisīgā artrīta veidiem, kas izraisa sāpes un locītavu pietūkumu. Podagras patoģenēze ir saistīta ar urīnskābes līmeņa paaugstināšanos organismā, kas veicina urātu kristālu veidošanos (Parisa et al, 2023). Jāatzīmē, ka nosaukums augam ticis piešķirts saskaņā ar tā lietošanu podagras un slimību ar līdzīgu simptomātiku ārstēšanā. Pētījumā, kurā tika analizēta gārsas ziedu sastāvā esošā ēteriskā eļļa un tās iedarbība uz nierēm un ietekme uz urīnskābes apmaiņu, pierādīja, ka vienreizēja deva būtiski palielināja kreatīna, urīnskābes un urīnvielas ekskreciju. Turklāt, netiek ietekmēts urīna tilpums. Pēc trijām ārstēšanas dienām tikusi novērota viegla diurētiska iedarbība, kas bija saistīta ar tubulārās reabsorbcijas darbību. Savukārt, kreatīna, urīnvielas un urīnskābes izdalīšanās bija samazināta. Šī ietekme, iespējams, ir saistīta ar palielinātu šo vielu izdalīšanos pirmajā ārstēšanas dienā. Pētījuma rezultāti parādīja, ka Podargas gārsas sastāvā esošie savienojumi darbojas līdzīgi kā kontroles viela Olimetīns 1 mg/kg, kam raksturīga diurētiska iedarbība. Tādējādi gārsas ēteriskās eļļas mazina simptomus podagras pacientiem (Koyro et al, 2012).

Cita pētījuma mērķis bija noteikt gārsas tinktūras un metformīna ietekmi uz olbaltumvielu un purīnu metabolismu ar deksametazonu ārstētām žurkām. Dzīvnieki tika sadalīti piecās grupās: neskarta kontrole, deksametazons (neārstēti), deksametazons + metformīns, 50 mg/kg; deksametazons + *A. podagraria* tinktūra, 1 ml/kg; deksametazons + metformīns, 50 mg/kg + *A. podagraria* tinktūra, 1 ml/kg. Tika konstatēts, ka tinktūras un metformīna kombinēta lietošana samazina alanīnaminotransferāzes aktivitāti un palielina urīnvielas klirensu. Tas arī normalizēja urīnskābes izdalīšanos ar urīnu un izraisīja svara zudumu (Tovchiga, 2016).

Vēl vienā ziņojumā lasāms par metformīna un podagras ekstrakta kombinācijas ietekmi uz nieru darbību. Pētījums tika veikts ar žurkām, kuras ārstēja ar deksametazonu. Kombinācijas rezultātā samazinājās proteīnūrija un normalizējās kālija līmenis asinīs. Ārstēšanas rezultātā stabilizējās nieru funkciju marķieri: alanīnaminotransferāzes ferments, olbaltumvielu ekskrecija, kreatinīns, glomerulu filtrācijas ātrums un elektrolītu līmenis plazmā (Jakubczyk et al, 2020).

1.3.3 Antibakteriālās īpašības

Gārsas virszemes daļas ekstraktiem piemīt pretsēnīšu un antibakteriālas īpašības. Tika pētīta ūdens, etanola un etilacetāta ekstrakta antibakteriālā aktivitāte pret 6 baktēriju sugām. Antibakteriālās iedarbības noteikšanai izmantoja diska difūzijas un atšķaidījuma metodes, izmantojot streptomcīnu kā pozitīvo un dimetilsulfoksīdu (DMSO) kā negatīvo kontroli. Tika sagatavots Muellera-Hintona agars, kur izsēja baktērijas. Rezultāts parādīja, ka visspēcīgāk pret *Enterobacter cloacae* iedarbojās ūdens ekstrakts (15 mg uz vienu disku). Etanola ekstrakts bija visaktīvākais pret *Bacillus subtilis* (15 mg uz vienu disku) un etilacetāta ekstrakts pret *Klebsiella pneumoniae* un *Pseudomonas fluorescens* (15 mg uz disku). No testētajām baktērijām pret visiem 3 ekstraktiem rezistentāka bija *Staphylococcus aureus*. Antibakteriālo īpašību aktivitāte ir atkarīga gan no mikroorganismu sugas, gan no ekstrakta veida un koncentrācijas. Tomēr tiek uzskatīts, ka ūdens un etilacetāta ekstrakts uzrādīja vāju inhibējošu iedarbību, bet etanola ekstrakts - mērenu inhibējošu iedarbību (Stefanović et al, 2009).

Tika analizēta Somijā audzētas Padagras gārsas augs, un pētījuma dati atklāja, ka metanola ekstrakti aizkavēja arī tādu sēnīšu sugu attīstību kā *Fusarium culmorum* un *Rhizoctonia spp.* Savukārt, *Phytophthora sp.* auga ekstrakts veicina patogēna augšanu. Tiek uzskatīts, ka kumarīni ir ķīmiskie savienojumi, kas atbild par antibakteriālo iedarbību (Ojala, 2000). Turklāt antibakteriālas īpašības ir konstatētas arī tādiem auga esošiem savienojumiem kā ēteriskas eļļas un flavonoīdi.

1.3.4 Antidiabētiskās īpašības

Cukura diabēts, kas ir vielmaiņas traucējums, ir izplatīta mūsdienu sabiedrības problēma. Kādā no *in vivo* pētījumiem tinktūras antihiperglikēmiskā iedarbība tika pārbaudīta kopā ar metformīnu - medikamentu, ko lieto 2. tipa diabēta ārstēšanai. Izmantojot īsas darbības insulīna testu, tika pierādīts, ka tinktūras lietošana kombinācijā ar mazu metformīna devu uzlabo insulīna jutību. Metformīna sajaukšana ar tinktūrām, kam piemīt pretglikēmiska iedarbība, var palīdzēt samazināt pacientam ievadīto zāļu devu. Saskaņā ar Tovchiga (2016) pētījumu augu tinktūra monoterapijā vai kopā ar metformīnu ietekmē lipīdu profilu, paaugstinot augsta

blīvuma lipīdu daudzumu asinīs. Savukārt, gārsas tinktūra patstāvīgi spēja samazināt zema blīvuma lipīdu daudzumu asinīs (Tovchiga, 2016). Pētījumā novērota tendence samazināties bazālajai glikēmijai dzīvniekiem, kas saņēma gārsas tinktūru, un tas varētu būt saistīts ar hlorogēnskābes inhibējošu iedarbību uz glikoneoģenēzi. Attiecībā uz lipīdu metabolisma ietekmi hlorogēnskābe tiek raksturota kā "dabiska pretaptaukošanās molekula", kas spēj samazināt triglicerīdu līmeni pelēm. Metformīna pastiprināta iedarbība saistīta ne tikai ar hlorogēnskābes saturu tinktūrā, bet, iespējams, arī ar citām vielām, visticamāk, flavonoīdiem un citiem fenola savienojumiem (Tovchiga, 2016).

1.3.5 Antiapoptozes aktivitāte

Saskaņā ar Jakubczyk et al (2021) datiem *Aegopodium podagraria* lapu ekstraktiem piemīt antiapoptozes aktivitāte. Pētījumā tika novērota apoptozes un nekrozes veidošanās monocītu šūnu līnija (THP-1) makrofāgos, šūnu kultūrai pievienojot DMSO (1%). Tāpēc DMSO izmantošana pat nelielās koncentrācijās traucē ekstrakta antiapoptozes darbību (Jakubczyk et al, 2021).

1.3.6 Ietekme uz centrālo nervu sistēmu

Pētījuma tika aplūkota *Aegopodium podagraria* virszemes daļas ekstrakta (100 mg/kg un 1 g/kg) un tinktūras (1 un 5 ml/kg) ietekme uz etanola izraisītas, kā arī nātrija tiopentāla izraisītas narkozes norisi. Pētījumā pēc nejaušības principa žurkas tika sadalītas 5 grupās. Rezultāti parādīja, ka *Aegopodium podagraria* ekstrakts 1 g/kg devā ievērojami samazina etanola izraisītas narkozes ilgumu peļu tēviņiem. *Aegopodium podagraria* ekstrakts neietekmē tiopentālnātrija izraisītā miega ilgumu. Savukārt, *Aegopodium podagraria* tinktūra 1 ml/kg devā ievērojami samazina miega ilgumu, ko peļu tēviņiem izraisa nātrija tiopentāls, un pēc šīs iedarbības tā ir salīdzināma ar *Hypericum perforatum L.* ekstrakciju 100 mg/kg devā. Kopumā, gan etanola tinktūrai, gan ūdens ekstraktam piemīt antagoniska darbība pret centrālo nervu sistēmu (CNS) nomācošiem līdzekļiem. Literatūras dati liecina, ka augu izcelsmes bioloģiski aktīvās vielas var labvēlīgi mainīt etanola farmakokinētiku, samazinot tā saturu asinīs. Samazināta etanola CNS nomācošo darbību pētnieki saista ar flavonoīdiem (Tovchiga, 2016).

1.3.7 Antioksidatīvās īpašības

Cilvēka organismā procesi, tostarp elpošana, vielmaiņa, pārtikas sagremošana var radīt kaitīgus savienojumus, kas ir pazīstami kā reaktīvas skābekļa formas (ROS). Reaktīvas skābekļa formas – superoksīda anjons (O_2^-), hidroksilradikāls ($-OH$) un ūdeņraža peroksīds (H_2O_2) – ķīmiski nestabilas molekulas (Losada-Barriero et al, 2022). Tās veidojas, kad pēdējā

orbitālē parādās nepāra elektrons. Tā rezultātā ievērojami palielinās tā spēja reaģēt ar citām molekulām. Zemā vai mērenā koncentrācijā brīvie radikāļi sniedz organismam pozitīvus ieguvumus, pildot tādas aizsardzības funkcijas kā cīņa pret patogēniem, gludās muskulatūras šūnu proliferācijas novēršana, sistēmiskās asinsrites regulēšana un regulē signālu pārnesei procesus. Augstā koncentrācijā brīvie radikāļi reaģē ar lipīdiem, olbaltumvielām un nukleīnskābēm, izraisot oksidatīvo stresu (Miguel-Chávez, 2017).

