



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

**Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών
Προϊόντων**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Φαρμακογνωστική Μελέτη Φυτών των Νησιών του Βορείου
Αιγαίου**

Δρ.ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ ΑΞΙΩΤΗΣ

ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ

ΑΘΗΝΑ

ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2022

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Μητάκου Σοφία

Καθηγήτρια (επιβλέπουσα), Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α.

Σκαλτσούνης Αλέξιος-Λέανδρος

Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α.

Δημητρακόπουλος Παναγιώτης

Καθηγητής, Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Μητάκου Σοφία

Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α.

Σκαλτσούνης Αλέξιος-Λέανδρος

Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α.

Δημητρακόπουλος Παναγιώτης

Καθηγητής, Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου

Τζάκου Όλγα

Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α.

Κουρέτας Δημήτριος

Καθηγητής, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Χαλαμπαλάκη Μαρία

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α.

Λάμαρη Φωτεινή

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς και θερμές μου ευχαριστίες σε όλους αυτούς που συνέβαλαν στην ολοκλήρωση της παρούσης διδακτορικής διατριβής, η οποία αποτελεί την δεύτερη σε σειρά διατριβή μετά την πρώτη στην Κλινική Ανοσολογία, στην Ιατρική σχολή του Πανεπιστημίου της Ρώμης, «La Sapienza». Εργασία που ολοκληρώθηκε σε περίοδο μιας πρωτοφανούς πανδημίας. Της πανδημίας του κορωνοϊού.

Καταρχήν, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Σκαλτσούνη Αλέξιο-Λέανδρο (Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α.), Πρόεδρο του τμήματος Φαρμακευτικής Ε.Κ.Π.Α., που με δέχθηκε στο εργαστήριό του, για την εμπιστοσύνη και την ευκαιρία στην συνέχεια της επιστημονικής μου κατάρτισης στον τομέα των φυσικών προϊόντων και την ανάθεση εκπόνησης της παρούσας διδακτορικής.

Ευχαριστώ την Καθηγήτρια Σοφία Μητάκου (Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α.), διευθύντρια του τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Ε.Κ.Π.Α.), για την καθοδήγηση, το ενδιαφέρον της για την πρόοδο της διατριβής και τις παρατηρήσεις, οι οποίες συνέβαλαν στην τελική μορφή της διατριβής.

Ευχαριστώ τον Καθηγητή Δημητράκοπουλο Παναγιώτη (Κοσμήτορα του τμήματος Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου) για την ηθική συμπαράσταση και για το ενδιαφέρον για την πρόοδο της διατριβής μου.

Ευχαριστώ τα υπόλοιπα μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής, την Καθηγήτρια Τζάκου Όλγα (Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α.), Καθηγητή Κουρέτα Δημήτριο (Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας), Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Χαλαμπαλάκη Μαρία (Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α.), Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Λάμαρη Φωτεινή (Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών), για τον χρόνο που διέθεσαν.

Ευχαριστώ θερμά την αναπληρώτρια καθηγήτρια Χαλαμπαλάκη Μαρία που από την πρώτη μέρα στο εργαστήριο ήταν διαθέσιμη να με κατευθύνει και να με συμβουλευσει στον νέο ερευνητικό τομέα που ακολούθησα, πάντα με χαμόγελο και ηρεμία.

Ευχαριστώ τον Δρ. Πετράκη Ελευθέριο για την συνεργασία μας στις ενότητες με τον ενδημικό σιδερίτη και των υποπροϊόντων της καλλιεργούμενης ορχιδέας από την νήσο Σάμο. Στην παρούσα

ενότητα θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον Tomei Davide Francesco, ο οποίος βοήθησε στο πειραματικό της απομόνωσης από τα διαφορετικά τμήματα του φυτού.

Ευχαριστώ τον Δρ. Αγγελή Αποστόλη για την συνεργασία μας στην ενότητα με τα υποπροϊόντα ορχιδέας, για την βοήθειά του στην απομόνωση βιοδραστικών συστατικών με την τεχνική CPC και στα φάσματα Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού και τις εποικοδομητικές συζητήσεις στην ταυτοποίηση φυσικών προϊόντων με την τεχνική NMR. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω και την υποψήφια διδάκτορα Αντωνιάδη Λεμονιά για την συνεργασία μας στην αξιολόγηση της βιολογικής δραστηρότητας των εκχυλισμάτων και απομονωμένων μεταβολιτών από τα υποπροϊόντα ορχιδέας με ένζυμα.

Ευχαριστώ την μεταδιδάκτορα Δρ. Νίκου Θεοδώρα και την υποψήφια διδάκτορα Μικροπούλου Έλενα για την λήψη των φασμάτων LC-MS.

Ευχαριστώ την Μαριάννα Βανιώτη για την συνεργασία μας στην εκχύλιση του σιδερίτη με SFE.

Ευχαριστώ τον Δρ. Παπαευσταθίου Γιώργο για τις πολύτιμες συμβουλές του στις εκχυλίσεις με υπερήχους και στην λειτουργία του spray-dryer.

Ευχαριστώ τον Δρ. Σταθόπουλο Παναγιώτη, ΕΔΙΠ του τμήματος Φαρμακευτικής σχολής ΕΚΠΑ, για την συνεργασία μας για το Βόρειο Αιγαίο και το δύσκολο εγχείρημα του NatProAegean.

Ευχαριστώ τον Δρ. Καλπουτζάκη Λευτέρη για τις εποικοδομητικές συζητήσεις συστηματικής βοτανικής στους διαδρόμους του εργαστηρίου και την προθυμία του να λύσει τις απορίες μου σε θέματα της Ελληνικής χλωρίδας.

Ευχαριστώ πολύ όλα τα μέλη του εργαστηρίου για το πολύ ωραίο κλίμα συνεργασίας.

Ευχαριστώ τον καθηγητή του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Δημήτριο Κουρέτα και την Βάσση Ελένη για τα πειράματα *in-vitro* σε εκχυλίσματα του *Sideritis sipylea*.

Ευχαριστώ τον Μανώλη και Νίκο Γαρουφαλή από το θερμοκήπιο της Σάμου για τα υποπροϊόντα καλλιεργούμενης ορχιδέας *Cymbidium*.

Ευχαριστώ τον Δρ. Γιαννακόπουλο Γιώργο (ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, SciFY) για την συνεργασία μας στην ενότητα της τεχνητής νοημοσύνης, στην οποία ήταν καθοριστική και η συμμετοχή του Ανδρέα Κοντογιάννη (ΕΜΠ, Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών).

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την ομάδα φαρμακολογίας του τμήματος R&D της εταιρίας *NeuroSys* (Gardanne, Γαλλία) για την συνεργασία μας στις *in-vitro* δοκιμές εκχυλισμάτων του ενδημικού σιδεριτή σε πρωτογενείς καλλιέργειες ντοπαμινεργικών νευρώνων. Ειδικά τον Δρ. Garayev Elnur για την φιλοξενία κατά την διάρκεια της παραμονής μου στην Μασσαλία και την φιλία που αναπτύχθηκε.

Ευχαριστώ θερμά την ομάδα φαρμακολογίας της φαρμακευτικής σχολής του Πανεπιστημίου Ρώμης «La Sapienza» και ιδιαίτερα τις ερευνήτριες Δρ. Di Giacomo Silvia και Δρ. Di Santo Antonella για την συνεργασία μας στα πειράματα *in-vitro* σε εκχυλίσματα *Sideritis sipylea*.

Ευχαριστώ θερμά την Φωτεινή Καψάλη, Μαρία Πλατανιά, Μαρία Κατσάτσου και Εβίτα Καλαντζή από την γραμματεία, για όλη την βοήθεια στα προγράμματα και τις συμβάσεις.

Ευχαριστώ την Περιφέρεια Βορείου Αιγαίου για την καθολική εμπιστοσύνη και τις Διευθύνσεις Αγροτικής Οικονομίας των νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου για την συνεργασία μας, από την προμήθεια δειγμάτων, την οργάνωση ημερίδων, την έκδοση καλλιεργητικού οδηγού αρωματικών / φαρμακευτικών φυτών και την υποστήριξη στην δημιουργία της ερευνητικής υποδομής «NatProAegean» στην περιοχή Γέρα στην Λέσβο.

Ευχαριστώ την γυναίκα μου Τζούλια για την συμπαράσταση και στο δεύτερο διδακτορικό και την υπέρμετρη κατανόηση σε αυτό το μονοπάτι που αποφασίσαμε να χαράζουμε μαζί.

Ευγνωμοσύνη στους γονείς μου και στον αδερφό μου για όλη την βοήθεια και την συμπαράσταση να πραγματοποιήσω του στόχους μου. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον πατέρα μου, Μάκη Αξιώτη, γιατί του οφείλω την στροφή μου και απόφαση εμβάθυνσης των γνώσεών μου στον τομέα της φαρμακογνωσίας στοχέυοντας πλέον την φυτική βιοποικιλότητα του Βορείου Αιγαίου. Για τις αμέτρητες ώρες που περάσαμε στο πεδίο για συλλογή φυτών και ταξινόμηση, με το ιδιωτικό ερμπάριο, με την συνεργασία στην συγγραφή βιβλίων και άρθρων. Ένα ανιδιοτελές πάθος για την αιολική γη αστεϊρευτο και μοναδικό. Σημείο αναφοράς.

«Η ζωή είναι ένα αυτοσυντηρούμενο χημικό σύστημα, ικανό για δαρβινική εξέλιξη»

Τζέραλντ Τζόις, Ερευνητικό Ινστιτούτο Σκριπ, NASA

Στην γυναίκα μου Τζούλια

Περιεχόμενα

Λίστα με Εικόνες	18
Λίστα Εικόνων Παραρτήματος, Κεφάλαιο 5	22
Λίστα με Πίνακες και Διαγράμματα.....	24
Λίστα Πινάκων Παραρτήματος, Κεφάλαιο 5	26
Συντομογραφίες.....	26
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	30
ABSTRACT	32
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	34
Εισαγωγή	35
Γενικά	36
A.1 Φυτογεωγραφικές Περιοχές της Ελλάδας	37
A.1α. Περιοχή του Βόρειο Ανατολικού Αιγαίου	38
A.2 Φυτικά Είδη και Ενδημισμός στην Ελλάδα και στο Βορειοανατολικό Αιγαίο	42
Κεφάλαιο 1	
Φυσιογεωγραφία – Γεωμορφολογία των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου	45
Γενικά	46
1.1. Χαρακτηριστικά Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου	46
1.1.α. Λήμνος.....	46
1.1.β. Άγιος Ευστράτιος	48
1.1.γ. Λέσβος.....	49
1.1.δ. Χίος	51
1.1.ε. Ψαρά – Αντίψαρα	53
1.1.ζ. Οινούσες	54
1.1.η. Σάμος	55
1.1.θ. Ικαρία.....	56
1.1.ι. Φούρνοι.....	57
1.2 Συμπεράσματα.....	58
1.3. Βιβλιογραφικές Αναφορές	59
Κεφάλαιο 2	

Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου	62

Γενικά	63
2.1 Διαφοροποίηση μεταξύ «Εθνοφαρμακολογίας» και «Φαρμακογνωσίας»	64
2.2 Διαμόρφωση και στάδια της Εθνοφαρμακολογικής έρευνας	65
2.3 Εθνοφαρμακολογικές μελέτες στον Ελλαδικό χώρο	67
2.4. Εθνοφαρμακολογική μελέτη των νησιών Βορείου Αιγαίου	67
ΜΕΡΟΣ Α: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	69
ΜΕΡΟΣ Β: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	72
2.6. Συμπεράσματα	112
2.7. Βιβλιογραφικές αναφορές	113

Κεφάλαιο 3

Η χρήση της Τεχνητής Νοημοσύνης στην Εθνοφαρμακολογική Αναζήτηση με Αλγόριθμους Μηχανικής Μάθησης	116

Γενικά	117
3.1. Εισαγωγή στην Μηχανική Μάθηση (ML)	118
3.1.1. Επιβλεπόμενη Μάθηση	119
3.1.2. Μη Επιβλεπόμενη Μάθηση	119
3.1.3. Ενισχυτική Μάθηση	120
3.2. Ενεργός Μάθηση	121
3.3. Νευρωνικά δίκτυα και Deep Q- learning	122
3.3.1. Deep Reinforcement Learning (Deep RL)	122
3.3.2. Αναδρομικά Νευρωνικά Δίκτυα (Recurrent Neural Networks – RNNs) και Long Short-Time Memory (LSTM).	122
3.4. Διαχείριση Κειμένων και Natural Language Processing (NLP)	123
3.5. Συμφωνία Επισημειωτών	123
3.5.1. Raw Agreement	123
3.5.2. Cohen's kappa	124
3.5.3. Krippendorff's alpha	124
3.6. Εστιασμένη Διαδικτυακή Αναζήτηση (Focused Crawler)	124
3.6.1. Focused Crawler δύο Σταδίων	127
ΜΕΡΟΣ Α: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	129

3.7 Επισκόπηση της Μεθόδου.....	130
3.7.1. Καθορισμός των σχετικών θεμάτων.....	131
3.7.2. Βάση Δεδομένων	131
3.7.3. Ενεργή Μάθηση και ενδιαφέρον των ειδικών	132
3.7.4. Ενισχυτική Μάθηση (Reinforcement Learning).....	133
ΜΕΡΟΣ Β: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	137
3.8. Εθνοφαρμακολογική Αναζήτηση.....	138
3.9. Αποτελέσματα Ανίχνευσης.....	140
3.10. Συμπεράσματα.....	142
3.11. Βιβλιογραφικές Αναφορές	143
Κεφάλαιο 4	
Φυτοχημικό Προφίλ και Βιολογική Αξιολόγηση του <i>Sideritis sipylea</i> Boiss από την νήσο Λέσβο	145
Γενικά.....	146
4.1. Βοτανικά Χαρακτηριστικά του γένους <i>Sideritis</i>	148
4.1.α. Ταξινόμηση και Ονοματολογία του είδους.....	148
4.2. Εθνοφαρμακολογικές Χρήσεις	150
4.3. Φυτοχημικό Προφίλ στο γένος <i>Sideritis</i> σε Μεσογειακά είδη	153
4.3.1. Ιριδοειδή.....	153
4.3.2. Καουράνια	157
4.3.3. Φαινολικά Παράγωγα.....	162
4.3.4. Φαινολικά Οξέα	172
4.3.5. Φαινυλαιθανοϊκοί Γλυκοσίδες	175
ΜΕΡΟΣ Α: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	178
4.4. Κατεργασία Φυτικού Υλικού και Εκχύλιση	179
4.5. Βιολογική Αξιολόγηση των Εκχυλισμάτων <i>Sideritis sipylea</i> Boiss.	180
4.5.1. Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου με την μέθοδο Folin-Ciocalteu	180
4.5.2. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH	181
4.5.3. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας ABTS ^{•+}	182
4.5.4. Αναστολή της δράσης της Τυροσινάσης	183
4.5.5. Αναστολή της δράσης της Ελαστάσης.....	184

4.5.6. Μελέτη της Προστασίας Νευρικών κυττάρων μετά από Τοξικότητα εκ διεγέρσεως (διεγερσιμοτοξικότητα) από γλουταμινικό οξύ.	184
4.5.7. Στατιστική Ανάλυση των Αποτελεσμάτων.....	190
4.6. Φυτοχημική Μελέτη Αιθερίου Έλαιου και των Εκχυλισμάτων	191
4.6.1. Αιθέριο Έλαιο.....	191
Παρασκευή εκχυλισμάτων.....	192
4.6.2. Εκχύλιση με Υπερήχους.....	192
4.6.3.Υπερκρίσιμη εκχύλιση με διοξείδιο του άνθρακα (Supercritical Fluid Extraction–SFE)	192
4.6.4. Φυτοχημική ανάλυση με Υγρή Χρωματογραφία συζευγμένη με Φασματομετρία Μάζας (LC-MS)	192
ΜΕΡΟΣ Β: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	194
4.7. Βιολογική Αξιολόγηση των εκχυλισμάτων του <i>Sideritis sipylea</i> Boiss.	195
4.7.1. Αντιοξειδωτική Ικανότητα με την μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH.....	195
4.7.2. Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της δέσμευσης της ρίζας ABTS• ⁺	198
4.7.3. Αναστολή της δράσης της Τυροσινάσης και της Ελαστάσης	199
4.7.4. Μελέτη της προστασίας νευρικών κυττάρων μετά από τοξικότητα εκ διεγέρσεως (διεγερσιμοτοξικότητα) από γλουταμινικό οξύ.	202
4.8. Μελέτη της Χημικής Σύστασης του <i>Sideritis sipylea</i> Boiss.....	209
4.8.1. Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα, αιθέριο έλαιο και εκχύλισμα SFE.....	209
4.8.2. Υδατοαιθανολικό Εκχύλισμα, εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα και μεθανόλης.....	213
4.9. Συμπεράσματα.....	227
4.10. Βιβλιογραφικές Αναφορές	228
Κεφάλαιο 5	
Φυτοχημική Ανάλυση και Βιολογική Αξιολόγηση των Υποπροϊόντων καλλιέργειας της ορχιδέας <i>Cymbidium</i> sp. από την νήσο Σάμο	237
Γενικά.....	238
5.1. Βοτανικά Χαρακτηριστικά της οικογένειας Orchidaceae.....	240
5.1.α. Ταξινόμηση και Ονοματολογία	240
5.1.β. Μέρη του Φυτού	241
5.2. Καλλιεργούμενα γένη και είδη ορχιδέων στην νήσο Σάμο.....	243
5.3. Βιολογική δράση και Εθνοφαρμακολογικές χρήσεις στο γένος <i>Cymbidium</i>.....	245
5.4. Φυτοχημικό προφίλ της οικογένειας Orchidaceae	246
5.4.1. Σάκχαρα	246

