

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
MEDICINOS AKADEMIJA

Lina Bumblauskienė

**PERILĖS (*PERILLA* L.) RŪŠIŲ
IR VARIETETŲ AUGINIMO,
FITOCHEMINĖS SUDĖTIES IR
BIOLOGINIO POVEIKIO
TYRIMAS**

Daktaro disertacija
Biomedicinos mokslai,
farmacija (09 B)

Kaunas, 2011

Disertacija rengta 2006–2010 metais Lietuvos sveikatos mokslų universitete, Medicinos akademijoje (Kauno medicinos universitete)

Mokslinis vadovas

Prof. habil. dr. Valdimaras Janulis (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Medicinos akademija, biomedicinos mokslai, farmacija – 09 B)

Konsultantas

Doc. dr. (HP) Ona Ragažinskienė (Kauno Vytauto Didžiojo universitetas, biomedicinos mokslai, biologija – 01B)

TURINYS

SANTRUMPOS.....	5
IVADAS	7
1. LITERATŪROS APŽVALGA	12
1.1 <i>Perilla</i> L. klasifikacija, taksonominė įvairovė, paplitimas.....	12
1.2 <i>Perilla</i> L. rūšių ir varietetų morfologiniai požymiai	13
1.3 <i>P. frutescens</i> vaistinė augalinė žaliava ir jos paruošos.....	14
1.4 <i>Perilla</i> L. rūšių ir varietetų biologiškai aktyvūs junginiai, jų biosintezė bei funkcijos	15
1.5 <i>Perilla</i> L. rūšių ir varietetų farmakologinio poveikio tyrimai ir panaudojimas.....	22
1.6 <i>Lamiaceae</i> šeimos augalinių žaliavų antioksidantinio aktyvumo tyrimų apžvalga	26
1.7 Mitochondrijų fiziopatologiniai procesai ir sąveika su fenoliniais junginiais	29
2. TYRIMO OBJEKTAS IR METODAI.....	33
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	45
3.1 <i>Perilla</i> L. rūšių ir varietetų fenologiniai stebėjimai	45
3.2 <i>Perilla</i> L. rūšių ir varietetų augimo ypatumai vegetacijos metu	57
3.3 <i>Perilla</i> L. rūšių ir varietetų vegetatyvinių organų produktyvumo tyrimai	63
3.3.1 <i>P. frutescens</i> ir <i>P. frutescens</i> var. <i>nankinensis laciniata</i> antžeminės dalies produktyvumas.....	63
3.3.2 <i>P. frutescens</i> var. <i>crispa</i> f. <i>viridis</i> ir <i>P. ocymoides</i> var. <i>bicolorlaciniata</i> antžeminės dalies produktyvumas.....	68
3.4 <i>Perilla</i> L. rūšių ir varietetų eterinių aliejų analizė.....	71
3.5 Fenolinių junginių kiekio tyrimai <i>Perilla</i> L. genties augalinėse žaliavose	77
3.5.1 Fenolinių rūgščių sudėties įvairavimas <i>Perilla</i> L. rūšyse ir varietetuose vegetacijos metu.....	78
3.5.2 Flavonų kiekio ir sudėties įvairavimas <i>Perilla</i> L. augalinėse žaliavose	87
3.5.3 Antocianidinų kiekybinė analizė <i>Perilla</i> L. augalinėse žaliavose	101
3.6 <i>Perilla</i> L. rūšių ir varietetų žaliavų ekstraktų antiradikalinės savybės	104
3.6.1 <i>Perilla</i> L. rūšių ir varietetų ekstraktų antiradikalinio aktyvumo palyginimas	106

3.6.2 <i>P. frutescens</i> var. <i>crispa</i> f. <i>viridis</i> ir <i>P. frutescens</i> sausų ekstraktų antiradikalinis aktyvumas	114
3.7 <i>P. frutescens</i> ir <i>P. frutescens</i> var. <i>crispa</i> f. <i>viridis</i> augalų ekstraktų poveikis žiurkės širdies mitochondrijų funkcijoms	116
IŠVADOS	129
BIBLIOGRAFIJOS SĄRAŠAS.....	131
DISERTACIJOS TEMA PASKELBTŲ PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS	156

SANTRUMPOS

ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzthiazolin-6-sulfono rūgštis (angl. <i>2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)</i>)
ADP	Adenozino difosfatas (angl. <i>Adenosine diphosphate</i>)
ALR	α -linoleno rūgštis
ATP	Adenozino trifosfatas (angl. <i>Adenosine triphosphate</i>).
A β 42	Amiloido peptido fragmentas (angl. <i>Amyloid-peptide fragment 1 to 42</i>)
BAG	Bendras asimiliacijos greitis
f.	Forma
cAMP	Ciklinis adenozino monofosfatas
CCCP	Karbonilcianido-m-chlorofenilhidrazonas (angl. <i>Carbonyl cyanide m-chlorophenyl hydrazone</i>)
cGMP	Ciklinis guanozino monofosfatas
ChR	Chlorogeno rūgštis
CoA	Kofermentas A
COX	Ciklooksigenazė
DMD	Diodų matricos detektorius (angl. <i>Diode array detector</i>)
DHA	Dokozaheksaenoinė rūgštis
DMBA	Dimetilbenzilantracenas
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas (angl. <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>).
EPA	Eikozanpentaenoinė rūgštis
ESC	Efektyvioji skysčių chromatografija
FRAP	Geležies redukcijos antioksidantinė galia (angl. <i>Ferric reducing antioxidant power</i>)
GABA	Gama amino sviesto rūgštis (angl. <i>γ-Aminobutyric acid</i>)
H	Kritulių suma
HTK	Hidroterminis koeficientas
I ^T	Temperatūrinis Kovatso indeksas (angl. <i>Temperature programmed Kovats index</i>)
KKK	Mitochondrijų kvėpavimo kontrolės koeficientas
KR	Kavos rūgštis
LOX	Lipoksigenazė
LPS	Lapų ploto santykis
LSF	Lapų svorio frakcija
LTC	Leukotrienai
m/z	Masės/ krūvio santykis (angl. <i>Mass to charge ratio</i>)

MIC	Minimali inhibitorinė koncentracija
MNU	(angl. <i>Methylnirtosourea</i>)
MPT	Nespecifinio pralaidumo pora
MS	Masių spektrometrija
NADH	Nikotinamido adenino dinukleotido redukuota forma
NMR	Branduolio magnetinis rezonansas (angl. <i>Nuclear magnetic resonance</i>)
NOS	Azoto oksido sintazė
PC	<i>Perilla frutescens</i> (L.) var. <i>crispa</i> f. <i>viridis</i>
PCE	<i>Perilla frutescens</i> (L.) var. <i>crispa</i> f. <i>viridis</i> etanolinis ekstraktas
PF	<i>Perilla frutescens</i> (L.) Britton
PFE	<i>Perilla frutescens</i> (L.) Britton etanolinis ekstraktas
PFV	<i>Perilla frutescens</i> (L.) Britton vandeninis ekstraktas
PN	<i>Perilla frutescens</i> (L.) var. <i>nankinensis laciniata</i>
PO	<i>Perilla ocymoides</i> (L.) var. <i>bicolorlaciniata</i>
R	Pirsono koreliacijos koeficientas
R ²	Determinacijos koeficientas
RAS	Rozmarino rūgšties sintazė
RDR	Reaktyviosios deguonies rūšys (angl. <i>Reactive oxygen species</i>)
RR	Rozmarino rūgštis
S/N	Signalų ir bazinės linijos triukšmo santykis (angl. <i>Signal to noise ratio</i>)
SAG	Santykinis augimo greitis
SLP	Specifinis lapų plotas
TEAC	Troloksio ekvivalento antioksidantinė galia (angl. <i>Trolox equivalent antioxidant capacity</i>)
Th	T limfocitai (angl. <i>T helper cell</i>)
TNF- α	Navikų nekrozės faktorius (angl. <i>Tumor necrosis factor-alpha</i>)
TPA	12-O-tetradekanoilforbol-13-acetatas (angl. <i>12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate</i>)
ΣT	Paros vidutinių oro temperatūrų, didesnių už 10°C, suma
Var.	Varietetas

IVADAS

Pasaulio sveikatos apsaugos organizacijos politikos pagrindinė problema – žmogaus sveikatos stiprinimas ir jos išsaugojimas bei ligų profilaktikos taikymas. Dažnai pasitaikančių ligų prevencijai vartojamos vaistinės augalinės žaliavos ir iš jų pagaminti preparatai [58, 99, 328]. Vaistinės augalinės žaliavos poreikis kasmet didėja, o paruošos mažėja, nes nyksta vaistinių augalų natūralios augavietės. Didėja vaistinės augalinės žaliavos kokybės bei biologinės įvairovės išsaugojimo reikalavimai [30].

Auginamų augalų biologiškai aktyvių junginių kiekio bei biologinio poveikio aktyvumo tyrimai yra svarbūs vertinant vaistines augalines žaliavas ir jų panaudojimo perspektyvas. Didelis dėmesys skiriamas įvairių farmakologinių poveikį turinčioms augalinėms žaliavoms [42]. Atsižvelgiant į Pasaulio sveikatos organizacijos ir geros gamybos praktikos reikalavimus, augalinių žaliavų kokybė turi atitikti saugumo, efektyvumo bei stabilumo parametrus [98, 166, 346, 356]. Auginamų augalų vaistinė žaliava yra geresnės kokybės, nes galima atlikti auginamų augalų biologinių savybių tyrimus, standartizuoti auginimo sąlygas, nustatyti optimalų žaliavos paruošų laiką, džiovinimo ir kitas sąlygas. Tiriant svetimšalių augalų biologines savybes, introdukuojant augalus, didinama biologinė įvairovė ir skatinamas nacionalinių genetinių išteklių kaupimas [268, 347].

Farmakologinio poveikio įvairovę pasižyminčios augalinės žaliavos kaupia daug fenolinių junginių. Atlikta daug tyrimų vertinant fenolinių rūgščių, flavonoidų kokybinius ir kiekybinius rodiklius [26, 48, 81, 101, 212, 248], jų poveikio mechanizmus įvairiose modelinėse sistemose [16, 75, 86, 114, 188, 276, 301]. Labai svarbu nustatyti junginių kaupimosi dėsningumus introdukuojamuose augaluose, kadangi biologiškai aktyvių junginių kokybiniai ir kiekybiniai rodikliai lemia vaistinės augalinės žaliavos kokybę [184, 185, 228].

Daugelyje autoimuninių, neurodegeneracinių, vėžinių ligų ir senėjimo procesų patogenezėje dalyvauja oksidacinis stresas [129, 155, 357, 303]. Aktyviosios deguonies formos sukelia baltymų sintezės slopinimą, pakitusį fermentų aktyvumą ir padidėjusį membranų pralaidumą. Reaktyviosios deguonies rūšys sutrikdo ląstelių signalų ir augimo procesus. Jų sukelti ląsteliniai pažeidimai indukuoja mitozę su pažeista DNR, tuo didindami mutacijų riziką [230]. Oksidacinis stresas yra vidinis signalas, nuo kurio priklauso mitochondrijų apoptoziniai keliai [40]. Pirmas žingsnis fenolinių junginių poveikio mitochondrijoms tyrimuose yra kvėpavimo ir oksidacinio fosforilinimo tyrimas [118]. Antioksidantai gali apsaugoti žmogaus organizmą nuo laisvųjų radikalų ir sustabdyti daugelio lėtinių ligų progresavimą

[302]. Augalinių žaliavų tyrimas yra aktualus natūralių antioksidantų paieškoje [143]. Svarbu nustatyti individualius junginius, kurie pasižymi antioksidantiniu aktyvumu ir galėtų būti tiriami *in vivo* sistemose. Antioksidantų identifikavimas suteikia informacijos apie struktūros įtakojamą poveikį ir vartojimo ypatumus [326].

Tirtos *Perilla* L. genties augalų – *P. frutescens*, *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis*, *P. ocymoides* var. *bicolor* *laciniata*, *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* – biologinės savybės, vertintas rūšių ir varietetų produktyvumas, apsprendžiantis aukštos kokybės vaistinę augalinę žaliavą, vartojamą medicinos praktikoje ir maisto pramonėje. *Lamiaceae* Lindl. šeimos *Perilla* L. genties vienmečiai vaistiniai augalai yra augaliniai imunomodulatoriai, pasižymintys daugeliu farmakologinių poveikių [107, 109, 122, 199, 204, 353]. Šios genties augalai tiriami Kinijoje ir kitose Azijos šalyse, Turkijoje, Egipte, Naujojoje Zelandijoje bei Jungtinėse Amerikos valstijose [23, 104, 107, 176, 186, 235, 240]. Lietuvoje tyrimais nustatytos šio augalo anatominės-morfologinės savybės, pagal kurias identifikuojama augalo rūšis ir vaistinė augalinė žaliava [174]. Ištirtos žaliavos imunomoduliuojančios savybės [178, 328], tirtas ekstraktų antioksidantinis aktyvumas [259, 260].

Perilių vaistinė augalinė žaliava ir preparatai vartojami įvairių sveikatos sutrikimų gydymui: apsinuodijus maistu, sutrikus virškinimui, peršalus, esant astminiam kosuliui [107, 144, 189, 349]. Senovės Kinijos medicinos knygose sukaupta informacija ir nauji *P. frutescens* tyrinėjimai paskatino pasaulio susidomėjimą perilės tyrimais ir vartojimo aspektais. Atlikta daug mokslškai pagrįstų eksperimentinių tyrimų, nustatytas *Perilla* L. augalų preparatų antimikrobinis, imunostimuliuojantis, priešalerginis, desensibilizuojantis, priešnavikinis veikimas [20, 134, 144, 199, 336].

Perilla L. genties augalų eterinio aliejaus pagrindinio komponento, apsprendžiančio augalų chemotipą, biogenezę ir sudėtis priklauso nuo augalo geografinės padėties, aplinkos sąlygų, vaistinės augalinės žaliavos ruošimo laiko [286]. Kadangi cheminė eterinio aliejaus sudėtis ir chemotipas apsprendžia augalo kvapą ir farmakologinį efektą [319], labai svarbu nustatyti Lietuvoje introdukuojamų *Perilla* L. genties augalų eterinio aliejaus sudėtį bei chemotipus.

Lietuvos klimatinėmis sąlygomis auginamų *Perilla* L. rūšių ir varietetų vaistinės augalinės žaliavos produktyvumo, fitocheminės sudėties ir biologinio poveikio tyrimai reikalingi, norint efektyviai vykdyti augalinių žaliavų paruošas, kurti preparatus ir maisto papildus.

Darbo tikslas: Ištirti Vidurio Lietuvoje auginamų *Perilla* L. rūšių ir varietetų augimo ir vystymosi dėsningumus, produktyvumą priklausomai nuo meteorologinių veiksnių, biologiškai aktyvių junginių sudėtį ir jų įvairinimą vegetacijos metu bei ekstraktų biologinį poveikį; atrinkti perspek-

tyvius augalus auginimui Lietuvoje ir maisto papildų bei augalinių vaistinių preparatų gamybai.

Uždaviniai:

1. Ištirti ir nustatyti *Perilla* L. augimo dinamiką vegetacijos metu ir įvertinti klimatinių veiksnių įtaką augalų vegetacijai.
2. Įvertinti *Perilla* L. vaistinės augalinės žaliavos kiekio dinamiką vegetacijos metu ir palyginti *Perilla* L. rūšių ir varietetų produktyvumą.
3. Nustatyti *Perilla* L. rūšių ir varietetų eterinio aliejaus kiekį augaluose vegetacijos metu ir identifikuoti augalų chemotipus.
4. Nustatyti *Perilla* L. rūšių ir varietetų fenolinių rūgščių kokybinę sudėtį ir jų kitimo dėsningumus vegetacijos metu.
5. Nustatyti *Perilla* L. rūšių ir varietetų flavonų komplekso sudėtį ir kitimo dinamiką vegetacijos metu.
6. Nustatyti *Perilla* L. rūšių ir varietetų antocianidinų sudėtį bei kitimo dinamiką vegetacijos metu.
7. Įvertinti *Perilla* L. rūšių ir varietetų žaliavų ekstraktų antiradikalinį aktyvumą.
8. Ištirti *Perilla* L. rūšių ir varietetų ekstraktų poveikį žiurkės širdies mitochondrijų oksidaciniam fosforilinimui.

Mokslinio darbo naujumas. Lietuvos klimato sąlygomis pirmą kartą atlikti išsamūs *Perilla* L. rūšių ir varietetų antžeminės dalies prieaugio dinamikos tyrimai vegetacijos tarpsniais. Išanalizuoti antžeminės dalies augimo dėsningumai, apsprendžiantys augalų produktyvumą. Ištirta ir įvertinta vidurio Lietuvos klimatinių sąlygų įtaka augalų augimui ir žaliavos produktyvumui.

Nustatyti Lietuvos klimato sąlygomis augintų *Perilla* L. rūšių ir varietetų chemotipai, apsprendžiantys *Perilla* L. augalinių žaliavų panaudojimą. Nustatyti fenolinių rūgščių, flavonų ir antocianinų kaupimosi dėsningumai augalinėje žaliavoje, paruoštoje vegetacijos tarpsnių metu. Įvertinti klimatiniai ir individualaus augimo veiksniai, kurie įtakoja biologiškai aktyvių junginių kaupimąsi. Išanalizavus mokslinių tyrimų rezultatus, nustatytas optimalus vaistinės augalinės žaliavos rinkimo laikas.

Identifikuoti *Perilla* L. antiradikalinį aktyvumą turintys junginiai (rozmarino rūgštis, liuteolino ir skutelareino glikozidai), atlikti jų palyginamieji antiradikalinio aktyvumo tyrimai ESC-ABTS ir ESC-DPPH modelinėse sistemose.

Bendradarbiaujant su KMU BMTI Biochemijos laboratorijos mokslininkais nustatytas *Perilla* L. ekstraktų biologinis poveikis žiurkės širdies mitochondrijų funkcijai.

Praktinė ir teorinė reikšmė. Atlikus lauko bandymo tyrimus nustatyta, kad ne visi tirti *Perilla* L. rūšys ir varietetai yra tinkami auginimui Lietuvos klimato sąlygomis. Auginant *Perilla* L. augalus plantacijose, svarbu parinkti rūšis ir varietetus, kurie vegetacijos laikotarpiu žydi, subrandina sėklas yra tinkami reprodukcijai. Sudarytas antro laipsnio polinominės regresijos modelis, charakterizuojantis augalų augimą, ir leidžiantis prognozuoti antžeminės augalo dalies organų produktyvumą, jų kitimus vegetacijos tarpsniais. Įvertinta biologiškai aktyvių junginių kiekio pokyčių dinamika sudaranti sąlygas parinkti optimalų žaliavų paruošų laiką ir užtikrinti didžiausią pagėdaujamo biologiškai aktyvaus junginio koncentraciją.

Perilla L. rūšių ir varietetų žaliavų fitocheminės analizės duomenys gali būti panaudojami kuriant preparatus, pasižyminčius specifiniais farmakologiniais poveikiais, kuriuos lemia atskiri biologiškai aktyvūs junginiai. Cheminės sudėties ir antiradikalinio aktyvumo tyrimų rezultatai gali būti panaudojami vertinant vaistinės augalinės žaliavos kokybę. Žinios apie bendrą augalinės žaliavos antioksidantinę talpą, kuri nusako suminį radikalų surišamąjį poveikį, yra reikalingos įvertinant epidemiologinį ryšį tarp augalinių žaliavų suvartojimo ir sergamumo degeneracinėmis ligomis. Apskaičiavus antioksidantinę talpą ir, siejant ją su antioksidantų vartojimu, galima tiksliai įvertinti antioksidantų poveikį oksidacinio streso sukeltamų ligų iniciacijai ir vystymuisi.

Perilla L. rūšių ir varietetų augalinė žaliava vartojama onkologinių, neurodegeneracinių, kardiovaskulinių ligų gydymui, todėl tyrimų su mitochondrijomis, kurios dalyvauja šių ligų patogenezės procesuose, rezultatai yra neabejotinai aktualūs.

Atliktų tyrimų duomenys apibendrina *Perilla* L. augalų auginimo perspektyvas Lietuvoje, žaliavų kokybinius parametrus. Gauti biologinių tyrimų rezultatai ir poveikiu pasižyminčių junginių identifikavimas atveria perspektyvas ateities tyrimams, kurie reikalingi kuriant preparatus ir maisto papildus iš perilių augalinių žaliavų.

Darbo rezultatų aprobavimas:

- Tyrimų rezultatai pristatyti 8 konferencijose – 18th International Student Scientific Conference for Students and Young Doctors (Gdansk, Poland, 22–24 April 2010); Mokslas – žmonių sveikatai (2010 m. balandžio 7 d, Kaunas, Kauno medicinos universitetas); 5th International Conference on Polyphenols Applications “Bridging Bioefficacy to Innovations & Applications (October 29–30 2009,

Malta); International Congress and Annual Meeting of the Society-for-Medicinal-Plant-Research-and-Natural-Product-Research (August 16–20, 2009, Geneva, Switzerland); NoSSS 2009 – 5th Conference on separation and Related Techniques by Nordic separation Science Society (26–29 August, 2009, Tallinn, Estonia); The 3rd Global Summit on Medicinal and Aromatic Plants (November 21–24, 2007 Chiang Mai, Thailand); Lietuvos sveikatos mokslų studentų ir jaunųjų tyrėjų konferencija (Kauno medicinos universitetas, Kaunas, 2006); Žmogaus ir gamtos sauga (Vienuoliktoji respublikinė mokslinė konferencija, Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sodas, 2005).

- Tyrimų tematika paskelbti 6 moksliniai straipsniai.

Darbo apimtis ir struktūra. Disertaciją sudaro įvadas, literatūros apžvalga, tyrimo objektas ir metodai, tyrimų rezultatai ir jų aptarimas, išvados, literatūros sąrašas (360 literatūros šaltinių), disertacijos tema paskelbtų darbų sąrašas. Darbe pateiktos 34 lentelės, 62 paveikslai. Disertacijos apimtis 158 puslapiai.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 *Perilla* L. klasifikacija, taksonominė įvairovė, paplitimas

Perilla L. genties rūšys priklauso *Lamiaceae* Lindl. šeimai, *Nepetoideae* pošeimiui. Įrodyta, kad rozmarino rūgštis yra pošeimio *Nepetoideae* chemotaksonominis markeris [248].

Perilla L. genties augalų nomenklatūra yra sudėtinga. Įvairiuose duomenų bazėse išskiriama apie 20 skirtingų rūšių [127, 222]. Remiantis AFLP (pagausintų fragmentų ilgio polimorfizmo analizė) analize mokslininkai išskyrė keturias perilių rūšis: tetraploidinė *P. frutescens* (L.) Britton (krūminė perilė), bei trys diploidinės rūšys – *P. hirtella* Nakai, *P. seytoensis* G.Honda ir *P. citriodora* Nakai [233]. Natūraliai augančių *Perilla* L. rūšys yra diploidai. Kultūroje auginamos *Perilla* L. rūšys yra alotetraploidai [186], kurios susiformavo, susikryžminus diploidinėms rūšims su tetraploidine *P. frutescens*. Susidarė amfiploidinis hibridas [133]. *P. frutescens* vieno diploido genomo donoras yra *P. citriodora*, kito diploido donorinis protėvis dar nežinomas. *Perilla* L. rūšių varietetai turi vienodą chromosomų skaičių $2n=40$ [187, 235]. Visos kitos rūšys ir varietetai (pvz. *P. arguta* Benth, *P. albiflora* Odash, *P. ocimoides* L.) priskiriami *P. frutescens* rūšiai [222]. Daugelyje mokslinių straipsnių kaip atskiros rūšys minimos *P. ocymoides*, *P. nankinensis*, *P. crispa*, [36, 107] todėl klasifikuojant šios genties augalus naudojamosi įvairiais požymiais: lapų morfologija ir spalva, sėklų dydžiu ir spalva. Dažniausiai skiriamos dvi *Perilla* L. formos – žalius ir raudonus lapus turintys augalai [92, 149, 285].

Pastaruoju metu atliekama vis daugiau tyrimų vertinant *Perilla* L. genties genetinę įvairovę, rūšių paplitimą, genų, lemiančių antocianinų gamybą veiklą [146, 186, 233, 234, 307]. Visi šie tyrimai svarbūs rūšies identifikavimui ir *Perilla* L. genties nomenklatūrai.

Perilla L. genties augalų protėviai nežinomi, manoma, kad *Perilla* L. gentis yra kilusi Kinijoje. Kinijoje randama didžiausia *Perilla* L. rūšių įvairovė. Seniausi duomenys apie šių augalų auginimą ir vartojimą aptikti V-VI a. Kinijoje, veikale „*Ch‘i-min-yao-shu*“, kuriame aprašyti du perilės porūšiai [187, 235].

Perilla L. rūšys plačiausiai paplitusios Indijos Himalajų regione, Nepale, Kinijoje, Korėjoje, Japonijoje, Taivane [235]. Pietų Azijoje augimvietės plačiai paplitusios Kašmyre, Butane, Mianmare [107, 233]. *P. frutescens* var. *frutescens* dažnesnis Vakarų ir Šiaurės Kinijos regionuose, Šiaurės Rytų Kinijoje [107, 235]. Vietname, Japonijoje, Pietryčių Korėjoje vyrauja *P. frutescens* var. *crispa* [235].

Azijos imigrantai *P. frutescens* atvežė į JAV 1800 metais. Ji greitai paplito ir tapo įprastiniu laukų ir pakelių augalu Pietryčių ir Vakarų JAV saulėtose pievose, pakelėse, apleistuose laukuose, miškinguose regionuose ir ganyklose [33, 34, 165]. A. A. Dönmez [62] nurodė, kad *P. frutescens* randama Irane, Kaukaze. Botaninės ekspedicijos metu Turkijoje buvo aptikta *P. frutescens* var. *frutescens*. *P. frutescens* auginama Ukrainoje, introdukuota Pietryčių Europoje, Suomijoje [107], 1998 m. – Egipte [240], 1995 metais jos auginimo bandymai atlikti Naujojoje Zelandijoje [104]. Lietuvoje Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sodo vaistinių augalų kolekcijose ir bandymo plote nuo 1998 m. vykdoma *P. frutescens* introdukcija. Tai naujas introdukuojamas vaistinis, prieskoninis ir dekoratyvinis augalas [268], kuris augdamas Lietuvoje, žydi ir brandina sėklas [267].

1.2 *Perilla* L. rūšių ir varietetų morfologiniai požymiai

Japonų mokslininkai remdamiesi augalo skleidžiamu kvapu, sėklų dydžiu, lapų spalva bei raukšlėtumu *P. frutescens* rūšyje išskiria du pagrindinius varietetus – var. *frutescens* ir var. *crispa*. Var. *crispa* – turi raukšlėtus, karpytus lapus. Šis varietetas būna dviejų formų (žalius ir raudonus lapus turintys augalai). Kitas varietetas var. *frutescens* yra dažniausia būna f. *viridis* [217, 240]. *P. frutescens* var. *frutescens* augalai yra aukštesni už var. *crispa*, turi didesnes sėklas, žalius stiebus, žalius neraukšlėtus lapus ir specifinį būdingą kvapą. Šių augalų sėklos naudojamos aliejui gauti. *P. frutescens* var. *crispa* varietetų augalai yra žemesni, su mažesnėmis sėklomis. Jų lapai yra žali arba raudoni ir raukšlėti.

Stiebai yra statūs, žoliniai, keturbriauniai, šakoti, [62, 268] plaukuoti, turi vieną vertikalų kanalą kiekvienoje stiebo pusėje, išauga iki 1 m aukščio [262]. Šaknys – šakotinės, tvirtos ir tampusios [107]. Lapai – priešiniai, kampuoti, kotuoti. Koteliai iki 5 cm ilgio plaukuoti su negiliu grioveliu viršutinėje dalyje. Lapo lakštas kiaušiniškas, dantytas, smailiaviršūnis, raukšlėtas. Viršutinis lapo paviršius lygus, apatinis – ties gyslomis plaukuotas, su liaukutėmis, iškilusiomis gyslomis. Lapo epidermio ląstelės smarkiai banguotomis sienelėmis. Žiotelinis aparatas diacitinio tipo [174]. Lapai rudenį nukrenta [62, 210, 268].

Žiedynas – raceminis pažastinis [62, 107]. Žiedyno ilgis iki 15 cm [268]. Ašis – plaukuota, gaureliai – purpuriniai. Žiedai – smulkūs, vamzdiški, gausūs, dvilyčiai, susitelkę poromis viršutinių lapų pažastyse, zigomorfiniai [268]. Apsuptos pažiedės – 3 – 5 mm ilgio lygios su plaukuotais pakraščiais [33, 34]. Taurelė – 3 mm ilgio, tiesi, pagrindas plaukuotas su geltonomis liaukutėmis [62]. Vainikėlis – rožinis, dvilypis, 4 mm ilgio, plaukuotas.

Kuokeliai – keturi, suaugę vainikėlio viduryje, besikaitaliojantys su vainikėlio skiltimis, šiek tiek išsikišantys. Kuokelių koteliai – balti, ties viršūne – rausvi, cilindriški, lygūs 2 mm ilgio. Prie kuokelių pagrindo yra ilgų plaukelių [62]. Dulkinės – rausvos, dviskiltės. Piestelės liemenėlis, esantis po vainikėlio apatine lūpa, yra baltas, o ties viršūne – violetinis, cilindriškas. Mezginė – keturlizdė, 1 mm pločio, apsupta nektarine [210]. Vaisiai – smulkūs, sausi pilkai rudi riešutėliai, bręsta nuo liepos iki spalio mėnesio. Jie yra ovalios ar sferinės formos, 0,6–2 mm skersmens, pilkai rudos ar juodai rudos spalvos, specifiniu tinkliniu paviršiumi [107, 349] turi silpnai aštrų skonį [107]. *Perilla* L. genties rūšių ir varietetų augalai tarpusavyje skiriasi morfologiniais požymiais – pietryčių Azijos medicinoje naudojama augalinė žaliava (lapai, žolė, vaisiai) priklauso nuo auginamo augalo varieteto [33, 107].

1.3 *P. frutescens* vaistinė augalinė žaliava ir jos paruošos

P. frutescens vaistinė žaliava aprašyta kinų ir japonų farmakopėjose [107, 326]. Vaistinę žaliavą sudaro augalo lapai (*Perillae folium*) ir vaisiai (*Perillae fructus*) [268, 326]. Lapai skinami ir žaliavai ruošiami žydėjimo tarpsnyje, vasaros mėnesiais, kai augalas išauga iki 30 cm aukščio. Lapai renkami kas trečią dieną ir dažniau, ypač jei augalai auga labai greitai. Vasarą, kai augalai pasiekia 40 cm aukštį, nukerpamos 10 cm ilgio stiebų viršūnės. Žaliava ruošinama iki rudens, kol augalai ima žydėti [79].

Vaisiai renkami rugsėjo pabaigoje, spalio pradžioje [268]. Kai didžioji dalis sėklų subręsta, augalai nupjaunami, surišami į ryšulėlius ir džiovinami, po to sėklos nukuliamos. Nupjautą žolę su sėklomis džiovinti galima ir paskleidžiant plonu sluoksniu, gerai vėdinamoje patalpoje, apsaugotoje nuo tiesioginių saulės spindulių, arba džiovykloje 25–30°C temperatūroje. Išskulti vaisiai valomi ir džiovinami. Paruošta žaliava pakuojama ir laikoma sausoje, gerai vėdinamoje patalpoje, apsaugotoje nuo kenkėjų [268].

P. frutescens yra vienmetis augalas, dauginamas sėklomis. Optimali sėklų dygimo temperatūra 22–20°C [79]. Var. *frutescens* auginama laukuose tiesiogiai sėjant sėklas arba persodinant sodinukus. Nepale, Kinijos Junano provincijoje, pietinėse Japonijos dalyse var. *frutescens* auginama persodinant spontaniškai išaugusius sodinukus. Var. *crispa* dažniausiai auginama iš spontaniškai išaugusių sodinukų, nors kai kuriose Japonijos dalyse sėjama sėklomis [187, 235]. Norint, kad augalų aukštis išaugtų iki 60 cm aukščio, sėklos turėtų būti sėjamos 30 dienų prieš žydėjimą [34]. Ilgos naktys skatina *Perilla* L. žydėjimą. Augalai tampa fotosensityvūs ketvirtos lapelių poros stadijoje. Prasidėjus ilgoms naktims po 18 – 20 dienų augalai pražysta.

Praėjus 30 ilgų naktų, augalai žydi iki vegetacijos pabaigos, nepriklausomai nuo dienos ilgio [34, 107]. Minimalus vegetacijos ciklas 77 dienos. Sėklos pasiekia brandą praėjus 6 savaitėms nuo žydėjimo pradžios [33].

Sėklų gyvybingumas ribotas, 20–25°C temperatūroje sėklos praranda gyvybingumą greičiau nei per metus. Sumažinus temperatūrą ar drėgmę, sėklų gyvybingumas pailgėja [223]. *Perilla* L. genties augalų augimui reikalingos tolygaus klimato zonos, netinka regionai, kuriuose pasitaiko nesezoninės šalnos. Šilta temperatūra, ilga dienos trukmė ir pakankamas drėgmės kiekis reikalingi vegetatyviam augimui, o trumpos dienos – žydėjimui. Optimalus dirvožemis – smėlingas ir drėgnas.

1.4 *Perilla* L. rūšių ir varietetų biologiškai aktyvūs junginiai, jų biosintezė bei funkcijos

Perilla L. genties augaluose nustatyti įvairios prigimties biologiškai aktyvūs junginiai [13, 26, 81, 133, 197]. Viena svarbiausių biologiškai aktyvių junginių grupių yra fenoliniai junginiai, kurie sintezuojami augalui reaguojant į įvairius biotinius ir abiotinius poveikius [9]. Pastaraisiais metais atliekama vis daugiau mokslinių tyrimų įrodančių antioksidacines šių junginių savybes [143, 169]. Daugėja publikacijų pagrindžiančių fenolinių junginių perspektyvas įvairių lėtinių ligų gydymui ir prevencijai [7, 88, 299, 341].

Fenolinės rūgštys. *Perilla* L. rūšių ir varietetų lapuose nustatytas didelis kiekis fenolinių junginių ir cinamatų [51, 128]. Tipiški junginiai – rozmarino rūgštis, kavos rūgštis ir penki jos esteriai, ferulo rūgštis, pirokatechino aldehidas [134, 228, 252, 285]. Rozmarino rūgšties biosintezė prasideda nuo aromatinių amino rūgščių L-fenilalanino ir L-tirozino, kurios transformuojamos į tarpinį prekursorių 4-kumaril-CoA ir 4-hidroksifenilacto rūgštį. Tarpiniai prekursoriai formuojami į esterį, o reakciją katalizuoja RAS (4-kumaril-CoA:4'-hidroksifenilacto rūgšties 4-kumariltransferazė). Hidroksilo grupės C₃ ir C_{3'} padėtyse prijungiamos nuo citochromo P₄₅₀ priklausomos monooksigenazės katalizuojamos reakcijos metu. Chlorogeno rūgšties biosintezė taip pat vyksta fenilpropanoidiniu keliu. 4-kumaril-CoA yra hidroksicinamoil donoras esterifikacijos reakcijai su chino ir šikimo rūgštimis [252, 253].

Rozmarino rūgštis pasižymi antioksidantiniu, priešuždegiminiu, antitumageniniu, antibakteriniu poveikiais [253]. Rozmarino rūgštis pasižymi antiviruseriniu poveikiu prieš *Herpes simplex*. Pagrindiniai rozmarino rūgšties poveikiai siejami su antioksidaciniu mechanizmu [121]. Rozmarino rūgštis turi 5-lipooksigenazę slopinantį aktyvumą ir priešuždegiminį poveikį.

Eksperimentinių tyrimų su žiurkėmis metu nustatyta, kad rozmarino rūgštis metabolizuojasi iki 6-fenilpropanoidų darinių [225]. Priešuždegiminis poveikis remiasi COX ir LOX aktyvumo slopinimu ir komplemento kaskados sutrikdymu [253]. Eksperimentų metu, atsižvelgiant į kreatino fosfokinazės, kepenų ir inkstų funkcijų testus nustatyta, kad saugi rozmarino rūgšties dienos dozė yra 200 mg vartojant 21 dieną [128]. Atlikus farmakokinetinį tyrimą su žmonėmis, nustatyta, kad po vienkartinio *P. frutescens* ekstrakto, turinčio 200 mg rozmarino rūgšties suvartojimo, plazmoje pasiekama $1,15 \times 10^{-6}$ M rozmarino rūgšties koncentracija [15].

Rozmarino rūgštis turi neuroprotekcinį poveikį, apsaugodama nuo Aβ42 indukuoto neurotoksiškumo slopindama RDR generaciją, lipidų peroksidaciją ir *tau* baltymo hiperfosforilinimą. Statistiškai reikšmingas poveikis prasideda nuo 10^{-7} M koncentracijos (0,036 µg/ml), kuri pasiekia terapinėmis koncentracijomis vartojant rozmarino rūgšties turinčius augalinius preparatus [135]. Rozmarino rūgštis slopina kaspazės-3 aktyvaciją ir DNR fragmentaciją, tuo paveikdamas Aβ indukuotą apoptozę [135]. Rozmarino rūgštis slopina 6-hidroksidopamino indukuotą mitochondrijų membranos potencialo sumažėjimą ir RDR formavimąsi. Rozmarino rūgšties poveikiai išreiškiami intraląstelinuose mechanizmuose [242, 275]. Rozmarino rūgštis slopina mezangiomo ląstelių proliferaciją reguliuodama DNR sintezę ankstyvojo ir vėlyvojo signalo perdavimo metu. Eksperimentinio tyrimo metu nustatyta, kad rozmarino rūgštis slopina glomerulo ląstelių proliferaciją ir infiltraciją žiurkėmis su thy-1 nefritu [61, 335].

Flavonoidai. *Perilla* L. rūšių ir varietetų lapuose nustatyti antocianinai, flavonai ir flavonų glikozidai [107, 349]. Flavonoidai augaluose aptinkami lapų epidermyje, vaisių odelėje [105, 230]. Cukrinė dalis ir hidroksilo grupės padidina flavonoidų tirpumą vandenyje, tuo tarpu metilo arba izoprenilo grupės suteikia flavonoidams lipofilinių savybių [52]. Flavonoliai yra labiausiai paplitusi flavonoidų grupė. Mircetinas, kvercetinas ir kemferolis yra dažniausiai sutinkami O-glikozidų pavidale. Flavonai (liuteolinas, apigeninas, skutelareinas) dažniausiai sutinkami 7-O-glikozidų pavidale [9, 52].

Flavonoidų biosintezė pagrįsta šikimato, fenilpropanoidiniu ir flavonoidų biosintezės keliais. Fenilalanino amonialiazė katalizuoja L-fenilalanino virsmą į cinamono rūgštį, kuri cinamato 4-hidroksilazės yra paverčiama *p*-kumaro rūgštimi. *p*-kumaro rūgštis hidroksilinama ir metilinama iki kavos, ferulo, 5-hidroksiferulo rūgščių. Trijų anglies atomų tiltelis ir aromatinis B žiedas sintetinamas iš *p*-kumaril-CoA. A žiedo šeši anglies atomai kondensuojasi iš trijų acetato vienetų per malono rūgšties biosintetinį kelią. Šios dalys sujungiamos *p*-kumaril-CoA ir trijų malonil-CoA kondensacijos reakcijos metu, kurią katalizuoja chalkono sintazė. Tolesnis biosintezės etapas – chalkono izomerazės katalizuojama reakcija, kurios metu gaunamas

pagrindinis tarpinis flavonoidų biosintezės junginys naringeninas, iš kurio ir vykdoma tolesnė izoflavonų, flavanonų, flavonų, flavonolių, flavan-3-olių ir antocianinų biosintezė [52, 168].

Flavonoidai pasižymi priešvėžiniu, antimikrobiniu, antivirusiniu, prieš-ūždegiminiu, imunomoduliaciniu ir antitromboziniu aktyvumu [168, 226, 230]. Flavonoidai gali reguliuoti uždegiminius procesus putliosiose ląstelėse, makrofaguose, neutrofiluose ir limfocituose [288, 306]. Flavonoidai slopina histamino išsiskyrimą iš putliųjų ląstelių, slopina T ląstelių proliferaciją, moduliuoja arachidono rūgštį metabolizuojančių fermentų fosfolipazės A₂, ciklooksigenazės (COX) ir lipooksigenazės (LOX), veiklą, azoto oksidą (NO) produkuojančio fermento veiklą ir azoto oksido sintazę (NOS). Fermentų aktyvumo slopinimas sumažina uždegimą lemiančių mediatorių arachidono rūgšties, prostaglandinų, leukotrienų ir NO kiekį.

Flavonoidai slopina COX/LOX aktyvumą. Išanalizavus flavonoidų struktūros ir aktyvumo ryšį nustatyta, kad flavono dariniai, pvz. apigeninas, yra stipresni COX inhibitoriai, o flavonolių dariniai, pvz. kvercetas, labiau slopina LOX aktyvumą. Kvercetas ir kai kurie prenilinti flavonoidai vidutiniškai silpnina COX-2 aktyvumą, bet turi mažą selektyvumą COX-1 fermentui. Iki šiol nėra nustatytas selektyvus COX-2 slopinantis flavonoidas, išskyrus *Scutellaria* L. rūšyse randamą vogoniną selektyvesnį COX-2 fermentui. 15-LOX, 5-LOX ir 12-LOX fermentai dalyvauja uždegiminėse/alerginėse reakcijose. Flavonoliai yra aktyvūs 5-LOX inhibitoriai, mažiau veikia 12-LOX ir yra aktyvesni nei flavonai. Flavanonai neveikia 5-LOX ir 12-LOX, tuo įrodydami C₂-C₃ dvigubos jungties svarbą poveikiui [294].

Literatūroje aprašytas flavonoidų poveikis eNOS, iNOS ir nNOS fermentų aktyvumui. Nustatyta, kad tik kvercetas didelėmis koncentracijomis (IC₅₀=22μM) slopina eNOS aktyvumą. Apigeninas ir kvercetas slopina NO produkciją lipopolisacharidu aktyvuotuose astrocituose. Flavonai stipriau inhibuoja NO produkciją nei flavonoliai. Nustatyta, kad C₂-C₃ dviguba jungtis yra būtina NO inhibicijai, hidroksilo pakaitai A ir B žieduose taip pat įtakoja šį poveikį. A žiedo hidroksilo grupių išsidėstymas C₅, C₇ ir B žiedo C₃, C₄ padėtyse poveikį stiprina.

Flavonoidai slopina su uždegimu susijusių baltymų ir fermentų ekspresiją, slopindami transkripcijos faktorių NF-κB ir AP-1 aktyvumą [168, 226, 230, 254]. Flavonoidai slopina aldozės reduktazę, ksantino oksidazę, fosfodiesterazę, Ca²⁺ ATPazę. Liuteolinas ir kvercetas slopina 5'-nukleotidazės aktyvumą, slopina intraląstelinio kalcio kiekio padidėjimą mažindami fosfolipazės C aktyvumą. Apigeninas slopina fosfodiesterazės aktyvumą, kuris labiau išreikštas cAMP fosfodiesterazei nei cGMP fosfodiesterazei [226].

Antivirusinis flavonoidų aktyvumas būdingas aglikonams, o C₃ padėties hidroksilinimas yra būtina sąlyga antivirusiniam aktyvumui. Nustatyta, kad flavonoliai aktyviau už flavonus veikia *Herpes simplex* viruso 1 tipą. Neseniai nustatytas augalinė flavonoidų polimerinė molekulė, kuri veikia *Herpes simplex* 1 ir 2 tipo virusus [117, 230, 323]. Atlikti eksperimentiniai tyrimai su flavonoidais vertinant jų ŽIV-1 ir ŽIV-2 slopinimo aktyvumą [338].

Mokslinės studijos teigia, kad flavonoidai turi antiulcerogeninį poveikį. Flavonoidų glikozidai išskirti iš *Ocimum basilicum* L. mažino skrandžio rūgšties ir pepsino sekreciją tyrimuose su žiurkėmis, kurioms acetilsalicilo rūgštimi buvo sukelta opa. Kvercetas, rutinas ir kemferolis priklausomai nuo dozės slopina parūgštinto etanolio sukeltus skrandžio pažeidimus žiurkėms [323].

Flavonoidai pasižymi antidiabetiniu poveikiu. Kvercetas skatina kasos salelių regeneraciją, stimuliuoja insulino išsiskyrimą [47, 50, 141, 254, 292, 323].

Flavonoidų antioksidacinis aktyvumas priklauso nuo struktūros. *Ortho*-dihidroksi grupė žiede suteikia dideles radikalų surišimo galimybes. Hidroksilo grupės B žiede dar labiau padidina radikalų surišamąjį aktyvumą. C₂-C₃ dviguba jungtis C žiede padidina surišamąją gebą, nes susidariusiam fenoksi radikalui suteikia stabilumo. C žiedo C₃, C₅, C₇ padėtyse hidroksilo grupės tam tikrais atvejais taip pat padidina radikalų surišimo potencialą [47, 50, 141, 254, 292, 323].

Perilla L. rūšyse nustatyti apigenino, liuteolino ir skutelareino dariniai [26, 36, 107, 130, 212, 336]. Šių flavonų glikozidai yra 7 padėtyje yra glikozilinti (-7-O-gliukuronidai, -7-O-digliukuronidai, -7-O-kafeoilgliukozidai ir -7-O-gliukozidai) [107, 212].

Elektrofiziologinių eksperimentų metu nustatyta, kad apigeninas mažina GABA aktyvuotų chloro jonų tekėjimą kanalu, apigeninas pasižymi anti-depresiniu efektu, kuris susijęs su dopaminerginiais mechanizmais [224].

Liuteolinas slopina NO produkciją, RDR generaciją, TNF- α indukuotą ICAM-1 ekspresiją, slopina metalopeptidazes. Perilių ekstraktas ir liuteolinas eksperimente su pelėmis slopina TPA indukuotą ausytės edemą ir IL-6, IFN- γ , TNF- α produkciją [169, 334]. Liuteolinas trikdo ląstelės ciklą G1 fazėje žmogaus skrandžio vėžinėse ląstelėse, neturi citotoksinio poveikio periferinio kraujo mononuklearinėms ląstelėms. Liuteolinas sukelia apoptozę reguliuodamas mirties receptoriaus 5 ekspresiją, kuri yra padidėjusi vėžinėse ląstelėse [218].

Skutelareinas slopina tinklainės endotelinių ląstelių proliferaciją [87], pasižymi antioksidaciniu aktyvumu. Eksperimentinių tyrimų metu nustatyta, kad skutelareinas slopina NO produkciją, kuri padidėja vandenilio peroksido pažeidus neuronus [152]. Tiriant flavonoidų poveikį CNS nustatyta,

kad skutelareinas veikia GABA receptorius [322]. Skutelarino turinčios žaliavos Kinijoje naudojamos kardiovaskulinėms ligoms gydyti. Nustatyta, kad skutelarinas poveikį išreiškia per kalcio medijuojamus signalo perdavimo kelius [244].

Antocianinai yra didžiausia flavonoidų grupė. Antocianinų dariniai dažniausiai nustatomi lapuose ir vaisiuose [190, 310]. Genai, dalyvaujantys antocianinų biosintezėje skirstomi į dvi grupes. Pirmajai grupei priklauso struktūriniai genai, kurie koduoja fermentus, dalyvaujančius antocianinų sintezės biocheminėse reakcijose. Antrajai grupei priklauso MYC ir MYB genai koduojantys baltymus, kurie reguliuoja struktūrinių genų ekspresiją ir kontroliuoja pigmentų susikaupimą [93].

1935 metais pirmą kartą iš *P. frutescens* raudonlapės formos Kuroda išskyrė pigmentą ir pavadino jį šizoninu [176]. 1989 metais iš *P. ocimoides* išskirtas malonilintas šizonino darinys – malonilšizoninas (3-O-(6-O-(E)-p-kumaril-β-D-gliukopiranozil)-5-O-(6-O-malonil-β-D-gliukopiranozil)-cianidinas [130, 176]. *Perilla* L. rūšyse nustatyti antocianinai – acikliniai cianidino, malonil šizonino ir šizonino (cianidino 3-p-kumarilgliukozido-5-gliukozidas) esteriai su cinamono rūgštimi [92, 140, 146, 176, 182, 280, 343].

Antocianinai sintetinami dviem stadijomis. Pirmosios stadijos metu susiformuoja antocianidin-2-O-gliukozidai, kurie yra stabilūs, spalvoti pirminiai antocianinų biosintezės metabolitai. Antroje stadijoje vyksta pirminių metabolitų glikozilinimas, acilinimas, metilinimas, apsprendžiantis spalvų įvairovę [203]. -5-O-pozicijos glikozilinimas stabilizuoja kompleksą kopigmentacijai [283]. Biosintezės metu susidarę antocianinai lokalizuojasi citozolyje ir endoplazminio tinklo membranoje, jie turi būti transportuojami į vakuoles. Šiam procesui antocianinai turi būti stabilizuoti ir apsaugoti nuo suirimo.

Augalinės ląstelės vakuolės pH apytiksliai lygi 5,5. Esant tokiam pH, apie 90 proc. bendro antocianinų kiekio ląstelėje turėtų egzistuoti bespalvėje karabinolio pseudobazės formoje, kiti – kvinoidalinėje bazės formoje. Vis dėlto antocianinai dažniausiai *in situ* turi raudoną spalvą ir labai retai būna natūraliose bespalvėse pseudobazėse. Taip yra dėl įvairių stabilizacijos mechanizmų, kurie suteikia stabilią tretinę struktūrą [82, 149, 307, 310]. Tuo tikslu vykdomas antocianinų acilinimas ir malonilininimas [308]. Svarbus faktorius spalvos stabilizavimui – C₃ pozicijoje prijungtos laisvos malonilo grupės. Malono rūgšties grupė išlaiko spalvą didindama ląstelės vakuolės terpės rūgštingumą [82, 101].

Antocianinai mažina oksidacinio streso sukeltus pažeidimus, mažina vėžinių ląstelių proliferaciją ir slopina auglių formavimąsi per ciklooksigenazės ir antioksidantinius mechanizmus [190].

Literatūros duomenys patvirtina fenolinių junginių svarbą sveikatai. Neaptikta pakankamai literatūros šaltinių įvertinančių ryšį tarp fenolinio junginio bioaktyvumo ir antioksidantinių savybių. Fenoliniai antioksidantai turi antioksidantinių ir prooksidantinių savybių, kurios priklausomai nuo sąlygų gali sukelti ir oksidacinius pažeidimus. Todėl yra aktualu identifikuoti antioksidantiniu poveikiu pasižyminčius junginius ir įvertinti jų aktyvumą [55].

Perilla L. rūšių ir varietų eterinio aliejaus sudėtis. Atlikus *Perilla L.* rūšių tyrimus nustatyta, kad eterinio aliejaus cheminė sudėtis yra savita chemotipui [107, 235, 240]. Pagrindinio eterinio aliejaus komponento, reglamentuojančio augalų chemotipą, biogenezė ir sudėtis priklauso nuo augalo geografinės padėties, aplinkos sąlygų, vaistinės augalinės žaliavos ruošimo laiko [286]. Cheminė eterinio aliejaus sudėtis ir chemotipas apsprendžia augalo kvapą ir farmakologinį efektą [187, 319].

Perilaldehido chemotipo augalai daugiausia sukaupia perilaldehido, mažesnius kiekius – limoneno, linalolio, β -kariofileno, l-mentolio, α -pineno, perileno [349]. Perilaldehidas pasižymi antimikrobiniu aktyvumu ir priešgrybeliniu aktyvumu [124]. Tyrimuose su gyvūnais įrodytas perilalkoholio chemoterapinis poveikis kasos, krūties ir kepenų vėžiui [353]. Perilalkoholis turi poveikį plazmos IL-2 kiekiui, todėl turi chemoterapinį poveikį T ląstelių leukemijų, limfomų ir Hodgkin'ų ligų susijusių su padidėjusiais plazmos IL-2 kiekiais gydymui. Pirmos fazės klinikiniai tyrimai neįrodė žymių terapinių efektų žmonėms. Atliekami antros fazės klinikiniai tyrimai įvertinant perilalkoholio metabolitų skilimo pusperiodį [25, 120, 195, 198, 215].

Limonenas pasižymi priešnavikiniu poveikiu. Perilalkoholis penkis kartus aktyvesnis už limononą. Terpenų priešnavikinio poveikio mechanizmas siejamas su ląstelės ciklo sutrikdymu bei apoptozės indukcija [279].

Perilaketono chemotipo pagrindiniai komponentai – perilaketonas, izoegomaketonas, perilenas, egomaketonas. Nustatyta, kad perilaketono turintys ekstraktai veikia peristaltiką stimuliuodami žarnos žiedinių raumenų veiklą [107]. Eksperimentuose su pelėmis įrodytas šio junginio toksiškumas. Vartojant įprastines perilių preparatų dozes perilaketono kiekis yra nedidelis ir toksikologiškai nereikšmingas, tačiau toksinės dozės žmonėms nenustatytos. Chang Hyun Jin ir kiti [156] nustatė, kad izoegomaketonas pasižymi priešūždegiminiu poveikiu slopindamas lipopolisacharido indukuotą azoto oksido (NO) produkciją.

Kiti *Perilla L.* rūšių ir varietų chemotipai (elsholzia ketono tipas, perileno tipas, fenilpropanoidinis tipas (savo sudėtyje neturi monoterpenoidų, bet sintezuoja fenilpropanoidus: miristiciną, dilapiolį, elemiciną) citralio tipas) mažiau tyrinėti. [132, 217, 232]. Rozefurano turintis chemotipas panaudojamas kaip pigesnis pakaitalas rožių aliejaus gamyboje [217].

Taivane atlikta natūraliose augimvietėse augančių *Perilla* L. eterinio aliejaus analizė ir nustatyti pagrindiniai komponentai limonenas (23,5 proc.) bei elemicinas (17,8 proc.) [107]. Kalifornijoje auginamų *P. frutescens* eteriniame aliejuje vyrauja perialdehidas [33]. Turkijoje augančiuose *Perilla* L. rūšyse vyrauja perilaketonas ir izoegamaketonas [23]. Egipte introdukuotos *P. frutescens* priskiriamos perialdehido chemotipui [240]. Bangladeše augintos *P. frutescens* priklauso rozefurano chemotipui, nes jos pagrindinis junginys – rozefuranas (58 proc.) [217].

Perilla L. rūšių ir varietetų eterinis aliejus pasižymi antibakteriniu, fungicidiniu poveikiais, kuriuos lemia perilaldehidas, limonenas, β -kariofilenas [123, 125, 126]. *Perilla* L. eterinis aliejus gali sukelti kontaktinį dermatitą [159]. Literatūroje rasta duomenų, kad azaronas priklauso neurotoksinams, perilaldehidas, eukaliptolis ir linalolis yra alergenai [96]. Tradicinėje kinų medicinoje fenilpropanoidus kaupiantis chemotipas nėra naudojamas [107]. Perilaketono toksinės dozės nenustatytos, todėl nerekomenduojama vartoti perilaketoną kaupiančias *Perilla* L. žaliavas [221].

***Perilla* L. genties augalų riebalinis aliejus.** Aliejus yra gaunamas iš sėklų, skaidrus geltonos spalvos [89], kuriame nustatyta 25–51 proc. lipidų [164]. Kiekybinė aliejaus sudėtis priklauso nuo aplinkos sąlygų ir *Perilla* L. rūšies ir varieteto. Lipidai skirstomi pagal sudėtį: 91–94 proc. neutralūs lipidai, 4–6 proc. glikolipidai, 2–3 proc. fosfolipidai ir nedideli kiekiai lizofosfatidilcholino, fosfatidilserino ir fosfatidilinozitolio [110, 118, 304]. Nustatytos nesočios riebiosios rūgštys – linoleno, linolo ir oleino. Maži kiekiai laurininės, miristininės, eikozaninės rūgšties [110]. Pagrindinė aliejaus γ tokoferolio forma sudaro 92 proc. viso tokoferolių kiekio. α - ir δ -tokoferoliai nustatyti mažomis koncentracijomis.

Augalinėse ląstelėse α -linoleatas sintezuojamas desaturuojant linoleatą, kuris yra esterifikuotas membranų glikolipidų molekulėse. Besivystančiuose perilių sėklose riebalinis aliejus kaupiamas praėjus 15–19 dienų po žydėjimo [118]. Sėklų vystymosi laikotarpiu palmitino, stearino ir oleino rūgščių kiekiai mažėja, linolo ir α -linoleno rūgščių kiekiai didėja. Subrendusiose sėklose nustatyta apie 54 – 65 proc. α -linoleno rūgšties [118, 304].

Glikozidai. *Perilla* L. rūšių ir varietetų lapuose nustatyta apie 20 glikozidų. Monoterpeniniai glikozidai – perilozidai A, B, C, citrusinas C [80, 257]. Iš lapų išskirti cianogeniniai glikozidai (prunasinas ir amigdalino izomeras – (R)-2-(2-O- β -D-gliukopiranozil- β -D-gliukopiranoziloksi)-fenilacetanitrilas). *Perilla* L. genties augaluose cianogeniniai glikozidai išskirti pirmą kartą [13]. Nustatyti žasmonoidai – fenilvalerijoninės rūgšties glikozidas ir decenoinės rūgšties glikozidas. Jie buvo išskirti iš *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* metanolinio ekstrakto [81].

Terpenai ir steroliai. Nustatytas monoterpenas – perilinė rūgštis. *Perilla* L. rūšių lapuose ir sėklose nustatyti steroliai: β -sitosterolis, sigma-sterolis, kampasterolis [107]. Išskirtos ir identifikuotos triterpeninės rūgštys, ursano tipo (ursolio, korosolio, 3-epikorosolio, pomolio, tormento, hyptadieno rūgštys [20, 48, 341]) ir oleanano tipo (oleanolio, augusto, 3-epimaslino) buvo išskirtos ir identifikuotos *Perilla* L. rūšių ir varietetų žaliųjų ir raudonųjų formų [48].

Tormento rūgštis turi priešuždegiminį ir DNR polimerazę slopinantį poveikį. Oleanolio ir ursolio rūgštys pasižymi priešuždegiminiu aktyvumu. Nustatytas oleanolio rūgšties hepatoprotekcinis ir antiulcerogeninis poveikis. Ursolio rūgštis pasižymi antinavikiniu poveikiu. Nustatytas šių rūgščių kiekis perilių ekstraktuose – 0,2 $\mu\text{g/ml}$ tormento rūgšties, 0,1 $\mu\text{g/ml}$ oleanolio rūgšties ir 0,1 $\mu\text{g/ml}$ ursolio rūgšties [48]. *Epšteino-bar* viruso anksčiau antigeną veikia ursolio, korosolio, epikorosolio, tormento ir 3-epimaslino rūgštys [20]. *Perilla* L. rūšių vaistinėje žaliavoje identifikuoti penki karotinoidai: β -karotinas, liuteinas, neoksantinas, anteraksantinas, violaksantinas [107].

Mineralinės medžiagos. *Perilla* L. lapuose nustatytas didelis kiekis kalio (3,9 proc.), kalcio (1,1 proc.), magnio (0,1 proc.), geležies (0,1 proc.), boro (0,05 proc.), molibdeno (0,005 proc.) [268]. Nustatyti nedideli fosforo, mangano cinko, vario, chromo kiekiai [197]. Nustatyta, kad *P. frutescens*, skirtingai nuo lapkotinių daržovių, susikaupia mažai azoto druskų. Maži nitrato kiekiai kaupiasi *Perilla* L. raudonosios formos augaluose [268].

1.5 *Perilla* L. rūšių ir varietetų farmakologinio poveikio tyrimai ir panaudojimas

Pirmosios publikacijos apie *Perilla* L. pasirodė XX a. pradžioje. *Perilla* L. rūšių tyrimai prasidėjo nuo fiziologijos tyrimų [70, 102, 103, 161]. XX a. pabaigoje suintensyvėjo cheminės sudėties, farmakologinio poveikio ir kiti moksliniai tyrimai [45, 175, 246, 261, 285].

Pirmosios žinios apie *Perilla* L. vartojimą medicinos tikslams rastos Kinijos istoriniuose šaltiniuose. Jau VI a. *P. frutescens* sėklos ir lapai buvo vartojami gydant astmą ir paralyžių. XVI a. „Materia Medica“ veikaluose nurodoma, kad *P. frutescens* vartojama karščiavimui, vandenligei, gastroenteritui, kojų mėšlungiui, vidurių užkietėjimui, uždegimui, skausmui, kosuliui gydyti apsinuodijimui maistu [34, 268, 345, 349]. Šviežia žolė buvo vartojama vonioms vietiskai gydant kraujotakos sutrikimus, reumatą, neuralgiją [107, 133, 202].

Eksperimentiškai nustatytas *P. frutescens* ekstrakto antimikrobinis poveikis. *P. frutescens* vandeninis užpilas bakteriostatiškai veikia *Staphylococcus aureus* padermes. *P. frutescens* lapų ekstrakto eterinė frakcija didelėmis koncentracijomis slopina *Sarcina* ir *Bacillus* bakterijų augimą, odos grybelių *Trychophyton*, *Microsporum*, *Sabourantides*, *Epidermophyton* augimą [107, 171]. *Perilla* L. rūšių eterinis aliejus pasižymi antimikrobinio poveikiu. Aktyviai veikia filamentinius grybelius *Mucor mucedo* ir *Penicillium chrysogenum*. Nustatyta, kad *P. frutescens* ekstraktas slopina kariesogeninių bakterijų augimą, tuo įrodydamas perilės ekstrakto perspektyvas dantų karieso ir periodontinių ligų profilaktikai [97, 137, 352].

Alergijos yra labai paplitusi ir vis didėjanti sveikatos problema industrializuotose šalyse. *Perilla* L. ekstraktas mažina alerginius simptomus: akių perštėjimą, odos niežulį, bei yra efektyvus esant sezoniniam alerginiam rinokonjunktyvitui [128, 349]. *P. frutescens* ekstraktas slopina Th2 tipo citokinų produkciją, ypač interleukinus 4, 5, 6 ir 10, paskatina Th1 tipo citokinų produkciją, slopina TNF- α produkciją, slopina histamino atsipalaidavimą iš putliųjų ląstelių, slopina arachidono rūgšties virsmą leukotrienuis [202, 241, 349].

Moksliniai tyrimai teigia, kad liuteolinas ir rozmarino rūgštis slopina alerginius procesus, tačiau rozmarino rūgštis ir liuteolinas nebuvo tokie veiksmingi kaip *P. frutescens* ekstraktas [169, 285].

