Inga Sīle

**Ārstniecības augi
latviešu tautas
ārstniecības pierakstos
un to praktiskā
lietojuma analīze**

Promocijas darba kopsavilkums zinātniskā doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph.D.*)” iegūšanai

Nozare – medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija
Apakšnozare – farmakognozija

Rīga, 2021

RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Inga Sīle

ORCID 0000-0002-8338-4964

Ārstniecības augi latviešu tautas
ārstniecības pierakstos
un to praktiskā lietojuma analīze

Promocijas darba kopsavilkums zinātniskā doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph.D.*)” iegūšanai

Nozare – medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija
Apakšnozare – farmakognozija

Rīga, 2021

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātes Zāļu formu tehnoloģijas katedrā un Latvijas Organiskās sintēzes institūta Farmaceitiskās farmakoloģijas laboratorijā

Promocijas darba vadītājas:

Dr. pharm. profesore **Maija Dambrova**, Rīgas Stradiņa universitātes Farmācijas ķīmijas katedra, Latvijas Organiskās sintēzes institūta Farmaceitiskā farmakoloģijas laboratorija

Dr. pharm. docente **Edita Romāne**, Rīgas Stradiņa universitātes Zāļu formu tehnoloģijas katedra, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. pharm. docente **Inga Urtāne**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. habil. biol. profesore **Ruta Muceniece**, Latvijas Universitāte

Ph.D. profesore **Nina Hermans**, Antverpenes universitāte, Beļģija

Promocijas darbs tiks aizstāvēts promocijas padomes “Medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija” atklātā sēdē 2021. gada 20. augustā plkst. 11.00 *Zoom* tiešsaistes platformā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:
<https://www.rsu.lv/promocijas-darbi>

Promocijas padomes sekretāre:

Dr. biol. docente **Renāte Ranka**

Saturs

Saīsinājumi	6
Ievads	8
Darba mērķis	9
Darba uzdevumi	9
Darba hipotēze	10
Darba zinātniskā novitāte	10
1. Materiāli un metodes	12
1.1. Folkloras materiālu izpēte un analīze	12
1.1.1. Datu vākšana un augu botāniskā identifikācija	12
1.1.2. Veselības problēmu kategorijas	12
1.1.3. Izmantotās augu daļas, zāļu formas un to ieņemšanas veids	13
1.1.4. Folkloras datu salīdzinājums ar oficiālajām augu monogrāfijām	13
1.2. Augu materiāls, tā ekstrakts	13
1.2.1. <i>Pelargonium sidoides</i> DC. sakņu ekstrakts un no tā izolētie proantocianidīni	13
1.2.2. <i>Prunus padus</i> L. ziedu ekstrakts	14
1.3. Šūnu kultūra	14
1.3.1. Makrofāgu izolēšana no kaulu smadzenēm un inkubēšana ar ekstraktiem	14
1.3.2. Cilvēka perifēro asiņu mononukleārās šūnas	15
1.4. <i>Ex vivo</i> un <i>in vitro</i> metodes	16
1.4.1. Šūnu dzīvotspējas analīze ar laktāta dehidrogenāzes, alamarzilo un MTT testu	16
1.4.2. Anneksīna V krāsošanas tests	16
1.4.3. Makrofāgu polarizācija par M1 fenotipu un analīze ar plūsmas citometriju	17
1.4.4. Makrofāgu polarizācija par M2 fenotipu un analīze ar plūsmas citometriju	17
1.4.5. mRNS izolēšana un kvantitatīva PĶR analīze	17
1.4.6. Iekaisuma citokīnu sekrēcija	18
1.5. Kvalitatīvā un kvantitatīvā analīze	18
1.5.1. <i>Prunus padus</i> dietilētera ekstrakta gāzu hromatogrāfija- masspektrometrija (GC-MS)	18
1.5.2. <i>Prunus padus</i> etanola ekstrakta un liofilizētā parauga šķidrums hromatogrāfija-masspektrometrija (LC-MS)	19
1.6. Kopējā fenolu daudzuma noteikšana	19
1.7. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilradikāļu (DFPH) inhibēšanas metode	19
1.8. Kolagenāzes inhibējošā aktivitāte	20

1.9.	Datu apstrādes statistiskās metodes	20
2.	Rezultāti	21
2.1.	Latviešu tautas ārstniecības pierakstos minētās augu sugas un to lietošana	21
2.1.1.	Latviešu tautas medicīnā lietotie ārstniecības augi	21
2.1.2.	Veselības problēmu kategorijas	21
2.1.3.	Ārstētie traucējumi/ārstnieciskā iedarbība	22
2.1.4.	Izmantotās augu daļas	25
2.1.5.	No ārstniecības augiem pagatavotās zāļu formas un to ieņemšanas veids	25
2.1.6.	Latviešu tautas ārstniecības pierakstos minēto augu salīdzinājums ar oficiālajām augu monogrāfijām	26
2.2.	<i>Pelargonium sidoides</i> DC. sakņu ekstrakta un proantocianidīnu ekrakta ietekme uz baktēriju lipopolisaharīdu izraisītu iekaisumu	27
2.2.1.	<i>Pelargonium sidoides</i> sakņu ekstrakta un proantocianidīnu ekrakta ietekme uz lipopolisaharīdu izraisītu iekaisuma mediatora interleikīna-6 sekrēciju	27
2.2.2.	<i>Pelargonium sidoides</i> sakņu ekstrakta un proantocianidīnu ekrakta ietekme uz lipopolisaharīdu izraisītu iekaisuma gēnu ekspresijas izmaiņām	29
2.2.3.	<i>Pelargonium sidoides</i> sakņu ekstrakta un proantocianidīnu ekrakta ietekme uz lipopolisaharīdu izraisītu makrofāgu polarizāciju par M1 fenotipu	31
2.3.	<i>Prunus padus</i> L. ziedu ekstrakta ķīmiskais sastāvs un ietekme uz baktēriju lipopolisaharīdu izraisītu iekaisumu	32
2.3.1.	<i>Prunus padus</i> dietilētera ekstrakta gāzu hromatogrāfijas- masspektrometrijas analīze	32
2.3.2.	Šķidrums hromatogrāfijas-masspektrometrijas analīze <i>Prunus padus</i> 70 % etanola ekstraktam	33
2.3.3.	Kopējais fenola savienojumu daudzums un DFPH antiradikālā aktivitāte <i>Prunus padus</i> ziedu ekstraktā	37
2.3.4.	<i>Prunus padus</i> ziedu ekstrakta ietekme uz kolagenāzes aktivitāti	38
2.3.5.	<i>Prunus padus</i> ziedu ekstrakta ietekme uz LPS izraisītu iekaisuma mediatora interleikīna-6 sekrēciju	39
2.3.6.	<i>Prunus padus</i> ziedu ekstrakta ietekme uz LPS izraisītu makrofāgu polarizāciju par M1 un M2 fenotipu	41
3.	Diskusija	43
3.1.	Atšķirības starp ārstniecības augu tradicionālo un mūsdienu izmantošanu	43
3.2.	Latviešu tautas ārstniecības pierakstos atrodamo augu nākotnes izmantošanas iespējas	47

3.3. <i>Pelargonium</i> analīze	47
3.3.1. Atšķirības starp <i>Pelargonium</i> tradicionālo un mūsdienu izmantošanu	47
3.3.2. PSRE un PACN pretiekaisuma aktivitāte	49
3.4. <i>Prunus padus</i> analīze	50
3.4.1. Atšķirības starp <i>Prunus padus</i> tradicionālo un mūsdienu izmantošanu	50
3.4.2. PPFE pretiekaisuma aktivitāte	51
Secinājumi	54
Darba aprobācija – publikācijas un tēzes	55
Literatūras saraksts	57

Saīsinājumi

ANOVA	dispersiju analīze
BMDM	no kaulu smadzenēm izolēti makrofāgi
COX-2	ciklooksigenāze-2
DAD	diožu matricas detektors
DFPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazils
EC ₅₀	vidējā efektīvā koncentrācija
ELISA	enzimātiskā imūnfermentatīvā metode
EMA	Eiropas Zāļu aģentūra
FBS	fetālais liellopa serums
GC-MS	gāzu hromatogrāfija-masspektrometrija
GSE	gallusskābes ekvivalents
HPLC	augsti efektīvā šķidrums hromatogrāfija
IC ₅₀	puse no maksimālās inhibējošās koncentrācijas
IFN- γ	gamma interferons
IL	interleikīns
iNOS	inducējamā slāpekļa oksīda sintāze
LC-MS	šķidrums hromatogrāfija-masspektrometrija
LDH	laktāta dehidrogenāze
LFK	Latviešu folkloras krātuve
LPS	lipopolisaharīdi
M1	iekaisuma makrofāgi
M2	pretiekaisuma makrofāgi
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolija bromīds
PACN	<i>Pelargonium sidoides</i> sakņu ekstrakta proantocianidīni
PBMC	perifēro asiņu mononukleārās šūnas
PPFE	<i>Prunus padus</i> ziedu ekstrakts
PSRE	<i>Pelargonium sidoides</i> sakņu ekstrakts

RT	aiztures laiks
SEM	vidējās aritmētiskās vērtības standartkļūda
SD	standartnovirze
TNF- α	audzēja nekrozes faktors alfa

Ievads

Etnobotāniskie pētījumi par savvaļas un kultivēto augu tradicionālo izmantošanu ir kļuvuši arvien populārāki, tie veicinājuši bioekonomiku un zaļo domāšanu. Neskatoties uz daudziem pētījumiem, kas veikti pasaulē un divās kaimiņos esošajās Baltijas valstīs Igaunijā un Lietuvā, Latvija ir devusi nelielu ieguldījumu Eiropas etnomedicīnā (Pardo-de-Santayana et al., 2015). Šis fakts norāda, ka latviešu tautas zināšanas ir jāanalizē un ar tām ir jādalās ar starptautisku auditoriju.

Etnobotānisko pētījumu mērķis ir dokumentēt tradicionālās zināšanas par ārstniecības augiem un sniegt to lietošanas novērtējumu. Šādos pētījumos izmantoto augu sugu un dzimtu saraksti tiek papildināti ar informāciju par šo augu kultūrālo nozīmi, piemēram, norādot to izmantošanas biežumu. Iegūtie dati ir svarīgi starpkultūru salīdzinājumam, kur vienas etniskās grupas, kultūras vai reģiona dati tiek salīdzināti ar citas grupas datiem. Turklāt informācija no etnobotāniskajiem pētījumiem var rosināt jaunus eksperimentālus pētījumus par konkrētu augu tradicionālo izmantošanu (Heinrich et al., 2009).

Latviešu tautas ārstniecības pierakstos atrodamā informācija balstās uz tradicionālajām tautas medicīnas zināšanām, kas nodotas no paaudzes paaudzē. 19. gadsimta laikā visā Eiropā, arī Latvijas teritorijā, folkloras pētījumi kļuva arvien populārāki. 19. un 20. gadsimtā savāktie folkloras materiāli ir neatņemama Latvijas kultūras mantojuma sastāvdaļa (Ciglis et al., 2016). Latviešu tautas ārstniecības pieraksti ir atrodami Latviešu folkloras krātuves (LFK) arhīvos. LFK ir Latvijā lielākais folkloras vākšanas, izpētes un uzglabāšanas centrs. Informācija, kas ietver ārstniecības augu izmantošanu, ir izklaidēta gandrīz visās LFK kolekcijās. Otrs avots, kas satur pierakstus par ārstniecības augiem, ir “Latviešu tautas ticējumi” 4 sējumos (Šmits, 1940, 1941). Šajos avotos atrodamā informācija nav sistematizēta un analizēta ne no botāniskā, ne farmakoloģiskā viedokļa, tā nav pieejama starptautiskam

salīdzinājumam. Lai saprastu, vai folkloras materiālos minētā informācija mūsdienās ir aktuāla, tā ir jāsalīdzina ar zinātniskajos rakstos un augu monogrāfijās esošo uz pierādījumiem balstīto informāciju par attiecīgo augu izmantošanu. To palīdz izprast arī augu aktīvo vielu darbības mehānismu pētījumi. Piemēram, eksperimentālos modeļos var noteikt augu ekstraktu pretiekaisuma aktivitāti. Tas dod iespēju noskaidrot, vai tautas medicīnā iekaisuma procesu mazināšanai plaši izmantotiem augiem piemīt spēja kavēt iekaisuma mediatoru atbrīvošanos (Martins et al., 2017).

Darba mērķis

Apkopot un analizēt zināšanas par ārstniecības augu lietošanu latviešu tautas medicīnā un meklēt praktisku lietojumu mūsdienās.

Darba uzdevumi

1. Apzināt latviešu tautas ārstniecības pierakstu avotus un sagatavot sistematizētu pārskatu par ārstniecības augu lietošanu, analizējot un apkopojot informāciju par tā laika raksturīgākajām (biežāk sastopamajām) slimībām un/vai to izpausmēm (simptomiem).
2. Salīdzināt ārstniecības pierakstos minētā auga iedarbību ar mūsdienu zināšanām par attiecīgā auga vietu uz pierādījumiem balstītā medicīnā.
3. Eksperimentāli pētīt un noskaidrot latviešu tautas medicīnā iekaisuma procesa mazināšanai lietoto augu/drogu aktivitāti.

Darba hipotēze

1. Vairums (> 50 %) latviešu tautas ārstniecības pierakstos norādīto ārstniecības augu indikāciju aprakstītas uz pierādījumiem balstītos pētījumos un ir aktuālas joprojām.
2. Ārstniecības augu lietojuma pētīšana folkloras materiālos ir viens no ideju avotiem jaunu zāļu vielu (zāļu) un terapijas iespēju meklēšanā.

Darba zinātniskā novitāte

Šī pētījuma ietvaros tika identificēti, sistematizēti un analizēti latviešu tautas ārstniecības pieraksti, lai noskaidrotu folkloras materiālos esošo informāciju par 19. un 20. gadsimtā Latvijas teritorijā tautas medicīnā lietoto augu sugu daudzveidību un konstatētu biežāk ārstniecībā izmantotās (vērtīgākās) augu sugas.