5.4.2.α. Στιλβενοειδή.....	246
5.4.2.β. Φαινανθρένια και Φαινανθροπυράνια.....	248
5.4.3. Φλαβονοειδή.....	250
5.4.4. Φαινολικά Παράγωγα.....	253
5.4.5. Φυτοστερόλες.....	255
5.4.6. Αλκαλοειδή.....	255
ΜΕΡΟΣ Α: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	283
5.5. Κατεργασία Φυτικού Υλικού και Εκχύλιση	284
5.6. Βιολογική Αξιολόγηση των Εκχυλισμάτων των Υποπροϊόντων <i>Cymbidium</i> sp.	286
5.6.1. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH	286
5.6.2. Αναστολή της δράσης της Τυροσινάσης και Ελαστάσης.....	286
5.6.3 Αναστολή της δράσης της Κολλαγενάσης	286
5.7. Φυτοχημική Μελέτη των Εκχυλισμάτων.....	288
5.7.1. Χρωματογραφία Λεπτής Στιβάδας (Αναλυτική και Παρασκευαστική)	288
5.7.2. Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC)	289
5.7.3. Χρωματογραφία Κατανομής με Φυγοκέντρηση (Centrifugal Partition Chromatography – CPC)	290
5.7.4. Ταυτοποίηση Μεταβολιτών με Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)	294
5.7.5. Ταυτοποίηση Μεταβολιτών με Υγρή Χρωματογραφία συζευγμένη με Φασματομετρία Μάζας (LC-MS)	294
ΜΕΡΟΣ Β: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	296
5.8. Εκχυλίσματα Υποπροϊόντων Ορχιδέας	297
5.9. Βιολογική Αξιολόγηση των Εκχυλισμάτων <i>Cymbidium</i> sp.	300
5.9.1. Αντιοξειδωτική Ικανότητα με την μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH	300
5.9.2. Αξιολόγηση <i>in-vitro</i> της αντιγηραντικής δράσης των ολικών εκχυλισμάτων <i>Cymbidium</i> sp.	302
5.10. Φυτοχημική Ανάλυση των Επιλεγμένων Εκχυλισμάτων της Ορχιδέας <i>Cymbidium</i> sp.	304
Γενικά.....	304
5.10.1. Εκχύλισμα Ψευδοβολβών	305
5.10.2. Εκχύλισμα Ριζών	317
5.10.4. Αξιολόγηση <i>in-vitro</i> της αντιγηραντικής δράσης των απομονωμένων μεταβολιτών από <i>Cymbidium</i> sp.....	329

5.10.5. Εκχύλισμα Ανθέων.....	332
5.10.6. Εκχύλισμα Φύλλων.....	349
Συμπεράσματα	354
5.11. Βιβλιογραφικές Αναφορές	356
Γενικό Συμπέρασμα - Προοπτικές.....	362
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	365

Λίστα με Εικόνες

[Εικόνα A1. Φυτογεωγραφικές Περιοχές της Ελλάδας.](#)

[Εικόνα A2. Περιοχή του Βόρειο Ανατολικού Αιγαίου.](#)

[Εικόνα 1.1. Νήσος Λήμνος.](#)

[Εικόνα 1.2. Νήσος Άγιος Ευστράτιος.](#)

[Εικόνα 1.3. Νήσος Λέσβος.](#)

[Εικόνα 1.4. Νήσος Χίος.](#)

[Εικόνα 1.5. Νήσοι Ψαρά και Αντίψαρα.](#)

[Εικόνα 1.6. Νήσοι Οινούσες.](#)

[Εικόνα 1.7. Νήσος Σάμος.](#)

[Εικόνα 1.8. Νήσος Ικαρία.](#)

[Εικόνα 1.9. Νήσοι Φούρνοι.](#)

[Εικόνα 2.1. Συνολικός αριθμός φυτικών ειδών για κάθε οικογένεια αρωματικών / φαρμακευτικών φυτών.](#)

[Εικόνα 2.2. FL \(%\) των διαφορετικών μερών των φυτών που χρησιμοποιούνται στην λαϊκή θεραπευτική.](#)

[Εικόνα 2.3. Κατανομή ασθενειών έναντι φυτικών ειδών που χρησιμοποιήθηκαν.](#)

[Εικόνα 3.1. Η Γεωγραφική Ζώνη Εθνοφαρμακολογικού Ενδιαφέροντος. Νότια Βαλκανική και παράκτια ζώνη της Μικράς Ασίας.](#)

[Εικόνα 3.2. Διαδικασία Επιβλεπόμενης Μάθησης \(Supervised Learning\).](#)

[Εικόνα 3.3. Διαδικασία Ενισχυτικής Μάθησης \(Reinforcement Learning\).](#)

[Εικόνα 3.4. Επαναληπτική διαδικασία Inter-annotator agreement.](#)

[Εικόνα 3.5. Αρχιτεκτονική γενικού μοντέλου Focused crawler.](#)

[Εικόνα 3.6. Διάγραμμα ροής της Πειραματικής Μεθόδου.](#)

Εικόνα 4. Αριστερά το υπέργειο τμήμα του *Sideritis sipylea* Boiss από το όρος Όλυμπος της Λέσβου. Δεξιά η γεωγραφική κατανομή του είδους στα νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου.

Εικόνα 4.1. Χημική δομή ιριδοειδών.

Εικόνα 4.2. Χημική δομή σεκοϊριδοειδών.

Εικόνα 4.3. Χημικές δομές ajugol (I), 8-acetyl-ajugol (II) και melittoside (III).

Εικόνα 4.4. Δομικός σκελετός καουρανίων.

Εικόνα 4.5. Δομικός σκελετός των φλαβονοειδών.

Εικόνα 4.6. Βασικές υποκατηγορίες φλαβονοειδών.

Εικόνα 4.7. Benzoic acid (I) και cinnamic acid (II).

Εικόνα 4.8. Παράγωγα φαινολικών οξέων.

Εικόνα 4.9. Δομικός σκελετός φαινυλαιθανοϊδικών γλυκοσίδων.

Εικόνα 4.10. Κύρια βήματα εκτομής του εγκεφάλου εμβρύου αρουραίων για την λήψη του τμήματος του μεσεγκέφαλου.

Εικόνα 4.11. Ολικά φαινολικά TPC (mg GAE/g εκχυλίσματος) για τα διαφορετικά εκχυλίσματα του *Sideritis sipylea*.

Εικόνα 4.12. Αντιοξειδωτική ικανότητα (σε τιμές IC₅₀) των διαφορετικών εκχυλισμάτων του *Sideritis sipylea*.

Εικόνα 4.13. Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω δέσμησης της ρίζας ABTS στα εκχυλίσματα του *Sideritis sipylea*.

Εικόνα 4.14. Αναστολή της δράσης της τυροσινάσης (% αναστολής) στα διαφορετικά εκχυλίσματα του *Sideritis sipylea*.

Εικόνα 4.15. Αναστολή της δράσης της ελαστάσης (% αναστολής) στα διαφορετικά εκχυλίσματα του *Sideritis sipylea*.

Εικόνα 4.16. Κατάλυση της τυροσινάσης σε L-DOPA από την τυροσίνη υδροσυλάση.

Εικόνα 4.17. Ανοσοφθορίωση ντοπαμινεργικών νευρώνων.

Εικόνα 4.18. % Επιβίωσης νευρώνων του εγκεφαλικού φλοιού με εκχυλίσματα *Sideritis sipylea*, έπειτα από διέγερση με γλουταμινικό οξύ.

Εικόνα 4.19. % Δίκτυο νευριτών στους νευρώνες του εγκεφαλικού φλοιού με εκχυλίσματα *Sideritis sipylea*, έπειτα από διέγερση με γλουταμινικό οξύ.

Εικόνα 4.20. Χρωματογραφήματα των ολικών εκχυλισμάτων *Sideritis sipylea* με διγλωρομεθάνιο (DCM) (i), του αιθερίου έλαιου (ii) και του εκχυλίσματος με υπερκρίσιμα ρευστά (SFE) (iii).

Εικόνα 4.21. Χρωματογραφήματα UPLC-HRMS των τριών διαφορετικών εκχυλισμάτων *Sideritis sipylea*.

Εικόνα 4.22. Δομικός σκελετός των φαινυλαιθανοειδών γλυκοσίδων.

Εικόνα 4.23. Φάσμα MS του echinacoside σε αρνητικό ιοντισμό.

Εικόνα 4.24. Φάσμα MS του forsythoside B σε αρνητικό ιοντισμό.

Εικόνα 4.25. Melittoside.

Εικόνα 4.26. Φάσμα MS του chlorogenic acid σε αρνητικό ιοντισμό.

Εικόνα 4.27. Chlorogenic acid ($R_1=OH$); Feruogquinic acid ($R_1=OCH_3$).

Εικόνα 4.28. Xanthomicrol.

Εικόνα 4.29. Χρωματογράφημα Ιόντων (XIC) από το φάσμα xanthomicrol στο εκχύλισμα EtOAc του *Sideritis sipylea*.

Εικόνα 4.30. Φασματομετρία μάζας υψηλής ανάλυσης (HRMS) που υποδεικνύει τον τρόπο θραυσματοποίησης της xanthomicrol.

Εικόνα 5.1. Γεωγραφική εξάπλωση των orchidaceae.

Εικόνα 5.2. Άνθη orchidaceae ποικιλίας *Cymbidium* sp.

Εικόνα 5.3. Ψευδοβολβός orchidaceae *Cymbidium* sp. (εγκάρσια τομή).

Εικόνα 5.4. Δομές της resveratrol (A) και gigantol (B).

Εικόνα 5.5. Χημική δομή φαινανθρενίων.

Εικόνα 5.6. Χημική δομή φαινανθορυπανίου και 9,10-διϋδρομορφές.

Εικόνα 5.7. Χημική δομή φλαβονοειδών.

Εικόνα 5.8. Χημική δομή ανθοκυανών στις orchidaceae.

Εικόνα 5.9. Φαινολικά παράγωγα που έχουν απομονωθεί από orchidaceae.

Εικόνα 5.10. Κουμαρίνες από το γένος *Epidendroideae*.

Εικόνα 5.11. Χημικές δομές λιγνανίων από τις orchidaceae.

Εικόνα 5.12. Χημικές δομές φλουρενονών.

Εικόνα 5.13. Χημικές δομές αλκαλοειδών από το γένος *Dendrobium*.

Εικόνα 5.14. Τμήματα της orchidaceae *Cymbidium* sp. από τα οποία παράγονται τα υποπροϊόντα.

Εικόνα 5.15. Διάταξη Centrifugal Partition Chromatography (CPC).

Εικόνα 5.16. Ολική TLC των εκχυλισμάτων EtOAc φύλλων (leaves), ψευδοβολβών (bulbs) και ριζών (roots) της orchidaceae *Cymbidium* sp.

Εικόνα 5.17. TLC ολικού εκχυλίσματος EtOAc ψευδοβολβών (Ps) του *Cymbidium* sp.

Εικόνα 5.18. Τελική TLC των συνενωμένων κλασμάτων.

Εικόνα 5.19. TLC της κλασμάτωσης των H+Θ (P1).

Εικόνα 5.20. 5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone (5).

Εικόνα 5.21. Ephemeranthoquinone B (6).

Εικόνα 5.22. Χρωματογραφικός διαχωρισμός του κλάσματος συνένωσης P2A από τους ψευδοβολβούς της ορχιδέας.

Εικόνα 5.23. Gigantol (8).

Εικόνα 5.24. Χρωματογραφικός διαχωρισμός του κλάσματος συνένωσης P2B από τους ψευδοβολβούς της ορχιδέας.

Εικόνα 5.25. Orcinol (14).

Εικόνα 5.26. β -sitosterol (15).

Εικόνα 5.27. Tristin (16).

Εικόνα 5.28. Μεταβολίτες που απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν από το ολικό εκχύλισμα EtOAc ψευδοβολβών της ορχιδέας *Cymbidium* sp.

Εικόνα 5.29. Διάγραμμα ροής φυτοχημικής ανάλυσης του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των βολβών *Cymbidium* sp.

Εικόνα 5.30. TLC ολικού εκχυλίσματος EtOAc ριζών (R) του *Cymbidium* sp.

Εικόνα 5.31. TLC της κλασμάτωσης των B+C (R P0), E, I+J (R P1), L, N και S+T (R P2).

Εικόνα 5.32. TLC της συνένωσης των κλασμάτων.

Εικόνα 5.33. Ephemeranthoquinone B (6) (αριστερά) Marylaurencinol A (4) (δεξιά).

Εικόνα 5.34. Bulbophylanthrin (1).

Εικόνα 5.35. Cymbisamoquinone (7).

Εικόνα 5.36. 9,9'- diacetyl-dehydroconiferyl alcohol (13).

Εικόνα 5.37. TLC από τον διαχωρισμό του κλάσματος συνένωσης (S+T).

Εικόνα 5.38. Διάγραμμα ροής φυτοχημικής ανάλυσης του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των ριζών *Cymbidium* sp.

Εικόνα 5.39. Μεταβολίτες που απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν από τις ρίζες της ορχιδέας *Cymbidium* sp.

Εικόνα 5.40. Βιομετατροπή της resveratrol από τυροσινάση και σχηματισμός παραγώγου υδροξυστυλβενίου.

Εικόνα 5.41. Συνολική TLC ολικού εκχυλίσματος EtOAc ανθέων ορχιδέας *Cymbidium* sp.

Εικόνα 5.42. β -sitosterol (15) και της stigmasterol (17).

[Εικόνα 5.43. Cycloeucalenol \(18\).](#)

[Εικόνα 5.44. Cycloartenol \(19\).](#)

[Εικόνα 5.45 24-methylenecycloartanol \(20\).](#)

[Εικόνα 5.46. Φάσμα \$^1\text{H}\$ NMR της \$\beta\$ -sitosterol σε \$\text{CDCl}_3\$.](#)

[Εικόνα 5.47. Protocatechuic \(21\) και vanillic acid \(22\).](#)

[Εικόνα 5.48. Linoleic acid \(23\).](#)

[Εικόνα 5.49. Caffeic acid \(24\).](#)

[Εικόνα 5.50. Ergosterol \(25\).](#)

[Εικόνα 5.51. \(24R\) cycloartan 3 \$\beta\$, 24,25-triol ester of fatty acid \(26\).](#)

[Εικόνα 5.52. Χημικές δομές των μεταβολιτών που απομονώθηκαν από τα άνθη *Cymbidium* sp.](#)

[Εικόνα 5.53. Διάγραμμα ροής φυτοχημικής ανάλυσης ολικού εκχυλίσματος EtOAc ανθέων *Cymbidium* sp.](#)

[Εικόνα 5.54. Συνολική TLC του CPC για την αποδέσμευση των χλωροφυλλών από το ολικό εκχύλισμα EtOAc των φύλλων του *Cymbidium* sp.](#)

[Εικόνα 5.55. Cyclopasifloside VII.](#)

Λίστα Εικόνων Παραρτήματος

Κεφάλαιο 4

[Εικόνα S16. % παρεμπόδισης γαλλικού οξέος \(GA\) από DPPH. Απορρόφηση στα 517nm.](#)

[Εικόνα S17. % παρεμπόδισης ABTS από Trolox. Απορρόφηση στα 734nm.](#)

Κεφάλαιο 5

[Εικόνα S1. TIC σε αρνητικό ιοντισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των ψευδοβολβών \(Ps\) της orchideas *Cymbidium* sp.](#)

[Εικόνα S2. TIC σε αρνητικό ιοντισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των ριζών \(R\) της orchideas *Cymbidium* sp.](#)

[Εικόνα S3. TIC σε αρνητικό ιοντισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των φύλλων \(Le\) της orchideas *Cymbidium* sp.](#)

[Εικόνα S4. TIC σε αρνητικό ιοντισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των ανθέων \(Fl\) της orchideas *Cymbidium* sp.](#)

Εικόνα S5. HPLC-DAD των ολικών εκχυλισμάτων EtOAc βολβών, ρίζας, φύλλων και ανθέων της ορχιδέας *Cymbidium* sp. στα 280nm.