Tirtas *P. frutescens* žolės nuoviro antialerginis efektas modelyje su pelių ausyčių pasyviąją anafilaksija. Nustatyta, kad nuoviras slopina alerginę reakciją. Nuoviro sudėtyje identifikuoti liuteolino, apigenino glikozidai, skutelarinas ir rozmarino rūgštis [202]. Atliktas klinikinis tyrimas parodė, kad *Perilla* L. ekstraktas, kurio sudėtyje yra rozmarino rūgšties, yra efektyvi priemonė sezoninio alerginio rinokonjunktyvito gydymui. Veikimo mechanizmas pagrįstas polimorfonuklearinių leukocitų infiltracijos šnervėse slopinimu [128]. *P. frutescens* ekstraktas slopina histamino išsiskyrimą, antigenui specifinę IgE gamybą, odos anafilaksijos reakciją. *P. frutescens* ekstraktas *in vivo* slopina alergeno sukeltą eozinofilinį uždegimą [285].

P. frutescens var. *acuta* ir *P. frutescens* var. *acuta* f. *viridis* lapų ekstraktas slopina uždegiminę pelių ausies edemą, sukeltą arachidoninės rūgšties ir TPA (12-O-tetradekanoilforbal-13-acetatas) [336]. Rozmarino rūgštis pasižymi stipresniu prieš uždegiminį poveikį nei liuteolinas. Vartojant *P. frutescens* ekstraktą ir rozmarino rūgštį, sumažėja neutrofilų infiltracija, mieloperoksidazės aktyvumas. Rozmarino rūgštis slopina chemokinų, labrocitų ir makrofagų degranuliaciją, mažina histamino išsiskyrimą iš putliųjų ląstelių. Ypač svarbus poveikis makrofagams, kuomet slopinamas ne tik leukotrienų, bet ir navikų nekrozės faktoriaus (TNF) išsiskyrimas. Pastarasis svarbus alerginių mechanizmų ir uždegimo aktyvacijai [241, 268].

Triterpeninės rūgštys (ursolio, korosolio, tormento, pomolio, hyptadieno, oleanolio, augusto, 3 – epimaslino) slopina TPA sukeltą uždegimą pelėms (modelis su pelių ausytėmis). Atlikti tyrimai parodė, kad jų poveikis efektyvumu prilygo indometacinui, hidrokortizonui [20].

Storojoje žarnoje vyksta flavonoidų gliukuronidų glikozidų hidrolizė. Uždegiminio atsako metu, kuris formuojasi aterosklerozės, vėžio, reumatoidinio artrito, diabeto, nefropatijos patogenezės metu, neutrofilai gamina O^{2-} , aktyvuoja lizosominį fermentą – β -gliukuronidazę. Gliukuronidazė hidrolizuoja flavonoidų gliukuronidus į laisvus aglikonus, kurie pasižymi stipresniu antioksidantiniu poveikiu. Aglikonai prasiskverbia į ląsteles ir pasireiškia jų biologinis poveikis uždegimo vietose [301].

Glikoproteinas, išskirtas iš karšto vandeninio *P. frutescens* lapų ekstrakto, slopina putliųjų ląstelių degranuliaciją ir hialuronidazės aktyvumą. Priešuždegiminis ir TNF- α slopinamasis perilės ekstrakto poveikis siejamas su flavonų dariniais. Tyrimuose liuteolinas slopino serumo TNF- α produkciją, TPA, arahidono rūgšties ir oksazolono sukeltą pelės ausytės edemą. Liuteolinas veikia priešuždegimiškai įvairiais mechanizmais [114, 334].

Elemicinas, α -pinenas, kariofilenas, miristicinas, β -sitosterolis, apigeninas, fenilpropanoidai taip pat slopina uždegiminių procesus [107]. Dar nėra išskirtas tikslus priešuždegiminiu poveikiu pasižymintis junginys, nes augalo lapai kaupia daug junginių, pasižyminčių priešuždegiminiu poveikiu [128, 241].

α -linoleno rūgšties kiekio padidėjimas gali slopinti leukotrieno LTC_4 išsiskyrimą iš granulocitų ir kartu slopinti uždegimą [107, 268].

Atlikti tyrimai su pelėmis parodė, kad perilės ekstraktas ir rozmarino rūgštis mažina D-galaktozamino ir lipopolisacharido sukeltą kepenų pažeidimą, sujungdamas superoksido radikalus ir slopindamas azoto oksido sintazės peroksinitritų formavimąsi – tuo patvirtindamas ekstrakto antioksidacinį efektą [128, 169].

Pastaraisiais metais didelis dėmesys skiriamas vėžio prevencijai. Iš etanolinio perilių ekstrakto išskirtos triterpeninės ursolio, korosolio, oleanolio rūgštys ir rozmarino rūgštis turi priešvėžinį [20, 192, 276], priešuždegiminį [188, 207], priešnavikinį aktyvumą eksperimentiniuose modeliuose su žiurkėmis [6]. Perilių lapų ekstraktas ir liuteolinas slopina pelių navikinių ląstelių vystymąsi, slopindamas lėtinio uždegimo metu padidėjusią citokinų gamybą [114].

Sergant lėtinėmis kardiovaskulinėmis ligomis, esant padidėjusiam mažo tankio lipoproteinų ir cholesterolio kiekiui, svarbūs yra polinesočiųjų riebiųjų rūgščių preparatai [158]. Nustatyta, kad žiurkėms, į kurių mitybą buvo įtrauktas perilės aliejus, pagerėjo smegenų veikla [138, 139, 147, 172], prailgėjo gyvenimo trukmė [196, 207, 239, 313]. Perilių riebaliniame

aliejuje nustatytas didelis kiekis ALR rūgšties, kuri savo savybėmis prilygsta žuvų taukams [119]. Dieta, turtinga ALR mažina koronarinės širdies ligos riziką ir slopina tam tikras vėžio rūšis [66]. Didelę fiziologinę reikšmę turi EPA ir DHA rūgštys. Perilių aliejuje nustatoma α -linoleno rūgštis savo poveikiu prilygsta EPA ir DHA [312]. Nustatytas ryšys tarp jos suvartojimo ir vėžio rizikos. α -linoleno rūgštis vartojimas slopina krūties ir gaubtinės žarnos vėžio riziką [227]. α -linoleno rūgštis slopina DMBA ir MNU sukeltą žiurkių storosios žarnos vėžio vystymąsi [107, 227]. Perilių sėklų ekstraktas perspektyvus astmos gydymui, nes slopina leukocitų generuojamus LTB₄ ir LTC₄ [214, 237, 238].

Pf-gp6 glikoproteinas efektyviai inaktyvuoja ŽIV-1 ir atvirkštinę transkriptazę. Pf-gp6 poveikis pasireiškia viruso replikacijos fazėje, po viruso adsorbcijos ant ląstelės taikinio ir prieš atvirkštinės transkriptazės veiklos pradžią. Pf-gp6 paveikia viruso kapsulės netekimo procesą ir membranų susiliejamą [165].

Eksperimentiniuose tyrimuose *in vitro* nustatyta, kad perilių ekstraktas indukuoja NO produkciją kraujagyslių endotelyje ir slopina lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją [205].

Nustatytas metanolinio perilių ekstrakto sedatyvinis poveikis, kurį apsprendžia kombinuotas perilaldehido ir stigmasterolio poveikis. Perilaldehydas slopina centrinę nervų sistemą per dar nežinomus stigmasterolio, kuris kaupiasi ląstelių membranose, efektus [112].

Rozmarino ir kavos rūgštys slopina reakcijas į stresogeninius veiksnius [134, 321]. Nustatyta, kad flavonoidai efektyviai veikia tam tikras receptorių sritis CNS. Flavonoidų glikozidai gali aktyvuoti GABA_A receptorių ir medijuoti sedatyvinį efektą [287]. Nustatyta, kad skutelareino dariniai tiesiogiai aktyvuoja benzodiazepinų receptorių sritis CNS [287]. Antidepressinės vandeninio ekstrakto savybės priskiriamos apigeninui, kurio poveikis susijęs su dopaminerginiais mechanizmais [199, 224, 225].

Eksperimentinių tyrimų metu įrodyta, kad vandeninis perilės ekstraktas ir rozmarino rūgštis slopina proteinuriją, serumo IgA lygį pelėms su IgA nefropatija ir slopina glomerulų ląstelių proliferaciją žiurkėms su mezangioproliferaciniu glomerulonefritu [61, 204, 207, 335]. Biologiškai aktyvios medžiagos – rozmarino rūgštis, polisacharidai, kurie turi poveikį imuninei sistemai, *in vivo* indukuoja serumo interferono aktyvumą ir *in vitro* slopina histamino išsiskyrimą iš putliųjų ląstelių. Polisacharidai yra hidrofilški, jie lengvai nepereina bilipidinio sluoksnio, todėl neslopina citokinų sukeltą mesangiumo ląstelių proliferaciją [204, 206].

Japonijoje *P. frutescens* var. *crispa* lapai naudojami maisto gamyboje [107, 235] raudona maisto produktų spalva gaunama reaguojant citrinos rūgščiai su antocianiniais, kuriuos kaupia *Perilla* L. rūšių ir varietetų

raudonosios formos augalai [291]. Perilės sėklos kaupia iki 51 proc. džius-tančio aliejaus [94].

Eterinio aliejaus komponentai perilalkoholis ir rozefuranas taikomi kvėpalų gamyboje. Korėjoje perilių augalinė žaliava ir eterinis aliejus naudojami kosmetikoje [167, 350].

Atliekami tyrimai vertinant *Perilla* L. augalinių ekstraktų poveikį žemės ūkio kenkėjams. *Perilla* L. eterinio aliejaus komponentai α -terpineolis, perialdehidas ir limonenas gali būti naudojami kaip repelentai. Didžiausiu aktyvumu pasižymi α -terpineolis ir jo mišinys su periladehidu. Limonenas mažomis koncentracijomis vilioja vabzdžius, bet didelėmis koncentracijomis bei mišinyje su periladehidu yra stiprus repelentas [113, 274].

1.6 *Lamiaceae* šeimos augalinių žaliavų antioksidantinio aktyvumo tyrimų apžvalga

Medžiagų pasižyminčių antioksidantiniu poveikiu atranka atliekama *in vitro*. Pirminiam antioksidantiniam nustatymui *in vitro* yra sukurta daug metodikų. Atlikta daug sisteminių studijų, kurių metu buvo spektrofotetriškai vertintas augalinių žaliavų antioksidantinis poveikis [43, 63, 145, 183, 258, 314, 324, 351]. Šiose sistemose dažniausiai naudojami stabilūs modeliniai radikalai (ABTS, DPPH). Jų tirpalų absorbcija matomų bangų spektre po reakcijos su antioksidantais sumažėja, jie tampa nespalvotais junginiais [229]. Sintetiniai azotą turintys DPPH ir ABTS radikalai dažniausiai naudojami kaip indikatoriai testuojant elektrono perdavimo pajėgumą ir antioksidantinį aktyvumą [63].

Metodų palyginimo metu nustatyta, kad ABTS ir DPPH sistemos yra nesudėtingai įvykdomos ir turi gerą atkartojamumą. ABTS radikalas ypatin-gai tinka augalinių ekstraktų tyrimams [68]. Daugumos eksperimentų metu nustatoma koreliacija tarp bendro antiradikalinio aktyvumo ir suminio fenolinių junginių kiekio [351]. Tokie duomenys nepaaiškina atskirų fenolinių junginių antiradikalinio savybių. Dauguma autorių teigia, kad aglikonai pasižymi stipresniu antioksidantiniu aktyvumu nei glikozidai. Folin-Ciocalteu metodas, naudojamas nustatyti suminiam fenolinių junginių kiekiui augalinėje žaliavoje, nesuteikia išsamios informacijos apie fenolinių junginių esančių ekstrakto kiekybinę ir kokybinę sudėtį [324].

Svarbu nustatyti individualius junginius, kurie pasižymi antioksidantiniu aktyvumu ir galėtų būti tiriami *in vivo* sistemose. Antioksidantų sudėties nustatymas suteikia informacijos apie struktūros įtakojamą poveikį [302]. Individualių antioksidantų paieškai kuriamos apjungtos sistemos, kuriose naudojama ESC, pokolonėlinės reakcijos ir įvairios detekcijos sistemos.

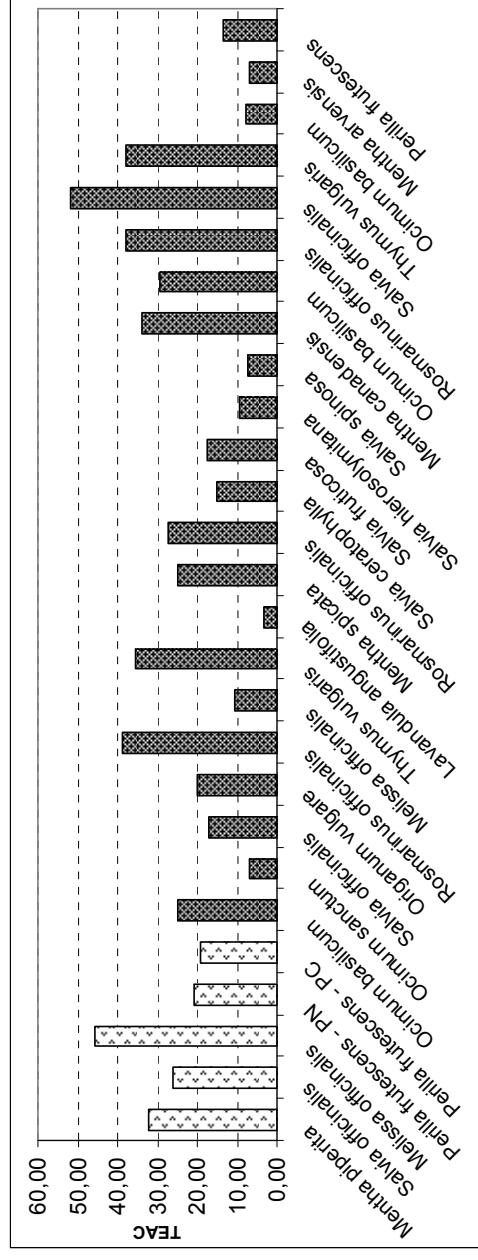
Identifikavus antioksidantiškai aktyvią medžiagą, įvertinus ją standartiniais įverčiais, galima toliau atlikti saugumo ir efektyvumo tyrimus. Pagrindinė natūralių antioksidantų problema yra tai, kad natūralūs antioksidantai nėra grynos medžiagos ir trūksta duomenų apie jų vartojimo saugumą [256].

ESC pokolonėlinės reakcijos sistemos sėkmingai taikomos identifikuojant bei įvertinant kiekybiškai antioksidantus biologiniuose ėminiuose [19, 24, 179, 216, 263, 273, 302, 355, 358]. ESC išskirstytos analitės pokolonėlėje reaguoja su radikalais [229]. Metodas pasižymintis labai geru atkartojamumu, galima įvertinti atskirų junginių radikalų surišimo aktyvumą ir jų indėlį į bendrą antioksidantinį aktyvumą [19].

Vienas aktyviausių augalinių antioksidantų, jau pritaikytų pramonėje yra rozmarino lapų ekstraktas [264]. Pagrindinė veiklioji antioksidantiniu poveikiu pasižyminti medžiaga – rozmarino rūgštis. Rozmarino rūgštis labiausia paplitusi *Boraginaceae* Juss. ir *Lamiaceae* Lindl. šeimų augaluose [325]. *Lamiaceae* Lindl. šeimos augalai pažymi stipriu antioksidantiniu poveikiu [17, 91, 143, 179, 255, 263, 300, 311, 325, 351].

Labiausiai tyrinėjamos *Lamiaceae* Lindl. šeimos rūšys yra *Rosmarinus officinalis* L., *Origanum vulgare* L. [354], *Ocimum basilicum* L. ir *Salvia officinalis* L. [77, 78, 300]. Atlikta daug studijų tiriant žaliavų ir preparatų antioksidacinį aktyvumą. Autoriai teigia, kad stipriausiu antioksidantiniu poveikiu pasižymi rozmarinas, yra duomenų, kad stipresnį antioksidantinį poveikį turi tam tikros *Salvia* L., *Origanum* L., *Ocimum* L. genčių rūšys ir varietetai. *Rosmarinus officinalis* L. ir *Melissa officinalis* L. pasižymi stipriu antioksidantiniu poveikiu matuojant FRAP sistemoje [351]. Atlikus mokslinių duomenų analizę surinkti rozmarino rūgštį kaupiančių *Lamiaceae* Lindl. šeimos augalų antiradikalinio aktyvumo duomenys matuojant spektrofotometrinėje ABTS sistemoje (Pav. 1.6.1.).

Atlikto tyrimo su Azijos regiono augalais metu nustatyta, kad *P. frutescens* augalų troloksui ekvivalenti antioksidacinė galia – 13,6 mmol/100 g. Augalinių žaliavų antioksidantinį poveikį įtakoja daug veiksnių – genetiniai faktoriai, ekofiziologiniai veiksniai, klimatinės ir edafinės sąlygos, vaistinės augalinės žaliavos ruošimo laikas bei biologiškai aktyvių junginių kaupimosi dėsniniai. Literatūros duomenimis didžiausiu antiradikaliu aktyvumu pasižymi *Ocimum basilicum* L. (25,06 mmol/100 g [314], 29,59 mmol/100 g [300]), *Rosmarinus officinalis* L. (38,7 mmol/100 g [351], 27,4 mmol/100 g [324] 37,82 mmol/100 g [300]) ir *Thymus vulgaris* (35,4 mmol/100 g [351], 38,07 mmol/100 g [300]). Iš Lietuvoje augintų tirtų augalų didžiausiu aktyvumu pasižymi *Melissa officinalis* L. – 45,81 mmol/100 g žaliavos.



1.6.1 pav. Lamiaceae šeimos augalų antioksidacinis aktyvumas išreikštas TEAC (mmol/100 g sausos masės)
 [148, 300, 314, 324, 351] (šviesiais stulpeliais pažymėti Lietuvoje, VDU KBS auginti augalai)

Mentha L., *Ocimum* L., *Origanum* L., *Rosmarinus* L., *Salvia* L., *Thymus* L., genčių augalai turi didelį kiekį rozmarino rūgšties, kuris varijuoja nuo 1086 mg/ 100 g iki 2563mg/100g sausos masės [351]. Bendrą šių *Lamiaceae* Lindl. šeimos augalų antioksidantinį aktyvumą įtakoja flavonoidai, fenolinės rūgštys (kavos, rozmarino, kumaro) ir lakieji komponentai [43, 300].

Išanalizavus literatūros duomenis, nustatytas bendras *Lamiaceae* Lindl. šeimos augalinių žaliavų antioksidacinio aktyvumo vidurkis (išreikštas trolokso ekvivalenčia antioksidacine galia – TEAC) – 20,75 mmol/100g žaliavos. Lietuvoje auginta *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* – PN ši vidurkį viršija 0,23 mmol/100 g.

Efektyviausiai oksidaciją slopina fenoliniai junginiai turintys daug hidroksilo grupių [32, 47, 148, 160, 230, 315, 323, 325]. Stipriausiu antioksidaciniu poveikiu pasižymi flavonoidai, kurie turi laisvas hidroksilo grupes [47]. Flavonoidų radikalų sujungimo poveikis priklauso nuo B ir heterociklinių žiedų struktūros ir pakaitų. Radikalų surišimo talpą lemia orto dihidroksi grupė B žiede, kuri turi elektronų donorinių savybių ir yra taikinyš radikalams [148, 160]. C₂-C₃ dviguba jungtis konjuguota su C₄-oksi grupe, kuri atsakinga už elektronų delokalizaciją. Papildomos hidroksilo ar metoksilo grupės A ir C žiedų C₃, C₅, C₇ pozicijose nėra labai svarbios.

1.7 Mitochondrijų fiziopatologiniai procesai ir sąveika su fenoliniais junginiais

Mitochondrijos yra pagrindinis ląstelių energijos šaltinis [44, 153]. Jos tiekia energiją daugeliui ląstelių procesų: įgalina raumenų susitraukimą, palaiko jonų gradientą, įgalina sekretuojamų medžiagų susikaupimą vezikulėse. Mitochondrijos dalyvauja įvairiuose fiziologiniuose procesuose: insulino sekrecijos signaliniuose keliuose, steroidų, hemo, karboanhidrazės biosintezėje, intraląstelinio kalcio signaliniuose keliuose. Fiziologinis mitochondrijose vykstančių oksidacijos ir fosforilinimo procesų atskyrimas yra svarbus žinduolių termogenezės mechanizmuose. Laisvųjų radikalų gamyba mitochondrijose svarbi ląstelės signaliniuose mechanizmuose [67].

Mitochondrijos yra svarbios ląstelės gyvenimo ir mirties procesuose. Jos dalyvauja daugelio ligų – vėžio, diabeto, kardiovaskulinių ligų, ir su amžiumi susijusių neurodegeneracinių ligų patogenezės procesuose [8]. Mitochondrijų pažeidimas β-ląstelėse sukelia diabetą. Mitochondrijos pažeidžiamos ir išemijos – reperfuzijos (širdies, smegenų, inkstų, kepenų) metu.

Mitochondrijų disfunkcija įtakoja neurodegeneracinių ligų vystymąsi, kardiomiopatijas, senėjimo procesus [67, 106]. Padidėjusi reaktyvių deguonies formų produkcija ir neuronų apoptozė yra pagrindiniai neurodegeneracinių ligų veiksniai, todėl antioksidantai, selektyviai veikiantys mitochondrijas, kartu su antiapoptotiniais vaistais yra neurodegeneracinių ligų prevencijos strategija [8, 357, 219].

Mitochondrijos reguliuoja ir programuotą ląstelių mirtį – apoptozę. Apoptozės reguliavimo sutrikimas yra pagrindinis veiksnys vėžinių ląstelių augimo procesuose [67]. Apoptozė charakterizuojama morfologiniais pakitimais, kurie apima ląstelės susitraukimą, chromatinio kondensaciją, oligonukleosominės DNR segmentaciją ir ląstelės mirtį. Apoptozė gali vykti dviem keliais – išoriniu (receptoriniu) ir vidiniu (mitochondrinu) keliu. Apoptozei vykti būtina ATP energija ir savitųjų baltymų sintezė. Lemiamas apoptozės procesų etapas yra proteazių, vadinamų kaspazėmis, aktyvinimas, kurį sukelia tam tikrų baltymų (pvz. citochromo c) perėjimas iš mitochondrijų į citozolį [2, 39, 40, 272, 296, 330]. Mouria su bendradarbiais tyrimų metu nustatė, kad fenoliniai junginiai aktyvina apoptozę, sukeldami mitochondrijų membranos depoliarizaciją, citochromo c išėjimą, lydimą kaspazės-3 aktyvacija [220]. Apoptozė *in vivo* pasireiškia naviko ląstelių augimo sulėtėjimu ir metastatinių pažeidimų vystymosi prevencija [220]. Nepakankama apoptozės procesų aktyvacija lemia audinių disfunkciją ir pažeidimą, inicijuoja vėžio vystymąsi [67].

Augaliniai fenoliai pasižymi efektais, kurie naudingi įvairiose fiziopatologinėse sąlygose, senėjimo ir vėžiniuose procesuose [83, 293]. Jų efektai siejami su redokso savybėmis ir sąveika su signaliniais baltymais [296]. Fenoliai gali veikti kaip antioksidantai arba prooksidantai. Prooksidantiniai ir antioksidantiniai polifenolių efektai gali būti panaudojami onkologiniuose procesuose. Flavonoidai gali moduluoti mitogeno aktyvuotos proteinkinazės (MAPK) signalo perdavimo kelius [296]. Nuo mitochondrijų priklausomos apoptozės reguliavimas fenoliniais junginiais gali būti siejamas su MAPK, reguliuojančios antioksidacinius fermentus ir Bcl-2 šeimos baltymus, kurie reguliuoja citochromo c paleidimą iš mitochondrijų [277]. Citochromas c (hemoproteinas), lokalizuotas mitochondrijų vidinės membranos išorinėje pusėje, būtinas elektronų pernašai nuo mitochondrijų kvėpavimo grandinės III komplekso citochromoksidazei (IV kompleksui) mitochondrijų kvėpavimo metu [270].

Citochromas c yra vienas iš apoptogeninių ar apoptozę indukuojančių faktorių, dalyvaujančių nuo mitochondrijų priklausomoje apoptozėje [39, 173]. Flavonoidai gali apsaugoti ląsteles skatindami citochromo c redukciją tiesiogiai arba apsaugodami jį nuo oksidacijos modifikuodami ląstelinę redokso būseną [208, 277]. Nustatyta, kad flavonoidas kvercetas skatina

kaspazės-3 aktyvaciją ir DNR fragmentaciją [277]. Kvercetas indukuoja apoptozę, nors jo poveikis siejamas su intraląstelinio RDR kiekio sumažinimu [277]. Mitochondrijų vykdomos apoptozės indukavimas transformuotose ląstelėse būdingas flavonoidams [46, 277]. Flavonoidai indukuoja apoptozę: apigeninas > kvercetas > myricetas > kemferolis. Ištyrus žmogaus leukemijos ląsteles HL-60 pastebėta, kad minėti flavonoidai skatino RDR produkciją, mitochondrijų potencialo kritimą, citochromo c išėjimą iš mitochondrijų ir kaspazės-3 aktyvaciją [49, 277].

Kitų autorių darbai rodo, kad fenoliniai junginiai pasižymi kardioprotekcinėmis savybėmis, apsaugodami mitochondrijų funkcijas išemijos reperfuzijos metu [5, 31, 35]. Oksidacinio streso ir Ca^{2+} indukuota mitochondrijų nespecifinio pralaidumo pora (MPT) dalyvauja įvairiuose patogenezinuose mechanizmuose (infarktas, raumenų distrofijos ir t.t.). Kai kurie augaliniai polifenoliai kaip antioksidantai gali apsaugoti mitochondrijas, slopindami MPT atsidarymą [8, 29, 208]. Kiti, priešingai, gali aktyvinti MPT atsidarymą [41, 65, 208, 289]. Yra duomenų, jog kai kurie flavonoidai gali sumažinti mitochondrijų MPT jautrumą kalciumui, ir taip apsaugoti mitochondrijas nuo nespecifinio pralaidumo poros atsidarymo [208].

Mitochondrinė F_0F_1 -ATPazė (ATP sintazė) dalyvauja ATP sintezėje oksidacinio fosforilinimo metu. Mitochondrinės ATP sintazės inhibicija gali būti potencialus daugelio fenolinių junginių veikimo mechanizmas [358]. Fenolinių junginių poveikis NADH ubichinono oksidoreduktazei (mitochondrijų kvėpavimo grandinės I Kompleksui) ir ATP sintazei gali reikšmingai paveikti mitochondrijų funkciją, pakeisti ATP lygį, mitochondrijų potencialą ir RDR generaciją [191, 358] ir įtakoti procesus, vykstančius ląstelėje.

Kadangi antioksidantai gali apsaugoti mitochondrijas nuo pažaidos, vis plačiau vykdomi mitochondriotropinių (nukreiptų į mitochondrijas) antioksidantų tyrimai [28]. Fenoliniai junginiai *per se* turi mažą bioprieinamumą, kai vartojami su maistu ir gėrimais. Tačiau mitochondriotropiniai kverceto dariniai yra efektyvesni MPT induktoriai nei kvercetas [29]. Biasutto su bendradarbiais eksperimentinio tyrimo *in vitro* metu nustatyta didelė jų koncentracija vidinėje mitochondrijų membranoje [29]. Naujų mitochondriotropinių junginių taikiniai yra mitochondrijos, o laukiami efektai yra antioksidacinis poveikis, apoptozė, apoptozė/nekrozė ir poveikis oksidaciniam fosforilinimui [8, 57]. Vaistiniai preparatai, kurių veikimas būtų tikslingai nukreiptas į mitochondrijas, yra perspektyvi tyrimų sritis, kadangi mitochondrijos yra pagrindiniai energetinio metabolizmo, RDR produkcijos ir apoptozės reguliatoriai ląstelėje. Svarbiausios vaistinių preparatų poveikio mitochondrijoms sritys yra (1) antioksidantų sąveika su mitochondrijomis apsaugant jas nuo oksidacinio pažeidimo susijusio su neurodegeneracinėmis

ligomis, išemija-reperfuzija, diabetu; (2) vaistų ar Bcl-2 baltymų nukreipimas į mitochondrijas skatinant apoptozę vėžio terapijoje [271]; (3) preparatų, kurie mitochondrijose slopina nespecifinio pralaidumo porą (MPT), infarkto ar insulto susirgimų gydymui paieška [8]; (4) vaistiniai preparatai, kurie sukelia oksidacijos ir fosforilinimo procesų atskyrimą ar aktyvuoja baltymus skyriklius (nutukimo ir diabeto susirgimų gydymui) [8, 191].

Mitochondrijose vykstančios šalutinės kvėpavimo grandinės elektronų pernašos reakcijos susiję su RDR produkcija [8, 155]. Mitochondrijų kvėpavimo grandinę sudaro keturi stambūs fermentiniai kompleksai, įterpti į vidinės membranos fosfolipidų dvisluoksnį. Iš jų du kompleksai atsakingi už didžiąją dalį generuojamo superoksido radikalo: kompleksas I (NADH-ubichinono oksidoreduktazė) ir kompleksas III (ubichinolio-citochromo c oksidoreduktazė). Superoksido radikalo transformavimasis į vandenilio peroksidą ir į hidroksilo radikalus yra svarbus procesas, sukeliantis peroksidacinę baltymų, lipidų ir DNR pažeidimą [270]. Didelį kiekį RDR mitochondrijose generuojantis I kompleksas yra svarbus taikinyš Parkinsono ligos terapijoje [357].

Vėžio terapijoje svarbus taikinyš yra ATP- sintazė [8]. ATP-sintazės inhibicija padidina mitochondrijų membraninį potencialą ir sąlygoja vėžio ląstelių energetinių išteklių mažėjimą [8, 277].

Įvairių studijų metu nustatyta, kad fenoliniai junginiai yra arba neefektyvūs, arba veikia inhibuojančiai I ir II mitochondrijų kvėpavimo grandinės kompleksus [277]. Flavonoido B žiedo hidroksilinimas lemia NADH oksidazės slopinimo aktyvumą, C2-3 padėtyje esanti dviguba jungtis ir 4-keto grupė įtakoja aktyvumą ir lemia junginių sąveiką su mitochondrijų membrana [59, 64, 65, 277]. Flavonoliai ir izoflavonai yra aktyviausi NADH oksidazės (I komplekso) inhibitoriai. Rotenonas, izoflavonų darinys, specifiskai inhibuoja mitochondrijų kvėpavimo grandinės pirmąjį kompleksą ir yra naudojamas mitochondrijų tyrimuose. Kai kurie mokslininkų darbai rodo, kad sukcinoksidazės (II komplekso) aktyvumas mažiau jautrus flavonoidų inhibicijai nei NADH oksidazės. Antocianidinų poveikiui jautresnis II kompleksas [277]. Flavonoidai atskiria kvėpavimą nuo fosforilinimo paveikdami mitochondrijų membranos potencialą ir pH gradientą [277]. Tam tikrų flavonoidų oksidacijos ir fosforilinimo procesų atskyrimas yra nepriklausomas nuo jų poveikio mitochondrijų kvėpavimui ar ATPazei [65, 208, 277].

Galimybė fenoliniais junginiais veikti mitochondrijų kvėpavimą ir ATP sintezę, atskirti oksidacijos ir fosforilinimo procesus, nurodo poveikio mechanizmus, kuriais fenoliai gali sąlygoti mitochondrijų pokyčius ir skatinti arba slopinti nuo citochromo c priklausomą apoptozę ir valdyti kitus ląstelėje vykstančius procesus [277].

2. TYRIMO OBJEKTAS IR METODAI

Tyrimų objektas – *Perilla* L. genties augalai – vienmečiai, notreliniai (*Lamiaceae* Lindl.) šeimos, 80–100 cm aukščio žoliniai augalai – *P. frutescens* (toliau tekste – PF), *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* (toliau tekste – PC), *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* (toliau tekste – PO), *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* (toliau tekste – PN). Tyrimams naudotą augalinę žaliavą sudarė perilių antžeminės dalies pavyzdžiai surinkti iš bandymų ploto Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sode.

Tyrimai atlikti 2001–2009 metais vegetacijos metu (gegužės–spalio mėn.), VDU, KBS vaistinių augalų kolekcijoje ir bandymų plote. Bandymų ploto dirvožemis karbonatingas glėjiškas rudžemis, vidutinio sunkumo priemolis. Dirvožemio agrocheminės savybės nustatytos Lietuvos žemdirbystės instituto Agrocheminių tyrimų centre. Tiriamo dirvožemio neutrali reakcija pH (7,5), didelis kalkingumas (217 mg/kg dirvožemio), labai didelis fosforingumas (320 mg/kg dirvožemio), vidutinis azotingumas (mineralinis azotas – 9,32 proc., bendrasis azotas – 0,172 proc.), didelis humusingumas. Šis dirvožemis yra derlingas, todėl nereikia papildomai tręšti.

Pagal klimatinį rajonavimą – tai Lietuvos Vidurio Žemumos rajono dalis (vidutinė metinė oro temperatūra +6,7 °C, $\Sigma T > 10\text{ °C}$ – 2100–2300, T_n (m) – 24–26°C, metinis kritulių kiekis 500–750 mm [4, 37]. Vegetacijos periodo meteorologiniai veiksniai – vidutinė paros oro temperatūrų suma ir kritulių kiekis naudoti iš agrometeorologinių biuletenių [4]. Hidroterminis koeficientas (HTK) apskaičiuotas pagal formulę $HTK = H / 0,1 \Sigma T$; čia H – krituliai per skaičiuojamą laikotarpį mm; ΣT – paros vidutinės oro temperatūros, didesnės už 10°C suma per tą patį laikotarpį [60].

Tyrimų metodika. Augalai sodinti daigais su 3 lapeliais eilėmis į dirvą 345 m² bandymo plote. Atstumas tarp augalų 50 cm, tarp eilių 70 cm. Sodinukų įsitvirtinimo pagerinimui sodinimo metu atlikta kiekvieno sodinuko irigacija. Bandymai atlikti pagal modifikuotas metodikas [218], fenologiniai stebėjimai bei modelinio augalo (10 pakartojimų) antžeminės dalies biometriniai matavimai atlikti vegetacijos tarpsniais: vegetacijos pradžioje, intensyvus augalų augimo tarpsnyje, butonizacijos, žydėjimo (pradžia, masinis), sėklų brandos tarpsniuose ir vegetacijos pabaigoje [331]. Augalų adaptacinės savybės tirtos augalų stebėjimų ir bandymų metodais [218]. Atlikti augalinės žaliavos ėminiai augimo dėsningumų (augalų aukštis, antžeminės dalies santykinis projekcijos plotas, lapų skaičius ir plotas) bei augalinės žaliavos masės (lapų, stiebų ir viso augalo šviežia ir sausa masės) įvertinimui kas 14–16 dienų, fiksuojant metų dieną (2.1 lentelė).

2.1 lentelė. Tyrimo laikotarpio (birželio–spalio mėnesiai) metų dienos

Mėn.	D	MD		Mėn.	D	MD		Mėn.	D	MD		Mėn.	D	MD
Birželio	1	152		Liepos	1	182		Rugpjūčio	1	213		Rugsėjo	1	244
Birželio	2	153		Liepos	2	183		Rugpjūčio	2	214		Rugsėjo	2	245
Birželio	3	154		Liepos	3	184		Rugpjūčio	3	215		Rugsėjo	3	246
Birželio	4	155		Liepos	4	185		Rugpjūčio	4	216		Rugsėjo	4	247
Birželio	5	156		Liepos	5	186		Rugpjūčio	5	217		Rugsėjo	5	248
Birželio	6	157		Liepos	6	187		Rugpjūčio	6	218		Rugsėjo	6	249
Birželio	7	158		Liepos	7	188		Rugpjūčio	7	219		Rugsėjo	7	250
Birželio	8	159		Liepos	8	189		Rugpjūčio	8	220		Rugsėjo	8	251
Birželio	9	160		Liepos	9	190		Rugpjūčio	9	221		Rugsėjo	9	252
Birželio	10	161		Liepos	10	191		Rugpjūčio	10	222		Rugsėjo	10	253
Birželio	11	162		Liepos	11	192		Rugpjūčio	11	223		Rugsėjo	11	254
Birželio	12	163		Liepos	12	193		Rugpjūčio	12	224		Rugsėjo	12	255
Birželio	13	164		Liepos	13	194		Rugpjūčio	13	225		Rugsėjo	13	256
Birželio	14	165		Liepos	14	195		Rugpjūčio	14	226		Rugsėjo	14	257
Birželio	15	166		Liepos	15	196		Rugpjūčio	15	227		Rugsėjo	15	258
Birželio	16	167		Liepos	16	197		Rugpjūčio	16	228		Rugsėjo	16	259

Mén.	D	MD	Mén.	D	MD	Mén.	D	MD	Mén.	D	MD	Mén.	D	MD
Birželio	17	168	Liepos	17	198	Rugpjūčio	17	229	Rugsėjo	17	260	Spalio	17	290
Birželio	18	169	Liepos	18	199	Rugpjūčio	18	230	Rugsėjo	18	261	Spalio	18	291
Birželio	19	170	Liepos	19	200	Rugpjūčio	19	231	Rugsėjo	19	262	Spalio	19	292
Birželio	20	171	Liepos	20	201	Rugpjūčio	20	232	Rugsėjo	20	263	Spalio	20	293
Birželio	21	172	Liepos	21	202	Rugpjūčio	21	233	Rugsėjo	21	264	Spalio	21	294
Birželio	22	173	Liepos	22	203	Rugpjūčio	22	234	Rugsėjo	22	265	Spalio	22	295
Birželio	23	174	Liepos	23	204	Rugpjūčio	23	235	Rugsėjo	23	266	Spalio	23	296
Birželio	24	175	Liepos	24	205	Rugpjūčio	24	236	Rugsėjo	24	267	Spalio	24	297
Birželio	25	176	Liepos	25	206	Rugpjūčio	25	237	Rugsėjo	25	268	Spalio	25	298
Birželio	26	177	Liepos	26	207	Rugpjūčio	26	238	Rugsėjo	26	269	Spalio	26	299
Birželio	27	178	Liepos	27	208	Rugpjūčio	27	239	Rugsėjo	27	270	Spalio	27	300
Birželio	28	179	Liepos	28	209	Rugpjūčio	28	240	Rugsėjo	28	271	Spalio	28	301
Birželio	29	180	Liepos	29	210	Rugpjūčio	29	241	Rugsėjo	29	272	Spalio	29	302
Birželio	30	181	Liepos	30	211	Rugpjūčio	30	242	Rugsėjo	30	273	Spalio	30	303
			Liepos	31	212	Rugpjūčio	31	243				Spalio	31	304

D – kalendorinė diena; MD – metų diena.

Kiekvieno augalinės žaliavos ėmimo metu atskirai buvo parenkama 10 kiekvienos *Perilla* L. rūšies ir varieteto augalų, kuriuose atskirti stiebai ir lapai ir atlikta šviežios masės nustatymai ir atskirų dalių matavimai.

Vaisiai surinkti pilnos vaisių brandos tarpsnyje (rugsėjo pabaigoje – spalio pradžioje) ir džiovinami gerai vėdinamoje patalpoje arba džiovvykloje 25-30 °C temperatūroje. Lapo plotas išmatuotas naudojantis kvadratinio išsidėstymo metodu [14].

Augimo dėsnų rodikliai apskaičiuoti naudojantis Hunt et al. Microsoft Excel failu [116].

$$SAG = \frac{\log_e W_2 - \log_e W_1}{t_2 - t_1} = g / \text{dienai}$$

$$LPS = \frac{\frac{L_{A1}}{W_1} + \frac{L_{A2}}{W_2}}{2} = m^2 / g$$

$$SLP = \frac{\frac{L_{A1}}{L_{W1}} + \frac{L_{A2}}{L_{W2}}}{2} = m^2 / g$$

$$LSF = \frac{\frac{L_{W1}}{W_1} + \frac{L_{W2}}{W_2}}{2} = g / g$$

$$BAG = \frac{(W_2 - W_1) \times (\log_e L_{A2} - \log_e L_{A1})}{(L_{A2} - L_{A1}) \times (t_2 - t_1)} = g / m^2 / \text{dienai}$$

čia: BAG – (*NAR*) *net assimilation rate*. Sausos masės produkcijos greitis išreikštas lapo ploto vienetui. LPS – (*LAR*) *leaf area ratio*. Lapų ploto santykis. Viso lapų ploto ir sausos augalo masės santykis. LSF – (*LWF*) *leaf weight fraction*. Lapų svorio frakcija. Lapų sausos masės ir visos sausos masės santykis. SLP – (*SLA*) *specific leaf area*. Specifinis lapų plotas. Viso lapų ploto ir lapų sausos masės santykis. SAG – (*RGR*) *relative growth rate*. Vidutinis santykinis augimo greitis. t – laikas (metų dienos); W_1 – bendra augalo sausa masė (g) t_1 metu; W_2 – bendra augalo sausa masė (g) t_2 metu; L_{A1} – bendras lapų plotas augale t_1 metu; L_{A2} – bendras lapų plotas augale t_2 metu; L_{W1} ir L_{W2} – bendra augalo lapų sausa masė t_1 ir t_2 laikotarpiu.

Naudoti reagentai. Visi naudoti tirpikliai yra ESC analitinio švarumo. Metanolis (99,9 proc. grynumo) įsigytas iš „Sigma-Aldrich GmbH“ (Buchs, Šveicarija), acto rūgštis (99,8 proc.) iš „Fluka Chemie“ (Buchs, Šveicarija). Ultragrynas vanduo (18,2 mΩcm⁻¹) ruošiamas „Millipore“ (JAV) vandens

valymo sistema. 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS, 99,0 proc.), kalio persulfatas (99,0 proc.) iš „Fluka“ (Buchs, Šveicarija), kalio permanganatas (99,0 proc.), kalio chloridas (99,5 proc.), kalio fosfatas (99,5 proc.), chlorogeno rūgštis, rozmarino rūgštis ir kavos rūgštis gauti iš „Sigma-Aldrich Chemie GmbH“ (Steinheim, Vokietija); (R)-6-methoxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic rūgštis (Troloksas[®], 97 proc.) iš „Acros organics“ (New Jersey, USA); etanolis (96,3 proc.) iš „Stumbras“ (Kaunas, Lietuva); natrio citratas ir citrinos rūgštis iš „Roth“ (Karlsruhe, Vokietija).

Bandinių paruošimas. Vaistinė augalinė žaliava buvo paruošta augalų vegetacijos laikotarpiu kas 14–16 dienų birželio – spalio mėnesiais VDU, KBS vaistinių augalų kolekcijoje ir bandymų plote. Žaliava buvo džiovinta kambario temperatūroje (20–25 °C), gerai vėdinamoje ir apsaugotoje nuo tiesioginių saulės spindulių patalpoje. Tyrimams naudota orasausė žaliava. Nuodžiūvis nustatytas Europos farmakopėjos reikalavimus atitinkančiu metodu [74]. Tyrimų duomenys perskaiciuoti absoliučiai sausai augalinei žaliai įvertinant gautus ėminių nuodžiūvio duomenis. Vaistinė augalinė žaliava buvo smulkinama iki dalelių praeinančių pro 355 µm sietą. Sveriama apie 0,5 g (tikslus svėrinys) susmulkintos perilės vaistinės augalinės žaliavos ir ekstrahuojama 50 ml 60proc. V/V etanoliu 30 minučių purtyklėje. Gautas ekstraktas filtruojamas pro popieriaus filtrą į 50 ml matavimo kolbą ir praskiedžiamas 60proc. V/V etanoliu iki žymės.

Rūgštinė ekstrakto hidrolizė – į 25 ml ekstrakto, gauto ekstrakcijos metu, įpilma 8,5 ml koncentruotos vandenilio chlorido rūgšties ir kaitinama vandens vonioje su grįžtamuoju šaldytuvu 2 valandas [38].

Sausieji ekstraktai. *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* ir *P. frutescens* sausieji etanoliniai ekstraktai (10:1) pagaminti vaistinę augalinę žaliavą ekstrahuojant 40 proc. V/V etanoliu maceracijos metodu. *P. frutescens* vandeninis ekstraktas (10:1) gautas ekstrahuojant augalinę žaliavą vandeniu reperkoliacijos metodu. Ekstraktai buvo užšaldomi ant sublimacijos indų paviršiaus 1 cm storiu liofilizatoriaus Freeze Dryer FD8512S (ilShin[®] Europe, Ede, The Netherlands) rotaciniame užšaldymo modulyje ir džiovinami šiame liofilizatoriuje 5 militorių slėgyje (kondensatoriaus temperatūra –85 °C).

Etaloniniai antioksidantai (troloksas 80 µM, rozmarino rūgštis 110 µM, kavos rūgštis 60 µM, chlorogeno rūgštis 150 µM) buvo tirpinami 96,3proc. etanolyje. Visi bandiniai filtruojami pro 0,22 µm porų dydžio membraninius filtrus (Carl Roth GmbH, Karlsrūjė, Vokietija) ir naudojami analizei.

Chromatografinė analizė. Analizei atlikti naudotas chromatografas Waters 2690 su dviem detektoriais: Waters 2487 UV/Vis ir Waters 996 DMD (Waters, Milford, JAV). Analitės skirstomos „ACE“ C₁₈ analitine kolonėle

(5 μm , 150 $\times$ 4,6 mm) su prieškolonėle – „ACE“ 5 μm C₁₈ (Aberdeen, Scotland). Injekuota 10 μl tiriamojo ekstrakto

Antocianidinų analizė. Detekcija atlikta prie 520 nm bangos ilgio. Tėkmės greitis – 1 ml/min. Eliuavimas – gradientinis. Eliuentas A – acetonitrilas (ACN), eliuentas B – 4 proc. ortofosforo rūgštis (H₃PO₄). Naudotas šis gradiento kitimas: 0 min – 7 proc. A (93 proc. B), 37 min – 25 proc. A (75 proc. B), 40 min – 7 proc. A (93 proc. B), 45 min – 7 proc. A (93 proc. B). Kolonėlė laikyta kambario temperatūroje. Antocianidinų tapatybė nustatyta lyginant analičių sulaikymo trukmes su standartų sulaikymo trukmėmis ir spektrais, gautais su DMD detektoriumi [37]. Antocianidinų suminis kiekis išreiškiamas cianidinio ekvivalenais.

Fenolinių rūgščių ir flavonų analizė. Detekcija atlikta prie 290 nm bangos ilgio. Tėkmės greitis – 1 ml/min. Eliuentas A – 0,5 proc. acto rūgštis, eliuentas B – metanolis. Gradientas kitimas: 0 min. – 90 proc. A ir 10 proc. B; 40 min. – 20 proc. A ir 80 proc. B; 50 min. – 10 proc. A ir 90 proc. B; 52 min. – 0 proc. A ir 100 proc. B; 53 min. – 90 proc. A ir 10 proc. B; 60 min. – 90 proc. ir 10 proc. B. Analizė atlikta kambario temperatūroje [136]. Fenolinių rūgščių tapatybė nustatyta lyginant analičių sulaikymo trukmes su standartų sulaikymo trukmėmis ir spektrais, gautais su DMD detektoriumi. Flavonų identifikavimui ekstraktai buvo analizuoti naudojantis apjungtos detekcijos sistema (ESC-MS-DMD). Atskiri komponentai identifikuojami ir abiejų sistemų duomenys siejami remiantis sulaikymo laiku, diodų matricos spektru, masių fragmentacija, m/z santykiu. Gauti duomenys sujungti ir identifikuoti junginiai remiantis UV absorbcija, spektrais ir masių fragmentacija. Sulaikymo laikai, junginio molekulinė masė, masių fragmentacijos, λ_{max} absorbcija buvo palyginti su literatūros duomenimis. Flavonų glikozidų kiekis apskaičiuotas liuteolin-7-O-glikozido ekvivalenais.

Efektyviosios skysčių chromatografijos – masių spektrometrijos analizė. Tyrimui ESC-DMD-ESI/MS metodu naudotas ESC siurblys Waters 1525 sujungtas su diodų matricos detektoriumi Waters 996 bei per srauto dalintoją – su kvadrupolinį masės analizatorių turinčiu MS detektoriumi Waters ZQ 2000 (Waters, Milfordas, MA, JAV) neigiamos elektropurkštuvinės jonizacijos sąlygomis. ESC skirstymui taikyta „ACE“ C₁₈ analitine kolonėle (5 μm , 150 $\times$ 4,6mm) su prieškolonėle – „ACE“ 5 μm C₁₈ (Aberdeen, Scotland). Tėkmės greitis – 1 ml/min. Eliuentas A – 0,5 proc. acto rūgštis, eliuentas B – metanolis. Gradientas kitimas: 0 min. – 90 proc. A ir 10 proc. B; 40 min. – 20 proc. A ir 80 proc. B; 50 min. – 10 proc. A ir 90 proc. B; 52 min. – 0 proc. A ir 100 proc. B; 53 min. – 90 proc. A ir 10 proc. B; 60 min. – 90 proc. ir 10 proc. B. Tyrimui pasirinktas m/z intervalas nuo 100 iki 950 a. m. v. Kapiliaro įtampa 3 kV, ekstraktoriaus 30 V, šaltinio temperatūra 120 °C.

ESC-ABTS ir ESC-DPPH antiradikalinio aktyvumo nustatymo sistemos. Linijinis binarinis gradientas formuojamas chromatografu „Beckman Programmable solvent module 126“ (Fullerton, JAV) pastoviu 1 ml/min tėkmės greičiu. Tirpiklis A – 0,5 proc. acto rūgštis, tirpiklis B – metanolis. Gradiento kitimas: 0 min. – 90 proc. A ir 10 proc. B; 40 min. – 20 proc. A ir 80 proc. B; 50 min. – 10 proc. A ir 90 proc. B; 52 min. – 0 proc. A ir 100 proc. B; 53 min. – 90 proc. A ir 10 proc. B; 60 min. – 90 proc. ir 10 proc. B. Bandiniai injekuojami Rheodyne 7125 rankiniu injektoriumi (Rheodyne, RohnertPark, CA) su 20 µl injekcijos kilpa. Analitės skirstomos „ACE“ C₁₈ analitine kolonėle (5 µm, 150×4,6 mm) su prieškolonėle – „ACE“ 5 µm C₁₈ (Aberdeen, Scotland). Išskirstyti junginiai nustatomi UV absorbciniu detektoriumi „Beckman System Gold 166 Programmable detector module“ (Fullerton, JAV) prie λ=290 nm bangos ilgio.

ESC-ABTS. Po detekcijos eliuatas tiesiogiai sumaišomas su ABTS^{•+} reagentu laisvųjų radikalų surišimo įvertinimui. Darbinis ABTS^{•+} tirpalas 0,11 mM (A₆₅₀=0,90 AU) į pokolonėlę tiekiamas nuolatinio veikimo siurbliu „Waters Reagent Manager“ (Milford, JAV) pastoviu 0,5 ml/min tėkmės greičiu. Reakcija tarp ABTS^{•+} reagento ir analitės vykdoma reakcijos kilpoje. Buvo naudojama 15 m (0,3 mm ID ir 1,58 mm OD) reakcijos kilpa pagaminta iš TFE (Teflon[®]) vamzdelio. ABTS^{•+} tirpalo absorbcijos sumažėjimas po reakcijos su antioksidantu tiesiogiai fiksuojamas UV/Vis tipo detektoriumi „Gilson UV/Vis detector 118“ (Middleton, JAV) prie λ=650 nm bangos ilgio. Junginiai pasižymintys antioksidantiniu aktyvumu chromatogramoje užrašomi kaip neigiamos smailės.

ESC-DPPH. Išskirstyti junginiai nustatomi UV absorbciniu detektoriumi „Beckman System Gold 166“ (Fullerton, JAV) bangos ilgiui esant 290 nm. Iš detektoriaus judri fazė su išskirstytais junginiais per maišymo trišakį patenka į reakcijos kilpą, į ją taip pat tiekiamas DPPH* reagento tirpalas. DPPH* tirpalo tiekimui naudojamas ESC siurblys „Gilson pump 305“ (Middleton, JAV). Tirpalo tėkmės greitis – 0,4 ml/min. Reakcijos kilpa – 15 m (0,3 mm ID ir 1,58 mm OD) TFE (Teflon[®]). Reakcijos kilpa sujungta su UV/Vis tipo detektoriumi „Gilson UV/Vis detector 118“ (Middleton, JAV), kuriuo matuojama pratekančio tirpalo absorbcija prie 520 nm bangos ilgio. Junginiai pasižymintys antioksidantiniu aktyvumu chromatogramoje užrašomi kaip neigiamos smailės.

Bandinių radikalų surišimo aktyvumas išreiškiamas trolokso ekvivalento antioksidantine galia TEAC.

$$TEAC = \frac{TE_{komp.}(\mu M)}{1000} \times \frac{V_{band.}(ml)}{m_{band.}(g)}, (mM/g)$$

čia $TE_{komp.}$ – antioksidantiškai aktyvaus junginio trolokso kiekio ekvivalentas (μM); $V_{band.}$ – tiriamos augalinės žaliavos ekstrakto bandinio tūris (ml); $m_{band.}$ – tiriamos augalinės žaliavos atsvertas (tikslus) kiekis (g). TE_{komp} apskaičiuotas pagal formulę:

$$TE_{komp} = \frac{S_{comp.} - b}{a}, (\mu M)$$

čia $S_{comp.}$ – antioksidantiškai aktyvaus junginio neigiamos smailės plotas antiradikalinio aktyvumo chromatogramoje; a – nuolydis b – nuokrypis iš trolokso kalibracinės kreivės regresijos lygties.

Gauti eksperimentinių tyrimų duomenys apdorojami „Beckam“ (System Gold) ir „Gilson“ (UniPoint) programine įranga.

Eterinių aliejų išskyrimas ir sudėties nustatymas. Eteriniai aliejai iš augalų išskirti hidrodistiliacijos metodu. Eterinių aliejų komponentams nustatyti naudoti dujų chromatografijos metodai su liepsnos jonizacijos ir masių spektrometrijos detektoriais. Eterinių aliejų tirpalai pentane analizuoti Fisons GC 8000 series dujų chromatografu su liepsnos jonizacijos detektoriumi, naudojant nepolinę ZB-5 kolonėlę ($30\text{ m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$). Dujos nešiklis – azotas, kurio tekėjimo greitis – 2 ml/min . Temperatūra buvo didinama nuo 60°C iki 250°C , 3°C/min greičiu.

Masių spektrometrijos tyrimai atlikti naudojantis Perkin Elmer Clarus 500 dujų chromatografu su masės selektyviu detektoriumi, naudojant 70 eV galingumo elektronų srautą. Junginių atskyrimui naudota metilpolisiloksano Elite-5ms kapiliarinė kolonėlė ($30\text{ m} \times 0,25\text{ mm i.d.}, 0,25\text{ }\mu\text{m}$). Temperatūra buvo didinama nuo 60°C iki 250°C , 3°C/min greičiu, išlaikant 250°C temperatūrą 30 min. Helio tekėjimo greitis – 2 ml/min .

Eterinių aliejų junginiai identifikuoti pagal sulaikymo koeficientus (Kovats), kurie buvo apskaičiuoti remiantis alkanais, ir masių spektrus lyginant juos su etaloninių junginių šiomis charakteristikomis, pateiktomis prietaiso MS bibliotekose ir literatūroje [1, 327].

***P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* ir *P. frutescens* žolės ekstraktų poveikio žiurkės širdies mitochondrijų funkcijai tyrimas.**

Mitochondrijų išskyrimas. Mitochondrijos iš Wistar žiurkių patinėlių širdžių buvo išskiriamos diferencinio centrifugavimo metodu $0\text{--}4^\circ\text{C}$ temperatūroje. Širdis praplaunama šaltu (4°C) tirpalu, pasverinama, susmulkinama žirkutėmis ir 45 sekundes stiklo-teflono homogenizatoriuje homogenizuojama šaltoje (4°C) terpėje (10 ml/g audinio), kurios sudėtis: 180 mM KCl ,

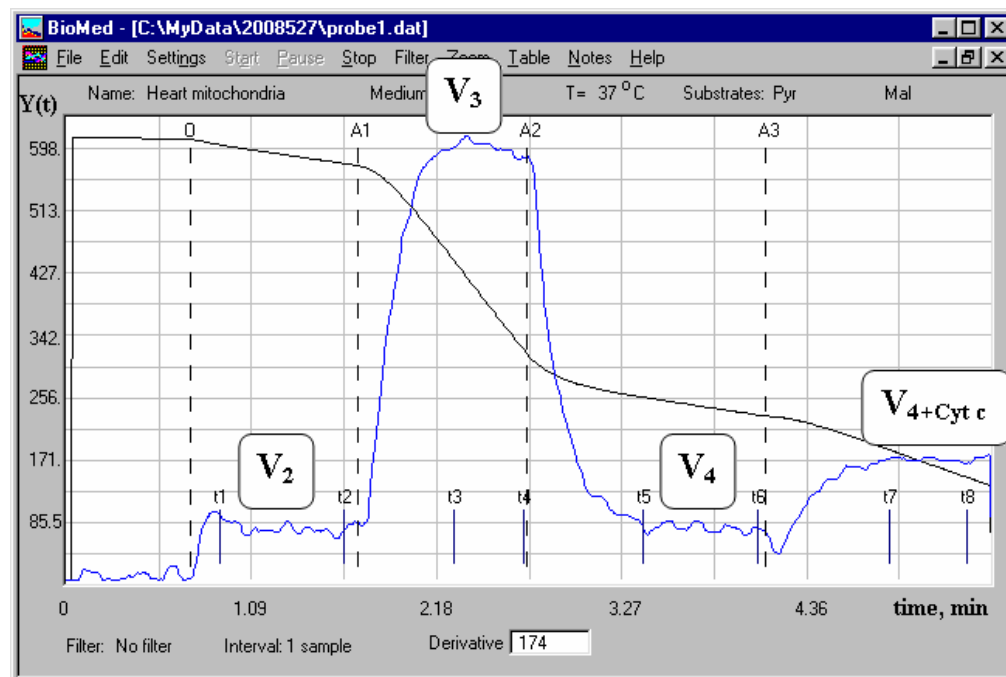
10 mM Tris-HCl, 1 mM EGTA, pH 7,7. Homogenatas centrifuguojamas $750 \times g$ greičiu 5 min., esant 4°C temperatūrai. Gautas supernatantas perkošiamas per marlę ir centrifuguojamas dar kartą $6800 \times g$ greičiu 10 min. Gautos mitochondrijų nuosėdos suspenduojamos 150 μ l suspendavimo terpės, kurios sudėtis: 180 mM KCl, 20 mM Tris-HCl, pH 7,35.

Mitochondrijų baltymo kiekio nustatymas Biureto metodu. Baltymo kiekis mitochondrijų suspensijoje nustatomas modifikuotu Biureto metodu [95]. Į 0,05 ml mitochondrijų suspensijos įpilama 0,95 ml 0,33 proc. dezoksicholato tirpalo, gerai sumaišoma ir 5 min. inkubuojama vandens termostate 37°C temperatūroje. Po to įpilama 4 ml biureto reagento, sumaišoma ir inkubuojama vandens termostate 37°C 15 min. Gauta tirpalo optinis tankis matuojamas spektrofotometru esant 540 nm bangos ilgiui. Baltymo kiekis surandamas pagal kalibracinę kreivę, kuriai sudaryti naudojamas standartinis baltymo tirpalas, pagamintas iš žmogaus serumo albumino. Mitochondrijų suspensija (~50 mg/ml baltymo) buvo laikoma leduose viso eksperimento metu.

Mitochondrijų kvėpavimo matavimas. Mitochondrijų kvėpavimo greitis buvo matuojamas termostatuojamoje kiuvetėje su Klarko tipo deguonies elektrodu 37°C temperatūroje 1,5 ml matavimo terpėje, kurios sudėtis: 150 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, 5 mM KH_2PO_4 , 1 mM MgCl_2 , pH 7,2, su substratais: 1) 5 mM piruvato ir 5 mM malato arba 2) 15 mM sukcinato (+2 mM amitilio) (2.1 pav.). Ištirpusio deguonies kiekis terpėje laikomas 420 nmolO/ml. Mitochondrijų kvėpavimo greitis antroje metabolinėje būsenoje (V_2) buvo registruojamas į terpę pridėjant 0,5 mg/ml mitochondrijų ir atitinkamo substrato, o pridėjus 1 mM ADP buvo registruojamas mitochondrijų kvėpavimo greitis trečioje metabolinėje būsenoje (V_3). Pridėjus 0,12 mM atraktilozido, kuris yra ADP/ATP-nešiklio inhibitorius, registruojamas mitochondrijų kvėpavimo greitį ketvirtoje metabolinėje būsenoje (V_{ATR}). Mitochondrijų išorinės membranos intaktiškumui įvertinti atliekamas citochromo c testą, į terpę pridėjami 32 μ M citochromo c ($V_{\text{ATR}+\text{cyt c}}$) ir įvertinama, koku laipsniu citochromas c stimuliuoja kvėpavimą.

Mitochondrijų kvėpavimo kontrolės koeficientas (KKK) apskaičiuojamas pagal deguonies suvartojimo greitį trečioje ir antroje metabolinėse būsenose ($\text{KKK} = V_3/V_2$). Matuojant nuo fosforilinimo atskirtą mitochondrijų kvėpavimo greitį, vietoj ADP į matavimo terpę buvo pridėjama 0,19 μ M karbonilcianido-m-chlorofenilhidrazono (CCCP). Veikiant CCCP, elektronai pernešami kvėpavimo grandine deguoniui, bet ATP sintezė nevyksta.

Mitochondrijų kvėpavimo greitis išreikštas nmolO/min/mg mitochondrijų baltymo.



2.1 pav. Širdies mitochondrijų kvėpavimo (deguonies suvartojimo) registravimo kreivė, oksiduojant mitochondrijoms piruvatą + malatą.