Oksidatīvais stress ir galvenais faktors, kas izraisa šūnu struktūru, t. i., membrānu, proteīnu, lipīdu un dezoksiribonukleīnskābes (DNS) bojājumus. Oksidatīvais stress ir fizioloģisks stāvoklis, kad pārmērīgā ROS veidošanās pārsniedz antioksidantu spējas detoksificēt tos. Nelīdzsvarotība starp prooksidantu un antioksidantu palielina iekaisumu, apoptozi un nekrozi. Oksidatīvais stress ir atbildīgs par tādiem patoloģiskiem stāvokļiem kā sirds un asinsvadu slimības, hroniskas obstruktīvas plaušu slimības, hroniskas nieru slimības, neurodeģeneratīvas slimības un vēzis (Kiran et al, 2022).

Vielas, kas var novērst vai aizkavēt tādu vielu kā olbaltumvielu, lipīdu, oglekļahidrātu un DNS oksidēšanos bioloģiskajās sistēmās, sauc par antioksidantiem. Mūsdienu sabiedrībā termins “antioksidants” ar katru gadu kļūst arvien nozīmīgāks, jo tas ir saistīts ar veselu virkni ieguvumiem cilvēka veselībai (Miguel-Chávez, 2017). Antioksidantus definē kā savienojumu grupu, kura spēj mazināt brīvo radikāļu negatīvo ietekmi, neitralizējot tos organismā. Antioksidantus klasificē dažādi. Ir iespējams klasificēt tos atkarībā no to izcelsmes – endogēnie un eksogēnie, vai pēc iedarbības mehānisma – enzīmu un neenzīmu, vai pēc šķīdības – ūdenī šķīstošie un lipīdos šķīstošie (Zehiroglu et al, 2019). Endogēnie ir tādi antioksidanti, kuri veidojas cilvēka organismā. Endogēno antioksidantu piemēri ir superoksīda dismutāze – metaloproteīns, kas spēj katalizēt superoksīda anjonu, katalāze – hemoproteīns, kas var detoksificēt ūdeņraža peroksīdu, glutaciona peroksidāze, glutations, glutaciona S transferāze un glutaciona reduktāze. Savukārt eksogēnie ir iegūti no uztura sastāvdaļām (Karpenko, 2023). Cilvēks ar uzturu var saņemt dažādus savienojumus, kuriem piemīt antioksidantu īpašības. Piemēram, askorbīnskābe, ūdenī šķīstošs vitamīns, kas spēj neitralizēt ūdeņraža peroksīdu, superoksīdu un hidroksila radikāļus. α -tokoferols, taukos šķīstošs vitamīns, reaģē ar lipīdu peroksila radikāļiem. Karetinoīdi, piemēram, β -karotīns un likopēns, kuri darbojas kā antioksidanti, kavējot lipīdu peroksidāciju un novēršot β -karotīna peroksīda radikāļu veidošanos, aizsargājot šūnu no oksidatīvā stresa. Kā arī polifenoli, kuri novērš ROS veidošanos (Kiran et al, 2022). Antioksidantu darbības mehānisms ir saistīts ar brīvo radikāļu neitralizēšanu, atdodot vai pieņemot elektronus, pārtraucot ķēdes reakcijas vai atjaunojot bojātās biomolekulas (Lu et al, 2010).

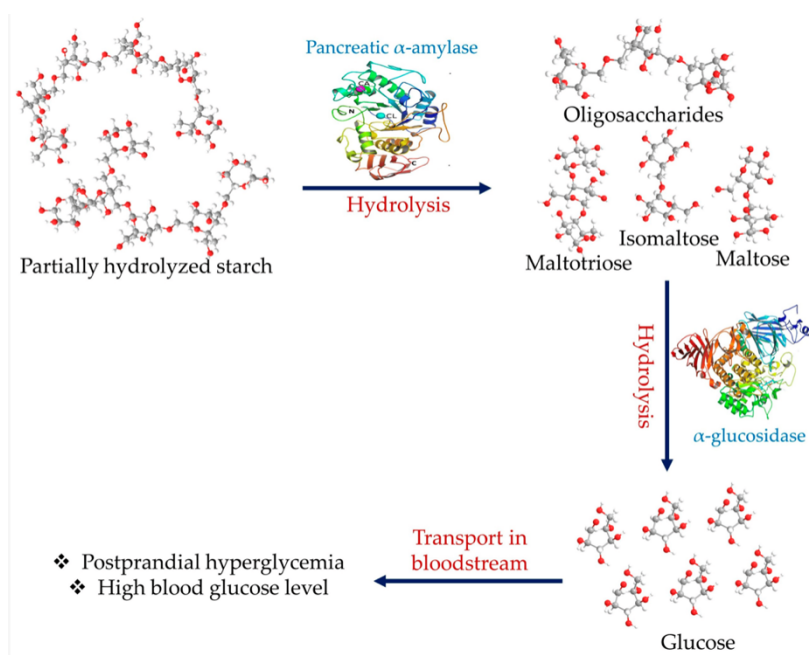
Izmantojot spektrofotometriskos paņēmienus, tika noteiktas *Aegopodium podagraria* antioksidatīvās īpašības. Auga virszemes daļas ekstraktu ieguva, izmantojot kā šķīdinātāju hloroformu, etanolu un etilacetātu. Analīzē tika izmantota 2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolīn-6-sulfoskābes (ABTS) un DPPH metodes. Šis raksts ļauj secināt, ka acetāta un hloroforma ekstraktiem bija zema antioksidatīvā aktivitāte. Tomēr etanola ekstrakts uzrāda augstu antioksidantu aktivitāti gan DPPH, gan ABTS testos (Valyova et al, 2016).

Jakubczyk et.al. (2021) pētījumā lapu ekstraktu antioksidatīvais potenciāls tika noteikts, izmantojot divas spektrofotometriskās metodes: DPPH un dzelzs jonu samazināšanas antioksidanta spējas (FRAP) testu. Rezultāti parādīja, ka visspēcīgākās antioksidatīvās īpašības piemīt etanola ekstraktam, kur ekstrakcijas procesā izmantoja augstāku temperatūru. Citā pētījumā, kas tika veikts, lai pārbaudītu antioksidatīvās īpašības, izmantoja šūnu kultūras. Šajā pētījumā tika izmantots nātrijs fluorīds, lai izraisītu oksidatīvo stresu makrofāgos. Nātrija fluorīda darbības mehānisms ir saistīts ar oksidēšanas – reducēšanas līdzsvara traucējumiem, tajā skaitā antioksidatīvās spējas samazināšana, katalāzes un superoksīda dismutāzes aktivitātes samazināšana, izraisot oksidatīvo stresu, kā arī skābekļa brīvo radikāļu veidošanos. Tika pierādīts, ka šūnu kultūrām pievienotie ekstrakti efektīvi mazina oksidatīvo stresu, palielinot šūnu antioksidatīvo kapacitāti, kā arī antioksidatīvo enzīmu aktivitāti. Ekstraktos esošie savienojumi, visticamāk, polifenoli, poliacetelēni un ēteriskās eļļas, nodrošina nepieciešamos kofaktorus antioksidantu fermentiem, kurus iepriekš inhibēja ļoti reaktīvais nātrijs fluorīds, veicinot šūnu aizsardzības sistēmas darbību (Jakubczyk et al, 2021).

1.4 α -amilāze un tās funkcijas

Ciete ir galvenā molekula augos un galvenais enerģijas avots dzīvniekiem un cilvēkiem. Fotosintēzes procesa auga lapās veidojas ciete, kas uzkrājas hloroplastos. Uzkrāta ciete tiek degradēta, veidojot galvenokārt maltozi un glikozi. Cietes sadalīšanās procesa iesaistīti vairāki enzīmi, tostarp α -amilāze (Stanley et al, 2005).

α -amilāze ir galvenais enzīms, kam ir svarīga loma ogļhidrātu sadalīšanās procesā organismā. α -amilāzes darbības mehānisms ir saistīts ar to piesaistīšanu sarežģītam ogļhidrātam, piemēram, cietes vai glikogēna substrātam, tad notiek hidrolīzes reakcija, kuras gaitā notiek glikozīdiskās saites pārraušana starp glikozes vienībām. Pēc α -amilāzes veiktās hidrolīzes veidojas vienkāršāki cukuri, piemēram, maltoze, maltotriozes un dekstrāns. Šīs mazākās cukura molekulas organisms vieglāk uzsūc. Šāda uzsūkšanās ir svarīga cilvēka organismam, jo tā veicina enerģijas ražošanu, ko organisms izmanto dažādām funkcijām, piemēram, vielmaiņai un augšanai. Tomēr mazākas molekulas izraisa straujāku glikozes līmeņa paaugstināšanos asinīs (Kashtoh et al, 2023).



1.4.1 att., Gremošanas fermentu darbības mehānisma un to ietekmes uz postprandiālo hiperglikēmiju shematisks attēlojums (Kashtoh et al, 2023)

1.5 Cukura diabēts

Cukura diabēts ir viena no visizplatītākajām slimībām, un saskaņā ar Pasaules Veselības organizācijas (PVO) datiem cukura diabēta gadījumu skaits ir strauji palielinājies un turpina pieaugt. Diabēts tiek uzskatīts arī par vienu no galvenajiem komplikāciju cēloņiem, piemēram, aklums, nieru mazspēja, sirdslēkmes, insults un apakšējo ekstremitāšu amputācija. Lai nepieļautu šādu komplikāciju veidošanos, ir svarīgi pievērst uzmanību glikozes kontrolei, piemērotai diētai, fiziskām aktivitātēm, medikamentiem un alternatīviem preparātiem, piemēram, augu ekstraktiem (WHO, 2023).

Cukura diabēts ir vielmaiņas slimība, kas ir saistīta ar pārmērīgi paaugstinātu glikozes līmeni asinīs. Klīniski diabētu var iedalīt četros apakštipos: 1. tipa cukura diabēts vai insulīnatkarīgais diabēts; 2. tipa cukura diabēts, kuru raksturo insulīna rezistence ar relatīvu insulīna deficītu vai insulīna sekrēcijas traucējumu; gestācijas diabēts citi specifiski diabēta veidi.