Εικόνα S6a-d. Φάσματα (¹H-NMR, COSY, HSQC/DEPT, HMBC) της bulbophylanthrin (**1**) σε CDCl₃ στα 600MHz.

Εικόνα S7a-d. Φάσματα (¹H-NMR, COSY, HSQC/DEPT, HMBC) της marylaurencinol (**4**) σε CDCl₃ στα 600MHz.

Εικόνα S8a-d. Φάσματα (¹H-NMR, COSY, HSQC/DEPT, HMBC) της 5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone (**5**) σε CDCl₃ στα 600MHz

Εικόνα S9a. Φάσμα (¹H-NMR) της ephemeranθοquinone (**6**) σε CDCl₃ στα 600MHz.

Εικόνα S10a-d. Φάσματα (¹H-NMR, COSY, HSQC/DEPT, HMBC) της gigantol (**8**) σε CDCl₃ στα 600MHz.

Εικόνα S11a-d. Φάσματα (¹H-NMR, COSY, HSQC/DEPT, HMBC) της 9,9'-diacetyl-dehydrodiconiferyl alcohol (**13**) σε CDCl₃ στα 600MHz.

Εικόνα S12a-d. Φάσματα (¹H-NMR, COSY, HSQC/DEPT, HMBC) της dodecyl ferulate (**11**) σε CDCl₃ στα 600MHz

Εικόνα S13a-d. Φάσματα (¹H-NMR, COSY, HSQC/DEPT, HMBC) της orcinol (**14**) σε CDCl₃ στα 600MHz

Εικόνα S14a-d. Φάσματα (¹H-NMR, COSY, HSQC/DEPT, HMBC) της (24R)-6β-hydroxy-24-ethyl-cholest-4-en-3-on (**16**) σε CDCl₃ στα 600MHz

Εικόνα S15a-d. Φάσματα (¹H-NMR, COSY, HSQC/DEPT, HMBC) της cymbisamoquinone (**7**) σε CDCl₃ στα 600MHz.

Λίστα με Πίνακες και Διαγράμματα

Πίνακας A1. Γεωγραφικές συντεταγμένες των νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου.

Πίνακας A2. Αριθμός ειδών / υποειδών και ποσοστό ενδημικών ειδών στα νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου.

Πίνακας 2.1. $FIC = N_{ur} - N_t / N_{ur} - 1$, όπου N_u είναι ο αριθμός των αναφορών για κάθε κατηγορία και N_t είναι ο αριθμός των φυτικών ειδών που χρησιμοποιούνται.

Πίνακας 2.2. Εθνοφαρμακολογικές χρήσεις των φαρμακευτικών / αρωματικών φυτών από τα νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου.

Πίνακας 2.3. Ενδημικά είδη στα νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου.

Πίνακας 3.1. Εθνοφαρμακολογικές Αναφορές / Mesh Terms που χρησιμοποιήθηκαν στον αλγόριθμο.

Πίνακας 4.1. Καουράνια από διαφορετικά είδη σιδερίτη της ελληνικής βιοποικιλότητας.

Πίνακας 4.2. Χαρακτηριστικά φλαβονοειδή που έχουν απομονωθεί από είδη σιδερίτη που συναντώνται και στην Ελληνική επικράτεια

Πίνακας 4.3. Ολικά εκχυλίσματα και αιθέριο έλαιο *Sideritis sipylea*, η μέθοδος εκχύλισης / κατεργασίας και το βάρος τους με την απόδοση (w/w).

Πίνακας 4.4. Κωδικοί εκχυλισμάτων του *Sideritis sipylea* που χρησιμοποιήθηκαν στις 2 των ντοπαμινεργικών νευρώνων.

Πίνακας 4.5 . Οι τρεις πειραματικές πλάκες με τις κυτταρικές καλλιέργειες ντοπαμινεργικών νευρώνων.

Πίνακας 4.6. Αναλυτικός πίνακας στον οποίο αναγράφεται το % επιβίωσης των νευρώνων του εγκεφαλικού φλοιού και το % αναγέννησης νευριτών έπειτα από την δράση ολικών εκχυλισμάτων *Sideritis sipylea* σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Πίνακας 4.7. Δευτερογενείς μεταβολίτες που ταυτοποιήθηκαν έπειτα από αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με μάζα (GC-MS) από (DCM), το αιθέριο έλαιο (EO) καθώς επίσης και (SFE).

Πίνακας 4.8. Φαινολικά συστατικά που ταυτοποιήθηκαν με την μέθοδο UPLC-HRMS σε αρνητικό ιοντισμό από τρία διαφορετικά εκχυλίσματα *Sideritis sipylea*.

Πίνακας 5.1. Μεταβολίτες που έχουν απομονωθεί από διαφορετικά είδη ορχιδέας. Γίνεται αναφορά στον χημικό τύπο και στην φυτοχημική κατηγορία.

Πίνακας 5.2. Μέθοδος ανάλυσης ολικών εκχυλισμάτων της ορχιδέας με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC).

Πίνακας 5.3. Εκχυλίσματα διαφορετικών τμημάτων υποπροϊόντων ορχιδέας (*Cymbidium* sp.) σε τρεις διαφορετικές πολικότητες διαλυτών (DCM, EtOAc, EtOH/H₂O).

Πίνακας 5.4. Αντιοξειδωτική ικανότητα με την μέθοδο DPPH από τα διαφορετικά τμήματα υποπροϊόντων της ορχιδέας *Cymbidium* sp.

Πίνακας 5.5. Συστήματα διαλυτών με τις αναλογίες τους για την κλασμάτωση του ολικού εκχυλίσματος EtOAc ψευδοβολβών (Ps) *Cymbidium* sp.

Πίνακας 5.6. Συνενώσεις κλασμάτων από τον διαχωρισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των ψευδοβολβών *Cymbidium* sp.

Πίνακας 5.7. Κλάσματα από το P2A με τα αντίστοιχα βάρη τους (mg).

Πίνακας 5.8. Συστήματα διαλυτών με τις αναλογίες τους για την κλασμάτωση του ολικού εκχυλίσματος EtOAc ριζών (R).

Πίνακας 5.9. Συνενώσεις κλασμάτων με τα τελικά βάρη τους (mg).

Πίνακας 5.10. Συνενώσεις κλασμάτων του καθαρισμού του κλάσματος R₁P και τα τελικά βάρη (mg).

Πίνακας 5.11. Διφασικά συστήματα που δοκιμάστηκαν για τον διαχωρισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc ανθέων ορχιδέας *Cymbidium* sp.

Πίνακας 5.12. Σύστημα έκλουσης για την χρωματογραφία στήλης (n-Hex = n-εξάνιο; DCM= διχλωρομεθάνιο; MeOH = μεθανόλη).

Πίνακας 5.13. Πίνακας της συνένωσης των κλασμάτων P και Q.

Πίνακας 5.14. Πίνακας του διαχωρισμού του κλάσματος CPC (R).

Πίνακας 5.15. Πίνακας διαχωρισμού του κλάσματος CPC (F).

Πίνακας 5.16. Πίνακας διαχωρισμού του κλάσματος CPC (J).

Πίνακας 5.17. Πίνακας του διαχωρισμού του κλάσματος CPC (LM).

Πίνακας 5.18. Διφασικό σύστημα για τον διαχωρισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc φύλλων ορχιδέας *Cymbidium* sp.

Πίνακας 5.19. Συνολικός πίνακας κλασμάτων, συνενώσεων με τα σχετικά βάρη έπειτα από τον διαχωρισμό με CPC του ολικού εκχυλίσματος EtOAc φύλλων *Cymbidium* sp. και την τελική αποδέσμευση της χλωροφύλλης.

Πίνακας 5.20. Συστήματα διαλυτών και τα κλάσματα που παρελήφθησαν από την στήλη του CLFA.

Διάγραμμα 5.1. Συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα των διαφορετικών τμημάτων της ορχιδέας *Cymbidium* sp.

Διάγραμμα 5.2. Δραστικότητα των ολικών εκχυλίσμάτων από διαφορετικά τμήματα της ορχιδέας *Cymbidium* sp. εκφρασμένη σε % αναστολής για την τυροσινάση, ελαστάση και κολαγενάση.

Διάγραμμα 5.3. Δραστικότητα απομονωμένων μεταβολιτών από τους ψευδοβολβούς και ρίζες της ορχιδέας *Cymbidium* sp. εκφρασμένη σε % αναστολής για την τυροσινάση, ελαστάση και κολαγενάση.

Λίστα Πινάκων Παραρτήματος

Κεφάλαιο 5

Πίνακας 5.11.1. NMR δεδομένα των ενώσεων **1, 2, 3** και **4** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

Πίνακας 5.11.2. NMR δεδομένα των ενώσεων **5, 6** και **7** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

Πίνακας 5.11.3. NMR δεδομένα των ενώσεων **8, 9** και **10** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

Πίνακας 5.11.4. NMR δεδομένα των ενώσεων **11** και **12** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

Πίνακας 5.11.5. NMR δεδομένα της ενώσεων **13** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

Πίνακας 5.11.6. NMR δεδομένα της ενώσεων **14** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

Πίνακας 5.11.7. NMR δεδομένα των ενώσεων **15** και **16** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

Πίνακας 5.11.8. NMR δεδομένα των ενώσεων **15** και **17** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

Πίνακας 5.11.9. NMR δεδομένα της ενώσεων **18** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

Πίνακας 5.11.10. NMR δεδομένα των ενώσεων **19** και **20** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

Πίνακας 5.11.11: NMR δεδομένα της ένωσης **25** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

Πίνακας 5.11.12. Μεταβολίτες που έχουν ταυτοποιηθεί με UPLC-HRMS από τα ολικά εκχυλίσματα EtOAc ψευδοβολβών (Ps) και ριζών (R) του *Cymbidium* sp

Συντομογραφίες

1-D	Μίας διάστασης	ddd	Διπλή διπλή διπλή
2-D	Δύο διαστάσεων	δ	Χημική μετατόπιση
A	Απορρόφηση	DCM	Διχλωρομεθάνιο
α	Παράγοντας Διαχωρισμού	DMEM	Dulbecco's Medium (θρεπτικό μέσο κυτταροκαλλιέργειας)
ABTS	2,2'-αζινοδις-(3-αιθυλο-βενζοθειαζολίνη-σουλφονικό οξύ)	DMSO	Διμεθυλοσουλφοξείδιο
Acetyl	Ακετυλ ομάδα	DPPH•	2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζύλιο
ACN	Ακετονιτρίλιο	E	<i>Entgegen</i> , αντίθετα ή <i>trans</i>
AeP	Υπέργεια Τμήματα (Aerial Part)	EC	Ανατολική κεντρική Περιοχή
AI	Τεχνητή Νοημοσύνη (Artificial Intelligence)	EI	Βομβαρδισμός με ηλεκτρόνια (Electron Ionisation)
AL	Ενεργής Μάθηση (Active Learning)	EO	Αιθέριο έλαιο (Essential Oil)
An	Ανθήρα (Anther)	EtOAc	Οξικός αιθυλεστέρας
Bk	Φλοιός (Bark)	EtOH	Αιθάνολη (Ethanol)
br	Ευρεία	ESI	Ηλεκτρονιοψεκασμός
Bu	Βολβοί (Bulbs)	FL	Fidelity Level Index
C	Άνθρακας	Fl	Άνθη (Flowers)
CHCl₃	Χλωροφόρμιο	Fr	Καρποί (Fruits)
CDCl₃	Δευτεριωμένο Χλωροφόρμιο	g	Γραμμάρια (grams)
CD₃OD	Δευτεριωμένη Μεθανόλη	GA	Γαλλικό οξύ (gallic acid)
Cn	Κώνοι (Cones)	gal	β-D-γλυκοπυρανόση
COSY	Correlation Spectrometry	GC-MS	Αέρια Χρωματογραφία – Φασματομετρία Μάζας
CPC	Χρωματογραφία Κατανομής με Φυγοκέντρηση (Centrifugal Partition Chromatography)	glu	Γλυκόζη
°C	Βαθμοί Κελσίου	glc	β-D-γλυκοπυρανόση
d	Διπλή	H	Υδρογόνο
dd	Διπλή διπλή	HA	Υδατοαιθανολικό εκχύλισμα
		H₃BO₃	Βορικό οξύ

HCl	Υδροχλωρικό οξύ	min	Λεπτά (minutes)
H₂O	Νερό	ML	Μηχανική Μάθηση (Machine Learning)
HPLC	Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography)	mL	Χιλιοστόλιτρα (milliliters)
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation	MS	Φασματομετρία Μάζας (Mass Spectrometry)
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence	MB	Μοριακό Βάρος
Hz	Hertz	MW	Molecular Weight
I	Inhibition (Αναστολή)	m/z	Αναλογία μάζας προς φορτίο
IC₅₀	Inhibition Concentration	N	Άζωτο
IoI	Ιόνιοι νήσοι	n	Normal
J	Σταθερά σύζευξης	N₂	Αέριο άζωτο
K	Σταθερά κατανομής	NAe	Βόρειες νήσοι του Αιγαίου
λ	Μήκος κύματος	NC	Βόρεια Κεντρική Περιοχή
kg	Χιλιόγραμμα (kilograms)	NE	Βόρειοανατολική Περιοχή
Kik	Κυκλάδες	NLP	Natural Language Processing
KK	Κρήτη / Κάρπαθος	nm	Νανόμετρα (nanometers)
Km²	Τετραγωνικά χιλιόμετρα	NMR	Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός (Nuclear Magnetic Resonance)
LC	Υγρή Χρωματογραφία (Liquid Chromatography)	Npi	Βόρεια Πίνδος
Lf	Φύλλα (Leaves)	o-	<i>ortho</i>
m	<i>meta</i>	p-	<i>para</i>
m/e	Αναλογία μάζας προς φορτίο ηλεκτρονίου	Pe	Πελοπόννησος
MeOH	Μεθανόλη	PBS	Phosphate Buffer Saline (Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων με χλωριούχο νάτριο)
ME	Μεθανολικό εκχύλισμα (Methanolic Extract)	ppm	parts per million
MT	Μοριακός Τύπος	q	Τετραπλή (quartet)
μg	Μικρογραμμάρια (micrograms)	R_t	Χρόνος κατακράτησης ή ανάσχεσης (Retention time)
MHz	Megahertz		

RL	Ενισχυτική Μάθηση (Reinforcement Learning)	Tb	Κόνδυλοι (Tubers)
Rn	Ρητίνη (Resin)	TIC	Χρωματογράφημα συνολικού ιόντος (Total Ion Chromatogram)
RP	Αντίστροφη φάση (Reverse Phase)	TLC	Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (Thin Layer Chromatography)
rpm	Περιστροφές ανα λεπτό	TPC	Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο (Total Phenolic Components)
RSC	Ικανότητα Δέσμευσης Ελευθέρων Ριζών	UAE	Εκχύλιση με Υπερήχους (Ultrasound Assisted Extraction)
Rt	Ρίζες (Roots)	UPLC	Υγρή Χρωματογραφία Υπερυψηλής Απόδοσης
s	Singlet (Απλή)	UV	Υπεριώδες
SFE	Υπερκρίσιμο Ρευστά (Supercritical Fluid Extraction)	UV	UseValue (εθνοφαρμακολογία)
Sd	Σπέρματα (Seeds)	V	Όγκος (Volume)
sec	Δευτερόλεπτα	Vis	Ορατό (Visible)
Sh	Βλαστοί (Shoots)	WAe	Δυτικές νήσοι του Αιγαίου
Spi	Νότια Πίνδος	(+)	Δεξιόστροφος
Ssp	Υποείδος	(-)	Αριστερόστροφος
StE	Στερεά Ελλάδα	A.BA.	Ανατολικά / Βόρειο Ανατολικά
SVM	Support Vector Machine	Δ.ΝΔ.	Δυτικά / Νότιο Δυτικά
t	Τριπλή (triplet)	ν.μ.	Ναυτικά μίλια
t	Χρόνος (time)	χιλ.	Χίλιοστά
T	Θερμοκρασία (Temperature)	μ.	Μέτρα
τ.χιλ.	Τετραγωνικά Χιλιόμετρα		

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στα πλαίσια της παρούσας διατριβής πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά η ολοκληρωμένη εθνοφαρμακολογική μελέτη των νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου, τόσο με την κλασσική τεχνική με ερωτηματολόγια και στατιστική επεξεργασία, όσο και με την χρήση της τεχνητής νοημοσύνης με στόχο την ανάπτυξη αλγορίθμων μηχανικής μάθησης για την γρήγορη και αξιόπιστη εθνοφαρμακολογική αναζήτηση. Έτσι ολοκληρώθηκε η συνολική καταγραφή των εθνοφαρμακολογικών αναφορών αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών από τα νησιά Βορείου Αιγαίου και αξιολογήθηκε η χρήση τους με βάση στατιστικούς δείκτες, όπως Fidelity Level Index (FL) και User Value (UV). Ταξινομήθηκαν συνολικά 109 άγρια είδη φυτών από 52 διαφορετικές οικογένειες με βάση το ποσοστό (%) επιλογής τους σε θεραπευτικές κατηγορίες και το τμήμα του φυτού που χρησιμοποιήθηκε στις εθνοφαρμακολογικές παρασκευές. Παράλληλα έγινε καταγραφή των ενδημικών και απειλούμενων φυτικών ειδών που αναφέρονται σε εθνοφαρμακολογικές αναφορές από τους κατοίκους των νησιών της περιοχής.