1. Šis ir pirmais Latvijā veiktais etnobotāniskais pētījums, kurā sniegts saraksts ar ārstniecībā izmantotajiem augiem, iekļaujot informāciju par to lietojumu. Katrs latviešu tautas ārstniecības pierakstos minētais augs ir identificēts atbilstoši tā zinātniskajam nosaukumam latīņu valodā; augu lietojums ir grupēts noteiktās kategorijās; kā arī ir analizētas izmantotās augu daļas, zāļu formas un to ievadīšanas veidi.
2. Informācija par to, kuri augi bija nozīmīgākie dažādu veselības traucējumu ārstēšanā un kuri bija visbiežāk sastopamie veselības traucējumi, kas tika ārstēti ar augiem Latvijas teritorijā 19. un 20. gadsimtā, tagad ir publicēta un pieejama salīdzināšanai ar citiem etnobotāniskajiem pētījumiem starptautiskā līmenī.
3. Iedvesmojoties no folkloras datu izpētes, latviešu tautas ārstniecības pierakstos minētās augu sugas, kā arī to izmantošanas

veidi varētu būt noderīgi turpmākajiem augu izcelsmes zāļu pētījumiem. Šajā promocijas darbā ir veikti divi šādi pētījumi:

- 3.1. *Pelargonium sidoides* DC. sakņu ekstrakta (PSRE) un proantocianidīnu ekstrakta (PACN), kas iegūts no PSRE, pretiekaisuma aktivitāte tika noteikta baktēriju lipopolisaharīdu (LPS) izraisītā iekaisuma modelī, lai zinātniski pamatotu to praktisko lietojumu iekaisuma procesu mazināšanai;
- 3.2. *Prunus padus* L. ziedu ekstrakta (PPFE) ķīmiskā sastāva un farmakoloģisko aktivitāšu izpēte parādīja daudzsološu rezultātu attiecībā uz tā iespējamo izmantošanu iekaisuma procesu mazināšanai.

1. Materiāli un metodes

1.1. Folkloras materiālu izpēte un analīze

1.1.1. Datu vākšana un augu botāniskā identifikācija

Dati par augiem un to lietošanu tika apkopoti no latviešu tautas ārstniecības pierakstiem, kas glabājas Latvijas Universitātes Literatūras, folkloras un mākslas institūta Latviešu folkloras krātuvē (LFK). Kopumā tika izskatītas vairāk nekā 40 000 folkloras vienības, lai atlasītu tās, kuras satur informāciju par augu izmantošanu humānajā medicīnā. Daļa latviešu tautas ārstniecības pierakstu tika iegūta no Latviešu folkloras krātuves digitālā arhīva kolekcijām (<http://lfk.lv>). Daļa ārstniecības pierakstu tika iegūta no folkloras pētnieka Pētera Šmita apkopoto “Latviešu tautas ticējumi” četriem sējumiem (Šmits, 1940–1941).

Katram latviešu tautas ārstniecības pierakstos identificētajam augam tika reģistrēta ģints, suga un dzimta.

1.1.2. Veselības problēmu kategorijas

Pēc Pasaules Veselības organizācijas akceptētās Starptautiskās primārās aprūpes klasifikācijas (*International Classification of Primary Care*; ICPC; www.who.int/classifications/icd/adaptations/icpc2/en/), latviešu tautas ārstniecības pierakstos minētie augu lietojumi tika grupēti kādā no 17 veselības problēmu kategorijām. Katram ārstniecības augu lietojumam tika norādīts atsauču skaits.

1.1.3. Izmantotās augu daļas, zāļu formas un to ieņemšanas veids

Katram latviešu tautas ārstniecības pierakstos minētajam augam tika identificēta tā izmantotā daļa, no tās pagatavotās zāļu formas un ievadišanas veidi. Ja ārstniecības pierakstos netika pieminēta konkrēta auga daļa, zāļu forma vai tās ievadišanas veids, tika izmantota kategorija “nav norādīts”.

1.1.4. Folkloras datu salīdzinājums ar oficiālajām augu monogrāfijām

Pētījumā analizētie folkloras dati tika salīdzināti ar Krievijas (1891) un Latvijas farmakopeju (1940). Lai identificētu folkloras materiālos minētās augu sugas, kas 19. un 20. gadsimtā bija ārstnieciskai lietošanai vērtīgas un mūsdienās joprojām tiek izmantotas, tika veikts ārstniecības pierakstos minēto augu lietojuma salīdzinājums ar Eiropas Savienības augu monogrāfijām, kuras izstrādājusi Augu izcelsmes zāļu komiteja (HMPC) un publicējusi Eiropas Zāļu aģentūra (www.ema.europa.eu). Ārstniecības augi no latviešu tautas ārstniecības pierakstiem tika salīdzināti arī ar rokasgrāmatu, kas attiecas uz Eiropu un Ziemeļeiropu un ir balstīta uz zinātniski pierādītu informāciju (Wichtl, 2004).

1.2. Augu materiāls, tā ekstrakts

1.2.1. *Pelargonium sidoides* DC. sakņu ekstrakts un no tā izolētie proantocianidīni

P. sidoides sakņu ekstrakts (PSRE) tika iegādāts no *Frutarom Switzerland Ltd. Rutiwisstrasse 7 CH-8820 Wädenswil* (partijas nr. 0410100). Lai no PSRE iegūtu proantocianidīnus (PACN), PSRE izšķīdināja 50 % metanolā (1:50 m/V), šķīdumu 20 minūtes centrifugēja ar ātrumu 2000 x g un filtrēja. Šķīdumu attīrīja ar gela adsorbciju, izmantojot Sephadex LH-20. Proantocianidīnus izdalīja no gela ar 70 % acetona ūdens šķīdumu un iekonzentrēja vakuumā

35 °C temperatūrā. Pēc tam ūdens šķīdumu izžāvēja liofilizātorā. *In vitro* eksperimenti tika veikti, izmantojot PSRE un PCAN ekstraktus, kas izšķīdināti destilētā ūdenī.

1.2.2. *Prunus padus* L. ziedu ekstrakts

Tika savāktas pilnībā atvērušās *P. padus* ziedkopas. Ziedi tika žāvēti noēnotā vietā istabas temperatūrā. Sausos *P. padus* ziedus homogenizēja, izmantojot piestu un piestalu. Iegūtais pulveris 7 dienas tika macerēts ar 70 % etanola ūdens šķīdumu (1:10 m/V) istabas temperatūrā tumsā. Pēc tam ekstraktu filtrēja caur ceolīta filtru, lai atbrīvotos no nešķīstošā materiāla. Filtrāts tika koncentrēts ar rotācijas iztvaicētāju, kam sekoja liofilizācija. *In vitro* eksperimenti tika veikti ar destilētā ūdenī izšķīdinātu liofilizētu *P. padus* ziedu ekstraktu (PPFE).

1.3. Šūnu kultūra

1.3.1. Makrofāgu izolēšana no kaulu smadzenēm un inkubēšana ar ekstraktiem

C57BL/6/J peļu tēviņi (18–20 nedēļu vecumā, *Envigo Netherlands*) tika izmantoti, lai izolētu makrofāgus (BMDM). Visas eksperimentālās procedūras ar laboratorijas dzīvniekiem tika veiktas saskaņā ar Eiropas Savienības direktīvu 2010/63/EU, kā arī tās tika saskaņotas ar Latvijas Republikas Pārtikas un veterināro dienestu un Dzīvnieku aizsardzības ētikas padomi. Peles tika eitanazētas, izmantojot dekapitāciju. Kaulu smadzeņu šūnas tika iegūtas no augšstilba kauliem un 7 dienas diferencētas, izmantojot RPMI 1640 ar *Glutamax* (*Thermo Fisher Scientific, Waltham, Masačūsetsa, ASV*), kas papildināts ar 10 % serumu (FBS, *Merck KGaA, Darmstadt, Vācija*), 1 % antibiotiku (100 U/ml penicilīns un 100 µg/ml streptomicīns) un 10 ng/ml M-CSF (monocītu koloniju stimulējošais faktors, *PeptoTech, Londona, Lielbritānija*).

Petri trauciņš, kas satur BMDM, divas reizes tika skalots ar HBSS (*Hank's buffered saline solution, Merck KGaA, Darmstadt, Vācija*). No trauciņa virsmas šūnas tika atdalītas ar 0,5 % tripsīnu (*Merck KGaA, Darmstadt, Vācija*) un ievietotas vidē, kas papildināta ar 10 % FBS, 1 % antibiotikām. Pēc tam šūnu suspensiju 5 minūtes centrifugēja 300 x g istabas temperatūrā. Šūnas atkārtoti suspendēja vidē, kas papildināta ar 10 % FBS un 1 % antibiotiku, un izsēja 12 vai 96 lauciņu platēs.

Šūnas pēc 1 h inkubācijas 37 °C temperatūrā tika stimulētas ar: a) PSRE un PACN 100 µg/ml, LPS (lipopolisaharīdi, *Merck KGaA, Darmstadt, Vācija*) 10 ng/ml un IFN-γ (gamma interferons, *PeproTech Inc., Rocky Hill, Ņujorka, ASV*) 100 U/ml pro-inflamatoro gēnu ekspresijas izmaiņu noteikšanai pēc 2 h un makrofāgu polarizācijai par M1 fenotipu pēc 24 h. Šūnu daudzums 12 lauciņu platē bija 11×10^5 šūnas/ml; b) PPFE koncentrācijā 250 µg/ml un 500 µg/ml ar LPS 10 ng/ml un IFN-γ 100 U/ml tika izmantots makrofāgu polarizācijai par M1 fenotipu un IL-4 (interleikīns-4, *Invitrogen, Peislija, Lielbritānija*) 10 ng/ml tika izmantots makrofāgu polarizācijai par M2 (pretiekaisuma) fenotipu. Šūnu daudzums 12 lauciņu platē bija 30×10^4 šūnas/ml.

1.3.2. Cilvēka perifēro asiņu mononukleārās šūnas

Cilvēka perifēro asiņu mononukleārās šūnas (PBMC) tika iegādātas no ATCC (ATCC® PCS-800-011™, *Manassas, Virdžīnija, ASV*). Šūnas kultivēja 3.3×10^6 šūnas/ml (12 lauciņu plate) RPMI vidē, kas papildināta ar 10 % FBS, 1 % antibiotikām. Pēc 1 h ilgas šūnu inkubēšanas 37 °C temperatūrā šūnas 6 h stimulēja ar 1 µg/ml LPS un 100 µg/ml PSRE vai PACN.

1.4. *Ex vivo* un *in vitro* metodes

1.4.1. Šūnu dzīvotspējas analīze ar laktāta dehidrogenāzes, alamarzilo un MTT testu

PBMC dzīvotspēja tika noteikta, mērot laktāta dehidrogenāzes (LDH) izdalīšanos šūnu vidē pēc 6 h inkubēšanas ar PSRE, PACN (100 µg/ml) un LPS (1 µg/ml). LDH aktivitāte tika mērīta, izmantojot metodi, kuras pamatā bija tetrazola sāls (dzeltens) reducēšana par formazānu (sarkans) (Buttery et al., 1976).

Turklāt PBMC dzīvotspēja pēc 24 h inkubācijas ar dažādām PSRE un PACN koncentrācijām tika noteikta ar *AlamarBlue*® (*Bio-Rad Laboratories, Hercules, Kalifornija, ASV*) atbilstoši ražotāja instrukcijām.

BMDM dzīvotspēja pēc 24 h inkubācijas ar dažādām PSRE, PACN un PPFE koncentrācijām tika noteikta, izmantojot MTT testu. Pēc inkubācijas ar ekstraktiem šūnas tika inkubētas ar MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolija bromīds, *TCI Europe*) šķīdumu (1 mg/ml) 37 °C temperatūrā 1–2 stundas. Pēc tam tika noņemta vide un pievienots izopropanols, lai izšķīdinātu inkubācijas laikā izveidojušos formazāna kristālus. Absorbcijs tika noteikta spektrofotometriski pie 570 nm un 650 nm, izmantojot *Hidex Sense* mikroplašu lasītāju (*Hidex, Turku, Somija*).

1.4.2. Anneksīna V krāsošanas tests

Dzīvotspējīgās šūnas analizēja, izmantojot *BD FACSMelody*™ (*BD Biosciences, San Jose, Kalifornija, ASV*) plūsmas citometru un Anneksīna V-APC (alofikocianīna) (*BioLegend, San Diego, Kalifornija, ASV*) krāsošanu.

1.4.3. Makrofāgu polarizācija par M1 fenotipu un analīze ar plūsmas citometriju

BMDM 24 h inkubēja ar ekstraktiem un LPS+IFN- γ . Šūnas divas reizes skaloja ar HBSS un atdalīja no virsmas ar 0,5 % tripsīnu. Pēc tam pievienoja DMEM ar augstu glikozes saturu (*Merck KGaA, Darmstadt, Vācija*) vai RPMI ar 10 % FBS, 1 % antibiotiku. Šūnu suspensiju 5 minūtes centrifugēja 300 x g. Pēc tam šūnas 30 minūtes uz ledus tumsā tika inkubētas ar specifisku antivielu maisījumu (koncentrācijā 1:100 *Cell Wash* buferšķīdumā). Maisījumā bija šādas monoklonālās antivielas, kas iegādātas no *BioLegend (SanDiego, Kalifornija, ASV)*: FITC konjugētās F4/80, fikoeritrīna (PE) konjugētās CD86 un biotīna konjugētās CD80 antivielas. Pēc tam šūnas tika mazgātas un krāsotas ar streptavidīna-APC-Cy7. Pēc krāsošanas šūnas marķieru ekspresiju analizēja ar plūsmas citometriju.

1.4.4. Makrofāgu polarizācija par M2 fenotipu un analīze ar plūsmas citometriju

Šūnas tika stimulētas 24 h ar ekstraktiem un IL-4 10 ng/ml makrofāgu polarizācijai par M2 (pretiekaisuma) fenotipu. Plūsmas citometrijas analīzei izmantoja šādas monoklonālās antivielas, kas iegādātas no *BioLegend (SanDiego, Kalifornija, ASV)*: FITC konjugētās F4/80, PE-konjugētās CD206 un PE/Cy7-konjugētās CD301 antivielas.

1.4.5. mRNS izolēšana un kvantitatīva PĶR analīze

Kopējā šūnu RNS tika izolēta, izmantojot *PureLinkTM RNA Mini Kit (Invitrogen, Carlsbad, Kalifornija, ASV)* atbilstoši ražotāja protokolam. cDNS sintēze tika veikta, izmantojot reversās transkripcijas reaģentu komplektu (*Applied BiosystemsTM, Foster City, Kalifornija, ASV*), vadoties pēc ražotāja instrukcijām. Gēnu ekspresijas kvantitatīvā PĶR analīze tika veikta, sajaucot

SYBR Green Master Mix (*Applied Biosystems*TM, Foster City, Kalifornija, ASV), sintezētu cDNS un tādus praimerus kā interleikīns-1 β (IL-1 β), interleikīns 10 (IL-10), inducējamā slāpekļa oksīda sintāze (iNOS), audzēja nekrotiskais faktors- α (TNF- α), ciklooksigenāze-2 (CmOX-2) un izmantojot *Mic Real-Time PCR* instrumentu (*Bio Molecular Systems, Upper Coomera, Austrālija*). Katra gēna relatīvie ekspresijas līmeņi tika aprēķināti ar $\Delta\Delta C_t$ metodi un normalizēti pret glikozes-6-fosfāta izomerāzes (GPI) references gēnu.