Mitochondrijų kvėpavimas buvo registruojamas standartinėje mitochondrijų kvėpavimo matavimo terpėje. Substratai: 5 mM piruvato + 5 mM malato. Priedai: O– mitochondrijos (0,5 mg baltymo/ml); A1- 1 mM ADP; A2- 0,12 mM atraktilozido; A3 – 32 μ M citochromo c

Paaiškinimas: į matavimo terpę įvedus 0,5 mg/ml mitochondrijų ir substratą, registruojama antroji mitochondrijų metabolinė būseną (būsena, kai terpėje yra deguonies, oksiduojamo substrato ir mitochondrijų). Į terpę įvedus prisotinančią ADP (200 μ M-1mM) koncentraciją, mitochondrijos pereina į trečiąją metabolinę būseną (V_3), nes ATP-sintazė pradeda fosforilinti ADP, naudodama membraninį potencialą. Trečioje metabolinėje būsenoje mitochondrijų kvėpavimo greitį lemia mitochondrijų kvėpavimo grandinės kompleksų ir ATP sintazės aktyvumas, o membranos laidumas protonams turi tik santykinai nedidelę (~10 proc.) įtaką. Pridėjus atraktilozido, kuris yra ADP/ATP-nešiklio inhibitorius, mitochondrijos pereina į ketvirtą metabolinę būseną (V_{ATR}). Mitochondrijų kvėpavimo greičio stimuliavimas pridėjus į terpę citochromo c, rodo mitochondrijų išorinės membranos pažeidimą, kadangi mitochondrijos, kurių išorinė mitochondrijų membrana yra nepažeista, yra nepralaidžios egzogeniniam citochromui c. Mitochondrijų kvėpavimo kontrolės koeficientas (KKK, angl. RCI, respiratory control index) nustatomas pagal deguonies sunaudojimo greitį trečioje ir antroje metabolinėse būsenose ($KKK = V_3/V_2$) ir atspindi mitochondrijų oksidacinio fosforilinimo pajėgumą, tai yra pajėgumą sintetinti ATP. Kuo didesnis mitochondrijų kvėpavimo kontrolės koeficientas, tuo yra geresnė mitochondrijų funkcinė būseną.

Tyrimams naudoti *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* etanolinis (PCE), *P. frutescens* etanolinis (PFE) ir *P. frutescens* vandeninis (PFV) ekstraktai. PCE ir PFE ekstraktų 14,6 mg tirpinami 1 ml vandens. PFV ekstrakto 7,5 mg tirpinami 100 µl. Į matavimo kiuvetę ekstraktai pridedami skirtingais kiekiais (PCE – 1 µl, 2 µl, 5 µl, 7,5 µl, 20 µl; PFE – 1 µl, 2 µl, 5 µl, 20 µl, 35 µl; PFV – 1 µl, 2 µl, 4 µl, 6 µl, 8 µl, 10 µl). Galutiniai junginių kiekiai esantys 1 mililitre kiuvetės pateikiami 2.2, 2.3, 2.4 lentelėse.

2.2 lentelė. Fenolinių junginių kiekis µg/ml įdėjus 1 µl, 2 µl, 5 µl, 7,5 µl, 20 µl PCE į 1,58 ml matavimo terpės

PCE ekstraktas	Kiekis, µg/ml				
Junginiai	1 µl	2 µl	5 µl	7,5 µl	20 µl
Apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas	0,02	0,04	0,09	0,14	0,37
Liuteolin-7-O-gliukuronidas	0,04	0,08	0,19	0,28	0,75
Apigenin-7-O-digliukuronidas	0,14	0,27	0,68	1,03	2,74
Skutelarein-7-O-gliukuronidas	0,06	0,12	0,29	0,44	1,17
Rozmarino rūgštis	0,22	0,44	1,10	1,64	4,39
Chlorogeno rūgštis	0,01	0,01	0,03	0,05	0,12
Kavos rūgštis	0,01	0,01	0,04	0,05	0,14

2.3 lentelė. Fenolinių junginių kiekis µg/ml įdėjus 1 µl, 2 µl, 5 µl, 20 µl, 35 µl PFE į 1,58 ml matavimo terpės

PFE ekstraktas	Kiekis, µg/ml				
Junginiai	1 µl	2 µl	5 µl	20 µl	35 µl
Apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas	0,02	0,04	0,11	0,44	0,77
Liuteolin-7-O-gliukuronidas	0,25	0,49	1,24	4,94	8,65
Apigenin-7-O-digliukuronidas	0,11	0,21	0,53	2,10	3,68
Skutelarein-7-O-gliukuronidas	0,09	0,19	0,47	1,89	3,31
Rozmarino rūgštis	0,21	0,42	1,06	4,24	7,41
Chlorogeno rūgštis	0,00	0,00	0,01	0,05	0,09
Kavos rūgštis	0,01	0,03	0,07	0,28	0,49
Cianidinas	0,01	0,02	0,05	0,20	0,36

2.4 lentelė. Fenolinių junginių kiekis $\mu\text{g/ml}$ įdėjus 1 μl , 2 μl , 4 μl , 6 μl , 8 μl , 10 μl PFV į 1,58 ml matavimo terpės

PFV ekstraktas	Kiekis, $\mu\text{g/ml}$					
Junginiai	1 μl	2 μl	4 μl	6 μl	8 μl	10 μl
Apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas	0,20	0,39	0,78	1,17	1,57	1,96
Liuteolin-7-O-gliukuronidas	1,43	2,87	5,74	8,60	11,47	14,34
Apigenin-7-O-digliukuronidas	0,30	0,60	1,20	1,79	2,39	2,99
Skutelarein-7-O-gliukuronidas	0,50	1,01	2,02	3,03	4,04	5,05
Rozmarino rūgštis	1,54	3,08	6,17	9,25	12,34	15,42
Chlorogeno rūgštis	0,01	0,02	0,05	0,07	0,09	0,11
Kavos rūgštis	0,08	0,16	0,33	0,49	0,66	0,82
Cianidinas	0,19	0,38	0,76	1,14	1,52	1,90

Etaloninis rozmarino rūgšties tirpalas pagamintas tirpinant rozmarino rūgštį vandenyje (0,35 mg/ml).

Tyrimų duomenų statistinis įvertinimas. Duomenys analizuojami naudojant statistinius duomenų analizės paketus SPSS 11.0, Graph Pad Prism 5 ir Microsoft Excel. Augimo dėsningumų rodikliai apskaičiuoti naudojantis Hunt et al. metodika [116].

Nagrinėjamas tiesinis ir polinominis regresijos modeliai. R^2 ir Mano – Vitnio kriterijus – p reikšmė gauta, tikrinant hipotezę apie regresijos netiesiškumą. Koreliacinio ryšio stiprumas įvertintas Pirsono koreliacijos koeficientu (R) [53, 54]. Lyginant augalų morfometrinius duomenis bei masių kiekius vegetacijos metu taikyti neparametriniai Mano-Vitnio, Kruskalo-Woliso kriterijai nepriklausomoms imtims [53, 54].

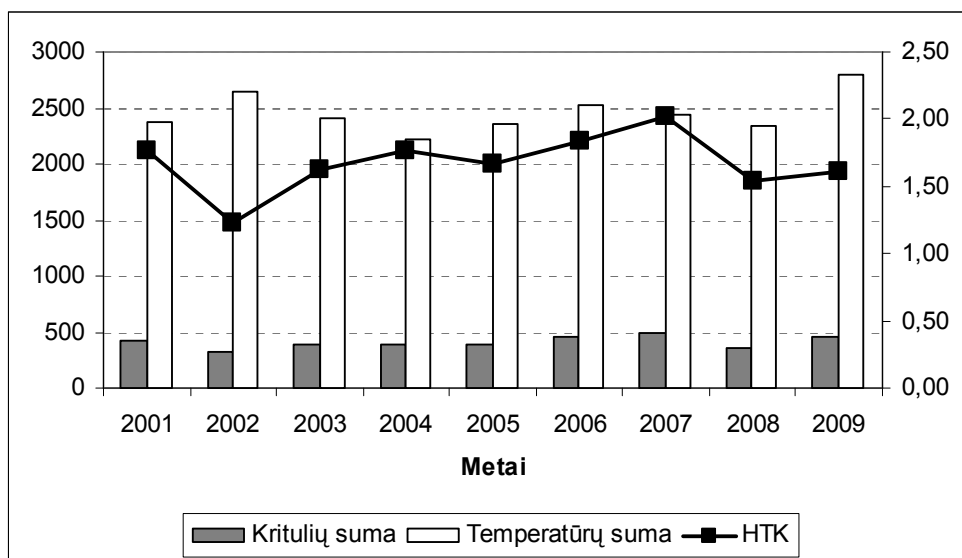
P. frutescens var. *crispa* f. *viridis* ir *P. frutescens* žolės ekstraktų poveikio žiurkės širdies mitochondrijų funkcijai tyrimų duomenims apskaičiuoti vidurkiai ir standartinės paklaidos. Skirtumai tarp vidurkių įvertinti Stjudento t kriterijumi poriniams bandymams. Pasirinktas reikšmingumo lygmuo $\alpha=0,05$.

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1 *Perilla* L. rūšių ir varietetų fenologiniai stebėjimai

Geografinėse platumose, kur yra ryški sezonų kaita, gyvosios gamtos sezoniniai ritmai atitinka meteorologinių sąlygų kitimą. Sistemingai keičiantis palankiems ir nepalankiems augalų vegetacijos periodams, pakaitomis kartojasi augalų vegetacijos ir biologinės ramybės fazės. Kiekvienos rūšies augalai turi savitą sezoninio vystymosi ritmą. Tai nuosekli fenologinių tarpsnių (vegetacijos pradžia, intensyvus augimas, butonizacija, žydėjimo pradžia, masinio žydėjimo pradžia, masinio žydėjimo pabaiga, žydėjimo pabaiga, sėklų brandos pradžia, sėklų brandos pabaiga, vegetacijos pabaiga) kaita per visą augalo gyvenimą, o vegetacijos ritmas – jų kaita per vieną vegetacijos laikotarpį [218, 377].

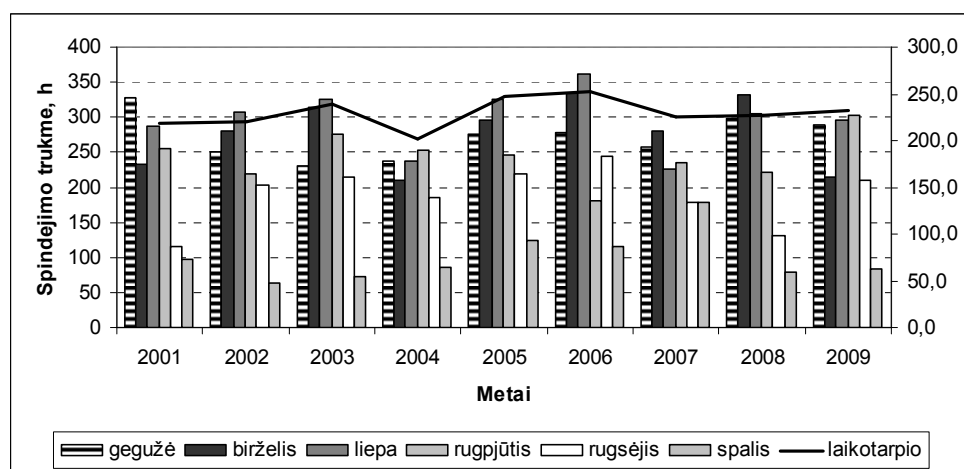
Tyrimo laikotarpiu (2001–2009 metais) vidutinių paros oro temperatūrų, kritulių kiekio ir hidroterminio koeficiento kitimai pateikti 3.1.1 ir 3.1.2 pav. Minimalus kritulių kiekis (326 mm) fiksuotas 2002 metais, maksimalus – 2007 metais – 495 mm. Didžiausia aktyvių paros oro temperatūrų suma fiksuota 2009 metais (2798,8°C).



3.1.1 pav. Meteorologinių veiksnių dinamika 2001–2009 m.
(aktyvių paros oro temperatūrų suma $\Sigma T^{\circ}\text{C}$, kritulių suma mm ir hidroterminis koeficientas HTK).

Vienas iš reikšmingiausių agrometeorologinių rodiklių, apibūdinančių augalų vegetacijos periodo sąlygas, yra drėkinimo rodiklis. Jam apibūdinti dažniausiai naudojamas G.Seleninovo pasiūlytas hidroterminis koeficientas. Jeigu $HTK \geq 1,6$ – perteklinis drėgnumas, $HTK = 1,5-1,0$ – optimalus drėgnumas, $HTK = 0,9-0,8$ – silpna sausra, $HTK = 0,7-0,6$ – vidutinė sausra, $HTK = 0,5-0,4$ – stipri sausra, $HTK < 0,4$ – labai stipri sausra.

2001–2009 metų vegetacijos periodo (gegužės–spalio mėnesiai) laikotarpiu hidroterminis koeficientas kito nuo optimalaus drėgnumo sąlygų 1,24 – 2002 metais, iki perteklinio drėgnumo sąlygų 2,03 – 2007 metais. Vertinant vegetacijos periodo atskirų mėnesių hidroterminius koeficientus matyti, kad kritulių ir oro temperatūrų sumos santykis įvairuoja nuo stiprios sausras iki perteklinio drėgnumo sąlygų, nors viso laikotarpio HTK išlieka optimalaus ar perteklinio drėgnumo intervaluose. Didelę reikšmę augalų augimui bei derliui turi ir saulės spindėjimo trukmė, kuri išreiškiama valandomis.



3.1.2 pav. Saulės spindėjimo valandomis trukmė vegetacijos laikotarpiu (gegužės–spalio mėn.) 200–2009 m.

Tiesioginė saulės šviesa geriau šildo dirvos paviršių, aktyvina fotosintezės procesą. Saulės tiesioginis spindėjimas ilgiausiai trunka gegužės–rugsjūčio mėnesiais (vidutiniškai per mėnesį 240-260 valandų). Kaip tik šiuo laikotarpiu augalai intensyviausiai auga ir formuoja antžeminę dalį. Saulės tiesioginio spindėjimo trukmė tiesiogiai priklauso nuo dienos ilgumo, bet ženkliai dalimi ir nuo debesuotumo, kada žemė gauna išsklaidytą saulės šviesą [10]. Pagal daugiamečius duomenis tiesioginis saulės spindėjimas vidutiniškai trunka apie 38 proc. žemės paros laiko, t.y. apie 9 valandas. 2001–2009 metų tyrimo laikotarpiu saulė spindėjo vidutiniškai 230 valandų.

Daugiausia valandų saulė spindėjo 2005 ir 2006 metais – 250 valandų, mažiausiai spindėjo 2004 metais – 201 valandą (3.1.2 pav.).

3.1.1 *P. frutescens* augalų fenologiniai stebėjimai

Atlikus *P. frutescens* augalų (toliau tekste – PF) 2001–2009 m. fenologinių stebėjimus nustatyta, kad vegetacijos pradžia – 127–157 metų dienomis, intensyvus augimas – 149–229 metų dienomis. PF augimą galima apibūdinti pritaikant antro laipsnio polinominės regresijos modelį. Netiesinė regresijos kreivė gerai moduliuoja augalo augimą ir vystymąsi, biocheminių procesų dinamiką. Taikant regresijos lygtį galima prognozuoti PF antžeminės dalies organų produktyvumą, jų kitimus vegetacijos tarpsniais [100, 267]. Taikant Kruskalo-Voliso kriterijų, atlikta 2004–2009 m. rezultatų palyginamoji analizė. Apskaičiuotos galutinės laikotarpio polinominės regresinės lygtys, kurios įgalina prognozuoti vidutinės modelinės Lietuvoje augančių PF augalų antžeminės dalies augimą vegetacijos metu (3.1.1.1 lentelė).

3.1.1.1 lentelė. *Perilla frutescens* antžeminės dalies aukščio (cm), antžeminės dalies santykinio projekcijos ploto (cm²), lapų skaičiaus (vnt.), ilgio (cm) bei pločio (cm) polinominės regresijos lygtys 2004–2009 m.

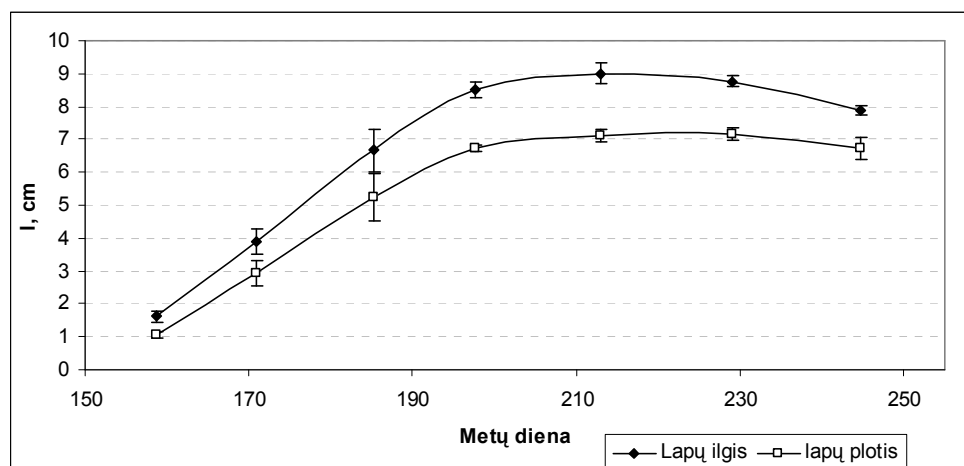
	Lygtis	R ²	p
Augalų aukštis	$y = 0,0081x^2 - 2,298x + 164,36$	0,999	<0,001
Antžeminės dalies projekcijos plotas	$y = 0,3067x^2 - 85,868x + 5843,2$	0,982	<0,001
Lapų skaičius	$y = 0,1026x^2 - 36,083x + 3163,5$	0,992	<0,001
Lapų ilgis	$y = -0,0021x^2 + 0,9161x - 91,35$	0,993	<0,001
Lapų plotis	$y = -0,0016x^2 + 0,7005x - 70,583$	0,993	<0,001

3.1.1.1 lentelėje pateikiami PF augalų aukščio ir antžeminės dalies projekcijos ploto kitimai vegetacijos periodo metu nuo vegetacijos pradžios gegužės pabaigoje – birželio pradžioje iki masinio žydėjimo pradžios rugpjūčio viduryje – rugsėjo pradžioje. Augalo aukštis ir antžeminės dalies santykinis projekcinis plotas didėja 173–230 metų dienomis (birželio mėn. – rugpjūčio mėn.), t. y. iki augalų žydėjimo pradžios tarpsnio, o stabilizuojasi 230–250 metų dienomis (rugpjūčio vid. – rugsėjo mėn.), nuo augalų masinio žydėjimo iki vaisių pilnos brandos tarpsnio.

Išanalizavus 2004–2009 m. tyrimų duomenis, nustatyta, kad PF augalų morfometriniai parametrai priklauso nuo meteorologinių veiksnių. Nustatyta aukščio, antžeminės dalies santykinio projekcijos ploto ir hidroterminio

koeficiento priklausomybė. Augalų aukštis ($R^2=0,657$; $R=0,811$; $p=0,050$) ir antžeminės dalies santykinis projekcijos plotas ($R^2=0,756$; $R=0,870$; $p=0,024$) pasiekia maksimalias reikšmes esant pertekliniam drėgnumui, kai HTK siekia 1,8.

Tirti lapų morfologiniai požymiai – skaičius, ilgis, plotis (3.1.1.1 lentelė). Augalų lapų skaičius didėja iki masinio žydėjimo. Apibendrinus 2004–2009 m. tyrimų duomenis nustatyta, kad modeliniai augalai vidutiniškai užaugina 487 lapus. Minimalus lapų skaičius fiksuotas 2005 m. – 270 lapų, daugiausiai lapų (648 lapai) augalas užaugino 2006 tyrimo m. Didžiausias lapų skaičius nustatytas žydėjimo pradžioje ir masinio žydėjimo metu. Intensyvaus augimo pabaigoje, 209 – 233 metų dieną, PF lapų ilgis ir plotis pasiekia maksimalias reikšmes (3.1.1.1 pav.).



3.1.1.1 pav. *P. frutescens* augalų lapų ilgio ir pločio (l, cm) augimo dinamika vegetacijos metu

Panašūs eksperimentinių tyrimų duomenys gauti Egipte atlikto tyrimo metu [240]. Masinio žydėjimo pradžioje lapų ilgis ir plotis sumažėja, nes augalas, ontogenezės pradžioje intensyviai vykdamas vegetatyvinį augimą, antroje ontogenezės pusėje jį sulėtina ir intensyviai formuoja generatyvinius organus. Intensyvaus augimo metu angliavandeniai transportuojami iš lapų, kuriuose jie sintetinami, į naujai besivystančius lapus. Butonizacijos ir žydėjimo tarpsnių metu angliavandenių transportas nukreipiamas į šakas, kur formuojami žiedynai. Didėjantis transportas šakose siejamas su padidėjusiu išteklių poreikiu besivystančioms struktūroms sutampa su žydėjimo ir vaisių brandos laikotarpiu [261]. Optimalus vaistinės žaliavos *Perillae folium* ruošimo laikas yra, kai augalų lapų skaičius, ilgis ir plotis pasiekia maksimalias reikšmes, t.y. – 220–233 metų dienomis.

PF yra tipiškas trumpos dienos augalas, kuris žydi, kai nakties trukmė yra specifinio ilgumo ir optimali rūšiai [90]. Lietuvoje ši rūšis pradeda žydėti, kai naktis trunka 10 valandų (rugpjūčio pabaigoje). Egipte PF žydi, esant tokiai pačiai nakties trukmei liepos mėnesį [240].

Vertinant meteorologinių veiksnių įtaką PF augalų augimui, vegetacijos ritmikai nustatyta, kad anksčiausiai vegetacija prasideda esant optimalioms klimatinėms sąlygoms augalų augimui, kai $HTK = 1,60-1,80$, t.y. perteklinis gausus drėgnumas. Vėlyva vegetacijos pradžia – ekstremalios augimui sąlygos, kai $HTK = 0,8$, t.y. drėgnumas nepakankamas [267]. Nustatyta, kad PF augalams yra būdingas trumpas 5-6 dienų butonizacijos tarpsnis – 224–230 metų dienomis. Augalų masinis žydėjimas fiksuojamas 238–250 metų dienomis, vidutiniškai trunka 22 dienas: maksimaliai – 27, minimaliai – 16. Žydėjimo fenologijai daugiausia įtakos turi fotoperiodizmas ir aplinkos klimatiniai veiksniai [356]. PF augalų masinis žydėjimas prasideda anksčiausiai, kai $HTK = 1,20$ ir vėliausiai, kai $HTK = 1,80$. Nustatytas augalų masinio žydėjimo tarpsnio ir hidroterminio koeficiento stiprus tarpusavio koreliacinis priklausomumas ($R^2 = 0,960$ $R = -0,978$ $p = 0,04$) [267].

Augalų fenologinių tarpsnių laikas ir trukmė yra labai svarbūs augalo augimo ir vystymosi procesams. PF augalų sėklos bręsta 260–280 metų dienomis. Literatūros duomenimis, sėklos pasiekia brandą, praėjus 6 savaitėms po pirmo sužydėjimo [33]. Lietuvos klimato sąlygomis nuo augalų žydėjimo pradžios iki sėklų brandos praeina vidutiniškai 37,5 dienos, t.y. apie 5,4 savaitės. Sėklų brandos pradžia ir trukmė priklauso nuo oro temperatūrų sumos ($R^2 = 0,8657$; $R = -0,930$; $p = 0,05$). Esant aukštesnei paros temperatūrų sumai, sėklų brandinimas prasideda anksčiau. Nustatyta sėklų brandos trukmės ir žydėjimo trukmės priklausomybė ($R^2 = 0,628$; $R = -0,792$; $p = 0,006$). Augalų vegetacijos ciklo pabaiga spalio-lapkričio mėnesiais. PF augalai greičiau pereina savo vegetacijos fazes, esant didesnei temperatūrų sumai ($R^2 = 0,782$; $R = 0,884$; $p = 0,1$).

Augalų žydėjimo tarpsnis turi tamprų ryšį su sėklų brandos tarpsniu [76, 261]. Augalai, pražydėję anksčiau, sukaupia nepakankamą pirminių ir antrinių metabolitų kiekį, kuris reikalingas pilnai sėklų brandai. Jei žydėjimo tarpsnis fiksuojamas vėliau, sėklų brandai sukaupiama daugiau energetinių resursų, bet jų branda gali būti sutrikdoma dėl besibaigiančio augimo sezono [72, 261].

3.1.2 *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* augalų fenologiniai stebėjimai

P. frutescens var. *crispa* f. *viridis* (toliau tekste – PC) augalų auginimo tyrimai atlikti 2007 – 2008 m. Nustatyta, kad PC augalų vegetacijos pradžia 157 metų dieną, intensyvus augimas masinio atžėlimo tarpsnyje trunka nuo 171 metų dienos iki 262 metų dienos. PC augimui apibūdinti pritaikytas antro laipsnio polinominės regresijos modelis (3.1.2.1 lentelė).

3.1.2.1 lentelė. *Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis* antžeminės dalies aukščio (cm), antžeminės dalies santykinio projekcijos ploto (cm²), lapų skaičiaus (vnt.), ilgio (cm) bei pločio (cm) polinominės regresijos lygtys 2007–2008 m.

	Lygtis	R ²	p
Augalų aukštis	$y = 0,0088x^2 - 2,4426x + 168,58$	0,9808	<0,0001
Antžeminės dalies projekcijos plotas	$y = 1,1734x^2 - 390,08x + 32416$	0,9949	<0,0001
Lapų skaičius	$y = 0,3589x^2 - 130,03x + 11670$	0,9385	=0,002
Lapo ilgis	$y = -0,0019x^2 + 0,8638x - 88,357$	0,9841	<0,0001
Lapo plotis	$y = -0,0014x^2 + 0,6332x - 64,435$	0,9828	<0,0001

PC augalų aukštis ir antžeminės dalies projekcijos plotas išlaiko didėjimo tendenciją iki pat vegetacijos pabaigos. Augalai nežydi ir nebrandina sėklų, PC augimui nebūdingos stabilizavimosi tendencijos. Taikant Mano-Vitnio kriterijų 2007–2008 m. nustatyta, kad PC augalų aukštis ir antžeminės dalies santykinis projekcijos plotas patikimai skiriasi nuo PF, PO augalų iki 231 metų dienos. PF augalams perėjus į žydėjimo pradžios tarpsnį, PC augalų aukštis ir antžeminės dalies projekcijos plotas vegetacijos eigoje pasiekia maksimalias reikšmes. PC augalų aukštis ir antžeminės dalies projekcijos plotas tampa patikimai didžiausi ($p < 0,05$) iš visų 2007–2008 m. stebėtų augalų rūšių ir varietetų (3.1.2.2 lentelė).

3.1.2.2 lentelė. *Perilla L.* rūšių ir varietetų antžeminės dalies santykinis projekcijos plotas (ADSPP, cm²) ir aukštis (h, cm). 2007–2008 m.

<i>Perilla L.</i> rūšys ir varietetai	ADSPP, cm ²	±SE	Aukštis, cm	±SE
<i>P. frutescens</i> (PF)	3628,80	589,59	73,60	0,28
<i>P. frutescens</i> var. <i>crispa</i> f. <i>viridis</i> (PC)	7099,15	169,48	87,40	2,19
<i>P. ocymoides</i> var. <i>bicolorlaciniata</i> (PO)	5633,75	780,14	70,80	2,19

PC augalų santykinis projekcijos plotas 2008 metais didesnis nei 2007. Lapų skaičius intensyviai didėja viso vegetacijos periodo metu. Apibendrinus tyrimų duomenis nustatyta, kad modelinis augalas vidutiniškai užaugina 1134 lapus. 2008 metais augalas užaugino patikimai didesnę lapų skaičių (1421 ± 82) nei 2007 metais ($847,31 \pm 64$). Lapo ilgio ir pločio statistškai patikimų skirtumų tarp auginimo metų nenustatyta.

Augalų žydėjimo laiką nulemia temperatūra ir dienos trukmė [332]. Jautrumas dienos ilgiui skiriasi *Perilla* L. rūšių ir varietetų augalams [131]. Literatūros duomenimis *Perilla* L. rūšių ir varietetų žaliapės formos yra ne tokios jautrios fotoperioidui kaip raudonosios formos [149]. Egipte atlikto tyrimo metu nustatyta, kad žalioji forma pasiekia žydėjimo tarpsnį praėjus 60 dienų nuo masinio atžėlimo pradžios, tuo tarpu raudonoji forma ima žydėti po 90 dienų [240].

Lietuvoje 2007–2008 m. augintos PC ir PO augalai masinio atžėlimo pabaigoje nežydi ir nesubrandina sėklų. Dienos trukmė veikia ne vien generatyvinių organų vystymąsi, bet ir vegetatyvinių organų augimą. Pailginus paros šviesų periodą skatinamas trumpadienių augalų lapų augimas. Augalui nežy dint gaminamos organinės medžiagos naudojamos augalui augti [103, 261]. 240–280 metų dienomis PC augalų lapų skaičius išlaiko didėjimo tendenciją. Lapo ilgis ir plotis 240–260 metų dienų laikotarpiu nekinta, stebimas nežymus mažėjimas, nes augalas vis dar intensyviai gamina lapus, tik dalis didelių augalo lapų nukrenta [103]. Lapų senėjimą ir kritimą lemia fotosintezės reikalingų baltymų gamybos sumažėjimas [102, 161]. Nustatyta, kad dienos ir nakties ilgumo santykiui tapus optimaliai žiedų formavimuisi, PC augalai pereina į vegetacijos pabaigos tarpsnį. Dėl pernelyg žemų paros oro temperatūrų, sumažėja augalų gyvybingumas, dalis augalų lapų ir stiebų apmiršta ir nukrenta.

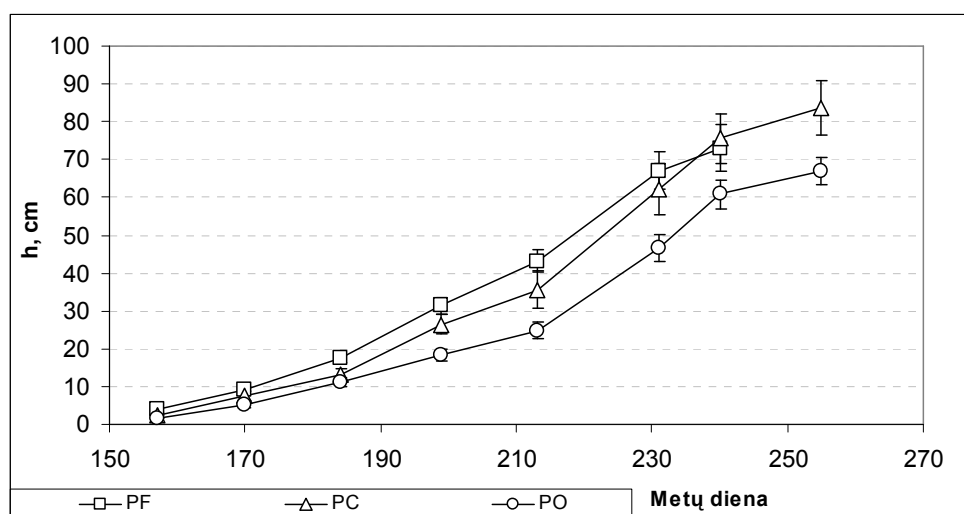
3.1.3 *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* augalų fenologiniai stebėjimai

Perilla ocymoides var. *bicolorlaciniata* (PO) augalų fenologiniai stebėjimai atlikti 2007–2008 m. PO augalų vegetacijos pradžia 157 metų diena, intensyvus augimas trunka nuo 171 metų dienos iki 262 metų dienos. PO augimui pritaikytas antro laipsnio polinominės regresijos modelis (3.1.3.1. lentelė).

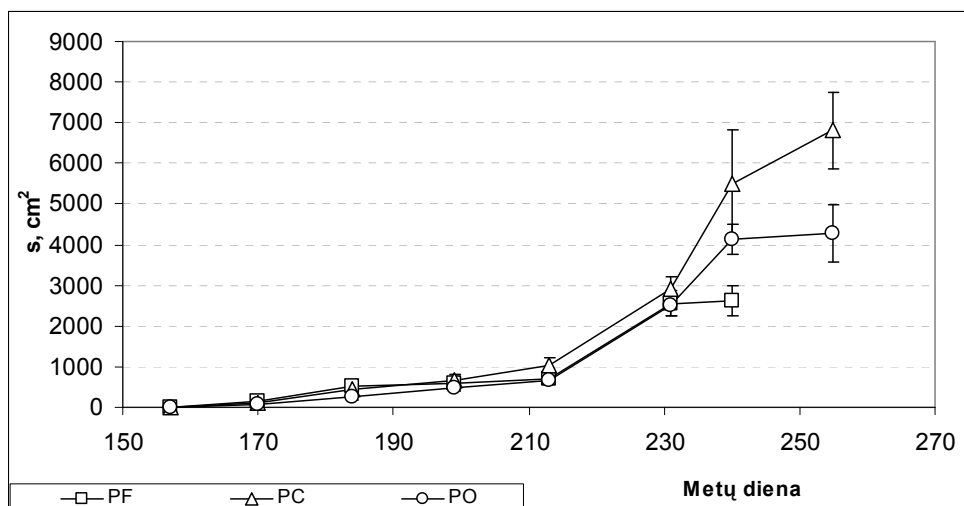
3.1.3.1 lentelė. *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* antžeminės dalies aukščio (cm), antžeminės dalies santykinio projekcijos ploto (cm²), lapų skaičiaus (vnt.), ilgio (cm) bei pločio (cm) polinominės regresijos lygtys 2007–2008 m.

	Lygtis	R ²	p
Augalų aukštis	$y = 0,0075x^2 - 2,1945x + 161,86$	0,992	<0,0001
Projekcijos plotas	$y = 0,9986x^2 - 336,38x + 28260$	0,991	<0,0001
Lapų skaičius	$y = 0,2106x^2 - 75,618x + 6735$	0,971	<0,0001
Lapo ilgis	$y = -0,0015x^2 + 0,6736x - 68,984$	0,994	<0,0001
Lapo plotis	$y = -0,0012x^2 + 0,5432x - 55,491$	0,971	<0,0001

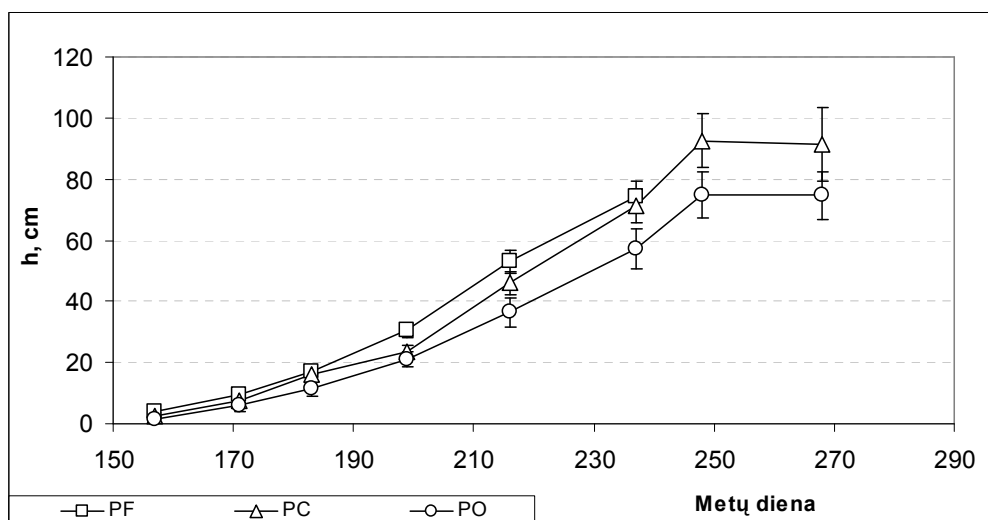
Augalų aukštis ir antžeminės dalis projekcijos plotas išlaiko didėjimo tendencijas viso vegetacijos periodo metu (3.1.3.1 lentelė). Iki 231 metų dienos PO augalų aukštis ir antžeminės dalies projekcijos plotas patikimai mažiausi iš visų tirtų *Perilla* L. rūšių ir varietetų 2007 m. (3.1.3.1; 3.1.3.2 pav.). PO augalų aukštis ir antžeminės dalies santykinis projekcijos plotas tendencingai didėja iki vegetacijos pabaigos. 2008 tyrimo m. PO augalų aukštis patikimai mažiausias (3.1.3.3 pav.), bet projekcijos ploto skirtumų nuo kitų augalų nenustatyta. Palyginus 2007–2008 m. PO augalų duomenis, nustatyta, kad nuo 213 metų dienos augalų aukštis ir antžeminės dalies projekcijos plotas patikimai didesni 2008 m. (3.1.3.2 lentelė).



3.1.3.1 pav. *Perilla* L. rūšių ir varietetų (PF, PC, PO) antžeminės dalies aukščio (h, cm) augimo dinamika vegetacijos metu 2007 m.



3.1.3.2 pav. *Perilla L.* rūšių ir varietetų (PF, PC, PO) antžeminės dalies santykinio projekcijos ploto (s , cm^2) augimo dinamika vegetacijos metu 2007 m.



3.1.3.3 pav. *Perilla L.* rūšių ir varietetų (PF, PC, PO) antžeminės dalies aukščio (h , cm) augimo dinamika vegetacijos metu 2008 m.

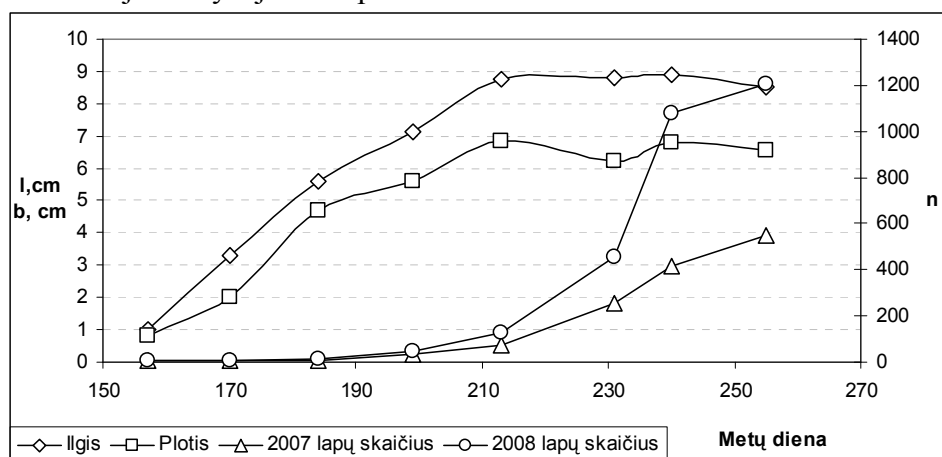
3.1.3.2 lentelė. *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* augalų aukščio (h , cm) ir antžeminės dalies santykinio projekcijos ploto (ADSPP, cm^2) palyginimas 2007–2008 m.

Metų diena	Aukštis, cm		p	ADSPP, cm^2		p
	2007	2008		2007	2008	
157	1,74	1,74	>0,05	3,23	3,6	>0,05
170	5,35	6,15	>0,05	57,4	60,3	>0,05
184	11,15	11,3	>0,05	239,8	271,6	>0,05
199	18,5	21	>0,05	469,2	921,7	>0,05
213	24,9	36,5	0,0001*	672,7	2492,6	0,0001*
231	46,5	57,3	0,003*	2526,1	4648,5	0,0001*
240	60,8	74,8	0,005*	4146	6194,6	0,005*
255	67	74,6	0,05	4282,5	6985	0,003*

* $p < 0,05$.

Vegetacijos periodo metu, lyginant su kitų *Perilla* L. rūšimis ir varietetais, 2007 metais PO augalai užaugino mažiausią lapų skaičių iki 240 metų dienos. Vegetacijos pabaigoje PO augalai užaugino 549 lapus. 2008 m. užaugintų lapų skaičiaus vegetacijos pabaigoje statistiškai aptikimai didesnis – 1204 lapai (3.1.3.4 pav.). 2007–2008 m. tirtų augalų lapų ilgiai ir pločiai nesiskiria, rugpjūčio pradžioje jie pasiekia maksimalias stabilias reikšmes iki vegetacijos pabaigos (3.1.3.4 pav.).

PO žydėjimui optimalus laikas pasiekiamas augimo sezono pabaigoje ir, dėl pernelyg žemų paros oro temperatūrų, augalai baigia vegetaciją neperėję butonizacijos ir žydėjimo tarpsnio.



3.1.3.4 pav. *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* augalų lapų ilgio (l , cm) ir pločio (b , cm) bei lapų skaičiaus (n) dinamika vegetacijos metu

3.1.4 *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* augalų fenologiniai stebėjimai

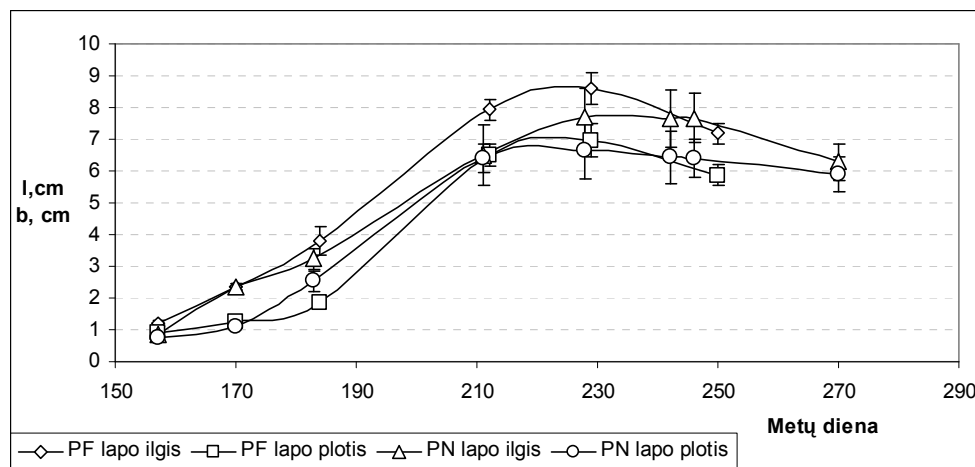
Apibendrinus 2008–2009 m. fenologinių stebėjimų rezultatus nustatyta, kad *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* (PN) augalų vegetacijos pradžia – 157 metų dieną. Intensyvus augimas prasideda 171 metų dieną. Intensyvus augimas vyksta 171–260 metų dienomis. PF augalai greičiau prisitaiko augimui lauko sąlygomis nei PC, PO ir PN. Intensyvaus augimo tarpsnis nustatytas iki butonizacijos tarpsnio pradžios. Augalai, kuriems pažysta vėliau, turi ilgesnį intensyvaus augimo tarpsnį. PN augimui pritaikytas antro laipsnio polinominės regresijos modelis (3.1.4.1 lentelė).

3.1.4.1 lentelė. *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* antžeminės dalies aukščio (cm), antžeminės dalies santykinio projekcijos ploto (cm²), lapų skaičiaus (vnt.), ilgio (cm) ir pločio (cm) dinamikos polinominės regresijos lygtys 2009 m.

	Lygtis	R ²	p
Augalų aukštis	$y = 0,004x^2 - 0,9515x + 52,324$	0,9761	<0,0001
Antžeminės dalies projekcijos plotas	$y = 0,4293x^2 - 148,13x + 12709$	0,9374	<0,001
Lapų skaičius	$y = 0,0588x^2 - 20,88x + 1842,7$	0,9429	<0,001
Lapo ilgis	$y = -0,001x^2 + 0,4837x - 50,918$	0,9732	<0,0001
Lapo plotis	$y = -0,0009x^2 + 0,4236x - 45,188$	0,9437	<0,001

PO, PC, PN ir PF šio modelio atitikimas pagrįstas determinacijos koeficientu, kuris svyruoja nuo 0,900 iki 0,999. Visos polinominės lygtys (3.1.1.1; 3.1.2.1; 3.1.3.1, 3.1.4.1 lentelės) statistiškai patikimos ($p \leq 0,01$ – 0,0001). 3.1.4.1. lentelėje pateikiamos PN augalų antžeminės dalies organų kitimų lygtys vegetacijos periodo metu nuo vegetacijos pradžios gegužės pabaigoje iki masinio žydėjimo 280 metų dienos spalio pradžioje. PN vegetacijos eigoje fiksuojami visi vegetacijos tarpsniai, todėl jos augimo tendencijos atitinka PF augalų augimą. Augalų aukštis ir antžeminės dalies projekcinis plotas didėja 173–270 metų dienomis iki augalų žydėjimo pradžios tarpsnio ir stabilizuojasi 270–304 metų dienomis, nuo augalų masinio žydėjimo iki vegetacijos pabaigos tarpsnio. Žydėjimo pradžioje PN augalų lapų skaičius – 465. Lyginant 2009 metais augintų PN ir PF augalų morfometrinius duomenis, nenustatyti aukščio ir projekcinio ploto skirtumai. Lapų ilgis ir plotis didėja nuo vegetacijos pradžios iki 230 metų dienos (rugpjūčio vidurys). Skirtingai nuo PF augalų, kurių lapų morfometriniai parametrai tampa didžiausi masinio žydėjimo metu, PN augalų lapų ilgis ir

plotis stabilizuojasi intensyvaus vegetatyvinio augimo metu. Žydėjimo pradžioje, 270 metų dieną, lapų ilgiai ir pločiai sumažėja (3.1.3.1 pav.). Lapai intensyvina augalų fotosintezę, palaikydami naujų lapų augimą. Lapo vertė augalui mažėja su amžiumi, nes sumažėja fotosintezės intensyvumas ir mažiau įtakojamas naujų lapų augimas [261].



3.1.4.1 pav. *P. frutescens*– PF ir *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* – PN lapo ilgio (l, cm) ir pločio (b, cm) dinamika vegetacijos metu 2009 m.

Lietuvoje žydi tik *Perilla* L. rūšių ir varietetų raudonosios morfoformos. PN augalų žydėjimas prasideda vidutiniškai 40 dienų vėliau nuo PF augalų žydėjimo laiko – 271 metų dieną. PN žydėjimas, kaip ir PF, trunka 20 dienų. Dėl besibaigiančio augimo sezono ir nepalankių sąlygų augimui sėklų brandos tarpsnis yra trumpas, prasideda vegetacijos pabaigos tarpsnis ir 301–305 metų dieną augalai baigia savo vegetaciją pilnai nesubrandinę sėklų. Perilių augalų lapų kritimą lemia ne tik lapo senėjimo procesai, bet ir sėklų branda [261].

Atliekant morfometrinius augalų antžeminės dalies tyrimus, nustatyta, kad PC augalai yra aukštesni ir jų antžeminė dalis geriausiai ($p > 0,05$) išsivysčiusi lyginant su kitais tirtais *Perilla* L. rūšimis ir varietetais. Tyrimų rezultatai leidžia prognozuoti *Perilla* L. rūšių ir varietetų antžeminės dalies organų produktyvumą, jų kitimus vegetacijos tarpsniais. Augalų morfometriniai parametrai priklauso nuo meteorologinių veiksnių. Augalų aukštis ir antžeminės dalies santykinis projekcijos plotas pasiekia maksimalias reikšmes iki žydėjimo tarpsnio, kai yra perteklinis drėgmės kiekis $HTK=1,95$.

Tirtų *Perilla* L. genties augalų ontogenezei įtakoja augalų ir augimo ypatumus vegetacijos metu. Vienas pagrindinių rodiklių introdukuojant rūšį yra sugebėjimas subrandinti sėklas. Augalo genetinė kilmė, augimo regulia-

torių kiekis bei ekologiniai faktoriai lemia augalų žydėjimo bei brandos terminus. Augalų ontogenezės trečiąjį etapą – žiedų formavimą ir vaisių brendimą lemia daugelis aplinkos ir genetinių faktorių. Trumpadienių augalų žydėjimui reikalingas tam tikras specifinis dienos ir nakties trukmės santykis. Skirtingiems *Perilla* L. rūšių varietetams šis laikas įvairuoja [131]. Lietuvos klimato sąlygomis PF augalų vegetacijos eigoje fiksuojami visi vystymosi ciklo etapai. Jų sėklų brandos tarpsnis apima 95–100 proc. augalų ir baigiasi aplinkos sąlygoms vis dar esant palankioms augimui. PN augalų vegetacijos eigoje sėklų brandos tarpsnis fiksuojamas, tačiau jis yra trumpas ir neefektyvus sutampa su vegetacijos pabaiga. Surinktų sėklų kiekis nepakankamas sėkmingam PN augalų auginimui Lietuvoje. PO ir PC augalų vegetacijoje nefiksuojamas trečiasis ontogenezės etapas, todėl jų auginimas Lietuvos klimato sąlygomis yra neefektyvus.

3.2 *Perilla* L. rūšių ir varietetų augimo ypatumai vegetacijos metu

Introdukuojamų augalų prisitaikymas prie naujų aplinkos sąlygų priklauso nuo jo savybių susijusių su augimo greičiu, maistinių medžiagų panaudojimo efektyvumu, atsparumu žolėdžiams ir sėklų produkcija bei sklaida [278]. Augimas ir vystymasis – svarbiausi fiziologiniai procesai, nuo kurių priklauso augalų produktyvumas. Siekiant didesnio produktyvumo, būtina šiuos procesus pažinti ir tirti. Augimo greitis priklauso nuo fotosintezės, ūglių augimo ir lapų ploto. Vegetacijos metu charakterizuojamas net tik aplinkos veiksnių ir ontogenezės stadijos įtakojamas augalų augimas, bet ir šių veiksnių įtaka augalų organų morfologijai bei sintetinamų metabolitų pasiskirstymui. Remiantis augimo rodiklių ir augalo sausos masės diagramų duomenimis galima geriau įvertinti augalo ontogenezės stadijas tyrimo laikotarpiu. Augalų augimo analizė padeda geriau įvertinti augalų vystymąsi, sausos masės produkciją ir antrinių metabolitų pasiskirstymą augaluose [209].

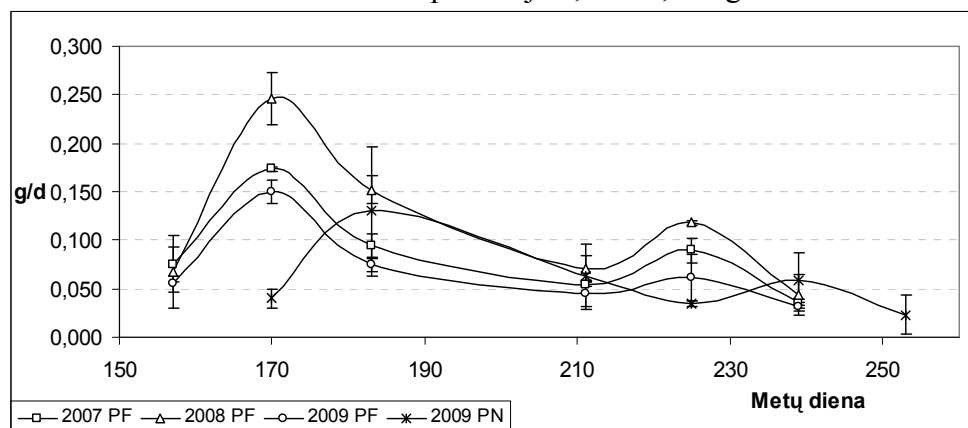
Perilla L. rūšių ir varietetų augimui įvertinti apskaičiuoti augimo rodikliai vegetacijos periodui: santykinis augimo greitis (SAG), bendras asimiliacijos greitis (BAG), lapų ploto santykis (LPS), lapų svorio frakcija (LSF), specifinis lapų plotas (SLP) [243, 329].

Vidutinis santykinis augimo greitis yra augalo sausos masės didėjimo greitis išreikštas sausąja mase, kuri apibūdina augalo produktyvumą [329, 209]. Mokslinėje literatūroje neaptikome eksperimentinių lauko bandymų duomenų apibūdinančių SAG dėsningumus *Perilla* L. genties augaluose. Genetinė kilmė ir aplinkos sąlygos apsprendžia santykinį augimo greitį. Aplinkos veiksniai lemia SAG ir kitų augimo komponentų įvairavimą.

Svarbu tirti augalų augimo ypatumus natūraliuose arealuose arba atliekant lauko bandymus. Dauguma augimo dėsningumų tyrimų atliekama eksperimentuose kontroliuojamoje ir reglamentuojamoje aplinkoje. SAG reikšmės apskaičiuotos lauko bandymo sąlygomis yra žemesnės nei nustatytos tyrimų metu kontroliuojamoje aplinkoje. Kaupiant mokslinių tyrimų rezultatus ir atliekant augimo dėsningumų apibendrinimus atskiroms augalų rūšims, yra labai svarbu atlikti augimo ypatumų tyrimus introdukuojamoms rūšims [340].

SAG pokyčiai vegetacijos metu išlaiko tas pačias tendencijas visu mūsų atlikto tyrimo laikotarpiu (2004–2009 m.). PF augalų SAG dinamikoje pastebimi du maksimumai: vegetatyvinio augimo pradžioje 171 metų dieną (0,246 g/d) ir butonizacijos – žydėjimo metu 225 metų dieną (0,118 g/d). PN augalų SAG dinamikoje maksimumai nustatyti vegetatyvinio augimo metu, 185 metų dieną (0,124 g/d) ir žydėjimo metu, 240 metų dieną (0,062 g/d) (3.2.1 pav.).

Žydėjimo metu SAG pasiekia mažiausias reikšmes, nes žiedynų formavimasis slopina vegetatyvinį augimą [261]. PC, PO augalams, kurių vegetacijos eigoje nenustatytas žydėjimo tarpsnis, SAG dinamikoje pastebimas tik vienas maksimumas atžėlimo pradžioje 0,214–0,248 g/d.



3.2.1 pav. *P. frutescens*– PF ir *P. frutescens* var. *nankinensis* laciniata – PN santykinio augimo greičio SAG (g/d) dinamika vegetacijos metu 2006 – 2009 m.

SAG kitimas priklauso nuo augalų cheminės sudėties įvairavimo. Lėtai augančios augalų rūšys sukaupia daugiau lignino, celiuliozės ir netirpių cukrų. Greitai augančios augalų rūšys sukaupia daugiau organinių azoto junginių, organinių rūgščių ir mineralų [257]. Augimo greitis priklauso nuo lapų produktyvumo ir nuo paties augalo lapingumo [116, 151, 243, 329].

Bendrą asimiliacijos greitį galima apibūdinti kaip lapų produktyvumo efektyvumą skaičiuojant santykį su visu lapų plotu; sausos masės produkcija, išreikšta viso lapų ploto vienetui [117, 209]. BAG apsprendžia santykis tarp anglies atomų skaičiaus susidariusio fotosintezės metu ir prarastų kvėpavimo proceso metu [151]. BAG yra didesnis augalų rūšyse turinčiose mažesni SAG, nes storesni lapai efektyviau vykdo fotosintezę. PN augalų BAG didesnis nei PF augalų vegetacijos periodo metu. PN ir PF perilių vegetacijos eigoje, lapų produktyvumo dinamikoje, ryškių pokyčių nenustatyta. Atskirais tyrimo metais svyravimai atsiranda dėl klimatinių sąlygų pokyčių vegetacijos metu [329]. BAG charakterizuoja klimatinių sąlygų svyravimus augimo metu [329]. 2007 metų perteklinio drėgnumo sąlygomis, (HTK=2,03) visuose tirtuose *Perilla* L. rūšių augaluose nustatytas didesnis BAG, ypatingai vegetacijos pradžioje, intensyvaus augimo tarpsnyje.

Drėgmės nepriteklus mažina fotosintezės greitį, lapų ir šaknų sausos masės kiekį ir reprodukcinių organų vystymąsi [56]. Nustatytas PO ir PC augalų BAG ir SAG koreliacinis priklausomumas (PC: $R^2=0,926$; $R=0,962$; $p=0,0005$; PO: $R^2=0,973$; $R=0,986$; $p=0,000038$). Lapo reikšmė augalui mažėja su amžiumi, nes sumažėja fotosintezės intensyvumas ir tuo mažiau įtakojamas naujų lapų augimas [261]. Senėjančiuose lapuose aprašytas kvėpavimo greičio padidėjimas [102], kas lemia PC ir PO augalų lapų nukritimą ir apsprendžia minimalias BAG reikšmes vegetacijos pabaigoje.

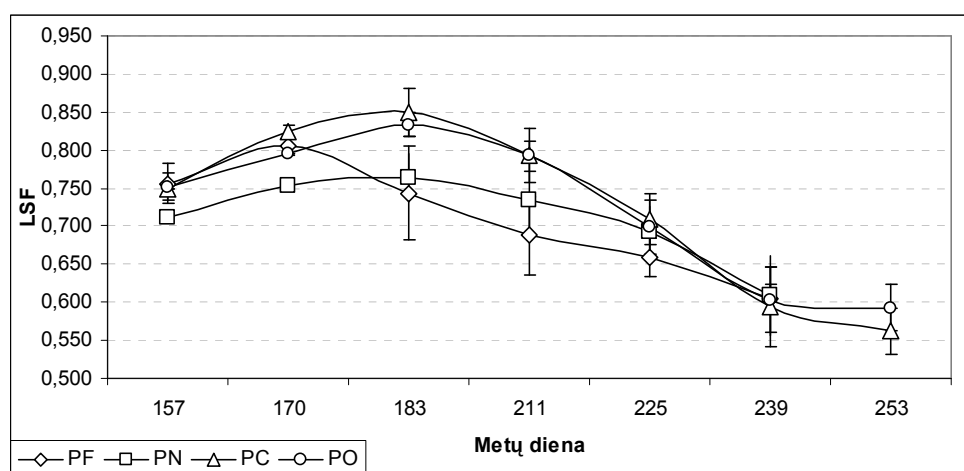
Lapų ploto santykis ir specifinis lapų plotas – augalų organų morfologiniai pokyčiai, įtakoja SAG įvairovę tarp rūšių. LPS apibūdina lapų ploto kiekį, kurį augalas išaugina augalo masės vienetui. Žoliniams augalams LPS maksimumai nustatomi vegetacijos pradžioje [329]. PF perilių LPS maksimalus atžėlimo pradžioje ir išlieka pastovus iki butonizacijos pradžios ir žydėjimo. Augalo išvystomas lapų ploto kiekis masės vienetui mažėja ir tampa minimalus vegetacijos pabaigoje. PC ir PO augalų LPS išlieka tolygus augimo laikotarpiu. LPS skirtumai aiškinami SLP įvairavimu, kuris priklauso nuo aplinkos faktorių ir fotosintetiškai aktyvios spinduliuotės [340, 329].

Temperatūra ir šviesa turi įtakos SLP [14]. Didėjant spinduliuotės trukmei, SLP mažėja, auga storesni ir didesnio tankio lapai, kurie efektyviau vykdo fotosintezę. Nustatyta PC ir PO augalų SLP ir saulės spindėjimo trukmės priklausomybė 2008 metais (PC: $R=-0,946$; $R^2=0,895$; $p=0,004$; PO: $R=-0,952$; $R^2=0,906$; $p=0,003$). SLP reikšmės apsprendžia lapų dydį ir sausos masės kiekį [339]. SLP ir jį įtakojantys faktoriai svarbūs augalų introdukcijai ir prisitaikymui skirtingose aplinkose [12]. Augalų rūšys, turinčios didelį SLP, greičiau didina lapų plotą, nei rūšys su mažu SLP. Efektyviausio augalų augimo modeliui būdingos didelės SLP reikšmės

ankstyvo augimo metu ir mažos SLP reikšmės vėlesniu metu [151]. Toks augimo tipas būdingas PF ir PN augalams.

Tyrimų laikotarpiu nustatyta, kad vegetacijos pradžioje, iki 205 metų dienos apskaičiuoti didžiausi SLP, kurie vėliau išlieka pastovūs iki masinio žydėjimo pabaigos ir sumažėja vegetacijos pabaigoje. Butonizacijos ir žydėjimo tarpsniuose angliavandeniai transportuojami į šakas, kur formuojami žiedynai [262]. PC ir PO augalų SLP vegetacijos pradžioje turi stabilias reikšmes, kurios turi tendenciją didėti nuo 205 metų dienos. *Perilla* L. rūšių varietetams (PC ir PO) nefiksuojamas butonizacijos ir žydėjimo tarpsnis, SLP reikšmės didėja iki vegetacijos pabaigos.

Lapų svorio frakcija, išreiškiama lapų sausos masės ir augalo sausos masės santykiu. Nustatyta visų tirtų *Perilla* L. rūšių ir varietetų LSF didėjimo tendencija visais tyrimo metais iki 205 metų dienos, kuomet stiebų masės augimas intensyvėja. Vegetacijos pabaigoje stiebai pasiekia maksimalų išsivystymą ir, dėl mažėjančio BAG (sensta ir krenta lapai), LSF reikšmės tampa minimalios (3.2.2 pav.). PF šio rodiklio mažėjimas ryškesnis visais tyrimo metais.



3.2.2 pav. *Perilla* L. rūšių ir varietetų (PF, PC, PO, PN) LSF dinamika vegetacijos eigoje 2007–2009 m.

Atlikta augimo rodiklių ir meteorologinių veiksnių statistinė analizė vegetacijos eigoje. Įvertintos koreliacinės priklausomybės tarp LSF ir meteorologinių veiksnių (Duomenys patekti 3.2.2 lentelė).

3.2.2. lentelė. *Perilla L. rūšių ir varietetų (PF, PC, PO, PN) LSF ir meteorologinių veiksnių koreliacinė analizė 2007–2008 m.*

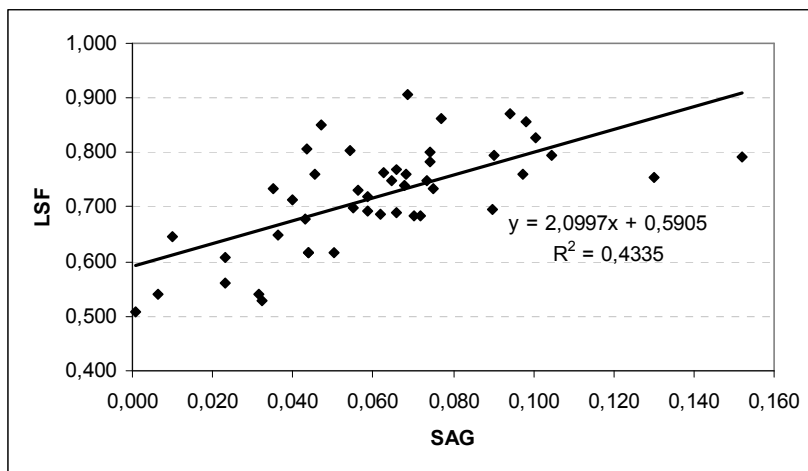
2007 m.	PF			PC			PO		
	R	R ²	p	R	R ²	p	R	R ²	p
K	0,7392	0,5464	0,0932	0,6874	0,4726	0,1313	0,6371	0,4059	0,1736
ΣT°C	0,9108	0,8295	0,0116*	0,9202	0,8467	0,0093*	0,8914	0,7947	0,0170*
SP	0,8270	0,6839	0,0423*	0,7866	0,6187	0,0634	0,7316	0,5352	0,0984

2008 m.	PF			PC			PO		
	R	R ²	p	R	R ²	p	R	R ²	p
K	0,1625	0,0264	0,7585	0,0376	0,0014	0,9436	0,0634	0,0040	0,9050
ΣT°C	0,6493	0,4216	0,1629	0,8073	0,6518	0,0500*	0,8129	0,6608	0,0492*
SP	0,9239	0,8536	0,0085*	0,9498	0,9022	0,0037*	0,9586	0,9188	0,0025*

(K – kritulių suma, mm; ΣT°C – aktyvių paros oro temperatūrų suma; SP – spindėjimo trukmė, h; R – Pirsono koreliacijos koeficientas; R² – Determinacijos koeficientas;

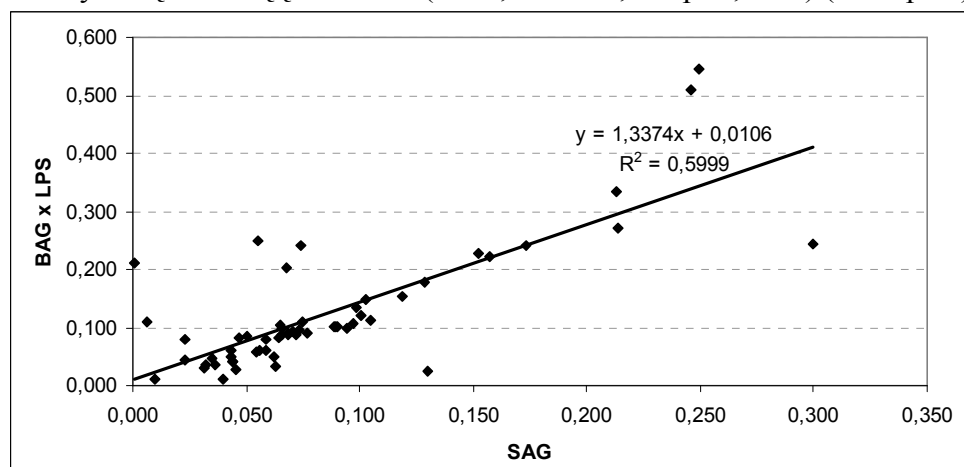
* p<0,05).