1.tipa diabēts ir autoimūna slimība, kuras laikā organisma imūnsistēma kļūdaini uzbrūk aizkuņģa dziedzera beta šūnām, kas atbild par insulīna ražošanu, un tās iznīcina. 1 tipa diabētu diagnosticē kā absolūtu insulīna deficītu. 1.tipa diabētu var izraisīt dažādi faktori, piemēram, ģenētika un dažādi vīrusi. Visbiežāk, 1.tipa diabēts attīstās bērnībā vai pusaudžu vecumā, tomēr var attīstīties arī pieaugušiem. 2. tipa diabēta etimoloģija ir saistīta ar dažādiem faktoriem, tostarp, ģenētiskā predispozīcija, vecums, aptaukošanās un nepietiekama fiziskā aktivitāte, kā arī neatbilstošs uzturs, kas bagāts ar vienkāršajiem oglehidrātiem un taukiem (Riyaphan et al, 2021). Gestācijas diabēts veidojas grūtniecības laikā un ir glikozes tolerances traucējums. Grūtniecības diabēts ir bīstams stāvoklis, kas izraisa virkni veselības problēmu gan mātei, gan jaundzimušajam, tostarp intrauterīnas augšanas aizkavēšanos, priekšlaicīgu dzemdību attīstību, preeklampsiju, zīdīšanas traucējumus, dzelti (Mukherjee et al, 2022).

1.6 α -amilāzes inhibitori

Ir ziņots, ka ogļhidrātu gremošana ir saistīta ar paaugstinātu postprandiālo glikozes līmeni asinīs. Viena no stratēģijām postprandiālās hiperglikēmijas mazināšanai ir ogļhidrātu gremošanas fermentu aktivitātes ierobežošana zarnu traktā, tostarp, inhibējot α -glikozidāzi un α -amilāzi. Šo fermentu inhibēšana ir nozīmīga diabēta attīstības procesu ietekmēšanai un diabēta pacientu profilaksei un ārstēšanai (Gong et al, 2020).

α -amilāzes inhibitori ir savienojumu grupa, kas traucē α -amilāzes enzīma darbību. α -amilāzes inhibitori var darboties kā enzīma vai tā aktīvā centra bloķētāji, ierobežojot saistīšanos ar substrātu un turpmāko hidrolīzes reakcijas katalīzi. Tādējādi α -amilāzes inhibitori palēnina vai pilnībā bloķē polisaharīdu sašķelšanas procesu līdz vienkāršajiem cukuriem. Palēnināta polisaharīdu sašķelšana palīdz samazināt glikozes līmeni asinīs pēc ēšanas. Kā arī veicināt lēnāku un vienmērīgāku ogļhidrātu uzsūkšanos no pārtikas, kas var palīdzēt stabilizēt cukura līmeni asinīs. Tāpēc klīniski ir iespējams izmantot α -amilāzes inhibitorus, lai novērstu tādas slimības kā diabēts, hiperglikēmija, hiperlipēmija un aptaukošanās (Gong et al, 2020).

Akarboze ir perorāls α -glikozidāzes un α -amilāzes inhibitors, ko lieto 2.tipa diabēta ārstēšanā. Akarboze ir komplekss oligosaharīds, kas konkurē ar alfa-amilāzes un alfa-glikozidāzes enzīmiem un tādējādi kavē glikozes uzsūkšanos no kuņģa un zarnu trakta (Gong et al., 2020). Tomēr akarbozes lietošana izraisa nevēlamas blakusparādības, tostarp caureju un vēdera pūšanās, kas rodas, ilgstoši kavējot cietes hidrolīzi. Turklāt pārmērīga aizkuņģa dziedzera α -amilāzes inhibīcija ilgstošas akarbozes lietošanas rezultātā var izraisīt nesagremota karbohidrāta uzkrāšanos resnajā zarnā, kas kalpo kā substrāts baktēriju fermentācijai (Oboh et al, 2016). Miglitols ir pret diabēta līdzeklis, tāpat kā akarboze, var izraisīt gremošanas traucējumus, piemēram, vēdera pūšanos, caureju un sāpes vēderā (Riyaphan et al, 2021). Šo nevēlamo blakusparādību dēļ pieaug interese par augu izcelsmes preparātiem, kas spēj pazemināt glikozes līmeni.

Tradicionālā medicīnā kopš seniem laikiem izmantoja dažādu augu ekstraktus diabēta ārstēšanai. Ir pieejami dati par daudzu ekstraktu un to sekundāro metabolītu pret diabēta iedarbību, jo īpaši, inhibējot α -amilāzi vai α -glikozidāzi. Dabiskas izcelsmes vielām ir daudz priekšrocību, tostarp to pieejamība un retāk sastopamās blakusparādības, tāpēc ekstrakti tiek uzskatīti par alternatīvu un papildinošu ārstniecības līdzekli. Vairākas sekundāro metabolītu grupas, ieskaitot flavonoīdus, polisaharīdus, fenolskābes, terpenoīdus, tanīnus, alkaloīdus, ir identificētas kā potenciāli α -amilāzes fermenta inhibitori (Kashtoh et al, 2023).

Polifenolu grupai flavonoīdiem ir potenciāls inhibēt α -amilāzes fermentu. Pētnieku grupa ir pētījusi flavonoīdus un cilvēka siekalu α -amilāzes mijiedarbību un ziņojumā ir minēts, ka

flavanoli, flavanoni un izoflavanoni ir mazāk aktīvi nekā flavoni un flavonoli (Takahama et al, 2018). Jaunāki pētījumi liecina, ka flavona atvasinājumi, kas tika atrasti *Andrographis echinoides* lapās, ievērojami inhibē α -amilāzi un palēnina glikozes uzņemšanu. Citā veiktā pētījumā atklājās, ka *Euryale ferox* sēklām piemīt laba α -amilāzes inhibējošā iedarbība salīdzinājumā ar akarbozi (IC50 = 1,08 mg/ml) (Kashtoh et al, 2023).

Fenolskābēm, kas pieder polifenolu klasei, neflavonoīdu grupai, piemīt spēja inhibēt α -glikozidāzes un α -amilāzes enzīmu bioaktivitāti. Pētījumā no augu avota iegūta ellagskābe pierādīja labāku inhibīciju salīdzinājumā ar kontroli. Līdzīgi Paun et al (2020) no *Anchusa officinalis* izdalīja rozmarīnskābi un hlorogēnskābi. No šīm fenolskābēm 20 reižu lielāku inhibēšanas iedarbību uzrādīja rozmarīnskābe salīdzinājumā ar standarta paraugu. Turklāt vēl viena fenolskābe p-kumarīnskābe, kas tika izdatīta no *Agave americana L.*, uzrādīja ievērojamu cilvēka α -amilāzes enzīma inhibīciju (Kashtoh et al, 2023).

Aljaafreh et.al. (2023) veiktajā pētījumā vairāki augi aktivizēja α -amilāzes darbību, tostarp ir *Angelica sinensis* (-156 %), *Dracaena Cinnabari balf* (-94 %) un *Artemisia herba-alba* (-73 %) Šī īpašība var būt noderīga cilvēkiem hipoglikēmijas gadījumā (Aljaafreh et al, 2023).

2. MATERIĀLI UN METODEDES

2.1 Materiāli

2.1.1 Reāģenti un palīgvielas

1. Dejonizēts ūdens, H₂O;
2. Etanols, C₂H₅OH (70 %);
3. Galluskābe (Sigma-Aldrich);
4. Folina-Čiokalteu reāģents (Sigma-Aldrich);
5. 0,5 mM DPPH šķīdums metanolā (Sigma-Aldrich);
6. Askorbīnskābe;
7. α-amilāze (3U/ml) 0,1 M fosfāta buferšķīdumā;
8. Cietes šķīdums (2 %);
9. Sālsskābes šķīdums (0,1 M):
10. Joda šķīdums (2,5mM).

2.1.2 Aparatūra un materiāli

1. Aizkraukles rajonā savvaļā ievāktas podagras gārsas saknes;
2. Mikroplašu lasītājs TEKAN Infinite 200 PRO Tecan Trading AG;
3. Termostats, inkubators ar kratītāju ES-20/00 Biosan;
4. Laboratorijas žāvskapis Memmert UF30;
5. Liofilizators ALPHA 1-4 LDplus, Christ;
6. Maisītājs Vortex-Genie 2 Scientific Industries;
7. Rotācijas ietvaicētājs - rotācijas sistēma (Büchi Rotavapor R-114), ūdens vanna (Büchi Waterbath B-480), vakuuma kontroles sistēma (Heidolph), dzesēšanas iekārta;
8. Analītiskie svāri AS/60/220/C/2 Radwag;
9. Laboratorijas svāri WTB 200 Radwag;
10. 96 lauciņu plate (Sarstedt, Vācija);
11. Ependorfa mēģenes (Sarstedt, Vācija);
12. Automātiskā un multikanālu pipetes (Sarstedt, Vācija);
13. Pipešu uzgaļi (Sarstedt, Vācija);
14. Šķidrums uzpildes vanniņas (Sarstedt, Vācija);
15. Ependorfa mēģeņu statīvs;
16. Filtrpapīrs.

2.2 Metodes

2.2.1 Darbā analizēto paraugu sagatavošana

Pētījumā tika izmantotas garākās, resnākās saknes kopā ar mazākām saknītēm, turpmāk tekstā - saknes. Pirms apstrādes saknes tika rūpīgi nomazgātas un nosusinātas. Pētījumam tika sagatavoti seši sakņu paraugi, kas ar laboratorijas svāriem tika nosvērti pa 10 gramiem (skat. 2.1. att). Divus no sešiem paraugiem piecas dienas žāvēja 60 °C temperatūrā. Divi paraugi tika liofilizēti divas dienas 0,035 mbar spiedienā, to pirms liofilizācijas novietoja saldētavā. Pārējos divus paraugus izmantoja svaigā veidā. Pētījuma *Aegopodium podagraria* svaigas un iepriekš apstrādātas saknes, attiecīgi liofilizētas vai karstumā žāvētas, tika sasmalcināti aptuveni 1 cm garumā (skat. 2.2. att.).