1.4.6. Iekaisuma citokīnu sekrēcija

Šūnu videi, kas savākta pēc 6 h inkubēšanas ar PSRE un PACN ekstraktiem (100 $\mu\text{g/ml}$), un LPS (1 $\mu\text{g/ml}$), tika noteikts citokīna (interleikīna-6 (IL-6)) sekrēcijas līmenis, izmantojot cilvēka IL-6 ELISA (enzimātiskā imūnfermentatīvā metode) komplektu (*Sabbiotech, College Park, Merilenda, ASV*) atbilstoši ražotāja protokolam.

Šūnu videi, kas savākta pēc 6 stundu inkubēšanas ar PPFE ekstraktu (250 $\mu\text{g/ml}$ un 500 $\mu\text{g/ml}$), LPS (10 ng/ml) un IFN- γ (100 U/ml), tika noteikts citokīna IL-6 sekrēcijas līmenis, izmantojot peles IL-6 ELISA (*Invitrogen, Frederick, Merilenda, ASV*) komplektu, atbilstoši ražotāja protokolam.

1.5. Kvalitatīvā un kvantitatīvā analīze

1.5.1. *Prunus padus* dietilētera ekstrakta gāzu hromatogrāfija-masspektrometrija (GC-MS)

50 g svaigu *P. padus* ziedu ekstrahēja, izmantojot 800 ml dietilētera. Pēc 20 dienām 50 ml iegūtā ekstrakta ievietoja 250 ml 3-kaklu apaļkolbā, aprīkotu ar izvadu un istabas temperatūras ūdens vannu, un 2 h cauri šķīdumam barbotēja argona plūsmu. Barbotēšanu turpināja, līdz šķīdinātāja daudzums bija aptuveni 1 ml. Injekcijas tilpums GC-MS analīzei bija 1 μl .

1.5.2. *Prunus padus* etanola ekstrakta un liofilizētā parauga šķīduma hromatogrāfija-masspektrometrija (LC-MS)

P. padus ziedu ekstrakts tika pagatavots un pēc tam sagatavots analīzei, kā aprakstīts iepriekš (1.2.2.). LCMS analīze veikta etanola ekstraktam un liofilizētā parauga šķīdumam etanolā (1mg/ml). Eksperimenti tika veikti ar Shimadzu LC/MS-IT-TOF sistēmu (*Agilent Technologies, Santa Clara, Kalifornija, ASV*).

1.6. Kopējā fenolu daudzuma noteikšana

Kopējais fenolu daudzums PPFE tika noteikts, izmantojot Folina-Čikolto kolorimetrisko metodi. Eksperiments tika veikts 96 lauciņu platē, 20 µl ekstrakta sajaucot ar 100 µl 10 % Folina-Čikolto (*Merck KGaA, Darmstadt, Vācija*) reaģenta, kam sekoja 80 µl 7,5 % nātrija karbonāta (Na_2CO_3 , *Merck KGaA, Darmstadt, Vācija*) šķīduma pievienošana. Inkubācija tika veikta 30 min. istabas temperatūrā tumsā, nodrošinot nelielu kratīšanu. Absorbēcija tika mērīta pie 765 nm, izmantojot *Hidex Sense* mikroplašu lasītāju. Kalibrēšanas līknei izmantoja gallusskābes standartu (*Merck KGaA, Darmstadt, Vācija*). Kopējais fenolu daudzums tika izteikts kā gallusskābes ekvivalenta (GSE) mg uz g liofilizēta ekstrakta.

1.7. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilradikāļu (DFPH) inhibēšanas metode

Eksperimentam tika izmantoti 20 µl *P. padus* ekstrakta, kas izšķīdināts 70 % etanolā. 96 lauciņu platē etanola šķīdumam pievienoja 180 µl metanolā izšķīdinātu DFPH (40 µg/ml) (*Merck KGaA, Darmstadt, Vācija*). Plati 15 min. turēja tumsā istabas temperatūrā. Absorbēcijas samazināšanās pie 517 nm tika mērīta, izmantojot *Hidex Sense* mikroplašu lasītāju. Kā standarts tika izmantots

askorbīnskābes šķīdums koncentrāciju diapazonā 0-800 µg/ml, kā kontroles šķīdums – etanols.

Lai noteiktu EC₅₀ (koncentrāciju, kas samazina DFPH absorbciju par 50 %), ekstraktam tika testētas dažādas tā koncentrācijas.

1.8. Kolagenāzes inhibējošā aktivitāte

Lai novērtētu PPFE ādas pretnovecošanās potenciālu, tika mērīta kolagenāzes inhibējošā aktivitāte. *In vitro* kolagenāzes inhibīcijas tests tika veikts, izmantojot *Collagenase Activity Assay Kit* (Abcam, Kembridža, Apvienotā Karaliste) atbilstoši ražotāja instrukcijām.

1.9. Datu apstrādes statistiskās metodes

Kvantitatīvie rezultāti attēloti kā vidējās aritmētiskās vērtības ± vidējās aritmētiskās vērtības standartkļūda (SEM) vai kā vidējās aritmētiskās vērtības ± standartnovirze (SD) no trim paralēliem eksperimentiem. Dati tika analizēti, izmantojot *GraphPad Prism* (GraphPad, Inc., Laholja, ASV) programmatūru. Statistiskā analīze veikta, izmantojot atbilstošo dispersijas analīzi (ANOVA) ar sekojošu pēctestu (Dunneta vai Tukija). T-tests divu neatkarīgu izlašu salīdzināšanai tika izmantots MTT testā. Vidējās efektīvās koncentrācijas (EC₅₀) noteikšanu izmantoja DFPH antiradikālās aktivitātes testā. Atšķirības tika uzskatītas par nozīmīgām, ja $P < 0,05$.

2. Rezultāti

2.1. Latviešu tautas ārstniecības pierakstos minētās augu sugas un to lietošana

2.1.1. Latviešu tautas medicīnā lietotie ārstniecības augi

Folkloras materiālos tika identificētas vairāk nekā 1900 vienības, kurās ir minēta augu dziedējošā darbība. Konstatēts, ka augi pieder 211 ģintīm un 71 dzimtai. Augu dzimtas ar vislielāko taksonu skaitu bija četras: *Asteraceae* – 27 ģintis (12 %), *Rosaceae* – 17 ģintis (8 %), *Lamiaceae* – 13 ģintis (6 %) un *Apiaceae* – 10 ģintis (5 %). Ārstniecības augu sugu skaits katrā dzimtā ir attēlots 2.1. attēlā.

Augu taksoni, kuri folkloras materiālos minēti vairāk par 20 reizēm, ir attēloti 2.2. attēlā. Vienlaikus daudzi taksoni (135) tika minēti tikai 1–2 ārstniecības pierakstos.

2.1.2. Veselības problēmu kategorijas

Kopumā ārstniecības pierakstos tika identificēti 1976 gadījumi, kas apraksta kādas slimības vai tās simptoma ārstēšanu ar augiem vai to lietošanu profilaktiskam nolūkam. Šie gadījumi tika grupēti vienā no 17 kategorijām. Gremošanas orgānu sistēmas traucējumu ārstēšana bija minēta visbiežāk. Ievērojams skaits gadījumu apakstīja arī elpošanas sistēmas traucējumus, ādas problēmas, vispārīgus traucējumus, skeleta un muskuļu sistēmas traucējumus. Pārējās kategorijās bija minēti mazāk par 100 gadījumiem (2.1. tabula).

2.1. attēls. Gadījumu skaits, kas apraksta augu lietošanu (baltie stabiņi) un ārstniecības augu sugu skaits (melnie stabiņi) katrā dzimtā, kurā minētas vairāk nekā divas sugas

2.1.3. Ārstētie traucējumi/ārstnieciskā iedarbība

Kategorijā “Gremošanas sistēmas traucējumi” bija minētas vairāk nekā 120 augu ģintis. Trīs no 24 visbiežāk sastopamajām kaitēm, kas skar gremošanas orgānu sistēmu, bija vēdera sāpes, zobu sāpes un caureja. Vēdera sāpju ārstēšanai visbiežāk norādīja *Artemisia absinthium* L., *Secale* sp. L. un *Betula* sp. L. lietošanu. Sāpju mazināšanai bieži izmantoja tēju no *Secale* sp. asniem vai tinktūru no *Betula* sp. pumpuriem vai mizas. Zobu sāpēm izmantoja *Nicotiana tabacum* L. lapu pulveri, *Prunus padus* L. svaigu mizu un *Daphne mezereum* L.

svaigus zariņus. *Quercus robur* L., *Rumex crispus* L. un *Vaccinium myrtillus* L. bija starp 30 augu ģintīm, kas visbiežāk minētas caurejas ārstēšanai.

2.2. attēls. Augu taksoni, kas vairāk nekā 20 reizes minēti latviešu tautas ārstniecības pierakstos

2.1. tabula

Gadījumu skaits, kas apraksta augu izmantošanu, un ārstniecības augu taksonu skaits, kas minēts latviešu tautas ārstniecības pierakstos katrā no 17 veselības problēmu kategorijām

Veselības problēmu kategorijas	Pieminēšanas reižu skaits	Augu skaits
Gremošanas sistēmas traucējumi	479	121
Elpošanas sistēmas traucējumi	414	97
Ādas problēmas	359	88
Vispārīgi traucējumi	201	72
Skeleta un muskuļu sistēmas traucējumi	116	51
Nenoteikti traucējumi	111	73
Neiroloģiski traucējumi	73	50
Psiholoģiski traucējumi	45	21
Ausu slimības	40	15
Urīnceļu sistēmas traucējumi	29	18

2.1. tabulas turpinājums

Veselības problēmu kategorijas	Pieminēšanas reižu skaits	Augu skaits
Asinsrites sistēmas traucējumi	24	18
Acu slimības	23	13
Traucējumi, kas saistīti ar grūtniecību, dzemdībām, ģimenes plānošanu	21	16
Sievietes dzimumorgānu sistēmas un krūts slimības	21	18
Endokrīnās sistēmas, vielmaiņas un uztura traucējumi	12	10
Asins, asins veidojošo orgānu, limfvadu, liesas traucējumi	5	6
Vīriešu dzimumorgānu sistēmas traucējumi	3	3
Kopā	1976	

Kategorijā “Elpošanas sistēmas traucējumi” visbiežāk bija minēts klepus un krūšu sāpes, kas saistītas ar ilgstošu klepošanu. Klepus ārstēšanā dominēja trīs augu sugas: *Achillea millefolium* L., *Matricaria chamomilla* L. un *Solanum dulcamara* L. Tās tika izmantotas tējas veidā. Krūšu sāpju ārstēšanai tējas veidā izmantoja *Aloe* sp. L., *Tilia* sp. L. un *Juniperus communis* L. Kategorijā “Ādas problēmas” dominēja iegriezumi un cita veida brūces, augoņi, atlēta pēda un kašķis. Brūču ārstēšanai visbiežāk lietoja *Plantago* sp. L., *A. millefolium* un *Aloe* sp. Augoņus galvenokārt ārstēja ar *Allium cepa* L., *Allium sativum* L., *A. millefolium* un *Plantago* sp. Gan sīpolu, gan ķiploku uzlika uz skartās vietas ceptā vai svaigā veidā. Pelašķa lakstus un ceļmallapas izmantoja svaigā veidā. Kāju sēnīti apstrādāja ar svaigām *Alnus* Mill., *Malus* Mill., *Plantago* sp. L. un *A. millefolium* L. lapām. Pētījumā tika konstatēts, ka pret kašķi ir lietots *R. crispus* un *J. communis*. Kategorija “Vispārīgi traucējumi” ietver infekcijas slimības, kā arī drudzi un drebuļus. Šajā kategorijā bija minēti vairāk par 70 augiem un dominēja trīs slimības: drudzis, tūska un tuberkuloze. Kā labus līdzekļus drudža mazināšanai minēja tēju un novārījumu no *Tilia* sp. L. ziediem; tēju no *Rubus idaeus* L. stumbriem, lapām vai augļiem; svaigas *Plantago* sp. lapas ārīgai lietošanai. Tēju no *Levisticum officinale* W.D.J. Koch,

tēju/novārījumu no *J. communis* un svaigas *Plantago* sp. lapas lietoja tūskas ārstēšanai. Tuberkulozes ārstēšanai visbiežāk lietoja *Pinus sylvestris* L., *Aloe* sp. un *A. millefolium*. Kategorijā “Skeleta un muskuļu sistēmas traucējumi” trīs no deviņiem visbiežāk minētajiem veselības traucējumiem bija reimatisms, krampji un kaulu sāpes. *Vaccinium vitis-idaea* L. lapas, ziedus vai augļus izmantoja tējai pret reimatiskām sāpēm. Iekšķīgi lietoja arī *Aesculus hippocastanum* L. Ārīgai lietošanai reimatiskām sāpēm lietoja ūdens un tvaika peldes ar *J. communis*, *Urtica* sp. L., *Acorus calamus* L. un *P. Sylvestris*. Tēja no *Valeriana officinalis* L. saknēm bija visbiežāk minētās zāles pret krampjiem. Kaulu sāpes galvenokārt ārstēja ar *V. vitis-idaea*, *A. calamus* un *A. hippocastanum*. Tos lietoja gan iekšķīgi, gan ārīgi.

Trīspadsmit augi bija minēti vairāk nekā 8 kategorijās. Augi ar visplašāko lietojumu bija *M. chamomilla*, kas bija minēta 13 no 17 kategorijām, un *Betula* sp., kas bija minēts 11 kategorijās.

2.1.4. Izmantotās augu daļas

Ārstnieciskam nolūkam visbiežāk izmantoja lapas (16 %) un ziedus (14 %). Trešā visbiežāk izmantotā auga daļa bija sakne (9 %). Mizu (5 %) izmantoja gandrīz tikpat bieži kā augļus (6 %). Citu virszemes daļu lietošana veidoja 16 %. Diemžēl daudzos ārstniecības pierakstos (29 %) nebija informācijas par izmantoto auga daļu.