Augalai užaugina daugiau lapingos masės esant didesnei temperatūrų sumai ir ilgesnei saulės spindėjimo trukmei. Kiekybiniai skirtumai tarp lapų ir stiebų produktyvumo atsiranda dėl intensyvėjančio stiebo formavimo. Stiebų konstrukcija gali sumažinti SAG, nes lignifikuotų struktūrų gamybai reikia daug energijos [339]. Nustatyta LSF ir SAG koreliacinė priklausomybė (R²=0,433; R=0,657; p=0,0001) (3.2.3 pav.). 205 metų dieną, nustatytas staigus SAG sumažėjimas, kurį apsprendžia didėjanti stiebų masė.



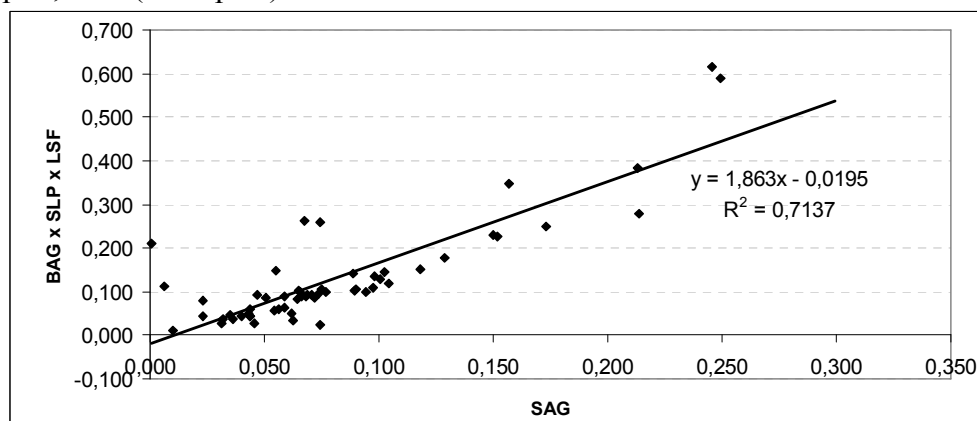
3.2.3 pav. *Perilla L. rūšių ir varietetų LSF priklausomybė nuo SAG vegetacijos metu 2006–2009 m.*

Įvertinus augimo rodiklius auginamiems *Perilla L.* genties augalams, atlikta SAG analizė. Nustatyti koreliaciniai augimo rodiklių ir SAG ryšiai. Vertinant SAG priklausomybę atskirai su BAG ir LPS, koreliacinis ryšys nenustatytas. Įvertinus SAG priklausomybę nuo LPS ir BAG sandaugos, nustatyta šių rodiklių įtaka SAG ($R^2=0,599$ $R=0,775$ $p<0,0001$) (3.2.4 pav.).



3.2.4 pav. *Perilla L.* rūšių ir varietetų BAG x LPS sandaugos ir SAG tarpusavio priklausomybė 2006–2009 m.

Remiantis literatūros duomenimis SAG didžiausią įtaką daro SLP, kadangi didesnis SLP nurodo padidėjusį lapų produktyvumą [339]. Koreliacinis ryšys tarp SAG ir SLP nenustatytas, bet įvertinus SAG priklausomybę nuo BAG, SLP ir LSF sandaugos, nustatyta, kad $R^2=0,714$; $R=0,845$; $p<0,0001$ (3.2.5 pav.).



3.2.5. pav. *Perilla L.* rūšių ir varietetų BAG x SLP x LSF sandaugos ir RGR tarpusavio priklausomybė 2006–2009 m.

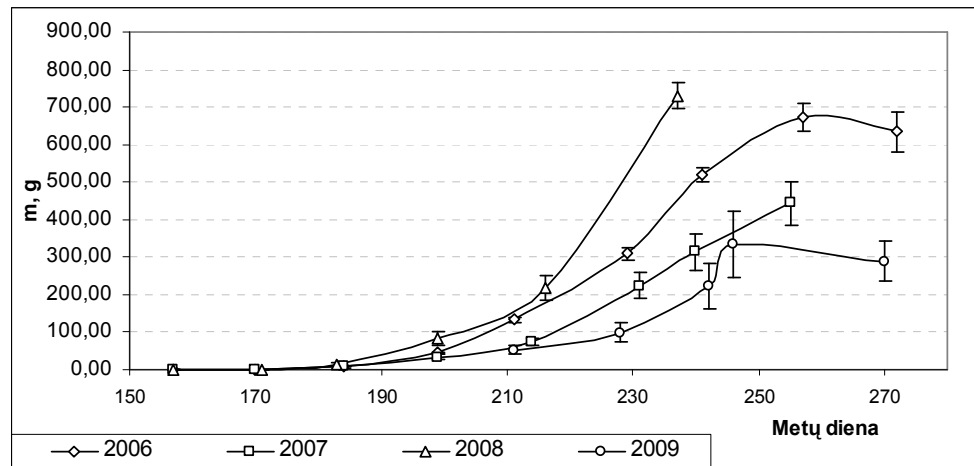
Vertinant SLP įtaką SAG, analizuotas koreliacinis ryšys tarp SAG ir BAG bei LSF sandaugos. Atsižvelgiant į tai, kad koreliacinis ryšys išnyksta, galima teigti, kad SLP kartu su kitais veiksniais labiau įtakoja augalų augimo greitį nei LPS ir BAG. *Perilla* L. rūšių ir varietetų augimui lapo morfologinės savybės daro didesnę įtaką nei bendras augalo lapingumas.

3.3 *Perilla* L. rūšių ir varietetų vegetatyvinių organų produktyvumo tyrimai

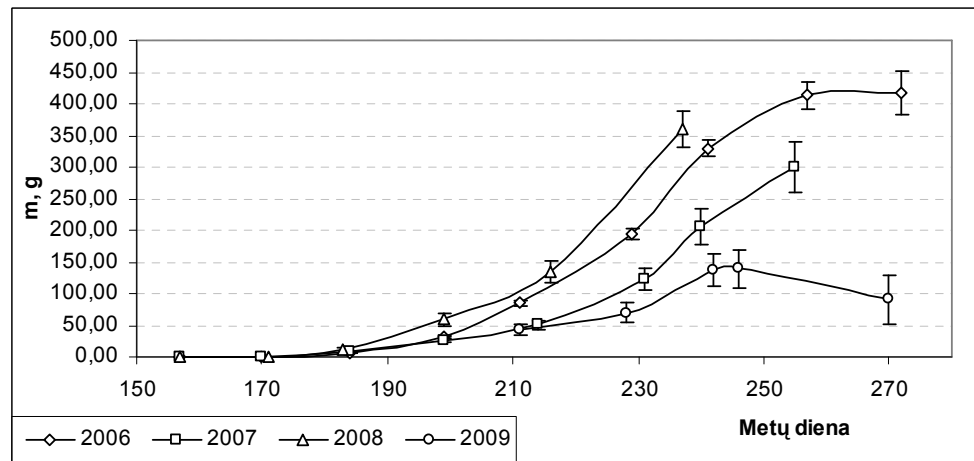
Vaistinių augalų produktyvumo tyrimai tam tikromis auginimo sąlygomis yra aktualūs vaistažolininkystės plėtros perspektyvoms. Svarbu yra užauginti ir paruošti gausų ir pastovų kokybiškos vaistinės augalinės žaliavos derlių, kuris gali būti panaudojamas fitopreparatų gamyboje. *Perilla* L. rūšių ir varietetų augalinės žaliavos kiekio įvertinimui atlikta produktyvumo analizė. Svarbu įvertinti antžeminės dalies vaistinės žaliavos masės prieaugio priklausomumą nuo meteorologinių veiksnių skirtingais augimo metais Lietuvoje. Šių tyrimų duomenų dėsningumai pagrindžia *Perilla* L. augalų antžeminės dalies vaistinės augalinės žaliavos produktyvumo prognozes. Auginamų augalų žaliavų kokybės užtikrinimui svarbu optimizuoti žaliavos paruošimo laiką, palyginti augalų produktyvumą ir atrinkti produktyviausias rūšis ir varietetus.

3.3.1 *P. frutescens* ir *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* antžeminės dalies produktyvumas

Tyrimų laikotarpiu 2006–2009 m. vertinta PF augalų antžeminės dalies (žolės, lapų ir stiebų) kiekio kitimo dinamika augalų vegetacijos laikotarpiu. Atlikus žaliavos masės kiekio analizę ir analizuojant žolės, lapų ir stiebų masių kiekio dinamiką vegetacijos tarpsniais, nustatytas vaistinės žaliavos masės kiekio didėjimas nuo vegetacijos pradžios (181–211 dienos) iki – žydėjimo tarpsnio pradžios (211–257 metų dienos). Tyrimų rezultatai pateikti 3.3.1.1; 3.3.1.2. paveiksluose.



3.3.1.1 pav. *P. frutescens* antžeminės dalies šviežios masės (m, g) dinamika vegetacijos metu 2006–2009 m.

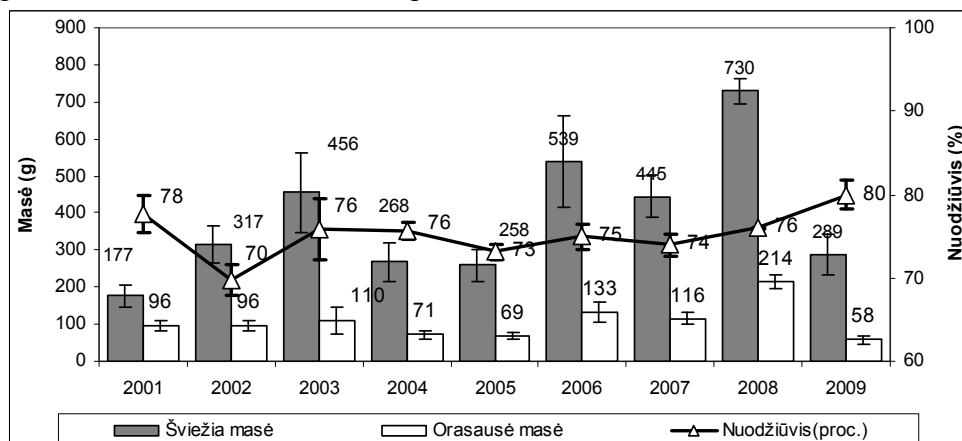


3.3.1.2 pav. *P. frutescens* šviežios lapų masės (*Perillae folium*) (m, g) dinamika vegetacijos metu 2006 – 2009 m.

Po žydėjimo, pilnos vaisių brandos tarpsnyje, antžeminės dalies prieaugis sumažėjo iki minimumo vegetacijos pabaigoje, nes mažėjo augalo gyvybingumas, dalis augalų lapų ir stiebų apmirė, nudžiūvo ir nukrito.

Statistiškai patikimai žaliavos kiekis visais tyrimo metais skiriasi 211–231 metų dienomis butonizacijos pradžios – masinio žydėjimo pradžios tarpsniuose. Kuo vėliau fiksuojamas generatyvinių organų augimas, tuo daugiau augalas užaugina žaliosios masės.

Daugiamečiai modelinio PF augalo žolės, lapų ir stiebų orasausės ir šviežios masės kiekio analizės mokslinių tyrimų duomenys (2001–2009 m.) pateikti 3.3.1.3; 3.3.1.4; 3.3.1.5 paveiksluose.

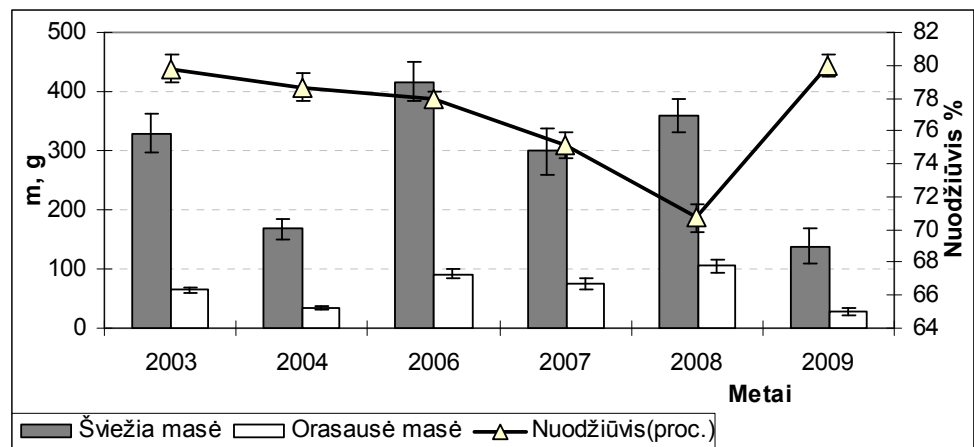


3.3.1.3 pav. *P. frutescens* žolės šviežia ir orasausė masė (g) bei nuodžiūvis (proc.)

Nustatytas didžiausias PF žolės šviežios masės kiekis – 2003, 2006 ir 2008 metais, šviežios – 456, 539 ir 730 g, orasausės – 110, 113 ir 214 g atitinkamai, o mažiausias šviežios masės kiekis 177 g nustatytas 2001 metais, orasausės – 58 g – 2009 metais (3.3.1.3 pav.).

Apibendrinus daugiamečių tyrimų (2001-2009 m.) rezultatus, nustatyta, kad vidutinis PF augalų žolės šviežios masės kiekis – $386,4 \pm 57,6$ g, orasausės masės – $106,9 \pm 15,6$ g.

2003–2009 metais atlikti modelinių PF augalų lapų produktyvumo tyrimai. Kadangi didžiausias lapų kiekis nustatytas masinio žydėjimo metu, augalų lapų produktyvumo tyrimai atlikti šiame vegetacijos tarpsnyje.



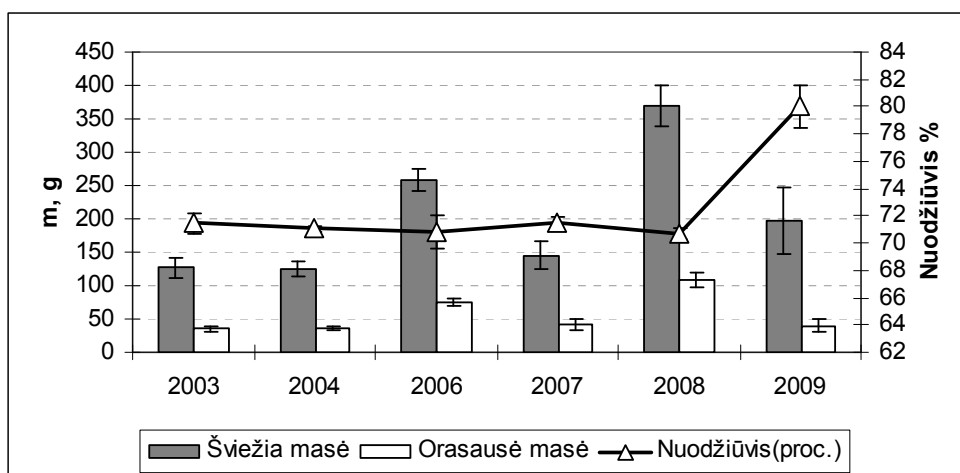
3.3.1.4 pav. *P. frutescens* lapų šviežia ir orasausė masė (g) bei nuodžiūvis (proc.)

Tyrimo laikotarpiu (2003–2009 m.) lapų šviežios masės kiekis įvairavo nuo 139 g (2009 metais) iki 417 g (2006 metais). Mažiausias orasausės lapų žaliavos kiekis (27 g) nustatytas 2009 m., o didžiausias (105 g) – 2008 m. (3.3.1.4 pav.).

Tyrimo laikotarpiu skirtingais metais labai įvairavo drėgmės kiekis žaliavoje ir maksimalūs bei minimalūs šviežios ir orasausės masės kiekiai. Nustatyta HTK ir nuodžiūvio tarpusavio koreliacinė priklausomybė ($R^2=0,9716$; $R=0,9856$; $p<0,01$), sausos masės dalies ir HTK priklausomybė ($R^2=0,9702$; $R=0,985$; $p<0,05$).

PF augalų sausos žaliavos kiekis yra didesnis, kai HTK yra perteklinio drėgnumo intervale. Tai paaiškinama tuo, kad PF perilių antžeminė dalis intensyviausiai auga iki butonizacijos ir žydėjimo tarpsnio pradžios. Nustatyta, kad kuo HTK didesnis atžėlimo tarpsnio metu, tuo vėliau įvyksta butonizacija. Butonizacijos tarpsnio ir HTK priklausomybė $R^2=0,815$; $R=0,903$; $p=0,01$. Panaši tendencija nustatyta tarp HTK ir žydėjimo tarpsnio pradžios $R^2=0,494$; $R=0,703$; $p=0,05$). Kuo vėliau augalai pereina butonizacijos tarpsnį, tuo daugiau laiko skiriama vegetatyviniam augimui, ir augalas užaugina didesnę masę vaistinės augalinės žaliavos.

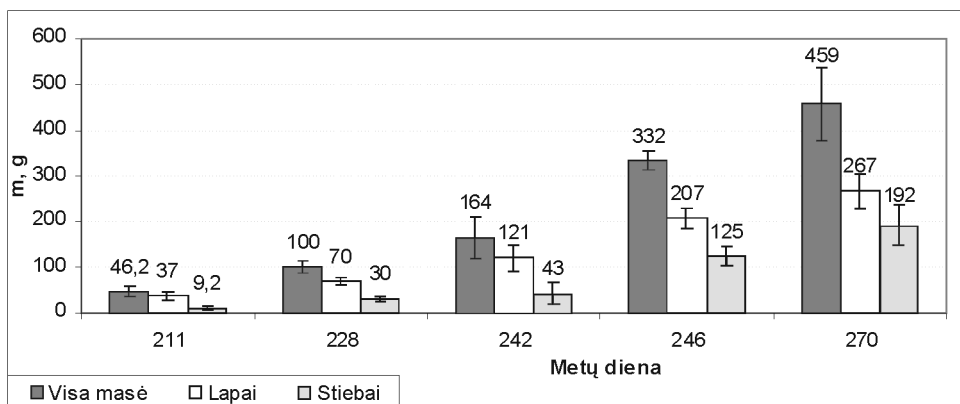
Vertintas stiebų produktyvumas. Maksimali stiebų šviežia ir orasausė masė nustatyta 2008 metais – 370 ir 108,4 g atitinkamai. Mažiausia stiebų masė nustatyta 2003 metais – 127 g šviežios ir 35,5 g orasausės masės (3.3.1.5 pav.).



3.3.1.5 pav. *P. frutescens* stiebų šviežia ir orasausė masė (g) bei nuodžiūvis (proc.)

Atlikus 2009 metais PN ir PF augalų žaliavos kiekio analizę, nustatyta, kad iki 242 metų dienos PF ir PN perilių šviežios ir orasausės augalinės žaliavos kiekiai vegetacijos eigoje statistiškai patikimai nesiskyrė. Kiekybiniai augalinės žaliavos masės skirtumai stebimi nuo 242 metų dienos. 2009 m. rugpjūčio mėn. paskutinėmis dienomis PF augalai pereina į masinio žydėjimo tarpsnį, kai tuo tarpu PN augalai yra intensyvaus vegetatyvinio augimo tarpsnyje, kuris tęsiasi iki rugsėjo mėn. pabaigos.

3.3.1.6 pav. pateikiamas PN augalų žalios masės pokyčiai vegetacijos eigoje iki žydėjimo pradžios 270 metų dieną.



3.3.1.6 pav. *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* žolės, lapų ir stiebų žalios masės (m, g) dinamika vegetacijos metu 2009 m.

Rugsėjo mėn. pradžioje nustatyta didesnė augalų žolės masė (PF – 222±59,22 g; PN – 164±46,44 g; p=0,05), ir didesnė stiebų masė (PF – 86±14,42 g; PN – 43±3,48 g; p=0,023). Nuo 246 metų dienos (rugsėjo pradžia) PN perilės lapų žalios ir orasausės masės statistiškai patikimai didesnės (p<0,0001) už PF perilės mases. Žydėjimo pradžioje PN perilės užaugina 459±79 g žalios antžeminės dalies masės (žolės), 267±37 g žalios lapų masės ir atitinkamai 91±15 g bei 53±7 g orasausės žaliavos (3.3.1.6 pav.).

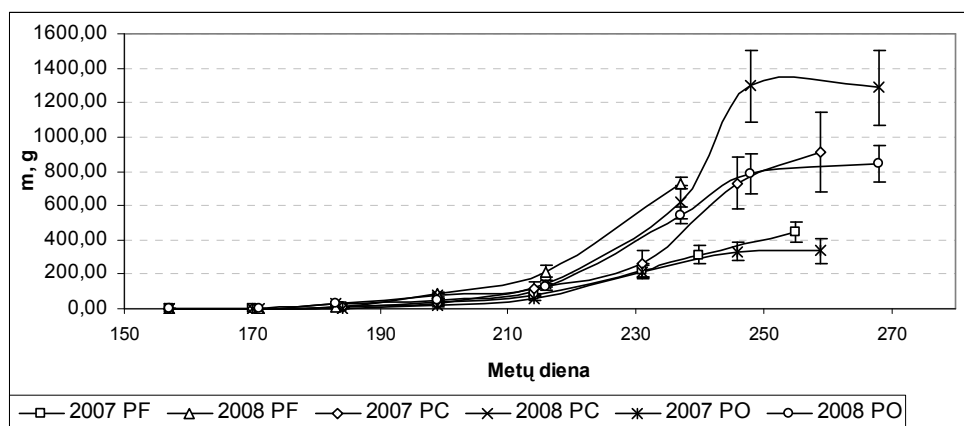
3.3.2 *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* ir *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* antžeminės dalies produktyvumas

Atlikus 2007–2008 m. augintų PC ir PO augalų antžeminės dalies produktyvumo dinamikos analizę, nustatytos panašios augimo tendencijos. Nustatyta, kad iki 199 metų dienos PO ir PC augalų antžeminės dalies masės statistiškai patikimai mažesnės nei PF augalų. PO augalai visu tyrimo laikotarpiu iki 231–237 metų dienos mažiausiai produktyvūs. Gauti tyrimų rezultatai pateikiami 3.3.2.1 lentelėje.

3.3.2.1. lentelė. *Perilla* L. rūšių ir varietetų šviežia antžeminės dalies masė 200–2008 metais.

Rūšys ir varietetai	2007 m.		2008 m.	
	masė, g	± SE	masė, g	± SE
<i>Perilla frutescens</i> L. Britton – PF	223,5	34,9	730,0	34,7
<i>Perilla frutescens</i> var. <i>crispa</i> f. <i>viridis</i> – PC	263,0	15,5	619,0	40,0
<i>Perilla ocymoides</i> var. <i>bicolorlaciniata</i> – PO	211,6	25,8	545,0	70,0

Nuo 246 metų dienos PC augalų užauginama antžeminės dalis masė patikimai didžiausia p<0,001 visu tyrimo laikotarpiu. Taikant Mano–Vitnio kriterijų nustatyti skirtumai tarp augalų rūšių visoms žaliavos ėminių rinkimo datoms (157, 171, 183, 199, 216, 237, 248, 268 metų dienomis) 2007 ir 2008 m. Nustatyta, kad 2008 m. nuo 216 metų dienos žolės masė, lapų masė ir stiebų masė visų augalų rūšių statistiškai patikimai didesnė (3.3.2.1 pav.).



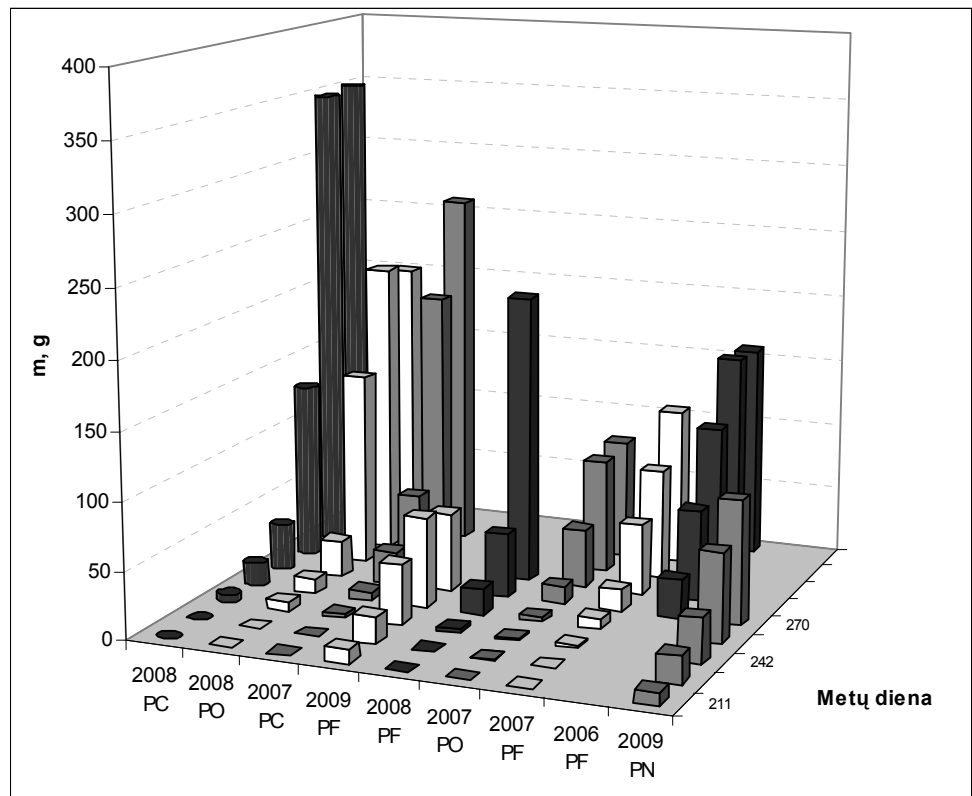
3.3.2.1 pav. *Perilla L.* rūšių ir varietetų (*P. frutescens* – PF, *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* – PC, *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* – PO) šviežios antžeminės dalies masės dinamika 2007–2008 m.

Apibendrinus tyrimų rezultatus, nustatyti vidutiniai PC antžeminės dalies žalios ir orasausės masės kiekiai atitinkamai - 1012 ± 209 g ir $308,3 \pm 66,5$ g. PO – $589 \pm 19,3$ g ir $148,9 \pm 27$ g, atitinkamai. Gauti tyrimų rezultatai pateikti 3.3.2.2 lentelėje.

3.3.2.2 lentelė. *Perilla L.* rūšių ir varietetų maksimalios augalinės žaliavos (žolės, lapų, stiebų) šviežios ir orasausės masės (g) bei nuodžiūviai (proc.)

Masė, g	PC			PO		
	Žolė	Lapai	Stiebai	Žolė	Lapai	Stiebai
Šviežia masė	1012,43	573,10	533,65	589,60	295,95	248,35
Orasausė masė	308,65	163,38	145,26	148,93	87,54	61,64
Nuodžiūvis (proc.)	68,21	71,19	72,80	74,39	71,00	75,38

Tyrimų laikotarpiu (2006–2009 m.) tirtų *Perilla L.* rūšių ir varietetų žolės šviežios ir orasausės masių palyginamas patektas 3.3.2.2. pav. PC augalai yra produktyviausi, teikiantys didžiausią žaliavos kiekį.



3.3.2.2 pav. *Perilla L.* rūšių ir varietetų vaistinės augalinės žaliavos (žolės) orasausės masės 2006–2009 m.

Nustatyta, kad sausos masės kiekį labiausiai įtakojantis veiksnys – aplinkos temperatūra. Nustatytas tarpusavio koreliacinis priklausomumas tarp sausos masės ir aktyvių temperatūrų sumos – $R^2=0,333$; $R=-0,578$; $p=0,049$. Literatūros duomenimis aukšta temperatūra ir drėgmės deficitas yra pagrindiniai veiksniai įtakojantys augalų produktyvumą. Aukštesnė temperatūra greitina augalų augimą ir vystymąsi, sutrumpina fenologinių tarpsnių laiką ir galutinis biomasės kiekis sumažėja. Tai ypač būdinga vienmečiams augalams [284, 318].

Vidurio Lietuvos klimato sąlygomis auginamų *Perilla L.* rūšių augalų augimui aprašyti pritaikytas polinominės regresijos modelis, kuris moduliuoja augalo augimą, vystymąsi ir biocheminių procesų dinamiką. Taikant regresijos lygtį galima prognozuoti augalų antžeminės dalies organų produktyvumą, jo kitimą vegetacijos tarpsniais. Tirtų *Perilla L.* rūšių ir varietetų ontogenezei įtakoja augalų produktyvumą ir augimo ypatumus vegetacijos metu. Nustatyta, kad PF ir PN atitinka efektyvaus augimo modelį su

dviem santykinio augimo greičio maksimumais vegetacijos laikotarpiu. PF ir PN žydi ir brandina sėklas. PC ir PO perilių augalai nepereina visų vegetacijos tarpsnių, jų SAG didesni nei PF ir PN augalų.

Augalų vegetatyvinių organų masės kiekis didėja iki vegetacijos pabaigos. Atliekant morfometrinius augalų antžeminės dalies tyrimus, nustatyta, kad *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* augalai užauga didesni ir jų antžeminė dalis geriausiai ($p>0,05$) išsivysčiusi lyginant su kitomis *Perilla* L. rūšimis ir varietetais. Tirtų augalų antžeminė dalis geriausiai išsivysto iki žydėjimo tarpsnio, kai yra perteklinis drėgmės kiekis (HTK=1,95), kuris vėlina butonizacijos pradžią ir didina antžeminės dalies produktyvumą. Didėjanti stiebų masė mažina SAG visuose tirtuose *Perilla* L. rūšyse ir varietetuose. Nustatytas temperatūros ir sausos masės priklausomumas. Aukšta temperatūra mažina augalų produktyvumą ($R^2=0,333$; $R=-0,578$; $p=0,049$).

Apibendrinus vidurio Lietuvos klimatinėmis sąlygomis augintų *Perilla* L. rūšių ir varietetų vaistinės augalinės žaliavos produktyvumo duomenis, nustatyta, kad Lietuvos klimatinėmis sąlygomis daugiausiai vaistinės augalinės žaliavos teikia *P. frutescens* var. *crispa* – 1012,43 g šviežios ir 308,65 g, orasausės, o mažiausiai *P. frutescens* – 386,4 g šviežios ir 106,9 g, orasausės masės. Palyginus pirmą kartą Lietuvoje augintų *Perilla* L. rūšių ir varietetų: *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis*, *P. ocymoides* var. *bicolor-laciniata*, *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* augimo ir vystymosi ypatumus su *P. frutescens*, nustatytas *P. frutescens* pranašumas ir geresnis prisitaikymas Lietuvos klimato sąlygomis.

3.4 *Perilla* L. rūšių ir varietetų eterinių aliejų analizė

Perilla L. augalai turi specifinį kvapą, kurį suteikia eterinis aliejus. Cheminė eterinio aliejaus sudėtis įtakoja farmakologinį efektą ir panaudojimo galimybes. Įvairiose pasaulio šalyse atliekami *P. frutescens* augalų eterinio aliejaus tyrimai parodė, kad skirtingomis auginimo sąlygomis augančių augalų eterinio aliejaus kokybinė ir kiekybinė sudėtis įvairuoja [23, 33, 217].

Svarbu ištirti Lietuvoje introdukuojamų *Perilla* L. rūšių ir varietetų eterinio aliejaus sudėtį bei augalų chemotipus. Tyrimų rezultatai įgalins įvertinti eterinio aliejaus kokybę ir perspektyvas medicininiam panaudojimui.

Atlikti *P. frutescens*, *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis*, *P. ocymoides* var. *bicolor-laciniata* ir *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* eterinio aliejaus sudėties tyrimai ir eterinio aliejaus komponentai pateikti 3.4.1 ir 3.4.2 lentelėse.

PF žolės eteriniame aliejuje nustatyta 13 eterinio aliejaus komponentų, kurie sudaro 96,42 proc. identifikuotų junginių. Perilaketonas ir egomake-

tonas sudarė 83,72 proc. eterinio aliejaus kiekio, vyraujantis komponentas perilaketonas (55,6 proc.) (3.4.1 lentelė). Izoegomaketonas ir egomaketonas identifikuoti remiantis išėjimo pobūdžiu ir masių spektro charakteristikomis [232]. Z,E-farnezenas, β -kariofilenas ir izoegomaketonas kartu sudarė 9,76 proc. eterinio aliejaus. Kiti nustatyti junginiai (linalolis, kariofileno oksidas, α -kariofilenas, 3- oktanolis, α -farnezenas, perilaldehidas, γ -murolenas, metilgeranatas) sudarė tik 2,94 proc. eterinio aliejaus kiekio.

Turkijoje auginamų *P. frutescens* eteriniame aliejuje nustatyta 35 proc. perilaketono ir 35 proc. izoegomaketono, kurie sudarė 70 proc. visų junginių. Izoegomaketonas ir perilaketonas yra produkuojami egomaketono biosintezės keliu [23, 107]. Eterinio aliejaus biogenezė ir sudėtis priklauso nuo augalo geografinės padėties, aplinkos sąlygų, todėl skirtingose aplinkos sąlygose augantys to paties chemotipo augalai pasižymi skirtinga vyraujančių komponentų sudėtimi [286]. Literatūros duomenimis apie 40 proc. visų *Perilla* L. genties augalų priklauso perilaketono chemotipui [221].

PN žolės eteriniame aliejuje nustatyta 98,55 proc. identifikuotų junginių. Nustatyti fenilpropanoidai: metileugenolis, myristicinas, elemicinas, izoelemicinas E, β -azaronas, kurie sudaro 79,62 proc. visų identifikuotų eterinio aliejaus junginių. Daugiausia nustatyta myristicino – 34,80 proc. ir elemicino – 21,06 proc. (3.4.1 pav.).

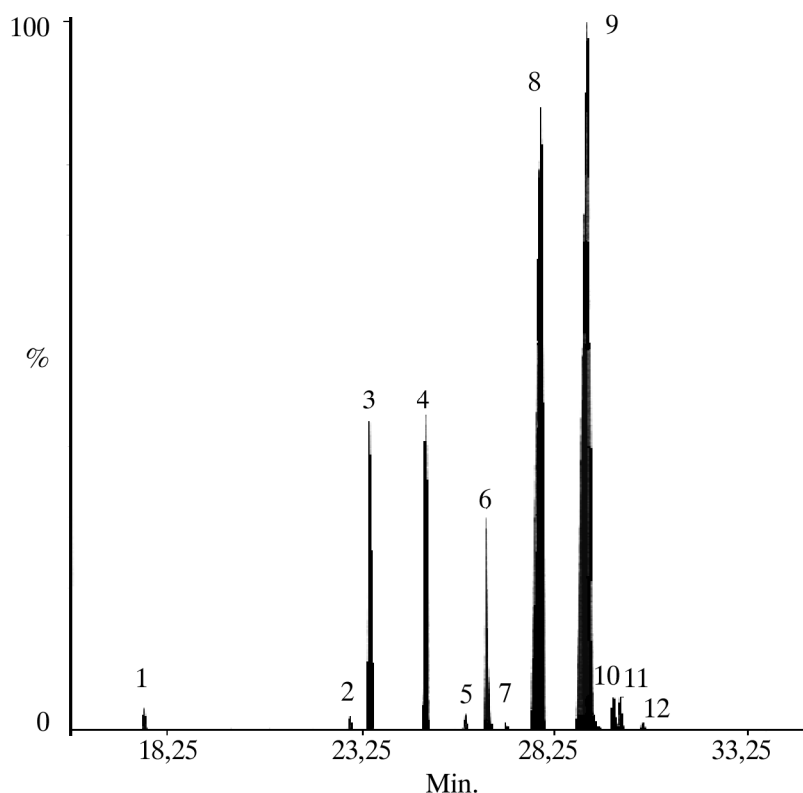
Eterinio aliejaus komponentai germakrenas D, E,E- α -farnezenas, elemicinas ir myristicinas yra nustatyti PN ir PO augalų eteriniame aliejuje (3.4.1; 3.4.2 lentelės). Kiti identifikuoti junginiai, nustatyti tik *Perilla frutescens* var. *nankinensis laciniata* žolėje – metileugenolis, β -cedrenas, 9-epi-E-kariofilenas, β -selinenas, kopaen-4- α -olis (3.4.1 lentelė). Metileugenolis yra fenilpropanoidų sintezės prekursorius [232, 85].

PO augalų žolės eteriniame aliejuje nustatyta 97,79 proc. junginių. Vyraujantys komponentai perilaldehidas – 72,07 proc. ir limonenas – 13,15 proc. Limonenas esantis eterinio aliejaus sudėtyje apsprendžia eterinio aliejaus biosintezės limoneno tipą [133]. PO augalų žolės eteriniame aliejuje ketonų (perilaketono, egomaketono, izoegomaketono) nenustatyta, todėl PF augalai, kurie priklauso perilaketono chemotipui, limoneno neaptikta. PO žolės eteriniame aliejuje nustatyti 1,91 proc. elemicino ir 1,41 proc. myristicino, nors dažniausiai *Perilla* L. sintezuojami komponentai gali būti tik monoterpenoidai arba tik fenilpropanoidai [107, 132, 230]. PF ir PC augalų žolės eteriniame aliejuje fenilpropanoidų neidentifikuota. PO eteriniame aliejuje identifikuoti junginiai: E,E- α -farnezenas, β -kariofilenas, germakrenas D, linalolis, α -kariofilenas, dihidrokarveolis, α -terpineolis, perilalkoholis sudarė 11,46 proc. viso aliejaus kiekio, iš kurių 0,22 proc. sudarė identifikuotas perilalkoholis (3.4.2 lentelė).

3.4.1 lentelė. Lietuvoje introdukuojamų *P. frutescens* – PF, *P. frutescens* var. *nankinensis* laciniata – PN eterinio aliejaus sudėtis

Eil. Nr.	Junginys	PF				PN			
		I ^T Masių	proc.	I ^T dujų	proc.	I ^T Masių	proc.	I ^T dujų	proc.
1	3- oktanolis	991	0,23	985	0,17				
2	9-epi-E-kariofilenas					1455	7,34	1415	5,97
3	E,E- α -farnezenas					1493	3,63	1487	3,27
4	Egomaketonas	1308	28,12	1310	29,80				
5	Elemicinas					1561	21,06	1563	18,10
6	Germakrenas D					1479	0,23	1475	0,12
7	Izoegomaketonas	1297	2,63	1295	0,99				
8	Izoelemicinas E					1562	5,54		
9	Kariofileno oksidas	1582	0,45	1591	0,61				
10	Kopaen-4- α -olis					1579	0,58		
11	Linalolis	1099	1,15	1095	1,17				
12	Metileugenolis					1405	0,25	1272	0,16
13	Metilgeranatas	1324	0,12	1324	0,12				
14	Myristicinas					1532	34,80	1527	30,11
15	Perilaldehidas	1278	0,17	1274	0,18	1277	0,37	1272	0,25
16	Perilaketonas	1257	55,60	1258	53,90				
17	Z,E-farnezenas	1493	3,92	1486	0,14				
18	α -farnezenas	1506	0,18	1512	0,31				
19	α -kariofilenas	1452	0,26	1458	0,32				
20	β -azaronas					1564	17,96		
21	β -cedrenas					1418	6,61	1401	6,02
22	β -kariofilenas	1417	3,21	1425	3,51				
23	β -selinenas					1494	0,17	1490	0,10
24	γ -murolenas	1479	0,14	1498	1,41				

Nurodyti Kovatso indeksai ir kiekis procentais gauti analizuojant dujų chromatografu su liepsnos jonizacijos ir dujų chromatografu su masių spektrometrijos detektoriais.



3.4.1 pav. *P. frutescens* var. *nankinensis* laciniata žolės eterinio aliejaus DC-MS chromatograma.

(Analičių smailės: **1** – perilaldehidas; **2** – metileugenolis; **3** – β -cedrenas; **4** – 9-epi-E-kariofilenas; **5** – germakrenas D; **6** – E,E- α -farnezenas; **7** – β -selinenas; **8** – myristicinas; **9** – elemicinas; **10** – izoelemicinas E; **11** – β -azaronas; **12** – kopaen-4- α -olis)

PC augalų antžeminės dalies ėminių eteriniame aliejuje identifikuota 83,18 proc. junginių (3.4.2 lentelė). Perilaldehidas sudaro 49,47 proc., limonenas 11,76 proc., limoneno oksidai 9,85 proc., kariofileno oksidas 7,21 proc. Linalolio oksidai, myrcenas, terpinolenas, β -ciklocitralis, karvonas, bornilacetatas, eukaliptolis, izodihydrokarveolio acetatas, p-cimenas, β -kariofilenas, humuleno epoksidas II sudarė 4,89 proc. visų identifikuotų junginių. Pagrindinis identifikuotas eterinio aliejaus komponentas yra perilaldehidas, todėl PC augalai priskiriami perilaldehido chemotipui.

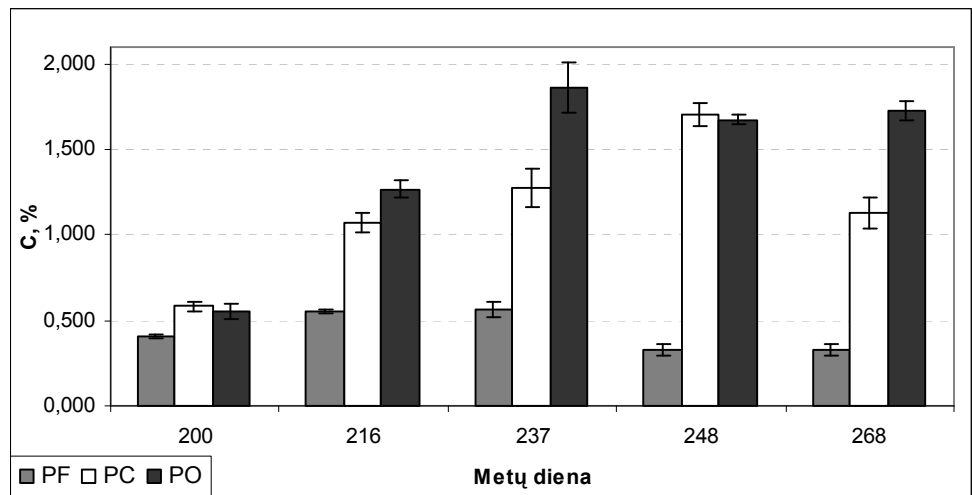
3.4.2 lentelė. Lietuvoje introdukuojamų *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* – PC, *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* – PO eterinio aliejaus sudėtis

Eil. Nr.	Junginys	PO				PC			
		I ^T Masių	proc.	I ^T dujų	proc.	I ^T Masių	proc.	I ^T dujų	proc.
1	Bornilacetatas					1287	0,17	1296	0,12
2	Cis piranoid linalolio oksidas					1086	0,92		
3	Dihidrokarveolis	1222	0,33	1222	0,35				
4	E,E- α -farnezenas	1492	3,36	1490	1,84				
5	Elemicinas	1554	1,91	1562	1,52				
6	Eukaliptolis					1030	0,17		
7	Germakrenas D	1479	1,50	1473	0,05				
8	Humuleno epoksidai II					1609	0,13		
9	Izodihidrokarveolio acetatas					1334	0,17	1335	0,07
10	Kariofileno oksidas					1583	7,21	1601	3,73
11	Karvonas					1246	0,18		
12	Limonenas	1029	13,15	1027	13,77	1027	11,76	1025	15,36
13	Limoneno oksidas- cis					1133	6,81	1093	1,89
14	Limoneno oksidas- trans					1137	3,04		
15	Linalil oksidas-cis					1170	0,38	1184	0,18
16	Linalolio oksidas- trans					1175	0,16	1196	0,21
17	Linalolis	1101	1,42	1097	1,41				
18	Myrcenas					1003	0,63		0,45
19	Myristicinas	1524	1,41	1522	1,04				
20	p-cimenas					1022	0,15		0,07
21	Perilaldehidai	1284	72,07	1290	70,41	1280	49,47	1280	66,73
22	Perilalkoholis	1302	0,22	1305	0,18				
23	Terpinolenas					1099	0,50	1093	1,89
24	Trans furanoid linanolio oksidas					1069	0,96		
25	α -kariofilenas	1453	1,08	1463	1,14				
26	α -terpineolis	1196	0,22	1190	0,29				
27	β -ciklocitralis					1227	0,23	1224	0,10
28	β -kariofilenas	1418	3,35	1431	3,58	1415	0,14	1429	0,10

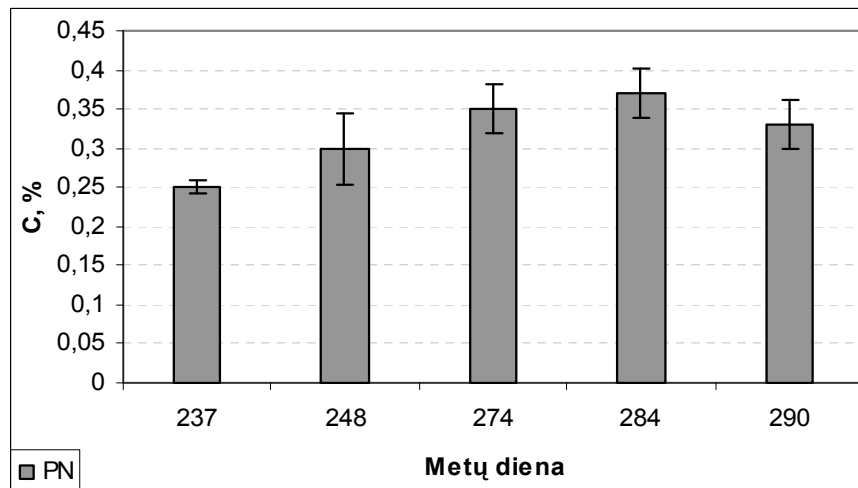
Nurodyti Kovatso indeksai ir kiekis procentais gauti analizuojant dujų chromatografu su liepsnos jonizacijos ir dujų chromatografu su masių spektrometrijos detektoriais.

Atlikus Lietuvoje auginamų *Perilla* L. rūšių ir varietetų – *P. frutescens*, *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis*, *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* – eterinio aliejaus sudėties tyrimus, nustatyta, kad *P. frutescens* priklauso perilaketono, *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* – fenilpropanoidiniam, o *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* ir *P. ocymoides* L. var. *bicolorlaciniata* – perilaldehido chemotipui.

Atlikta PF, PN, PO, PC žolės eterinio aliejaus kiekybinis vegetacijos eigoje (3.4.2; 3.4.3 pav.).



3.4.2 pav. *Perilla L.* rūšių ir varietetų (PF, PC, PO) žolės eterinio aliejaus kiekis (proc.) vegetacijos metu



3.4.3 pav. *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* žolės eterinio aliejaus kiekis (proc.) vegetacijos eigoje

Statistiškai patikimai didžiausias ($p < 0,05$) eterinio aliejaus kiekis nustatytas PO augalų žolės ėminiuose 237 metų dieną (rugpjūčio pabaigoje) – $1,86 \pm 0,14$ proc. PO žaliavos ėminiuose eterinio aliejaus kiekis varijuoja nuo $0,55 \pm 0,04$ (200 metų dieną) iki maksimalaus $1,8 \pm 0,14$ proc. (237 metų dieną). Nuo 237 metų dienos eterinio aliejaus kiekis statistškai patikimai nesiskiria ir jo vidutiniškai nustatoma $1,75 \pm 0,05$ proc. (3.4.2 pav.).

PC augalų eterinio aliejaus kiekis vegetacijos eigoje kinta nuo $0,58 \pm 0,02$ proc. (200 metų diena) iki $1,70 \pm 0,06$ proc. 248 metų dieną (3.4.2 pav.). 268 metų dieną eterinio aliejaus kiekis sumažėja iki $1,13 \pm 0,08$ proc.

PF augalų vegetacijos eigoje maksimalus eterinio aliejaus kiekis nustatytas butonizacijos metu (216 metų diena) – $0,55 \pm 0,008$ proc. ir žydėjimo metu (237 metų diena) – $0,56 \pm 0,04$ proc. Po žydėjimo eterinio aliejaus kiekis mažėja ir 268 metų dieną, sėklų brandos laikotarpio pradžioje jo nustatyta mažiausiai – $0,32 \pm 0,03$ proc. (3.4.2 pav.).

PN augalų antžeminės dalies ėminiuose eterinio aliejaus kiekis statistškai patikimai ($p > 0,05$) mažiausias iš visų tirtų *Perilla* L. rūšių ir varietetų. Vegetacijos eigoje eterinio aliejaus kiekis varijuoja nuo $0,25 \pm 0,01$ proc. intensyvaus vegetatyvinio augimo metu (237 metų dieną) iki $0,37 \pm 0,03$ proc. žydėjimo metu (284 metų dieną). Butonizacijos metu, 274 metų dieną nustatytas eterinio aliejaus kiekis – $0,35$ proc. Statistiškai patikimų skirtumų tarp butonizacijos ir žydėjimo laikotarpio eterinio aliejaus kiekio nenustatyta. Vegetacijos pabaigoje, 290 metų dieną eterinio aliejaus kiekis sumažėja iki $0,33 \pm 0,03$ proc. (3.4.3 pav.).

Perilla L. genties augalai yra trumpadieniai. Saulės spindėjimas lemia ne tik augalo augimo ir vystymosi ypatumus, bet ir eterinio aliejaus kaupimą [231]. Schnitzler ir kitų atlikto tyrimo su *P. frutescens* raudonosios formos augalais metu nustatė, kad didėjant saulės spindėjimo intensyvumui, didėja eterinio aliejaus biosintezė augale [295]. Mūsų tyrimų duomenimis didžiausi eterinio aliejaus kiekiai nustatyti rugpjūčio mėnesį, kuomet fiksuojama intensyviausia saulės spindėjimo trukmė.

Atsižvelgiant į plačią *Perilla* L. augalų rūšių ir chemotipų įvairovę, reikia išskirti auginamas perilės rūšis su identifikuotais chemotipais, kurių teikiama vaistinė augalinė žaliava būtų panaudojama tolesniems farmakologiniams tyrimams.

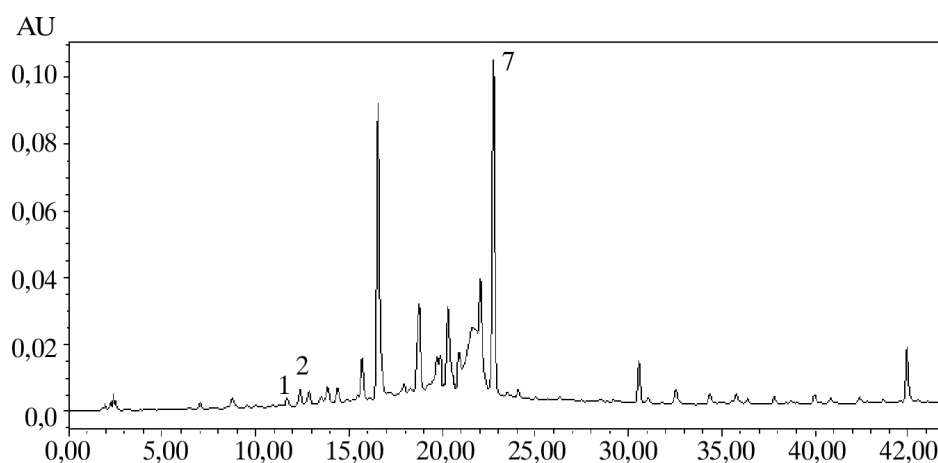
3.5 Fenolinių junginių kiekio tyrimai *Perilla* L. genties augalinėse žaliavose

Pastaraisiais metais didėja susidomėjimas fenoliniais junginiais ir jų bioaktyvumo tyrimais. Atlikta daug tyrimų vertinant fenolinių junginių kiekybinius rodiklius [26, 36, 48, 81, 101, 212, 228] bei jų poveikio mechanizmus įvairiose modelinėse sistemose [16, 207, 320]. Biologiškai aktyvių junginių kiekis lemia vaistinės augalinės žaliavos kokybę, todėl labai svarbu įvertinti kokybinę ir kiekybinę sudėtį ir nustatyti junginių kaupimosi dėsningumus introdukuojamuose augaluose.

Atlikti Lietuvoje augintų *Perilla* L. rūšių ir varietetų (*Perilla frutescens*–PF, *Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis* – PC, *Perilla ocymoides* var. *bicolorlaciniata* – PO, *Perilla frutescens* var. *nankinensis laciniata* – PN žaliavose) fenolinių junginių kokybinė ir kiekybinė analizė vegetacijos periodo metu 2006 – 2009 tyrimo metais.

3.5.1 Fenolinių rūgščių sudėties įvairavimas *Perilla* L. rūšyse ir varietetuose vegetacijos metu

Efektyviosios skysčių chromatografijos metodu *Perilla* L. rūšyse ir varietetuose identifikuotos fenolinės rūgštys – rozmarino, kavos ir chlorogeno (3.5.1.1 pav.) ir nustatytas fenolinių rūgščių kiekio įvairavimas vegetacijos metu.



3.5.1.1 pav. *P. frutescens* žolės etanolinio ekstrakto ESC chromatograma.
Analičių smailės: 1 – chlorogeno rūgštis, 2 – kavos rūgštis, 7 – rozmarino rūgštis

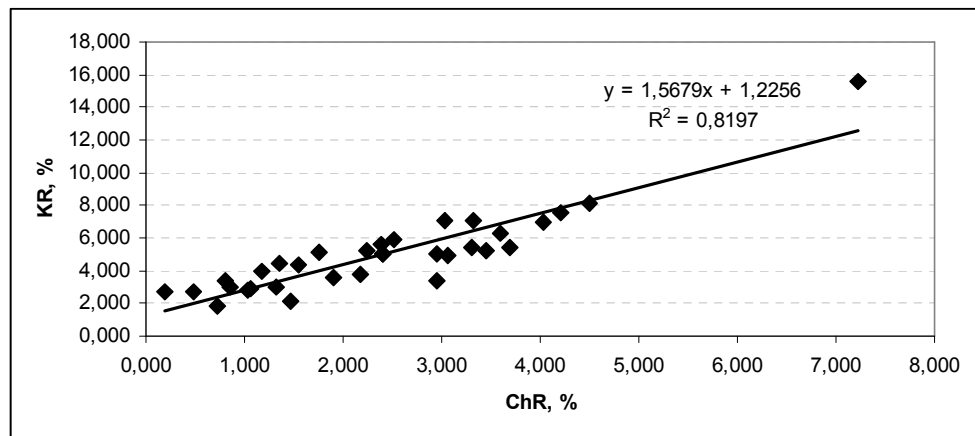
Fenolinių rūgščių kiekio įvairavimas *P. frutescens* augaluose vegetacijos metu. Fenolinių rūgščių kiekis antžeminės dalies žaliavos ėminiuose vegetacijos metu įvairuoja nuo 9,18 mg/g iki 22,83 mg/g. Rozmarino rūgšties kiekis sudaro vidutiniškai 92,76 proc. viso rūgščių kiekio. Tyrimų laikotarpiu 2006–2009 m., vegetacijos eigoje nustatyti du rozmarino rūgšties kiekio maksimumai ėminiuose – masinio atžėlimo pabaigoje (2006 m. – 16,9 mg/g; 2007 m. – 12,23 mg/g; 2008 m. – 22,7 mg/g; 2009 m. – 22,17 mg/g) ir masinio žydėjimo pabaigoje – sėklų brandos pradžioje (2006 m. – 18,83 mg/g; 2008 m. – 22,83 mg/g; 2009 m. – 19,11 mg/g).

Mažiausias rozmarino rūgšties kiekis ėminiuose nustatytas butonizacijos laikotarpiu (2006 m. – 4,31 mg/g; 2007 m. – 8,57 mg/g; 2008 m. – 14,30 mg/g; 2009 m. – 14,73 mg/g). Nustatyta, kad rozmarino rūgšties kiekis žaliavos ėminiuose 2008 metais vegetacijos eigoje statistiškai patikimai skiriasi nuo 2006 metų ($p=0,006$) ir nuo 2007 metų ($p=0,003$) ėminių. 2008 metų ėminiuose rozmarino rūgšties kiekis patikimai didžiausias. Įvertinus klimatinių veiksnių įtaką nustatyta, kad rozmarino rūgšties kiekis priklauso nuo paros oro temperatūrų sumos ($R^2=0,744$; $R=0,863$; $p=0,03$). Nustatyta, kad 2008 metais buvo optimalios augimui sąlygos ($HTK=1,53$), 2006 m. ir 2007 m. perteklinio drėgnumo sąlygos (2006 m. $HTK=1,84$; 2007 m. $HTK=2,03$). Perteklinio drėgnumo sąlygomis, kai $HTK \geq 1,6$ nustatyti mažiausi rozmarino rūgšties kiekiai. Nustatyta saulės spindėjimo trukmės ir rozmarino rūgšties kiekio priklausomybė ($R^2=0,589$; $R=0,767$; $p=0,045$). Saulės spindėjimo įtakoje didėja fenolinių junginių sintezė augaluose [22].

Statistiškai patikima koreliacija nustatyta tarp 2009 metų rozmarino rūgšties kiekio ir SAG ($R^2=0,998$; $R=0,999$; $p=0,02$). Maksimalus augimo greitis intensyvina rozmarino rūgšties biosintezę. Nustatyta rozmarino rūgšties ir skutelarein-7-O-gliukuronido koreliacinė priklausomybė ($R=0,455$; $p=0,008$). Bano [22] atlikto tyrimo metu su *Rosmarinus officinalis* L. nustatė, kad rozmarino rūgšties dinamika atitinka izoskutelarein-7-O-gliukozido dinamiką vegetacijos metu.

Chlorogeno rūgštis sudaro vidutiniškai 2,34 proc. viso ėminiuose nustatyto rūgščių kiekio. Vidutinis chlorogeno rūgšties kiekis PF augaluose $0,33 \pm 0,006$ mg/g. Vegetacijos eigoje maksimalus šios rūgšties kiekis nustatytas intensyvaus vegetatyvinio augimo metu (2006 m. – 0,54 mg/g; 2008 m. – 0,59 mg/g; 2009 m. – 0,31 mg/g). Mažiausi chlorogeno rūgšties kiekiai nustatyti butonizacijos laikotarpiu (0,028 mg/g). Chlorogeno rūgšties kiekis vegetacijos metu ženkliai svyruoja. Masinio žydėjimo pabaigoje PF stiebai pasiekia maksimalų išsivystymą ir didžiausią masę. Chlorogeno rūgštis yra lignino biosintezės tarpinis produktas [3]. Masinio žydėjimo pabaigoje (250 metų dieną) visais tyrimo metais nustatytas chlorogeno rūgšties kiekio mažėjimas žaliavos ėminiuose.

Kavos rūgštis sudaro 4,90 proc. bendro fenolinių rūgščių kiekio žaliavos ėminiuose. Kavos rūgšties esteriai yra kafeiolchino rūgščių pirmtakai, kartu su jomis dalyvaujantys lignino gamybos polimerizacijos reakcijose [71]. Kavos ir chlorogeno rūgščių sintezė augaluose yra susieta augalų medžiagų apykaita. Nustatyta, kad PF augalinėje žaliavoje vegetacijos eigoje visais tyrimo metais kavos rūgšties kiekis ėminiuose koreliuoja su chlorogeno rūgšties kiekiu ($R^2=0,819$; $R=0,906$; $p<0,0001$) (3.5.1.2 pav.).

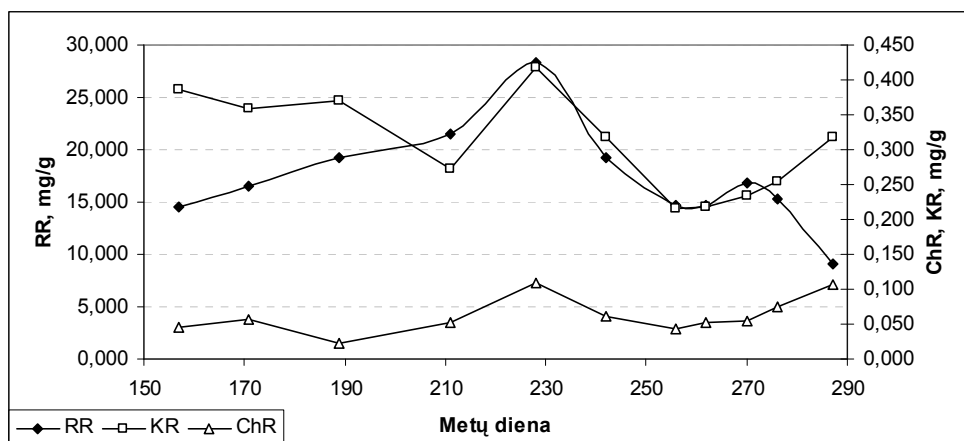


3.5.1.2 pav. *P. frutescens* chlorogeno rūgšties (ChR, proc.) ir kavos rūgšties (KR, proc.) koreliacinė priklausomybė 2006–2009 m.

Vidutinis kavos rūgšties kiekis PF ėminiuose – $4,97 \pm 0,11$ mg/g. Maksimalus kavos rūgšties kiekis nustatytas intensyvaus vegetatyvinio augimo pabaigoje 0,74 mg/g 2006 metais ir 0,94 mg/g – 2009 metais, liepos pabaigoje. Mažiausi kavos rūgšties kiekiai nustatyti masinio žydėjimo pabaigoje ir sėklų brandos pradžioje rugsėjo viduryje 0,32 mg/g 2006 metais ir 0,70 mg/g 2009 m.