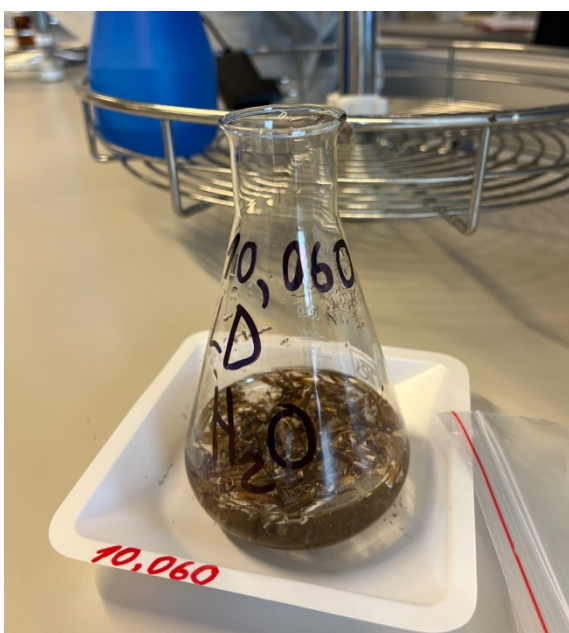
2.1 att., *Aegopodium podagraria* svaigas saknes svārs



2.2 att., Sasmalcinātas *Aegopodium podagraria* saknes

2.2.2 Macerācijas metode

Saknes ievietoja koniskajā kolbā un aplēja ar 100 ml šķīdinātāja. Lai salīdzinātu, ar kuru ekstrakcijas šķīdinātāju iegūst lielāko ķīmisko savienojumu daudzumu, kā šķīdinātājus izmantoja ūdeni un 70 % etanola šķīdumu. Saknes ekstrahēja istabas temperatūrā ar pastāvīgu maisīšanu divas stundas, lai uzlabotu izšķīdušās vielas atbrīvošanu no drogas. Iegūto šķīdums nofiltrēja tumšā stiklā pudelē un marķēja. Uz etiķetēm ir rakstīts – Svaiga droga ūdens ekstrakts; Svaiga droga etanola ekstrakts; Liofilizēta droga ūdens ekstrakts; Liofilizēta droga etanola ekstrakts; Karstumā žāvēta droga ūdens ekstrakts; Karstumā žāvēta droga etanola ekstrakts. Pudeles tika uzglabātas ledusskapī turpmākai izpētei.



2.3 att., *Aegopodium podagraria* ekstraktu iegūšana, izmantojot macerācijas metodi

2.2.3 Rotācijas ietvaicēšana

Pētījumā tika izlemts iegūt koncentrētāku šķīdumu, izmantojot rotācijas ietvaicēšanas metodi. Rotācijas ietvaicēšanu plaši izmanto laboratorijas mērķiem. Šīs metodes būtība ir samazināt šķīduma tilpumu, rotējot paraugu saturošu kolbu ar nemainīgu ātrumu, vienlaikus saglabājot vakuuma spiedienu. Savukārt spiediens vakuumā samazina šķīdinātāja viršanas temperatūru, ļaujot tam iztvaikot zemākā temperatūrā un kontrolētā veidā (Rotācijas ietvaicēšana: Wikipedia).

2.2.4 Kopējo polifenolu noteikšana

Kopējo polifenolu noteikšanai tika izveidota standartlīkne, izmantojot galluskābi. Galluskābe tika sagatavota 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625, 0,03125 un 0,015625 mg/ml atšķaidījumos. Standartus sagatavoja un iepildīja 96 lauciņu mikroplates iedobītēs, izmantojot automātiskās pipetes. Sākotnēji mikroplatē bija pievienoti 50 µL galluskābes šķīdumu noteiktās koncentrācijas, tad katrā lauciņā pievienoja 50 µl Folina-Čiokalteu reaģenta. Podagras gārsas triplikāta paraugus sagatavoja līdzīgā veidā, galluskābes vietā pievienojot 50 µl ekstrakta. Reaģentu kontrolei triplikātos ekstrakta un galluskābes vietā iemēra 50 µl dejonizēta ūdens un 50 µl 70 % etanola šķīdumu. Plati inkubēja istabas temperatūrā, tumšā vietā 30 minūtes. Mikroplates esošo savienojumu absorbciju mēra pie 750 nm ar mikroplašu lasītāju TEKAN Infinite 200 PRO. Kopējais polifenolu saturs tiek izteikts kā galluskābes ekvivalenti (GSE) uz ml gārsas ekstrakta (Singleton et al, 1965)

2.2.5 DPPH neitralizēšanas tests

Lai noteiktu Podagras gārsas antioksidatīvo spēju izmantoja DPPH radikāļa neitralizēšanas testu. Lai salīdzinātu ekstrakta polifenolu spēju reducēt DPPH radikāļus, tika izmantota referenta viela ar labi zināmām antioksidantu īpašībām – askorbīnskābe. Askorbīnskābe tika sagatavota 10 mg/ml koncentrācija. Referentu vielu sagatavoja, iemērot 96 lauciņu mikroplatē 20 µl askorbīnskābes un 180 µl 0,5 mM DPPH šķīduma metanolā. Paraugus sagatavoja pievienojot platei 20 µl un 180 µl 0,5 mM DPPH šķīduma metanolā. Reaģentu kontrolei izmanto 20 µl dejonizēta ūdens un 70 % etanola šķīdumu. Plati inkubēja istabas temperatūrā, tumšā vietā 30 minūtes. Mikroplates absorbciju mēra pie 517 nm, izmantojot mikroplašu lasītāju TEKAN Infinite 200 PRO (Kedare et al, 2011) Pēc tam aprēķināja parauga DPPH radikāļu inhibīcijas procentuālo daudzumu, izmantojot šādu formulu: Antioksidanta aktivitāte (%) = $[(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$, kur

- A_0 ir DPPH šķīduma absorbcija bez antioksidanta (kontrolē);
- A_1 ir DPPH šķīduma absorbcija pēc antioksidanta pievienošanas.

2.2.6 α -amilāzes aktivitātes tests

α -amilāzes aktivitāte darbā pārbaudīta, izmantojot cietes-joda metodi. Pamatā metode balstās uz cietes reakciju ar jodu, veidojot zilās krāsas kompleksu. α -amilāzes klātbūtnē ciete hidrolizējas mazākos fragmentos, kas, reaģējot ar jodu, uzrāda zemāku absorbciju. Savukārt α -amilāzes inhibēšana palielina zilās krāsas intensitāti un līdz ar to arī absorbcijas vērtību.

96 lauciņu mikroplatē pievienoja 20 µl ekstrakta parauga un 10 minūtes inkubēja 37 °C temperatūrā ar 20 µl alfa-amilāzes (3U/ml) 0,1 M fosfāta buferšķīdumā. Pēc inkubācijas šķīdumam pievienoja 40 µl 2 % cietes. Maisījumu papildus inkubēja 37 °C temperatūrā 30 minūtes. Lai iegūtu krāsainu kompleksu pievienoja 70 µl joda šķīduma. Reakcijas apturēšanai pievienoja 50 µl sālsskābes šķīduma. Kontrolei izmantoja ūdeni un 70 % etanola šķīdumu, pievienojot attiecīgus reaģentus. Absorbciju noteica pie viļņa garuma 630 nm. Ekstraktu iedarbību uz α -amilāzi aprēķināja kā IC50 µl/ml (Chakrabarti et al, 2014).

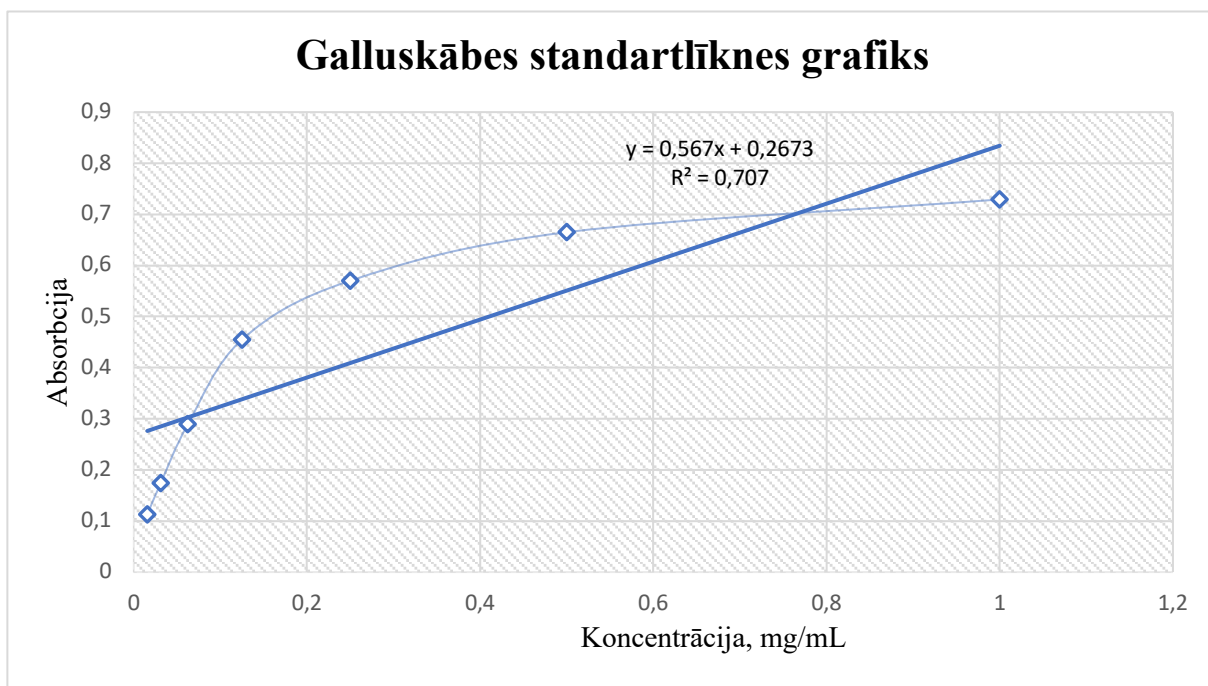
2.2.7 Datu analīze

Eksperimenti atkārtoja trīs reizes, un rezultāti aprēķināti kā vidējais ar standartnovirzi (SD). Dati aprēķināti un analizēti ar ANOVA (one-way analysis of variance) ar GraphPad prism programmas versiju 10.0 (Graph Pad Software, Inc. San Diego, CA, USA). Statistiskā ticamība starp grupām aprēķināta ar Dunnett's daudzkārtējo salīdzinājumu tests $p \leq 0,05$.

3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA

3.1 Kopējais polifenolu daudzums ekstraktos

Pētījumā tika izmantota Folina-Čiokalteu metode. Folina-Čiokalteu metode ir plaši izmantota analītiskā metode, lai novērtētu kopējo polifenolu savienojumu daudzumu paraugā. Metodes pamatā ir fenolu savienojumu spēja reducēt Folina-Čiokalteu reaģentu, veidojot zilas krāsas produktus, fosfomolibdīnskābes un fosfotangskābes kompleksus, kurus var noteikt kvantitatīvi spektrofotometriski. Izveidotās krāsas intensitāte palielina parauga absorbciju un ir tieši proporcionāla kopējam polifenolu saturam paraugā. Iegūtā šķīduma absorbciju mēra, izmantojot spektrofotometru pie 750 nm. Fenolu saturu paraugā nosaka, pamatojoties uz kalibrēšanas līkni, kas izveidota, izmantojot standarta šķīdumus ar zināmu polifenolu koncentrāciju. Lai noteiktu kopējo polifenolu daudzumu ekstraktos, tika izveidota galluskābes standartlīkne, izmantojot septiņas dažādas galluskābes koncentrācijas (skat. 3.1. att.). Katra ekstrakta koncentrāciju noteica pēc iegūtās standartlīknes datiem.