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε η ανάπτυξη αλγορίθμων Μηχανικής Μάθησης, με στόχο την χρήση της Τεχνητής Νοημοσύνης στην πολύπλοκη διαδικασία ταξινόμησης της εθνοφαρμακολογικής πληροφορίας με κριτήρια την γεωγραφική περιοχή, το φυτικό είδος και τις θεραπευτικές χρήσεις. Το αποτέλεσμα ήταν μία σημαντική αύξηση τόσο της αποδοτικότητας όσο και της αποτελεσματικότητας στην ανάκτηση πληροφορίας, υποδηλώνοντας για πρώτη φορά την σημασία της χρήσης της Τεχνητής Νοημοσύνης στην εθνοφαρμακολογική έρευνα.

Πραγματοποιήθηκε φυτοχημική μελέτη ενός ενδημικού είδους σιδερίτη από την νήσο Λέσβο (*Sideritis sirylea* Boiss) και βιολογική αξιολόγησή του, με απώτερο στόχο να επιβεβαιωθούν οι πληροφορίες από την εθνοφαρμακολογία και τις βιβλιογραφικές αναφορές. Παρασκευάστηκαν τα υδατοαιθανολικά εκχυλίσματα (HA), εκχυλίσματα μεθανόλης (ME) και οξικού αιθυλεστέρα (EtOAc), τα οποία στην συνέχεια αναλύθηκαν με Υγρή χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης συζευγμένη με Φασματομετρία Μάζας Υψηλής Ανάλυσης (UPLC-HRMS) και ταυτοποιήθηκαν συνολικά 33 μεταβολίτες που ανήκουν κυρίως στις κατηγορίες των φαινολικών οξέων, φαινυλαιθανοειδών γλυκοσιδών και φλαβονοειδών. Παράλληλα, το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα (DCM), το αιθέριο έλαιο (EO) και το εκχύλισμα με τεχνική (SFE), αναλύθηκαν με Αέρια Χρωματογραφία συζευγμένη με Φασματομετρία Μάζας (GC-MS) και ταυτοποιήθηκαν 79 συνολικά ενώσεις, κυρίως σεσκιτερπενικοί και διτερπενικοί υδρογονάνθρακες, οξυγονωμένα σεσκιτερπένια και διτερπένια. Επιπλέον, αξιολογήθηκε η συνολική περιεκτικότητα των 6 παραπάνω εκχυλισμάτων σε φαινολικό φορτίο (TPC), και την *in-vitro* ανασταλτική δράση έναντι των ενζύμων της τυροσινάσης και ελαστάσης. Τέλος, μελετήθηκε *in-vitro*, η δραστηριότητα επιλεγμένων

εκχυλισμάτων του φυτού (υδατοαιθανολικό, διχλωρομεθανικό και εκχύλισμα με τεχνική SFE) έναντι της προστασίας νευρώνων του εγκεφαλικού φλοιού εμβρύων αρουραίων, μετά από διεγερσιμοτοξικότητα από γλουταμινικό οξύ, με στόχο την αξιολόγηση βιβλιογραφικών αναφορών του συγκεκριμένου είδους σε χρόνια εκφυλιστικά νοσήματα του ΚΝΣ. Τα πειραματικά αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά για τα ολικά υδατοαιθανολικά εκχυλίσματα του φυτού, τα οποία έδειξαν σε *in-vitro* προσομοίωση συγκεκριμένων βιοχημικών συνθήκων νευροεκφυλιστικών νόσων αύξηση τόσο του ποσοστού επιβίωσης των νευρικών κυττάρων, όσο και της αναγέννησης τραυματισμένων νευρώνων, έπειτα από στρεσογόνες συνθήκες με γλουταμινικό οξύ.

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε η φυτοχημική ανάλυση και η βιολογική αξιολόγηση τόσο των υποπροϊόντων καλλιεργούμενης ορχιδέας *Cymbidium* από την νήσο Σάμο. Τα άπολα, μεσαίας πολικότητας και πολικά εκχυλίσματα των υποπροϊόντων της καλλιεργούμενης ορχιδέας *Cymbidium* sp. (ψευδοβολβοί, ρίζες, άνθη και φύλλα), αξιολογήθηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση καθώς και για την αναστολή τους στα ένζυμα τυροσινάση, ελαστάση και κολλαγενάση. Τα εκχυλίσματα μεσαίας πολικότητας παρουσίασαν σημαντική δράση τόσο σε αντιοξειδωτικές όσο και στις τρεις ενζυμικές δομικασίες. Στη συνέχεια υποβλήθηκαν σε χρωματογραφικό διαχωρισμό που οδήγησε στην απομόνωση 33 δευτερογενών μεταβολιτών από βολβούς, ρίζες, άνθη και φύλλα, οι οποίοι ανήκουν στις χημικές κατηγορίες των φαινανθρενίων, ανθρακινονών, στιλβενοειδών, παραγώγων φαινολικού οξέος, στερολών, απλών φαινολικών ενώσεων, τριτερπενίων και λιπαρών οξέων. Από τα παραπάνω η φαινανθοκινόνη cymbisamoquinone, αποτελεί νέο φυσικό προϊόν. Οι μεταβολίτες dihydroresveratrol, 9,9'-diacetyl-dihydrodiconiferyl alcohol, dodecyl ferulate, dodecyl coumarate και (24R)-6β-hydroxy-24-ethyl-colest-4-en-3-on δεν έχουν ξανααναφερθεί στην οικογένεια Orchidaceae. Στην συνέχεια, οι απομονωμένες ενώσεις από τις ρίζες και τους βολβούς, αξιολογήθηκαν για την ανασταλτική τους δράση στα ένζυμα που προαναφέρθηκαν.

Η ταυτοποίηση της δομής των απομονωμένων μορίων πραγματοποιήθηκε με Υγρή Χρωματογραφία συζευγμένη με Φασματομετρία Μάζας (LC-MS) και Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) με τεχνικές μίας (1D) και δύο διαστάσεων (2D).

ABSTRACT

With the present dissertation we proceeded for the first time the complete ethnopharmacological study of the islands of the North Aegean Region, both with the classical technique with questionnaires and statistical processing, as well as with the use of Artificial Intelligence (AI), in order to develop fast Machine Learning (ML) algorithms for ethnopharmacological research purposes. Thus, the overall recording of ethnopharmacological reports of aromatic and medicinal plants from the North Aegean islands was completed and their use was evaluated based on statistical indicators, such as Fidelity Level Index (FL) and User Value (UV). A total of 109 wild plants from 52 species of different families were classified based on the percentage (%) of their selection in therapeutic categories and the part of the plant used in the medicinal preparations. At the same time, the endemic and endangered plant species that are mentioned in ethnopharmacological reports by the inhabitants of the islands of the area, were recorded.

Then the development of ML algorithms took place, aiming at the use of AI in the complex process of classifying ethnopharmacological information based on geographical area, plant species and therapeutic uses. The result was a significant increase in both efficiency and effectiveness in information retrieval, suggesting for the first time the importance of the use of AI in ethnopharmacological research.

A phytochemical study of the endemic species of *Sideritis* from the island of Lesbos (*Sideritis sipylea* Boiss) and its biological evaluation, was carried out, with the ultimate goal of confirming its ethnopharmacological and bibliographic reports. The Water / Ethanol (HA), methanol (ME) and ethyl acetate (EtOAc) extracts were prepared, which were then analyzed by Ultra-Performance Liquid Chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry (UPLC-HRMS). 33 metabolites belonging mainly to the categories of phenolic acids, phenylethanoids glycosides and flavonoids were identified. At the same time, dichloromethane extract (DCM), essential oil (EO) and (SFE) extract were analyzed by Gas Chromatography Coupled with Mass Spectrometry (GC-MS) of which 79 metabolites were identified, mainly diterpene hydrocarbons, oxygenated sesquiterpenes and diterpenes. In addition, the total phenolic content (TPC) and the *in-vitro* inhibitory activity of tyrosinase and elastase enzymes of the above 6 extracts was evaluated, with EO giving us the best results. Finally, the *in-vitro*, activity of selected plant extracts (Water / Ethanol, DCM and SFE extract) was studied against the protection of neurons in the cerebral cortex of rat embryos, after stimulation with glutamic acid. The aim was to evaluate bibliographic references for action of this species in chronic degenerative diseases. The experimental results were encouraging for the total water-ethanolic extracts of the plant, with an increase in both the survival rate of nerve cells and the regeneration of injured neurons, following stressful conditions with glutamic acid.

Then the phytochemical analysis and biological evaluation of both the by-products of cultivated *Cymbidium* orchid from the island of Samos was carried out. The apolar, medium polarity and polar extracts of the by-products of the cultivated orchid *Cymbidium* sp. (pseudobulbs, roots, flowers and leaves), were evaluated for their antioxidant activity as well as for their inhibition of the enzymes tyrosinase, elastase and collagenase. Medium polarity extracts showed both antioxidant activity and inhibition of the specific enzymes. They were then subjected to chromatographic separation which resulted in the isolation of 33 secondary metabolites from bulbs, roots, flowers and leaves, which belong to the chemical categories of phenanthrenes, anthraquinones, dibenzyls, derivatives of phenolic acids, phenol acids and steroids. From the above phenanthroquinone cymbisamoquinone, is a new natural product. The metabolites dihydroresveratrol, 9,9'-diacetyl-dihydrodiconiferyl alcohol, dodecyl ferulate, dodecyl coumarate and (24R)-6 β -hydroxy-24-ethyl-colest-4-en-3-on have not been reported in the Orchidaceae family before. The compounds isolated from the roots and bulbs were then evaluated for their inhibitory effect on the enzymes mentioned above.

The structure of the isolated molecules was identified by Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry (LC-MS) and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) using one (1D) and two dimensional (2D) techniques

ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Στόχος της παρούσας διατριβής είναι τόσο η ολοκληρωμένη καταγραφή των εθνοφαρμακολογικών αναφορών, όσο και η φυτοχημική ανάλυση και βιολογική αξιολόγηση επιλεγμένου ενδημικού φυτικού είδους (*Sideritis sipylea* Boiss) και υποπροϊόντων της αγροδιατροφικής οικονομίας των νησιών της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου. Η διατριβή χωρίζεται στα εξής κεφάλαια.

Στην «Εθνοφαρμακολογική Αναζήτηση» (κεφάλαια 2 και 3) που επικεντρώνεται στα νησιά του Βόρειο Ανατολικού Αιγαίου με την γενική καταγραφή τόσο με κλασσικές τεχνικές ερωτηματολογίων και στατιστικής επεξεργασίας, όσο και χρήση της Τεχνητής Νοημοσύνης, με στόχο την βελτίωση της αποδοτικότητας και της αποτελεσματικότητας στην διαδικασία της ανάκτησης πληροφορίας. Στην φυτοχημική ανάλυση και βιολογική αξιολόγηση εκχυλισμάτων του *Sideritis sipylea* από νήσο της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου (κεφάλαιο 4). Στην αξιοποίηση υποπροϊόντων της αγροδιατροφικής οικονομίας από τα νησιά του Βορείου Αιγαίου και συγκεκριμένα της καλλιεργούμενη ορχιδέας *Cymbidium* από πρότυπες θερμοκηπιακές μονάδες στην Σάμο (κεφάλαιο 5) με στόχο την φυτοχημική ανάλυση και την βιολογική αξιολόγηση αυτών των υποπροϊόντων, καθώς η μεγάλη ποσότητα βιομάζας που παράγεται κατά της διαδικασίες επεξεργασίας (καλλιέργεια της ορχιδέας), είναι δυνατόν να επιτρέψει μελλοντικά την αξιοποίηση στο πεδίο της κοσμητολογίας των εκχυλισμάτων ή των καθαρών συστατικών.

Εισαγωγή

Γενικά

Η Ελλάδα κατέχει μια καίρια θέση σε σχέση με τον αριθμό των φυτικών ειδών και υποειδών, και αυτό οφείλεται στην ποικιλία των βιοτόπων, απότοκη της γεωλογικής της ιστορίας, των ιδιαίτερων κλιματολογικών συνθηκών και κύρια στη γεωγραφική της διαμόρφωση και τοποθέτηση στο νότιο άκρο της Μεσογείου, ανάμεσα στην Ασία, την Ευρώπη και την Βόρειο Αφρική. Είναι μία χώρα με πολύτιμη φυσική κληρονομιά και σημαντική βιολογική ποικιλία, με μεγάλη πυκνότητα ειδών, κατέχοντας ένα από τα υψηλότερα ποσοστά ενδημισμού στην Ευρώπη. Επίσης η μακροχρόνια απομόνωση των νησιών παράλληλα με το γεγονός ότι κατά την διάρκεια των παγετώνων, πολλές ορεινές περιοχές της Ελλάδας δεν πάγωσαν, αλλά αντίθετα λειτούργησαν σαν καταφύγιο για διάφορα είδη, οδήγησε σε αυτό τον μοναδικό και εύθραστο θησαυρό από περίπου 6000 φυτικά είδη και υποείδη, με ένα ποσοστό ενδημισμού που πλησιάζει το 15.6%. Το ποσοστό ενδημισμού, στο οποίο θα αναφερθούμε παρακάτω, είναι το υψηλότερο σε σχέση με τις υπόλοιπες γεωγραφικές περιοχές της λεκάνης της Μεσογείου και της Ευρώπης, αναλογικά με την έκταση τους (εκφρασμένη σε τ.χλμ) ([Georghiou & Delipetrou, 2010](#)).