Nustatyta, kad chlorogeno ir kavos rūgšties kiekiai 2006 m. PF ėminiuose statistiškai patikimai skiriasi nuo 2009 m. ($p < 0,05$). Didžiausi chlorogeno (0,43–0,54 mg/g) ir kavos rūgšties (0,76–0,92 mg/g) kiekiai nustatyti 2006 metais.

Fenolinių rūgščių kiekio įvairavimas *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* augaluose. Vidutinis PN fenolinių rūgščių kiekis ėminiuose – $17,43 \pm 1,38$ mg/g. Nustatyta, kad rozmarino rūgštis žaliavos ėminiuose sudaro 97,27 proc., chlorogeno rūgštis – 0,54 proc., kavos rūgštis – 2,19 proc.



3.5.1.3 pav. *P. frutescens* var. *nankinensis* laciniata fenolinių rūgščių (rozmarino – RR; chlorogeno – ChR; kavos – KR) kiekis (mg/g) vegetacijos eigoje 2009 m.

Augalų vegetacijos metu rozmarino rūgšties kiekio dinamikoje nustatyti du maksimumai – intensyvaus vegetatyvinio augimo viduryje 28,4 mg/g (228 metų diena) ir butonizacijos pradžioje 16,87 mg/g (270 metų diena). Chlorogeno ir kavos rūgščių kiekiai ėminiuose tarpusavyje patikimai koreliuoja ($R^2 = 0,835$; $R = 0,014$; $p < 0,0001$ (3.5.1.3 pav.).

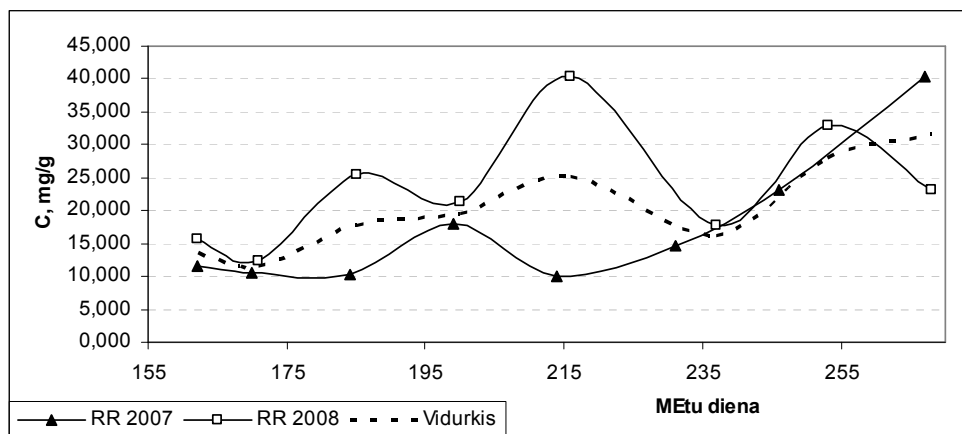
PN žydėjimo tarpsnyje, rozmarino rūgšties kiekis ėminiuose sumažėja iki minimalaus – 9,09 mg/g. Kavos ir chlorogeno rūgščių kiekis ėminiuose didėja nuo butonizacijos pradžios (270 metų diena). Žydėjimo pabaigoje (290 metų diena) nustatytas chlorogeno rūgšties kiekis ėminiuose – 0,11 mg/g, kavos rūgšties – 0,32 mg/g.

Rozmarino rūgšties kiekis vegetacijos eigoje koreliuoja su augimo rodikliais. Rozmarino rūgšties kiekis ir BAG – $R^2 = 0,830$; $R = 0,911$; $p = 0,05$. PN ir PF žolės ėminiuose vegetacijos pabaigoje nustatyta rozmarino rūgšties kiekio mažėjimo tendencija, nes iš senėjančių lapų rozmarino rūgštis transportuojama į besivystančias sėklas [360].

PN augalų ėminiuose rozmarino rūgštis koreliuoja su lapų ploto santykiu ($R^2 = 0,865$ $R = 0,930$ $p = 0,05$) ir specifiniu lapų plotu ($R^2 = 0,841$ $R = 0,917$ $p = 0,045$). Didesnis lapų ploto kiekis sąlygoja rozmarino rūgšties didesnį kiekį. SLP priklauso nuo aplinkos faktorių ir fotosintetiškai aktyvios spinduliuotės [340]. Nustatytas PN perilės ėminiuose rozmarino rūgšties kiekio ir fotosintetiškai aktyvios spinduliuotės koreliacinis ryšys ($R^2 = 0,717$ $R = 0,847$ $p = 0,035$). Luthria [200] nustatė teigiamą fotosintetiškai aktyvios spinduliuotės įtaką fenolinių junginių susikaupimui. Fotosintezės intensyvumas įtakoja naujų lapų augimą [261] ir tuo pačiu rozmarino rūgšties kiekį.

Fenolinių rūgščių kiekio įvairavimas *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* žolėje.

Tyrimo laikotarpiu 2007–2008 metais nustatytas vidutinis fenolinių rūgščių kiekis PC ėminiuose – $21,73 \pm 2,49$ mg/g, įvairuojantis nuo 10,95 mg/g iki 41,47 mg/g. Rozmarino rūgštis vidutiniškai sudaro $93,59 \pm 1,76$ proc., viso rūgščių, identifikuotų PC augalų ėminiuose, kiekio. Rozmarino rūgšties kiekis vegetacijos eigoje turi du maksimumus (3.5.1.4 pav.).



3.5.1.4 pav. *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* rozmarino rūgšties kiekis ėminiuose (mg/g) vegetacijos eigoje 2007–2008 m.

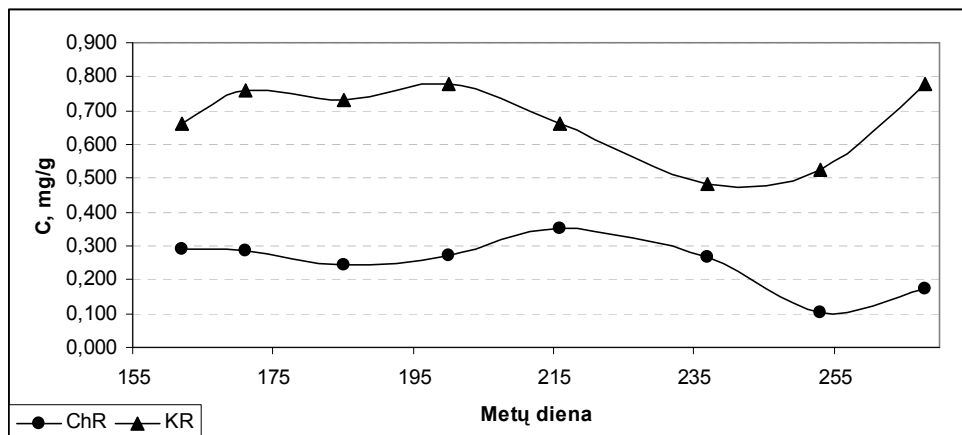
2007 metais didžiausi rozmarino rūgšties kiekiai žolės ėminiuose nustatyti 199 metų dieną – 17,93 mg/g ir 267 metų dieną – 40,35 mg/g. 2008 metais didžiausi kiekiai ėminiuose 40,24 mg/g nustatyti 216 metų dieną ir 32,94 mg/g – 253 metų dieną. Didesnis rozmarino rūgšties kiekis 2008 metų ėminiuose (iki 215 metų dienos) gali būti siejamas su 1,3 karto didesne saulės spindėjimo trukme 2008 metais birželio ir liepos mėnesiais.

3.5.1.4 paveiksle pateikta vidutinė rozmarino rūgšties kiekio dinamika PC augimo metu žolės ėminiuose. Rozmarino rūgšties kiekis didėja iki rugpjūčio pradžios (25,20 mg/g), o rugsėjo pradžioje vėl padidėja (31,71 mg/g). Mūsų tyrimų rezultatus patvirtina literatūros duomenys, kuriuose nurodomos tos pačios rozmarino rūgšties kiekio pokyčių tendencijos vegetacijos metu [228].

PC perilių augalai nežydi ir nebrandina sėklų, todėl antrinių metabolitų translokacija nevyksta. Rozmarino rūgšties kiekis ėminiuose priklauso nuo lapų ploto santykio ($R^2=0,618$; $R=0,786$; $p=0,036$).

Chlorogeno rūgštis ėminiuose vidutiniškai sudaro 1,87 proc. viso rūgščių kiekio ($0,32 \pm 0,08$ mg/g). Kiekis įvairuoja nuo 0,05 mg/g iki 0,49 mg/g.

Didžiausi chlorogeno rūgšties kiekiai nustatyti 2007 metais 199 metų dieną – 0,49 mg/g ir 2008 metais 216 metų dieną – 0,33 mg/g. 199–216 metų dienomis nustatytas didžiausi vidutinis chlorogeno rūgšties kiekis – 0,35 mg/g. Vegetacijos pabaigoje chlorogeno rūgšties kiekis ėminiuose padidėja iki 0,17 mg/g (3.5.1.5 pav.).

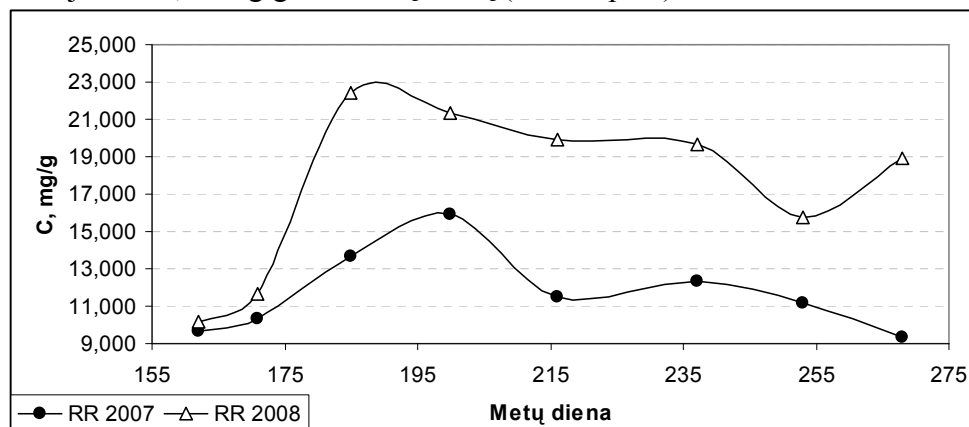


3.5.1.5 pav. *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* kavos rūgšties (KR) ir chlorogeno rūgšties (ChR) kiekiai ėminiuose (mg/g) vegetacijos metu

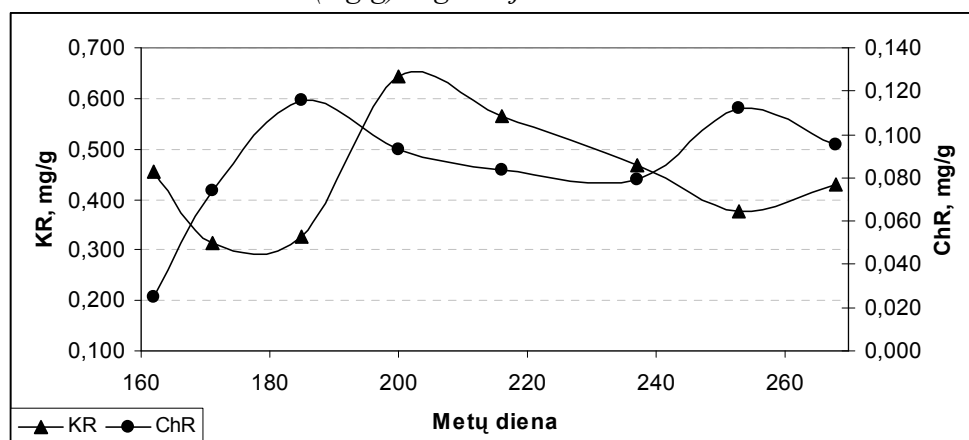
Kavos rūgštis ėminiuose sudaro $0,69 \pm 0,05$ mg/g (4,53 proc. viso rūgščių kiekio). Vegetacijos eigoje kavos rūgšties kiekis kinta nuo 0,41 mg/g iki 1,04 mg/g. Apibendrinus 2007 ir 2008 metų duomenis nustatyta, kad didžiausi kavos rūgšties kiekiai 0,66 mg/g – 0,78 mg/g yra iki 200 metų dienos (pav. 3.5.1.5). 237 metų dieną kavos rūgšties kiekis tampa minimalus – 0,48 mg/g ir vegetacijos pabaigoje 268 metų dieną vėl padidėja iki 0,78 mg/g.

Nustatyta, kad chlorogeno rūgšties kiekis didėja nuo drėgmės pertekliaus ar jo trūkumo [170]. Aplinkos stresogeninių klimatinių veiksnių kaita vegetacijos laikotarpiu įtakoja chlorogeno ir kavos rūgšties sintezę ir stebimųjų kiekio svyravimai vegetacijos eigoje (3.5.1.5 pav.). Mūsų tyrimų duomenis patvirtina ir kitų mokslininkų darbai, kuriuose nurodoma, kad vegetacijos pabaigoje rugsėjo mėn. stebimas kavos ir chlorogeno rūgščių kiekio padidėjimas [150]. Rugsėjo pabaigoje fiksuota mažiausia kritulių suma (2007 m. – 41 mm; 2008 m. – 48 mm) ir aktyvių paros oro temperatūrų suma (2007 – 384°C; 2008 – 366°C). Žemos temperatūros indukuoja oksidacinį stresą augale, todėl augalas keičia antrinių metabolitų gamybą, produkuodamas junginius pasižyminčius antioksidantiniu aktyvumu [250].

Fenolinių rūgščių kiekio įvairavimas *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* augaluose vegetacijos metu. Vidutinis fenolinių rūgščių kiekis PO žolės ėminiuose – $15,2 \pm 1,14$ mg/g. Vegetacijos eigoje fenolinių rūgščių kiekis kinta nuo 9,87 mg/g iki 22,76 mg/g. Rozmarino rūgštis sudaro 96,25 proc. viso rūgščių kiekio. Nustatyta, kad 2007 ir 2008 metų ėminiuose rozmarino rūgšties kiekis statistiškai patikimai skiriasi ($p < 0,05$). 2007 metų ėminiuose rozmarino rūgšties kiekis kito nuo 9,63 mg/g vegetacijos pradžioje, pasiekė maksimumą 15,90 mg/g 200 metų dieną ir tapo minimalus – 9,35 mg/g 268 metų dieną (3.5.1.6 pav.). 2008 metų ėminiuose mažiausias rozmarino rūgšties kiekis nustatytas birželio viduryje – 10,18 mg/g, didžiausias – 22,45 mg/g 185 metų dieną. Tolesnės vegetacijos eigoje kiekis mažėja iki 15,78 mg/g 253 metų dieną (3.5.1.6 pav.).



3.5.1.6 pav. *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* rozmarino rūgšties kiekis ėminiuose (mg/g) vegetacijos metu 2007–2008 m.



3.5.1.7 pav. *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* kavos rūgšties (KR) ir chlorogeno rūgšties (ChR) kiekiai (mg/g) vegetacijos eigoje (2007–2008 m. vidurkiai)

Chlorogeno rūgštis vidutiniškai sudaro $0,08 \pm 0,008$ mg/g (0,57 proc. viso fenolinių rūgščių kiekio ėminiuose). Tyrimo laikotarpiu (2007 – 2008 m.) vegetacijos eigoje chlorogeno rūgšties kiekis įvairavo nuo 0,017 mg/g iki 0,13 mg/g. Stebimi du chlorogeno rūgšties kiekio maksimumai – 0,12 mg/g 185 metų dieną ir 0,11 mg/g 253 metų dieną (3.5.1.7 pav.). Mažiausias chlorogeno rūgšties kiekis – 0,03 mg/g ėminiuose nustatytas vegetacijos pradžioje 162 metų dieną.

Kavos rūgštis sudaro 3,17 proc. viso fenolinių rūgščių kiekio – $0,45 \pm 0,03$ mg/g. Vegetacijos eigoje didžiausias kavos rūgšties kiekis ėminiuose – 0,64 mg/g nustatytas 200 metų dieną. Mažiausias kiekis nustatytas – 0,31 mg/g, 171 metų dieną. Rugsėjo mėnesį (268 metų dieną) nustatytas kavos rūgšties kiekio padidėjimas iki 0,42 mg/g (3.5.1.7 pav.).

Lapo vystymosi metu fenolinių rūgščių kiekis mažėja, nes padidėja jų transportas į besivystančius lapus [22]. Nustatyta lapų svorio frakcijos ir rozmarino rūgšties ($R^2=0,856$; $R=0,925$; $p=0,003$), kavos rūgšties ($R^2=0,603$; $R=0,777$; $p=0,04$) ir chlorogeno rūgšties ($R^2=0,460$; $R=0,678$; $p=0,04$) kiekių koreliacinė priklausomybė. Nuo 205 metų dienos mažėjantis augalo lapingumas įtakoja fenolinių rūgščių kiekio sumažėjimą ėminiuose. Didėjant lapo ilgiui ir pločiui, bet lapų skaičiui reikšmingai nedidėjant, mažėja rūgščių kiekis, kuris pasiskirsto didesniame lapo sausos masės kiekyje [22].

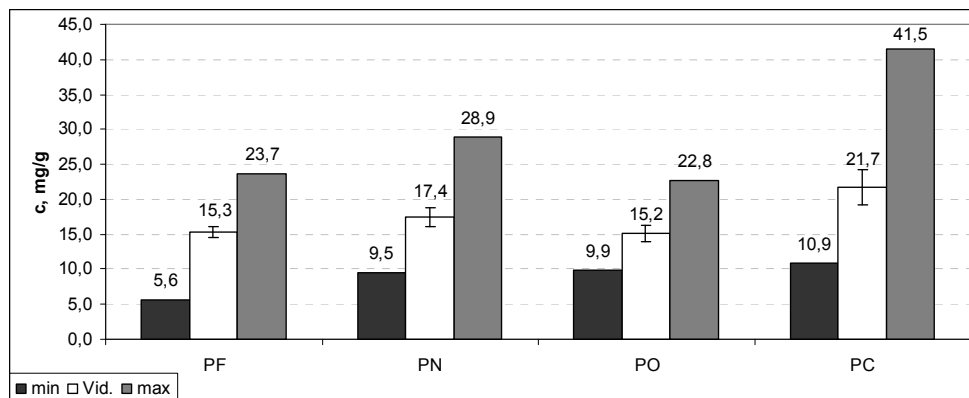
Fenolinių rūgščių kokybinės ir kiekybinės sudėties palyginimas tirtuose *Perilla L.* rūšyse ir varietetuose. Biologiškai aktyvių junginių kiekis *Perilla L.* rūšyse ir varietetuose priklauso nuo vidurūšinių taksonų formų. Pagrindinės *Perilla L.* vidurūšinių taksonų formos yra raudonus ir žalius lapus turintys augalai [107, 140]. Augalų genotipas lemia chemotipą [282]. Tyrimų metu nustatytas didžiausias vidutinis fenolinių rūgščių kiekis vidutiniškai – $21,73 \pm 2,49$ mg/g PC augaluose. Mažiausias fenolinių rūgščių kiekis nustatytas PF augaluose vidutiniškai – $15,33 \pm 0,75$ mg/g ir PO augaluose – $15,22 \pm 2,12$ mg/g (pav. 3.5.1.8).

Apibendrinant visų tirtų *Perilla L.* genties augalų tyrimų rezultatų duomenis nustatyta, kad *Perilla L.* rūšims ir varietetams būdingas didžiausias fenolinių rūgščių kiekis ėminiuose intensyvaus vegetatyvinio augimo metu. Literatūroje rasta duomenų, kad vėlyvųjų vegetatyvinių tarpsnių metu augalai kaupia daugiau fenolinių junginių ruošdamiesi lignifikacijos procesui, augimo sulėtinimui. Fenologiniai tarpsniai ir klimatiniai veiksniai įtakoja fenolinių junginių produkciją [298].

Fenolinių junginių kiekis varijuoja priklausomai nuo vegetacijos tarpsnio. Mažiausi kiekiai nustatyti vegetacijos pradžioje, didžiausi kiekiai intensyvaus vegetatyvinio augimo pabaigoje. Fenolinių junginių kiekio sumažėjimas fiksuojamas butonizacijos fazėje ir masinio žydėjimo metu [11]. PF

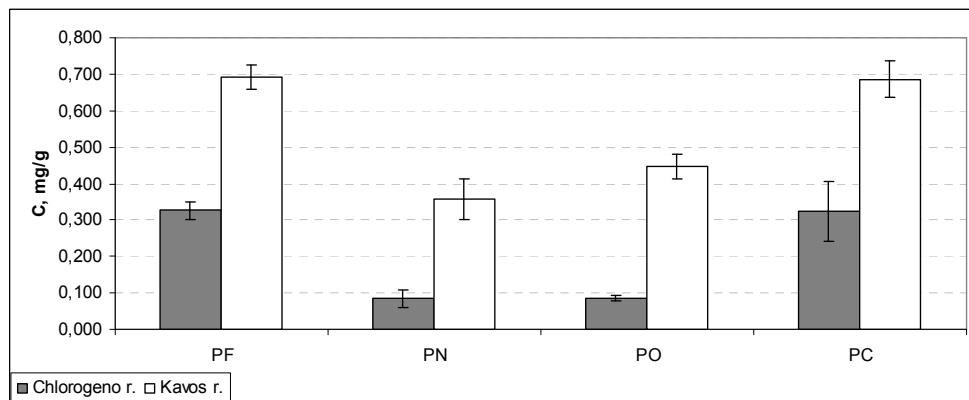
ir PN augaluose, kurių vegetacijoje fiksuojami butonizacijos ir žydėjimo tarpsniai, minimalūs fenolinių rūgščių kiekiai ėminiuose nustatyti butonizacijos ir žydėjimo laikotarpiu. Po žydėjimo, rugsėjo pabaigoje fenolinių rūgščių kiekis vėl ženkliai didėja.

Rozmarino rūgšties kiekis *Perilla* L. vidurūšinių taksonų žaliųjų formų ėminiuose yra didesnis nei raudonųjų formų ėminiuose [107, 140, 212]. *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* nustatytas didžiausias rozmarino rūgšties kiekis – $20,44 \pm 2,51$ mg/g lyginant su kitomis tirtomis perilėmis. Mažiausias rozmarino rūgšties kiekis nustatytas *P. frutescens* – $14,31 \pm 1,23$ mg/g.



3.5.1.8 pav. *Perilla* L. rūšių ir varietetų (PF, PN, PO, PC) fenolinių rūgščių kiekio (mg/g) vidurkiaai, minimalios ir maksimalios reikšmės

Daugiausia chlorogeno ir kavos rūgšties nustatyta PF žaliavos ėminiuose ir PC žaliavos ėminiuose (3.5.1.9 pav.). Kavos ir chlorogeno rūgščių kiekis padidėja rugsėjo mėnesį visuose tirtose rūšyse ir varietetuose.



3.5.1.9 pav. *Perilla* L. rūšių ir varietetų (PF, PN, PO, PC) chlorogeno ir kavos rūgščių kiekio (mg/g) vidurkiaai

Vegetatyvinių tarpsnių pabaiga siejama su augimo greičiu [22]. Nustatytos statistiškai patikimos koreliacijos tarp fenolinių junginių kiekio ir augimo rodiklių (SAG, LPS, SLP, BAG, LSF). Kuo intensyviau auga nauji lapai, tuo daugiau ėminiuose nustatoma rozmarino rūgštis. Šią tendenciją patvirtina ir kitų autorių darbai [22, 154, 103].

Butonizacijos ir žydėjimo metu nustatomi mažesni fenolinių rūgščių kiekiai. Nustatyta, kad visuose tirtuose *Perilla* L. rūšyse ir varietetuose statistiškai patikimai koreliuoja kavos ir chlorogeno rūgščių kiekiai ($p < 0,05$). Fenolinių rūgščių kiekį augale įtakoja ne tik individualūs augalo ontogenezės ir fiziologiniai procesai, bet ir aplinkos veiksniai, lemiantys augimo sąlygas. Dėl optimalių augimui klimatinių sąlygų (optimalaus hidroterminio koeficiento, fotosintetiškai aktyvios spinduliuotės), 2008 metais nustatytas fenolinių rūgščių kiekis patikimai didžiausias.

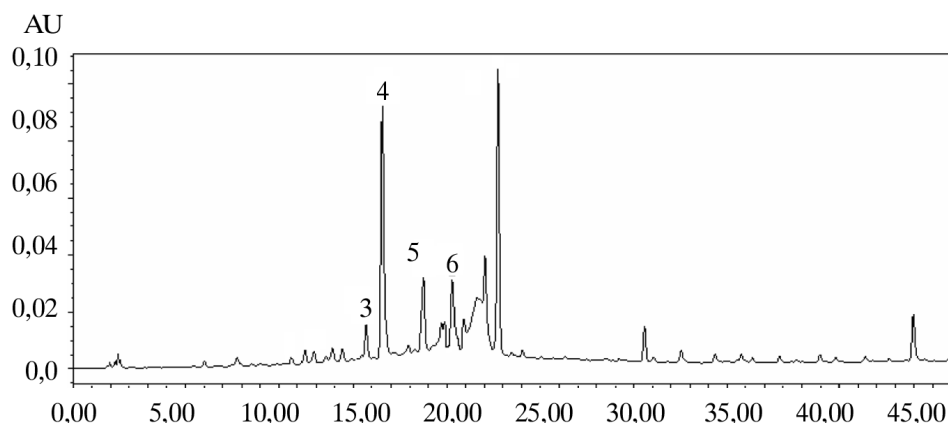
3.5.2 Flavonų kiekio ir sudėties įvairavimas *Perilla* L. augalinėse žaliavose

Augalinių ekstraktų farmakologiniai poveikiai siejami ne tik su fenolinėmis rūgštimis, bet ir su flavonoidais. Flavonoidų tyrimai suintensyvėjo pastebėjus prancūzų paradoksą – 1979 pirmą kartą aprašytą žurnale *The Lancet*, t.y. mažą kardiovaskulinio mirtingumo dažnį stebimą Viduržemio jūros regionų populiacijose susijusį su dideliu sočiųjų riebalų ir vyno vartojimu. Atlikti moksliniai tyrimai įrodo apsauginį flavonoidų poveikį įvairių ligų prevencijai ir gydymui [247].

Identifikuoti 4 junginiai remiantis UV absorbcija, masių spektrais ir masių fragmentais. *P. frutescens*, *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis*, *P. ocyroides* var. *bicolor* *laciniata*, *P. frutescens* var. *nankinensis* *laciniata* žaliavų ėminiuose ESC-DMD-ESI/MS analizės metu naudojant neigiamą jonizacijos modelį identifikuoti flavonų glikozidai. Tyrimų rezultatai pateikiami 3.5.2.1 lentelėje ir 3.5.2.1 paveiksle. Apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas m/z 593 $[M-H]^-$, 179 $[kavos\ rūgštis-H]^-$. Liuteolin-7-O-digliukuronidas m/z 637 $[M-H]^-$, 285 $[M-H-digliukuronidas]^- = [aglikonas-H]^-$, 351 $[digliukluronidas-H-H_2O]^-$. O-glikozilintų flavonoidų fragmentacijos kelias prasideda nuo glikozidinių jungčių nutrūkimo, fiksuojant aglikono ir cukrinio fragmento krūvį [311]. Fragmentas 351 yra specifinis digliukuronido grupei po vandens pašalinimo [266]. Apigenin-7-O-digliukuronidas m/z 621 $[M-H]^-$, 351 $[digliukluronidas-H-H_2O]^-$, 269 $[M-H-digliukuronidas]^- = [aglikonas-H]^-$. Skutelarein-7-O-gliukuronidas m/z 461 $[M-H]^-$, 285 $[M-H-176]^-$ dėl gliukurono rūgštis netekimo deprotonizuotoje molekulėje (176 a. m. v.).

3.5.2.1 lentelė. *Perilla L.* rūšių ir varietetų identifikuotų flavonų glikozidų sudėtis

Piko Nr.	RT (min.)	$\lambda_{\max}$ (nm)	ESI/MS m/z		Junginys
			$[M-H]^-$	Fragmentai	
3	15,62	329	593	179	Apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas
4	16,37	348	637	285, 351	Liuteolin-7-O-digliukuronidas
5	18,52	338,8	621	351, 269	Apigenin-7-O-digliukuronidas
6	20,30	334	461	285	Skutelarein-7-O-gliukuronidas



3.5.2.1 pav. *P. frutescens* žolės etanolinio ekstrakto ESC chromatograma. Analizių smailės: 3 – apigenin-7-kafeoilgliukozidas, 4 – liuteolin-7-O-digliukuronidas, 5 – apigenin-7-O-digliukuronidas, 6 – skutelarein-7-O-gliukuronidas

Flavonų kiekio įvairavimas *P. frutescens* žolės ėminiuose. Tyrimo laikotarpiu (2006–2009 m.) nustatytas $22,84 \pm 1,07$ mg/g vidutinis flavonų kiekis žaliavos ėminiuose vegetacijos eigoje. Vidutiniškai 41 proc. visų identifikuotų flavonoidų sudaro liuteolin-7-O-digliukuronidas, kurio vegetacijos eigoje ėminiuose vidutiniškai nustatoma $9,02 \pm 0,24$ mg/g. Mažiausią kiekį visų identifikuotų flavonoidų sudaro apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas, kurio vidutinis kiekis nustatytas vegetacijos eigoje – $2,21 \pm 0,2$ mg/g žaliavos. Apigenin-7-O-digliukuronido ir skutelarein-7-O-gliukuronido vidutiniškai nustatoma $5,28 \pm 0,46$ ir $6,32 \pm 0,47$ mg/g atitinkamai (3.5.2.2 lentelė).

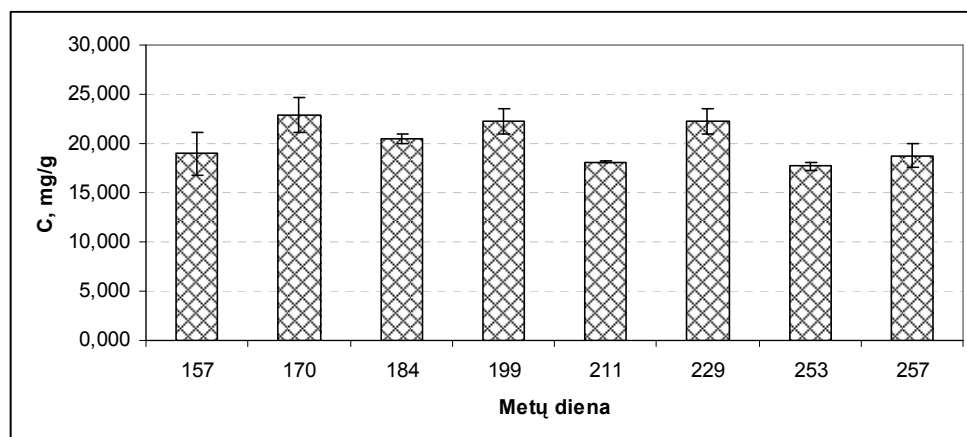
3.5.2.2 lentelė. Flavonų komplekso sudėtis *P. frutescens* žaliavos ėminiuose

Junginio pavadinimas	Kiekis mg/g			
	Max	Min	SE	Vidurkis
Apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas	5,52	0,44	0,20	2,21
Liuteolin-7-O-digliukuronidas	11,42	5,87	0,24	9,02
Apigenin-7-O-digliukuronidas	12,13	1,65	0,46	5,28
Skutelarein-7-O-gliukuronidas	11,92	2,28	0,47	6,32

Atlikus statistinę suminio flavonoidų kiekio analizę, nustatyta, kad 2006–2008 metų ėminiuose flavonų kiekis statistiškai patikimai skiriasi ($p < 0,05$) nuo 2009 metų ėminių. Nustatyta, kad 2009 metais buvo didžiausia aktyvių paros oro temperatūrų suma ($\Sigma = 2799^\circ\text{C}$). Ekstremalios aplinkos temperatūros susijusios su didėjančiu RDR kiekiu [359]. Aktyvuojama flavonoidų biosintezė ir padidėja flavonoidų koncentracija ląstelių vakuolėse [9].

Apigenin-7-O-kafeoilgliukozido 2009 m. ėminiuose nustatyta 1,9 karto ($p = 0,002$) daugiau nei 2006–2008 metų ėminių kiekio vidurkis. Apigenin-7-O-digliukuronido 2009 metų ėminiuose nustatyta vidutiniškai 2 kartus daugiau nei 2006–2008 metų ėminių kiekio vidurkis ($p = 0,003$). Kretzschmar ir kiti nustatė aplinkos faktorių įtaką antrinių metabolitų sintezei. Jų tyrimų duomenimis, tris kartus padidėja flavonoidų fermentų aktyvumas ir ypač apigenino darinų biosintezė [180].

Atlikus flavonų kiekio ir klimatinių veiksnių regresinę analizę nustatyta, kad suminis flavonų kiekis priklauso nuo aktyvių paros oro temperatūrų sumos ($R^2 = 0,894$; $R = 0,945$; $p = 0,015$). Vertinant temperatūros įtaką atskirų flavonų kiekiui nustatyta, kad suminio flavonų kiekio ir temperatūros ryšį lemia apigenino dariniai (apigenin-7-O-kafeoilgliukozido $R^2 = 0,849$; $R = 0,720$; $p = 0,05$; apigenin-7-O-digliukuronido $R^2 = 0,870$; $R = 0,757$; $p = 0,045$). Apigenin-7-O-kafeoilgliukozido ir apigenin-7-O-digliukuronido kiekiai ėminiuose vegetacijos eigoje koreliuoja tarpusavyje visais tyrimo metais ($R^2 = 0,588$; $R = 0,767$; $p < 0,0001$). Liuteolin-7-O-digliukuronido kiekiai vegetacijos eigoje skirtingais tyrimų metais statistiškai patikimai nesiskiria. Skutelarein-7-O-gliukuronido kiekiai patikimai skiriasi 2009 metų ėminiai nuo 2006–2008 metų ėminių. Flavonų kiekiai vegetacijos eigoje statistiškai patikimai koreliuoja ($p < 0,05$).



3.5.2.2 pav. *P. frutescens suminis* flavonų kiekis ėminiuose vegetacijos metu

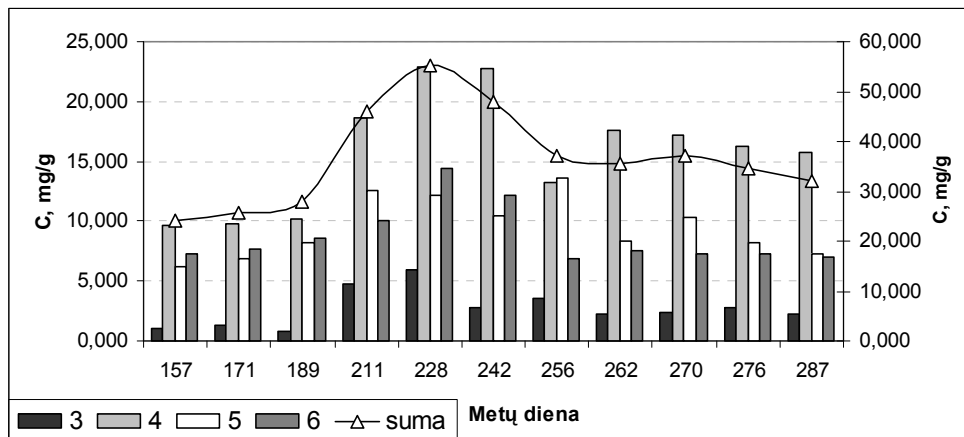
Apibendrinant rezultatus apskaičiuota vidutiniai 2006–2008 metų suminiai flavonų kiekiai (3.5.2.2 pav.). Mažiausi flavonų kiekiai 17,7 mg/g nustatyti žydėjimo tarpsnyje (~253 metų dieną) (3.5.2.2 pav.). Masinio atžėlimo metu 157–211 metų dienomis nustatyta, kad flavonų kiekis svyruoja nuo 18,15 mg/g iki 21,92 mg/g (3.5.2.2 pav.). Nustatyta, kad sėklų brandos laikotarpio pradžioje flavonų kiekis yra 18,7 mg/g.

Apigenino darinių, ir skutelareino dinamika vegetacijos eigoje turi panašias kiekio kitimo tendencijas. Didžiausias kiekis nustatytas intensyvaus vegetatyvinio augimo pabaigoje (liepos mėnuo) visais tyrimo metais. Flavonų kiekis ėminiuose mažėja butonizacijos tarpsnyje, stabilizuojasi žydėjimo metu. Stabilūs mažesni flavonų kiekiai išlaikomi iki vegetacijos pabaigos.

Liuteolin-7-O-digliukuronido kiekis ėminiuose tyrimo laikotarpiu (2006–2009) didėja nuo vegetacijos pradžios (5,87–8,23 mg/g), stebimas kiekio didėjimas intensyvaus vegetatyvinio augimo metu (7,5 – 9,46 mg/g) ir pasiekiamas maksimumas žydėjimo pradžioje (9,48–11,45 mg/g). Sėklų brandos laikotarpiu liuteolin-7-O-digliukuronido kiekis lapų ėminiuose sumažėja iki 7–8 mg/g visais tyrimo metais. Literatūros duomenys patvirtina mūsų nustatytus flavonų kiekių kitimo dėsningumus [157, 163].

Atlikta 2006–2009 metais flavonų kiekio ir augimo rodiklių koreliacinė analizė. Nustatytos statistiškai patikimos koreliacijos tarp flavonų kiekio ir LPS bei SLP (apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas ir LPS: $R^2=0,632$; $R=0,795$; $p=0,05$; liuteolin-7-O-digliukuronidas ir SLP: $R^2=0,695$; $R=0,834$; $p=0,039$; skutelarein-7-O-gliukuronidas ir LPS ($R^2=0,799$; $R=0,894$; $p=0,016$) bei SLP ($R^2=0,668$; $R=0,817$; $p=0,047$)). Patvirtinama tendencija, kad didžiausi biologiškai aktyvių medžiagų kiekiai nustatomi besivystančiuose lapuose.

Flavonų kiekio įvairavimas *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* žaliavos ėminiuose. Tyrimo laikotarpiu (2009 m.) PN žaliavos ėminiuose flavonų suminis kiekis varijavo nuo 24,22 mg/g vegetacijos pradžioje 157 metų dieną iki 55,29 mg/g 228 metų dieną intensyvaus vegetatyvinio augimo tarpsnyje. Didžiausias flavonų kiekis ėminiuose $49,79 \pm 2,81$ mg/g nustatytas 211 – 242 metų dienomis (3.5.2.3 pav.).



3.5.2.3 pav. *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* individualių flavonų kiekis ėminiuose ir suminis flavonų kiekis 2009 m.

(3 – apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas; 4 – liuteolin-7-O-digliukuronidas; 5 – apigenin-7-O-digliukuronidas; 6 – skutelarein-7-O-gliukuronidas)

Augalų vegetacijos eigoje nustatytas flavonų kiekio padidėjimas 262–276 metų dienomis, butonizacijos tarpsnyje ir žydėjimo pradžioje. Suminio flavonų kiekio padidėjimas įtakojamas liuteolin-7-O-digliukuronido kiekio padidėjimu ($R^2=0,931$; $R=0,965$; $p<0,0001$). Didžiausi liuteolin-7-O-digliukuronido kiekiai ėminiuose $22,86$ mg/g – $22,69$ mg/g nustatyti 228–242 metų dienomis. Liuteolin-7-O-digliukuronido kiekis žydėjimo pradžioje pasiekia $17,64$ mg/g, vegetacijos pabaigoje nustatyta – $15,72$ mg/g.

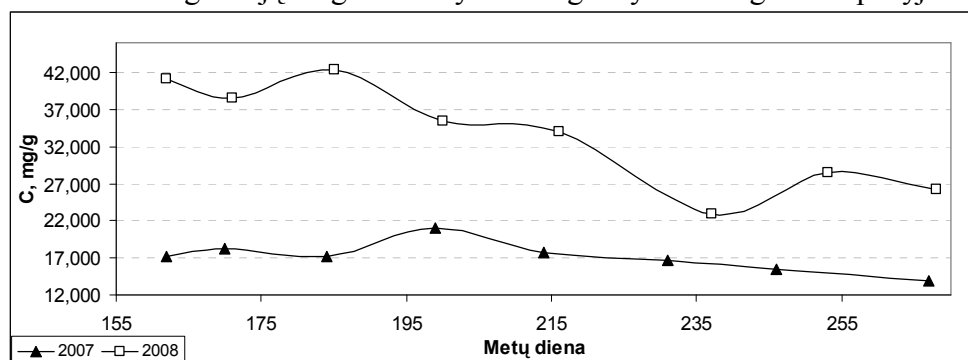
Apigenin-7-O-kafeoilgliukozido ir apigenin-7-O-digliukuronido didžiausi kiekiai ėminiuose nustatyti 228 metų dieną intensyvaus vegetatyvinio augimo metu (atitinkamai $5,89$ mg/g ir $12,14$ mg/g) ir 256 metų dieną butonizacijos pradžioje (atitinkamai $2,50$ mg/g ir $13,61$ mg/g). Vegetacijos pabaigoje apigenin-7-O-kafeoilgliukozido ir apigenin-7-O-digliukuronido kiekiai sumažėja iki $2,18$ mg/g ir $7,32$ mg/g atitinkamai. Visos vegetacijos metu apigenino darinių kiekis tarpusavyje statistiškai patikimai koreliuoja ($R^2=0,564$; $R=0,751$; $p=0,005$).

Skutelarein-7-O-gliukuronido didžiausias kiekis ėminiuose $14,40$ mg/g nustatytas intensyvaus vegetatyvinio augimo metu, 228 metų dieną.

Skirtingai nuo kitų flavonų, butonizacijos pradžioje nustatomas mažiausias skutelarein-7-O-gliukuronido kiekis – 6,85 mg/g. Iki vegetacijos pabaigos skutelarein-7-O-gliukuronido kiekis išlieka stabilus $7,25 \pm 0,08$ mg/g (3.5.2.3 pav.).

Vegetacijos eigoje flavonų sudėtis kinta priklausomai nuo fenologinio tarpsnio. Intensyvaus vegetatyvinio augimo metu apie trečdalį visų flavonų sudaro skutelarein-7-O-gliukuronidas. Intensyvaus vegetatyvinio augimo pabaigoje pusę visų identifikuotų flavonų kiekio sudaro liuteolin-7-O-digliukuronidas. Butonizacijos pradžioje apigenin-7-O-digliukuronidas pasiekia trečdalį viso identifikuotų flavonų kiekio. Žydėjimo metu ir iki vegetacijos pabaigos didžiausią dalį visų nustatytų flavonų sudaro liuteolin-7-O-digliukuronidas.

Flavonų kiekio įvairavimas *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* augalų žaliavos ėminiuose. Atlikus PC flavonų kiekio analizę nustatytas statistiškai patikimas skirtumas 2007 ir 2008 metų ėminiuose. 2008 metų ėminiuose nustatytas flavonų kiekis yra patikimai didesnis (3.5.2.4 pav.). PC nežydi, todėl biologiškai aktyvių junginių kaupimosi dinamikos neįtakoja sėklų branda. PC vegetaciją baigia intensyvaus vegetatyvinio augimo tarpsnyje.



3.5.2.4 pav. *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* suminis flavonų kiekis vegetacijos metu

2008 metų ėminiuose flavonų kiekis 1,8 karto viršija 2007 metų flavonų suminį kiekį ėminiuose (3.5.2.4 pav.). Didžiausi flavonų kiekiai nustatomi nuo 157 metų dienos iki 215 metų dienos. 215 metų dieną nustatytas statistiškai patikimas ($p < 0,05$) flavonų kiekio sumažėjimas.

Apigenin-7-O-kafeoilgliukozido didžiausi kiekiai nustatyti 199 metų dieną 1,40 mg/g – 2007 metais ir 3,38 mg/g – 2008 metais (3.5.2.3 lentelė). Apigenin-7-O-digliukuronido kiekiai nuo vegetacijos pradžios iki 215 metų dienos varijuoja nuo 8,63 mg/g iki 10,85 mg/g 2007 metų ėminiuose ir nuo 14,58 mg/g iki 19,06 mg/g 2008 metų ėminiuose. 235 metų dieną visas

tyrimo metais nustatytas mažiausias apigenin-7-O-digliukuronido kiekis – 7,10 mg/g 2007 ir 9,35 mg/g 2008 metų ėminiuose.

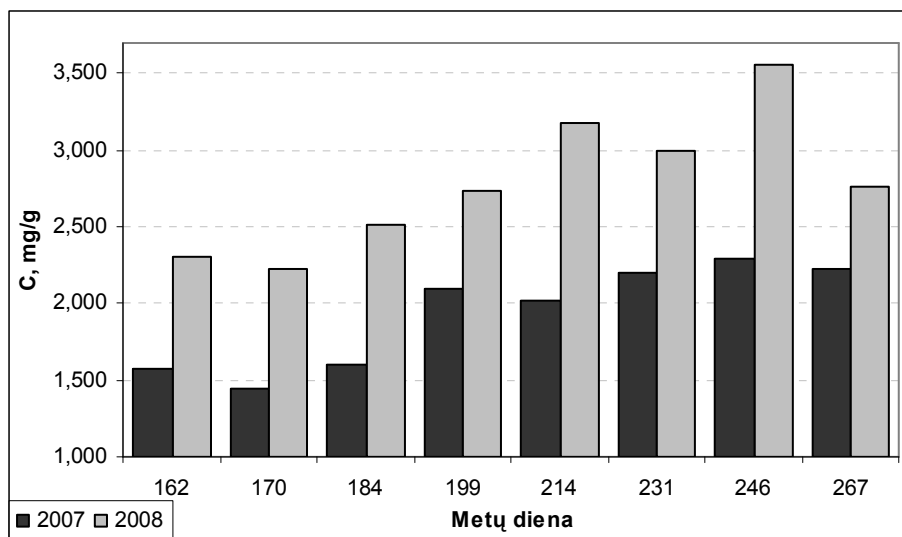
3.5.2.3 lentelė. Flavonų kiekiai *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* žaliavos ėminiuose

Junginio pavadinimas	2007 m.				2008 m.			
	Kiekis, mg/g				Kiekis, mg/g			
	Max	Min	SE	Vidurkis	Max	Min	SE	Vidurkis
Apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas	1,40	0,88	0,07	1,22	3,38	2,27	0,13	2,75
Liuteolin-7-O-digliukuronidas	2,29	1,44	0,12	1,93	3,56	2,03	0,18	2,69
Apigenin-7-O-digliukuronidas	10,86	7,11	0,49	8,91	19,07	9,35	1,83	13,02
Skutelarein-7-O-gliukuronidas	6,60	3,03	0,37	5,08	18,90	8,09	1,18	13,93

PC žaliavos ėminiuose apigenin-7-O-digliukuronido kiekis yra statistškai patikimai didžiausias iki 215 metų dienos lyginant su kitų flavonų kiekiu. 2007–2008 metų ėminiuose vegetacijos eigoje apigenin-7-O-digliukuronido kiekis sudaro 40–57 proc. viso flavonų kiekio. Vidutiniškai 53 proc. viso flavonų kiekio sudaro apigenino dariniai. Literatūros duomenimis *Perilla* L. rūšių varietetų žaliosioms formoms yra būdingi didesni apigenino darinių kiekiai nei raudonosioms formoms [140, 212].

Skutelarein-7-O-gliukuronido kiekiai ėminiuose vegetacijos eigoje varijuoja nuo 3,03 mg/g iki 18,90 mg/g (3.5.3.3 lentelė). Didžiausi kiekiai nustatyti 6,60 mg/g 2007 metais (199 metų diena ir 18,90 mg/g 2008 metais (185 metų diena). Nustatyta, kad nuo 235 metų dienos skutelarein-7-O-gliukuronido kiekis statistškai patikimai sumažėja iki 3,03 mg/g 2007 metais ir 8,08 mg/g 2008 metais. Visų flavonų kiekiai vegetacijos eigoje statistškai patikimai koreliuoja $p < 0,0001$, išskyrus liuteolin-7-O-digliukuronido kiekius.

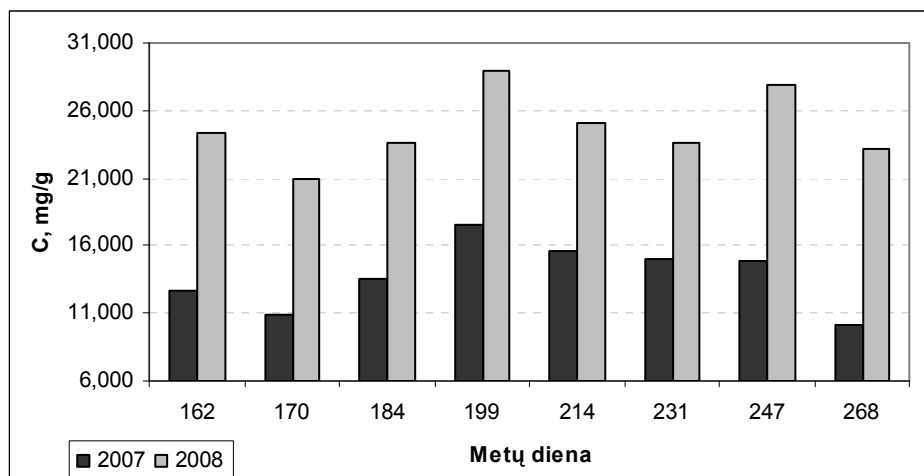
Nustatyta, kad mažiausi liuteolin-7-O-digliukuronido kiekiai yra vegetacijos pradžioje – 1,44 mg/g 2007 metais ir 2,21 mg/g 2008 metais (170 metų diena) (3.5.2.5 pav.). Rugsėjo pradžioje (246 metų diena) liuteolin-7-O-digliukuronido kiekiai pasiekia maksimalias reikšmes – 2,29 mg/g 2007 metais ir 3,56 mg/g 2008 metais.



3.5.2.5 pav. *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* liuteolin-7-O-digluuronido kiekio (C, mg/g) dinamika vegetacijos metu 2007-2008 m.

Atlikus flavonų kiekio ir augimo rodiklių analizę, nustatytos statistiškai patikimos koreliacijos. Apigenin-7-O-kafeoilgliukozido ir skutelarein-7-O-gliukuronido dinamika priklauso nuo LSF (LSF ir skutelarein-7-O-gliukuronidas $R^2=0,790$; $R=0,889$; $p=0,007$; LSF ir apigenin-7-O-digluuronidas $R^2=0,775$; $R=0,880$; $p=0,009$), SLP (skutelarein-7-O-gliukuronidas $R^2=0,689$; $R=0,830$; $p=0,021$; apigenin-7-O-digluuronidas $R^2=0,823$; $R=0,907$; $p=0,005$) ir LPS (skutelareino-7-O-gliukuronidas $R^2=0,795$; $R=0,892$; $p=0,007$; apigenin-7-O-digluuronidas $R^2=0,798$; $R=0,893$; $p=0,007$) rodiklių.

Flavonų kiekio įvairavimas *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* žaliavos ėminiuose. Tyrimai atlikti 2007–2008 m. Vidutinis suminis flavonų kiekis vegetacijos eigoje $19,02 \pm 1,50$ mg/g. Nustatytas statistiškai patikimas skirtumas ($p < 0,05$) tarp 2007 ir 2008 m. žaliavos ėminių flavonų kiekio, tačiau išlaikoma ta pati kiekio dinamikos tendencija visais tyrimo metais. Didžiausi flavonų kiekiai nustatyti 17,52 mg/g – 2007 m. ir 28,99 mg/g – 2008 m. ėminiuose intensyvaus vegetatyvinio augimo metu, 199 metų dieną (3.5.2.6 pav.).



3.5.2.6 pav. *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* suminis flavonų kiekis ėminiuose vegetacijos metu 2007–2008 m.

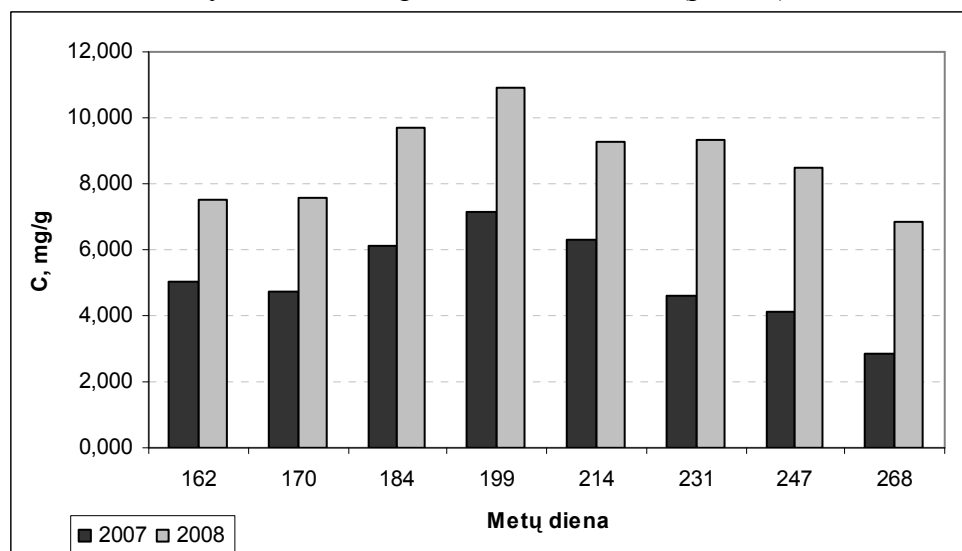
Mažiausi flavonų kiekiai nustatyti vegetatyvinio augimo pradžioje 170 metų dieną – 10,93 mg/g – 2007 ir 20,94 mg/g – 2008 m. (3.5.2.6 pav.) ir vegetacijos pabaigoje 268 metų dieną 10,07 mg/g – 2007 ir 21,81 mg/g – 2008 m. Apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas sudaro vidutiniškai 4 proc. viso identifikuotų flavonų kiekio. Liuteolin-7-O-digliukuronido, apigenin-7-O-digliukuronido ir skutelarein-7-O-gliukuronido kiekiai sudaro apie trečdalį visų nustatytų flavonų kiekio. Didžiausi apigenin-7-O-kafeoilgliukozido kiekiai žaliavos ėminiuose nustatyti (1,19 mg/g) 2007 m. (3.5.2.4 lent.) ir 1,17 mg/g 2008 m. Maži kiekiai nustatyti intensyvaus vegetatyvinio augimo pradžioje 171 metų dienos ėminiuose (3.5.2.4 lentelė). Nuo 243 metų dienos apigenin-7-O-kafeoilgliukozido kiekis vėl reikšmingai sumažėja ir vegetacijos pabaigoje nustatoma tik 0,36 mg/g.

3.5.2.4 lentelė. Flavonų kiekiai *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* žaliavoje

Junginys	2007 m.				2008 m.			
	Kiekis, mg/g				Kiekis, mg/g			
	Max	Min	SE	Vidurkis	Max	Min	SE	Vidurkis
Apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas	1,19	0,41	0,11	0,80	1,17	0,37	0,10	0,70
Liuteolin-7-O-digliukuronidas	5,33	3,34	0,21	4,43	10,21	3,86	0,69	6,81
Apigenin-7-O-digliukuronidas	4,84	1,55	0,46	3,42	9,88	6,02	0,50	8,33
Skutelarein-7-O-gliukuronidas	7,13	2,88	0,48	5,11	10,91	6,83	0,50	8,45

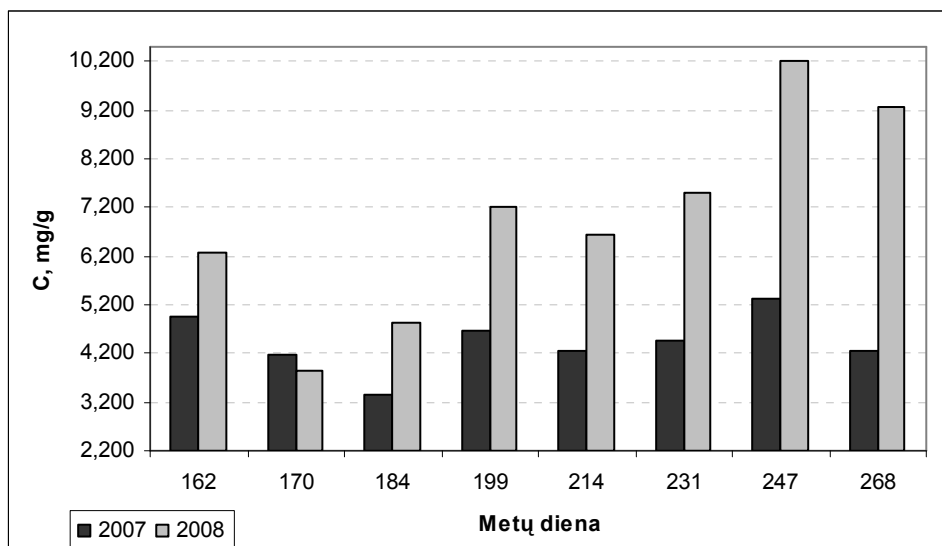
Apigenin-7-O-digliukuronido kiekiai ėminiuose vegetacijos eigoje varijuoja (3.5.2.4 lentelė). Tyrimo metais apigenin-7-O-digliukuronido statistiškai patikimai didžiausias ($p < 0,05$) kiekis nustatytas 199 metų dieną (4,84 mg/g – 2007 ir 9,88 mg/g – 2008 metais).

Skutelarein-7-O-gliukuronido kiekis varijuoja nuo 2,88 mg/g iki 7,13 mg/g 2007 metais ir nuo 6,83 mg/g iki 10,91 mg/g 2008 metais. Nustatyta, kad skutelarein-7-O-gliukuronido kiekio dinamika panaši į apigenino glikozidų dinamiką. Didžiausi kiekiai nustatyti 199 metų dieną (7,13 mg/g – 2007 metais ir 10,91 mg/g – 2008 metais) (3.5.2.7 pav.). Tyrimo laikotarpiu nustatyta, kad vegetacijos pabaigoje 268 metų dieną skutelarein-7-O-gliukuronido kiekis yra statistiškai patikimai mažiausias ($p < 0,05$).



3.5.2.7 pav. Skutelarein-7-O-gliukuronido kiekio (C , mg/g) dinamika vegetacijos metu 2007, 2008 m. *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* žaliavos ėminiuose

Liuteolin-7-O-digliukuronido kiekiai ėminiuose intensyvaus vegetatyvinio augimo tarpsnyje didėja iki 199 metų dienos. Nustatyta, kad nuo 199 metų dienos iki 237 metų dienos liuteolin-7-O-digliukuronido kiekis stabilizuojasi iki 4,4 mg/g – 2007 metais ir 7,1 mg/g – 2008 metais. Liuteolin-7-O-digliukuronido kiekiai pasiekia maksimalias reikšmes 5,33 mg/g – 2007 ir 10,21 mg/g – 2008 metais 253 metų dieną. Vegetacijos pabaigoje, 268 metų dieną nustatytas liuteolin-7-O-digliukuronido kiekis sumažėja iki 4,28 mg/g – 2007 ir 9,28 mg/g – 2008 tyrimo metais (3.5.2.8 pav.).



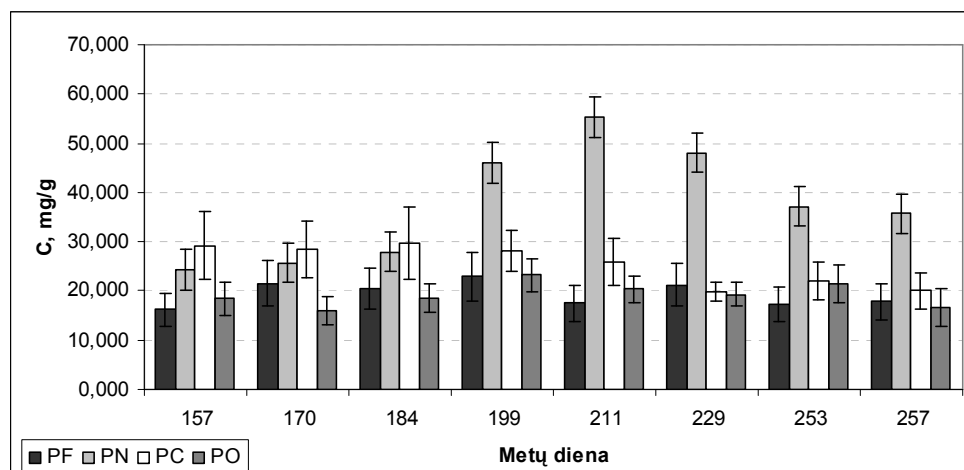
3.5.2.8 pav. Liuteolin-7-O-digliukuronido kiekio (C , mg/g) dinamika vegetacijos metu 2007, 2008 m. *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* žaliavos ėminiuose

Vegetacijos pabaigoje liuteolin-7-O-digliukuronido kiekis ėminiuose padidėja iki trečdaliao visų identifikuotų flavonų kiekio. Nustatyta kad 2007 ir 2008 tyrimo metų duomenys statistiškai patikimai skiriasi visų flavonų kiekių išskyrus apigenin-7-O-kafeoilgliukozido. Kadangi PO augalai nepereina visų vegetacijos tarpsnių, flavonų kiekių dinamikos pokyčių neįtakoja butonizacijos ir žydėjimo metu vykstantys biologiškai aktyvių medžiagų transportas [21].

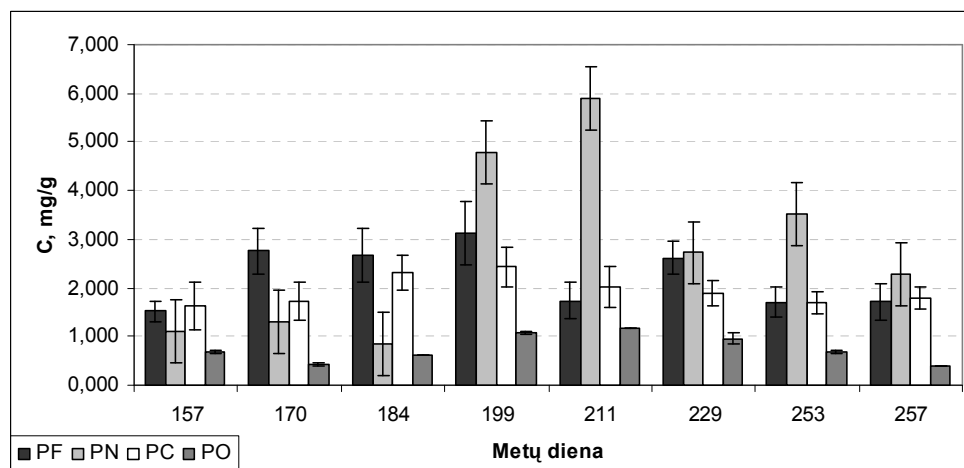
Nustatyta, kad 2008 metais flavonų kiekis yra statistiškai patikimai didesnis nei 2007 metais. 2008 m. PO augalai užaugino daugiau vaistinės augalinės žaliavos. 2008 m. buvo optimalios sąlygos augimui, kai $HTK=1,53$. Nustatytos statistiškai patikimos koreliacijos tarp liuteolin-7-O-digliukuronido ir augimo rodiklių BAG ($R^2=0,811$; $R=0,901$; $p=0,006$), LSF ($R^2=0,627$; $R=0,792$; $p=0,034$) ir SLP ($R^2=0,470$; $R=0,686$; $p=0,048$).