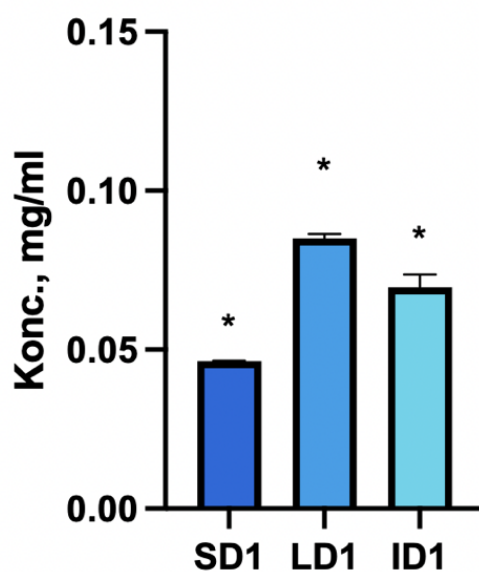


3.1. att., Iegūtais galluskābes standartlīknes grafiks savienojumu kvantitatīvai noteikšanai

Veicot ekstrakcijai izmantoto šķīdinātāju savstarpēju salīdzinājumu, tiek novērota statistiska atšķirība starp svaigas drogas ūdens un etanola ekstraktiem ($p \leq 0,05$). Polifenolu koncentrācija svaiga ūdens un etanola ekstraktos ir $0,04619 \pm 0,000135$ mg/ml un $0,12694 \pm 0,004259$ mg/ml. Liofilizētas drogas ūdens un etanola ekstraktiem ($p \leq 0,05$), koncentrācija attiecīgi ir $0,085020 \pm 0,001393$ mg/ml un $0,100311 \pm 0,002039$ mg/ml. Salīdzinot ūdens un etanola karstumā žāvētas drogas ekstraktiem, atšķirība netika atrasta ($0,070842 \pm 0,002039$

mg/ml un $0,081175 \pm 0,011111$ mg/ml) (skat. 3.2. un 3.3. att.). Kopējais polifenolu daudzums bija lielāks ekstraktos, kas ekstrahēti ar etanolu. Rezultāti par fenola atvasinājumu kvantitatīvajiem rādītājiem starp ūdens un etanola šķīdumiem ir skaidrojami ar to šķīdību attiecīgajos šķīdinātājos. Etanols kā šķīdinātājs bieži tiek izmantots, jo tas nodrošina apmierinošu ekstrakciju. Metanols, acetons un ūdens vien ir mazāk efektīvi šķīdinātāji, lai ekstrahētu kopējos fenolus no augu materiāla, jo polifenoli mēdz būt saistīti ar citām biomolekulām, piemēram, terpēniem, polisaharīdiem, hlorofilu, olbaltumvielām, lipīdiem un neorganiskiem savienojumiem. Tomēr metanola ekstrakti ir izrādījušies labāki katehīna, epikatehīna un epigalokatehīna ekstrakcijai. Ūdens maisījumi ar acetonu ir labi šķīdinātāji polāro polifenolu iegūšanai, bet ekstraktos tie ne vienmēr ir vēlami. Polifenolu zemā šķīdība absolūtos organiskajos šķīdinātājos ir saistīta ar ūdeņraža saišu pastiprināšanos starp polifenoliem un proteīniem. Šķīdības palielināšanās, organiskajiem šķīdinātājiem pievienojot ūdeni, ir saistīta ar ūdeņraža saišu pavājināšanos ūdens šķīdumos (Rajbhar, 2015).

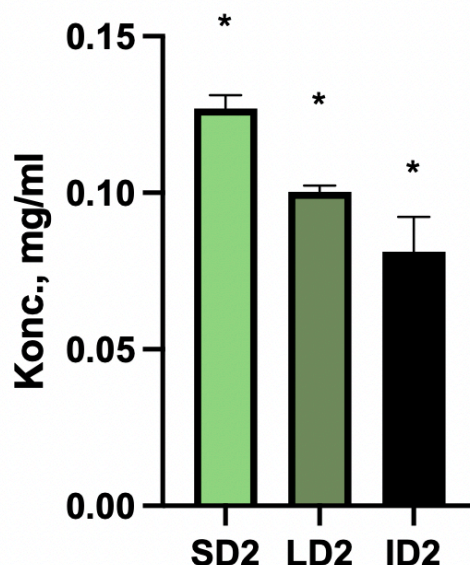
Kopējais polifenolu daudzums



3.2 att. Polifenolu daudzums *Aegopodium podagraria* ūdens ekstraktos

SD – Svaiga droga; LD – Liofilizēta droga; ID – Paaugstinātā temperatūrā žāvēta droga * $p \leq 0,05$

Kopējais polifenolu daudzums



3.3 att., Polifenolu daudzums *Aegopodium podagraria* etanola ekstraktos

SD – Svaiga droga; LD – Liofilizēta droga; ID – Paaugstinātā temperatūrā žāvēta droga * $p \leq 0,05$

Pētījumā tika izmantota viena no biežāk lietojamām ārstniecisko vielu ekstrakcijas metodēm – macerācija. Macerācijas procesa būtība ir auga mērcēšanā šķīdinātājā, iegūstot ķīmiskos savienojumus, kas atrodas auga materiālā (Godhi et al, 2021). Ir pierādīts, ka ūdens vai etanols, kā arī šo vielu maisījums ir efektīvs veids, ka no auga daļām iegūtu polifenolus, jo īpaši polifenolus, kuru struktūrā ir vairākas hidroksilgrupas. Tomēr polifenolu grupā ietilps arī citas vielas ar dažādām funkcionālam grupām, kuri labāk šķīst mazāk polāros šķīdinātajos. Etanols ir polārs šķīdinātājs, tas labāk šķīdina polārākas vielas, tomēr tam piemīt spēja šķīdināt arī nepolārus savienojumus, tostarp nepolārus polifenolus. Ūdens un etanola sajaukšana palielina fenola savienojumu šķīdību hidrofobās mijiedarbības dēļ. Ir pierādīts, ka etanols var samazināt ROS, kā rezultātā palielinās savienojumu izdalīšanās no saknēm (Margherita et al, 2024). Bajkacz et al (2018), izmantojot augstas izšķirtspējas šķidrums hromatogrāfiju līdzīgi mūsu iegūtiem rezultātiem pierādīja, ka lielāks polifenolu daudzums iegūts, izmantojot etanola vai metanola šķīdinātājus salīdzinājuma ar ūdeni (Bajkacz et al, 2018). Šķīdinātāja un temperatūras ietekmi uz polifenolu daudzumu pētīja cita pētnieku grupa. Rezultāti parādīja, ka ekstrahēto polifenolu daudzums palielinās paaugstinot ekstrakcijas temperatūru. Apkopojot mūsu un Jakubczyk et al (2021) rezultātus, tika konstatēta sakritība, proti, ka etanols veicina labāku auga savienojumu izdalīšanos (Jakubczyk et al, 2021).

Salīdzinot drogas apstrādes veidus, tika reģistrēta statistiski nozīmīga atšķirība starp visiem apstrādes veidiem gan ūdens, gan etanola ekstraktiem. Ūdens ekstraktiem lielākais

polifenolu daudzums, konstatēts liofilizētām paraugam: svaiga un liofilizēta droga ($p \leq 0,05$), liofilizēta un karstuma žāvēta ($p \leq 0,05$), svaiga un karstuma žāvēta droga ($p \leq 0,05$). Būtiskas atšķirības saistība ar apstrādes veidu tika novērotas visos etanola ekstraktos, kur lielāks polifenolu daudzums konstatēts svaigam ekstraktam.

Liofilizācijas procesam raksturīga zema temperatūra un pazemināts spiediens, kas savukārt saglabā augu materiāla integritāti un samazina fermentatīvo degradāciju, nodrošinot bioaktīvo savienojumu, piemēram, polifenolu, saglabāšanu (Gaidhani et al, 2015). Visticamāk fermentatīvas degradācijas samazinājums vai, iespējams, citi faktori sekmēja lielāku polifenolu izdalīšanos salīdzinājumā ar svaigu un karstumā žāvētu apstrādes veidu. Turpretī karstuma apstrādes metode izraisa polifenolu un citu fitoķīmisko vielu, piemēram, C vitamīna un kareinoīdu, sadalīšanos (Julia Nicole DeBenedictis et al, 2023). Chan et al (2013) pētīja augu antioksidantu īpašības un to, kā tās ietekmē žāvēšana. Pēc *Thunbergia laurifolia* lapu žāvēšanas etanola ekstrakta askorbīnskābes un kopējo polifenolu saturs samazinājās par 25 % un 36 %. Augstās temperatūrās karstumjutīgi savienojumi var sadalīties vairākos procesos, tostarp fermentatīvā degradācijā, hidrolīzē un oksidācijā. Fizioloģiskās izmaiņas karstuma izraisītā žāvēšanas procesa laikā ietekmē arī polifenolu daudzumu ekstraktos. Snoussi et al. (2021) konstatēja, ka žāvēšana ietekmē *Myrtus communis* L. lapu un sojas pupu eļļas etanola ekstraktu polifenolu saturu. Etanola lapu ekstrakta karsēšana 100-120 °C temperatūrā ievērojami samazināja to kopējo daudzumu. Žāvēšana 100 °C temperatūrā izraisīja 30 % polifenolu savienojumu zudumu. Lapu žāvēšana 120 °C temperatūrā ar 60 % samazinājumu izraisīja ievērojamu polifenolu ķīmiskā satura samazināšanos. Papildus faktors, kas var ietekmēt polifenolu sadalīšanos ir žāvēšanas ilgums. Tāpēc polifenolu saturs, izmantojot karstuma žāvēšanas metodi ir mazāks salīdzinājumā ar liofilizācijas metodi. Izmantojot karstuma žāvēšanas metodi, polifenolu daudzums ir palielināts salīdzinājumā ar svaigu sakņu ūdens ekstraktu. Šāds rezultāts ir saistīts ar karstuma iedarbību, kas no auga atdalīja mitrumu, veicinot kopējo polifenolu daudzuma rezultāta palielinājumu. Polifenolu ekstrakciju no svaigām saknēm var kavēt lielais ūdens daudzums, ka arī fermenti un citas vielas var noārdīt polifenolus, kā rezultātā to daudzums ir mazāks (Nagarajan et al, 2020).