2.1.5. No ārstniecības augiem pagatavotās zāļu formas un to ieņemšanas veids

Trīspadsmit procentos ārstniecības pierakstu izmantošanai norādītais pagatavošanas veids bija tēja. Tēju izmantoja gan ārīgam, gan iekšķīgam nolūkam. Tēja bija biežāk lietotais pagatavošanas veids. Tam sekoja svaigs augu materiāls (17 %), kas lielākoties tika lietots ārīgi uz ādas, un novārījums (11 %).

Tēja, novārījums un svaigs augu materiāls vai vismaz divi no tiem bija starp pirmajiem trim visbiežāk minētajiem pagatavojumiem visās kategorijās. Aktīvo vielu ekstrahēšanai no augu materiāla visbiežāk izmantoja ūdeni. Dažos gadījumos zāļu pagatavošanai tika izmantotas citas metodes un šķīdinātāji, tostarp piens, krējums, alus, tauki, eļļa, medus, etiķis vai urīns. Saskaņā ar apkopotajiem datiem gan iekšķīga (51 %), gan ārīga (37 %) zāļu lietošana bija plaši izplatīta. Pētījumā apkopotā informācija norāda, ka 41 % augu lietoja tikai iekšķīgi, bet 13 % – tikai ārīgi.

2.1.6. Latviešu tautas ārstniecības pierakstos minēto augu salīdzinājums ar oficiālajām augu monogrāfijām

Latviešu tautas ārstniecības pierakstos konstatētie četrdesmit septiņi (22 %) augu taksoni bija iekļauti Krievijas farmakopejas 4. izdevumā, savukārt vairāk nekā 3/4 identificēto taksonu tajā nebija ietverti. Gandrīz piecdesmit gadus vēlāk publicētajā Latvijas farmakopejā ir atrodamī 37 (17 %) taksoni no latviešu tautas ārstniecības pierakstiem, kas iekļauti arī Krievijas farmakopejā. Latvijas farmakopejā tika atrasti pieci taksoni, kas bija minēti latviešu tautas ārstniecības pierakstos, bet nebija iekļauti Krievijas farmakopejas 4. izdevumā. Šie taksoni bija *Convallaria majalis* L., *Petroselinum* Hill., *Potentilla erecta* (L.) Raeusch., *Primula veris* L. un *Tanacetum vulgare* L.

No 211 ārstniecības pierakstos minētajiem augiem tikai 59 drogām ir izstrādātas Eiropas Savienības augu monogrāfijas, kas ir atrodamas EMA datubāzē. No šiem 59 augiem 78 % gadījumu izmantošanas indikācijas ārstniecības pierakstos un monogrāfijās sakrīt. Lielāko daļu šo drogu pašlaik izmanto kā tradicionālās augu izcelsmes zāles. Tikai dažas ir augu izcelsmes zāles ar vispāratzītu lietojumu. Visvairāk citētie augi latviešu tautas ārstniecības pierakstos, kuri nav iekļauti ES augu monogrāfijās, ir *Allium cepa* L., *Nicotiana*

sp. L., *Prunus padus* L., *Acorus calamus* L., *Pinus sylvestris* L., *Picea abies* L., *Rumex crispus* L., *Ledum palustre* L., *Inula helenium* L., *Malus* Mill.

Sešdesmit piecas sugas no latviešu tautas ārstniecības pierakstiem ir aprakstītas grāmatā “Augu izcelsmes zāles un fitofarmaceutiskie līdzekļi” [*Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*] (Wichtl, 2004), 18 augu taksoni sakrīt ģints līmenī, bet 6 augu taksoni pieder citām sugām no tās pašas ģints.

2.2. *Pelargonium sidoides* DC. sakņu ekstrakta un proantocianidīnu ekstrakta ietekme uz baktēriju lipopolisaharīdu izraisītu iekaisumu

2.2.1. *Pelargonium sidoides* sakņu ekstrakta un proantocianidīnu ekstrakta ietekme uz lipopolisaharīdu izraisītu iekaisuma mediatora interleikīna-6 sekrēciju

100 µg/ml PSRE un PACN statistiski ticami samazināja LPS izraisīto IL-6 sekrēciju PBMC šūnās par attiecīgi 67 % un 85 % salīdzinājumā ar LPS stimulēto kontroli (2.4. attēls). Jāņem vērā, ka abi ekstrakti nebija toksiski tādās koncentrācijās, kādas tika izmantotas šūnu dzīvotspējas testam (2.3. attēls).

2.3. attēls. *Pelargonium sidoides* sakņu ekstrakta (PSRE) un proantocianidīnu (PACN) ekstrakta ietekme uz PBMC dzīvotspēju

(A) PBMC dzīvotspēja pēc 24 h inkubācijas ar PSRE un PACN, izmantojot *Alamar Blue* reaģentu. (B) PSRE un PACN ietekme uz PBMC šūnu membrānu bojājumu, ko mēra ar laktāta dehidrogenāzes (LDH) testu pēc 6 h inkubēšanas ar ekstraktiem (100 µg/ml) un LPS (1 µg/ml). Katra vērtība ir vidējais $\pm$ SD no 3 eksperimentiem, kas veikti (A) 6 paralēlajos vai (B) 3 paralēlajos mērījumos. Atšķirības starp mērījumiem pārbaudītas, izmantojot ANOVA dispersijas analīzi ar sekojošu Tukija testu.

* $P < 0,05$ pret LPS kontroli.

2.4. attēls. *Pelargonium sidoides* sakņu ekstrakta (PSRE) un proantocianidīnu ekstrakta (PACN) ietekme uz interleikīna-6 sekrēciju LPS stimulētās asiņu mononukleārajās šūnās

PBMC izdalītā IL-6 koncentrācija noteikta ar ELISA. PSRE un PACN ekstraktu (100 µg/ml) ietekme uz LPS stimulētajām (6 h) šūnām. Rezultāti ir vidējais $\pm$ SEM no 3 eksperimentiem, kas veikti 3 paralēlajos mērījumos. Atšķirības starp mērījumiem pārbaudītas, izmantojot ANOVA dispersijas analīzi ar sekojošu Tukija testu.

* $P < 0,05$ pret LPS kontroli.

2.2.2. *Pelargonium sidoides* sakņu ekstrakta un proantocianidīnu ekstrakta ietekme uz lipopolisaharīdu izraisītu iekaisuma gēnu ekspresijas izmaiņām

Abi ekstrakti devā 100 µg/ml nebija toksiski (2.5. attēls) un statistiski ticami samazināja IL-1β un iNOS mRNS transkripciju no peļu kaulu smadzenēm izolētos primārajos makrofāgos (2.6. A un B attēls). IL-1β mRNS daudzums pēc stimulēšanas ar PSRE samazinājās par 78 %, salīdzinot ar LPS kontroli, un pēc stimulēšanas ar PACN par 89 %. Savukārt iNOS mRNS daudzums pēc stimulēšanas ar PSRE un PACN samazinājās attiecīgi par 53 % un 64 %. Tomēr inkubēšana ar abiem ekstraktiem neietekmēja LPS un IFN-γ izraisītu TNF-α gēnu ekspresiju (2.6. C attēls).

2.5. attēls. *Pelargonium sidoides* sakņu ekstrakta (PSRE) un proantocianidīnu (PACN) ekstrakta ietekme uz makrofāgu (BMDM) dzīvotspēju

- (A) BMDM dzīvotspēja pēc 24 h inkubācijas ar PSRE un PACN, izmantojot MTT testu.
- (B) Apoptozes noteikšana, krāsojot BMDM ar aneksīnu V. BMDM krāsoja ar aneksīnu V pēc 24 h inkubācijas ar PSRE un PACN koncentrācijā 100 µg/ml, un LPS + IFN-γ (10 ng/ml/100 U/ml). Nedzīvās šūnas (aneksīna V pozitīvās) noteica ar plūsmas citometriju. Katra vērtība ir vidējais ± SD no 3 eksperimentiem, kas veikti (A) 6 paralēlajos vai (B) 3 paralēlajos mērījumos.

2.6. attēls. *Pelargonium sidoides* sakņu ekstrakta (PSRE) un proantocianidīnu (PACN) ekstrakta ietekme uz iekaisuma gēnu ekspresiju LPS un IFN- γ stimulētos BMDM

(A) IL-1 β , (B) iNOS un (C) TNF- α mRNS daudzums noteikts, izmantojot qPCR analīzi un normalizējot pret β -aktīna mRNS. Rezultāti ir vidējais $\pm$ SEM no 3 eksperimentiem, kas veikti 3 paralēlajos mērījumos. Atšķirības starp mērījumiem pārbaudītas, izmantojot ANOVA dispersijas analīzi ar sekojošu Tukija testu.

* $P < 0,05$ pret LPS + IFN- γ kontroli.

Sešu stundu stimulācija ar LPS izraisīja ievērojamu ciklooksigenāzes-2 (COX-2), TNF- α un IL-1 β gēnu ekspresijas palielināšanos cilvēka PBMC (2.7. attēls). PSRE un PACN koncentrācijā 100 μ g/ml statistiski ticami samazināja COX-2 un IL-1 β mRNS gēnu ekspresiju (2.7. A un C attēls). PSRE samazināja COX-2 un IL-1 β mRNS daudzumu attiecīgi par 50 % un 56 %. Savukārt PACN samazināja šo iekaisuma gēnu ekspresiju par 63 % un 76 %. Tāpat kā primāro makrofāgu gadījumā, PSRE un PACN būtiski neietekmēja TNF- α gēnu ekspresiju (2.7. B attēls).

2.7. attēls. *Pelargonium sidoides* sakņu ekstrakta (PSRE) un proantociānīdīnu (PACN) ekstrakta ietekme uz iekaisuma gēnu ekspresiju LPS stimulētās asiņu mononukleārajās šūnās

(A) COX-2, (B) TNF-α un (C) IL-1β mRNS daudzums noteikts, izmantojot qPCR analīzi un normalizējot pret β-aktīna mRNS. Rezultāti ir vidējais ± SEM no 3 eksperimentiem, kas veikti 3 paralēlajos mērījumos. Atšķirības starp mērījumiem pārbaudītas, izmantojot ANOVA dispersijas analīzi ar sekojošu Tukija testu.

* $P < 0,05$ pret LPS kontroli.

2.2.3. *Pelargonium sidoides* sakņu ekstrakta un proantociānīdīnu ekstrakta ietekme uz lipopolisaharīdu izraisītu makrofāgu polarizāciju par M1 fenotipu

Plūsmas citometrijas analīze liecina, ka, reaģējot uz LPS un IFN-γ, M1 polarizēto makrofāgu daudzums palielinājās 9,3 reizes salīdzinājumā ar nestimulēto kontroli (2.8. attēls). Gan PSRE, gan PACN devā 100 μg/ml efektīvi samazināja CD80 un CD86 dubultpozitīvo šūnu daudzumu. M1 makrofāgu populācija pēc stimulācijas ar PSRE samazinājās par 58 % un pēc stimulācijas ar PACN par 71 %, salīdzinot ar LPS un IFN-γ kontroli.

2.8. attēls. Šūnu virsmas marķieru CD80 un CD86 ekspresijas izmaiņu noteikšana ar plūsmas citometriju 24 h pēc BMDM stimulācijas ar LPS + IFN- γ un PSRE un PACN

(A) M1 makrofāgu analīzei F4/80 pozitīvajās šūnās mērīta šūnas virsmas marķieru CD80 un CD86 ekspresija (augšējais labais mazais kvadrants). Apakšā ir attēloti reprezentatīvi attēli no trim eksperimentiem, kas veikti 3 paralēlajos mērījumos.

(B) Rezultāti ir vidējais $\pm$ SEM no 3 eksperimentiem, kas veikti 3 paralēlajos mērījumos. Atšķirības starp mērījumiem pārbaudītas, izmantojot ANOVA dispersijas analīzi ar sekojošu Tukija testu. * $P < 0,05$ pret LPS + IFN- γ kontroli.

2.3. *Prunus padus* L. ziedu ekstrakta ķīmiskais sastāvs un ietekme uz baktēriju lipopolisaharīdu izraisītu iekaisumu

2.3.1. *Prunus padus* dietilētera ekstrakta gāzu hromatogrāfijas-masspektrometrijas analīze

P. padus ziedu dietilētera ekstraktā identificēts augsts benzaldehīda, 8-hidroksilinalola un piesātināto C21-C29 alkānu saturs. Detalizēts saraksts ar savienojumiem, kas identificēti *P. padus* ekstraktā ar GC-MS metodi, ir parādīts 2.2. tabulā.

2.2. tabula

Savienojumu identifikācija un to kvalitatīvais sastāvs
Prunus padus ziedu dietilētera ekstraktā

RT, min.	Savienojums	TIC, %
3,8	Benzaldehīds	17,2
4,9	Benzilspirts	1,3
6,8	Benzoskābe	0,9

RT, min.	Savienojums	TIC, %
7,5	Benzofurāns, 2,3-dihidro	3,4
8,9	2-metoksi-4-vinilfenols	0,9
9,5	8-hidroksilinalols	7,7
11,4	BHT (stabilizators no dietilētera)	7,8
16,3	Heksadekānskābe	0,7
17,5	Heneikozāns	4,4
17,9	9,12,15-oktadekatriēnskābe	2,1
19,3	Trikozāns	9,9
20,1	DEHA (plastifikators)	3,0
20,9	Pentakozāns	6,1
23,3	Heptakozāns	10,7
26,7	Nonakozāns	22,6

* Saīsinājumi: RT, aiztures laiks; TIC, % no kopējās jonu strāvas. Savienojumu identifikācija veikta, izmantojot NIST/EPA/NIH masas spektru bibliotēku, 2.0d versiju.

2.3.2. Šķidruma hromatogrāfijas-masspektrometrijas analīze *Prunus padus* 70 % etanola ekstraktam

P. padus etanola ekstraktā un liofilizētā parauga etanola šķīdumā esošo savienojumu masspektrometriskam raksturojumam un to iespējamai identifikācijai veikta LC-MS analīze ar diožu matricas detektoru un uzņemti augstas izšķirtspējas MS un MS/MS masspektri. Augstas izšķirtspējas masspektrometrijas un savienojumu identifikācijas dati 10 galvenajiem PPFE savienojumiem ir parādīti 2.3. tabulā.

Galvenie PPFE identificētie savienojumi bija flavonoīdi un fenolskābes (hinīnskābes atvasinājumi un hlorogēnskābe). No flavonoīdiem tika identificēti četri savienojumi, kurus veido kvercetīna aglikons: kvercetīna diglikozīdi (#6 un 8), kvercetīna diglukozi (#5) un rutīns (#7). Analizētajos paraugos tika identificēti arī divi hinīnskābes atvasinājumi – kumarilhinīnskābe (#4) un cinarīns (#9).