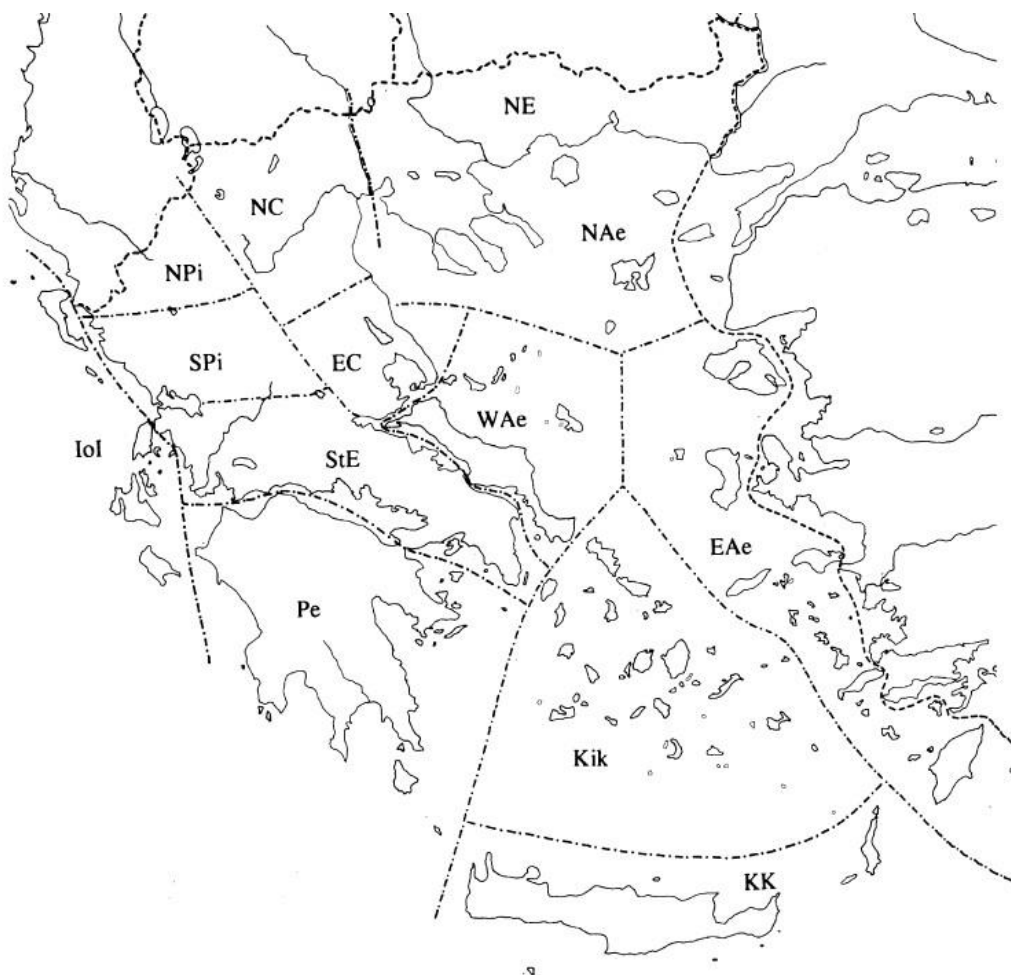
Όσον αφορά την βιοποικιλότητα στα νησιά του Βορείου Αιγαίου πολλοί παράγοντες έπαιξαν σημαντικό ρόλο στην «πλούσια και ενδιαφέρουσα χλωρίδα». Το μικροκλίμα στα νησιά, η ιδιαιτερότητα και η ποικιλία των γεωλογικών υποστρωμάτων και η παρουσία πολλών μόνιμων και προσωρινών υγροβιότοπων. Επίσης η απόσταση που χωρίζει τα νησιά από τις ακτές της Μικράς Ασίας και ο σχετικά πρόσφατος γεωλογικός διαχωρισμός από αυτές, ο πλούσιος οριζόντιος και κάθετος διαμελισμός τους (κόλποι, ακρωτήρια και χερσόνησοι στην Λέσβο, Λήμνο και υψηλά βουνά στην Χίο, Σάμο και Ικαρία) είναι μερικά από τα γεωμορφολογικά χαρακτηριστικά της περιοχής, στα οποία θα αναφερθούμε πιο αναλυτικά στο κεφάλαιο 1. Όλες αυτές οι ιδιαιτερότητες δημιουργούν οικοσυστήματα, μέσα στα οποία αναπτύσσονται σε μεγάλες ομάδες ή σε μικρούς πληθυσμούς τα φυτά που θα μας απασχολήσουν. Τα οικοσυστήματα του Αιγαίου λόγω των ιδιαίτερων και σημαντικών για την διατήρηση της βιοποικιλότητας χαρακτηριστικών που αποτελούν το 30% των Ελληνικών περιοχών που επιλέχτηκαν για το Ευρωπαϊκό Οικολογικό δίκτυο «Natura 2000» ([Spiliopoulou, 2021](#)).

Γύρω από τα μεγάλα νησιά υπάρχουν επίσης πάρα πολλά μικρά και απομονωμένα οικοσυστήματα σε δεκάδες βραχονησίδες, με ιδιαίτερο βοτανικό ενδιαφέρον ([Panitsa, 2006](#)).

Σε μία προσπάθεια ταξινόμησης της χλωριδικής ποικιλότητας της Ελλάδας, πραγματοποιήθηκε ένας διαχωρισμός της φυτικής βιοποικιλότητας Ελλάδας σε περιοχές με βάση γεωγραφικά, κλιματολογικά, εδαφικά, κυτταροταξινομικά κριτήρια. Οι περιοχές αυτές ονομάζονται Φυτογεωγραφικές Περιοχές της Ελλάδας που θα αναλύσουμε στην επόμενη παράγραφο.

A.1 Φυτογεωγραφικές Περιοχές της Ελλάδας

Η Ελλάδα χωρίζεται σε 13 φυτογεωγραφικές (χλωριδικές) περιοχές / ζώνες (**Εικόνα Α1**):



Εικόνα Α1. Φυτογεωγραφικές Περιοχές της Ελλάδας.

Ιόνιοι νήσοι (**IoI**) με μεγάλη χλωριδική συγγένεια με την Ιταλία, Πελοπόννησος (**Pe**), Στερεά Ελλάδα (**StE**), Νότια Πίνδος (**SPi**), Βόρεια Πίνδος (**NPi**) με μεγάλη χλωριδική συγγένεια με την Αλβανία, Ανατολική κεντρική περιοχή (**EC**), Βόρεια Κεντρική περιοχή (**NC**) με μεγάλη χλωριδική συγγένεια με την Π.Γ.Δ.Μ, Βορειοανατολική περιοχή (**NE**) με μεγάλη χλωριδική συγγένεια με την Βουλγαρία και την Ανατολία, Βόρειες νήσοι του Αιγαίου (**NAe**) με μεγάλη χλωριδική συγγένεια με την Ανατολία, Δυτικές νήσοι του Αιγαίου (**W Ae**), Κυκλάδες (**Kik**), Ανατολικές νήσοι Αιγαίου (**E Ae**) και Κρήτη και Κάρπαθος (**KK**). Στην Εικόνα Α1, παρουσιάζονται επίσης τα γεωγραφικά όρια μεταξύ των φυτογεωγραφικών περιοχών.

Η περιοχή του Αιγαίου χωρίζεται σε πέντε φυτογεωγραφικές περιοχές, την Βόρεια (**NAe**), Ανατολική (**E Ae**), Νότια (**KK**), Κεντρική (**Kik**) και δυτική (**W Ae**) περιοχή ([Strid, 1997](#)).

Όλα τα νησιά του Αιγαίου είναι ηπειρωτικής προέλευσης, αποτελώντας απομεινάρια μιας πρώην ευρείας «γέφυρας» που συνέδεε τα νότια Βαλκάνια με την Μικρά Ασία. Τα νησιά του νότιου Αιγαίου (Κύθηρα, Κρήτη, Κάρπαθος, Ρόδος) αποτελούν κορυφές μίας μερικώς βυθισμένης οροσειράς που συνδέει την Πελοπόννησο με την οροσειρά Ταύρος της Κιλικίας στην νότιο δυτική Ανατολία. Στην περιοχή του κεντρικού Αιγαίου (Κυκλάδες), τα νησιά απομονώθηκαν από την θαλάσσια διείσδυση από τα νότια και νοτιοανατολικά. Για τον λόγο αυτό τα νησιά στις νότιες Κυκλάδες είναι γενικότερα παλαιότερα γεωλογικά από τις βόρειες Κυκλάδες. Τα νησιά του Ανατολικού Αιγαίου χωρίζονται από την ηπειρωτική χώρα μόνο με σχετικά ρηχά νερά και ενώθηκαν γεωλογικά κατά την διάρκεια των παγετώνων. Η χλωρίδα αυτών των νήσων έχει «ανατολικό» χαρακτήρα και όχι «ευρωπαϊκό». Αυτό εμφανίζεται στα νησιά της Λέσβου, Χίου και Σάμου. Ωστόσο, τα νησιά του Βόρειου Αιγαίου, ιδίως η Θάσος και η Σαμοθράκη, έχουν σημαντικό αριθμό ηπειρωτικών ευρωπαϊκών φυτικών ειδών που δεν εκτείνονται πιο νότια στην περιοχή του Αιγαίου ([Strid., 2006](#)).

A.1α. Περιοχή του Βόρειο Ανατολικού Αιγαίου

Η περιοχή του Βόρειο Ανατολικού Αιγαίου (**Εικόνα A2**) αποτελείται από δύο διαφορετικές φυτογεωγραφικές περιοχές / ζώνες. Η Βόρεια (**NAe**) με τις νήσους Λήμνο και Άγιο Ευστράτιο και την Ανατολική (**EAe**), με τις νήσους Λέσβος, Ψαρά, Χίος, Οινούσες, Σάμος, Ικαρία και Φούρνοι με πολύ συγκεκριμένες κλιματολογικές διαφορές ([Rauh, 1949](#)). Τα νησιά του Βορειοανατολικού Αιγαίου προσφέρουν ένα μοναδικό οικοσύστημα με σημαντικά «hotspots» διαφοροποίησης φυτών και φαινόμενα ενδημισμού.

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στα νησιά και στις νησίδες του Βορειοανατολικού άκρου του Αιγαίου πελάγους στις νήσους Λήμνο, Άγιο Ευστράτιο, Λέσβος, Χίος, Ψαρά, Οινούσες, Σάμος, Ικαρία και Φούρνοι (**Εικόνα A2**). Οι γεωγραφικές συντεταγμένες των παραπάνω νήσων παρουσιάζονται στον **Πίνακα A1** ([Axiotis, 2018](#)).



Εικόνα Α2. Περιοχή του Βόρειο Ανατολικού Αιγαίου (1. Λήμνος, 2. Άγιος Ευστράτιος, 3. Λέσβος, 4. Χίος, 5. Ψαρά, 6. Οινούσες, 7. Σάμος, 8. Ικαρία, 9. Φούρνοι).

Καταρχάς η έννοια του «νησιωτισμού» δηλώνει από μόνη της μια μικρογραφία ενός οικοσυστήματος με πεπερασμένους πόρους, απομονωμένο από χερσαίες περιοχές με τα λεγόμενα «βιολογικά φράγματα». Για τα νησιά του Βόρειο-Ανατολικού Αιγαίου πρέπει να γίνει γνωστή η σχέση των νησιών, όπως Λέσβος, Χίος, Σάμος και Ικαρία με την Μικρά Ασία η οποία αποτελεί την βασική δεξαμενή των φυτικών ειδών.

Τα νησιά του Αιγαίου αποτελούν σαφώς καθορισμένες «περιοχές γεωγραφικού κατακερματισμού» που καθιστούν δυνατή και αξιόπιστη την απογραφή πληθυσμών συγκεκριμένων φυτικών ειδών και είναι δυνατή η οριοθέτηση της εξάπλωσής τους. Επίσης είναι γνωστό το φαινόμενο του ενδημισμού στα νησιά, που οφείλεται ακριβώς σε αυτή την απομόνωση ή οριοθέτηση του γεωγραφικού χώρου εξάπλωσής του. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τον αριθμό των ειδών είναι η έκταση του γεωγραφικού χώρου εξάπλωσης, το στάδιο της απομόνωσης, το υψόμετρο και η ποικιλία των οικοτόπων και γι' αυτόν ακριβώς τον λόγο η σχέση της νησιωτικής ποικιλομορφίας και ο αριθμός των ενδημικών φυτικών ειδών αποτέλεσε αντικείμενο ερευνητικών εργασιών ([Morison, 2002](#); [Panitsa, 2010](#)). Επιπλέον, τα ενδημικά και μη ενδημικά είδη σε διαφορετικές γεωγραφικές κλίμακες ενδέχεται να ανταποκρίνονται διαφορετικά στους περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Πίνακας Α1. Γεωγραφικές συντεταγμένες των νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου.

Νήσος	Γεωγραφικές Συντεταγμένες
Λήμνος	39° 54' 10" N, 25° 13' 13" E
Λέσβος	39° 10' 58" N, 26° 12' 10" E
Άγιος Ευστράτιος	39° 31' 8" N, 25° 0' 27" E
Χίος	38° 22' 59" N, 26° 2' 40" E
Ψαρα	38° 34' 10" N, 25° 35' 5" E
Οινούσες	38° 31' 19" N, 26° 13' 52" E
Σάμος	37° 43' 41" N, 26° 49' 10" E
Ικαρία	37° 35' 58" N, 26° 10' 0" E
Φούρνοι	37° 35' 27" N, 26° 30' 8" E

Το αρχιπέλαγος του Αιγαίου προσφέρει πολλά παραδείγματα νησιών τύπου «γης-γέφυρας» ([Sfentourakis, 1996](#)), αλλά η ενδημικότητα, η παρουσία του ανθρώπου και ο ρόλος οικο-γεωγραφικών μεταβλητών στην διαμόρφωση της χλωρίδας έχει μεταβάλει σε σημαντικό βαθμό την απλή θεωρία της παρουσίας ειδών από την ηπειρωτική Ασία (Μικρά Ασία). Ειδικά η περιοχή των νησιών του ανατολικού Αιγαίου και στην δικιά της περίπτωση τα νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου της φυτογεωγραφικής περιοχής **Eae** (Λέσβος, Χίος, Σάμος, Ικαρία), παρουσιάζει μία αξιοσημείωτη χλωριδική ποικιλομορφία καθώς υπάρχει η παρουσία «φυτικών χαρακτηριστικών», τα οποία έχουν συγχωνευθεί στην διασταύρωση δύο ηπείρων (Ευρώπης και Ασίας). Η σύνθετη παλαιογεωγραφία και η γεωλογική ιστορία της περιοχής του Αιγαίου έχουν αναλυθεί εκτεταμένα ([Parmakelis, 2006](#); [Poulakakis, 2008](#)) και κατά το πόσο αυτά έχουν διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη του φυτικού πλούτου στα νησιά ([Panitsa, 2010](#)).

Η πλειοψηφία των νησιών του ανατολικού Αιγαίου ήταν μέρος της γειτονικής Μικράς Ασίας μέχρι το τέλος της τελευταίας εποχής των παγετώνων ([Parmakelis, 2006](#)), κάτι το οποίο αποδεικνύει ότι στην συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή παρουσιάζεται ομοιόμορφη χλωρίδα μέχρι περίπου 9.000 χρόνια πριν. Κατά το Μέσο Μειόκαινο ο Ελλαδικός χώρος με την Μικρά Ασία αποτελούσαν μία ενιαία ξηρά, ενώ η θάλασσα είχε αποσυρθεί νότια της Κρήτης και των Δωδεκανήσων και δυτικά της Πελοποννήσου και της Δυτικής Ελλάδας. Κατά το ανώτερο Μειόκαινο η θάλασσα εισέβαλε σε ολόκληρο τον χώρο του Αιγαίου σε αντίθεση με το ανατολικό Αιγαίο, το οποίο συνέχισε να είναι ενωμένο με την Μικρά Ασία.

Αργότερα η χέρσος, που αποτελούσε τμήμα του Αιγαίου άρχισε να μετατρέπεται σε αρχιπέλαγος με της λεγόμενες «χερσαίες γέφυρες» μεταξύ των ελληνικών νησιών του Αιγαίου και της Μικράς Ασίας. Αυτό επέτρεψε την μετανάστευση μεγάλου αριθμού στεππικών ασιατικών και αφρικανικών ζωικών ειδών. Θεωρείται ότι και κατά την διάρκεια του Πλειόκαινο-Πλειστόκαινου συνεχίστηκαν τα νησιά να αποτελούν τμήμα της μικρασιατικής χερσονήσου. Η δομή των ιζημάτων υποδεικνύει ότι τα νησιά ήταν ενωμένα με την χέρσο κατά το Ανώτερο Πλειστόκαινο και έγιναν νησιά κατά το Ολόκαινο. Κατεβαίνοντας της πιο νότια πρέπει να αναφέρουμε ότι η Ρόδος, η Σύμη, η Τήλος και η Χάλκη διατήρησαν το νησιωτικό της χαρακτήρα από την αρχή ([Panitsa, 2010](#)).