Bakalaura darbā veiktajā pētījumā tika iegūti līdzīgi rezultāti kā Ajayi et al (2023). Zinātnieki analizēja *Buchholzia coriacea* svaigu un liofilizētu sēklu fitoķīmisko sastāvu. Pētījumā konstatēja, ka liofilizētās sēklas satur lielāku polifenolu daudzumu nekā svaigas sēklas. Garcia et al (2021) konstatēja līdzīgus rezultātus, pētnieku grupa analizēja dažādas apstrādes metodes, tostarp liofilizāciju, karstuma žāvēšanu un siltumsūkņa žāvēšanu un to ietekmi uz polifenolu savienojumiem. Lielākais polifenolu daudzums tika iegūts izmantojot siltumsūkņa žāvēšanas metodi, jo žāvēšanas temperatūra nepārsniedz 35 °C. Šis pētījums arī

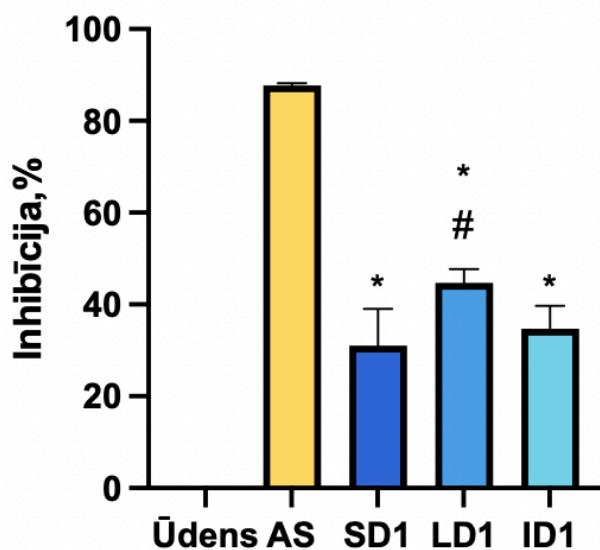
liecina, ka liofilizācija ir optimālā metode polifenolu savienojumu iegūšanai no augu materiāliem, jo fenolatvassinājumu daudzums bija augstāks, salīdzinot ar visiem pārējām apstrādes metodēm.

Šī pētījuma rezultāti atšķirās no Rhaman et al (2018) rezultātiem. Pētījumā tika pētīts, kā dažādi žāvēšanas procesi ietekmē svaigu, liofilizētu un karstumā žāvētu pamelo miziņu metanola ekstraktu kopējo polifenolu daudzumu. Biezākas pomelo mizas daļas un mizas daļas, kas pārklāj mīkstumu, polifenolu daudzums svaigā veidā bija ievērojami lielāks, salīdzinot ar 50 °C un 60 °C žāvēšanu un liofilizāciju (Rahman et al, 2018). Tomēr Rahman et al (2018) apstiprina rezultātus etanola ekstraktiem, kur lielākais polifenolu daudzums atklāts svaigas sakņu ekstraktā.

3.2 Ekstraktu antioksidatīvās īpašības

Šajā pētījumā izmantotais DPPH radikāļu neitralizācijas tests ir viena no izplatītākajām metodēm, ko izmanto ekstraktu antioksidatīvo īpašību noteikšanai. DPPH ir stabils brīvais radikālis ar tumši violetu krāsu, antioksidanta savienojuma klātbūtnē brīvais radikālis reducējas, kā rezultātā krāsa mainās no violetas uz dzeltenu. Krāsas zudums veicina absorbcijas samazināšanos, ko var kvantitatīvi noteikt ar spektrofotometriju pie 517 nm. Podagras gārsas antioksidantu īpašības tika novērtētas, izmantojot askorbīnskābi 10 mg/mL. Askorbīnskābes DPPH inhibīcijas spēja bija aptuveni 88 %. Svaigas drogas ūdens un etanola ekstrakti neitralizēja brīvo radikāli attiecīgi par 31 % un 56 %. Liofilizētu sakņu ūdens un etanola ekstrakti attiecīgi 45 % un 35 %. Turklāt termiski žāvētu drogu ūdens un etanola ekstrakti - attiecīgi 36 % un 31 %. (skat. 3.5. un 3.6. att.). Pētījumā Jakubczyk, novērtēta dažu macerācijā izmantoto šķīdinātāju ietekme uz DPPH neitralizāciju.

Ūdens ekstraktu DPPH inhibīcija

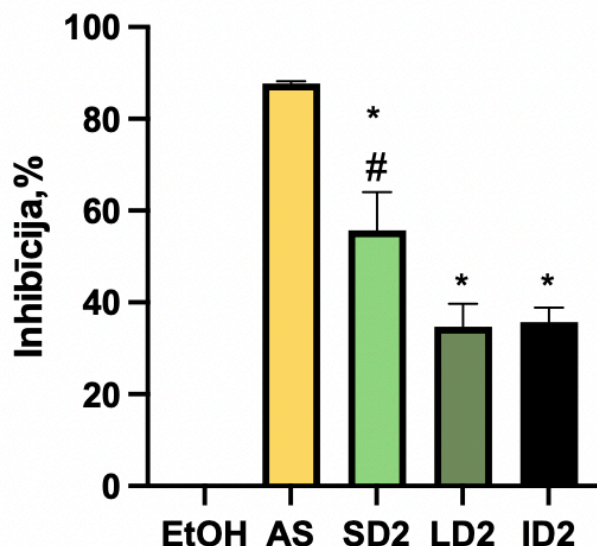


3.5 att., Ūdens ekstraktu DPPH inhibīcija

SD – Svaiga droga; LD – Liofilizēta droga; ID – Paaugstinātā temperatūrā žāvēta droga;

AS – Askorbīnskābe; * $p \leq 0,05$ pret kontroli (ūdens); # $p \leq 0,05$ pret SD1

Etanola ekstraktu DPPH inhibīcija



3.6 att. Etanola ekstraktu DPPH inhibīcija

SD – Svaiga droga; LD – Liofilizēta droga; ID – Paaugstinātā temperatūrā žāvēta droga;
AS – Askorbīnskābe; EtOH – etanols; * $p \leq 0,05$ pret kontroli (etanols); # $p \leq 0,05$ pret LD2 un ID2

Izmantojot DPPH neutralizācijas testu, rezultāts, kas iegūts svaigas saknes ekstraktam, attiecīgi saskan ar Jakubczyk iepriekš iegūtajiem rezultātiem. Pētnieku grupa salīdzināja *Aegopodium podagraria* lapu ūdens un etanola ekstraktu spēju inhibēt DPPH brīvo radikāli. Turklāt tika novērtēta temperatūras ietekme uz polifenolu savienojumu izdalīšanos, tādējādi arī ekstraktu ietekme uz antioksidatīvo aktivitāti. Rezultāti parādīja, ka augstāku antioksidatīvo aktivitāti uzrādīja paaugstinātā temperatūrā ekstrahēti etanola ekstrakti (Jakubczyk et al, 2021). Ekin et al (2017), pētot *Crataegus meyeri* ūdens un etanola ekstraktu antioksidatīvo kapacitāti, konstatēja līdzīgus rezultātus, ka etanola ekstraktam ir augstāka DPPH radikāļu neutralizācijas aktivitāte. Savukārt, analizējot ūdens un etanola liofilizētas un karstuma žāvētas saknes, lielāka antioksidatīva aktivitāte novērota ūdens ekstraktiem.

Rezultāti liecina, ka statistiski nozīmīgas atšķirības ir novērotas visiem pētījumā izmantotajiem ekstraktiem salīdzinājumā ar kontroli. Turpretī, salīdzinot apstrādes veidus savā starpā: atšķirība ir vērojama starp svaigas un liofilizētas drogas ūdens ekstraktiem ($p \leq 0,05$). Attiecībā uz etanola ekstraktiem atšķirība bija starp svaigu un liofilizētu ($p \leq 0,05$), svaigu un karstumā žāvētu drogu ($p \leq 0,05$), bet starp liofilizētu un karstumā žāvētu drogu ekstraktiem atšķirība netika novērota.

Analizējot apstrādes metodes, tika novērota pozitīva korelācija starp ekstrahēto polifenolu daudzumu un DPPH brīvo radikāļu neutralizāciju. Iepriekš ir raksturots, ka liofilizācijas metode ir optimālāks veids, kā iegūt polifenolu savienojumus, jo liofilizācijas procesa apstākļi būtiski neietekmē antioksidanta struktūru. Tātad, vislielākais polifenolu

daudzums ūdens ekstraktos iegūts no liofilizētas saknes, kurai attiecīgi ir augstāks DPPH inhibīcijas procents. Pozitīvā korelāciju starp ekstrakta polifenolu saturu un DPPH neitralizēšanu novērota arī citu autoru pētījumos. Analizētos *Aegopodium podagraria* auga ekstraktos lielāks neitralizācijas efekts novērots paraugos ar lielāku polifenolu un flavonoīdu daudzumu (Nizioł-Lukaszewska et al, 2020).

Antioksidatīvas aktivitātes atkarība no polifenolu savienojumiem novērota svaigam etanola ekstraktam. Polifenolu koncentrācija svaigu sakņu etanola ekstrakta ir $0,12694 \pm 0,004259$ mg/ml, attiecīgi antioksidatīva kapacitāte ir vislielākā salīdzinot ar visiem izmantotiem ekstraktiem.

Pētījuma Ajayi et al (2023) iegūtie rezultāti atšķiras no mūsu iegūtiem rezultātiem; lielāks DPPH inhibēšanas procents tiek novērots svaigam nekā liofilizētam *Buchholzia coriacea* sēklu ūdens ekstraktam. Savukārt, salīdzinot etanola ekstraktus lielāks DPPH inhibēšanas procents novērots liofilizētam nekā svaigam paraugam.