Sākotnējā etanola ekstraktā tika identificēti divi slāpekli saturoši savienojumi: poliamīna atvasinājums (di-kofeoil-kumaroil-spermidīns – # 10) un hidroksihidrohinona glikozīds (zinolols – #2). Paraugu liofilizācijas gaitā to

saturs samazinās un liofilizētā parauga šķīdumā LC-MS analīze uzrādīja tikai šo savienojumu pēdas.

Prunus padus ziedu etanola ekstraktos identificētie savienojumi

	RT, min.	DAD spektrs, λ_{max} (nm)	MS (m/z)				Molekulārā formula	Molekulmasa	Identificētais savienojums	Atsauce
			[M + H] ⁺	MS2, fragmenti	[M – H] [–]	MS2, fragmenti				
1	4,46	258	315,11	-	313,09	-	C ₁₄ H ₁₈ O ₈	314	Vanilozīds	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vanilloside
2	4,47	240	332,13	163,06	-	-	C ₁₄ H ₂₁ NO ₈	331	Zinolols	(Ammar et al., 2008)
3	4,84	321	355,10	-	353,08	-	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354	Hlorogēnskābe	a
4	5,52	280	339,11	-	337,09	191,05	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	338	p-kumarilhinīnskābes izomērs	(Marchelak et al., 2017)
5	5,71	253	627,14	303,05	625,14	-	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	626	Kvercetīna diglukoziāds (izomērs)	(Mikulic-Petkovsek et al., 2016)
6	5,93	245	597,14	465,10, 303,05	595,13	-	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	596	Kvercetīna diglikoziāds	(Olszewska un Kwapisz, 2011; Slimstad et al., 2005; Song et al., 2012)

2.3. tabulas turpinājums

	RT, min.	DAD spektrs, λ_{max} (nm)	MS (m/z)				Molekulārā formula	Molekulmasa	Identificētais savienojums	Atsauce
			[M + H] ⁺	MS2, fragmenti	[M – H] [–]	MS2, fragmenti				
7	6,21	256	611,15	465,10, 303,05	609,14	301,04	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610	Rutīns	a
8	6,25	257	581,14	465,10, 303,05, 287,05	579,14	463,09	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	580	Kvercetīna diglikozīds	b
9	6,76	328	517,13	499,12, 319,08	515,12		C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	516	Cinarīns	(Simirgiotis et al., 2015)
10	7,72	248	616,26	454,23	614,25		C ₃₄ H ₃₇ N ₃ O ₈	615	Di-kafeoil- kumaroil- spermidīns	(Hanhineva et al., 2008; Mihajlovic et al., 2015)

* a – identitāte apstiprināta ar references savienojumu

* b – liela izomēru savienojumu grupa, kas atbilst kvercetīna konjugātiem ar diviem ogļhidrātu atlikumiem

Abu analizēto paraugu (pirms un pēc liofilizācijas) hromatogrāfiskie profili ir līdzīgi – novēro 3–4 intensīvus signālus aiztures laiku intervālā no 3 līdz 9 min. (skat. 2.4. tabulu), un pamatkomponentu daļa ir 65–75 % no visu atrasto smaiļu laukumu summas.

2.4. tabula

***Prunus padus* ziedu etanola ekstrakta un liofilizētā parauga etanola šķīduma UV profilu salīdzinājums**

RT, min.	Saturš, % no laukumu summas (UV)		Iespējamais savienojums	Atsauce uz identificēto savienojumu 2.3. tabulā
	Etanola ekstrakts	Liofilizētā parauga etanola šķīdums		
4,74	8,9	12,4	Hlorogēnskābe	3
5,83	38,2	36,9	Kvercetīna diglikozīds	6
6,22	15,2	16,7	Kvercetīna diglikozīds	8
7,61	11,8	-	N',N''-dikafeoil-,N'''- kumaroil- spermidīns	10

2.3.3. Kopējais fenola savienojumu daudzums un DFPH antiradikālā aktivitāte *Prunus padus* ziedu ekstraktā

PPFE spēja reducēt stabilo DFPH radikāli un kopējais fenola savienojumu daudzums ir parādīts 2.5. tabulā.

**Kopējais fenola savienojumu daudzums un DFPH antiradikālā aktivitāte
Prunus padus ziedu ekstraktā**

Paraugs	Kopējais fenola savienojumu daudzums (mg GSE/g liofilizēta ekstrakta) ^a	EC ₅₀ vērtība DFPH antiradikālajai aktivitātei (mg/ml) ^b
PPFE	85,19 ± 3,26	0,55 ± 0.10
L-askorbīnskābe	-	0,05 ± 0,00006

* Rezultāti ir vidējais ± SD no 3 eksperimentiem, kas veikti 2 paralēlajos mērījumos.

^aKopējais fenola savienojumu daudzums izteikts kā gallusskābes ekvivalents uz gramu liofilizēta ekstrakta (mg GSE/g). ^bEC₅₀ (mg/ml) vērtība atbilst koncentrācijai, kas samazina DFPH absorbciju par 50%.

2.3.4. *Prunus padus* ziedu ekstrakta ietekme uz kolagenāzes aktivitāti

Kolagenāzes inhibēšanas testa rezultāti ir parādīti 2.9. attēlā. PPFE inhibēja kolagenāzes aktivitāti devas atkarīgā veidā. Visvairāk kolagenāzes aktivitāti inhibēja ekstrakts koncentrācijās 250 µg/ml un 500 µg/ml. Lielākajā koncentrācijā enzīma aktivitāte bija statistiski ticami samazināta par 20 %, salīdzinot ar kontroli.

2.9. attēls. *Prunus padus* ziedu ekstrakta (PPFE) inhibējošā ietekme uz kolagenāzes aktivitāti

Rezultāti izteikti procentos, salīdzinot pret kontroli. 500 un 250 ir koncentrācijas (µg/ml). Rezultāti ir vidējais $\pm$ SEM no 3 eksperimentiem, kas veikti 2 paralēlajos mērījumos. Atšķirības starp mērījumiem pārbaudītas, izmantojot ANOVA dispersijas analīzi ar sekojošu Dunneta testu.

*Statistiski ticami atšķiras no kontroles ($p < 0,05$).

2.3.5. *Prunus padus* ziedu ekstrakta ietekme uz LPS izraisītu iekaisuma mediatora interleikīna-6 sekrēciju

Dati par IL-6 sekrēciju parāda, ka PPFE samazina LPS/IFN- γ izraisītu IL-6 sekrēciju no BMDM. PPFE koncentrācijā 500 µg/ml statistiski ticami samazināja IL-6 sekrēciju par 35 % un koncentrācijā 250 µg/ml samazināja sekrēciju par 25 %, salīdzinot ar LPS/IFN- γ stimulēto kontroli (2.10. attēls). Balstoties uz MTT testa rezultātiem, pēc 24 h ilgas inkubēšanas ar PPFE koncentrācijās no 50 līdz 750 µg/ml nebija toksisks (2.11. attēls).

2.10. attēls. **BMDM šūnu vidē izdalītā IL-6 koncentrācija noteikta ar ELISA**

PPFE (250 $\mu\text{g/ml}$ un 500 $\mu\text{g/ml}$) ietekme uz LPS un IFN- γ stimulētām (6 h) šūnām. 500 un 250 ir koncentrācijas ($\mu\text{g/ml}$). Rezultāti ir vidējais $\pm$ SEM no 3 eksperimentiem, kas veikti 3 paralēlajos mērījumos. Atšķirības starp mērījumiem pārbaudītas, izmantojot ANOVA dispersijas analīzi ar sekojošu Dunneta testu.

*Statistiski ticami atšķiras no LPS kontroles ($p < 0,05$).

2.11. attēls. ***Prunus padus* ziedu ekstrakta (PPFE) ietekme uz makrofāgu (BMDM) dzīvotspēju, izmantojot MTT testu**

Šūnu dzīvotspēja mērīta 24 h pēc inkubēšanas ar ekstraktiem. Rezultāti ir vidējais $\pm$ SD no 3 eksperimentiem, kas veikti 12 paralēlajos mērījumos.

*Statistiski ticami atšķiras no nestimulētās kontroles (t-tests divu neatkarīgu izlašu salīdzināšanai, $p < 0,05$).

2.3.6. *Prunus padus* ziedu ekstrakta ietekme uz LPS izraisītu makrofāgu polarizāciju par M1 un M2 fenotipu

Plūsmas citometrijas analīze liecina, ka, šūnām reaģējot uz LPS/IFN- γ , M1 polarizēto makrofāgu daudzums palielinājās 8,2 reizes, salīdzinot ar nestimulēto kontroli (2.12. B attēls). Ar LPS/IFN- γ stimulēto CD80+ un CD86+ dubultpozitīvo šūnu procentuālais daudzums bija 32 %. PPFE abās koncentrācijās (250 $\mu\text{g/ml}$ un 500 $\mu\text{g/ml}$) pēc 24 h samazināja M1 makrofāgu populāciju attiecīgi līdz 28 % un 23 %.

Ar IL-4 stimulēto CD206+ un CD301+ dubultpozitīvo šūnu procentuālais daudzums bija 21 %. Inkubēšana ar 250 $\mu\text{g/ml}$ un 500 $\mu\text{g/ml}$ PPFE palielināja makrofāgu populāciju pēc 24 h līdz attiecīgi 23 % un 27 % (2.12. C attēls). Pētījuma rezultāti parāda, ka PPFE ietekmēja gan M1, gan M2 makrofāgu polarizāciju.

2.12. attēls. Makrofāgu polarizācija par M1 un M2 fenotipu un analīze ar plūsmas citometriju

(A) Augšējais labais kvadrants: M1 un M2 makrofāgu analīzei F4/80 pozitīvajās šūnās mērīta šūnas virsmas marķieru CD80 un CD86, CD206 un CD301 ekspresija. Apakšā ir attēloti reprezentatīvi attēli no 3 eksperimentiem, kas veikti 3 paralēlajos mērījumos.

(B) Šūnu virsmas marķieru CD80 un CD86 ekspresija analizēta ar plūsmas citometriju 24 h pēc BMDM stimulēšanas ar ekstraktu (250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ un 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$) un LPS/IFN- γ .

(C) Šūnu virsmas marķieru CD206 un CD301 ekspresija analizēta ar plūsmas citometriju 24 h pēc BMDM stimulēšanas ar ekstraktu un IL-4.

Rezultāti ir vidējais $\pm$ SEM no 3 eksperimentiem, kas veikti 3 paralēlajos mērījumos. Atšķirības starp mērījumiem pārbaudītas, izmantojot ANOVA dispersijas analīzi ar sekojošu Dunneta testu.

*Statistiski ticami atšķiras no LPS vai IL4 kontroles ($p < 0,05$).

3. Diskusija

Promocijas darbā tiek analizēta ārstniecības augu, kas bija nozīmīgi latviešu tradicionālajā medicīnā 19. un 20. gadsimtā, izmantošana; tiek meklētas jaunas idejas šo augu praktiskai lietošanai, sniedzot pierādījumus tam, ka šīs zināšanas joprojām pētniecībā ir aktuālas.

Šis ir pirmais visaptverošais pārskats par latviešu tautas ārstniecības augu lietošanas tradīcijām 19. un 20. gadsimtā. Ir apkopots un sistematizēti analizēts liels skaits latviešu tautas ārstniecības pierakstu par augu izmantošanu dažādu slimību ārstēšanai. Folkloras dati tika salīdzināti ar Krievijas farmakopeju (1891), kas bija oficiālā farmakopeja Latvijas teritorijā 19. gadsimtā, un ar pirmo Latvijas farmakopeju (1940). Folkloras datu tabulā ir norādīti augi, kuriem ir izstrādātas ES augu monogrāfijas, ko publicējusi EMA, un tie, kas ir iekļauti *M. Wichtl* (2004) monogrāfijās.

Iedvesmojoties no latviešu tautas ārstniecības pierakstos atrodamajām zināšanām, papildus etnobotāniskajam pētījumam tika izziņāta *Pelargonium sidoides* DC. un *Prunus padus* L. pretiekaisuma aktivitāte.

3.1. Atšķirības starp ārstniecības augu tradicionālo un mūsdienu izmantošanu

Par to, ka vietējie iedzīvotāji Latvijas teritorijā lietoja ārstniecības augus, liecina gan mutiski, gan rakstiski avoti, tostarp latviešu tautas ārstniecības pieraksti. Latvijas iedzīvotāji joprojām plaši izmanto ārstniecības augus, lai gan dzīves paradumi ir mainījušies. Mūsdienās drogas un dabas izcelsmes vielas biežāk tiek iegādātas tirdzniecības vietās, nevis ar nodomu vāktas mežos, plāvēs vai dārzos. Mūsdienu medicīnā plaši izmanto ekstraktus. Piemēram, no latviešu tautas ārstniecības pierakstos visbiežāk minētajiem augiem – pelašķa, kumelītes un sīpola – iegūst ekstraktus, ko iestrādā tabletēs un kapsulās (www.zva.gov.lv;

registri.pvd.gov.lv). Tautas medicīnā šos augus izmantoja cita veida zāļu formās, piemēram, novārījumos, tējās, sulās un tinktūrās.

Samazinoties individuālajai drogu vākšanas tradīcijai, par daudziem Latvijas floras augiem mūsdienu sabiedrībā trūkst zināšanu, tāpēc to lietošana tiek aizmirsta, tomēr nevar apgalvot, ka iepriekšējās paaudzes augus ārstniecībā būtu lietojušas vairāk. Noteiktu apstākļu dēļ ir mainījusies lietoto augu nomenklatūra. Kopumā zāļu lietošana ir palielinājusies, jo ir pieejams plašs sintētisko zāļu skaits, un ar katru gadu pieaug arī augu līdzekļu lietošana. Savukārt senatnē ārstēšanās ar dabas produktiem bija galvenā un gandrīz vienīgā metode (Sōukand et al., 2017).

Kopumā Latvijas florā sastopamas 1800 vaskulāro augu sugas (Priedītis, 2014). Latviešu tautas ārstniecības pierakstos bija minēts ievērojams skaits augu ģinšu (211). Dominējošās augu sugas Eiropā ir no *Asteraceae* un *Rosaceae* dzimtas (Sōukand et al., 2013). Ārstniecības pierakstos minētie augi lielākoties pieder šīm divām dzimtām. Mūsdienās Latvijā pārstāvētākās dzimtas no divdīgļlapju klases ir *Asteraceae*, *Rosaceae*, *Fabaceae* un *Brassicaceae* [(Priedītis, 2014); <https://www.latvijasdaba.lv>]. Visplašāk pārstāvētās Latvijas floras augu dzimtas gadsimtu gaitā nav mainījušās.