Flavonų sudėties palyginimas tirtuose *Perilla* L. rūšyse ir varietetuose. Atlikus palyginamąją visų tirtų *Perilla* L. rūšių ir varietetų (*P. frutescens*, *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata*, *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis*, *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata*) analizę nustatyta, kad suminis flavonų kiekis didžiausius kiekius pasiekia rugpjūčio mėnesį (3.5.2.9 pav.). PF ir PN flavonų kiekio dinamiką įtakoja sėklų branda. Šių augalų didžiausias flavonų kiekis ėminiuose nustatytas butonizacijos pradžioje. Žydėjimo metu bendras flavonų kiekis sumažėja (3.5.2.9 pav.).

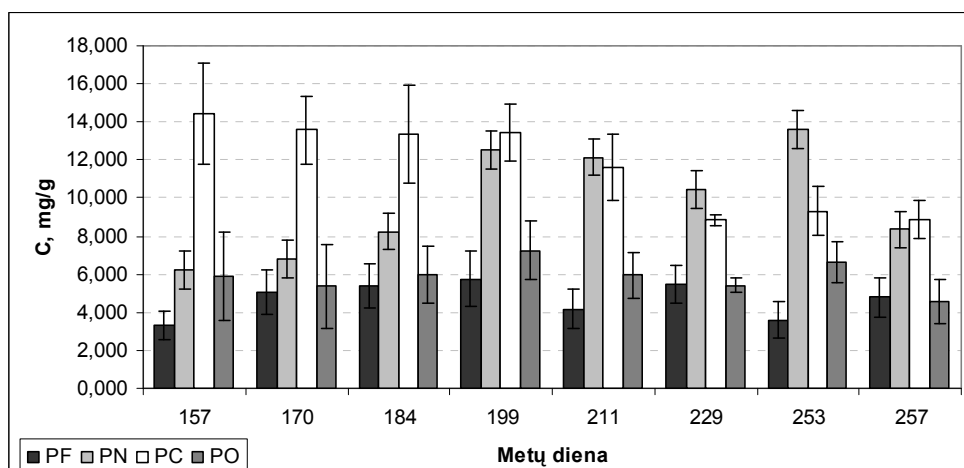
Apigenino glikozidų ir skutelarein-7-O-gliukuronido didžiausi kiekiai ėminiuose nustatyti intensyvaus vegetatyvinio augimo metu. Vegetacijos pabaigoje jų kiekiai reikšmingai sumažėja (3.5.2.10; 3.5.2.11; 3.5.2.12 pav.). Liuteolin-7-O-digliukuronido didžiausi kiekiai PF ir PN ėminiuose nustatyti masinio žydėjimo metu, o PC ir PO ėminiuose – vegetacijos pabaigoje (3.5.2.13 pav.). Statistiškai patikimai didžiausi ($p < 0,05$) liuteolin-7-O-digliukuronido kiekiai nustatyti PN ėminiuose 199–257 metų dienomis (3.5.2.13 pav.).



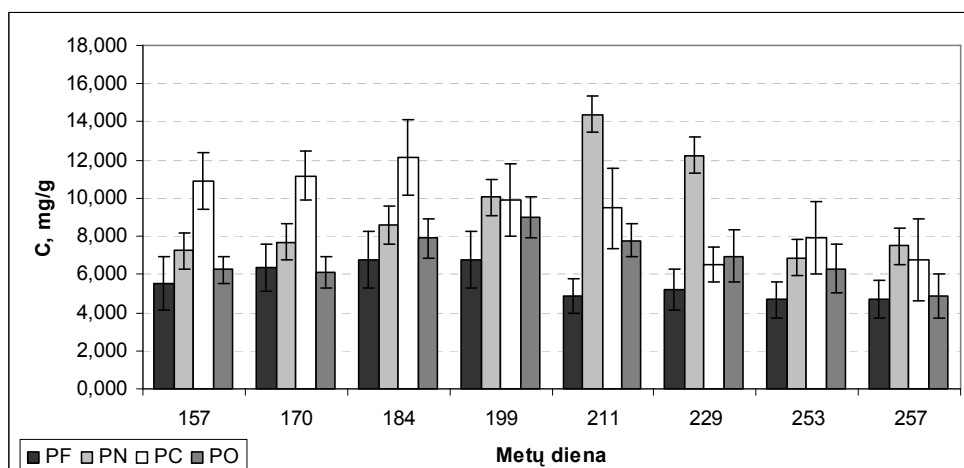
3.5.2.9 pav. *Perilla L.* rūšių ir varietetų (PF, PN, PO, PC) flavonų kiekis (mg/g) žaliavos ėminiuose vegetacijos metu



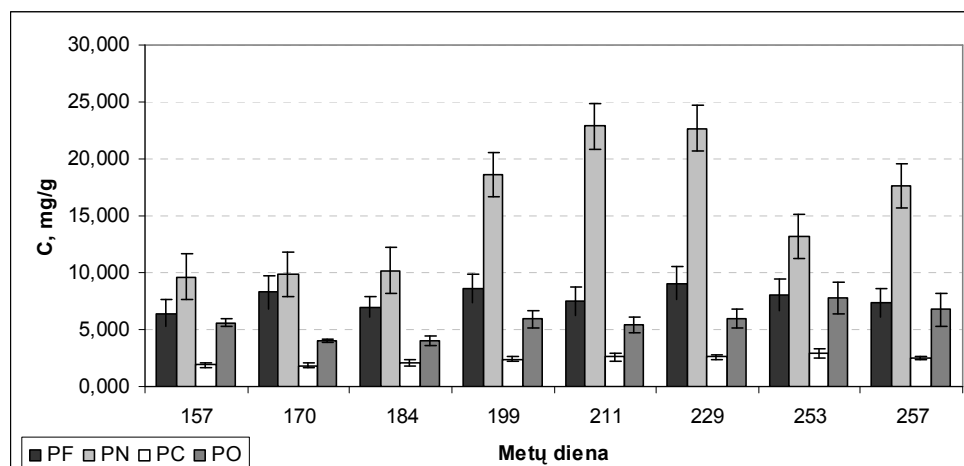
3.5.2.10 pav. *Perilla L.* rūšių ir varietetų (PF, PN, PO, PC) apigenino-7-O-kafeoilgliukozido kiekiai žaliavos ėminiuose (mg/g) vegetacijos metu



3.5.2.11 pav. *Perilla L.* rūšių ir varietetų (PF, PN, PO, PC) apigenino-7-O-diglukuronido kiekiai (mg/g) žaliavos ėminiuose vegetacijos metu



3.5.2.12 pav. *Perilla L.* rūšių ir varietetų (PF, PN, PO, PC) skutelareino-7-O-gliukuronido kiekiai (mg/g) žaliavos ėminiuose vegetacijos metu



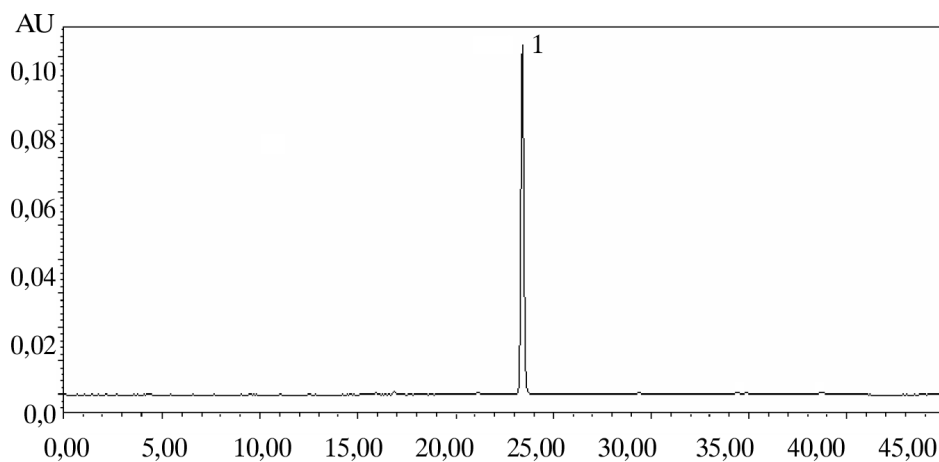
3.5.2.13 pav. *Perilla L.* rūšių ir varietetų (PF, PN, PO, PC) liuteolino-7-O-diglukuronido kiekiai (mg/g) žaliavos ėminiuose vegetacijos metu

Didžiausi apigenin-7-O-diglukuronido kiekiai ėminiuose (13,3–14,45 mg/g) nustatyti PC žaliavoje intensyvaus vegetatyvinio augimo metu (3.5.2.11 pav.). Skutelarein-7-O-gliukuronido daugiausia nustatyta PC (12,12 mg/g) ir PN (14,4 mg/g) augalų žaliavose nuo vegetacijos pradžios iki rugpjūčio vidurio (3.5.2.12 pav.). Statistiškai reikšmingi apigenin-7-O-kafeoilgliukozido maksimumai nustatyti masinio atžėlimo metu – 5,8 mg/g ir butonizacijos metu – 3,5 mg/g (3.5.2.10 pav.).

Apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas, apigenin-7-O-diglukuronidas, skutelarein-7-O-gliukuronidas tarpusavyje statistiškai patikimai koreliuoja ($p < 0,0001$). Liuteolin-7-O-diglukuronido kiekio dinamika vegetacijos eigoje skiriasi nuo kitų flavonų. Flavonų sintezę vegetacijos eigoje įtakoja augalo vystymasis, aplinkos klimatinės sąlygos [157, 163], ir individualaus augimo dėsningumai. Statistiškai patikimos koreliacijos ($p < 0,05$) nustatytos tarp flavonų kiekio ir augimo rodiklių LPS, SLP, BAG, LSF. Daugiausia flavonų augalas sintetina ir vykdo jų transportą į lapus jų ankstyvosiose vystymosi stadijose [21]. Didžiausi flavonų kiekiai nustatyti intensyvaus lapų augimo laikotarpiu.

3.5.3 Antocianidinų kiekybinė analizė *Perilla* L. augalinėse žaliavose

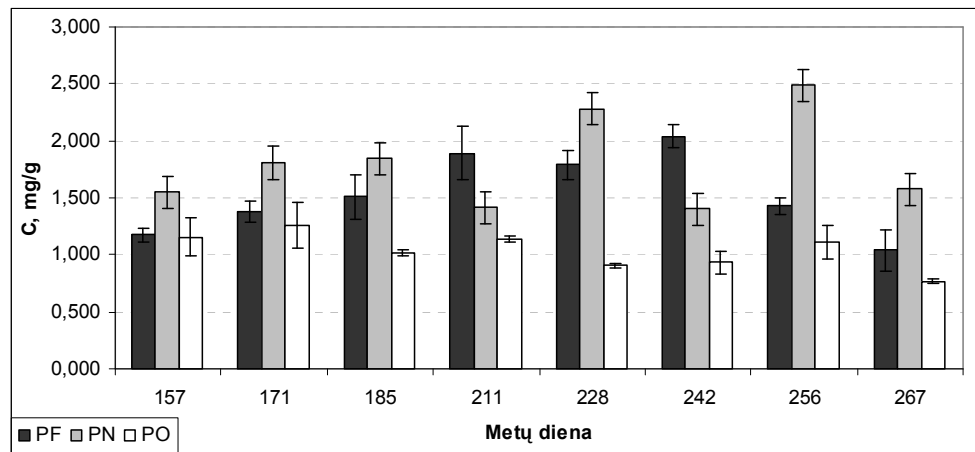
Perilla L. genties augaluose svarbią fenolinių junginių dalį sudaro antocianinai. Jie pasižymi antioksidaciniu aktyvumu ir apsprendžia augalo spalvą. Įvairių autorių duomenimis, *Perilla* L. rūšyse ir varietetuose identifikuoti 7 antocianinai, kurių aglikonas yra cianidinas [107, 140, 212, 282]. Malonilšizoninas sudaro vidutiniškai 70 proc. visų antocianinų kiekio [140]. Literatūros duomenimis, *Perilla* L. genties augalų antocianinų kiekybinis įvertinimas atliekamas bendrą antocianinų kiekį perskaičiavus cianidino ekvivalentais [140, 212]. Prekybinėje rinkoje nėra sudėtingų antocianinų standartų, dažnai taikoma antocianinų hidrolizė [37, 108, 236, 309]. Hidrolizuotus antocianidinų aglikonus galima išskirstyti, identifikuoti ir įvertinti kiekybiškai [37, 108]. Atlikus hidrolizuotų ekstraktų ESC analizę, Lietuvoje augintose *Perilla* L. rūšių ir varietetų žaliavose identifikuotas antocianidinas – cianidinas (3.5.3.1 pav.).



3.5.3.1 pav. *P. frutescens* žolės ekstraktų ESC chromatograma

Analičių smailė: 1 – cianidinas

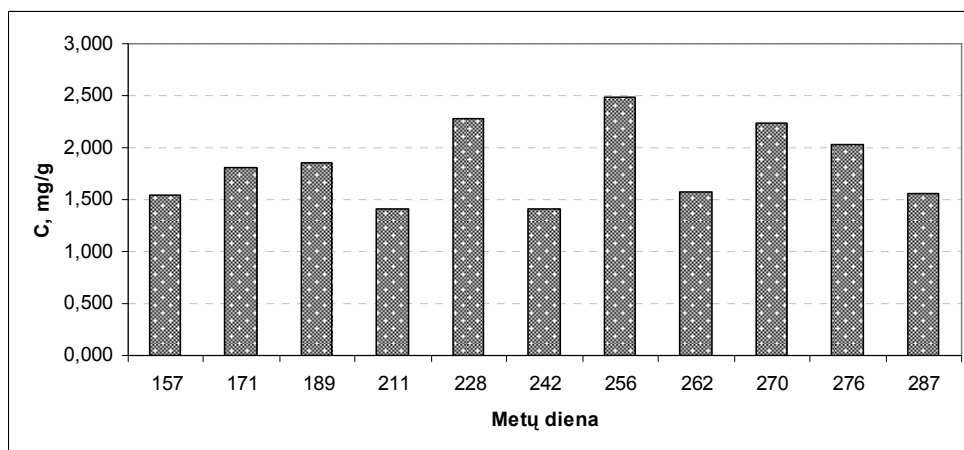
Nustatyta, kad tyrimų laikotarpiu *Perilla* L. rūšių ir varietetų (*P. frutescens*; *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata*; *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis*; *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata*) žaliavos ėminiuose cianidino kiekis įvairuoja nuo 0,01 mg/g iki 2,5 mg/g.



3.5.3.2 pav. *Cianidino kiekiai (mg/g) Perilla L. rūšių ir varietetų (PF, PN, PO) antžeminės dalies ėminiuose vegetacijos metu*

PF augalų ėminiuose cianidino kiekis vegetacijos metu kinta nuo 1,03 mg/g iki 2,04 mg/g. Didžiausi kiekiai nustatyti intensyvaus vegetatyvinio augimo pabaigoje 211 metų dieną – 1,89 mg/g ir 242 metų dieną, žydėjimo tarpsnyje – 2,04 mg/g. Žydėjimo pabaigoje (256 metų dieną) cianidino kiekis sumažėja iki 1,42 mg/g ir sėklų brandos tarpsnyje (267 metų dieną) cianidino kiekis tampa minimalus – 1,03 mg/g (3.5.3.2 pav.).

Nustatytas statistiškai patikimas koreliacinis ryšys tarp cianidino kiekio ir saulės spindėjimo trukmės. Žaliavoje cianidino kiekis didėja ilgėjant saulės spindėjimo trukmei (birželio mėnesį – $R^2=0,726$ $R=0,852$ $p=0,048$; rugpjūčio mėnesį – $R^2=0,883$ $R=0,940$ $p=0,018$; rugsėjo mėnesį – $R^2=0,831$ $R=0,912$ $p=0,031$). Pritaikius Mano-Vitnio kriterijų nustatyta, kad PF ir PN žaliavų ėminiuose cianidino kiekis vegetacijos eigoje statistiškai patikimai nesiskiria.



3.5.3.3 pav. Cianidino kiekis (mg/g) *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* antžeminės dalies ėminiuose vegetacijos metu

PN augalų ėminiuose cianidino kiekis įvairuoja nuo 1,4 mg/g iki 2,48 mg/g. Maksimalūs kiekiai nustatyti intensyvaus vegetatyvinio augimo metu 228 metų dieną ir butonizacijos laikotarpiu 256 metų dieną atitinkamai – 2,28 mg/g ir 2,48 mg/g. Žydėjimo tarpsnyje (270–276 metų dienomis) cianidino kiekis sumažėja iki 2,24 – 2,02 mg/g. Spalio viduryje cianidino kiekis sumažėja iki 1,55 mg/g (3.5.3.3 pav.).

PO augalai, skirtingai nuo PF ir PN augalų, antocianinus kaupia tik apatinėje lapo epidermio pusėje. Nustatyta, kad PO cianidino kiekis yra statistiškai patikimai mažesnis nei PF ($p < 0,003$) ir PN ($p < 0,0001$) žaliavų ėminiuose. Didžiausi cianidino kiekiai nustatyti nuo vegetacijos pradžios iki 211 metų dienos (1,01 mg/g – 1,25 mg/g). Mažiausias kiekis ėminiuose nustatytas vegetacijos pabaigoje $0,77 \pm 0,02$ mg/g (pav.3.5.3.2).

PC augaluose antocianinų kiekis varijuoja nuo 0 iki 7 proc. [140, 212, 282]. Nustatyta, kad Lietuvoje augintoje PC žaliavoje cianidino kiekis varijuoja nuo 0,01 iki 0,02 mg/g.

Perilla L. rūšių ir varietetų biologiškai aktyvių junginių susikaupimas priklauso nuo augalo chemotipo ir morfotipo. PC formoje nustatyti labai maži antocianinų kiekiai, tačiau šios formos kaupia daugiau fenolinių rūgščių. Rozmarino rūgšties daugiau nustatoma žaliosiose perilės formose.

P. frutescens var. *nankinensis laciniata* nustatytas didžiausias antocianinų kiekis. Apigenin-7-O-diglikuronido ir skutelarein-7-O-glikuronido daugiausia nustatyta *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* žaliavoje. Didžiausi liuteolin-7-O-diglikuronido ir apigenin-7-O-kafeoilgliukozido kiekiai nustatyti *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* žaliavoje. Didžiausias vidutinis fenolinių rūgščių kiekis – $21,73 \pm 2,49$ mg/g nustatytas *Perilla*

frutescens var. *crispa* f. *viridis* žaliavoje. Didžiausi fenolinių junginių kiekiai nustatyti intensyvaus vegetatyvinio augimo metu. Daugiausia fenolinių junginių nustatyta 2008 ir 2009 auginimo metais. 2009 metais fiksuota didžiausia aktyvių paros oro temperatūrų suma ($\Sigma=2799^{\circ}\text{C}$) ir nustatytas maksimalus fenolinių junginių kiekis visose tirtose žaliavose. Nustatytas statistiškai patikimos koreliacinės priklausomybės tarp fenolinių junginių kiekio ir augimo rodiklių. Daugiausia junginių sukaupiama jaunuose besivystančiuose lapuose intensyviausio jų augimo laikotarpiu.

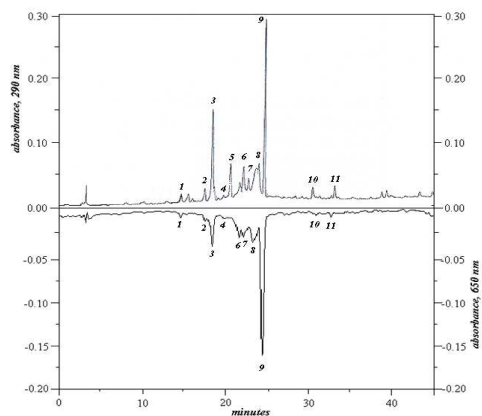
Butonizacijos ir žydėjimo tarpsniuose nustatytas didžiausias eterinio aliejaus kiekis. Augalų fiziologinis tarpsnis lemia vaistinės augalinės žaliavos rinkimo laiką [298]. Masinio žydėjimo metu žaliava renkama, nes nustatytas didžiausias eterinio aliejaus kiekis, vėlyvosios vegetatyvinio augimo fazės metu žaliava renkama nes nustatoma daugiausiai fenolinių junginių. Apibendrinant gautus duomenis galime daryti išvadą, kad fenolinių junginių kaupimosi dėsningumus įtakoja augalų chemotipas ir vidurūšinė įvairovė, individuali augalo ontogenezė bei augimą ir vystymąsi veikiančios aplinkos klimatinės sąlygos.

3.6 *Perilla* L. rūšių ir varietetų žaliavų ekstraktų antiradikalinės savybės

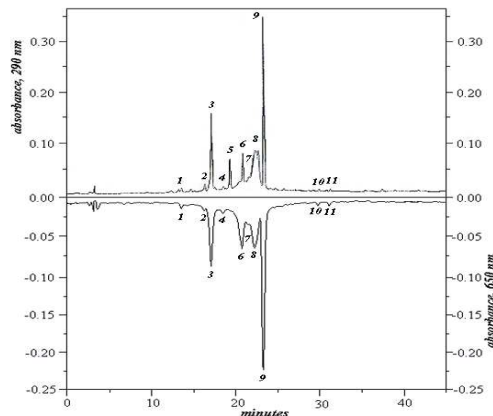
Fenolinių junginių farmakologinių poveikių veikimo mechanizmas siejamas su antioksidantiniu aktyvumu. Pastaruoju metu didėja mokslininkų susidomėjimas natūraliais antioksidantais, vis plačiau taikomi natūralūs priedai maisto ir kosmetikos pramonėje. Augalinių žaliavų tyrimas yra pirmas žingsnis natūralių antioksidantų paieškoje. Augalinėse žaliavose nustatoma biologiškai aktyvių junginių įvairovė pasižymi skirtingu poveikio stiprumu ir įvairiais veikimo mechanizmais [145].

Fenoliniai junginiai, turintys daug hidroksilo grupių yra vieni efektyviausių junginių trikdantys oksidacijos procesus ir tuo pačiu aterogenezę [32]. Lietuvos klimato sąlygomis augintų *Perilla* L. rūšių ir varietetų (*P. frutescens*, *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis*, *P. ocymoides* var. *bicolor-laciniata*, *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata*) žaliavos ėminių ir ekstraktų antiradikalinis aktyvumas įvertintas tiesioginiais ESC-DPPH ir ESC-ABTS pokolonėlinės reakcijos metodais [273]. Nustatyta 11 junginių, kurie pasižymi antiradikaliniu aktyvumu (3.6.1; 3.6.2 pav.).

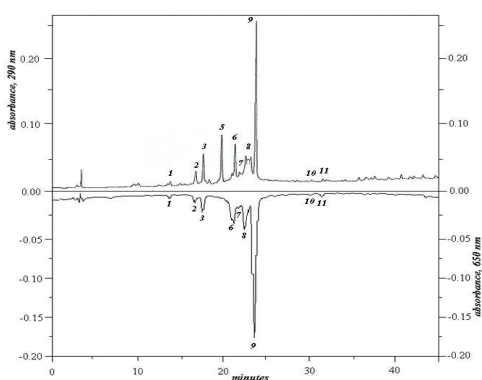
PF



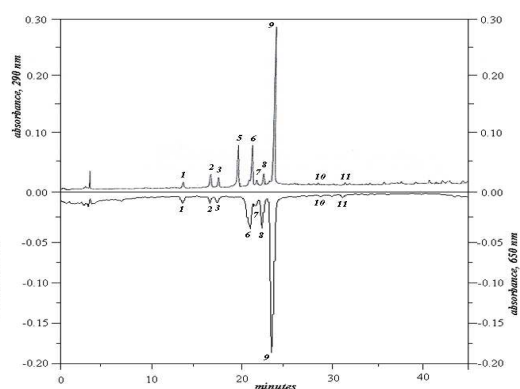
PN



PO



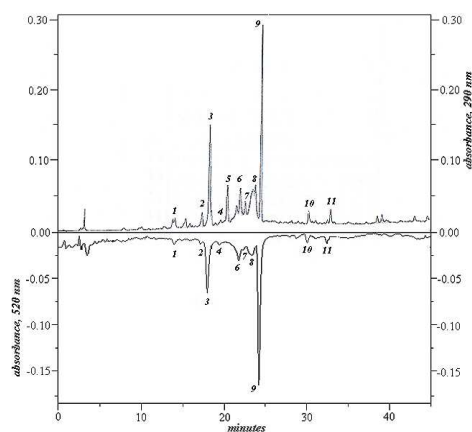
PC



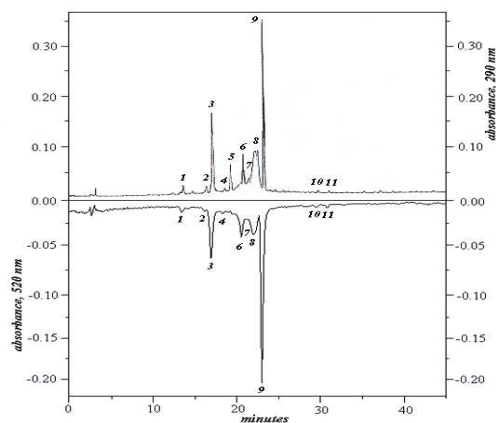
3.6.1. pav. *Perilla* L. žaliavos ėminių ESC-UV-ABTS sujungtos chromatogramos.

(Analizių smailės: 1 – kavos rūgštis; 2 – Apigenin-7-O-kafeoilgliukuronidas; 3 – Luteolin-7-O-digliukuronidas; 5 – Apigenin-7-O-digliukuronidas; 6 – Skutelarein-7-O-gliukuronidas; 8 – Antocianinai; 9 – Rozmarino rūgštis; 4, 7, 10, 11 – neidentifikuoti junginiai). (*P. frutescens* – PF, *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* – PC, *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* – PO, *P. frutescens* var. *nankinensis* laciniata – PN)

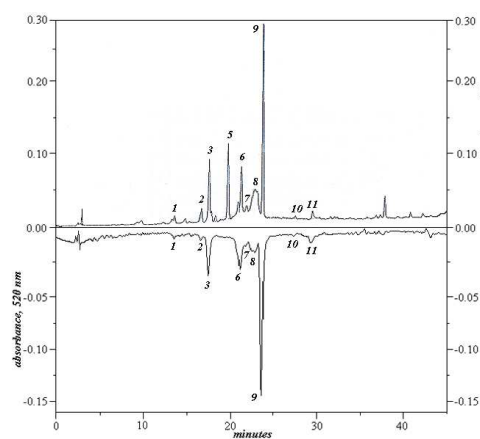
PF



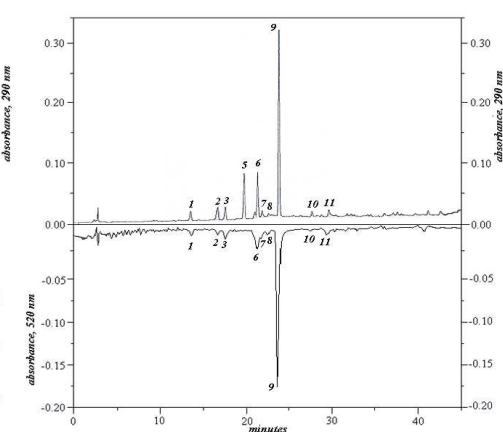
PN



PO



PC



3.6.2. pav. *Perilla L.* žaliavos ėminių ESC-UV-DPPH sujungtos chromatogramos.

(Analičių smailės: 1 – kavos rūgštis; 2 – Apigenin-7-O-kafeoilgliukuronidas; 3 – Liuteolin-7-O-digliukuronidas; 5 – Apigenin-7-O-digliukuronidas; 6 – Skutelarein-7-O-gliukuronidas; 8 – Antocianinai; 9 – Rozmarino rūgštis; 4, 7, 10, 11 – neidentifikuoti junginiai). (*P. frutescens* – PF, *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* – PC, *P. ocymoides* var. *bicolor* laciniata – PO, *P. frutescens* var. *nankinensis* laciniata – PN)

3.6.1 *Perilla L.* rūšių ir varietetų ekstraktų antiradikalinio aktyvumo palyginimas

Epidemiologinių studijų metu nustatytas ryšys tarp augalinio maisto suvartojimo ir sergamumo bei mirtingumo nuo degeneracinių ligų [142, 249]. Žinios apie bendrą augalinės žaliavos antioksidantinę galią, kuri nusako suminį radikalų surišamąjį poveikį, yra reikalingos įvertinant šį epidemiologinį ryšį. Apskaičiavus antioksidantinę galią ir, siejant ją su antioksidantų vartojimu, galima įvertinti antioksidantų poveikį oksidacinio streso sukeltamų ligų iniciacijai ir vystymuisi [249]. Antioksidacinės galios įvertinimui plačiai naudojamas unifikuotas pagal trolokso ekvivalentą apskaičiuojamas rodiklis – TEAC – troloksui ekvivalentinė antioksidantinė galia [63, 73, 314].

Atlikus ESC-ABTS ir ESC-DPPH analizę apskaičiuotos TEAC reikšmės ir įvertintas Lietuvoje auginamų *Perilla L.* rūšių ir varietetų žaliavų antioksidacinis aktyvumas (3.6.1.1 lentelė).

3.6.1.1. lentelė. *Perilla L.* rūšių ir varietetų (PF, PC, PO, PN) junginių TEAC reikšmės ESC-ABTS ir ESC-DPPH metodais

Nr.	Junginys	PF		PN		PC		PO	
		ESC-ABTS	ESC-DPPH	ESC-ABTS	ESC-DPPH	ESC-ABTS	ESC-DPPH	ESC-ABTS	ESC-DPPH
1	Kavos rūgštis	1,03	0,87	1,02	0,91	1,34	0,88	0,90	0,25
2	Apigenin-7-O-kafeoilgliukuronidas	1,15	0,56	1,14	0,38	1,08	0,71	1,47	0,67
3	Liuteolin-7-O-digliukuronidas	6,38	14,15	13,35	14,36	1,19	2,24	3,31	8,79
4	Neidentifikuota	0,82	1,19	1,24	0,27	0,00	0,00	0,00	0,00
5	Apigenin-7-O-digliukuronidas	0,00	1,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	0,00
6	Skutelarein-7-O-gliukuronidas	4,50	9,07	12,67	8,51	8,93	5,55	8,54	9,28
7	Neidentifikuota	6,71	2,27	3,11	2,16	1,51	0,90	2,82	1,17
8	Antocianinai	9,41	8,49	15,67	13,70	5,60	0,61	8,52	6,59
9	Rozmarino r.	27,64	31,24	30,66	39,55	30,27	35,78	28,06	30,22
10	Neidentifikuota	0,97	2,06	0,73	0,07	0,53	0,03	0,57	0,05
11	Neidentifikuota	1,40	0,57	0,94	0,17	0,82	1,20	0,88	0,98
	Bendras TEAC	60,01	71,89	80,52	80,08	51,27	47,89	55,48	57,99

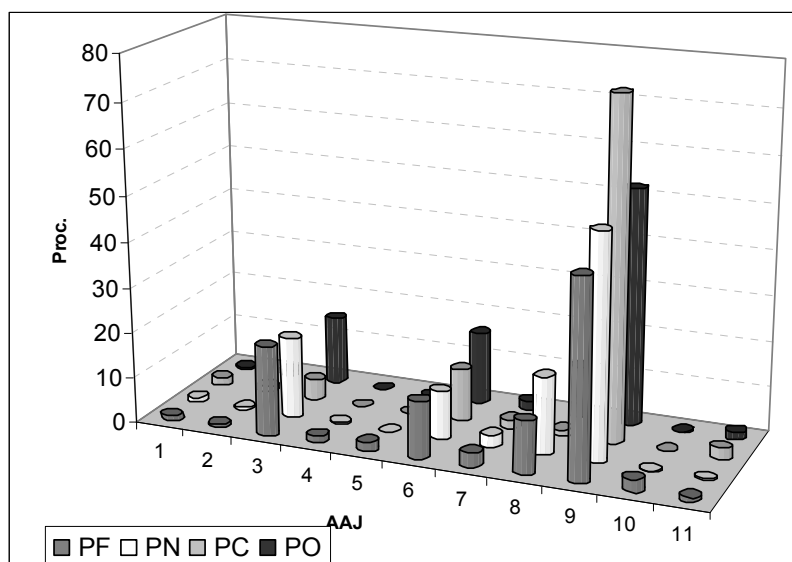
Didžiausią antioksidantinį aktyvumą turi *Perilla frutescens* var. *nankinensis laciniata* (PN). Apskaičiuotas TEAC – 80,52 $\mu\text{mol/g}$ vertinant ESC-ABTS ir 80,08 $\mu\text{mol/g}$ vertinant ESC-DPPH metodais. Mažiausias bendras TEAC nustatytas *Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis* (PC) – 51,27 $\mu\text{mol/g}$ ESC-ABTS ir 47,89 $\mu\text{mol/g}$ ESC-DPPH metodu. Nustatytos tirtų augalų rūšių ir varietetų žaliavos ėminių atskirų junginių TEAC reikšmės. Jos nusako, kokią antioksidantinį aktyvumą (mikromoliais troloksio ekvivalentui) suteikia junginio kiekis esantis viename grame žaliavos (3.6.1.1 lentelė).

Nustatyta, kad *Perilla* L. rūšių ir vidurūšinių taksonų augalų žaliavų antioksidantinį aktyvumą apsprendžia liuteolino ir skutelareino gliukuronidai, antocianinai ir rozmarino rūgštis (3.6.1.1; 3.6.1.2 pav.). Antioksidantinį aktyvumą ir bendrą fenolinių junginių kiekį įtakoja genotipas ir ekofiziologiniai veiksniai [359]. Literatūros duomenimis *Perilla* L. žaliosios formos kaupia daugiau fenolinių rūgščių nei flavonoidų lyginant su raudonosios formos augalais [212, 213]. Nustatyta, kad PC žaliavų ėminių 77 proc. antioksidantinio poveikio lemia fenolinės rūgštys, kurių 74 proc. sudaro rozmarino rūgštis (3.6.1.1; 3.6.1.2 pav.).

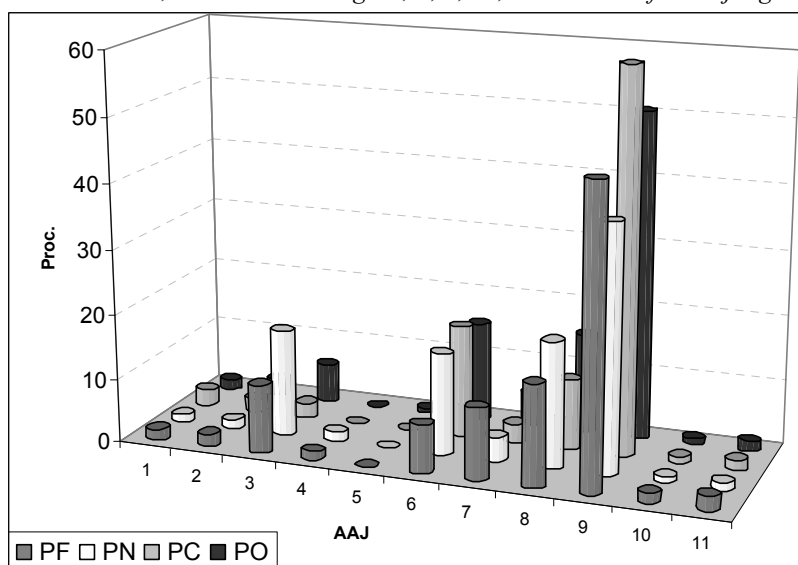
Dideli apigenin-7-O-digliukuronido kiekiai yra būdingi žaliųjų perilės formų augalams [212]. Šio junginio kiekiai *Perilla* L. įvairuoja nuo 27 iki 78 proc. visų flavonų kiekio [212], tačiau šis junginys nepasižymi antiradikaliu aktyvumu. Bendras hidroksilo grupių kiekis ir jų lokalizacija, junginio tirpumas terpėje reikšmingai įtakoja jų antiradikalinį poveikį. Hidroksilo grupė C₆ pozicijoje skutelareino molekulėje padidina antioksidantinį aktyvumą [148].

Glikozidų antiradikalinis aktyvumas gali būti sustiprintas, jei jų cukrinės dalys yra acilintos. *Perilla* L. augaluose identifikuoti du apigenino dariniai. Nustatyta, kad apigenino gliukuronidas neturi reikšmingo antioksidacinio aktyvumo. Kafeoilų grupė pasižymi antioksidaciniu aktyvumu [245, 300]. Nustatyta, kad acilintas apigenino darinys – apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas pasižymi antioksidaciniu aktyvumu ir lemia apie 2 proc. bendro nustatyto TEAC aktyvumo visuose tirtuose *Perilla* L. augaluose (3.6.1.1 lentelė).

Liuteolinas yra stipresnis radikalų surišėjas nei apigeninas, nes didesnis hidroksilo grupių buvimas lemia stipresnį antioksidantinį poveikį. Rozmarino rūgštis turi dvi orto-dihidroksi funkcines grupes, kurios lemia šio junginio antioksidacinį aktyvumą. Eksperimentais nustatytas stiprus rozmarino rūgšties radikalų surišimo poveikis. Antioksidacinis aktyvumas yra tris kartus stipresnis už troloksą.



3.6.1.1 pav. *Perilla L.* antioksidantiškai aktyviųjų junginių (AAJ) TEAC procentinės reikšmės ESC-DPPH metodu
(1 – kavos rūgštis; 2 - apigenin-7-O-kafeoilgliukuronidas; 3 -liuteolin-7-O-digliukuronidas; 5 - apigenin-7-O-digliukuronidas; 6 -skutelarein-7-O-gliukuronidas; 8 – antocianinai; 9 - rozmarino rūgštis; 4, 7, 10, 11 – neidentifikuoti junginiai)



3.6.1.2 pav. *Perilla L.* antioksidantiškai aktyviųjų junginių (AAJ) TEAC procentinės reikšmės ESC-ABTS metodu
(1 – kavos rūgštis; 2 - apigenin-7-O-kafeoilgliukuronidas; 3 -liuteolin-7-O-digliukuronidas; 5 - apigenin-7-O-digliukuronidas; 6 -skutelarein-7-O-gliukuronidas; 8 – antocianinai; 9 - rozmarino rūgštis; 4, 7, 10, 11 – neidentifikuoti junginiai)

PO ir PN žaliavų ėminių vidutiniškai 50 proc. aktyvumo lemia fenolinės rūgštys ir 40 proc. – flavonoidai. PN žaliavų ėminių antioksidantinį aktyvumą lemia flavonoidai (47 proc. bendro TEAC). Nustatyti atskirų antioksidantiškai aktyvių junginių TEAC skirtumai tirtuose *Perilla* L. rūšių ir varietetų augaluose. Nustatyta, kad liuteolino-7-O-digliukuronido ir antocianinų TEAC patikimai skiriasi tarp rūšių ir varietetų (abiem tyrimo metodais ESC-ABTS ir ESC-DPPH).

Daugelyje mokslinių tyrimų nustatomas koreliacinis ryšys tarp fenolinių junginių kiekio ir antioksidacinio aktyvumo [77, 183, 300, 314, 324, 351]. Atlikta bendra *Perilla* L. genties augalų suminio žaliavos TEAC ir antioksidantiškai aktyvių junginių kiekio koreliacinė analizė (3.6.1.2 lent.).

3.6.1.2 lentelė. Antioksidantiškai aktyvių junginių ir suminio žaliavos TEAC koreliacinė analizė

Junginys	ESC-DPPH, TEAC $\mu\text{mol/g}$			ESC-ABTS, TEAC $\mu\text{mol/g}$		
	R	R ²	p	R	R ²	p
Kavos rūgštis	0,774	0,599	<0,0001	0,12	0,001	0,960
Apigenin-7-O-kafeoilgliukuronidas	0,509	0,259	0,026	0,455	0,207	0,050
Liuteolin-7-O-digliukuronidas	0,956	0,914	<0,0001	0,487	0,237	0,035
Skutelarein-7-O-gliukuronidas	0,533	0,285	0,019	0,499	0,249	0,030
Antocianinai	0,824	0,679	<0,0001	0,472	0,223	0,041
Rozmarino rūgštis	0,285	0,081	0,237	0,285	0,081	0,237
Fenolinės rūgštys	0,285	0,081	0,237	0,285	0,081	0,237
Flavonoidai	0,793	0,628	0,023	0,517	0,267	0,023

Stipriausias koreliacinis ryšys nustatytas flavonoidų frakcijai ($R=0,793$; $R^2=0,628$; $p=0,023$ ESC-DPPH metodu ir $R=0,517$; $R^2=0,267$; $p=0,023$ ESC-ABTS metodu) ir ypatingai liuteolin-7-O-digliukuronidui ($R=0,956$; $R^2=0,914$; $p<0,0001$ ESC-DPPH metodu).

Rozmarino rūgštis pasižymi labai stipriu radikalus surišančiu aktyvumu [300], todėl atskirai atlikta visų tirtų *Perilla* L. augalų žaliavų ėminių rozmarino rūgšties ir bendro antioksidacinio aktyvumo analizė. Nustatyta, kad visų augalų atskirai rozmarino rūgšties kiekis koreliuoja su bendru žaliavos TEAC. PF, PO ir PN žaliavų ėminiuose rozmarino rūgšties kiekis ir antioksidantinis atsakas statistiškai patikimai atitinka regresijos lygtį ir pagal Pirsono koreliacijos koeficientą nustatyta vidutinio stiprumo koreliacija (3.6.1.3 lentelė).

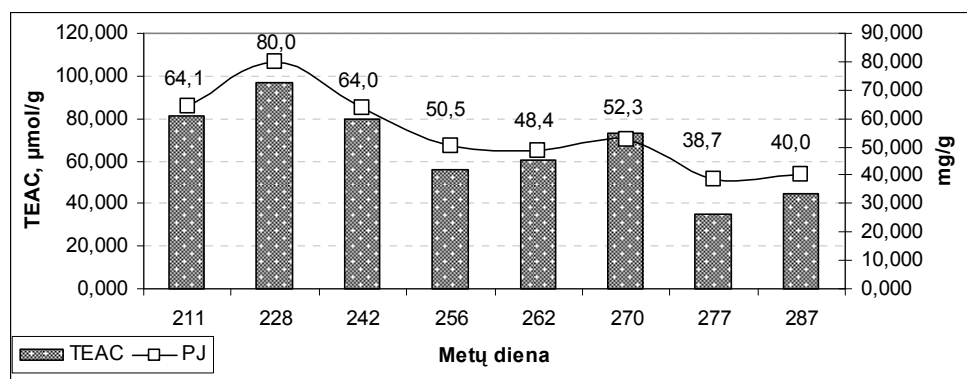
3.6.1.3 lentelė. *Perilla L. augalų rozmarino rūgšties kiekio ir žaliavos TEAC koreliacinė analizė*

		Lygtis	R	R ²	p
ESC-DPPH	PF+PN+PO	$y=2,7754x+32,981$	0,664	0,441	0,004
	PF+PN+PO+PC	$y=0,6911x+50,8$	0,281	0,08	0,236
ESC-ABTS	PF+PN+PO	$y=2,0181x+30,56$	0,668	0,446	0,004
	PF+PN+PO+PC	$y=0,6462x+50,786$	0,374	0,14	0,113

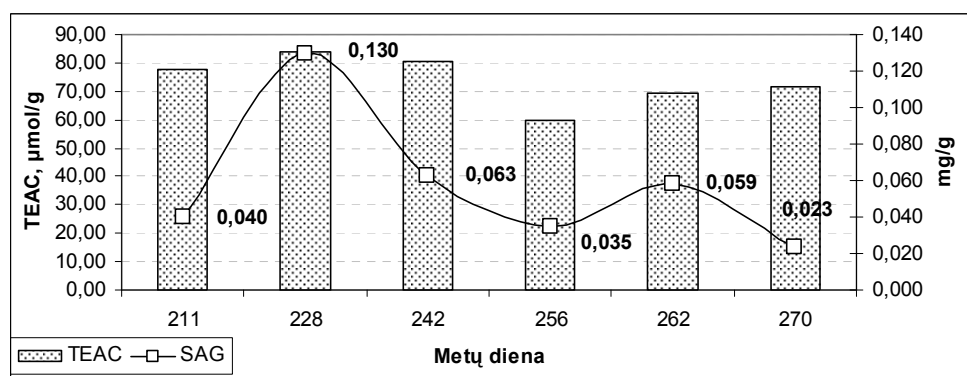
Įtraukiant į matematinę analizę PC, modelis nebeatitinka regresijos lygties ir statistškai patikima priklausomybė nebenustatoma (3.6.1.3 lent.). Į matematinę analizę neįtraukiant PC, nustatyta PF, PO, PN bendro žaliavos TEAC ir fenolinių junginių kiekio priklausomybė ($R=0,664$; $R^2=0,422$; $p=0,005$ ESC-DPPH ir $R=0,748$; $R^2=0,559$; $p=0,001$ ESC-ABTS metodu). Flavonoidų ir bendro TEAC determinacijos koeficientui ir koreliacinio ryšio stiprumui PC reikšmingos įtakos neturėjo.

Augimo proceso metu augalai veikiami įvairių stresinių aplinkos sąlygų: sausra, karštis, ultravioletinė spinduliuotė, oro tarša, patogenai, sezoniniai pakitimai. Galimų poveikių prevencijai augaluose vystosi apsauginiai mechanizmai bei kaupiami antioksidantiniu poveikiu pasižymintys junginiai [177, 305].

Vegetacijos eigoje augalų antioksidacinį aktyvumą įtakoja klimatiniai veiksniai, augalų augimo ypatumai bei augalo ontogenezė. PN žaliavos ėminiuose vegetacijos eigoje maksimalus antiradikalinis aktyvumas nustatytas 228 metų dieną – $83,73 \mu\text{mol/g}$, 96,77 $\mu\text{mol/g}$ ir 270 metų dieną – $71,51 \mu\text{mol/g}$, 72,74 $\mu\text{mol/g}$ metų dienomis atitinkamai vertinant ESC-ABTS ir ESC-DPPH metodais (3.6.1.3 pav.). Antioksidantinio aktyvumo pokyčiai žaliavose atitinka biologiškai aktyvių junginių kitimą vegetacijos metu (3.6.1.3 pav.). Atlikus koreliacinę analizę, nustatytas bendro žaliavos TEAC ir suminio biologiškai aktyvių junginių kiekio ryšys ($R^2=0,739$ $R=0,859$ $p<0,001$ ESC-ABTS ir $R^2=0,921$ $R=0,959$ $p<0,001$ ESC-DPPH metodu).



3.6.1.3 pav. *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* – PN antioksidacinio aktyvumo (TEAC, µmol/g) ir bendro fenolinių junginių kiekio (PJ) (mg/g) kitimas (ESC-DPPH)



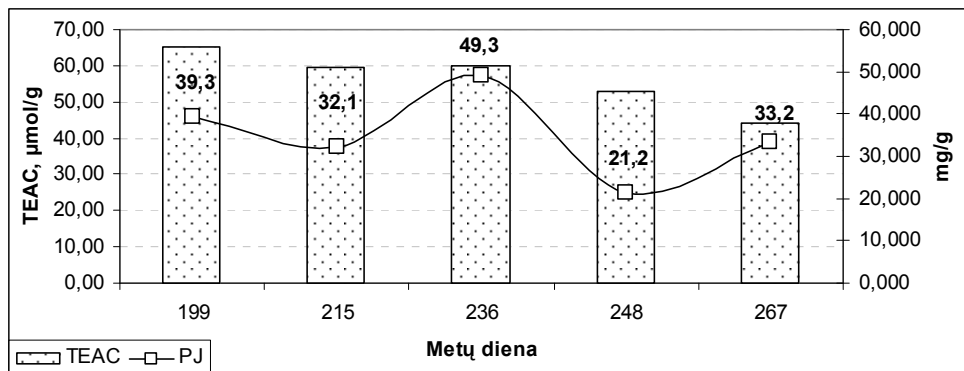
3.6.1.4 pav. *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* – PN antioksidacinio aktyvumo (TEAC, µmol/g) ir santykinio augimo greičio (SAG) kitimas (ESC-ABTS)

Antioksidacinio aktyvumo maksimalios reikšmės koreliuoja su augimo analizės metu nustatytais SAG vertėmis (3.6.1.4 pav.) ($R^2=0,441$ $R=0,664$ $p=0,05$ ESC-ABTS ir $R^2=0,543$ $R=0,737$ $p=0,05$ ESC-DPPH metodu). Mažiausias antiradikalinis aktyvumas nustatytas 256 ir 277 metų dienomis (3.6.1.4 pav.). Intensyvaus vegetatyvinio augimo pabaigoje antioksidacinis aktyvumas sumažėja, nes sumažėja biologiškai aktyvių junginių kiekis (3.6.1.3 pav.). Intensyvus fenolinių junginių kiekio padidėjimą paveikia butonizacijos ir žydėjimo procesai [69], padidėja žaliavos antioksidacinis aktyvumas.

PF augalų žaliavų ėminiuose vegetacijos eigoje maksimalus antiradikalinis aktyvumas nustatytas intensyvaus vegetatyvinio augimo pabaigoje –

(199 metų dieną) 65,39 $\mu\text{mol/g}$ ir žydėjimo pradžioje (236 metų dieną) – 60,01 $\mu\text{mol/g}$ vertinant ESC-ABTS metodu (3.6.1.5 pav.).

PF ekstraktų ESC-DPPH metodu maksimalus antiradikalinis aktyvumas nustatytas 215 metų dieną – 89,8 $\mu\text{mol/g}$ ir 236 metų dieną – 71,8 $\mu\text{mol/g}$ butonizacijos – žydėjimo pradžioje. Antioksidacinį aktyvumą vegetacijos eigoje apsprendžia fenolinių junginių kiekis žaliavoje ($R^2=0,768$ $R=0,876$ $p=0,022$ ESC-ABTS metodu ir $R^2=0,758$ $R=0,871$ $p=0,024$ ESC-DPPH metodu).



3.6.1.5 pav. *P. frutescens* – PF ekstraktų antioksidacinio aktyvumo (TEAC, $\mu\text{mol/g}$) ir bendro fenolinių junginių kiekio (PJ) (mg/g) kitimas vegetacijos eigoje. (ESC-ABTS)

Nustatyta, kad žaliavos antioksidacinis aktyvumas (TEAC) vegetacijos eigoje priklauso nuo santykinio augimo greičio SAG ($R^2=0,662$ $R=0,813$ $p=0,05$ ESC-ABTS metodu), lapų ploto santykio LPS ($R^2=0,980$ $R=0,990$ $p=0,01$ ESC-ABTS metodu) ir specifinio lapų ploto SLP ($R^2=0,933$ $R=0,966$ $p=0,034$ ESC-ABTS metodu). Didesnis lapų plotas masės vienetui ir didelis SAG sąlygoja didesnę antioksidantiškai aktyvių junginių sintezę augale. Atliktų tyrimų rezultatus patvirtina ir kitų autorių duomenys [344, 279]. Antioksidantų susikaupimui žaliavose įtaką daro aukštos arba žemos aplinkos temperatūros [305, 318, 359]. Didėjant aplinkos temperatūrai PF sintetina daugiau antioksidantiniu poveikiu pasižyminčių junginių ($R^2=0,991$ $R=0,964$ $p=0,036$).

Didžiausias PC ir PO žaliavų ėminių antioksidantinis aktyvumas nustatytas 216 metų dieną (PC – 66,59 $\mu\text{mol/g}$ ESC-DPPH, PO – 69,51 $\mu\text{mol/g}$ ESC-ABTS metodais) (3.6.1.4 lentelė). Šių augalų žaliavų 55 proc. antioksidacinio aktyvumo apsprendžia rozmarino rūgštis ir 13 proc. aktyvumo lemia skutelarein-7-O-gliukuronidas.

3.6.1.4 lentelė. *Perilla L.* žaliavos TEAC $\mu\text{mol/g}$ vegetacijos metu 2008 m.

Metų diena	<i>Perilla L.</i>	ESC-ABTS	ESC-DPPH
216	PC	60,02	66,59
237	PC	51,27	47,89
253	PC	67,87	49,35
216	PO	69,41	64,61
237	PO	55,48	57,9
253	PO	58,89	59,43

Visų tirtų *Perilla L.* augalų žaliavų ėminių didžiausias žaliavos antioksidacinis aktyvumas nustatytas rugpjūčio mėnesį. Ši tendencija gali būti siejama su optimaliomis aplinkos sąlygomis augimui, padidėjusiais SAG ir SLP rodikliais. *Perilla L.* augalai, kurių vegetacijos eigoje žydi ir brandina sėklas (PF ir PN) turi dar vieną žaliavos antioksidacinio aktyvumo maksimumą butonizacijos ir žydėjimo pradžioje.

3.6.2 *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* ir *P. frutescens* sausų ekstraktų antiradikalinis aktyvumas

Literatūroje aprašyti *Perilla L.* genties augalų preparatai, tirtas jų poveikis ir naudojimas medicinos praktikoje [6, 45, 199, 225]. Oryza oil & fat chemical co., ltd gamina ir parduoda standartizuotą perilių sėklų ekstraktą [251]. Standartizuotas perilių lapų ekstraktas, turintis 200 mg rozmarino rūgšties, naudojamas mažinti sezoninio rinokonjuktyvito simptomams. Perilių lapų standartizuotus ekstraktus gamina Amino Up Chemical Co. Ltd. Kinijoje ir Hakintatukku kompanija Suomijoje [107].

Atlikta Lietuvoje augintų *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* (PCE) ir *P. frutescens* (PFE, PFV) sausų ekstraktų (10:1) antiradikalinio aktyvumo analizė ESC-ABTS ir ESC-DPPH pokolonėliniais metodais (3.6.2.1 lentelė).

3.6.2.1 lentelė. *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* (PCE) ir *P. frutescens* (PFV, PFE) sausų ekstraktų (10:1) antioksidantiškai aktyvių junginių TEAC, $\mu\text{mol/g}$

TEAC, $\mu\text{mol/g}$	PFE		PFV		PCE	
	ESC-ABTS	ESC-DPPH	ESC-ABTS	ESC-DPPH	ESC-ABTS	ESC-DPPH
Kavos rūgštis	1,03	2,35	5,51	0,83	6,24	3,72
Liuteolin-7-O-digliukuronidas	31,33	34,05	17,89	32,32	6,14	10,04
Skutelarein-7-O-gliukuronidas	25,79	27,80	33,38	8,09	22,40	12,03
Antocianinai	19,84	12,58	21,38	18,56	0,50	0,00
Rozmarino r.	65,96	83,57	85,41	115,06	87,57	118,22
Kiti junginiai	5,59	15,14	17,64	0,40	21,27	5,05
Bendras TEAC	149,54	175,49	181,22	175,25	145,12	149,05

Nustatyta, kad didžiausiu antioksidantiniu aktyvumu pasižymi vandeningis PFV ekstraktas – 181,22 $\mu\text{mol/g}$ vertinant ESC-ABTS ir 175,25 $\mu\text{mol/g}$ vertinant ESC-DPPH metodais. Didesnis *P. frutescens* sausųjų ekstraktų antiradikalinis aktyvumas nei *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* augalų, gali būti siejamas su antocianinų kiekiu. *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* etanoliniame (PCE) ekstrakto nustatytas didesnis kiekis (lyginant su *P. frutescens* augalų ekstraktais) apigenin-7-O-digliukuronido, kuris nepasižymi antioksidaciniu aktyvumu. *P. frutescens* augaliniuose ekstraktuose, lyginant su *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* ekstraktais, nustatyti didesni liuteolin-7-O-digliukuronido ir skutelarein-7-O-gliukuronido kiekiai, kurių kiekis grame sauso ekstrakto turi didesnes TEAC reikšmes (3.6.2.1 lent.). Ekstraktai pagal antiradikalinį aktyvumą išsidėsto tokia tvarka PFV > PFE > PCE.

Perilla L. rūšių ir varietetų (*P. frutescens*, *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis*, *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata*, *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata*) žaliavų ir jų sausų ekstraktų kokybės įvertinimui pritaikyta ESC-ABTS ir ESC-DPPH metodika. Nustatyti antioksidantiniu poveikiu pasižymintys junginiai, tiksliai įvertintas jų antioksidantinis aktyvumas, jų kiekis ir įtaka bendram vaistinės augalinės žaliavos ir sausų ekstraktų antioksidantiniui aktyvumui. Nustatyta, kad pagrindiniai junginiai pasižymintys didžiausiu antioksidantiniu aktyvumu yra rozmarino rūgštis, liuteolino-7-O-digliukuronidas ir skutelareino-7-O-gliukuronidas. Nustatyta, kad didžiausiu antioksidantiniu aktyvumu 181,22 $\mu\text{mol/g}$ pasižymėjo *P. frutescens* vandeningis (PFV) sausasis ekstraktas. *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* –

pasižymėjo didžiausiu antioksidantiniu aktyvumu lyginant su kitais tirtais *Perilla* L. augalais.

Lietuvoje augintų *Perilla* L. augalų antioksidantinis aktyvumas priklauso nuo augalo rūšies ir varieteto, klimatinių sąlygų bei individualios ontogenezės.

3.7 *P. frutescens* ir *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* augalų ekstraktų poveikis žiurkės širdies mitochondrijų funkcijoms

Mitochondrijos yra pagrindiniai organoidai ląstelės gyvybiniame cikle. Mitochondrijų integralumas ir oksidacinio fosforilavimo efektyvumas yra pagrindas ląstelės bioenergetikai ir gyvybingumui [8]. Fenolinių junginių biologiniai efektai siejami su jų antioksidantiniu ar prooksidantiniu poveikiu [84, 129, 348, 358]. Fenolinių junginių prooksidantinis aktyvumas ir sugebėjimas sukelti mitochondrijų disfunkciją siejamas su galimais priešvėžiniais mechanizmais ir navikinių ląstelių apoptoze [83, 220, 272]. Todėl yra aktualu tirti fenolinių junginių poveikį mitochondrijoms, energijos apykaitos ir viduląsteliniam signalo perdavimo keliams bei patologiniams procesams [277, 348].

Atlikti *P. frutescens* lapų vandeninio PFV ir etanolinio PFE bei *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* etanolinio PCE ekstraktų poveikio tyrimai žiurkės širdies mitochondrijų kvėpavimo parametrams. Pirmiausia įvertintas *Perilla* L. ekstraktų poveikį mitochondrijų kvėpavimo grandinės I komplekso substratų piruvato ir malato oksidacijai (3.71; 3.7.2; 3.7.3 lentelės).

3.7.1 lentelė. *P. frutescens* vandeninio ekstrakto (PFV) poveikis žiurkės širdies mitochondrijų funkcijai (substratas piruvatas + malatas)

piruvatas + malatas	Kontrolė	PFV (1μl/1,58 ml)	PFV (2μl/1,58 ml)	PFV (4μl/1,58 ml)	PFV (6μl/1,58 ml)	PFV (8μl/1,58 ml)	PFV (10μl/1,58 ml)
V ₂	38,3±1,5	33,3±1,2	34,5±0,3	32,8±1,1	32,6±0,5	32,2±0,8	35,2±0,6
V ₂ +PFE		33,1±0,4	34,4±1,2	38,7±3,7	43,1±3,4*	47,7±3,6*	49,8±3,4*
V ₃	287,7±14,2	252,7 ±2,7	230,5±16,5*	172±12,7*	88,5±16,5*	74,8±0,7*	63,5±5,1*
V ₄	11,8±0,4	17,1 ±1,9	19,9±2,7	21,8±6,4	23,1±4,2	27,4±3,9	28±2,8*
V ₄ + cyt c	42,1±1,0	51,1 ±1,5	55,9±5,9	76,0±8,2	84,8±7,5*	125±1,2*	134,5±1,4*
KKK	7,7±0,6	7,6 ±0,2	6,7±0,5*	3,8±0,6*	2,7±0,6*	1,7±0,3*	1,8±0,1*

3.7.2 lentelė. *P. frutescens* etanolinio ekstrakto (PFE) poveikis žiurkės širdies mitochondrijų funkcijai (substratas piruvatas + malatas)

piruvatas + malatas	Kontrolė	PFE (1μl/1,58 ml)	PFE (5μl/1,58 ml)	PFE (10μl/1,58 ml)	PFE (20μl/1,58 ml)	PFE (35μl/1,58 ml)
V ₂	50,5±2,1	53,4±1,1	52,1±2,9	47,2±2,2	44,5±2,9	46,2±2,0
V ₂ + PE		53,7±0,4	51,5±2,1	48,5±2,2	50,1±2,9*	59,4±2,2*
V ₃	222,8±11,1	210,7±12,7	194,2±19,5	174,3±10,9*	87,1±9,9*	66,1±8,3*
V ₄	48,2±1,6	53,3±2,9	49,5±1,8	46,5±2,1	40,5±5,4	47,3±5,3
V ₄ + cyt c	90,6±2,9	90,3±3,3	98,8±9,3	111,4±8,3*	124,8±8,9*	159,4±7,4*
KKK	4,5±0,3	3,9±0,3	3,6±0,3	3,7±0,1*	1,9±0,2*	1,4±0,1*

3.7.3 lentelė. *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* etanolinio ekstrakto (PCE) poveikis žiurkės širdies mitochondrijų funkcijai (substratas piruvatas + malatas)

piruvatas + malatas	Kontrolė	PCE (1μl/1,58 ml)	PCE (2μl/1,58 ml)	PCE (5μl/1,58 ml)	PCE (7,5μl/1,58 ml)	PCE (10μl/1,58 ml)	PCE (20μl/1,58 ml)
V ₂	47,7±2,5	52,8±0,7	53,8±1,9	52,9±3,9	55,5±0,3	47,4±3,2	46,8±0,2
V ₂ + PE		54,6±1,8	54,5±0,6	53,6 ±2,9	63,9 ±0,03	45,5±2,0	52,3±0,7
V ₃	321,7±8,3	311,5±6,6	316,5±4,3	289,5 ±15,1	307,5 ±0,8	175,5±2,6*	144,7±2,9*
V ₄	39,0±1,9	46,0±1,3	47,7±0,5	43,6 ±7,7	57,2 ±0,5*	28,8±0,8	46±0,2
V ₄ + cyt c	89,2±2,7	93,1 ±1,6	93,6±0,01	87,8 ±4,1	103,5 ±1,4	82,3±5,9	73,7±10,3
KKK	6,8±0,4	5,8±0,05	5,8±0,1	5,5 ±0,2	5,5 ±0,1	3,7±0,2*	3,1 ±0,6*

V₂ – mitochondrijų kvėpavimo greitis antroje metabolinėje būsenoje, esant 0,5 mg/ml mitochondrijų ir 5 mM piruvato + 5mM malato.