3.3 Ekstraktu α -amilāzes inhibēšanas spējas

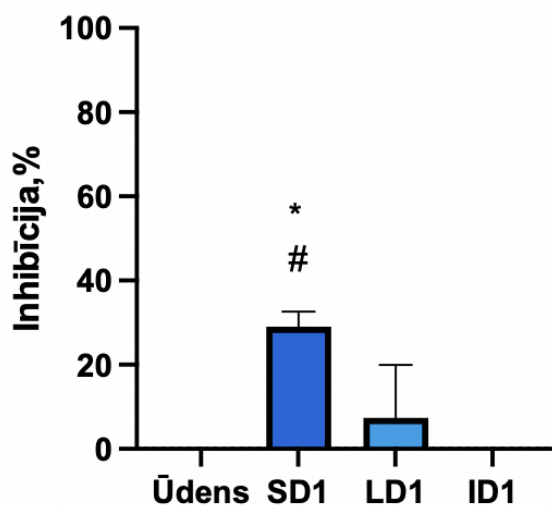
Paaugstināta α -amilāzes aktivitāte izraisa strauju cietes hidrolīzi, kas veicina cukura līmeņa paaugstināšanos. Tādējādi α -amilāzes aktivitātes inhibēšanu var izmantot 2. tipa cukura diabēta pacientu terapeitiskiem mērķiem. Mūsu pētījuma rezultāti rāda, ka α -amilāzes inhibējošā darbība ir svaigas un liofilizētas saknes ūdens ekstraktiem un svaigas, liofilizētas un karstumā žāvētas saknes etanola ekstraktiem. Turpretī nozīmīga atšķirība starp kontroles un pētītajiem paraugiem tika novērota tikai svaigās drogas ūdens paraugam (29 %). Salīdzinot šķīdinātājus, kas izmantoti ūdens ekstrakta un etanola ekstrakta iegūšanai ar macerācijas metodi, būtiska atšķirība netika konstatēta. Salīdzinot apstrādes metodi, augstāka α -amilāzes inhibīcijas spēja tika novērota svaigas saknes ūdens paraugam salīdzinājumā ar liofilizētu un termiski žāvētu gārsas sakni (skat. 3.7. un 3.8. att.). Analizējot iegūtos rezultātus netika novērota korelācija starp polifenolu saturu un inhibējošo aktivitāti.

Ćorković et al (2022) pētījumā tiek apkopoti dati par dažādu augu, tostarp *Nigella sativa*, *Morus alba*, *Eugenia dysenterica*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Stevia rebaudiana*, *Rubus subg. Rubus*, *Clitoria ternatea*, α -amilāzes inhibējošo darbību un to saistību ar polifenoliem (Ćorković et al, 2022). Pētījumā, kur tiek analizētas piecas *Vaccinium spp.* ogu atlieku ekstrakti, tiek noskaidrots, ka ekstraktiem piemīt α -amilāzes un α -glikozidāzes inhibējoša iedarbība. Inhibējošā aktivitāte ir izskaidrota ar ogu sastāvā esošiem polifenoliem (Muceniece et al, 2019). Pētījumā, kur analizēts *Taraxacum officinale* svaigu un žāvētu lapu ūdens, etanola un metanola ekstraktu pretdiabēta potenciāls, rezultāti liecina, ka augam piemīt α -amilāzes un α -glikozidāzes inhibējoša iedarbība. Papildus žāvētu lapu ūdens ekstrakti uzrāda lielāku šo enzīmu inhibīciju, rezultāts ir izskaidrojums ir polifenolu daudzuma palielināšanu pēc žāvēšanas (Murtaza et al, 2023).

Viens no faktoriem, kas, iespējams, noteica šādus atšķirīgus rezultātus, ir izmantotā metode. Cietes – joda reakcijas metode ir lēta metode, ko var izmantot α -amilāzes aktivitātes noteikšanai paraugos un tālākai pretdiabēta iedarbības novērtēšanai. Aktivitāti ierobežojošie faktori tika pētīti Ononamadu pētījumā, kur kā kontrole izmantota cita α -amilāzes inhibīcijas noteikšanas metode. Veiktais pētījums atklāja būtiskas atšķirības starp cietes-joda metodi un 3,5-dinitrosalicilskābes (DNSA) metodi. Ar cietes – joda metodi analizēja no *Dacryodes edulis* iegūtās vielas, kas liecināja par vāju inhibējošo aktivitāti, savukārt DNSA rezultāti liecināja par šo vielu spēcīgu inhibējošo aktivitāti. Pētījumā tika analizēta iespējama reakcija ar cietes struktūru. Ekstraktā esošie polifenolu savienojumi darbojas kā elektrona donori, neitralizējot DPPH radikāli. Iespējams, ka līdzīga darbība veicina cietes šķelšanu, tostarp paraugu krāsas

izzušanu. Krāsas samazinājums liecina par ekstraktu α -amilāzes inhibējošo negatīvo spēju (Ononamadu et al, 2020).

Ūdens ekstraktu alfa-amilāzes inhibēšanas spējas

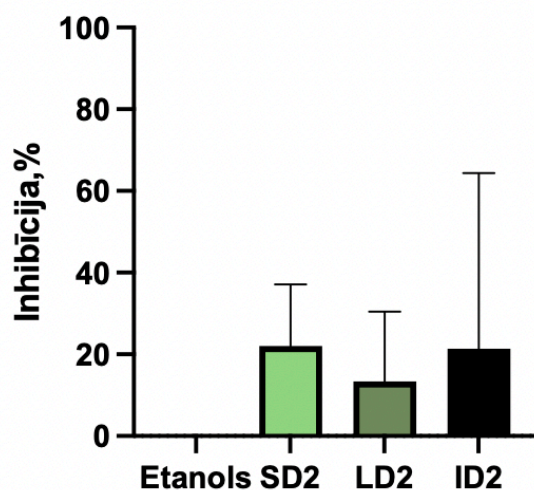


3.7 att., Ūdens ekstraktu α -amilāzes inhibēšanas spējas

SD – Svaiga droga; LD – Liofilizēta droga; ID – Paaugstinātā temperatūrā žāvēta droga;

* $p \leq 0,05$ pret kontroli (ūdens); # $p \leq 0,05$ pret LD1 un ID1

Etanola ekstraktu alfa-amilāzes inhibēšanas spējas



3.8 att., Ūdens ekstraktu α -amilāzes inhibēšanas spējas

SD – Svaiga droga; LD – Liofilizēta droga; ID – Paaugstinātā temperatūrā žāvēta droga;

4. SECINĀJUMI

1. No saknēm, kas apstrādātas ar liofilizācijas metodi, iegūtiem ūdens un etanola ekstraktiem ir lielāks polifenolu daudzums salīdzinājumā ar karstumā žāvētas Podagras gārsas ūdens un etanola ekstraktiem. Iespējams, ka paaugstināta temperatūra veicinājusi karstumjūtīgu savienojumu struktūras izjaukšanu.
2. Ar macerācijas metodi iegūtiem *Aegopodium podagraria* etanola ekstraktiem kopējais polifenolu daudzums ir lielāks nekā ar macerācijas metodi iegūtiem ūdens ekstraktiem. Lielākais polifenolu daudzums ir izskaidrojams ar polifenolu labāku šķīdību etanolā.
3. Ar macerācijas metodi iegūtam *Aegopodium podagraria* svaigu sakņu etanola ekstraktam novērota visaugstākās antioksidanta īpašības. To varētu izskaidrot ar lielāko polifenolu daudzumu ekstraktā.
4. Augstākā α -amilāzi inhibējošā aktivitāte novērota svaigas saknes ūdens ekstraktam.

5. PATEICĪBAS

Vēlos izteikt savu pateicību bakalaura darba vadītājai doc. Dr. pharm. Kristīnei Salenieci par pacietību, par padomiem bakalaura rakstīšanas laikā.

Pateicos Dr.hab.biol., prof. Rutai Mucenieci par palīdzību eksperimentālo laboratorijas datu ieguvē un izmantojamo iekārtu iepazīšanu.

6. IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Aegopodium podagraria attēls: <https://www.alamy.com/stock-photo/germany-aegopodium-podagraria.html?cutout=1&sortBy=relevant>” skatīts 18.05.2024)
2. Ajayi NMG, Lajide NL, Amoo NIA, Ayoade NWG. Proximate, mineral and antioxidant activity of wonderful kola (*Buchholzia coriacea*) seed (fresh and freeze-dried). *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*. 2023; 22(2):261–271.
3. Aljaafreh IY, Tarawneh AH, Shbailat YA, Alzagameem A, Al-Marafi H, Albadaineh H, et al. Antioxidant and alfa-amylase inhibition activities of medicinal plants are traditionally used for the treatment of digestive disorders in the near east region. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2023; e9702.
4. Augšpole I, Dūma M, Ozola B, Cinkmanis I. Phenolic profile of fresh and frozen nettle, goutweed, dandelion and chickweed leaves. *FoodBalt*. 2017.
5. Bajkacz S, Baranowska I, Buszewski B, Kowalski B, Ligor, M. Determination of flavonoids and phenolic acids in plant materials using SLE-SPE-UHPLC-MS/MS method. *Food Analytical Methods*. 2018; 11(12):3563–3575.
6. Bié J, Sepodes B, Fernandes P, Ribeiro M.H.L. Polyphenols in health and disease: gut microbiota, bioaccessibility, and bioavailability. *Compounds*. 2023; 3(1):40–72.
7. Chakrabarti R, Singh B, Vn P, Vanchhawng L, Thirumurugan K. Screening of nine herbal plants for in vitro α -amylase inhibition. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2014; 7(4):84-89.
8. Chan EWC, Lye PY, Eng SY & Tan YP “Antioxidant properties of herbs with enhancement effects of drying treatments: A synopsis. *Free Radicals and Antioxidants*. 2013; 3(1):2–6.
9. Christensen L.P, Brandt K. Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: Occurrence, bioactivity and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2006; 41(3):683–693.
10. Ćorković I, Gašo-Sokač D, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M. Dietary polyphenols as natural inhibitors of A-Amylase and A-Glucosidase. *Life*. 2022; 12(11):1692.
11. Debia K, Janda K, Siwiec E, Wolska J, Baranowska-Bosiacka I, Jakubczyk K, et al. Do brewing temperature and the morphological part of the ground elder plant have an influence on the fluoride content of ground elder infusions? *Fluoride*. 2018; 51(2):153–163.
12. Diabēts 5.04.2023, World Health Organization “Pieejams <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>”, skatīts 18.05.2024