Liels skaits latviešu tautas ārstniecības pierakstu minēja ar elpošanas sistēmas traucējumiem saistītu simptomu ārstēšanu, ļaujot identificēt ārstniecībā noderīgas augu sugas. Šīs augu sugas tika izmantotas, lai ārstētu galvenokārt augšējo elpceļu kaites, kas vienlīdz skar gan bērnus, gan pieaugušos. Tikai nedaudzos latviešu tautas ārstniecības pierakstos bija aprakstīti nervu sistēmas traucējumi, onkoloģiskās slimības un sirds un asinsvadu sistēmas traucējumi. Tās ir kļuvušas par būtiskām veselības problēmām mūsdienu sabiedrībā ar nosakāmu paredzamo mūža ilgumu (Phumthum et al., 2018; Sak et al., 2014). Latviešu tautas ārstniecības pierakstos šīs trīs veselības problēmas bija minētas reti, ko varētu skaidrot ar nepilnīgām zināšanām par to ārstēšanu un nepietiekamām diagnostikas iespējām.

Daudzas latviešu tautas ārstniecības pierakstos minētās augu sugas bija lietotas vairākām indikācijām. To varētu skaidrot ar faktu, ka bērzs, kumelīte, baldriāns un citi savvaļas augi auga tuvu mājām, tie bija viegli pieejami un tiem piemita zināmas pretiekaisuma īpašības. Iekaisums un sāpes jau sen ir labi zināmi daudzu slimību simptomi, un tie bieži ir saistīti viens ar otru (Maroon et al., 2010). Tas, iespējams, izskaidro, kāpēc latviešu tautas ārstniecības pierakstos sāpju mazināšanai bija minēts tik liels skaits (90) augu.

Līdztekus savvaļas augu izmantošanai Latvijas teritorijā ārstnieciskiem nolūkiem izmantoja arī svešzemju augus. Alveja ir bieži lietots istabas augs, kas ir efektīvs elpošanas sistēmas traucējumu un ādas slimību ārstēšanā. Alvejas biežā pieminēšana ārstniecības pierakstos vedina domāt, ka šis augs Latvijas teritorijā 20. gadsimta sākumā auga gandrīz katrā māsasaimniecībā. Neskaitot alveju, tika izmantoti arī citi istabas augi – neīstais jūras sīpols, ko izmantoja pret klepu, un pelargonija, ko izmantoja ausu sāpēm.

Saskaņā ar folkloras materiāliem ārstnieciskam nolūkam izmantoja gandrīz visas augu daļas. Tomēr lapas, kam sekoja ziedi, tika izmantotas visbiežāk. Biežāka lapu un ziedu izmantošana varētu būt skaidrojama ar to, ka šīs augu daļas ir plaši pieejamas šajā ģeoklimatiskajā reģionā (Pranskuniene et al., 2018). Saknes, augļus vai mizu ir grūtāk ievākt un sagatavot, jo tās lielākoties ir cietas un prasa papildu apstrādi, kas var būt arī laikietilpīga. Lapu izmantošana var neradīt kaitīgu ietekmi uz augu augšanu, salīdzinot ar sakņu, sīpolu, vesela auga vai stublāja ievākšanu. Lapas ir augu atjaunojamās daļas, un to noņemšana augam rada mazāku kaitējumu.

Saskaņā ar latviešu tautas ārstniecības pierakstos un abu kaimiņvalstu, Lietuvas un Igaunijas, pētījumos sniegto informāciju augu izcelsmes zāļu iekšķīga lietošana bija visizplatītākais lietošanas veids (Pranskuniene et al., 2018; Sõukand and Kalle, 2011). Turklāt augu augšanas sezonā svaigu un neapstrādātu augu lietošana nav laikietilpīga, bet ir efektīva, īpaši, ja tos uzklāj uz ādas. Daudzos ārstniecības pierakstos minēts, ka augu lapas, piemēram,

ceļmallapas, pelašķa, alvejas un ābeles lapas, tika uzklātas tieši uz svaigām brūcēm vai kukaiņu un dzīvnieku kodumiem, jo tām piemīt īpašības, kas mazina iekaisumu un dziedē brūces. Lai ārstētu ne tikai virspusējus, bet arī dziļus ādas bojājumus, piemēram, augoņus, kopā ar svaigām auga daļām – ķiplokiem, sīpoliem vai tabakas lapām – izmantoja medu. Salīdzinot ar tēju, lai pagatavotu novārījumu, nepieciešams ilgāks vārīšanās laiks, tāpēc šo metodi izmantoja cietākām vai blīvākām augu daļām, piemēram, pazemes orgāniem, mizai un augļiem. Aktīvās vielas no mizas, saknēm un augļiem nevar iegūt īsā laikā (Liu, 2008). Tinktūras, kas izgatavotas no svaigiem bērzu pumpuriem, baldriāna saknēm un vērmeles lakstiem, bija ļoti ērti lietojamas elpošanas un gremošanas sistēmas traucējumu gadījumā, jo tinktūrām ir ilgs derīguma termiņš. Lai uzlabotu to garšu, tika pievienots medus vai cukurs. Vairāki pētījumi norāda, ka zāļu garšas uzlabošanai un to uzņemšanas atvieglošanai ir lietoti arī dabiskie saldinātāji (Phumthum et al., 2018; Pranskuniene et al., 2018; Tariq et al., 2015). Latviešu tautas ārstniecības pierakstos par šķīdinātāju ūdens vietā izmantoja pienu, krējumu, alu, taukus, eļļu, etiķi un pat urīnu. Kā minēts latviešu tautas ārstniecības pierakstos, vannošanos vārītā augu ūdenī parasti izmantoja, lai mazinātu sāpes, ārstētu ādas slimības vai nomierinātu nervu sistēmu mazuļiem, maziem bērniem un pieaugušajiem.

Igaunijas pētījumos visvairāk pieminētie augi bija līdzīgi tiem, kas identificēti latviešu tautas ārstniecības pierakstos: *Plantago* sp. L., *Allium cepa* L., *Matricaria* sp. L., *Achillea millefolium* L., *Juniperus communis* L., *Betula* sp. L. un *Prunus padus* L. (Sõukand and Kalle, 2011). Citi augi, piemēram, *Chelidonium majus* L., *Secale cereale* L., *Potentilla anserina* L., *Tussilago farfara* L., *Valeriana officinalis* L., *Solanum dulcamara* L., *Thymus serpyllum* L. un *Pinus sylvestris* L., arī ir atrodami latviešu tautas ārstniecības pierakstos, bet tie nav starp desmit biežāk minētajiem augiem. Salīdzinot ar Lietuvas pētījumu, ir viens bieži lietots augs *Matricaria chamomilla* L. Piemēram, citi augi – *Rubus idaeus* L., *Calendula officinalis* L. un *Tilia cordata* Mill. – bija reti atspoguļoti

latviešu tautas ārstniecības pierakstos (Pranskuniene et al., 2018). Savukārt Eiropā dominējošās augu ģintis ir *Mentha* L., *Tilia* L., *Thymus* L., *Origanum* L., *Rubus* L. un *Matricaria* L. (Łuczaj et al., 2012; Sõukand et al., 2013).

3.2. Latviešu tautas ārstniecības pierakstos atrodamo augu nākotnes izmantošanas iespējas

Piecdesmit deviņi šajā pētījumā minētie augu taksoni ir nozīmīgi mūsdienu medicīnā, un saskaņā ar ES augu monogrāfijām tos izmanto kā tradicionālas augu izcelsmes zāles. Tomēr desmit visbiežāk latviešu tautas ārstniecības pierakstos atrodamie augu taksoni nav iekļauti *EMA* augu monogrāfijās, kā arī izdevumā “Augu izcelsmes zāles un fitofarmaceitiskie preparāti” (Wichtl, 2004), tāpēc ir interesanti nākotnes pētījumiem. Ir jāveic vairāk etnobotānisko, fitoķīmisko un farmakoloģisko pētījumu, lai veicinātu un atvieglotu šo drogu apstiprināšanu lietošanai zinātniskajā medicīnā par tradicionālām augu izcelsmes zālēm.

3.3. *Pelargonium* analīze

3.3.1. Atšķirības starp *Pelargonium* tradicionālo un mūsdienu izmantošanu

Latviešu tautas medicīnā *Pelargonium* sarunvalodā tiek saukta par ausu puķi. Tas nav bez iemesla, jo Latvijā šī auga lapas tradicionāli tiek izmantotas ausu sāpju ārstēšanai. Par to liecina latviešu tautas ārstniecības pieraksti, kur septiņās no desmit *Pelargonium* pieminēšanas reizēm bija aprakstīta to lietošana ausu sāpju samazināšanai. Lai gan pētītajos latviešu tautas ārstniecības pierakstos *Pelargonium* lapas bija visbiežāk minētā auga daļa, ko izmantoja medicīniskiem nolūkiem, *Pelargonium* sakņu, īpaši *P. sidoides* DC. sakņu, lietošana visā pasaulē ir atzīta klepus, kakla sāpju un citu elpceļu traucējumu ārstēšanai (Kolodziej, 2011; Saraswathi et al., 2011). Vēl viena plaši izmantota

Pelargonium suga ir *P. graveolens* L'Hér. To kultivē, lai no lapām iegūtu ēterisko eļļu. Līdz šim vislabāk izpētītās *Pelargonium* sugas ir *P. graveolens*, *P. sidoides*, *P. reniforme* Curtis un *P. radula* (Cav.) L'Hér. Latviešu tautas ārstniecības pierakstos konkrēta *Pelargonium* suga netika identificēta. No apkopotajiem datiem var secināt, ka Latvijas teritorijas iedzīvotāji par efektīvāko *Pelargonium* izmantošanas veidu ir atzinuši to lietošanu ārīgi.

Dažādās augu daļās var būt dažādi fitoķīmiskie savienojumi, un šiem savienojumiem var būt dažāda bioloģiskā aktivitāte. *Pelargonium* virszemes un pazemes daļu ķīmiskajam sastāvam ir noteiktas atšķirības un līdzības. Ir informācija par ievērojamu fenola savienojumu daudzuma klātbūtni *P. reniforme* lapās un saknēs (Adewusi and Afolayan, 2009). Kumarīna sulfāti, kumarīna glikozīdi un proantocianidīni konstatēti *P. sidoides* dažādās auga daļās. Turklāt *P. sidoides* satur dažādus polifenola savienojumus un ir bagāta ar flavonoīdiem un hidrolizējamiem tanīniem (Saraswathi et al., 2011). Šajā pētījumā analizētajā PSRE ekstraktā bija identificēti un kvantitatīvi noteikti seši fenola savienojumi: katehīns, epikatehīns, epigallokatehīns, epigallokatehīna gallāts, gallusskābe un kvercetīns (Savickiene et al., 2018). Turklāt PACN frakcijā identificētie fenola savienojumi bija prodelfinidīna oligomēri, sākot no dimēriem līdz heksamēriem (Savickiene et al., 2018). *P. graveolens* ēteriskā eļļa satur citranelolu, citranelilformiātu, citranelilacetātu un geraniolu. Lietojot vietēji, ēteriskajai eļļai var būt antibakteriālas un pretsēnīšu īpašības (Fekri et al., 2019; Saraswathi et al., 2011). Eksperimentālos pētījumos ir pierādīts, ka *P. graveolens* ēteriskās eļļas sastāvdaļām, citranelolam un geraniolam, piemīt pretiekaisuma īpašības, tā pamatojot to lietojumu ar iekaisumu saistītu traucējumu ārstēšanā (Su et al., 2010).

3.3.2. PSRE un PACN pretiekaisuma aktivitāte

Promocijas darba eksperimentālajā daļā tika pētīta PSRE un no PSRE iegūta PACN pretiekaisuma aktivitāte. Savickiene et al. 2018. gada pētījumā ziņoja, ka PACN piemīt spēcīgākas antioksidatīvās un antibakteriālās īpašības nekā PSRE. Analizējot eksperimentālo datu rezultātus, atklājās, ka PSRE un PACN nomāc vismaz trīs dažādus iekaisuma procesus: citokīnu sekrēciju (IL-6 sekrēciju no kaulu smadzenēm izolētos makrofāgos), iekaisuma gēnu ekspresiju (IL-1 β , iNOS un COX-2) un makrofāgu pārveidošana par iekaisumu veicinošu M1 fenotipu. Līdzīgu pretiekaisuma aktivitāti PSRE kopā ar *Coptis chinensis* Franch. sakņu ekstraktu parādīja LPS-stimulētās RAW 264.7 šūnās (Park et al., 2018). Ekstraktu kombinācija statistiski ticami samazināja iNOS, PGE2, TNF- α , IL-1 β un IL-6 līmeni RAW 264.7 makrofāgos, un rezultāti tika apstiprināti arī *in vivo* žurku ķepas tūskas modelī. Lai gan pētījumā tika ziņots par zemāku TNF- α sekrēcijas līmeni LPS stimulētās RAW 264.7 šūnās, mūsu pētījumā netika novērotas būtiskas izmaiņas TNF- α gēnu ekspresijā ne LPS stimulētajos leikocītos, ne LPS/IFN- γ stimulētajos makrofāgos pēc inkubēšanas ar PSRE un PACN. Lai gan PACN un PSRE tika novērotas līdzīgas pretiekaisuma īpašības, tomēr PACN bija efektīvāks, samazinot iekaisuma mediatoru sekrēciju. Spēcīgāka PACN pretiekaisuma aktivitāte varētu būt saistīta ar lielāku prodeļfinidīnu daudzumu *P. sidoides* saknēs.

P. sidoides sakņu ekstrakts un no tā izolēto proantocianidīnu ekstrakts ir noderīgi ne tikai klepus un saaukstēšanās ārstēšanai. Pretiekaisuma un antibakteriālās iedarbības dēļ tie varētu palīdzēt samazināt infekciju un iekaisumu izraisošas slimības, piemēram, periodontītu (Jekabsone et al., 2019). Lai izvairītos no antibiotiku un sintētisko antiseptisko līdzekļu negatīvās ietekmes, kā alternatīvu profilaktiskam un ārstnieciskam nolūkam var izmantot dabiskos bioloģiski aktīvos *P. sidoides* savienojumus. Latviešu tautas ārstniecības pierakstos bija minēta arī *Pelargonium* lietošana zobu sāpju

mazināšanai. Kopumā šī pētījuma rezultāti apstiprina tradicionālo *Pelargonium* lietošanu efektīvai iekaisuma slimību ārstēšanai.