Για όλα τα νησιά του ανατολικού Αιγαίου πρέπει να αναφέρουμε ότι πρόκειται για ηπειρωτικά νησιά με εξαίρεση την Νίσυρο, η οποία σχηματίστηκε τα τελευταία 160.000 χρόνια μετά από έντονη ηφαιστειακή δραστηριότητα ([Smith, 1996](#)). Μέσα σε αυτή την γεωλογική πορεία έντονων μεταβολών παρουσιάζονται έντονα φαινόμενα αλλοπατρικής επίδρασης στην εξέλιξη συγκεκριμένων φυτικών ειδών ([Comes, 2008](#)) αλλά και απώλεια φυτικών ειδών λόγω της απομόνωσης των νησιών του Ανατολικού Αιγαίου από την ηπειρωτική χώρα της Μικράς Ασίας. Το φαινόμενο της ειδογένεσης είναι ένα ιδιαίτερα πολύπλοκο βιολογικό φαινόμενο και η γεωγραφική απομόνωση (νησιωτικά συμπλέγματα), όπου έχουμε το φαινόμενο της διακοπής της γονιδιακής ροής, αποτελεί τον ευρύτερο αποδεκτό μηχανισμό της αλλοπάτριας ειδογένεσης (βικαριανισμός, διασπορά, γεωγραφική απόσταση).

Η περιοχή του Βορειοανατολικού Αιγαίου καλύπτει έκταση 3835km². Το έδαφος των νήσων είναι 33% ορεινό, 35% ημιορεινό και το 32% πεδινό. Η επιφάνεια κυμαίνεται από 40km² για τα Ψαρά και της Φούρνους έως 1633km² για την νήσο Λέσβο. Το υψόμετρο κυμαίνεται από τα 0 έως 1433m (Κερκετέας, Σάμος).

A.2 Φυτικά Είδη και Ενδημισμός στην Ελλάδα και στο Βορειοανατολικό Αιγαίο **Γενικά**

Η Ελλάδα χαρακτηρίζεται από υψηλό αριθμό φυτικών ειδών. Η Ελληνική χλωρίδα αποτελείται της περίπου 5758 είδη και 1970 υποείδη, που αντιπροσωπεύουν 6620 taxa, που ανήκουν σε 1073 γένη και 185 οικογένειες της τρεις κύριες ταξινομικές ομάδες της Ελληνικής χλωρίδας (περιδόφυτα, γυμνόσπερμα και αγγειόσπερμα) ([Dimopoulos, 2013](#)). Παρά την εκτενή βοτανική μελέτη στον Ελλαδικό χώρο, η γενική βιβλιογραφία αναφοράς για την χλωρίδα της Ελλάδας είναι τμηματική και μεγάλο μέρος της δεν ενημερώνεται. Οι χλωριδικές μελέτες των αρχών του 20ού αιώνα, της το *Conspectus Florae* ([Halácsy 1901,1902,1904; 1908; 1912](#)), οι *Prodromus Florae Peninsulae Balcanicae* ([Hayek 1924–1933](#)) και η *Flora Aegaea* ([Rechinger, 1943a](#)) περιλαμβάνουν μόνο συγκεκριμένα μέρη της Ελλάδας. Η χλωριδική λίστα φυτών *Med-Checklist* ([Greuter, Burdet & Long, 1984; 1986; 1989](#)) η οποία καλύπτει μία συγκεκριμένη λίστα οικογενειών, ενώ η «*Mountain Flora of Greece*» ([Strid & Tan, 1986](#)) καλύπτει την ορεινή-αλπική περιοχή της Ελλάδας. Για την μελέτη της χλωρίδας της Κρήτης υπάρχουν εξαιρετικές αναφορές ([Rechinger, 1943b; Greuter, 1984a, 1984b, 1985; Bergmeier, 1995](#)) και πρόσφατες αναφορές και χλωριδικές λίστες ([Turland, 1993; Jahn, 1995](#)). Στην *Flora Europaea* ([Tutin, 1993](#)), εξαιρούνται τα νησιά του Ανατολικού Αιγαίου που περιλαμβάνονται στην «*Flora of Turkey and East Aegean Islands*» ([Davis, 1965-1986](#)). Μία πρόσφατη βοτανική και ταξινομική μελέτη στην Ελλάδα είχε ως αποτέλεσμα σημαντικές προσθήκες και αλλαγές ([Strid, 1985; Tan, 2001](#)). Το έργο «*Flora Hellenica*» έρχεται να καλύψει τα προηγούμενα κενά: οι δύο τόμοι ([Strid, 1997; 2002; 2016](#)).

A.2.1. Ενδημισμός

Συγκριτικά με της ευρωπαϊκές χώρες με παρόμοια γεωγραφική έκταση, η Ελλάδα έχει τον υψηλότερο βαθμό ενδημισμού (22.1% για συνολικά 5758 φυτικά είδη) ([Strid, 1997](#)). Τα φυτικά είδη που έχουν καταγραφεί στην βάση δεδομένων «*Chloris*» ως ενδημικά στην Ελλάδα φτάνει σε αριθμό τα 1274 είδη (22.1 % του συνολικού αριθμού των ειδών της Ελληνικής χλωρίδας) και 450 ενδημικά υποείδη (22.8 % του συνολικού αριθμού των υποειδών της Ελληνικής χλωρίδας).

Η πλειονότητα των ενδημικών ειδών κατανέμεται στην νότια και ανατολική Ελλάδα και περισσότερο στην ηπειρωτική χώρα με εξαίρεση την χλωριδική περιοχή της Κρήτης-Καρπάθου (**KK**). Οι χλωριδικές περιοχές της Πελοποννήσου (**Pe**), της Κρήτης-Καρπάθου (**KK**) και η Στερεάς Ελλάδας (**StE**) (**Εικόνα A1**) είναι εκείνες με τον υψηλότερο αριθμό ενδημικών ειδών, με την (**Pe**) να φέρει τον μεγαλύτερο αριθμό ενδημικών ειδών και taxa (464 taxa) και να ακολουθούν οι περιοχές (**KK**) (392 taxa) και (**StE**) (368 taxa). Η χλωριδική περιοχή (**KK**) φέρει το υψηλότερο ποσοστό ενδημισμού (21.1% για τα υποείδη, 17.1% για τα είδη και 17.7% για τα taxa) ([Georghiou, 2010](#)).

Για το αρχιπέλαγος του Αιγαίου έχει αποδειχθεί ότι διάφοροι βιογεωγραφικοί παράγοντες επηρεάζουν την φυτική βιοποικιλότητα. Η συνολική επιφάνεια των νήσων είναι της από της σημαντικότερους παράγοντες διαμόρφωσης του συνολικού φυτικού πλούτου, ενώ η ποικιλομορφία των ενδιαιτημάτων και το μέγιστο υψόμετρο είναι παράγοντες που συνδέονται στενά με την ενδημική φυτική ποικιλομορφία ([Iliadou, 2014](#)). Της αναφέρθηκε προηγουμένως, το αρχιπέλαγος του Αιγαίου αποτελείται κυρίως από νήσους που ανήκουν στην ηπειρωτική υφαλοκρηπίδα που διαχωρίστηκαν από την υπόλοιπη ηπειρωτική χώρα σε περιόδους όπου η στάθμη της θάλασσας ήταν χαμηλή ([Whittaker, 2007](#)).

Ο υψηλότερος βαθμός ενδημισμού μεταξύ των νησιωτικών χλωριδικών περιοχών, ανήκει στην περιοχή ΚΚ της αναφέρθηκε προηγουμένως. Για της υπόλοιπες νησιωτικές χλωριδικές περιοχές, η WAe ([Εικόνα Α1](#)) φιλοξενεί σημαντικό αριθμό ενδημικών ειδών (194 είδη, 65 υποείδη και 202 taxa) από τα συνολικά 2024 είδη, 582 υποείδη και 2084 taxa. Ακολουθούν η περιοχή των νήσων του Ανατολικού Αιγαίου (Eae) με 147 ενδημικά από τα συνολικά 2381 είδη, οι κυκλάδες (KiK) με 146 ενδημικά από τα 1661 συνολικά είδη και τέλος το χαμηλότερο ποσοστό ενδημισμού εμφανίζει η νησιωτική χλωριδική περιοχή Βορείου Αιγαίου (NAe) με 57 ενδημικά από τα 1928 συνολικά φυτικά είδη ([Dimopoulos, 2013](#)).

Τα νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου ανήκουν σε 2 χλωριδικές περιοχές της NAe και EAe της αναφέρθηκε πριν. Στον **Πίνακα Α2**, παρουσιάζεται ο αριθμός των ειδών και των υποειδών και το ποσοστό των ενδημικών ειδών των νησιών της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου, συγκριτικά με την γεωγραφική επιφάνεια.

Πίνακας Α2. Αριθμός ειδών/υποειδών και ποσοστό ενδημικών ειδών στα νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου.

Νήσος	Επιφάνεια (km ²)	Συνολικός Αριθμός (είδη/υποείδη)	Ενδημικά είδη (%)
Λήμνος	482	817	1.5
Άγ. Ευστράτιος	42	542	1.2
Λέσβος	1633	1592	1.6
Χίος	842.5	1286	1.4
Οινούσες	17.4	270	1.4
Ψαρά	40	365	1.2
Σάμος	476	1444	3.7
Ικαρία	255	1031	4.9
Φούρνοι	40	420	1.5

Η εξάπλωση τόσο των ενδημικών όσο και των κοινών φυτικών ειδών έχουν συνδεθεί με διάφορα παλαιογεωγραφικά πρότυπα αναμφισβήτητα και ο πλούτος της ελληνικής χλωρίδας οφείλεται στο συνδυασμό παραγόντων της η γεωϊστορία, η γεωγραφική θέση και η γεωγραφία της χώρας ([Panitsa, 2010](#)). Η δράση αυτών των παραγόντων έχει ως αποτέλεσμα α) την επιβίωση ειδών του Τριτογενούς, β) τον εμπλουτισμό της ελληνικής χλωρίδας με χωρολογικά στοιχεία της Κεντρικής Ευρώπης, της Ανατολίας και της Ποντιακής χλωριδικής περιοχής, γ) εμπλουτισμό της ελληνικής χλωρίδας με τον ανθρωπογενή παράγοντα και τέλος δ) την προσαρμογή των ειδών σε διαφορετικούς βιοτόπους, εξαιτίας της τοπογραφικής ετερογένειας του ελλαδικού χώρου, του πολυσχιδή διαμελισμού της ηπειρωτικής χώρας σε υψηλές οροσειρές, πολυάριθμες χαραδρώσεις, ποταμούς κτλ., αλλά και από αναρίθμητες νήσους, νησίδες, βραχονησίδες και χερσονήσους, κυρίως του αιγαίου χώρου. Στις νήσους του Αιγαίου εμφανίζονται τοπικά, αλλά και στενότοπα ενδημικά είδη, εξειδικευμένα κυρίως σε βραχώδεις, ασβεστολιθικές θέσεις ή οφιολιθικά πετρώματα. Τα ασβεστολιθικά πετρώματα είναι ιδανικά καθώς η σταθερότητα και η σχετικώς μεγάλη αντοχή της, οι απότομες και κατακερματισμένες κλιτύες της, τα καρσικά φαινόμενα, καθώς και η παρουσία θρεπτικών συστατικών είναι βασικοί παράμετροι για την αξιοσημείωτη χλωριδική ποικιλότητα και τον σημαντικό αριθμό ενδημικών και σπανίων ειδών που εμφανίζονται σε αυτά

.

Κεφάλαιο 1

Φυσιογεωγραφία – Γεωμορφολογία των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Γενικά

Η Περιφέρεια Βορείου Αιγαίου καλύπτει διοικητικά το βορειοανατολικό τεταρτημόριο του αρχιπελάγους του Αιγαίου. Αποτελείται από πέντε νησιά: Λέσβος, Λήμνος, Χίος, Σάμος και Ικαρία. Ο συνδυασμός έκτασης και πληθυσμιακού μεγέθους εντάσσουν δύο από αυτά, τη Λέσβο και τη Χίο, μεταξύ των 21 σημαντικών νησιών του ευρωπαϊκού χώρου. Τα πέντε μεγάλα νησιά, μαζί με άλλα μικρότερα - Φούρνοι, Ψαρά, Οινούσες, Άγιος Ευστράτιος - που βρίσκονται σε μικρής ή μεγάλης απόστασης δορυφορικές θέσεις, σχηματίζουν ένα χώρο χωρίς ιδιαίτερη γεωγραφική συνοχή. Η περιφέρεια Βορείου Αιγαίου έχει έκταση 3.835 τετραγωνικά χιλιόμετρα.

Το έδαφος των νησιών είναι κατά 33% ορεινό, κατά 35% ημιορεινό και κατά 32% πεδινό. Τα εδαφολογικά χαρακτηριστικά εμφανίζουν έντονη διαφοροποίηση μεταξύ των νησιών, αλλά και στο εσωτερικό τους που περιλαμβάνουν ηφαιστειακά πετρώματα, γεωλογικούς σχηματισμούς σχιστόλιθου – φυλλίτη, γραούβακες, πυριτόλιθους, ασβεστόλιθους. Διαθέτει αξιόλογες ορυκτές πρώτες ύλες και σημαντικούς ενεργειακούς πόρους (γεωθερμία, αιολική και ηλιακή ενέργεια).

Οι καλλιεργούμενες εκτάσεις ανέρχονται σε 6.07 στρέμματα ανά κάτοικο (αναλογία σχεδόν διπλάσια του εθνικού μέσου όρου). Παρακάτω γίνεται αναλυτική αναφορά των χαρακτηριστικών των νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου.

1.1. Χαρακτηριστικά Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

1.1.α. Λήμνος

Το νησί της Λήμνου έχει μια ιδιαίτερη γεωγραφική, βιογεωγραφική και οικολογική θέση στην περιοχή του Αιγαίου: α) Είναι καλά απομονωμένο από τα γειτονικά μεγάλα νησιά της Λέσβου, της Σαμοθράκης και την Ίμβρο, β) είναι το νοτιότερο από τις βιογεωγραφικές υποδιαιρέσεις του βορείου αιγαίου και γ) σε αντίθεση με τα περισσότερα από τα νησιά του Αιγαίου, η Λήμνος δεν χαρακτηρίζεται από μεγάλα υψόμετρα και απότομα ασβεστολιθικά, βραχώδη, παράκτια οικοσυστήματα, αλλά κυρίως από υγροτόπους και μια επίπεδη ακτογραμμή, οι οποίοι συμβάλλουν στην δημιουργία μιας μεγάλης έκτασης δικτύου από υγροτόπους και έλη. Η Λήμνος δεν έχει καθόλου δασική βλάστηση. Ολόκληρη η έκταση του νησιού καλύπτεται από βοσκότοπους και αγροτικές εκτάσεις.



Εικόνα 1.1. Νήσος Λήμνος (Πηγή Google maps).

Καταλαμβάνει μια επιφάνεια 482km^2 και μήκος ακτών 263km και κατατάσσεται ως το όγδοο σε μέγεθος νησί του Αιγαίου. Σε αντίθεση με άλλα νησιά του Αιγαίου, εμφανίζει χαμηλούς λόφους (μέγιστο 429m , σε ποσοστό 8.1%) με μια ήπια τοπογραφία που οφείλεται κυρίως στην απουσία των ασβεστολιθικών βραχωδών οικοσυστημάτων από το μεγαλύτερο μέρος του νησιού και την επικράτηση ηφαιστειακών σχηματισμών, σχιστόλιθων και ψαμμίτη.

Η Λήμνος αποτελεί τμήμα μιας μεγάλης τριτογενούς ιζηματογενούς λεκάνης που σχηματίστηκε γύρω από την κρυσταλλοσχιστώδη μάζα της Ροδόπης. Το γεωλογικό υπόβαθρο της νήσου σχηματίζεται από μολασσικούς σχηματισμούς ηλικίας Ηωκαίνου-Ολιγοκαίνου, μέσα στους οποίους παρεμβάλλονται διεισδύσεις ηφαιστειακών πετρωμάτων. Η ηφαιστειακή δράση αποτελεί ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της γεωλογίας του νησιού που εκδηλώθηκε σε δύο κυρίως φάσεις, στις αρχές του Μειοκαίνου και στις αρχές του Πλειοκαίνου. Τα παλαιότερα ηφαιστειακά πετρώματα καλύφθηκαν μεταγενέστερα από τεταρτογενείς αποθέσεις σε ορισμένες περιοχές. Στο δυτικό τμήμα του νησιού εμφανίζονται εκχύσεις ανδεσιτικών, τραχειτικών και δακιτικών λαβών καθώς και ηφαιστειακοί τόφφων. Στις χαμηλές κοιλάδες έχουν αποτεθεί αλλουβιακές αποθέσεις, που αποτελούνται από χαλαρά εδαφικά υλικά (άργιλοι, αμμοχάλικα, λατύπες

κλπ.) Στις ΝΑ και ΒΔ παράκτιες περιοχές παρατηρούνται σχηματισμοί θινών σε μεγάλη έκταση και ικανό πάχος.