13. Ekin S, Bayramoglu M, Goktasoglu A, Ozgokce F, Kiziltas H. Antioxidant activity of aqueous and ethanol extracts of *Crataegus meyeri* leaves and contents of vitamin, trace element. *Journal of the Chilean Chemical Society*. 2017 62(4):3661–3667.
14. Engelhardt L, Pöhnl T, Neugart S. Edible Wild Vegetables *Urtica dioica* L. and *Aegopodium podagraria* L.–Antioxidants Affected by Processing. *Plants*. 2022; 11(20):2710.
15. Gaidhani KA, Harwalkar M, Bhambere D, Nirgude PS. Lyophilization/freeze drying – a review. *World journal of pharmaceutical research*. 2015; Volume 4, Issue 8, 516-543.
16. Godhi B, Rudraswamy S, Shankar HJ, Kenganora M, Sumana, M. Detailed understanding of different extraction methods for the research on medicinal plants. *Indian Journal of Oral Health and Research/Indian Journal of Oral Health and Research*. 2021; 7(1):14.
17. Gong L, Feng D, Wang T, Ren Y, Liu Y. Inhibitors of α -amylase and α -glucosidase: Potential linkage for whole cereal foods on prevention of hyperglycemia. *Food Science and Nutrition*. 2020; 8(12):6320–6337.
18. Jakubczyk K, Janda K, Styburski D, Łukomska A. Goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) – botanical characteristics and prohealthy properties. *Postępy Higieny I Medycyny Doświadczalnej*. 2020; 74:28–35.
19. Jakubczyk K, Kwiatkowski P, Sienkiewicz M, Janda K. Zawartość polifenoli w ekstraktach z podagrycznika pospolitego (*Aegopodium podagraria* L.) oraz ich aktywność przeciwgronkowcowa. *Postępy Fitoterapii*. 2018; 19(1).
20. Jakubczyk K, Łukomska A, Czaplicki S, Wajs-Bonikowska A, Gutowska I, Czapla N, et al. Bioactive Compounds in *Aegopodium podagraria* Leaf Extracts and Their Effects against Fluoride-Modulated Oxidative Stress in the THP-1 Cell Line. *Pharmaceuticals*. 2021; 14(12):1334.
21. Kapetanios C, Karioti A, Bojović S, Marin P, Veljić M, Skaltsa H. Chemical and Principal-Component Analyses of the Essential Oils of Apioideae Taxa (Apiaceae) from Central Balkan. *Chemistry & Biodiversity*. 2008; 5(1):101–119.
22. Karasjova O, Vaccinium ģints ogu spiedpalieku ekstraktu efekti uz alfa glikozidāzes aktivitāti [bakalaura darbs]. Rīga: Latvijas Unversitāte; 2018.
23. Karpenko T. Nātru ekstraktu antioksidantu un antiglikēšanas īpašības [maģistra darbs]. Rīga: Latvijas Unversitāte; 2023.
24. Kashtoh H, Baek K-H. New Insights into the Latest Advancement in α -Amylase Inhibitors of Plant Origin with Anti-Diabetic Effects. *Plants*. 2023; 12(16):2944.

25. Kedare, SB, Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology/Journal of Food Science and Technology*. 2011; 48(4):412–422.
26. Kiran TR, Otlu O, Karabulut, AB. Oxidative stress and antioxidants in health and disease. *Journal of Laboratory Medicine*. 2023; 47(1):1–11.
27. Koyro O, Tovchiga O, Stepanova S.I, Shtrygol S. Yu. Study of the composition of the goutweed flowers essential oil, its renal effects and influence on uric acid exchange. *Pharmacognosy Communications*. 2012; 2(3):46–49.
28. Lang Y, Gao N, Zang Z, Meng X, Liu Y, Yang S, et al. Classification and antioxidant assays of polyphenols: a review. *Journal of Future Foods*. 2024; 4(3):193–204.
29. Losada-Barreiro S, Bayındır ZS, Paiva-Martins F, Bravo-DiAz C. Biochemistry of Antioxidants: Mechanisms and pharmaceutical applications. *Biomedicines*. 2022; 10(12):3051.
30. Lu J, Lin PH, Yao Q, Chen, C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2010; 14(4):840–860.
31. Margherita M, Gianmarco A, Anna M, Roberto F, Serena F, Milena P, et al. Using ethanol as postharvest treatment to increase polyphenols and anthocyanins in wine grape. *Heliyon*. 2024; 10(4):e26067.
32. Miguel-Chávez RS. Phenolic Antioxidant Capacity: A review of the state of the art. In *Tech eBooks*. 2017.
33. Muceniec R, Klavins L, Kvišis J, Jekabsons K, Rembergs R, Saleniec K, et al. Antioxidative, hypoglycaemic and hepatoprotective properties of five *Vaccinium* spp. berry pomace extracts. *Journal of Berry Research*. 2019; 9(2):267–282.
34. Mukherjee SM, Dawson, A. Diabetes: how to manage gestational diabetes mellitus. *Drugs in Context*. 2022; 111–11.
35. Murtaza I, Laila O, Drabu I, Ahmad A, Charifi W, Popescu, SM. Nutritional Profiling, Phytochemical Composition and Antidiabetic Potential of *Taraxacum officinale*, an Underutilized Herb. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*. 2022; 27(17):5380.
36. Nagarajan S, Nagarajan R, Kumar J, Salemme A, Togna AR, Saso L, et al. Antioxidant activity of synthetic polymers of phenolic compounds. *Polymers*. 2020; 12(8):1646.
37. Nizioł-Łukaszewska ., Martyna ZD, Ziemlewska A, Bujak T. Comparison of the Antiaging and Protective Properties of Plants from the Apiaceae Family. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020; 20201–16.

38. Oboh G, Ogunsuyi OB, Ogunbadejo MD, Adefegha, SA. Influence of gallic acid on α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of acarbose. *Journal of food and drug analysis*. 2016; 24(3):627–634,
39. Ojala T. *Biological Screening of Plant Coumarins [academic dissertation]*. Helsinki: University of Helsinki; 2001.
40. Ononamadu C, Ezeigwe O, Owolarafe T, Ihegboro G, Lawal T, Salawu K, et al. Starch-iodine assay method underestimates α -amylase inhibitory potential of antioxidative compounds and extracts. *BioTechnologia*. 2020; 101(1):45–54.
41. Orav A, Viitak A, Vaher, M. Identification of bioactive compounds in the leaves and stems of *Aegopodium podagraria* by various analytical techniques. *Procedia Chemistry*. 2010; 2(1):152–160.
42. Rahman MdM, Rahaman MdS, Islam MdR, Rahman F, Mithi FM, Alqahtani T, et al. Role of phenolic compounds in human disease: Current knowledge and future Prospects. *Molecules*. 2022; 27(1):233.
43. Rahman NFA, Shamsudin R, Ismail A, Shah NNAK, Varith J. Effects of drying methods on total phenolic contents and antioxidant capacity of the pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) peels. *Innovative Food Science and Emerging Technologies/Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2018; 50217–225.
44. Rajbhar K, Dawda H, Mukundan U. Polyphenols: methods of extraction. *Sci. Revs. Chem. Commun.*: 5(1), 2015, 1-6. ISSN 2277-2669
45. Riyaphan J, Pham D, Leong MK, Weng C. In Silico Approaches to Identify Polyphenol Compounds as α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitors against Type-II Diabetes. *Biomolecules*. 2021; 11(12):1877.
46. Rotācijas ietvaicēšana, Wikipedia “Pieejams https://en.wikipedia.org/wiki/Rotary_evaporator”, skatīts 18.05.2024
47. Singla R.K, Dubey A.K, Garg A, Sharma R, Fiorino M, Ameen S.M, et al. Natural Polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *Journal of AOAC International*. 2019; 102(5):1397–1400.
48. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1965; 16(3):144–158.
49. Snoussi A, Essaidi I, Koubaier HBH, Zrelli H, Alsafari I, Živoslav T, et al. Drying methodology effect on the phenolic content, antioxidant activity of *Myrtus communis* L. leaves ethanol extracts and soybean oil oxidative stability. *BMC Chemistry*. 2021; 15(1).

50. Stanley D, Farnden K.J.F, MacRae E.A. Plant α -amylases: functions and roles in carbohydrate metabolism. *Biologia*. 2005; 60/Suppl. 16: 65—71.
51. Stefanović O, Čomić, L, Sukdolak S. Antibacterial Activity of *Aegopodium podagraria* L. Extracts and Interaction Between Extracts and Antibiotics. *Turkish Journal of Biology*. 2009.
52. Takahama U, Hirota S. Interactions of flavonoids with α -amylase and starch slowing down its digestion. *Food and Function*. 2018; 9(2):677–687.
53. Tovchiga O. Interaction of *Aegopodium podagraria* L. (goutweed) preparations with central nervous system depressants. *Ukraïnskij Biofarmaceutičnij Žurnal*. 2016; 0(1(42)):31–36.
54. Tovchiga O. Metabolic Effects of Goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) Tincture and Metformin in Dexamethasone-Treated Rats. *Journal of Diseases and Medicinal Plants*. 2016; 2(6):117.
55. Valyova M, Tashev A, Stoyanov S, Yordanova S, Ganeva Y. In vitro free-radical scavenging activity of *Aegopodium podagraria* L. AND *Orlaya grandiflora* (L.) Hoffm. (Apiaceae). *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*. 2016; 51,3, 271-274.
56. Zehiroglu C, Sarıkaya SBO. The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *Journal of Food Science and Technology*. 2019; 56(11):4757–4774.

DOKUMENTĀRĀ LAPA

Bakalaura darbs "Podagras gārsas (*Aegopodium podagraria*) sakņu ekstraktu īpašību atšķirības atkarībā no drogu apstrādes veida" izstrādāts LU Medicīnas fakultātē.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors/e: Alisa Kurtukova _____
(vārds, uzvārds) (paraksts) (datums)

Rekomendēju/nerekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs/a: doc. Dr. pharm. Kristīne Saleniece _____
(amats, vārds, uzvārds, grāds) (paraksts) (datums)

Recenzents/e: _____
(amats, vārds, uzvārds, grāds) (paraksts) (datums)

Darbs iesniegts LU Medicīnas fakultātē _____
(datums)

Vecākā lietvede Juta Bārtule _____
(paraksts)

Bakalaura darbs aizstāvēts bakalaura studiju programmas „Farmācija” Bakalaura gala pārbaudījuma komisijas sēdē _____ 2024., prot. Nr. _____.

Komisijas sekretāre: _____
(paraksts)