V₃ – mitochondrijų kvėpavimo greitis trečioje metabolinėje būsenoje, esant 1 mM ADP.

V₄ – mitochondrijų kvėpavimo greitis ketvirtoje metabolinėje būsenoje, esant 0,12 mM atraktilozido.

V₄ + cyt c – mitochondrijų kvėpavimo greitis ketvirtoje metabolinėje būsenoje pridėjus 32 μM citochromo c.

KKK – mitochondrijų kvėpavimo kontrolės koeficientas. n=3; *p<0,05.

Nustatyta, kad PFV ekstraktas (1μl/1,58ml – 4μl/1,58 ml; perskaičius į sausą ekstraktą – 0,8-3,0 mg/1,58 ml) neveikė mitochondrijų kvėpavimo greičio antroje metabolinėje būsenoje (V₂). Ekstrakto kiekį padidinus iki 6-10 μl/1,58ml, nustatytas mitochondrijų kvėpavimo greičio antroje metabolinėje būsenoje stimuliavimas (32–41 proc.), taigi, oksidacijos ir fosforilavimo procesų atskyrimas. PFE šį greitį padidino jau pridėjus 10 μL-35 μL/1,58 ml ekstrakto (perskaičius į sausą ekstraktą – 0,15-0,5 mg/1,58 ml). Tuo tarpu mažesnės PFE koncentracijos statistiškai reikšmingo poveikio į V₂ neturėjo. Įdomu tai, jog PCE ekstrakto nei viena tirta

koncentracija neveikė mitochondrijų kvėpavimo greičio antroje metabolinėje būsenoje.

Maksimalus, t.y. ADP stimuliuotas mitochondrijų kvėpavimo greitis (V_3), priklausomai nuo koncentracijos, buvo slopinamas visų trijų ekstraktų. PFE ir PCE ekstraktai šį greitį slopino (22 proc. ir 45 proc., atitinkamai, $p < 0,05$) pridėjus 10 μL ekstrakto. PFV ekstrakto efektas pasireiškė (20 proc. - 78 proc., $p < 0,05$) pridėjus 2–10 μL (1,5–7,5 mg/1,58 ml sauso ekstrakto). Didžiausi naudoti PFE (35 μL) ir PCE (20 μL) ekstraktų kiekiai V_3 greitį sumažino atitinkamai 70 proc. ir 55 proc.

Įvertinome ir mitochondrijų kvėpavimo kontrolės koeficientą (KKK), parodantį mitochondrijų funkcinę būseną. PFV ekstraktas (2–10 μL , t.y. 1,5–7,5 mg/1,58 ml sauso ekstrakto) sumažino KKK 12–76 proc. PFE ekstraktas (10–35 μL , t.y. 0,15–0,5 mg/1,58 ml sauso ekstrakto) – atitinkamai 24–69 proc., tuo tarpu PCE ekstraktas šį parametą slopino (46–54 proc.) pridėjus 10–20 μL (0,15–0,3 mg sauso ekstrakto/1,58 ml). Kitos koncentracijos statistiškai reikšmingo poveikio mitochondrijų KKK-ui neturėjo.

Palyginus visų trijų ekstraktų poveikį maksimaliam mitochondrijų kvėpavimo greičiui, oksiduojant piruvatą ir malatą, nustatyta, kad jau esant 0,15 mg ekstrakto (PFV, PFE, PCE) 1,58 ml kiuvetėje, PFE ir PCE sumažino V_3 apie 22 ir 45 proc., atitinkamai, kai tuo tarpu PFV efekto neturėjo. Ekstraktų kiekiui padidėjus iki 0,3 mg/1,58 ml, tiek PFE, tiek PCE mitochondrijų kvėpavimo greitį trečioje metabolinėje būsenoje slopino 61 ir 55 proc., atitinkamai, o toks pat kiekis PFV mitochondrijų kvėpavimo parametrų neveikė. Šiam efektui pasiekti reikalingi žymiai didesni (4,5–7,5 mg/1,58 ml sauso ekstrakto) PFV kiekiai.

Tolesniais eksperimentais įvertintas perilės ekstraktų poveikis mitochondrijų kvėpavimo grandinės II komplekso substrato sukcinato oksidacijai (3.7.4; 3.7.5; 3.7.6 lentelės). Nustatyta, kad PFE (1–5 μL /1,58 ml), PFV (1 μL /1,58 ml) ir PCE (1–2 μL /1,58 ml) neveikė mitochondrijų kvėpavimo greičių antroje ir trečioje metabolinėse būsenose. Didesni PFV kiekiai (2–10 μL /1,58 ml) slopino V_3 nuo 9 proc. iki 36 proc., atitinkamai, t.y. mažiau lyginat su piruvato ir malato oksidacija ir nežymiai didino (1,07 ir 1,13 kartų, $p < 0,05$) mitochondrijų kvėpavimo greitį antroje metabolinėje būsenoje V_2 . Statistiškai reikšmingas (44–54 proc. ir 10–28 proc.) mitochondrijų kvėpavimo greičio sumažėjimas trečioje metabolinėje būsenoje (V_3) stebėtas esant didesnėms PFE (10–35 μL /1,58 ml) ir PCE (5–10 μL /1,58 ml) koncentracijoms.

Palyginus visų ekstraktų poveikį maksimaliam mitochondrijų kvėpavimo greičiui, oksiduojant sukcinatą, nustatyta, kad įdėjus 0,15 mg/1,58 ml ekstrakto, PFV ir PCE sumažina V_3 apie 44 proc. ir 22 proc., atitinkamai, kai tuo tarpu PFV efekto neturėjo. Ekstraktų kiekiui padidėjus iki 0,3

mg/1,58ml, tiek PFE, tiek PCE V₃ slopina 44 ir 28 proc., atitinkamai, o toks pat kiekis PFV mitochondrijų kvėpavimo parametrų neveikė. Taigi, duomenys rodo, jog sukcinato oksidaciją labiausiai veikė PFE ekstraktas. Tuo tarpu tik žymiai didesni (4,5-7,5 mg/1,58 ml sauso ekstrakto) vandeninio perilės ekstrakto (PFV) kiekiai buvo reikalingi panašiam (31–36 proc.) efektui pasiekti.

3.7.4 lentelė. *P. frutescens* vandeninio ekstrakto (PFV) poveikis žiurkės širdies mitochondrijų funkcijai (substratas sukcinatas)

Sukcinatas	Kontrolė	PFV (1μl/1,58 ml)	PFV (2μl/1,58 ml)	PFV (4μl/1,58 ml)	PFV (6μl/1,58 ml)	PFV (8μl/1,58 ml)	PFV (10μl/1,58 ml)
V ₂	125,3±2,9	130,5±0,8	126,7±0,7	132,0±4,0	122±3,4	123±8,1	134±0,1
V ₂ +PFV		130,9±1,1	127,4±1,5	140,6±4,2*	134±6,3*	135±7,5*	151,5±1,4*
V ₃	269,3±3,3	276,8±1,5	244,5±4,9*	226,5±0,8*	186±12,12*	161±8,1*	171,5±0,8*
V ₄	92,6±1,6	107,8±1,0*	99,4±3,0*	119,1±1,1*	113±6,3*	103,8±11,1*	125±2,3*
V ₄ + cyt c	196,2±8,2	212,8±10,8	207,5±14,1	225,5±7,7*	229±12,7*	236±10,9*	243,5±7,7*
KKK	2,9±0,5	2,6±0,2	2,8±0,5	2,2±0,3*	1,5±0,05*	1,3±0,02*	1,3±0,006*

3.7.5 lentelė. *P. frutescens* etanolinio ekstrakto (PFE) poveikis žiurkės širdies mitochondrijų funkcijai (substratas sukcinatas)

Sukcinatas	Kontrolė	PFE (1μl/1,58 ml)	PFE (5μl/1,58 ml)	PFE (10μl/1,58 ml)	PFE (20μl/1,58 ml)	PFE (35μl/1,58 ml)
V ₂	206±19,7	159±6,3	163,5±6,7	153,5±4,3	159,5±0,3	160±3,5
V ₂ +PFE		164±6,0	177±6,5	158,5±5,5	164±0,01*	169±4,6*
V ₃	349±23,7	279,5±8,9	271±6,6	194,5±32*	194±2,3*	162±2,9*
V ₄	214,7±21,4	157,7±5,9*	170±6,6*	207±32,3	146,5±0,8	134,5±3,2*
V ₄ + cyt c	313,3±5,5	283±6,3	281,5±8,6	230,5±27,4	271±1,7	247±6,3
KKK	1,7±0,06	1,5±0,1	1,7±0,06	1,2±0,1*	1,2±0,01*	1,0±0,003*

3.7.6 lentelė. *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* etanolinio ekstrakto (PCE) poveikis žiurkės širdies mitochondrijų funkcijai (substratas sukcinatas)

Sukcinatas	Kontrolė	PCE (1µl/1,58 ml)	PCE (2µl/1,58 ml)	PCE (5µl/1,58 ml)	PCE (7,5µl/1,58 ml)	PCE (10µl/1,58 ml)	PCE (20µl/1,58 ml)
V ₂	230,2±3,3	243±0,6	228,5±6,1	229,4±9,3	238±2,9	232,7±12,9	243,5±7,8
V ₂ +PCE		246,5±2,0	237,5±8,3	232,3±5,8	249±3,5*	254,9±9,9*	301,5±11,8*
V ₃	437,4±13,4	466±5,2	459,5±11,8	392,7±24,4*	412,5±12,4*	342±24,8*	315,5±10,1*
V ₄	227,1±3,3	216,5±1,4	221,5±5,5	219,9±6,1	236±5,7	241,4±15,7	272±4,6*
V ₄ + cyt c	473,5±7,4	450±3,5	476,5±14,1	466,1±5,3	479,5±15,8	534,9±24,8*	556±16,1*
KKK	1,8±0,04	1,9±0,02	2,0±0,001	1,7±0,04*	1,7±0,03*	1,4±0,04*	1,2±0,0001*

Substratas: 15 mM sukcinatas (+2mM amitalio). n=3. *p<0,05.

V₂ – mitochondrijų kvėpavimo greitis antroje metabolinėje būsenoje, esant 0,5 mg/ml mitochondrijų ir 15 mM sukcinato (+ 2 mM amitalio).

V₃ – mitochondrijų kvėpavimo greitis trečioje metabolinėje būsenoje, esant 1 mM ADP.

V₄ – mitochondrijų kvėpavimo greitis ketvirtoje metabolinėje būsenoje, esant 0,12 mM atraktilozido.

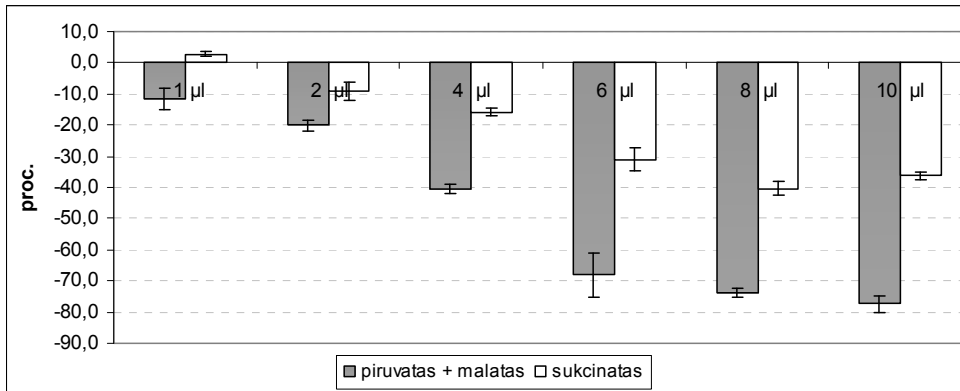
V₄ + cyt c – mitochondrijų kvėpavimo greitis ketvirtoje metabolinėje būsenoje pridėjus 32 µM citochromo c.

KKK – mitochondrijų kvėpavimo kontrolės koeficientas. n=3; *p<0,05.

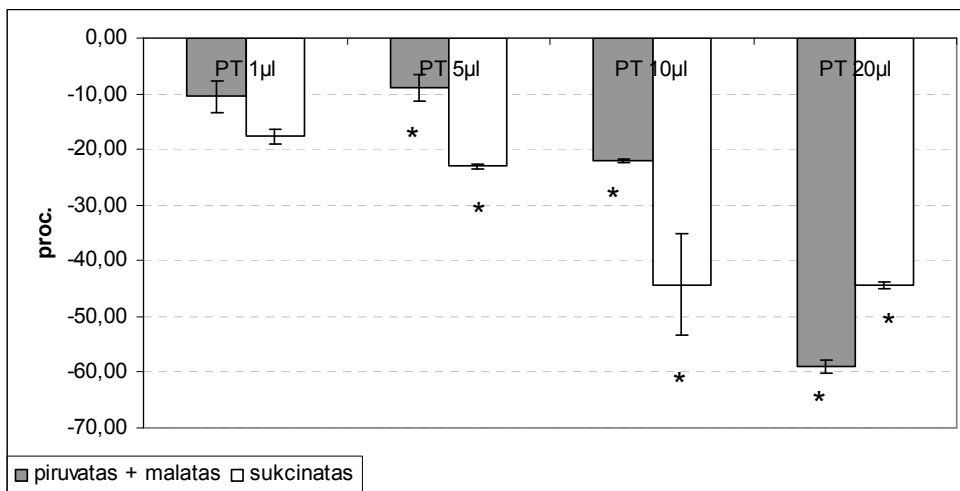
Apibendrinus perilės ekstraktų poveikį mitochondrijų kvėpavimo grandinės I ir II kompleksų substratų oksidacijai nustatyta, kad piruvato ir malato oksidacija yra jautresnė PFV ir PCE ekstraktų poveikiams negu sukcinato oksidacija, tuo tarpu (pav. 3.7.1; 3.7.3) ryškesnis PFE ekstrakto poveikis piruvato ir malato oksidacijai (1-10 µL/1,58ml) buvo stebimas naudojant (20 µL/1,58ml) ekstrakto kiekį (pav. 3.7.2).

Mokslininkų, tyrinėjančių fenolinių junginių poveikį mitochondrijoms, duomenys yra prieštaringi. Nustatyta, kad fenoliniai junginiai yra arba neefektyvūs arba veikia inhibuojančiai pirmą ir antrą mitochondrijų kvėpavimo grandinės kompleksus (NADH-oksidazės ir sukcinatoksidazės aktyvumą) [277]. Manoma, kad flavonoido B žiedo hidroksilinimas ir nulemia NADH oksidazės slopinimo aktyvumą [293]. C2-3 dviguba jungtis ir 4-keto grupė yra svarbios NADH- oksidazės inhibiciniam poveikiui [111]. Flavonoliai, izoflavonai ir flavonai yra aktyviausi NADH oksidazės inhibitoriai [111, 337]. *Perilla* L. augaluose identifikuoti flavonų apigenino, skutelareino ir liuteolino glikozidai. Hubac ir kiti nustatė, kas liuteolinas inhibuoja NADH-oksidazę augalinėse ląstelėse [115]. Daugelio autorių tyrimų duomenimis, flavonai labiau veikia NADH-oksidazę nei sukcinatoksidazę [337]. Antocianinų poveikiui yra jautresnis mitochondrijų kvėpavimo grandinės II kompleksas [277]. Kadangi *Perilla* L. augaluose yra identifikuoti 4

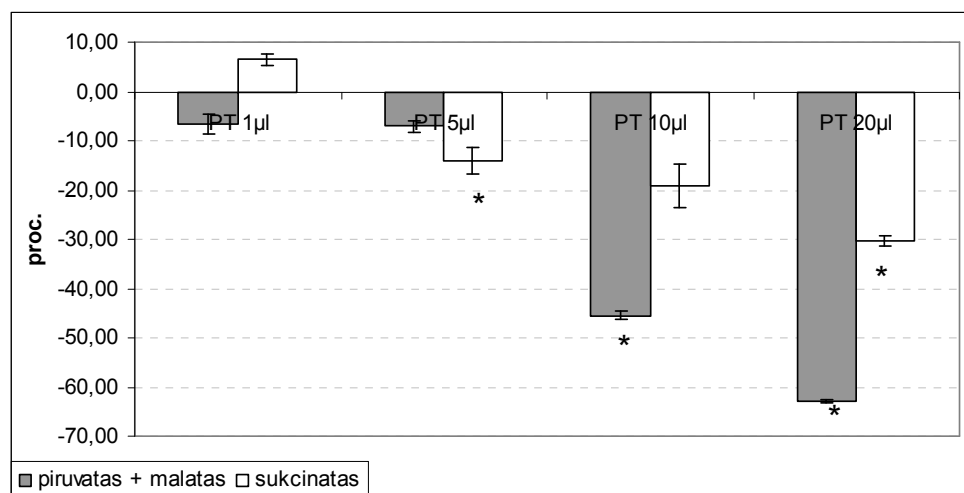
flavonų dariniai su skirtingu B žiedo hidroksilinimu bei 6 antocianinų dariniai, todėl poveikis mitochondrijų kvėpavimo grandinės komponentams gali būti labai įvairus, priklausomai nuo biologiškai aktyvių junginių komplekso ekstrakto ir jų cheminės-biologinės sąveikos.



3.7.1 pav. *PFV poveikis mitochondrijų kvėpavimo greičiui trečioje metabolinėje būsenoje*



3.7.2 pav. *PFE poveikis mitochondrijų kvėpavimo greičiui trečioje metabolinėje būsenoje*



3.7.3 pav. PCE poveikis mitochondrijų kvėpavimo greičiui trečioje metabolinėje būsenoje

Siekiant išsiaiškinti, kodėl naudojant dideles perilės ekstraktų koncentracijas stebimas mitochondrijų kvėpavimo greičio trečioje metabolinėje būsenoje slopinimas, ištyrėme šių ekstraktų poveikį į nuo fosforilinimo (t.y. nuo ATP sintezės) atskirtam mitochondrijų kvėpavimo greičiui (V_{CCCP}) (3.7.7; 3.7.8; 3.7.9 lentelės).

3.7.7 lentelė. PFV poveikis į nuo fosforilinimo atskirtą mitochondrijų kvėpavimo greitį V_{CCCP} , joms oksiduojant piruvatą + malatą ir sukcinatą

	Substratas piruvatas + malatas		Substratas sukcinatas	
	Kontrolė	PFV (10 µl/1,58 ml)	Kontrolė	PFV (10 µl/1,58 ml)
V_{CCCP}	264,5±5,5	41,3±2,8*	277,5±6,7	165,5±2,2*
$V_{CCCP+Cyt c}$	252,5±6,3	123,5±0,2*	416,5±5,9	346±11,4*

3.7.8 lentelė. PFE poveikis į nuo fosforilinimo atskirtą mitochondrijų kvėpavimo greitį V_{CCCP} , joms oksiduojant piruvatą + malatą ir sukcinatą

	Substratas piruvatas + malatas		Substratas sukcinatas	
	kontrole	PFE (20 µl/1,58 ml)	kontrole	PFE (20 µl/1,58 ml)
V_{CCCP}	248±2,5	135,4±11,5*	206±3,2	117,4±12,2*
$V_{CCCP+Cyt c}$	399 ±5,1	329,7±28,5	397±8,1	329,5±0,23*

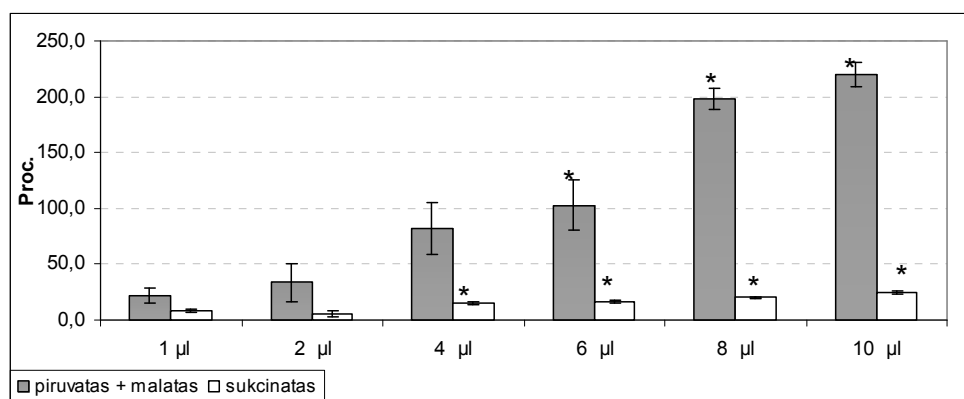
3.7.9 lentelė. PCE poveikis į nuo fosforilavimo atskirtam mitochondrijų kvėpavimo greičiui V_{CCCP} , joms oksiduojant piruvatą + malatą ir sukcinatą.

	Substratas piruvatas ir malatas		Substratas sukcinatas		
	kontrole	PCE (10μl/1,58 ml)	kontrole	PCE (10μl/1,58 ml)	PCE (20μl/1,58 ml)
V_{CCCP}	447±8,9	237±17,5*	309,2±11,7	276,9±9,3	225,5±1,4*
$V_{CCCP+Cyt c}$	643±15,5	364,8±14,1*	504,5±9,1	464,5±6,2	459±4,0*

Substratai: 5 mM piruvatas ir 5 mM malatas; 15mM sukcinatas (+2 mM amitalio). V_{CCCP} – mitochondrijų kvėpavimo greitis esant 0,19 μM karbonilcianid-m-chlorofenilhidrazono (CCCP); $V_{CCCP+Cyt c}$ – nuo fosforilavimo atskirtas mitochondrijų kvėpavimo greitis esant terpėje 32 μM citochromo c. n=3; *p<0,05.

Kadangi oksiduojant piruvatą ir malatą tiek PFV, tiek PFE ir PCE ekstraktai V_{CCCP} sumažino panašiu laipsniu (83 proc., 45 proc. ir 47 proc.) kaip ir mitochondrijų kvėpavimo greitį trečioje metabolinėje būsenoje (78 proc., 61 proc. ir 45 proc.), o sukcinato oksidaciją (40 proc., 43 proc. ir 10 proc. vs 36 proc., 44 proc. ir 22 proc.), galima teigti, kad viena iš mitochondrijų oksidacijos sulėtėjimo priežasčių yra mitochondrijų kvėpavimo grandinės I ir II kompleksų aktyvumo slopinimas. Tačiau neatmetama prielaida, kad perilės ekstraktai gali veikti ir fosforilavimo posistemę, t.y ADP/ATP nešiklį, ir/arba ATP-sintazę.

Nustatėme, kad mitochondrijoms kvėpuojant ketvirtoje metabolinėje būsenoje, ir į matavimo terpę pridėjus egzogeninio citochromo c, PFV poveikyje (6–10 μl/1,58 ml) stebimas mitochondrijų kvėpavimo greičio ketvirtoje metabolinėje būsenoje ($V_{4+Cyt c}$) padidėjimas 2,0–3,2 kartų (3.7.4 pav.). Šis efektas (1,2–1,8 kartai) buvo stebimas ir tiriant PFE (10–35 μl/1,58 ml). Įdomu tai, kad PCE šio poveikio neturėjo. Sukcinato oksidacijos atveju šis padidėjimas buvo aiškiai mažesnis (1,1–1,2 kartai). Kvėpavimo greičio ketvirtoje metabolinėje būsenoje esant citochromui c padidėjimas gali būti susijęs su perilės ekstrakto veikliųjų komponentų sąlygota citochromo c redukcija, ką rodo preliminarūs mūsų eksperimentai bei kitų autorių, tiriančių etaloninių antocianinų tirpalų ar augalų ekstraktų, turtingų antocianiniais, darbai [38, 317]. Jei tai būtų susiję su perilės ekstrakto esančių antocianinų sukelta citochromo c redukcija, tai būtų labai reikšmingas faktas, nes keičiant citochromo c redokso būseną galima reguliuoti ląstelės žūties procesą – apoptozę. Šio mechanizmo išaiškinimui reikalingi išsamesni tyrimai.



3.7.4 pav. *PFV poveikis mitochondrijų kvėpavimo greičiui ketvirtoje metabolinėje būsenoje esant egzogeniniam citochromui c*

Siekiant išsiaiškinti, kokį poveikį mitochondrijų funkcijai turi perilės ekstraktuose identifikuoti veiklieji komponentai, ištyrėme rozmarino rūgšties poveikį širdies mitochondrijų kvėpavimo parametrų. Rozmarino rūgšties kiekis sudaro iki 45 proc. visų identifikuotų junginių ekstrakte. Be to, ESC-ABTS ir ESC-DPPH tyrimų metu nustatėme, kad rozmarino rūgštis lemia iki 80 proc. augalinės žaliavos antioksidacinio poveikio. Eksperimentams pasirinkti rozmarino rūgšties kiekiai atitinka nustatytus kiekius ekstraktuose (3.7.10 lentelė).

3.7.10 lentelė. Rozmarino rūgšties poveikis žiurkės širdies mitochondrijų funkcijoms joms oksiduojant piruvatą ir malatą

	Kontrolė	Rozmarino r. 2,45µg/1,58ml	Rozmarino r. 10,5µg/1,58ml	Rozmarino r. 35µg/1,58ml	Rozmarino r. 105µg/1,58ml
V ₂	58,4±1,34	64,5±2,3	59,5±3,2	66,2±1,8	65,2±1,4
V ₂ +PE		69,8±4,3	57,1±1,7	64,1±2,7	61,5±2,0
V ₃	330,0±34,4	342,0±24,5	355,0±18,6	346,0±23,4	341,0±20,5
V ₄	68,3±6,5	63,1±7,3	70,0±10,5	85,0±5,3	75,0±6,2
V ₄ + cyt c	180,0±9,7	164,0±3,2	190,0±3,8	155,0±5,4	143,0±4,3
KKK	5,6±1,2	5,3±0,5	5,9±0,1	5,2±0,5	5,2±0,5

V₂ – mitochondrijų kvėpavimo greitis antroje metabolinėje būsenoje, esant 0,5 mg/ml mitochondrijų ir 5 mM piruvato + 5mM malato.

V₃ – mitochondrijų kvėpavimo greitis trečioje metabolinėje būsenoje, esant 1 mM ADP.

V₄ – mitochondrijų kvėpavimo greitis ketvirtoje metabolinėje būsenoje, esant 0,12 mM atraktilozido.

V₄ + Cyt c – mitochondrijų kvėpavimo greitis ketvirtoje metabolinėje būsenoje pridėjus 32 µM citochromo c.

KKK – mitochondrijų kvėpavimo kontrolės koeficientas. n=3; *p<0,05.

Mūsų tyrimai rodo, kad rozmarino rūgštis poveikio mitochondrijų kvėpavimo greičiui oksiduojant piruvatą ir malatą neturėjo (3.7.10 lentelė). Poveikis nenustatytas ir sukcinato oksidacijos atveju (duomenys nepateikti). Nors rozmarino rūgštis sudaro 36 – 45 proc. visų ekstraktuose identifikuotų junginių, galime teigti, kad poveikį lemia kiti junginiai. PFV, PFE ir PCE ekstraktuose nustatyti flavonoidai ir fenolinės rūgštys. Visuose trijuose ekstraktuose identifikuoti flavonų dariniai – apigenin-7-O-kafeoilgliukozidas (PFV – 4,5 mg/g; PFE – 2,4 mg/g; PCE – 2,1 mg/g), liuteolin-7-O-digliukuronidas (PFV – 32,6 mg/g; PFE – 27,4 mg/g; PCE – 4,2 mg/g), apigenin-7-O-digliukuronidas (PFV – 6,8 mg/g; PFE – 11,7 mg/g; PCE – 15,2 mg/g) ir skutelarein-7-O-gliukuronidas (PFV – 11,5 mg/g; PFE – 10,5 mg/g; PCE – 6,5mg/g). Didžiausias kiekis antocianinų nustatytas PFV ekstrakto – 4,33 mg/g. PCE ekstrakto, gautame iš žaliosios morfoformos (*Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis*) antocianinų nenustatyta. Įdomu, jog būtent šis ekstraktas, priešingai raudonosios perilės ekstraktams, nestimulavo mitochondrijų kvėpavimo greičio ketvirtoje metabolinėje būsenoje esant citochromui c. Tai dar kartą patvirtina mūsų ir kitų Lietuvos mokslininkų nustatytus faktus, rodančius, jog minėtu poveikiu pasižymi antocianinai [38, 193]. KMU BMTI Biochemijos laboratorijos mokslininkai, tirdami daug antocianinų turintį juodųjų serbentų uogų ekstraktą nustatė, kad šis ekstraktas taip pat stimuliuoja mitochondrijų kvėpavimo greitį ketvirtoje

metabolinėje būsenoje esant egzogeniniam citochromui c bei slopina mitochondrijų kvėpavimo greitį trečioje metabolinėje būsenoje [193].

Atlikę koreliacinę flavonoidų kiekio ir mitochondrijų kvėpavimo greičio ketvirtoje metabolinėje būsenoje (esant citochromui c) ($V_{4+Cyt\ c}$) padidėjimo analizę, nustatėme, jog statistiškai patikima koreliacija būdinga cianidinui ($R=0,975$; $R^2=0,950$; $p=0,000002$ – piruvato ir malato oksidacijos atveju; $R=0,864$; $R^2=0,748$; $p=0,001$ – sukcinato oksidacijos atveju) ir liuteolin-7-O-gliukuronidui ($R=0,939$; $R^2=0,883$; $p=0,00000002$ – piruvato ir malato oksidacijos atveju; $R=0,558$; $R^2=0,311$; $p=0,05$ – sukcinato oksidacijos atveju). Statistiškai patikimas ryšys tarp nustatytas flavonams, kurių struktūros B žiede 3' ir 4' padėtyse yra OH grupės. Svarbu pažymėti, kad PCE ekstrakto (kuris minėto poveikio neturėjo) nustatytas vidutiniškai septynis kartus mažesnis liuteolino kiekis lyginant su kitais tirtais ekstraktais.

Atlikus koreliacinę analizę, statistiškai patikimą koreliaciją gavome ir tarp mitochondrijų kvėpavimo greičio trečioje metabolinėje būsenoje bei apigenin-7-O-digliukuronido kiekio visuose ekstraktuose ($R=0,939$; $R^2=0,882$; $p=0,00002$ – piruvato ir malato oksidacijos atveju; $R=0,764$; $R^2=0,585$; $p=0,006$ – sukcinato oksidacijos atveju). PFE ir PCE ekstraktuose nustatytas skutelarein-7-O-gliukuronido ($R=0,845$; $R^2=0,715$; $p=0,001$ – piruvato ir malato oksidacijos atveju; $R=0,835$; $R^2=0,698$; $p=0,001$ – sukcinato oksidacijos atveju) ir apigenin-7-O-kafeoilgloikozido ($R=0,893$; $R^2=0,799$; $p=0,0002$ – piruvato ir malato oksidacijos atveju; $R=0,826$; $R^2=0,683$; $p=0,001$ – sukcinato oksidacijos atveju) kiekių įtaka mitochondrijų kvėpavimo greičio trečioje metabolinėje būsenoje. Nustatyta, kad didėjant apigenin-7-O-gliukuronido, skutelarein-7-O-gliukuronido ir apigenin-7-O-kafeoilgloikozido kiekiams, mažėja V_3 . Tai patvirtina ir kitų autorių darbus, rodančius, kad flavonų dariniai mažina deguonies suvartojimą trečioje metabolinėje būsenoje ir didina deguonies suvartojimą ketvirtoje metabolinėje būsenoje [337]. Pvz., atlikti tyrimai su flavonu hispiduliniu parodė jo slopinantį poveikį V_3 [337]. Hidroksilo grupių skaičius ir konfigūracija ypač B žiede reikšmingai keičia efektus mitochondrijų kvėpavimo grandinei [277, 337]. Skutelareino, apigenino ir hispidulino struktūroje yra 4' OH grupė, 7, 5 OH grupės. Skutelareinas turi 6 padėtyje OH grupę, o hispidulino 6 padėtyje yra metoksi grupė. Mūsų analizės metu nustatytas ryšys tarp slopinamojo poveikio V_3 greičiui ir flavonų, kurių B žiede yra viena 4' padėtyje esanti OH grupė. Melo su bendradarbiais atlikto *Hyptis pectinata* L. lapų ekstraktų tyrimo mitochondrijų kvėpavimo funkcijai metu nustatyta, kad ekstraktas sumažino mitochondrijų kvėpavimo greitį trečioje metabolinėje būsenoje ir neturėjo įtakos kvėpavimo greičiui ketvirtoje metabolinėje būsenoje [211]. Pagrindiniai *Hyptis pectinata* L.

identifikuoti flavonų dariniai struktūroje turi 3' ir/arba 4' padėtyse hidroksilo grupes bei metilintus pakaitus 6 ir 7 padėtyse [181].

Valdameri at al. nustatė, kad pagrindiniai flavonų poveikiai mitochondrijoms lokalizuojasi tarp I ir III kompleksų [337]. Jų tyrimai rodo, kad hispidulinas, savo struktūra artimas apigeninui ir skutelareinui, slopina NADH dehidrogenazę [337]. Šį efektą suteikia hidroksilo ir/arba metoksilo grupės B žiede [337]. Hidroksilo grupių metilinimas padidina molekulės lipofiliškumą ir flavonoidų prieinamumą mitochondrijų vidinėje membranoje [59, 129, 289]. Dviguba jungtis C2, C3 padėtyje ir 3 padėtyje esanti hidroksilo grupė, konjuguota su 4-oksi grupe lemia flavonų sąveiką su vidine mitochondrijų membrana, inhibuoja mitochondrijų kvėpavimo grandinę ar sukelia oksidacijos-fosforilinimo procesų atskyrimą [64, 65, 277, 342]. Įvairių autorių duomenimis, pirminis flavonų inhibicijos taikiny yra mitochondrijų kvėpavimo grandinės I kompleksas [337]. Flavonai slopina I ir II kompleksus arba veikia kvėpavimo grandinę tarp kofermento Q ir citochromoksidazės [337].

Valdameri et al. tyrimo metu nustatyta, kad flavonai gali skatinti silpną oksidacinio fosforilinimo atskyrimo efektą, kuris sumažina vandenilio peroksido produkciją [337]. Literatūros duomenimis hidroksilo grupės B žiede įtakoja kvėpavimo grandinės inhibiciją, o hidroksilo grupių nebuvimas lemia atskyrimą [65, 277]. Mitochondrijų oksidacijos ir fosforilinimo procesų atskyrimo efektui flavonoidų struktūroje reikalingos hidroksilo grupės 5 ir 7 pozicijoje [59]. Mūsų rezultatai rodo, kad perilių ekstraktai, priklausomai nuo koncentracijos ir cheminės sudėties, pasižymi daliniu oksidacijos ir fosforilinimo procesų atskyrimu. Ir kitų autorių darbai rodo, kad kai kurie flavonoidai (kvercetas, rutinas, kvercitrinas ir kt.), o taip pat flavonoidais turtingi Gudobelės vaisių ir Ginkmedžio lapų ekstraktai taip pat atskiria mitochondrijų oksidacijos ir fosforilinimo procesus [18, 27, 153, 333], ypač dideliu efektu pasižymi Ginkmedžio lapų ekstraktas. Flavonoidais turtingo propolio poveikio mitochondrijų kvėpavimo parametrus tyrimas parodė, kad propolio vandeninis tirpalas slopino mitochondrijų kvėpavimo greitį antroje ir trečioje metabolinėse būsenose [201]. Taigi, ne tik skirtinga veikliųjų junginių koncentracija, bet ir jų struktūra gali skirtingu laipsniu veikti mitochondrijų kvėpavimo parametrus.

Apibendrinant gautus tyrimų rezultatus, nustatėme koncentracijas, kurioms esant pasireiškia perilės ekstraktų (PFV, PFE ir PCE) poveikis mitochondrijų funkcijoms *in vitro* – mitochondrijų kvėpavimo greičio trečioje metabolinėje būsenoje slopinimui bei mitochondrijų kvėpavimo greičio ketvirtoje metabolinėje būsenoje, esant citochromui c, stimuliavimui. Nustatyta, kad perilės ekstraktų poveikiui jautresnė yra mitochondrijų kvėpavimo grandinės I komplekso substrato piruvato ir malato oksidacija.

Palyginus etanolinius *P. frutescens* (PFE) ir *Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis* (PCE) ekstraktus, poveikis maksimaliam, t.y. ADP stimuliuotam mitochondrijų kvėpavimo greičiui oksiduojant piruvatą ir malatą, yra panašus, o sukcinato oksidacijos atveju mitochondrijų funkciją labiau veikia *P. frutescens* (PFE) etanolinis ekstraktas. Mažiausią poveikį mitochondrijų funkcijai turėjo vandeninis *P. frutescens* (PFV), t.y. panašiam efektui pasiekti reikėjo naudoti žymiai didesnes koncentracijas. Poveikį mitochondrijų kvėpavimo greičiui ketvirtoje metabolinėje būsenoje esant egzogeniniam citochromui c (substratas piruvatas ir malatas) buvo stebimas tik *P. frutescens* vandeninio ir etanolinio ekstraktų atvejais. Efektas gali būti siejamas su antocianinų kiekiu ekstrakto (PCE ekstrakto antocianinų nenustatyta).

Gauti tyrimų rezultatai rodo, kad PFV, PFE ir PCE ekstraktų poveikis žiurkės širdies mitochondrijoms priklauso nuo augalo biologiškai aktyvių junginių sąstato. PFV ekstrakto nustatyta du kartus daugiau antocianinų darinių ir du kartus mažiau apigenino-7-O-diglikuronido nei kituose ekstraktuose. PCE ekstrakto daugiausia nustatyta apigenino-7-O-diglikuronido ir nenustatyta antocianinų. PFE ekstraktas išsiskiria didesniu liuteolino-7-O-diglikuronido kiekiu.

Apibendrinant gautus rezultatus galime teigti, kad perilių ekstraktai įtakoja mitochondrijų funkciją priklausomai nuo biologiškai aktyvių junginių kiekio ir sudėties. Keičiant jų koncentracijas ar veikliųjų komponentų sąstatą panaudojant skirtingus ekstrakcijos metodus, galima reguliuoti mitochondrijų funkciją, pvz. pasiekti nežymų oksidacijos-fosforilinimo procesų atskyrimą, citochromo c redukciją, mitochondrijų kvėpavimo greičio slopinimą. Taigi, selektyviai veikiant mitochondrijų funkcijas, atsiranda galimybė kontroliuoti apoptozę ir kitus mechanizmus, vykstančius ląstelėje [39, 40, 296].

IŠVADOS

1. Vidurio Lietuvos klimato sąlygomis augančių *Perilla* L. rūšių ir varietetų augimo aprašymui pritaikyta antro laipsnio polinominės regresijos lygtis, charakterizuojanti šios rūšies augalų augimą ir vystymąsi, kuri gali būti pritaikoma augalo antžeminės dalies produktyvumo prognozėms vegetacijos metu. *P. frutescens*, *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* antžeminė dalis geriausiai išsivysto iki žydėjimo tarpsnio, kai yra perteklinis drėgmės kiekis ($HTK=1,95$; $p<0,05$). *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis*, *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* vystymosi cikle nefiksuojami žydėjimo ir sėklų brandos tarpsniai. Tirtų augalų lapų svorio frakcijos rodiklis didėja priklausomai nuo aktyvių paros oro temperatūrų sumos ir saulės spindėjimo trukmės ($R^2>0,90$; $p<0,05$). Palyginus *Perilla* L. rūšių ir varietetų augimo ir vystymosi požymius nustatytas *P. frutescens* pranašumas ir geresnis prisitaikymas Lietuvos klimato sąlygomis.
2. Vidurio Lietuvos klimatinėmis sąlygomis produktyviausia yra *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* (1012,43 g šviežios ir 308,65 g orasausės žaliavos masės). Mažiausiai produktyvi – *P. frutescens* (386,40 g šviežios ir 106,9 g orasausės žaliavos masės). Vegetacijos ciklo metu kuo vėliau fiksuojamas generatyvinių organų augimas, tuo daugiau augalas užaugina žaliavos masės ($R^2=0,97$; $R=0,98$; $p<0,05$).
3. Intensyvaus vegetatyvinio augimo metu didžiausi eterinio aliejaus kiekiai nustatyti *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* (1,86 proc.) ir *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* (1,70 proc.) žaliavose. Žydėjimo tarpsnyje didžiausi eterinio aliejaus kiekiai nustatyti *P. frutescens* (0,56 proc.) ir *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* (0,37 proc.) žaliavose. Nustatyta, kad *P. frutescens* priklauso perilaketono, *P. frutescens* var. *bicolorlaciniata* – fenilpropanoidiniam, o *P. ocymoides* var. *bicolorlaciniata* ir *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* – perilaldehido chemotipui.
4. Fenolinių rūgščių kiekis varijuoja priklausomai nuo vegetacijos tarpsnio. Rozmarino, chlorogeno ir kavos rūgščių didžiausi kiekiai nustatyti intensyvaus vegetatyvinio augimo metu, minimalūs kiekiai nustatyti butonizacijos ir žydėjimo metu. *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* žolėje nustatytas didžiausias vidutinis rozmarino rūgšties kiekis – 20,44 mg/g. Daugiausia chlorogeno ir kavos rūgšties nustatyta *P. frutescens* (chlorogeno – 0,33 mg/g; kavos – 0,69 mg/g) žolėje.

5. *Perilla* L. rūšių ir varietetų žaliavose flavonų kiekis priklauso nuo fenologinio tarpsnio, aplinkos klimatinių sąlygų ir augimo dėsningumų. Apigenin-7-O-kafeoilgliukozido, apigenin-7-O-digliukuronido ir skutelarein-7-O-gliukuronido maksimalūs kiekiai nustatyti intensyvaus vegetatyvinio augimo metu visuose tirtuose *Perilla* L. rūšyse ir varietetuose. Liuteolino-7-digliukuronido didžiausias kiekis nustatytas žydėjimo metu *P. frutescens* ir *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* žolėje.
6. *Perilla* L. rūšyse ir varietetuose antocianidinų kiekis įvairuoja nuo 0,01 mg/g iki 2,50 mg/g. Maksimalūs kiekiai nustatyti intensyvaus vegetatyvinio augimo metu (*P. frutescens* žolėje – 2,04 mg/g) ir butonizacijos tarpsnyje (*P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* žolėje – 2,50 mg/g).
7. Nustatyti *Perilla* L. rūšių ir varietetų junginiai, pasižymintys stipriausiu antiradikaliniu aktyvumu (rozmarino rūgštis, liuteolin-7-O-digliukuronidas ir skutelarein-7-O-gliukuronidas). *P. frutescens* var. *nankinensis laciniata* pasižymi didžiausiu antiradikaliniu aktyvumu (80,08 μ mol/g) lyginant su kitomis tirtomis *Perilla* L. rūšimis ir varietetais. Nustatytas koreliacinis ryšys tarp suminio antiradikalinio aktyvumo ir flavonų kiekio ($R^2=0,798$; $R=0,628$; $p=0,023$).
8. *P. frutescens* ir *P. frutescens* var. *crispa* f. *viridis* ekstraktai priklausomai nuo koncentracijos slopina maksimalų, su ATP sinteze susijusį mitochondrijų kvėpavimo greitį galimai dėl mitochondrijų kvėpavimo grandinės I ir II kompleksų slopinimo. Piruvato ir malato oksidacija yra jautresnė ekstraktų poveikiui negu sukcinato oksidacija. Ekstraktai dalinai atskiria oksidacijos ir ATP sintezės procesus ir, esant egzogeniniam citochromui c, didina mitochondrijų kvėpavimo greitį ketvirtoje metabolinėje būsenoje. Augalų ekstraktų poveikis žiurkės širdies mitochondrijoms priklauso nuo ekstrakto ir jame esančių biologiškai aktyvių medžiagų kiekio.

BIBLIOGRAFIJOS SĄRAŠAS

1. **Adams R.P.:** Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy. Allured publishing corporation. 2001.
2. **Adrain C, Martin S.J.** The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. Trends Biochem Sci. 2001; 26 (6): 390 - 397.
3. **Aerts R.J, Baumann T.W.** Distribution and utilisation of chlorogenic acid in *Coffea* seedlings. J Exp Bot. 1994; 45(4): 497 - 503.
4. **Agrometeorologinis biuletenis.** Vilnius; 2001-2006; 1-12.
5. **Akhlaghi M, Bandy B.** Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia-reperfusion injury. J Mol Cell Cardiol. 2009; 46: 309 - 317.
6. **Akihisa T, Kamo S, Uchiyama T, Akazawa H, Banno N, Taguchi Y, et al.** Cytotoxic activity of *Perilla frutescens* var. *japonica* leaf extract is due to high concentrations of oleanolic and ursolic acids. J Nat Med. 2006; 60: 331 - 333.
7. **Alkam T, Nitta A, Mizoguchi H, Itoh A, Nabeshima T.** A natural scavenger of peroxynitrites, rosmarinic acid, protects against impairment of memory induced by Aβ25-35. Behav Brain Sci. 2007. 180(2): 139 – 145.
8. **Amstrong J.S.** Mitochondrial medicine: Pharmacological targeting of mitochondria in disease. Brit J Pharmacol. 2007;151: 1154 - 165.
9. **Andersen M.Ø, Markham K.R.** Flavonoids (Chemistry, Biochemistry and Applications). LLC: JAV: Taylor & Francis Group; 2006. pp 472–511.
10. **Aplinkos būklė 2008.** Tik faktai. Lietuvos Respublikos aplinkos ministerija. Vilnius. 2009. Prieiga per internetą: http://www.am.lt/LSP/files/Bukleproc.20naujas-1_1-34.pdf
11. **Areias F, Valentao P, Andrade P.B, Ferreres F, Seabra R.M.** Flavonoids and phenolic acids of sage: influence of some agricultural factors. J. Agric. Food Chem. 2000; 48: 6081 - 6084.
12. **Arendonk J.J.C.M, Poorter H.** The chemical composition and anatomical structure of leaves of grass species differing in relative growth rate. Plant Cell Environ. 1994; 17: 963 - 970.
13. **Aritomi M, Kumori T, Kawasaki T.** Cyanogenic Glycosides in Leaves of *Perilla Frutescens* var. *Acuta*. Phytochemistry. 1985;24(10):2438-2439.
14. **Awal M.A, Ishak W, Endan J, Haniff M.** Determination of specific leaf area and leaf area-leaf mass relationship in oil palm plantation. Asian J Plant Sci. 2004; 3(3): 264 - 268.
15. **Baba S, Osakabe N, Natsume M, Yasuda A, Muto Y, Hiyoshi K, et al.** Absorption, metabolism, degradation and urinary excretion of rosmarinic acid after intake of *Perilla frutescens* extract in humans. Eur J Nutr. 2005; 44: 1 - 9.
16. **Bagli E, Stefaniotou M, Morbidelli L, Ziche M, Psillas K, Murphy C, et al.** Luteolin inhibits vascular endothelial growth factor induced angiogenesis;

- Inhibition of endothelial cell survival and proliferation by targeting phosphatidylinositol 3'-kinase activity. *Cancer Res.* 2004; 1: 7936 - 7946.
17. **Bais H.P, Walker T.S, Schweizer H.P.** Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*. *Plant Physiol. Biochem.* 2002; 40: 983 - 995.
 18. **Baliūtytė G, Banienė R, Trumbeckaitė S, Borutaitė V, Toleikis A.** Effects of *Ginkgo biloba* extract on heart and liver mitochondrial functions: mechanism(s) of action. *J Bioenerg Biomembr.* 2010; 42: 165 - 172.
 19. **Bandonienė D, Murkovic M.** On-line HPLC-DPPH screening method for evaluation of radical scavenging phenols extracted from apples (*Malus domestica* L.). *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 2482 - 2487.
 20. **Banno N, Akihisa T, Tokuda H, Yasukawa K, Higashihara H, Ukiya M,** et al. Triterpene Acids from the Leaves of *Perilla frutescens* and their Anti-inflammatory and Antitumor-promoting Effects. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2004;68(1):85-90.
 21. **Bano M.J, Lorente J, Castillo J, Benavente-Garcia O, Marin M.P, Rio J.A,** et al. Flavonoid distribution during the development of leaves, flowers, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Postulation of a biosynthetic pathway. *J. Agric. Food Chem.* 2004; 52: 4987 - 4992.
 22. **Bano M.J, Lorente J, Castillo J, Benavente-Garcia O, Rio J.A, Ortuno A,** et al. Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51: 4247 - 4253.
 23. **Başer K.H.C, Demirci B, Dönmez A.A.** Composition of the essential oil of *Perilla frutescens* (L.) Britton from Turkey. *Flavour Frag. J.* 2003;18:122-123.
 24. **Beekwilder J, Jinker H, Meesters P, Hall R.D, Meer I.M, Vos C.H.R.** Antioxidants in raspberry: on-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53: 3313 - 3320.
 25. **Belanger J.T.** Perillyl alcohol: applications in oncology. *Altern Med Rev* 1998; 3(6): 448 - 457.
 26. **Berashvili D.T, Alaniya M.D, Bakuridze A.D, Gvazava L.N, Balansard G, Elias R.** Apigenin glucuronide from *Perilla nankinensis* leaves. *Chem Nat Compd.* 2005; 41 (1): 97 - 98.
 27. **Bernatoniene J, Trumbeckaitė S, Majienė D, Banienė R, Baliutyte G, Savickas A,** et al. The effect of crataegus fruit extract and some of its flavonoids on mitochondrial oxidative phosphorylation in the heart. *Phytother res.* 2009; 23: 1701 - 1707.
 28. **Biasutto L, Matterei A, Marotta E, Bradaschia A, Sassi N, Garbisa S,** et al. Development of mitochondria targeted derivatives of resveratrol. *Bioorg Med Chem Lett.* 2008; 18: 5584 - 5597.

29. **Biasutto L, Sassi N, Mattarei A, Marotta E, Cattelan P, Toninello A, et al.** Impact of mitochondriotropic quercetin derivatives on mitochondria. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1797: 189 - 196.
30. **Biologinės įvairovės konvencija.** Lietuvos Respublikos aplinkos ministerija. Vilnius, 1999. Prieiga per internetą: <http://www.am.lt/LSP/files/Bikonvencija.pdf>
31. **Bosetti F, Baracca A, Lenaz G, Solaini G.** Increased state 4 mitochondrial respiration and swelling in early post-ischemic reperfusion of rat heart. *FEBS Letters* 2004; 563: 161 - 164.
32. **Bouaziz M, Grayer R.J, Simmonds M.S.J, Damak M, Sayadi S.** Identification and antioxidant potential of flavonoids and low molecular weight phenols in olive cultivar chemlali growing in Tunisia. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53: 236 - 241.
33. **Brenner D. M.** Perilla: Botany uses and genetic resources. 1993. Available at: <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1993/V2-322.html#Volatileproc.20Oil>
34. **Brenner D. M.** Perilla: Botany Uses and Genetic Resources. 1995. Available at: www.hort.purdue.edu/newcrop/cropfactsheets/perilla.html
35. **Brookes P.S, Digerness S.B, Parks D.A, Darley-USmar V.** Mitochondrial function in response to cardiac ischemia reperfusion after oral treatment with quercetin. *Free Radical Bio Med.* 2002; 32 (11): 1220 - 1228.
36. **Bukantis A.** Lietuvos klimatas. Vilnius. 1994.
37. **Burdulis D, Ivanauskas L, Jakštas V, Janulis V.** Mėlynės (*Vaccinium myrtillus* L.) vaisių vaistinės augalinės žaliavos antocianų tyrimas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu. *Medicina (Kaunas)*. 2007; 43(7): 568 - 574.
38. **Burdulis D.** Šilauogės (*Vaccinium* L.) genties augalų vaisių antocianinų įvairovės ir biologinio poveikio tyrimas : [Daktaro disertacijos santrauka]. Kaunas; 2010.
39. **Cai J, Yang J, Jones D.P.** Mitochondrial control of apoptosis: the role of cytochrome c. *Biochim Biophys Acta*. 1998; 1366: 139 - 149.
40. **Cai J, Jones D.P.** Superoxide in apoptosis. Mitochondrial generation triggered by cytochrome c loss. *J Biol Chem*. 1998; 273 (19): 11401 - 11404.
41. **Calgaro-Helena A.F, Devienne K.F, Rodrigues T, Dorta D.J, Raddi M.S.G, Vilefas W, et al.** Effects of isocoumarins isolated from *Paepalanthus bromelioides* on mitochondria: Uncoupling, and induction/inhibition of mitochondrial permeability transition. *Chem-Biol Interact*. 2006; 161: 155 - 164.
42. **Calixto J.B.** Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol Res*. 2000; 33: 179 - 189.
43. **Capecka E, Mareczek A, Leja M.** Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some *Lamiaceae* species. *Food Chem*. 2005; 93: 223 - 226.

44. **Cavanagh E.M.V, Inserra F, Ferder M, Ferder L.** From mitochondria to disease: role of the renin-angiotensin system. *Am J Nephrol.* 2007; 27: 545 - 553.
45. **Chan C, Kuo M, Shen J, See L, Chang H, Huang J.** Ding Chuan Tang, a chinese herb decoction, could improve airway hyper-responsiveness in stabilized asthmatic children: a randomized, double-blind clinical trial. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006; 17: 316 - 322.
46. **Chan S.W, Lee C.Y, Yan C.F, Wan Aida W.M, Ho C.W.** Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (*Citrus hystrix*) peels. *Int Food Res J.* 2009; 16: 203 - 213.
47. **Chen J, Zhu Z, Hu T, Zhu D.** Structure activity relationships of natural flavonoids in hydroxyl radical scavenging effects. *Acta Pharmacol. Sin.* 2002; 23(7): 667 - 672.
48. **Chen J.H, Xia Z.H, Tan R.X.** High-performance liquid chromatographic analysis of bioactive triterpenes in *Perilla frutescens*. *J Pharmaceut Biomed.* 2003; 32: 1175-1179.
49. **Choi E.J, Kim G.** Apigenin induces apoptosis through a mitochondrial / caspase pathway in human breast cancer MDA-MB-453 cells. *J.Clin. Biochem. Nutr.* 2009; 44: 260 - 265.
50. **Cos P, Ying L, Calomme M, Hu J.P, Cimanga K, Poel B, et al.** Structure - activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J. Nat. Prod.* 1998; 61: 71 - 76.
51. **Croft K.D.** The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1998; 854: 435 - 442.
52. **Crozier A, Clifford M.N, Aishihara H.** Plant secondary metabolites. Occurrence, structure and role on the human diet. Singapore. Blackwell Publishing Ltd. 2006.
53. **Čekanavičius V., Murauskas G.** Statistika ir jos taikymai. 1.-Vilnius, TEV, 2000. p. 239
54. **Čekanavičius V., Murauskas G.** Statistika ir jos taikymai. 1.-Vilnius, TEV, 2002. p. 268
55. **Decker E.A.** Phenolics: Prooxidants or antioxidants? *Nutr Rev.* 1997; 55(11): 396 - 407.
56. **Dhaulakhandi A.B, Joshi R.P, Joshi M.C.** Growth and yield of fengreek (*Trigonella foenum graecum* L.), spinach (*Spinacea oleracea* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.) and lettuce (*Lactuca sativa* L.) under continuous daylight condition in antarctica. Tenth Indian expedition to antarctica, scientific report. Department of ocean development, technical publication. 1995; 8: 195 - 208.
57. **Dias N, Bailly C.** Drugs targeting mitochondrial functions to control tumor cell growth. *Biochem Pharmacol.* 2005; 70: 1 - 12.
58. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases.** Report of a joint WHO/FAO expert consultation. World Health Organisation. Geneva. 2003.

59. **Dijk C, Driessen A.J.M, Recourt K.** The uncoupling efficiency and affinity of flavonoids for vesicles. *Biochem Pharmacol.* 2000; 60: 1593 - 1600.
60. **Dirsė A.** Žemės ūkio augalų vegetacijos laikotarpių drėgmingumas. *Žemės ūkio mokslai.* 2001; 3:51-6
61. **Discovery of New Diploid *Perilla* Species in Korea.** Available at: http://www.regional.org.au/au/cs/2004/poster/3/3/2/729_jung.htm
62. **Dönmez A.A.** *Perilla*: a New Genus for Turkey. *Turk J Bot* 2002;26:281-283.
63. **Dorman H.J.D, Peltoketo A, Hiltunen R, Tikkanen M.J.** Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected *Lamiaceae* herbs. *Food Chem.* 2003; 83: 255 - 262.
64. **Dorta D.J, Pigoso A.A, Mingatto F.E, Rodrigues T, Pestana C.R, Uyemura S.A,** et al. Antioxidant activity of flavonoids in isolated mitochondria. *Phytother res.* 2008; 22: 1213 - 1218.
65. **Dorta D.J, Pigoso A.A, Mingatto F.E, Rodrigues T, Prado I.M.R, Helena A.F.C,** et al. The interaction of flavonoids with mitochondria: effects on energetic processes. *Chem-Biol Interact.* 2005; 152: 57 - 78.
66. **Du C, Sato A, Watanabe S, Wu C, Ikemoto A, Ando K,** et al. Cholesterol synthesis in mice is suppressed but lipofuscin formation is not affected by long term feeding of n-3 fatty acids enriched oils compared with lard and n-6 fatty acid enriched oils. *Biol. Pharm. Bull.* 2003; 26 (6): 766 - 770.
67. **Duchen M.R.** Roles of mitochondria in health and disease. *Diabetes* 2004; 53 (1): 98 - 102.
68. **Dudonne S, Vitrac X, Coutiere P, Woillez M, Merillon J.M.** Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SPD and ORAC assays. *J. Agric. Food Chem.* 2009; 57: 1768 - 1774.
69. **Ebrahimzede H, Abrishamchi P, Noori-Dalooi M.R.** Study of ontogenetic changes in *Crocus sativus* L. by study of phenolics and phenol oxidases in the corm and bud tissues. *J.Sci. I. R. Iran.* 1997; 8(2): 81 - 85.
70. **El-Gazzar A, Watson L.** Some economic implications of the taxonomy of *Labitae*. *New Phytol.* 1970; 69: 487 - 492.
71. **Ellis B.E, Towers G.H.N.** Biogenesis of rosmarinic acid in *Mentha*. *Biochem. J.* 1970; 118: 291 - 297.
72. **Elzinga J.A, Atlan A, Biere A, Gigord L, Weis A.E, Bernasconi G.** Time after time: flowering phenology and biotic interactions. *Trends Ecol Evol.* 2007; 22(8): 432 - 439.
73. **Erkan N, Ayranci G, Ayranci E.** Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chem.* 2008; 110: 76 - 82.
74. **European pharmacopoeia. Fifth Edition. Volume 2.** Strasbourg: Council of Europe; 2006. p. 5145.

75. **Fale P.L, Borges C, Madeira P.J.A, Ascensao L, Araujo M.E.M, Florencio M.H,** et al. Rosmarinic acid, scutellarein 4'-methyl ether 7-O-glucuronide and (16S)-coleon E and the main compounds responsible for the antiacetylcholinesterase and antioxidant activity in herbal tea of *Plectranthus barbatus* ("falso Boldo"). *Food Chem.* 2009; 114: 798 - 805.
76. **Fang X, Subudhi P.K, Venuto B.C, Harrison S.A, Ryan A.B.** Influence of flowering phenology on seed production in smooth cordgrass (*Spartina alterniflora* Loisel.). *Aquat Bot.* 2004; 80: 139 - 151.
77. **Farhat M.B, Jordan M.J, Choueich-Hamada R, Landoulsi A, Sotomayor J.A.** Variations in essential oil, phenolic compounds, and antioxidant activity of Tunisian cultivated *Salvia officinalis* L. *J. Agric. Food Chem.* 2009; 57: 10349 - 10356.
78. **Fecka I, Turek S.** Determination of water-soluble polyphenolic compounds in commercial herbal teas from *Lamiaceae*: peppermint, melissa and sage. *J. Agric. Food Chem.* 2007; 55: 10908 - 10917.
79. **Follet J.** Perilla – an Asian culinary herb. Available at: <http://www.semec.ws/cropfood/psp/broadshe/perilla.htm>
80. **Fujita T, Nakayama M.** Perilloside A, a monoterpene glucoside from *Perilla frutescens*. *Phytochemistry.* 1992; 31(9): 3264 - 3267.
81. **Fujita T, Terato K, Nakayama M.** Two jasmonoid glucosides and a phenylvaleric acid glucoside from *Perilla frutescens*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 1996; 60 (4): 732 - 735.
82. **Fujiwara H, Tanaka Y, Fukui Y, Ashikari T, Yamaguchi M, Takaaki K.** Purification and characterization of anthocyanin 3-aromatic acyltransferase from *Perilla frutescens*. *Plant Sci.* 1998; 137: 87 - 94.
83. **Galati G, O'Brien P.J.** Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Radical Biol Med.* 2004; 37 (3): 287 - 303.
84. **Galati G, Sabzevari O, Wilson J.X, O'Brien P.J.** Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of dietary flavonoids and other polyphenolics. *Toxicology.* 2002; 177: 91 – 104.
85. **Gang D.R.** Evolution of flavors and scents. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 2005; 56: 301 - 325.
86. **Gao H, Wang Z.** Pharmacokinetics and metabolites of scutellarin in normal and thrombosis model rats. *Asian J Drug Met Pharm.* 2005; 5(4): 295 - 300.
87. **Gao R, Zhu B, Tang S, Wang J, Ren J.** Scutellarein inhibits hypoxia and moderately high glucose induced proliferation and VEGF expression in human retinal endothelial cells. *Acta Pharmacol Sin.* 2008; 29(6): 707 - 712.
88. **Gao Z, Huang K, Yang X, Xu H.** Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochim Biophys Acta.* 1999; 1472: 643 - 650.
89. **General specification refined perilla seed oil N.0028.** Available at: http://www.vsp-holland.com/vsp/specs/0028_perilla.pdf

90. **Godoy O, Richardson D.M, Valladares F, Castro-Diez P.** Flowering phenology of invasive alien plants species compared with native species in three Mediterranean- type ecosystems. *Ann Bot-London*. 2009. 103: 485 - 494.
91. **Gomez-Estaca J, Bravo L, Gomez-Guillen M.C, Aleman A, Montero P.** Antioxidant properties of tune-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. *Food Chem*. 2009; 112: 18 - 25.
92. **Gong Z, Yamazaki M, Sugiyama M, Tanaka Y, Saito K.** Cloning and molecular analysis of structural genes involved in anthocyanin biosynthesis and expressed in a forma specific manner in *Perilla frutescens*. *Plant Mol Biol*. 1997; 35: 915 - 927.
93. **Gong Z, Yamazaki T, Saito K.** A light inducible Myb-like gene that is specifically expressed in red *Perilla frutescens* and presumably acts as a ddetermining factor of the anthocyanin forma. *Mol Gen Genet*. 1999; 262: 65 - 72.
94. **Gooch J.W.** *Perilla oil*. Encyclopaedic dictionary of polymers. Springer-Verlag, 2007.
95. **Gornal A, Bradawill C, David M.** Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem*. 1949; 177: 751-66.
96. **Groot A.C, Frosch P.J.** Adverse reactions to fragrances. *Contact dermatitis*. 1997; 36: 57 - 86.
97. **Grosso F.C, Bergamaschi C, Cogo K, Franz-Montan M, Motta R.H.L, Andrade E.D.** Use of phytotherapy in dentistry. *Phytother. Res*. 2008; 22: 993 - 998.
98. **Guidelines for the appropriate use of herbal medicines.** WHO regional office for the Western Pacific. Manila. 1998. Available at: http://www.wpro.who.int/NR/rdonlyres/24BF6429-201E-47E3-AD28-0461EDCEA193/0/Guidelines_Appropriate_Use_of_Herbal_Medicines.pdf
99. **Haddad P.S, Azar G.A, Groom S, Boivin M.** Natural health rproducts, modulation of immune function and prevention of chronic diseases. *eCAM*. 2005; 2(4): 513 - 520.
100. **Handbook of biological statistics.** Polynomial regression. 2009. John H. McDonald. Available at: <http://udel.edu/~mcdonald/statcurvreg.html>
101. **Harborne J.B, Williams C.A.** Anthocyanins and other flavonoids. *Nat. Prod. Rep*. 2001; 18: 310 - 333.
102. **Hardwick K, Wood M, Woolhouse H.W.** Photosynthesis and respiration in relation to leaf age in *Perilla frutescens* (L.) Britt. *New Phytol*. 1968; 67: 79 - 86.
103. **Hardwick K, Woolhouse H.W.** Foliar senescence in *Perilla frutescens* (L.) Britt. *New Phytol*. 1967; 66: 545 - 552.
104. **Hartley M.J.** Weed control in *Perilla*. *Proc. 49th N.Z. Plant Protection Conf*. 1996:165-168.