Το κλίμα της περιοχής είναι ύφυγρο ή σχεδόν ημι-άνυδρο, με μέση ετήσια βροχόπτωση τα 500mm. Συχνοί άνεμοι που πνέουν κυρίως από βόρεια ή βορειοανατολικά, συμβάλλουν στο ξηρό κλίμα του νησιού. Ανήκει στην κλιματική Ζώνη Β σύμφωνα με τον Κ.Εν.Α.Κ (ΦΕΚ 407/9.4.2010), όπως και τα άλλα νησιά της περιφέρειας.

Οι μικρές νησίδες που βρίσκονται στο νότιο και νότιο δυτικό τμήμα της Λήμνου και η μία εμφανίζεται στο βόρειο τμήμα (νησίδα Σεργίτσι), παρουσιάζουν μικρό βαθμό απομόνωσης από το κύριο νησί και παρουσιάζουν τοπογραφία και γεωλογία όπως το κύριο νησί.

1.1.β. Άγιος Ευστράτιος

Ο Άγιος Ευστράτιος βρίσκεται βόρειο δυτικά της Λέσβου και νότιο δυτικά της Λήμνου με συνολική έκταση 43.3km² και περίμετρο 17 ν.μ.. Το νησί μπορεί να θεωρηθεί ότι έχει σχήμα άνισου τριγώνου προς δυσμάς με κατεύθυνση από Βορρά (ακρ. Καλαμάκι) προς Νότο (ακρ. Τρυπητή) και μία ανατολικά (ακρ. Δασκαλιό).

Το έδαφος του ηφαιστιογενές, ημιορεινό και η μεγαλύτερη πεδιάδα του βρίσκεται στο βορειοανατολικό μέρος, στη θέση Αλωνίτσι, όπου παλαιότερα ήταν εκτεταμένος αμπελώνας. Οι απόκρημνες ακτές καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο τμήμα της ανατολικής ακτογραμμής. Οι υψηλότερες κορυφές είναι τα «Ισώματα» (292μ.), η Λεμονή Ράχη (298μ.) στο νότιο τμήμα του νησιού, στο κέντρο ο Χότζας (298μ.) και στο βορειοανατολικό μέρος η κορυφή «Σημάδι» (288μ.)

Γεωλογικά το νησί του Αγ. Ευστρατίου εμφανίζει συγγένεια με τη Λήμνο εμφανίζοντας ηφαιστειακά πετρώματα Ολιγοκαινικής-Κάτω Μειοκαινικής ηλικίας, τα οποία συμπλέκονται με μολασσικούς σχηματισμούς, τα οποία απαντώνται και στο μεγαλύτερο μέρος της Λήμνου. Αποτελούνται από ηφαιστειακούς τόφφους και τοφφίτες που καλύπτονται από ιζηματογενείς σχηματισμούς (υπολείμματα οργανικών ασβεστόλιθων) και λιμναίες αποθέσεις αργιλομαργαϊκών υλικών. Το κλίμα κατατάσσεται στα ημίυγρο με μέτριες βροχές και σπάνια χιόνια. Είναι εύκρατο με πολύ χαμηλό βαθμό βροχοπτώσεων.



Εικόνα 1.2. Νήσος Άγιος Ευστράτιος (Πηγή Google maps).

1.1.γ. Λέσβος

Το νησί της Λέσβου είναι το τρίτο μεγαλύτερο νησί της Ελλάδας με έκταση 1630.2km^2 και οι ακτές του έχουν μήκος 370.4km με τα βυθίσματα των 2 κόλπων. Τα 536.8km^2 κατέχουν οι πεδιάδες (περιοχές Καλλονής, Γέρας, Ιππειος, Ερεσός, Πολιχνίτος και Σίγρι. Μια έκταση από 775.8km^2 καταλαμβάνεται από λόφους και 321.8km^2 από βουνά ασβεστολιθικών όγκων με το όρος Λεπέτυμνος στα βόρεια (ηφαιστιογενής όγκος με ύψος 968m .), στα ανατολικά το όρος Αμαλή (527m .), στα νότια τον ασβεστολιθικό όγκο του Ολύμπου με ύψος τα 967m .) και στα δυτικά το ηφαιστιογενές όρος Ορδυμνος με ύψος (799m .). Η Λέσβος παρουσιάζει έντονο οριζόντιο και κατακόρυφο διαμελισμό. Κύριο χαρακτηριστικό της γεωμορφολογίας του νησιού είναι η παρουσία των δύο μεγάλων κόλπων, της Γέρας (επιφάνεια περίπου 40km^2) και της Καλλονής (επιφάνεια περίπου 120km^2). Ακόμη υπάρχει ένα πλήθος όρμων, χερσονήσων και ακρωτηρίων. Μεγάλοι ποταμοί δεν υπάρχουν, παρά μόνο χείμαρροι με κυριότερους από αυτούς τον Ευεργέτουλα, Σεδούντα, Βούρκο, Αλμυροπόταμο, Βούβαρης, Καλάμι, Μυλοπόταμος, Τσικινιάς, Ποταμιά, Μαλλιόντα, Χαλάνδρα, Τσιγλιώντας και Βούλγαρης.



Εικόνα 1.3. Νήσος Λέσβος (Πηγή Google maps).

Το γεωλογικό υπόστρωμα του νησιού διακρίνεται σε σχιστόλιθους, κρυσταλλικούς ασβεστόλιθους και δολομίτες στο ΝΑ τμήμα της και σε μικρότερη έκταση στο ΒΔ τμήμα της. Το μεγαλύτερο μέρος του νησιού (53.5%) καλύπτεται από ηφαιστειακά πετρώματα. Επίσης εμφανίζονται περιδοτίτες, δουνίτες και ιζηματογενή πετρώματα (μάργες και μαργαικοί σχηματισμοί σε περιοχή του κεντρικού νησιού - Πολιχνίτος) και έξω από την Μυτιλήνη. Πλειοκαινικά ιζήματα (ασβεστόλιθοι) εμφανίζονται σε περιορισμένη έκταση στο νοτιοανατολικό τμήμα του νησιού. Στις πεδινές περιοχές εμφανίζονται αποθέσεις Τεταρτογενούς και Ολοκαίνου. Στην πεδιάδα του Ιππείου παρατηρούνται προσχώσεις από αδρομερείς κροκάλες, οι οποίες μεταπίπτουν σε αργιλοαμμώδη εδάφη στο παραθαλάσσιο τμήμα της πεδιάδας. Στην πεδιάδα της Γέρας εμφανίζονται μαρμαρυγικοί σχιστόλιθοι. Η πεδιάδα της Καλλονής δομείται από όξινες λάβες και ηφαιστειακές μάζες, με τεταρτογενή ιζήματα στις παραθαλάσσιες ζώνες. Η πεδιάδα Ερεσού αποτελείται από αλλούβιες αποθέσεις επί τριτογενών λαβών και τόφρων.

Οι γεωλογικοί σχηματισμοί της Λέσβου μπορούν να ομαδοποιηθούν σε 6 μεγάλες κατηγορίες:

- Σχηματισμοί αποτελούμενοι από σκληρούς ασβεστόλιθους συνήθως όξινα με αργιλοπηλώδη - αργιλώδη υφή.
- Σχηματισμοί αποτελούμενοι από σχιστόλιθους όξινα με πηλώδη υφή.

- Σχηματισμοί αποτελούμενοι από ηφαιστειακούς τόφφους όξινά με πηλώδη υφή.
- Σχηματισμοί αποτελούμενοι από βασικά πυριγενή πετρώματα όξινά με αμμώδη - αργιλοπηλώδη υφή.
- Σχηματισμοί αποτελούμενοι από όξινά πυριγενή πετρώματα με αμμώδη - πηλοαμμώδη υφή και αλλουβιακά γεωργικά εδάφη.

Η Λέσβος βρίσκεται σε μια μεταβατική ζώνη της Μεσογείου. Η ετήσια βροχόπτωση είναι σχετικά υψηλή (739χιλ. συγκριτικά με την Αττική, 400χιλ.). Η μέγιστη θερμοκρασία φθάνει 35 ° C, η ελάχιστη 0 ° C (σπάνια έως -5 ° C).

Στο νησί έχουν καταγραφεί συνολικά 1400 είδη φυτών με ένα ποσοστό ενδημικών φυτών που ανέρχεται στο 1.4%

Στην Λέσβο υπάρχουν πολλοί μόνιμοι και παροδικοί υγρότοποι. Οι εποχιακοί υγρότοποι είναι μικροί αβαθείς λάκκοι, οι οποίοι έχουν νερό κατά τους χειμερινούς και εαρινούς μήνες και βαθμιαία αποξηραίνονται. Τέτοιοι υγρότοποι βρίσκονται κυρίως στο βόρειο και δυτικό τμήμα του νησιού συνήθως πάνω σε ηφαιστειακά πετρώματα ([Axiotis M. & Axiotis E., 2012](#); [Bazos, 2005](#)).

1.1.δ.Χίος

Η Χίος είναι ορεινό νησί με έκταση 842 km² και μήκος ακτών 229 km.

Το νησί σπονδυλώνεται από βορρά προς νότο από οροσειρά που καταλήγει στην βουνολοφώδη περιοχή των Μαστιχοχωρίων. Η ψηλότερη κορυφή της είναι το Πελιναίο Όρος (1297 μ.) στο βόρειο άκρο. Νοτιότερα από το Πελιναίο, υψώνεται το Όρος (1126 μ.) και στη συνέχεια ο Κοκλιάς (770 μ.), ο Προβατάς (807 μ.) και το Λεπρό (650 μ.).

Υπάρχουν και άλλα χαμηλότερα όρη που το ύψος τους κυμαίνεται μεταξύ των 400 και 600 μέτρων όπως ο Αίπος, ο Κένταυρος, η Κολούμπα.

Τις πεδιάδες της Χίου αποτελούν οι παραλιακές πεδινές περιοχές της πρωτεύουσας του νησιού καθώς και της Καλαμωτής. Η πρώτη βρίσκεται στο κέντρο της ανατολικής πλευράς και η δεύτερη στο ΝΑ τμήμα του νησιού.

Οι ακτές του νησιού δεν παρουσιάζουν έντονο διαμελισμό. Στις δυτικές ακτές σχηματίζεται μια μεγάλη ανοικτή κόλπωση που δίνει στο νησί το σχήμα ημισελήνου. Το νοτιότερο άκρο της είναι το Ακρωτήριο Μάστιχο ή Ούρα, ενώ το βορειότερο άκρο της είναι το Ακρωτήριο Επανωχωρίου ή Επανωμεριάς.

Το νησί χωρίζεται από τη χερσόνησο της Ερυθραίας της Μ. Ασίας με το διάυλο της Χίου ή στενό του Τσεσμέ, πλάτους 6 μιλίων.

Στην Χίο γεωλογικά επικρατούν οι σχηματισμοί της Πελαγονικής ζώνης. Αποτελούνται κυρίως από κρυσταλλικούς ασβεστόλιθους και γνευσιοσχιστόλιθους, όπως επίσης και σχηματισμούς του Παλαιοζωικού. Στο βορειοδυτικό τμήμα της νήσου εμφανίζονται γραούβακες, σχιστόλιθοι, πυριτόλιθοι καθώς επίσης και ασβεστόλιθοι ενώ το υπόλοιπο νησί αποτελείται κυρίως από μεσοζωικούς ασβεστόλιθους

και δολομίτες. Στις πεδινές εκτάσεις συναντώνται προσχωσιγενή εδάφη. Το μεγαλύτερο μέρος των εδαφών είναι αυτόχθονα ή κολλουβιακά και περιέχουν μικρούς λίθους και χαλίκια. Στα Μεστά είναι πετρώδη, ενώ στο Εμπορείο εμφανίζονται ερυθρογαίες.



Εικόνα 1.4. Νήσος Χίος (Πηγή Google maps).

Το κλίμα της Χίου χαρακτηρίζεται ως παραδοσιακό μεσογειακό κλίμα, δηλαδή υποτροπικά ξηρό. Οι χειμώνες είναι σχετικά ήπιοι με λίγες βροχοπτώσεις και τα καλοκαίρια όχι ιδιαίτερα θερμά με άφθονη ηλιοφάνεια. Η θερμή περίοδος διαρκεί από τον Μάιο μέχρι τον Σεπτέμβριο και η ψυχρή από τον Οκτώβριο μέχρι τον Απρίλιο ([Snogerup, 2001](#); [Saliaris, 2008](#)).

1.1.ε. Ψαρά – Αντίψαρα

Τα Ψαρά μαζί με τα Αντίψαρα είναι σύμπλεγμα νήσων που βρίσκονται 48μίλια βορειοδυτικά της νήσου Χίου, έδρα του ομώνυμου δήμου, της περιφέρειας Βορείου Αιγαίου. Έχει συνολική έκταση 44.5km² και μήκος ακτών 45χλμ. Νήσοι ορεινές και βραχώδεις, με υψηλότερη κορυφή τον Προφήτη Ηλία (Ψαρά) που έχει ύψος 531μ. Σε τοποθεσίες κοντά στην θάλασσα σχηματίζονται στενές λωρίδες καλλιεργήσιμης γης που τις διασχίζουν μικροί χείμαρροι.



Εικόνα 1.5. Νήσοι Ψαρά και Αντίψαρα (Πηγή Google maps).

Ένα μέρος των Ψαρών καλύπτεται από ηφαιστειακούς σχηματισμούς (τόφφοι και ιγνιμπρίτες). Απαντώνται επίσης κλαστικά και ανθρακικά πετρώματα. Τη βάση των σχηματισμών την αποτελούν φυλλίτες και γραούβακες, πάνω στους οποίους έχουν αποθεθεί μεταμορφωμένοι γενεύσιοι και αργότερα ηφαιστίτες. Στις κοιλάδες του νησιού στην δυτική πλευρά παρατηρούνται επίσης αλλούβιοι σχηματισμοί. Ευδοκιμούν λιγοστά οπωροφόρα δέντρα (αχλαδιές, δαμασκηνιές, συκιές, βερικοκιές και ελάχιστα αμπέλια). Την χλωρίδα του νησιού την καθορίζουν μόνο φρυγανικά οικοσυστήματα με κυρίαρχο είδος την

αστοιβή, αλλά και ποώδη χειλανθή φυτά, ιδίως το θυμάρι. Σε παραθαλάσσιες τοποθεσίες ευδοκιμούν ομάδες φυλλοβόλου λυγαριάς.

1.1.ζ.Οινούσσες

Οι Οινούσσες είναι ένα νησιωτικό σύμπλεγμα του ανατολικού Αιγαίου το οποίο βρίσκεται σε απόσταση 2km από τις βόρειο ανατολικές ακτές της Χίου και 8km από τις ανατολικές ακτές της Μικράς Ασίας. Αποτελείται από ένα σύμπλεγμα 6 νήσων (Οινούσσες, Παναγία, Βάτος, Βατοπούλα, Ποντικός και Αρχοντόνησο). Το κύριο νησί είναι οι Οινούσσες με μία έκταση 14km² και συνολικό μήκος 8km. Τα άλλα νησιά είναι μικρότερα με μια έκταση συνολική 3km². Γεωλογικά αποτελείται κυρίως από ψαμμίτες, μάργες και ασβεστόλιθους. Στο νησί αναπτύσσονται επιμεταμορφωμένοι προπαλαιοζωικοί σχηματισμοί που αποτελούνται από ασβεστόλιθους, φυλλίτες, χαλαζιακές στρώσεις, πηλίτες, ψαμμίτες και κροκαλοπαγή. Στις μικρές πεδινές εκτάσεις έχει συσσωρευτεί υλικό από την αποσάθρωση των παραπάνω σχηματισμών καθώς και αλλουβιακές προσχώσεις. Σε όλο το νησί εμφανίζεται πλούσιος μανδύας αποσάθρωσης, λόγω των ήπιων μορφολογικών κλίσεων που επικρατούν γενικά.



Εικόνα 1.6. Νήσοι Οινούσσες (Πηγή Google maps).