3.4. *Prunus padus* analīze

3.4.1. Atšķirības starp *Prunus padus* tradicionālo un mūsdienu izmantošanu

Eiropas etnobotāniskajos pētījumos bieži ziņots par *P. padus* augļu un ziedu izmantošanu (Kujawska et al., 2017; Pranskuniene et al., 2019; Sõukand et al., 2017). Latviešu tautas ārstniecības pierakstos visbiežāk minētā auga daļa bija miza. *P. padus* mizas izmantošanu minēja desmit reizes biežāk nekā augļu izmantošanu un astoņas reizes biežāk nekā ziedu izmantošanu. Citos pētījumos apkopotie simptomi un lietošanas veidi sakrīt ar latviešu tautas ārstniecības pierakstos minēto: augļus izmantoja caurejas ārstēšanai, ziedus – locītavu un reimatisko sāpju, kā arī rozēs ārstēšanai (Kujawska et al., 2017; Pranskuniene et al., 2019; Sõukand et al., 2017). Latviešu tautas ārstniecības pierakstos bija minēta arī *P. padus* lietošana tādu traucējumu ārstēšanai kā galvassāpes, zobu, ausu, kakla un vēdera sāpes, klepus, zilumi un tūska.

P. padus joprojām ir bieži sastopams savvaļas augs Latvijā un Baltijas valstīs kopumā. Igaņu etnobotāniskie pētījumi par ārstniecības augiem atklāja, ka *P. padus* ir viena no desmit visbiežāk lietotajām augu sugām no 19. līdz 20. gadsimtam. Turklāt, kā liecina latviešu tautas ārstniecības pieraksti, *P. padus* bieži lietoja vairāku traucējumu gadījumā, kas skar 8 veselības problēmu kategorijas. Mūsdienās tā ir gandrīz aizmirsta un tās droga nav nopērkama tējas, uztura bagātinātāju vai zāļu veidā.

3.4.2. PPFE pretiekaisuma aktivitāte

Galvenie gaistošie komponenti *P. padus* ziedu ekstraktos, par kuriem ziņots citos pētījumos, ir benzaldehīds, 2-feniletanols un (Z) -8-hidroksilinalols (Radulović et al., 2009; Surburg et al., 1990). Promocijas darbam izmantotajā pētījumā iegūtie rezultāti atbilst literatūrā aprakstītajam *P. padus* ziedu ekstraktu ķīmiskajam sastāvam.

Ir ziņots, ka *P. padus* ziediem *in vitro* ir būtiska un no devas atkarīga antioksidatīvā aktivitāte, kas korelē ar polifenolu daudzumu (Olszewska and Kwapisz, 2011). Novērots arī liels kvercetīna diglikozīdu un hlorogēnskābes daudzums *P. padus* ziedu ekstraktos (Olszewska and Kwapisz, 2011). Iepriekš norādītajā pētījumā, kas bija veikts Polijā, ziņots, ka hlorogēnskābes un kvercetīna diglikozīdu daudzums ir līdzīgs, savukārt šajā pētījumā kvercetīna diglikozīdu daudzums bija lielāks nekā hlorogēnskābes gadījumā. Kvercetīns jau sen ir labi zināms kā pretiekaisuma līdzeklis, kam piemīt spēcīga pretiekaisuma aktivitāte (Li et al., 2016). Pētījumos ir ziņots par kvercetīna pretiekaisuma molekulārajiem darbības mehānismiem, samazinot LPS stimulēto gēnu un proteīnu ekspresiju makrofāgos, tostarp samazinot iekaisuma citokīna IL-6 sekrēciju šūnu vidē. (Endale et al., 2013; Y. Yang et al., 2012). Hlorogēnskābe kopā ar kvercetīnu varētu būt galvenie savienojumi, kas ir atbildīgi par PPFE pretiekaisuma aktivitāti.

Vēl viens savienojums, kas konstatēts *P. padus* etanola ekstraktā, bija spermidīna atvasinājums, kas atrodas ziedaugu putekšņlapās un auglenīcā (Hanhineva et al., 2008; Z. Yang et al., 2012). Līdz šim spermidīna atvasinājumi ir identificēti *Prunus spinosa* L. ziedu ekstraktos (Marchelak et al., 2017). *P. padus* ziedos spermidīna atvasinājums pirmo reizi ir konstatēts šajā pētījumā. Diemžēl pēc etanola ekstrakta liofilizēšanas tas netika identificēts, tādēļ nebija iesaistīts PPFE uzrādītajā aktivitātē.

Iepriekšējie literatūras dati par *P. padus* intracelulāro enzīmu inhibīciju attiecas tikai uz pētījumiem par mizu. *P. padus* mizas ekstrakts koncentrācijā 350 µg/ml inhibēja elastāzes un tirozināzes aktivitāti attiecīgi par 36 % un 38 % (Hwang et al., 2014). Lai gan polifenolu koncentrācija *P. padus* mizas ekstraktā bija astoņas reizes augstāka nekā PPFE, salīdzinājumā ar citiem zināmiem antioksidantus saturošiem augiem, piemēram, dadzi, sarkanās gobas mizu un priežu skuļām, *P. padus* mizai bija vidēja elastāzes un zema tirozināzes inhibējoša iedarbība (Hwang et al., 2014). Ir zināms, ka kvercetīns – viena no *P. padus* ziedu ekstrakta pamatsastāvdaļām – izraisa ievērojamu kolagenāzes inhibīciju (Shin et al., 2019; Sin and Kim, 2005). Iepriekš minētie pētījumi un promocijas darba eksperimentālie dati liecina, ka PPFE identificētajam kvercetīnam var būt nozīmīga loma aizsardzībā pret kolagēna noārdīšanos. Tomēr PPFE koncentrācija, kas nepieciešama, lai samazinātu kolagenāzes aktivitāti, ir ļoti liela.

Nesen veiktais pētījums par *P. padus* ziedu pretiekaisuma aktivitāti parādīja, ka, salīdzinot ar pozitīvajām kontrolēm, ziedu lipofilajiem triterpēniem (korožolskābei, ursolskābei un oleanolskābei) bija salīdzinoši augsta lipoksigenāzes (IC₅₀: 12,8 µg/U) un hialuronidāzes (IC₅₀: 22,0 µg/U) inhibējošā aktivitāte. Ekstrakti bija 5,8 reizes mazāk aktīvi nekā indometacīns un deksametazons (Magiera et al., 2019). Eksperimentālā modelī, kas līdzīgs promocijas darbā izveidotajam eksperimentālajam modelim, tika pierādīta *P. padus* stumbra ekstrakta pretiekaisuma aktivitāte LPS un IFN-γ stimulētos no peļu vēderplēves iegūtos makrofāgos (Choi et al., 2012). Pētījums parādīja, ka *P. padus* stumbra ekstrakta (MPP) metilēnhlorīda frakcijai ir būtiska inhibējoša ietekme uz iekaisuma mediatoriem, tostarp slāpekļa oksīdu (NO), inducējamo slāpekļa oksīda sintāzi (iNOS) un ciklooksigenāzi-2 (COX-2) (Choi et al., 2012). Pamatojoties uz savu un citu veiktajiem pētījumiem, autori izteica pieņēmumu, ka tādi savienojumi kā izoramnefīns, astragalīns, kvercetīns un hlorogēnskābe, varētu būt atbildīgi par MPP pretiekaisuma aktivitāti (Choi et al., 2012). Šajā

pētījumā no kaulu smadzenēm iegūtie makrofāgi tika izvēlēti kā šūnu modelis, jo tas ir labāks nekā šūnu līniju modelis un pārstāv homogēnu šūnu populāciju, ko var aktivēt, lai analizētu proinflammatoro citokīnu aktivācijas inhibīciju. Pamatojoties uz šī pētījuma rezultātiem, PPFE samazināja divus iekaisuma procesus: citokīnu sekrēciju (IL-6 no BMDM) un makrofāgu polarizāciju par iekaisuma veicinošo M1 fenotipu, ko raksturo virsmas marķieri CD80 un CD86. Turklāt PPFE uzrādīja daudzsološu pretiekaisuma aktivitāti uz M2 makrofāgiem, kas ir iesaistīti audu dzīšanas procesā. Kopumā šie dati liecina par iespējamu PPFE izmantošanu par dabisku pretiekaisuma līdzekļu avotu.

Secinājumi

1. Šis etnobotāniskais pētījums sniedz visaptverošu informāciju par latviešu tautas augu lietošanas tradīcijām 19. un 20. gadsimtā. Tika konstatēts, ka Latvijas teritorijā tradicionālajā medicīnā izmantoja vairāk nekā 200 augu taksonu.
2. Latviešu tautas ārstniecības pierakstos identificētie 152 taksoni joprojām nav iekļauti ES augu monogrāfijās, kas sniedz uz pierādījumiem balstītu informāciju par drogu zinātnisko lietojumu. Ārstniecības pierakstos minētās augu sugas un to izmantošanas veidi varētu būt noderīgi turpmākiem augu izcelsmes zāļu pētījumiem.
3. *Pelargonium sidoides* sakņu ekstraktam (PSRE) un no tā iegūtajam proantocianidīnu ekstraktam (PACN) ir vienlīdz izteikta *in vitro* pretiekaisuma aktivitāte, nomācot vismaz trīs dažādus iekaisuma procesus: citokīnu sekrēciju, iekaisuma gēnu ekspresiju un makrofāgu aktivāciju par iekaisuma veicinošo M1 fenotipu.
4. *Prunus padus* ziedu etanola ekstrakts (PPFE) ir bagātīgs bioaktīvo savienojumu, piemēram, kvercetīna, hlorogēnskābes un citu fenola savienojumu, avots, kam piemīt izteikta pretiekaisuma aktivitāte, tā apstiprinot to izmantošanas lietderību latviešu tautas medicīnā par efektīvu līdzekli iekaisuma procesu mazināšanai.

Darba aprobācija – publikācijas un tēzes

Zinātniskās publikācijas izdevumos, kas iekļauti starptautiskajās datubāzēs:

1. **Sile, I.**, Romane, E., Reinsone, S., Maurina, B., Tirzite, D., Dambrova, M. 2020. Medicinal plants and their uses recorded in the Archives of Latvian Folklore from the 19th century. *J Ethnopharmacol.* 249, 112378.
2. **Sile, I.**, Romane, E., Reinsone, S., Maurina, B., Tirzite, D., Dambrova, M. 2020. Data on medicinal plants in the records of Latvian folk medicine from the 19th century. *Data Brief.* 28, 105024.
3. **Sile, I.**, Videja, M., Makrecka-Kuka, M., Tirzite, D., Pajuste, K., Shubin, K., Krizhanovska, V., Grinberga, S., Pugovics, O., Dambrova, M. 2021. Chemical composition of *Prunus padus* L. flower extract and its anti-inflammatory activities in primary bone marrow-derived macrophages. *J Ethnopharmacol.* 268, 113678.
4. Jekabsone, A., **Sile, I.**, Cochis, A., Makrecka-Kuka, M., Laucaityte, G., Makarova, E., Rimondini, L., Bernotiene, R., Raudone, L., Vedlugaite, E., Baniene, R., Smalinskiene, A., Savickiene, N., Dambrova, M. 2019. Investigation of Antibacterial and Antiinflammatory Activities of Proanthocyanidins from *Pelargonium sidoides* DC Root Extract. *Nutrients.* 11, 2829.

Zinātniski raksti Latvijā izdotos recenzējamos izdevumos:

1. **Sile, I.**, Reinsone, S., Romane, E., Dambrova, M. 2017. Medicinal Plants in Latvian Folk Beliefs [in Latvian]. *RSU Collection of Scientific Papers.* 233–240.

Uzstāšanās starptautiskā zinātniskajā konferencē ar mutisku referātu vai tēzes:

1. **Sile, I.**, Makarova, E., Makrecka-Kuka, M., Videja, M., Savickiene, N., Dambrova, M. 2019. Comparison of antiinflammatory activities of *Pelargonium sidoides* root extract and isolated proanthocyanidins. *FEBS3+ Conference of Latvian, Lithuanian and Estonian Biochemical Societies*, Riga, Latvia, June 17–19, 2019, Book of Abstracts, P.91.
2. **Sile, I.**, Romane, E., Reinsone, S., Tirzite, D., Dambrova, M. 2019. The use of ethnomedicinal plants in the Latvian-populated territory. *RSU International Conference on Medical and Health Care Sciences: Knowledge for Use in Practice*, Riga, Latvia, April 1–3, 2019. Book of Abstracts, P.397.

3. **Sīle, I.**, Romane, E., Shubin, K., Grinberga, S., Makarova, E., Dambrova, M. 2018. Analysis of traditional medicinal use in Latvia and chemical composition of flower and fruit extracts of bird cherry. *18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology*, Kyoto, Japan, July 1–6, 2018.
4. **Sīle, I.**, Romane, E., Shubin, K., Grinberga, S., Dambrova, M. 2017. Analysis of chemical composition and traditional medicinal use in Latvia of bird cherry flowers *Padus avium*. *2nd International Conference in Pharmacology: from Cellular Processes to Drug Targets (ICP2017RIGA)*, Riga, Latvia, October 19–20, 2017. Book of Abstracts: Intrinsic Activity. 5 (Suppl.1):A2.33, doi:10.25006/IA.5.S2-A2.33.

Uzstāšanās vietējās nozīmes zinātniskajā konferencē ar mutisku referātu vai tēzes:

1. **Sīle, I.**, Romāne, E., Šubins, K., Grīnberga, S., Makarova, E., Dambrova, M. 2018. Parastās ievas drogu ķīmiskā sastāva analīze, antiradikālā aktivitāte un ārstnieciskais pielietojums latviešu tautas ticējumos, *IV Pasaules latviešu zinātnieku kongress*, Sekc. “Medicīna un veselības zinātnes” [Rīga, Latvija, 18.–20. jūnijs, 2018].
2. **Sīle, I.**, Romāne, E., Šubins, K., Grīnberga, S., Makarova, E., Dambrova, M. 2018. Parastās ievas ziedu un augļu ķīmiskā sastāva analīze un drogu izmantošana latviešu tautas ticējumos, *RSU 2018. gada zinātniskā konference*, Sekc. “Darba un vides veselība, arodslimības, farmācija” [Rīga, Latvija, 22.–23. marts, 2018]: Tēzes, 199. lpp.
3. **Sīle, I.**, Reinsone, S., Romāne, E., Dambrova, M. 2017. Ārstniecības augi latviešu tautas ticējumos. *RSU 2017. gada zinātniskā konference*, Sekc. “Darba un vides veselība, arodslimības, farmācija” [Rīga, Latvija, 6.–7. aprīlis, 2017]: Tēzes, 234. lpp.