105. **Havsteen B.H.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Therapeut.* 2002; 96: 67 - 202.
106. **Heales S.J.R, Bolanos J.P, Stewart V.C, Brookes P.S, Land J.M, Clark J.B.** Nitric oxide, mitochondria and neurological disease. *Biochim Biophys Acta.* 1999; 1410: 215 - 228.
107. **He-Ci-Yu, Kosuna K, Haga M.** The Genus *Perilla*. Netherlands Overseas Publishers: Asociacion; 1997.
108. **Hertog M.G.L, Hollman P.C.H, Katan M.B.** Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem.* 1992; 40: 2379 - 2383.
109. **Hisanaga A, Itoh T, Hasegawa Y, Emori K, Kita T, Okabe A, Kurachi M.** A case of sleep choking syndrome improved by the Kampo extract of Hange-koboku-to. *Psychiat Clin Neuros.* 2002; 56: 325 - 327.
110. **Hyo-Sun Shin, Sung-Wham Kim.** Lipid composition of *Perilla* seed. *JAOCS* 1994;71(6):619-622.
111. **Hodnick W.F, Duval D.L, Pardini R.S.** Inhibition of mitochondrial respiration and cyanide stimulated generation of reactive oxygen species by selected flavonoids. *Biochem Pharmacol.* 1994; 47 (3): 573 - 580.
112. **Honda G, Koezuka Y, Kamisako W, Tabata M.** Isolation of sedative principles from *Perilla frutescens*. *Chem Pharm Bull.* 1986;34(4):1672-1677.
113. **Hori M.** Repellency of shiso oil components against cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (*Coleoptera: Anobiidae*). *Appl Entomol Zool.* 2004; 39 (3): 357 - 362.
114. **Horinaka M, Yoshida T, Shiraishi T, Nakata S, Wakada M, Nakanishi R,** et al. Nishino H, Matsui H, Sakai T. Luteolin induces apoptosis via death receptor 5 upregulation in human malignant tumor cells. *Oncogene.* 2005; 24: 7180 - 7189.
115. **Hubac C, Ferran J, Guerrier D, Tremolieres A, Kondorosi A.** Luteolin absorption in *Rhizobium meliloti* wild-type and mutant strains. *J Gen Microbiol.* 1993; 139: 1571 - 1578.
116. **Hunt R, Causton D.R, Shipley B, Askew A.P.** A modern tool for classical plant growth analysis. *Ann Bot.* 2002; 90: 485 - 488.
117. **Hunt R, Cornelissen J.H.C.** Components of relative growth rate and their interrelations in 59 temperate plant species. *New Phytol.* 1997. 135(3): 395 – 417.
118. **Ichihara K, Suda Y.** Lipid biosynthesis in developing perilla seeds. *Phytochemistry.* 2003; 63: 139 - 143.
119. **Ide T, Kobayashi H, Ashakumary L, Rouyer I.A, Takahashi Y, Aoyama T,** et al. Comparative effects of perilla and fish oils on the activity and gene expression of fatty acid oxidation enzymes in rat liver. *Biochim Biophys Acta.* 2000; 1485: 23 - 35.
120. **Ikemoto A, Ohishi M, Sato Y, Hata N, Misawa Y, Fujii Y,** et al. Reversibility of n-3 fatty acid deficiency-induced alterations of learning

- behavior in the rat: level of n-6 fatty acids as another critical factor. *J Lipid Res.* 2001;42:1655-1663.
121. **Inouye K, Takano H, Shiga A, Fujita Y, Makino H, Yanagisawa R**, et al. Effects of volatile constituents of rosemary extract on lung inflammation induced by diesel exhaust particles. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2006; 99: 52 - 57.
 122. **Inouye S, Yamaguchi H, Takizawa T.** Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method. *J Infect Chemother.* 2001; 7: 251 - 254.
 123. **Inouye S, Nishiyama Y, Uchida K, Hasumi Y, Yamaguchi H, Abe S.** The vapor activity of oregano, perilla, tea tree, lavender, clove, and geranium oils against a *Trichophyton mentagrophytes* in a closed box. *J Infect Chemother.* 2006; 12: 349 - 354.
 124. **Inouye S, Takizawa T, Yamaguchi H.** Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *J Antimicrob Chemother.* 2001; 47: 656 - 573.
 125. **Inouye S, Tsuruoka T, Watanabe M, Takeo K, Akao M, Nishiyama Y**, et al. Inhibitory effect of essential oils on apical growth of *Aspergillus fumigatus* by vapour contact. *Mycoses* 2000; 43: 17 - 23.
 126. **Inouye S, Uchida K, Yamaguchi H.** *In vitro* and *in vivo* anti-*Trichophyton* activity of essential oils by vapour contact. *Mycoses.* 2001; 44: 99 - 107.
 127. **International plant names index.** 2005. Prieiga per internetą: <http://www.ipni.org>
 128. **International union for the protection of new varieties of plants.** Perilla. Geneva 2004. Available at: http://www.upov.int/en/publications/tg-rom/tg219/tg_219_1.pdf
 129. **Ishige K, Schubert D, Sagara Y.** Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. *Free Radical Biol Med.* 2001; 30 (4): 433 - 446.
 130. **Ishikura N.** Anthocyanins and flavones in leaves and seeds of perilla plant. *Agric. Biol. Chem.* 1981;45(8):1855-1860.
 131. **Ito M, Honda G, Sydara K.** *Perilla frutescens* var. *frutescens* in northern Laos. *J. Nat. Med.* 2008; 62(2): 251 - 258.
 132. **Ito M, Honda G.** Geraniol synthases from perilla and their taxonomical significance. *Phytochemistry.* 2007; 68: 446 - 453.
 133. **Ito M, Kiuchi F, Yang L.L, Honda G.** *Perilla citriodora* from Taiwan and its phytochemical characteristics. *Biol. Pharm. Bull.* 2000; 23(3): 359 - 362.
 134. **Ito N, Yabe T, Gamo Y, Nagai T, Oikawa T, Yamada H, Hanawa T.** Rosmarinic acid from *Perillae herba* produces an antidepressant like effect in mice through cell proliferation in the hippocampus. *Biol. Pharm. Bull.* 2008; 31(7): 1376 - 1380.
 135. **Iuvone T, Filippis D, Esposito G, D'Amico A, Izzo A.A.** The spice sage and its active ingredient rosmarinic acid protect PC12 cells from amyloid- β peptide-induced neurotoxicity. *JPET.* 2006; 317 (3): 1143 - 1149.

136. **Ivanauskas L, Jakštas V, Radušienė J, Lukošius A, Baranauskas A.** Evaluation of phenolic acids and phenylpropanoids in the crude drugs. *Madicina (Kaunas)*. 2008; 44(1): 48 - 55.
137. **Yamamoto H, Ogawa T.** Antimicrobial activity of perilla seed polyphenols against oral pathogenic bacteria. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2002;66(4):921-924.
138. **Yamamoto N, Saitoh M, Moriuchi A, Nomura M, Okuyama H.** Effect of dietary α -linolenate/ linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability of rats. *J Lipid Res.* 1987; 28: 144 - 151.
139. **Yamazaki M, Gong Z, Fukuchi-Mizutani M, Fukui Y, Tanaka Y, Kusumi T, et al.** Molecular cloning and biochemical characterization of a novel anthocyanin 5-O-glucosyltransferase by mRNA differential display for plant forms regarding anthocyanin. *J Biol Chem* 1999;274(11):7405-7411.
140. **Yamazaki M, Nakajima J, Yamanashi M, Sugiyama M, Makita Y, Springob K, et al.** Metabolomics and differential gene expression in anthocyanin chemo-varietal forms of *Perilla frutescens*. *Phytochemistry*. 2003; 62: 987 - 995.
141. **Yang J, Liu B, Liang G, Ning Z.** Structure activity relationship of flavonoids active against lard oil oxidation based on quantum chemical analysis. *Molecules*. 2009; 14: 46 - 52.
142. **Yang R, Tsou S, Lee T, Wu W, Hanson P.M, Kuo G, et al.** Distribution of 127 edible plant species for antioxidant activities by two assays. *J. Sci. Food Agric.* 2006; 86: 2395 - 2403.
143. **Yanishlieva N.V, Marinova E, Pokorný J.** Natural antioxidants from herbs and spices. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2006; 108: 776 - 793.
144. **Yim Y, Lee H, Hong K, Kim Y, Ko S, Kim J, Lee S, Park K.** Anti-inflammatory and immune regulatory effects of subcutaneous *Perilla fructus* extract injections on OVA-induced asthma in mice. *eCAM*. 2007; 11: 1 - 8.
145. **Yokozawa T, Chen C.P, Liu Z.W.** Effect of traditional Chinese prescriptions and their main crude drugs in 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Phytother res.* 1998; 12: 94 - 97.
146. **Yoshida K, Kondo T, Kameda K, Goto T.** Structure of anthocyanins isolated from purple peaves of *Perilla ocymoides* L. var. *crispa* Benth and their isomerization by irradiation of light. *Agric Biol Chem.* 1969; 33(7): 1745 - 1751.
147. **Yoshida S, Miyazaki M, Zhang Q, Sakai K, Fujimoto I, Ikenaka K, et al.** Change of oligosaccharides of rat brain microsomes depending on dietary fatty acids and learning task. *J Neurosci Res.* 2001; 63: 185 - 195.
148. **Yu J, Wang L, Walzem R.L, Miller E.G, Pike L.M, Patil B.S.** Antioxidants activity of *Citrus* limonoids, flavonoids, and coumarins. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53: 2009 - 2014.
149. **Jacobs W.P.** Comparison of photoperiodic sensitivity of green-leafed and red-leafed perilla. *Plant Physiol.* 1982; 70: 303 - 306.

150. **Jakštas V.** Lietuvoje augančių gudobelės (*Crataegus* L.) genties augalų fitocheminės sudėties įvertinimas: [Daktaro disertacijos santrauka]. Lietuva, Kaunas, 2005.
151. **James J.J, Drenovsky R.E.** A basis for relative growth rate differences between native and invasive forb seedlings. *Rangeland Ecol Manage.* 2007; 60: 395 - 400.
152. **Janicsak G, Mathe I, Miklossy-Vari V, Blunden G.** Comparative studies of the rosmarinic and caffeic acid contents of *Lamiaceae* species. *Biochem Syst Ecol.* 1999; 27: 733 - 738.
153. **Janssens D, Remacle J, Drieu K, Michiels C.** Protection of mitochondrial respiration activity by bilobalide. *Biochem Pharmacol.* 1999; 58: 109 - 119.
154. **Javanmardi J, Khalighi A, Kashi A, Bais H.P, Vivanco J.M.** Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 5878 - 5883.
155. **Jezeck P, Hlavata L.** Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism. *Int J Biochem Cell B.* 2005; 37: 2478 - 2503.
156. **Jin C.H, Lee H.J, Park Y.D, Choi D.S, Kim D.S, Kang S, et al.** Isoeugenol inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages through the heme oxygenase-1 induction and inhibition of the interferon- β -STAT-1 pathway. *J. Agric. Food Chem.* 2010; 58(2): 860 - 867.
157. **Justesen H, Andersen A.S, Brandt K.** Accumulation of anthocyanins and flavones during bud and flower development in *Campanula isophylla* Moretti. *Ann Bot.* 1997; 79: 355 - 360.
158. **Kamal-Eldin A, Yanishlieva N.V.** N-3 fatty acids for human nutrition: stability considerations. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2002; 104: 825 - 836.
159. **Kanazaki T, Kimura S.** Occupational allergic contact dermatitis from *Perilla frutescens* (shiso). *Contact Dermatitis* 1992;26:55-56.
160. **Kancheva V.** Phenolic antioxidants - radical scavenging and chain breaking activity: a comparative study. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2009; 111: 1072 - 1089.
161. **Kannangara C.G, Woolhouse H.W.** Changes in the enzyme activity of soluble protein fractions in the course of foliar senescence in *Perilla frutescens* (L.) Britt. *New Phytol.* 1968; 67: 533 - 542.
162. **Kanner J, Frankel E, Granit R, German B, Kinsella J.E.** Natural antioxidants in grapes and wines. *J. Agric. Food Chem.* 1994; 42: 64 - 69.
163. **Karlova K.** Accumulation of flavonoid compounds in flowering shoots of *Achillea collina* Becker ex. Rchb. *alba* during flower development. *Hort. Sci. (Prague).* 2006; 33(4): 158 - 162.
164. **Kashima M, Cha G, Isoda Y, Hirano J, Miyazawa T.** The antioxidant effects of phospholipids on perilla oil. *JAOCs* 1991;68(2):119-122.
165. **Kawahata T, Otake T, Mori H, Kojima Y, Oishi I, Oka S, et al.** A novel substance purified from *Perilla frutescens* Britton inhibits an early stage of

- HIV-1 replication without blocking viral adsorption. *Antivir Chem Chemoth.* 2002;13:283-288.
166. **Kelly J.P, Kaufman D.W, Kelley K, Rosenberg J, Anderson T.E, Mitchell A.A.** Recent trends in use of herbal and other natural products. *Arch. Intern. Med.* 2005; 165: 281 - 286.
 167. **Kim B.J, Kim J.H, Kim H.P, Heo M.Y.** Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (II): antioxidative activity and free radical scavenging activity. *Int J Cosmetic Sci.* 1997; 19: 299 - 307.
 168. **Kim H.P, Son K.H, Chang H.W, Kang S.S.** Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J. Pharmacol. Sci.* 2004; 96: 229 - 245.
 169. **Kimura S, Yamaoki R, Matsumoto Y, Fujita N, Simitzu N.** Radioactivity in crude drugs imported from Asian countries. *J Health Sci.* 2002;48(6):565-569.
 170. **Kirakosyan A, Kaufman P, Warber S, Zick S, Aaronson K, Bolling S, et al.** Applied environmental stresses to enhance the levels of polyphenolics in leaves of hawthorn plants. *Physiol Plantarum.* 2004; 121: 182 - 186.
 171. **Kitajka K, Puskás L.G, Zvara A, Hackler L, Barceló-Coblijn G, Yeo Y.K, et al.** The role of n-3 polyunsaturated fatty acids in brain: Modulation of rat brain gene expression by dietary n-3 fatty acids. *PNAS* 2002;99(5):2619-2624.
 172. **Kitajka K, Sinclair A.J, Weisinger R.S, Weisinger H.S, Mathai M, Jayasooriya A.P, et al.** Effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids on brain gene expression. *PNAS.* 2004; 27(101): 10931 - 10936.
 173. **Kluck RM, Bossy-Wetzel E, Green DR, Newmeyer DD.** The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. *Science.* 1997. 275(5303): 1132 – 1136.
 174. **Kmitienė G, Ragažinskienė O.** Krūminės perilės (*Perilla frutescens* (L.) Britton) ūgliai anatominių sandaros savitumai. Lietuvos biologinė įvairovė: būklė, struktūra apsauga. Mokslinių straipsnių rinkinys. I tomas. VPU leidykla, Vilnius, 2005.
 175. **Kondo H, Ozaki H, Itoh K, Kato A, Takeno K.** Flowering induced by 5-azacytidine, a DNA demethylating reagent in a short-day plant, *Perilla frutescens* var. *crispa*. *Physiol Plantarum.* 2006; 127: 130 - 137.
 176. **Kondo T, Tamura H, Yoshida K, Goto T.** Structure of malonylshisonin, a genuine pigment in purple leaves of *Perilla ocimoides* L. var. *crispa* Benth. *Agric. Biol. Chem.* 1989; 53 (3): 797 - 800.
 177. **Korkina L.G.** Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: from plant defense to human health. *Cell. Mol. Biol.* 2007; 53(1): 15 - 25.
 178. **Korotkich I, Senikienė Ž, Šimonienė G, Lažauskas R, Laukevičienė A, Kėvelaitis E.** Inotropic and lusitropic effects of *Perilla frutescens* (L.) Britton extract on the rabbit myocardium. *Medicina (Kaunas).* 2006; 42(5): 406-412.

179. **Kosar M, Dorman H.J.D, Baser K.H.C, Hiltunen R.** Screening of free radical scavenging compounds in water extracts of *Mentha* samples using a postcolumn derivatization method. J. Agric. Food Chem. 2004; 52: 5004 - 5010.
180. **Kretzschmar F.S, Aidar M.P.M, Salgado I, Braga M.R.** Elevated CO₂ atmosphere enhances production of defense- related flavonoids in soybean elicited by NO and a fungal elicitor. Envirom Exp Bot. 2009; 65: 319 - 329.
181. **Kuhnt M, Rimpler H, Heinrich M.** Lignans and other compounds from the mixe indian medicinal plant *Hyptis vercillata*. Phytochemistry. 1994; 36 (2): 485 - 489.
182. **Kumara G.R.A, Kaneko S, Okuya M, Onwona-Agyeman B, Konno A, Tennakone K.** Shiso leaf pigments for dye-sensitized solid-state solar cell. Sol Energ Mat Sol C. 2006; 90: 1220 - 1226.
183. **Lee Y, Chuah A.M, Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T.** Antioxidant activity of traditional chinese medicinal herbs. Food Sci. Technol. Res. 2008; 14(2): 205 - 210.
184. **Lee Y, Yang C.** Growth behavior and perillaldehyde concentration of primary leaves of *Perilla frutescens* (L.) Britton grown in different seasons. Crop Envirom Bioinform. 2006; 3: 135 - 146.
185. **Lee Y, Yang C.** Seasonal changes of growth and leaf perillaldehyde in *Perilla frutescens* (L.) Britton. J.Taiwan Agric. Res. 2009; 58(2): 114 - 124.
186. **Lee J.K, Nitta M, Kim N, Park C.H, Yoon K.M, Shin Y, Ohnishi O.** Genetic diversity of *Perilla* and related weedy types in Korea determined by AFLP analyses. Crop Sci. 2002;42:2161-2166.
187. **Lee J.K, Ohnishi O.** Geographic differentiation of morphological characters among *Perilla* crops and their weedy types in East Asia. Breeding Sci. 2001;51:247-255.
188. **Lee T, Jung E, Kim Y, Lee J, Park J, Hong S, Hyun C, Park D, Kim Y.** Rosmarinic acid as a downstream inhibitor of IKK-B in TNF- α induced upregulation of CCL11 and CCR3. Brit Journal Pharmacol. 2006; 148: 366 - 375.
189. **Li X.** traditional Chinese herbal remedies for asthma and food allergy. J. Allergy. Clin. Immunol. 2007; 120 (1): 25 - 31.
190. **Lila M.A.** Anthocyanins and human health: an *in vitro* investigative approach. J Biomed Biotechnol. 2004;5:306-313.
191. **Lim H. W, Lim H.Y, Wong K.P.** Uncoupling of oxidative phosphorylation by curcumin: implication of its cellular mechanusm of action. Biochem Bioph Res Com. 2009; 389: 187 - 192.
192. **Lin C, Kuo C, Wng J, Cheng J, Huang Z, Chen C.** Growth inhibitory and apoptosis inducing effect of *Perilla frutescens* extract on human hepatoma HepG2 cells. J Ethnopharmacol. 2007; 112: 557 - 567.
193. **Liobikas J, Trumbeckaitė S, Bendokas V, Baniulis D, Majienė D, Kopustinskienė et al.** Proapoptozinis juodojo serbento (*Ribes nigrum* L.)

- uogų ekstraktų poveikis žiurkės širdies mitochondrijoms. Žemdirbystė. 2009; 96 (3): 149 - 157.
194. **Liu G, Ma J, Chem Y, Tian Q, Shen Y, Wang X**, et al. Investigation of flavonoid profile of *Scutellaria bacalensis* Georgi by high performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry. J Chromatogr A. 2009; 1216: 4809 - 4814.
 195. **Lluria-Prevatt M, Morreale J, Gregus J, Alberts D.D, Kaper F, Giaccia A**, et al. Effects of perillyl alcohol on melanoma in the Tprase mouse model. Cancer Epidemiol Biomarkers. 2002; 11: 573 - 579.
 196. **Longvah T, Deosthale Y.G, Kumar P.U.** Nutritional and short term toxicological evaluation of perilla seed oil. Food Chem. 2000; 70: 13 - 16.
 197. **Longvah T, Deosthale Y.G.** Chemical and Nutritional Studies on Hanshi (*Perilla frutescens*), a traditional Oilseed from Northeast India. JAOCS 1991;68(10):781-784.
 198. **Loutrari H, Hatziaepostolou M, Skouridou V, Papadimitriou E, Roussos C, Kolisis F.N**, et al. A. Perillyl alcohol is an angiogenesis inhibitor. J Pharmacol Exp Ther. 2004; 311: 568 - 575.
 199. **Luo L, Wang J.N, Kong L.D, Jiang Q.G, Tan R.X.** Antidepressant effects of Banxia Houpu decoction, a traditional Chinese medicinal empirical formula. J Ethnopharmacol. 2000; 73: 277 - 281.
 200. **Luthria D.L, Mukhopadhyay S, Krizek D.T.** Content of total phenolics and phenolic acids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. J Food Comp Analysis. 2006; 19: 771 - 777.
 201. **Majienė D, Trumbeckaitė S, Savickas A, Toleikis A.** Influence of propolis water solution on heart mitochondrial function. J Pharm Pharmacol. 2006; 58(5):709-13.
 202. **Makino T, Furuta Y, Fuji H, Nakagawa T, Wakushima H, Saito K**, et al. Effect of Oral Treatment of *Perilla frutescens* and Its constituents on Type-I Allergy in Mice. Biol. Pharm. Bull. 2001;24(10):1206-1209.
 203. **Makino T, Nakamura T, Ono T, Muso E, Honda G.** Suppressive effects of *Perilla frutescens* on mesangioproliferative glomerulonephritis in rats. Biol. Pharm Bull. 2001;24(2):172-175.
 204. **Makino T, Ono T, Matsuyama K, Nogaki F, Miyawaki S, Honda G, Muso E.** Suppressive effects of *Perilla frutescens* on IgA nephropathy in HIGA mice. Nephrol Dial Transplant 2003;18:184-490.
 205. **Makino T, Ono T, Muso E, Honda G.** Effect of *Perilla frutescens* on Nitric Oxide Production and DNA Synthesis in Cultured Murine Vascular smooth Muscle Cells. Phytother. Res. 2002;16:S19-S23.
 206. **Makino T, Ono T, Muso E, Honda G, Sasayama S.** Suppressive effects of *Perilla frutescens* on spontaneous IgA nephropathy in ddY mice. Nephron. 1999; 83(1): 40 - 46.

207. **Makino T, Ono T, Muso E, Yoshida H, Honda G, Sasayama S.** Inhibitory effects of rosmarinic acid on the proliferation of cultured murine mesangial cells. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:1140-1145.
208. **Marchi U, Biasutto L, Garbisa S, Toninello A, Zoratti M.** Quercetin can act either as an inhibitor or an inducer of the mitochondrial permeability transition pore: a demonstration of the ambivalent redox character of polyphenols. *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1787: 1425 - 1432.
209. **Martinez A.R, Perez A.L, Roman A.E.B, Martines L.R.** Growth analysis for three pineapple cultivars grown on plastic mulch and bare soil. *Interciencia*. 2005; 30(12): 758 - 763.
210. **Medicinal plants in China.** WHO Regional Office for Western Pacific, Manila. Available at: <http://whqlibdoc.who.int/wpro/-1993/9290611022.pdf>
211. **Melo G.B, Silva R.L, Melo V.A, Antonioli A.R, Jordani Souza M.E, Jordani M.C,** et al. Effect of the aqueous extract of *Hyptis pectinata* on liver mitochondrial respiration. *Phytomedicine*. 2005; 12: 359 - 362.
212. **Meng L, Lozano Y, Bombarda I, Gaydou E.M, Li B.** Polyphenol extraction from eight *Perilla frutescens* cultivars. *C.R. Chimie*. 2009; 12: 602 - 611.
213. **Meng L, Lozano Y, Gaydou E.M, Li B.** Antioxidant activities of polyphenols extracted from *Perilla frutescens* varieties. *Molecules*. 2009; 14: 133 - 140.
214. **Mickleborough T.D, Rundell K.W.** Dietary polyunsaturated fatty acids in asthma and exercise induced bronchoconstriction. *Eur J Clin Nutr*. 2005; 59: 1335 - 1346.
215. **Miyazawa M, Shindo M, Shimada T.** Metabolism of (+)- and (-)-limonenes to respective carveols and perillyl alcohols by CYP2C9 and CYP2C19 in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos*. 2002; 30: 602 - 607.
216. **Miliauskas G, van Beek T.A, Waard P, Venskutonis P.R, Sudholter E.J.R.** Identification of radical scavenging compounds in *Rhaponticum carthanoides* by means of LC-DAD-SPE-NMR. *J. Nat. Prod*. 2005; 68: 168 - 172.
217. **Misra L.N, Husain A.** The essential oil of *Perilla ocimoides*: a rich source of rosefuran. *Planta medica*. 1987; 6: 379 - 380.
218. **Miuleris J., Bluzmanas A.** Augalų stebėjimų ir bandymų metodai. Vilnius. 1994. p. 128.
219. **Morrissey C, O'Neill A, Spengler B, Christoffel V, Fitzpatrick J.M, Watson R.W.G.** Apigenin drives the production of reactive oxygen species and initiates a mitochondrial mediated cell death pathway in prostate epithelial cells. *The prostate*. 2005. 63: 131 - 142.
220. **Mouria M, Gulkovskaya A.S, Jung Y, Buechler P, Hines O.J, Reber H.A,** et al. Food-derived polyphenols inhibit pancreatic cancer growth through mitochondrial cytochrome c release and apoptosis. *Int.J. Cancer*. 2002; 98: 761 - 769.

221. **Muller-Waldeck F, Sitzmann J, Schnitzler W.H, Grassmann J.** Determination of toxic perilla ketone, secondary plant metabolites and antioxidative capacity in five *Perilla frutescens* L. varieties. Food Chem Toxicol. 2010; 48: 264 - 270.
222. **Multilingual multiscrypt plant name database.** Sorting *Perilla* names 2006. Prieiga per internetą: <http://www.plantnames.unimelb.edu.au/Sorting/Perilla.html>
223. **Nagamine T, Miyashita S, Nishikawa T.** Seed longevity of perilla (*Perilla frutescens* (L.) Britt var. *frutescens*). Seed Sci Technol. 2000;28(3):875-879.
224. **Nakazawa T, Yasuda T, Ueda J, Ohsawa K.** Antidepressant-like effects of apigenin and 2,4,5-trimethoxycinnamic acid from *Perilla frutescens* in the forced swimming test. Biol. Pharm. Bull. 2003;26(4):474-480.
225. **Nakazawa T, Ohsawa K.** Metabolites of orally administered *Perilla frutescens* extract in rats and humans. Biol. Pharm. Bull. 2000; 23(1): 122 - 127.
226. **Narayana K.R, Reddy M.S, Chaluvadi M.R, Krishna D.R.** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian J Pharmacol. 2001; 33: 2 - 16.
227. **Narisawa T, Takahashi M, Kotanagi H, Kusaka H, Yamazaki Y, Koyama H, et al.** Inhibitory effect of dietary perilla oil rich in the n-3 polyunsaturated fatty acid α -linolenic acid on colon carcinogenesis in rats. Jpn. J. Cancer. Res. 1991; 82: 1089 - 1096.
228. **Natsume M, Muto Y, Fukuda K, Tokunaga T, Osakabe N.** Determination of rosmarinic acid and luteolin in *Perilla frutescens* Britton (*Labiatae*). J Sci Food Agric. 2006; 86: 897 - 901.
229. **Niederlander H.A.G, van Beek T.A, Bartasiute A, Koleva I.I.** Antioxidant activity assays on-line with liquid chromatography. J Chromatogr A. 2008; 1210: 121 - 134.
230. **Nijveldt R.J, Nood E, Hoorn D.E.C, Boelens P.G, Norren K, Leewen P.A.M.** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. AM. J. Clin. Nutr. 2001; 74: 418 - 425.
231. **Nishimura T, Ohyama K, Goto E, Ingaki N.** Concentration of perillaldehyde, limonene, and anthocyanin of perilla plants as effected by light quality under controlled environments. Sci Hortic. 2009; 122: 134 - 137.
232. **Nitta M, Kobayashi H, Ohnishi-Kameyama M, Nagamine T, Yoshida M.** Essential oil variation of cultivated and wild *Perilla* analyzed by GC/MS. Biochem Syst Ecol. 2006; 34: 25 - 37.
233. **Nitta M, Lee J.K, Kang C.W, Katsuta M, Yasumoto S, Liu D, et al.** The distribution of *Perilla* species. Genet Resour Crop Ev. 2005; 52: 797 - 804.
234. **Nitta M, Lee J.K, Kobayashi H, Liu D, Nagamine T.** Diversification of multipurpose plant, *Perilla frutescens*. Genet Resour Crop Ev. 2005; 52: 663 - 670.

235. **Nitta M, Lee J.K, Ohnishi O.** Asian perilla crops and their weedy forms: their cultivation, utilization and genetic relationships. *Econ Bot.* 2003; 57(2):245-253.
236. **Nuutila A.M, Kammiovirta K, Oksman-Caldentey K.M.** Comparison of methods for the hydrolysis of flavonoids and phenolic acids from onion and spinach for HPLC analysis. *Food Chem.* 2002; 76: 519 - 525.
237. **Okamoto M, Mitsunobu F, Ashida K, Mifune T, Hosaki Y, Tsugeno H,** et al. Effects of perilla seed oil supplementation on leukotriene generation by leucocytes in patients with asthma associated with lipometabolism. *Int Aech Allergy Immunol.* 2000; 122: 37 - 142.
238. **Okamoto M, Mitsunobu F, Ashida K, Mifune T, Hosaki Y, Tsugeno H,** et al. Effects of dietary supplementation with n-3 fatty acids compared with n-6 fatty acids on bronchial asthma. *Int Med.* 2000; 39(2): 107 - 111.
239. **Okuno M, Kajiwara K, Imai S, Kobayashi T, Honma N, Maki T,** et al. Perilla oil prevents the excessive growth of visceral adipose tissue in rats by down-regulating adipocyte differentiation. *J Nutr.* 1997; 11: 1752 - 1757.
240. **Omer E.A, Khattab M.E, Ibrahim M.E.** First cultivation trial of *Perilla frutescens* L. in Egypt. *Flavour and Fragr. J.* 1998;13:221-225.
241. **Osakabe M, Yasuda A, Natsume M, Yoshikawa Y.** Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: anticarcinogenic effect of *Perilla frutescens* extract in the murine two-stage skin model. *Carcinogenesis* 2004;25(4):549-557.
242. **Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Sangongi C, Kato Y, Osawa T,** et al. Rosmarinic acid, a major polyphenolic component of *Perilla frutescens*, reduces lipopolysaccharide (LPS)- induced liver injury in D-galactosamine (D-GalN)- sensitized mice. *Free Radical Biol Med.* 2002; 33(6): 789 - 806.
243. **Osone Y, Ishida A, Tateno M.** Correlation between relative growth rate and specific leaf area requires associations of specific leaf area with nitrogen absorption rate of roots. *New Phytol.* 2008; 179: 417 - 427.
244. **Pan Z, Zhang Y, Mei D, Zhang R, Wang J, Zhang X,** et al. Scutellarin exerts its anti- hypertrophic effects via suppressing the Ca^{2+} -mediated calcineurin and CaMKII signaling pathways. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol.* 2010; 381: 137 - 145.
245. **Parejo I, Bastida J, Viladomat F, Codina C.** Acylated quercetagenin glycosides with antioxidant activity from *Tagetes maxima*. *Phytochemistry.* 2005; 66: 2356 - 2362.
246. **Park Y, Dixit A, Ma K, Lee J, Lee M, Chung C,** et al. Evaluation of genetic diversity and relationships within an on-farm collection of *Perilla frutescens* (L.) using microsatellite markers. *Genet resour crop evol.* 2007; 55(4): 523 - 535.
247. **Patel J.M.** A review of potential health benefits of flavonoids. *Lethbridge undergraduate research journal.* 2008; 3(2).

248. **Pedersen J.A.** Distribution and taxonomic implications of some phenolics in the family *Lamiaceae* determined by ESR spectroscopy. *Biochem Syst Ecol.* 2000; 28: 229 - 253.
249. **Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Rio D, Salvatore S, Bianchi M**, et al. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J. Nutr.* 2003; 133: 2812 - 2819.
250. **Pennycooke J.C, Cox S, Stushnoff C.** Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia x hybrida*). *Envirom Exp Bot.* 2005; 53: 225 - 232.
251. **Perilla seed extract catalog** (antibacterial oral preparation). Oryza oil and fat chemical co, Ltd. Ver 3.0MK.
252. **Petersen M, Abdullah Y, Benner J, Eberle D, Gehlen K, Huchering S**, et al. Evolution of rosmarinic acid biosynthesis. *Phytochemistry.* 2009; 70(15-16): 1663 - 1679.
253. **Petersen M, Simmonds M.S.J.** Rosmarinic acid. *Phytochemistry.* 2003; 62: 121 - 125.
254. **Pezer-Vizcaino F, Duarte J, Jimenez R, Santos-Buelga C, Osuna A.** Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. *Pharmacol Rep.* 2009; 61: 67 - 75.
255. **Pikulski M, Brodbelt J.S.** Differentiation of flavonoid glycoside isomers by using metal complexation and electrospray ionization mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2003; 14: 1437 - 1453.
256. **Pokorny J.** Are natural antioxidants better- and safer- than synthetic antioxidants? *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2007; 109: 629 - 642.
257. **Poorter H, Bergkotte M.** Chemical composition of 24 wild species differing in relative growth rate. *Plant Cell Envirom.* 1992; 15: 221 - 229.
258. **Pourmorad F, Hosseinimehr S.J, Shahabimajd N.** Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African J Biotechnol.* 2006; 5(11): 1142 - 1145.
259. Povilaityte V, Venskutonis P.R. Antioxidative Activity of Purple Peril (*Perilla frutescens* L.), Moldavian Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.), and Roman Chamomile (*Anthemis nobilis* L.) Extracts in Rapeseed Oil. *JAOCs*, Vol. 77, no. 9 (2000). 951 – 956.
260. **Povilaitytė V.** Krūminės Perilės (*Perilla frutescens*(L.) Britton), Darželinės Žiomenės (*Dracocephalum moldavica* L.) ir Tauriojo Bobramunio (*Anthemis nobilis* L.) biologiškai aktyvūs junginiai ir jų savybės. [Daktaro disertacijos santrauka]. Kaunas, 2004.
261. **Preston K.A.** Can plasticity compensate for architectural constraints on reproduction? Patterns of seed production and carbohydrate translocation in *Perilla frutescens*. *J Ecol.* 1999; 87: 697 - 712.
262. **Preston K.A.** The Effects of Developmental Stage and Source Leaf Position on Integration and Sectorial Patterns of Carbohydrate movement in an

- Annual Plant, *Perilla frutescens* (Lamiaceae). American J Bot. 1998; 85(12):1695-1703.
263. **Pukalskas A, van Beek T.A, Venskutonis P.R, Linssen J.P.H, Valdhuizen A, Groot A.** Identification of radical scavengers in sweet grass (*Hierochloa odorata*). J. Agric. Food Chem. 2002; 50: 2914 - 2919.
 264. **Pukalskas A, van Beek T.A, Waard P.** Development of a triple hyphenated HPLC- radical scavenging detection- DAD-SPE-NMR system for the rapid identification of antioxidants in complex plant extracts. J Chromatogr A. 2005; 1074: 81 - 88.
 265. **Qu J, Wang Y, Luo G.** Determination of scutellarin in *Erigeron breviscapus* extract by liquid chromatography - tandem mass spectrometry. J Chromatogr A. 2001; 919: 437 - 441.
 266. **Quirantes-Pine R, Funes L, Micol V, Segura-Carreteri A, Fernandez-Gutierrez A.** High- performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray time- of- flight and ion-trap tandem mass spectrometry to identify phenolic compounds from a lemon verbena extract. J Chromatogr A. 2009; 1216: 5391 - 5393.
 267. **Ragažinskienė O, Šeinauskienė E, Janulis V, Jankauskaitė L, Milašius A.** The influence of meteorological factors on growth and vegetation process of *Perilla frutescens* (L.). In Lithuania. Medicina (Kaunas). 2006; 42(8): 667 - 672.
 268. **Ragažinskienė O, Gailys V, Jankauskienė K, Šimonienė G, Jurkštienė V.** Krūminė Perilė (*Perilla frutescens* (L.) Britton) – perspektyvus imunomodulatorius. Medicina (Kaunas). 2004;40(3):220-224.
 269. **Ragažinskienė O, Lapinskienė N.M, Kornyšova O, Maruška A.** Introdukavimo metodų taikymas vaistinių augalų biologinėms savybėms nustatyti. Jaunųjų mokslininkų darbai. 2008;3(19):113-116.
 270. **Raha S, Robinson R.H.** Mitochondria, oxygen free radicals, disease and aging. TIBS. 2000; 25: 502 - 508.
 271. **Ralph S.J, Rodriguez-Enriquez S, Neuzil J, Moreno-Sanchez R.** Bioenergetic pathways in tumor mitochondria as targets for cancer therapy and the importance of the ROS induced apoptotic trigger. Mol Aspects Med. 2010; 31: 29 - 59.
 272. **Ramos S.** Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. J Nutr Biochem. 2007; 18: 427 - 442.
 273. **Raudonis R, Jakštas V, Burdulis D, Benetis R, Janulis V.** Investigation of contribution of individual constituents to antioxidant activity in herbal drugs using postcolumn HPLC method. Medicina (Kaunas). 2009; 45(5): 382 - 394.
 274. **Regnault-Roger C.** The potential of botanical essential oils for insect pest control. Integr Pest Manag Rev. 1997; 2: 25 - 34.
 275. **Ren P, Jiang H, Li R, Wang J, Song N, Xu H, Xie J.** Rosmarinic acid inhibits 6-OHDA- induced neurotoxicity by anti-oxidation in MES23.5 cells. J.Mol. Neurosci. 2009; 39(102): 220 - 225.

276. **Renzulli C, Galvano F, Pierdomenico L, Speroni E, Guerra M.C.** Effects of rosmarinic acid against aflatoxin B1 and ochratoxin-A-induced cell damage in a human hepatoma cell line (Hep G2). *J. Appl. Toxicol.* 2004; 24: 289 - 296.
277. **Rice - Evans C, Packer L.** Flavonoids in Health and disease 2nd edition. New York, Basel: Marcel Dekker, Inc; 2003. pp. 4-6, 273-301.
278. **Ricklefs R.E, Guo Q, Qian H.** Growth form and distribution of introduced plants in their native and non- native ranges in Eastern Asia and North America. *Diversity Distrib.* 2008; 14: 381 - 386.
279. **Ripple G.H, Gould M.N, Arzoomanian R.Z, Alberti D, Feierabend C, Simon K,** et al. Phase I clinical and pharmacokinetic study of perillyl alcohol administered four times a day. *Clin Cancer Res.* 2000; 6: 390 - 396.
280. **Robbins R.C.** Effects of phenyl benzo- γ -pyrone derivatives (flavonoids) on blood cell aggregation: basis for a concept of mode of action. *Clin Chem.* 1971; 17(5): 433 - 437.
281. **Romani A, Vignolini P, Isolani L, Ieri F, Heimler D.** HPLC-DAD/MS characterization of flavonoids and hydroxycinnamic derivatives in Turnip tops (*Brassica rapa* L. subsp. *sylvestris* L.). *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54: 1342 - 1346.
282. **Saito K, Yamazaki M.** Biochemistry and molecular biology of the late-stage of biosynthesis of anthocyanin: lessons from *Perilla frutescens* as a model plant. *New Phytol.* 2002;155:9-23.
283. **Saito K, Kobayashi M, Gong Z, Tanaka Y, Yamazaki M.** Direct evidence for anthocyanidin synthase as a 2-oxoglutarate dependent oxygenase: molecular cloning and functional expression of cDNA from a red form of *Perilla frutescens*. *Plant J.* 1999; 17 (2): 181 - 189.
284. **Sakalauskaitė J, Brazaitytė A, Sakalauskienė S, Urbonavičiūtė A, Samuolienė G, Sabajevienė G,** et al. Klimato kaitos veiksnių poveikis valgomųjų ridikelių augimui ir fotosintezės pigmentams. *Sodininkystė ir Daržininkystė.* 2009; 28(4): 131 - 139.
285. **Sanbongi C, Takano H, Osakabe N, Sasa N, Natsume M, Yanagisawa R,** et al. Rosmarinic acid in perilla extract inhibits allergic inflammation induced by mite allergen, in a mouse model. *Clin Exp Allergy.* 2004; 34: 971 - 977.
286. **Sangwan N.S, Farooqi A.H.A, Shabih F, Sangwan R.S.** Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regul.* 2001; 34: 3 - 21.
287. **Santana Juliao L, Leita S.G, Lotti C, Picinelli A.L, Rastrelli L, Fernandes P.D,** et al. Flavones and phenylpropanoids from a sedative extract of *Lantana trifolia* L. *Phytochemistry.* 2010; 71: 294 - 300.
288. **Santangelo C, Vari R, Scazzocchio B, Benedetto R, Filesi C, Masella R.** Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanita.* 2007; 43(4): 394 - 405.
289. **Santos A.C, Uyemura S.A, Lopes J.L.C, Bazon J.N, Mingatto F.E, Curti C.** Effect of naturally occurring flavonoids on lipid peroxidation and

- membrane permeability transition in mitochondria. *Free Radical Biol Med.* 1998; 24 (9): 1455 - 1461.
290. **Sathishkumar T, Baskar R, Shanmugam S, Rajasekaran P, Sadasivam S, Manikandam V.** Optimization of flavonoids extraction from the leaves of *Tabernaemontana heyneana* Wall. using L16 orthogonal design. *Nat Sci.* 2008; 6(3): 10 - 21.
 291. **Sawabe A, Satake T, Aizawa R, Skatani K, Nishimoto K, Ozeiki C, et al.** Toward use of the leaves of *Perilla frutescens* (L.) Britton var. *acuta* Kudo (red perilla) with Japanese dietary pickled plum (umeboshi). *J Oleo Sci.* 2006; 55(8): 413 - 422.
 292. **Scalbert A, Johnson I.T, Saltmarch M.** Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005; 81: 215S - 217S.
 293. **Schmitt-Schillig S, Schaffer S, Weber C.C, Eckert G. P, Muller W.E.** Flavonoids and the aging brain. *J Physiol Pharmacol.* 2005; 56 (1): 23 - 36.
 294. **Schneider I, Bucar F.** Lipoxygenase inhibitors from natural plant sources. Part 1: medicinal plants with inhibitory activity on arachidonate 5-lipoxygenase and 5-lipoxygenase/ cyclooxygenase. *Phytother res.* 2005; 19: 81 - 102.
 295. **Schnitzler W.H, Habegger R.** *Perilla frutescens* - perilla red and its secondary plant metabolism. *Acta Hort.* 2004; 659: 371 - 374.
 296. **Schroeter H, Spencer J.P.E, Rice-Evans C, Williams R.J.** Flavonoids protect neurons from oxidized low density lipoprotein induced apoptosis involving c-Jun N-terminal kinase (JNK), c-Jun and caspase-3. *Biochem. J.* 2001; 258: 547 - 557.
 297. **Schutz K, Kammerer D, Cerle R, Schiebber A.** Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads, juice, and pomace by HPLC-DAD-ESI/MS. *J. Agric. Food Chem.* 2004; 52: 4090 - 4096.
 298. **Sellami I.H, Maamouri E, Chahed T, Wannes W.A, Kchouk M.E, Marzouk B.** Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Indust Crops Prod.* 2009; 30: 395 - 402.
 299. **Seruga M, Novak I, Jakobek L.** Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chem.* 2011; 124: 1208 - 1216.
 300. **Shan B, Cal Y.Z, Sun M, Corke H.** Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53: 7749 - 7759.
 301. **Shimoi.** Deglucuronidation of a flavonoid, luteolin monoglucuronide, during inflammation. *Drug Metab Dispos.* 2001; 29(12): 1521 - 1524.
 302. **Shui G, Leong L.P.** Screening and identification of antioxidants in biological samples using high performance liquid chromatography- mass

- spectrometry and its application on *Salacca edulis* Reinw. J. Agric. Food Chem. 2005; 53: 880 - 886.
303. **Singh R.P, Sharad S, Kapur S.** Free radicals and oxidative stress in neuridegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. JICAM 2004; 5(3): 218 - 225.
 304. **Siriamornpun S, Li D, Yang L, Suttajit S, Suttajit M.** Variation og lipid and fatty acid compositions in Thai Perila seeds grown at different locations. Somgklanakarin J. Sci. Technol. 2006; 28(1): 17 - 21.
 305. **Syvacy A, Sokmen M.** Seasonal changes in antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin constituent of the stems of two *Morus* species (*Morus alba* L. and *Morus nigra* L.). Plant Growth Regul. 2004; 44: 251 - 256.
 306. **Soares R, Azevedo I.** Apigenin: is it pro- or anti- inflammatory agent? American J Pathol. 2006; 168(5): 1762 - 1763.
 307. **Sompornpailin K, Makita Y, Yamazaki M, Saito K.** A WD repeat containing putative regulatory protein in anthocyanin biosynthesis in *Perilla frutescens*. Plant Mol Biol. 2002; 50: 485 - 495.
 308. **Springob K, Nakajima J, Yamazaki M, Saito K.** Recent advances in the biosynthesis and accumulation of anthocyanins. Nat. Prod. Rep. 2003; 20: 288 - 303.
 309. **Stalikas C.D.** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. J. Sep. Sci. 2007; 30: 3268 - 3295.
 310. **Steyn W.J, Wand S.J.E, Holcroft D.M, Jacobs G.** Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. New phytol. 2002; 155: 349 - 361.
 311. **Stobiecki M.** Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides. Phytochemistry. 2000; 54: 237 - 256.
 312. **Sugimura T.** Nutrition and dietary carcinogens. Carcinogenesis. 2000; 21(3): 387 - 395.
 313. **Sun L, Tamaki H, Ishimaru T, Teruya T, Ohta Y, Katsuyama N, et al.** Inhibition of osteoporosis due to restricted food intake by fish ools DHA and EPA and perilla oil in the rat. Bioschi. Biotechnol. Biochem. 2004; 68 (12): 2613 - 2615.
 314. **Surveswaran S, Cai Y, Corke H, Sun M.** Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 33 Indian medicinal plants. Food Chem. 2007; 102: 938 - 953.
 315. **Szollosi R, Szollosi Varga I.** Total antioxidant power in some species of *Labiatae* (Adaptation of FRAP method). Acta Biol Szegediensis. 2002; 46(3-4): 125 - 127.
 316. **Šimoniene G, Jurkstiene V, Jankauskiene K, Gailys V, Kevelaitis E, Venskutonis P.R.** Krumines periles (*Perilla frutescens* (L.) Britton) itaka nespecifiniam lasteliniam imunitetui – fagocitozes aktyvumui. Medicina (Kaunas). 2005; 41(12): 1042 - 1047.

317. **Škemiene K, Liobikas J, Trumbeckaitė S, Borutaitė V.** Antocianinai kaip citochromo c reduktoriai. Mokslas žmonių sveikatai. Kauno Medicinos Universitetas. 2010.
318. **Šliogerytė K, Skalauskienė S, Brazaitytė A, Lazauskas S, Sakalauskaitė J, Sirtautas R,** et al. Paparastjo kukuruzo (*Zea mays* L.), auginto skirtingomis drėgmės ir temperatūros sąlygomis, fotosintezės ir biometrinių rodiklių kitimas. Sodininkystė ir Daržininkystė. 2009; 28(4): 189 - 197.
319. **Tabata M.** Genetics of monoterpene biosynthesis in perilla plants. Plant Biotechnology. 2000; 17(4): 273 - 280.
320. **Takagi S, Goto H, Shimada Y, Nakagomi K, Sadakane Y, Hatanaka Y,** et al. Vasodilative effect of perillaldehyde on isolated rat aorta. Phytomedicine. 2005; 12(5): 333 - 337.
321. **Takeda H, Tsuji M, Miyamoto J, Matsumiya T.** Rosmarinic acid and caffeic acid reduce the defensive freezing behavior of mice exposed to conditioned fear stress. Psychopharmacology. 2002; 164: 233 - 235.
322. **Tao Y.H, Jiang D.Y, Xu H.B, Yang X.L.** Inhibitory effect of *Erigeron breviscapus* extract and its flavonoid components on GABA shunt enzymes. Phytomedicine. 2008; 15: 92 - 97.
323. **Tapas A.R, Sakarkar D.M, Kakde R.B.** Flavonoids as nutraceuticals: a review. Tropical J Pharm Res. 2008; 7(3): 1089 - 1099.
324. **Tawaha K, Alali F.Q, Gharaibeh M, Mohammad M, El-Elimat T.** Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chem. 2007; 104: 11372 - 1378.
325. **Tepe B, Eminagaoglu O, Akpulat H.A, Aydin E.** Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia verticillata* (L.) subsp. *verticillata* and *S. verticillata* (L.) subsp. *amasiaca* (Freyn and Bornm.) Bornm. Food Chem. 2007; 100: 985 - 989.
326. **The Pharmacopoeia Commission of PRC.** Pharmacopoeia of The People's Republic of China. China; 1992. p. 18, 55, 78.
327. **The Pherobase.** Database of pheromones and semiochemicals. Available at: <http://www.pherobase.com/>
328. **The world health report.** Reducing risks, promoting healthy life. World Health Organisation. France. 2002.
329. **Thomas B, Murphy D.J, Murray D.** Encyclopaedia of applied plant sciences. 2005. 588 - 596. Academic Press, London.
330. **Toleikis A, Trumbeckaitė S, Majienė D.** Cytochrome c effect on respiration of heart mitochondria: influence of various factors. Biosci Rep. 2005; 25(5-6): 387-97
331. **Tonkūnas J.** Lauko bandymų metodas. Vilnius; 1957. p. 252.
332. **Tooke F, Battey N.H.** Temperate Flowering phenology. J Exp Bot. 2010; 61(11): 2853 - 2862.
333. **Trumbeckaitė S, Bernatoniienė J, Majienė D, Jakštas V, Savickas A, Toleikis A.** The effect of flavonoids on rat heart mitochondrial function. Biomed Pharmacother. 2006; 60: 245 - 248.

334. **Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M.** A hydroxyl group of flaonoids affects oral anti-inflammatory activity and inhibition of systemic tumor necrosis factor- α production. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2004; 68 (1): 119 - 125.
335. **Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M.** Inhibitory effect of perilla leaf extract and luteolin on mouse skin tumor promotion. *Biol. Pharm. Bull.* 2003; 26(4):560-563.
336. **Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M.** Liuteolin as an anti-inflammatory and anti-allergic constituent of *Perilla frutescens*. *Biol. Pharm. Bull.* 2002;25(9):1197-1202.
337. **Valdameri G, Herrerias T, Carnieri E.G.S, Cadena S.M.S.C, Martinez G.R, Rocha M.E.M.** Importance of the core structure of flavones in promoting inhibition of the mitochondrial respiratory chain. *Chem-Biol Int.* 2010; 188: 52 - 58.
338. **Veljkovic V, Mouscadet J, Veljkovic N, Glisic S, Debyser Z.** Simple criterion for selection of flavonoid compounds with anti-HIV activity. *Bioorg Med Chem Lett.* 2007; 17: 1226 - 1232.
339. **Veneklaas E.J, Santos Silva M.P.R.M, Ouden F.** Determinants of growth rate in *Ficus benjamina* L. compared to related faster- growing woody and herbaceous species. *Sci Hort.* 2002; 93: 75 - 84.
340. **Villar R, Maranon T, Quero J.L, Panadero P, Arenas F, Lambers H.** Variation in relative growth rate of 20 *Aegilops* species (*Poaceae*) in the field: the importance of net assimilation rate or specific leaf area depends on the time scale. *Plant and soil.* 2004; 272(1-2): 11 - 27.
341. **Wang A, Zhou M, Lin W.** Antioxidative and anti- inflammatory properties of *Citrus sulcata* extracts. *Food Chem.* 2011; 124: 958 - 963.
342. **Wang I.K, Lin-Shiau S.Y, Lin J.K.** Induction of apoptosis by apigenin and related flavonoids through cytochrome c release and activation of caspase-9 and caspase-3 in leukaemia HL-60 cells. *Eur J Cancer.* 1999; 35 (10): 1517 - 1525.
343. **Wang J.W, Xia Z.H, Chu J.H, Tan R.X.** Simultaneous production of anthocyanin and triterpenoids in suspension cultures of *Perilla frutescens*. *Enzyme Microb Tech.* 2004; 34: 651 - 656.
344. **Wang S.Y, Zheng W.** Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. *J. Agric. Food Chem.* 2001; 49(10): 4977 - 4982.
345. **Wei J, Ni J, Wu T, Chen X, Duan X, Liu G, et al.** A systematic review of chinese medicinal herbs for acute bronchitis. *J Altern Complem Med.* 2006; 12(2): 159 - 169.
346. **WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants.** WHO Geneva 2003. Available at: <http://www.who.int/medicines/library/trm/medicinalplants/agricultural.shtml>
347. **WHO Traditional medicine strategy 2002-2005.** Geneva. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>
348. **Williams R.J, Spencer J.P.E, Rice-Evans C.** Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biol Med.* 2004; 36 (7): 838 - 849.

349. **Wohlmuth H.** Perilla seed extract. *Botanical Pathways*. 2001;10:2-4.
350. **Wojcikowski K, Stevenson L, Leach D, Wohlmuth H, Gobe G.** Antioxidant capacity of 55 medicinal herbs traditionally used to treat urinary system: a comparison using a sequential three solvent extraction process. *J Altern Comp Med*. 2007; 13(1): 103 - 109.
351. **Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R.** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem*. 2007; 105: 940 - 949.
352. **Wood N.** The effects of selected dietary bioflavonoid supplementation on dental caries in young rats fed a high sucrose diet. *J. Med. Food*. 2007; 10(4): 694 - 701.
353. **Xu M, Floy H.S, Greth S.M, Chang W.L, Lohman K, Stoyanova R, et al.** Perillyl alcohol-mediated inhibition of lung Cancer cell line proliferation: potential mechanisms for its chemotherapeutic effects. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004;195:232-246.
354. **Zgorka G, Glowniak K.** Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the *Lamiaceae* family. *J Pharmaceut Biochem Analysis*. 2001; 26: 79 - 87.
355. **Zhang Q, van der Klift E.J.C, Janssen H.G, van Beek T.A.** An on-line normal phase high performance liquid chromatography method for the rapid detection of radical scavengers in non-polar food matrixes. *J Chromatogr A*. 2009; 1216: 7268 - 7274.
356. **Zhang X.** Traditional Medicine Programme. Regulatory situation of herbal medicines. A worldwide review. Available at: http://whqlibdoc.who.int/hq/1998/WHO_TRM_98.1.pdf
357. **Zhao G, Yao-Yue C, Qin G, Guo L.** Luteolin from purple perilla mitigates ROS insult particularly in primary neurons. *Neurobiology of aging*. 2010; In press.
358. **Zheng J, Ramirez V.D.** Inhibition of mitochondrial proton F₀F₁-ATPase/ATP synthase by polyphenolic phytochemicals. *Brit J Pharmacol*. 2000; 130: 1115 - 1123.
359. **Zietz M, Weckmuller A, Schmidt S, Rohn S, Schreiner M, Krumbein A, et al.** Genotypic and climatic influence on the antioxidant activity of flavonoids in Kale (*Brassica oleraceae* var. *sabellica*). *J.Agric. Food Chem*. 2010; 58(4): 2123 - 2130.
360. **Zimmermann P, Zentgraf U.** The correlation between oxidative stress and leaf senescence during plant development. *Cell Mol Biol Lett*. 2005; 10: 515 - 534.

DISERTACIJOS TEMA PASKELBTŲ PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS

Straipsniai leidiniuose, įtrauktuose į Mokslinės informacijos instituto duomenų bazę:

1. Bumblauskienė L, Jakštas V, Janulis V, Maždžierienė R, Ragažinskienė O. Preliminary analysis on essential oil composition of *Perilla* L. cultivated in Lithuania. Acta Poloniae pharmaceutica. Drug research. 2009.66(4): 409 – 413.
2. Ragažinskienė O, Bumblauskienė L, Šeinauskienė E, Praškevičius A, Janulis V. Multiannual dynamics of *Perilla frutescens* L. Britton terraneous part productivity and increment during vegetation cycles in Middle Lithuania. Ekologija. 2007;53(3):45 – 50.

Straipsniai LMT patvirtintose duomenų bazėse:

1. Ragažinskienė O, Janulis V, Šeinauskienė E, Jankauskaitė L, Milašius A. The influence of meteorological factors on growth and vegetation rhythmicity of *Perilla frutescens* (L.) Britton in Lithuania. Medicina (Kaunas) 2006; 42 (8): 667-672.

Straipsniai recenzuojamoje Lietuvos tarptautinės konferencijos medžiagoje:

1. Raudonis R, Jakštas V, Bumblauskienė L, Janulis V. Determination of Antioxidant Activity in Herbal Raw Materials Using Hplc-Pcr Method. 3rd International conference "The Vital Nature Sign": Proceedings : 22nd-23rd May 2009, Kaunas, Lithuania / Vytautas Magnus University, 2009. p. 177.
2. Bumblauskienė L. *Perilla frutescens* (L.) Britton – naujo vaistinio augalo Lietuvoje reikšmė žmogaus sveikatai. Žmogaus ir gamtos sauga. Konferencijų medžiaga. Kaunas, 2008. p. 134 – 137.

3. Ragažinskienė O, Povilaitytė V, Jankauskaitė L. Naujo vaistinio, prieškoninio augalo *Perilla frutescens* (L.) Britton – imunomodulatoriaus – introdukcija Lietuvoje. Žmogaus ir gamtos sauga. Konferencijų medžiaga. Kaunas, 2005. p. 237 – 239.

Konferencijų tezės:

1. Bumblauskienė L, Raudonis R. Antioxidant activity evaluation of *Perilla* L. species and varieties using HPLC-post column scavenging methods. 18th International Student Scientific Conference for Students and Young Doctors : Abstract book : Gdansk, Poland, 22-24 April 2010. p. 97.
2. Raudonis R, Bumblauskienė L, Jakštas V, Janulis V. *Perilla* L. genties augalų ir jų preparatų antioksidantinio aktyvumo tyrimas ESC-ABTS metodu. 3-oji nacionalinė mokslinė konferencija "Mokslas - žmonių sveikatai" : pranešimų tezės : 2010 m. balandžio 7 d, Kaunas / Kauno medicinos universitetas.
3. Bumblauskienė L, Raudonis R, Jakštas V, Janulis V. Antioxidant activity evaluation of *Perilla* L. species and varieties cultivated in Lithuania using HPLC-PCR method. 5th International Conference on Polyphenols Applications "Bridging Bioefficacy to Innovations & Applications. October 29-30 2009, Malta / International Society of Antioxidants in Nutrition & Health –ISANH.
4. Bumblauskienė L, Jakštas V, Janulis V, Maždžierienė R. Essential oil composition of *Perilla* L. cultivated in Lithuania. Planta medica : 55th International Congress and Annual Meeting of the Society-for-Medicinal-Plant-Research-and-Natural-Product-Research : August 16-20, 2009, Geneva, Switzerland.
5. Raudonis R, Jakštas V, Burdulis D, Bumblauskienė L, Janulis V. HPLC-PCR Method for Determination of Antioxidant Activity in Herbal. Raw Materials and Herbal Preparations. NoSSS 2009 - 5th Conference on separation and Related Techniques by Nordic separation Science Society : 26-29 August, 2009, Tallinn, Estonia.
6. Bumblauskienė L, Povilaitytė V, Ragažinskienė O, Janulis V. Cultivation and Quality of Raw Material of the *Perilla frutescens* (L.)

Britton Introduced in Lithuania. The 3rd Global Summit on Medicinal and Aromatic Plants : program & abstracts : November 21-24, 2007 Chiang Mai, Thailand .

7. Jankauskaitė Lina. Krūminės perilės biologinės savybės. Lietuvos sveikatos mokslų studentų ir jaunųjų tyrėjų konferencija 2006 .
8. Ragažinskienė O, Povilaitytė V, Jankauskaitė L. Naujo vaistinio, prieškoninio augalo *Perilla frutescens* (L.) Britton – imunomodulatoriaus - introdukcija Lietuvoje. Žmogaus ir gamtos sauga = Human and nature safety : Vienuoliktoji respublikinė mokslinė konferencija. Lietuvos žemės ūkio universiteto Leidybos centras. 2005, p. 237-239.