Literatūras saraksts

1. Adewusi, E. A., Afolayan, A. J., 2009. Antibacterial, antifungal and antioxidant activity of the roots and leaves of *Pelargonium reniforme* Curtis (Geraniaceae). *African J. Biotechnol.* 8, 6425–6433. <https://doi.org/10.5897/ajb09.823>.
2. Ammar, S., Mahjoub, M. A., Abdelkader, H. Ben, Liouane, K., Skandarani, I., Chekirghedira, L., Mighri, Z., 2008. Mutagenic, antimutagenic and antioxidant activities of a new polyphenolic and a flavonoid substances isolated from *Anagallis monelli*. *Nat. Prod. Res.* 22, 658–665. <https://doi.org/10.1080/14786410701669287>.
3. Buttery, J. E., Lim, H. H., de Witt, G. F., 1976. The use of NADH as a standard in a modified PMS-INT colorimetric assay of lactate dehydrogenase. *Clin. Chim. Acta* 73, 109–115. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(76\)90311-9](https://doi.org/10.1016/0009-8981(76)90311-9)
4. Choi, J. H., Cha, D. S., Jeon, H., 2012. Anti-inflammatory and anti-nociceptive properties of *Prunus padus*. *J. Ethnopharmacol.* 144, 379–386. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.09.023>.
5. Ciglis, J., Kikuts, T., Stinkule, S., 2016. Latvian ethnographic exhibition 1896. Neptuns, Rīga.
6. Endale, M., Park, S. C., Kim, S., Kim, S. H., Yang, Y., Cho, J. Y., Rhee, M. H., 2013. Quercetin disrupts tyrosine-phosphorylated phosphatidylinositol 3-kinase and myeloid differentiation factor-88 association, and inhibits MAPK/AP-1 and IKK/NF- κ B-induced inflammatory mediators production in RAW 264.7 cells. *Immunobiology* 218, 1452–1467. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2013.04.019>.
7. Fekri, N., El Amir, D., Owis, A., AbouZid, S., 2019. Studies on essential oil from rose-scented geranium, *Pelargonium graveolens* L'Hérit. (Geraniaceae). *Nat. Prod. Res.* 1–5. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1682581>.
8. Hanhineva, K., Rogachev, I., Kokko, H., Mintz-oron, S., Venger, I., Kärenlampi, S., Aharoni, A., 2008. Non-targeted analysis of spatial metabolite composition in strawberry (*Fragaria x ananassa*) flowers. *Phytochemistry* 69, 2463–2481. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.07.009>.
9. Heinrich, M., Edwards, S., Moerman, D. E., Leonti, M., 2009. Ethnopharmacological field studies: A critical assessment of their conceptual basis and methods. *J. Ethnopharmacol.* 124, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.03.043>.
10. Hwang, D., Kim, H., Shin, H., Jeong, H., Kim, J., Kim, D., 2014. Cosmetic effects of *Prunus padus* bark extract. *Korean J. Chem. Eng.* 31, 2280–2285. <https://doi.org/10.1007/s11814-014-0146-8>.
11. Jekabsone, A., Sile, I., Cochis, A., Makrecka-Kuka, M., Laucaityte, G., Makarova, E., Rimondini, L., Bernotiene, R., Raudone, L., Vedlugaite, E., Baniene, R., Smalinskiene, A., Savickiene, N., Dambrova, M., 2019. Investigation of antibacterial and antiinflammatory activities of proanthocyanidins from *pelargonium sidoides* dc root extract. *Nutrients* 11. <https://doi.org/10.3390/nu11112829>.

12. Kolodziej, H., 2011. Antimicrobial, antiviral and immunomodulatory activity studies of pelargonium sidoides (EPs® 7630) in the context of health promotion. *Pharmaceuticals* 4, 1295–1314. <https://doi.org/10.3390/ph4101295>.
13. Kujawska, M., Klepacki, P., Łuczaj, Ł., 2017. Fischer's Plants in folk beliefs and customs: A previously unknown contribution to the ethnobotany of the Polish-Lithuanian-Belarusian borderland. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 13, 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13002-017-0149-8>.
14. Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., Wang, S., Liu, H., Yin, Y., 2016. Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients* 8, 167. <https://doi.org/10.3390/nu8030167>.
15. Liu, Z., 2008. Preparation of Botanical Samples for Biomedical Research. *Endocrine, Metab. Immune Disord. Targets* 8, 112–121. <https://doi.org/10.2174/187153008784534358>.
16. Łuczaj, Ł., Pieroni, A., Tardío, J., Pardo-De-Santayana, M., Sõukand, R., Svanberg, I., Kalle, R., 2012. Wild food plant use in 21st century Europe: The disappearance of old traditions and the search for new cuisines involving wild edibles. *Acta Soc. Bot. Pol.* 81, 359–370. <https://doi.org/10.5586/asbp.2012.031>.
17. Magiera, A., Marchelak, A., Michel, P., Owczarek, A., Olszewska, M. A., 2019. Lipophilic extracts from leaves, inflorescences and fruits of *Prunus padus* L. as potential sources of corosolic, ursolic and oleanolic acids with anti-inflammatory activity. *Nat. Prod. Res.* 1–6. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1666385>.
18. Marchelak, A., Owczarek, A., Matczak, M., Pawlak, A., Kolodziejczyk-Czepas, J., Nowak, P., Olszewska, M. A., 2017. Bioactivity potential of *Prunus spinosa* L. flower extracts: Phytochemical profiling, cellular safety, pro-inflammatory enzymes inhibition and protective effects against oxidative stress in vitro. *Front. Pharmacol.* 8, 680. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00680>.
19. Maroon, J. C., Bost, J. W., Maroon, A., 2010. Natural anti-inflammatory agents for pain relief. *Surg. Neurol. Int.* 1, 80. <https://doi.org/10.4103/2152-7806.73804>.
20. Martins, C. A. F., Campos, M. L., Irida, A. C., Stremel, D. P., Trindade, A. C. L. B., Pontarolo, R., 2017. Anti-Inflammatory Effect of *Malva sylvestris*, *Sida cordifolia*, and *Pelargonium graveolens* Is Related to Inhibition of Prostanoid Production. *Molecules* 22, 1883. <https://doi.org/10.3390/molecules22111883>.
21. Mihajlovic, L., Radosavljevic, J., Burazer, L., Smiljanic, K., Cirkovic, T., 2015. Composition of polyphenol and polyamide compounds in common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) pollen and sub-pollen particles. *Phytochemistry* 109, 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.10.022>.
22. Mikulic-Petkovsek, M., Stampar, F., Veberic, R., Sircelj, H., 2016. Wild *Prunus* Fruit Species as a Rich Source of Bioactive Compounds. *J. Food Sci.* 81, C1928–C1937. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13398>.

23. Olszewska, M. A., Kwapisz, A., 2011. Metabolite profiling and antioxidant activity of *Prunus padus* L. flowers and leaves. *Nat. Prod. Res.* 25, 1115–1131. <https://doi.org/10.1080/14786410903230359>.
24. Pardo-de-Santayana, M., Quave, C. L., Sõukand, R., Pieroni, A., 2015. Medical Ethnobotany and Ethnopharmacology of Europe. *Ethnopharmacology Chapter 29*, 343–356. <https://doi.org/10.1002/9781118930717.ch29>.
25. Park, S. M., Min, B. G., Jung, J. Y., Jegal, K. H., Lee, C. W., Kim, K. Y., Kim, Y. W., Choi, Y. W., Cho, I. J., Ku, S. K., Kim, S. C., 2018. Combination of *Pelargonium sidoides* and *Coptis chinensis* root inhibits nuclear factor kappa B-mediated inflammatory response in vitro and in vivo. BMC Complement. *Altern. Med.* 18, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2088-x>.
26. Phumthum, M., Srithi, K., Inta, A., Junsongduang, A., Tangjitman, K., Pongamornkul, W., Trisonthi, C., Balslev, H., 2018. Ethnomedicinal plant diversity in Thailand. *J. Ethnopharmacol.* 214, 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.12.003>.
27. Pranskuniene, Z., Dauliute, R., Pranskunas, A., Bernatoniene, J., 2018. Ethnopharmaceutical knowledge in Samogitia region of Lithuania: Where old traditions overlap with modern medicine. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 14, 1–26. <https://doi.org/10.1186/s13002-018-0268-x>.
28. Pranskuniene, Z., Ratkeviciute, K., Simaitiene, Z., Pranskunas, A., Bernatoniene, J., 2019. Ethnobotanical study of cultivated plants in kaišiadorys district, Lithuania: Possible trends for new herbal based medicines. Evidence-based Complement. *Altern. Med.* 2019, 15. <https://doi.org/10.1155/2019/3940397>.
29. Priedītis, N., 2014. *Latvijas Augi* [Plants in Latvia]. SIA Gandrs, Riga [In Latvian].
30. Radulović, N., Dordević, A., Zlatković, B., Palić, R., 2009. GC-MS analyses of flower ether extracts of *Prunus domestica* L. and *Prunus padus* L. (Rosaceae). *Chem. Pap.* 63, 377–384. <https://doi.org/10.2478/s11696-009-0031-9>.
31. Sak, K., Jürisoo, K., Raal, A., 2014. Estonian folk traditional experiences on natural anticancer remedies: From past to the future. *Pharm. Biol.* 52, 855–866. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.871641>.
32. Saraswathi, J., Venkatesh, K., Baburao, N., Hilal, M. H., Rani, A. R., 2011. Phytopharmacological importance of pelargonium species. *J. Med. Plants Res.* 5, 2587–2598.
33. Savickiene, N., Jekabsone, A., Raudone, L., Abdelgeliel, A. S., Cochis, A., Rimondini, L., Makarova, E., Grinberga, S., Pugovics, O., Dambrova, M., Pacauskiene, I. M., Basevičiene, N., Viškelis, P., 2018. Efficacy of proanthocyanidins from *Pelargonium sidoides* root extract in reducing *P. gingivalis* viability while preserving oral commensal *S. salivarius*. *Materials (Basel)*. 11, 1499. <https://doi.org/10.3390/ma11091499>.

35. Shin, E. J., Lee, J. S., Hong, S., Lim, T. G., Byun, S., 2019. Quercetin directly targets JAK2 and PKC δ and prevents UV-induced photoaging in human skin. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 5262. <https://doi.org/10.3390/ijms20215262>.
36. Simirgiotis, M. J., Benites, J., Areche, C., Sepúlveda, B., 2015. Antioxidant Capacities and Analysis of Phenolic Compounds in Three Endemic Nolana Species by HPLC-PDA-ESI-MS. *Molecules* 20, 11490–11507. <https://doi.org/10.3390/molecules200611490>.
37. Sin, B. Y., Kim, H. P., 2005. Inhibition of collagenase by naturally-occurring flavonoids. *Arch. Pharm. Res.* 28, 1152–1155. <https://doi.org/10.1007/BF02972978>.
38. Slimestad, R., Torskangerpoll, K., Nateland, H. S., Johannessenc, T., Giske, N. H., 2005. Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*. *J. Food Compos. Anal.* 18, 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2003.12.003>.
39. Šmits, P., 1940. Latviešu Tautas Ticējumi [Latvian Folk-Beliefs]. *Archives of Latvian Folklore*.
40. Song, C., Xie, C., Zhou, Z., Yu, S., Fang, N., 2012. Antidiabetic Effect of an Active Components Group from *Ilex kudingcha* and Its Chemical Composition. Evidence-Based Complement. *Altern. Med.* 2012, 12. <https://doi.org/10.1155/2012/423690>.
41. Sõukand, R., Hrynevich, Y., Vasilyeva, I., Prakofjewa, J., Vnukovich, Y., Paciupa, J., Hlushko, A., Knureva, Y., Litvinava, Y., Vyskvarka, S., Silivonchik, H., Paulava, A., Kõiva, M., Kalle, R., 2017. Multi-functionality of the few: Current and past uses of wild plants for food and healing in Liubań region, Belarus. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 13, 1–42. <https://doi.org/10.1186/s13002-017-0139-x>.
42. Sõukand, R., Kalle, R., 2011. Change in medical plant use in Estonian ethnomedicine: A historical comparison between 1888 and 1994. *J. Ethnopharmacol.* 135, 251–260. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.02.030>.
43. Sõukand, R., Quave, C. L., Pieroni, A., Pardo-de-Santayana, M., Tardío, J., Kalle, R., Łuczaj, Ł., Svanberg, I., Kolosova, V., Aceituno-Mata, L., Menendez-Baceta, G., Kołodziejska-Degórska, I., Piroznikow, E., Petkevičius, R., Hajdari, A., Mustafa, B., 2013. Plants used for making recreational tea in Europe: A review based on specific research sites. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 9, 58. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-58>.
44. Su, Y. W., Chao, S. H., Lee, M. H., Ou, T. Y., Tsai, Y. C., 2010. Inhibitory Effects of Citronellol and Geraniol on Nitric Oxide and Prostaglandin E2 Production in Macrophages. *Planta Med* 76, 1666–71. <https://doi.org/doi:10.1055/s-0030-1249947>.
45. Surburg, H., Güntert, M., Schwarze, B., 1990. Volatile constituents of european bird cherry flowers (*Padus avium* Mill.). *J. Essent. Oil Res.* 2, 307–316. <https://doi.org/10.1080/10412905.1990.9697889>.
46. Tariq, A., Mussarat, S., Adnan, M., Abd-Allah, E. F., Hashem, A., Alqarawi, A. A., Ullah, R., 2015. Ethnomedicinal Evaluation of Medicinal Plants Used against Gastrointestinal Complaints. *Biomed Res. Int.* 2015, 14. <https://doi.org/10.1155/2015/892947>.

47. Wichtl, M., 2004. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: A Handbook for Practice on a Scientific Basis*, third ed. ed. CRC Press, Stuttgart.
48. Yang, Y., Yu, T., Jang, H. J., Byeon, S. E., Song, S. Y., Lee, B. H., Rhee, M. H., Kim, T. W., Lee, J., Hong, S., Cho, J. Y., 2012. In vitro and in vivo anti-inflammatory activities of Polygonum hydropiper methanol extract. *J. Ethnopharmacol.* 139, 616– 625. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.12.003>.
49. Yang, Z., Dong, F., Baldermann, S., Murata, A., Tu, Y., Asai, T., Watanabe, N., 2012. Isolation and identification of spermidine derivatives in tea (*Camellia sinensis*) flowers and their distribution in floral organs. *J. Sci. Food Agric.* 92, 2128–2132. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5596>.
50. *Российская фармакопея*. Четвертое издание [Russian pharmacopoeia, fourth ed.], 1891. Издание Карла Риккера, Санкт-Петербург [Karl Ricker Publishing House, St. Petersburg].