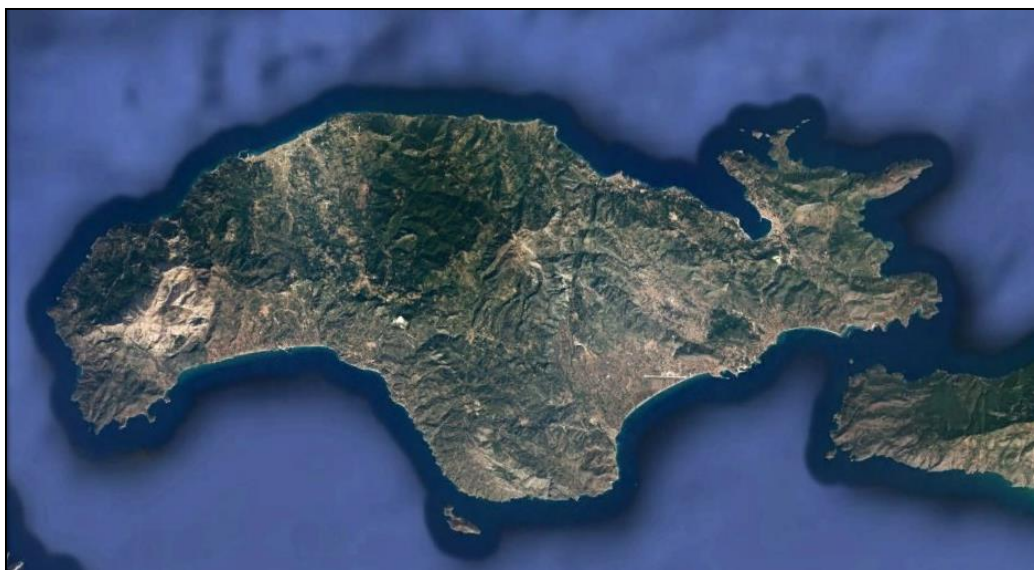
Το μεγαλύτερο ύψος εμφανίζεται στην κεντρική νήσο του συμπλέγματος με ύψος 182μ. από την επιφάνεια της θάλασσας.

Το κλίμα είναι το ίδιο με αυτό της νήσου Χίου με ξηρή περίοδο από μέσα Απριλίου έως τέλη Οκτωβρίου. Η χλωρίδα αποτελείται από 264 είδη φυτών, που εμφανίζονται στην Χίο και στα υπόλοιπα νησιά του ΒΑ αιγαίου ([Panitsa, 1994](#)).

1.1.η. Σάμος

Η Σάμος βρίσκεται στο ανατολικό άκρο του κεντρικού Αιγαίου κοντά στα παράλια της Μικράς Ασίας (1500μ.). Είναι το ένατο σε μέγεθος νησί της Ελλάδας με έκταση 477.4km², μήκος ακτογραμμής 160.9km και το σχήμα της επίμηκες με μέγιστο άξονα Α-Δ. οι ορεινοί όγκοι του Κερκετέα (1433μ.), Αμπέλου (1150μ.) και ο λόφος της Ζωοδόχος Πηγής (433μ.) καταλαμβάνουν το δυτικό, κεντρικό και ανατολικό τμήμα της Σάμου και χωρίζονται μεταξύ τους από τις δύο κύριες νεογενείς λεκάνες του Καρλοβασίου και των Μυτιληνίων.

Σύμφωνα με τον [Christodoulakis 1986](#), η Σάμος, από γεωτεκτονική άποψη, ανήκει στην Αττικο-Κυκλαδική ζώνη των Γεωτεκτονικών ζωνών της Ελλάδας. Στη ζώνη αυτή ανήκουν τα νησιά των Κυκλάδων, ένα τμήμα της Αττικής καθώς και της Νότιας Εύβοιας. Το νησί είναι έντονα τεκτονισμένο. Το δυτικό τμήμα του νησιού εμφανίζονται κυρίως μάρμαρα, σχιστόλιθοι, ασβεστόλιθοι, φυλλίτες, το κεντρικό τμήμα αποτελείται από μάρμαρα (μάρμαρα Αμπέλου), σχιστόλιθους και σχιστογενεύσιους. Το ανατολικό τμήμα του νησιού εμφανίζει μαρμαρυγιακούς σχιστόλιθους και υπάρχουν εκτεταμένες λιμναίες νεογενείς αποθέσεις.



Εικόνα 1.7. Νήσος Σάμος (Πηγή Google maps).

Τα εδάφη του νησιού κατατάσσονται σύμφωνα με την προέλευσή τους σε τέσσερις κύριες κατηγορίες. Εδάφη αργιλώδους υφής, πυριγενούς προέλευσης σε πολύ περιορισμένες εκτάσεις, σχιστολιθικά πηλώδους υφής, όξινα έως πολύ όξινα, σε μεγάλο μέρος του νησιού, όξινα πυριγενή πετρώματα διάσπαρτα στο

κεντρικό τμήμα καθώς και αργιλοπηλώδη εδάφη προερχόμενα από πυριτικά και τριτογενή αλατούχα πετρώματα, εύκολα διαβρώσιμα

Το κλίμα της Σάμου είναι ήπιο με μεταβολές της θερμοκρασίας, τόσο οι ετήσιες, όσο και οι ημερήσιες, να είναι σχετικά περιορισμένες. Με θερμοκρασίες να κυμαίνονται από 38.2 °C και - 4.3 °C. Το έντονο και απότομο γεωλογικό ανάγλυφο οδηγεί σε μεγάλο αριθμό βροχοπτώσεων με ετήσιο βροχομετρικό ύψος να ανέρχεται σε 91.4 χιλ.

Ο προσανατολισμός του νησιού, το ανάγλυφο με τα πολύ ψηλά βουνά και το πλήθος των επιμέρους μικροκλιμάτων, συντελούν στο να διαθέτει η Σάμος μια πλούσια χλωρίδα με πολύ μεγάλη βιοποικιλότητα ([Snogerup,1993](#)).

1.1.θ. Ικαρία

Η Ικαρία είναι το δυτικότερο ελληνικό νησί του κεντρικού ανατολικού αιγαίου πελάγους και βρίσκεται ανάμεσα στα νησιά της Μυκόνου και της Σάμου. Έχει έκταση 255.4km² με ορθογώνιο σχήμα. Ο μακρύτερος άξονας είναι 42km και εκτείνεται από Α.ΒΑ προς μια κατεύθυνση Δ.ΝΔ., ενώ το σημείο με το μεγαλύτερο πλάτος μετρά 9km. Ολόκληρο το νησί καταλαμβάνεται από την οροσειρά Αθέρας (1037μ.), με μία απότομη νότια πλευρά αλλά ένα ομαλότερο βόρειο τμήμα.

Από γεωλογική άποψη η Ικαρία ανήκει στη γεωτεκτονική ζώνη του κυκλαδίτικου τόξου με αποκλειστικά κρυσταλλοσχιστώδη μεταμορφωμένα πετρώματα. Το δυτικό τμήμα της Ικαρίας αποτελείται από γνευσιακό γρανίτη, ενώ το ανατολικό τμήμα αποτελείται από γνεύσιο, μοσχοβιτικό σχιστόλιθο, μάρμαρο και ημιμεταμορφωμένο αργιλικό σχιστόλιθο. Τα πετρώματα του ανατολικού τμήματος διαχωρίζονται από μια μεγάλη γρανιτική φλέβα.



Εικόνα 1.8. Νήσος Ικαρία (Πηγή Google maps).

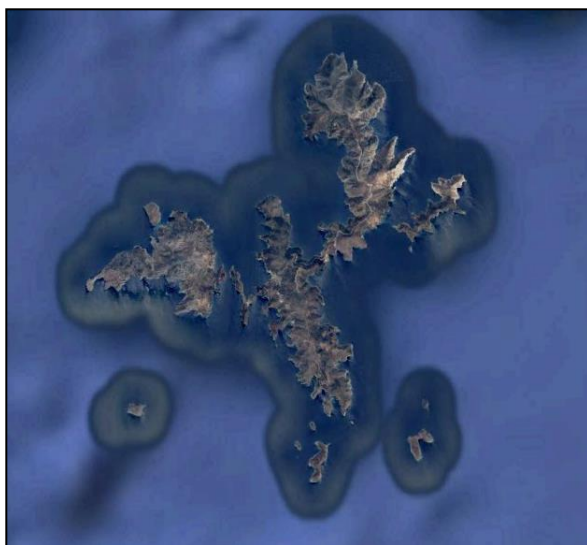
Σύμφωνα με το ομβροθερμικό διάγραμμα, το κλίμα της Ικαρίας ανήκει στην κατηγορία IV2, δηλαδή κατά κύριο λόγο τυπικό μεσογειακό κλίμα με σποραδικές βροχοπτώσεις το χειμώνα και σχεδόν 5.5 μηνών μακρά ξηρή περίοδο (από τα τέλη Απριλίου έως και τις αρχές Οκτωβρίου). Επίσης σημαντικό παράγοντα της βλάστησης αποτελούν και οι ισχυροί βόρειοι άνεμοι που επικρατούν στο νησί.

Η ευρύτερη περιοχή της Ικαρίας μαζί με τους Φούρνους, λόγω της μεγάλης βιοποικιλότητας, έχει ενταχθεί στο πρόγραμμα Natura 2000 για διατήρηση των φυσικών οικοτόπων. Πιο συγκεκριμένα όλο το νοτιοδυτικό τμήμα του Νησιού έχει ενταχθεί στο δίκτυο Natura 2000. Το ακρωτήριο Δράκανο, το όρος Αθέρας και το φαράγγι της Χάλαρης έχουν ενταχθεί στο δίκτυο Natura 2000 ([Christodoulakis, 1996](#)).

1.1.1. Φούρνοι

Οι Φούρνοι αποτελούν νησιωτικό σύμπλεγμα που βρίσκεται στο ανατολικό Αιγαίο, μεταξύ των νησιών της Ικαρίας και της Σάμου και αποτελείται από 17 νησάκια. Τα μεγαλύτερα νησιά είναι η Φούμοι και Θύμαινα που καλύπτουν μια έκταση περίπου 30km² και 10km² αντίστοιχα. Η υψηλότερη κορυφή στον νησί των Φούρνων έχει ύψος 430μ.

Τα πετρώματα είναι στην πλειοψηφία τους παλαιοζωικά μεταμορφωμένα. Συναντώνται μάρμαρα, σχιστόλιθοι, ασβεστόλιθοι και δολομίτες. Οι σχιστόλιθοι αποτελούν τους κυρίαρχους λιθολογικούς σχηματισμούς του νησιού των Φούρνων. Πρόκειται για σχιστόλιθους χλωριτικούς, μμαρμαρυγιακούς, χαλαζιακούς ή γλαυκοφανιτικούς, συχνά με ενστρώσεις μαρμάρων. Το υπόλοιπο τμήμα του νησιού αποτελείται από Μεσοζωικούς σχηματισμούς που μπορεί να είναι μάρμαρα, φυλλίτες και πρασινοσχιστόλιθοι. Τα εδάφη του συμπλέγματος νησιών είναι αυτόχθονα ή αλλουβιακά, μμετρίου βάθους, αναβαθμιδωμένα στις περισσότερες περιοχές με ξερολιθιές.



Εικόνα 1.9. Νήσοι Φούρνοι (Πηγή Google maps).

Ολόκληρη η ομάδα των νήσων αποτελείται από μάρμαρα και σχιστόλιθους. Το κλίμα ανήκει στην ίδια κατηγορία με αυτό της Ικαρίας. Η χλωρίδα του νησιού αποτελείται συνολικά από 264 είδη από τα οποία το 1.5% είναι ενδημικά. Δεν υπάρχουν ενδημικά είδη αποκλειστικά για την ομάδα των νήσων Φούρνοι.

1.2 Συμπεράσματα

Συμπερασματικά τα βασικά χαρακτηριστικά της πλούσιας γεωμορφολογίας για κάθε νησί συνδυαστικά με τις κλιματικές συνθήκες διαμόρφωσαν την λεγόμενη φυσιογεωγραφία των νήσων, στοιχείο ταυτότητας απαραίτητο για να μελετηθεί η πλούσια χλωρίδα κάθε νησιού και το ποσοστό ενδημισμού, που έχουν τα εύθραστα νησιωτικά οικοσυστήματα.

1.3. Βιβλιογραφικές Αναφορές

- Axiotis, M.;** Axiotis E. (2012). Medicinal Plants of Greece. The research in Lesvos island, Entelexeia Ed., Athens, Greece.
- Axiotis, E.;** Halabalaki, M.; Skaltsounis, L.A. An Ethnobotanical Study of Medicinal Plants in the Greek Islands of North Aegean Region. *Front. Pharmacol.*, 2018, 9, 409.
- Bazos, I.** (2005). Study of the flora and vegetation of Lesvos. PhD thesis, University of Athens, Greece. (In Greek with an English summary).
- Bergmeier, E.;** Matthäs, U. (1995). Additions to the flora of W Crete. *Willdenowia*, 1995, 25, 81–98.
- Christodoulakis, D.** (1986). Flora and vegetation of Samos. PhD thesis, University of Patras, Greece (In Greek).
- Christodoulakis, D.** The flora of Ikaria (Greece, E. Aegean Islands). *Phyton*, 1996, 36, 63-91.
- Comes, H.P.;** Tribsch, A.; Bittkau, C. Plant speciation in continental island floras as exemplified by *Nigella* in the Aegean Archipelago. *Philos. Trans. R. Soc. B.*, 2008, 363, 3083-3096.
- Davis, PH.** (1965-1986). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vols 1–10. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Dimopoulos, P.;** Raus, Th.; Bergmeier, E.; Constantinidis, Th.; Iatrou, G.; Kokkini, S.; Strid, A. & **Tzanoudakis, D.** (2013). Vascular plants of Greece: an annotated check-list. – Berlin: Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem; Athens: *Hellenic Botanical Society*. – Englera 31.
- Georghiou, K. &** Delipetrou, P. Patterns and traits of the endemic plants of Greece. *Bot. J. Linn. Soc.*, 2010, 162, 130-422.
- Greuter, W.;** Burdet, HM.; Long, G. (1984, 1986, 1989). Med-Checklist. A critical inventory of vascular plants of the circum-mediterranean countries, Vols. 1, 3, 4. Geneva: Conservatoire et Jardin Botaniques, Med-Checklist Trust of OPTIMA.
- Greuter, W.;** Matthäs, U.; Risse, H. Additions to the flora of Crete, 1973–1983 – I. *Willdenowia*, 1984a, 14, 27– 36.
- Greuter, W.;** Matthäs, U.; Risse, H. Additions to the flora of Crete, 1973–1983 – II. *Willdenowia*, 1984b, 14, 269– 297.
- Greuter, W.;** Matthäs, U.; Risse, H. Additions to the flora of Crete, 1973–1983 – III. *Willdenowia*, 1985, 15, 23– 60.
- Halácsy, EDe.** (1901, 1902, 1904). Conspectus florae graecae, Vols. 1, 2, 3. Leipzig: G. Engelmann.
- Halácsy, EDe.** (1908). Supplementum conspectus florae graecae. Leipzig: G. Engelmann.
- Halácsy, EDe.** (1912). Supplementum secundum conspectus florae graecae. Magyar *Botanikai Lapok* 11: 114–202.
- Hayek, A.V.** (1924-1933). Prodrum Florae Peninsulae Balcanicae. Repertorium specierum novarum regni vegetabilis, *Beihefte* 30 (1–3). Dahlem bei Berlin: Verlag des Repertoriums.
- Iliadou, E.;** Kallimanis, A.S.; Dimopoulos, P; & Panitsa, M. Comparing the two Greek archipelagos plant species diversity and endemism patterns highlight the importance of isolation and precipitation as biodiversity drivers. *J. of Biol. Res. – Thessaloniki*, 2014, 21, 16.
- Jahn, R.;** Schönfelder, P. (1995). Exkursionsflora für Kreta. Stuttgart (Hohenheim): Verlag Eugen Ulmer.
- Morrison, L.W.** Determinants of plant species richness on small Bahamian islands. *J. Biogeogr.*, 2002, 29, 931-941.

- Panitsa, M.**; Dimopoulos, P.; Iatrou, G.; Tzanoudakis, D. Contribution to the study of the Greek flora: flora and vegetation of the Enousses (Oinousses) islands (E. Aegean area). *Flora*, 1994, 189, 367-374.
- Panitsa, M.**; Tzanoudakis, D.; Triantis, K.A.; Sfenthourakis, A. Patterns of species richness on very small islands: the plants of the Aegean archipelago. *J. Biogeogr.*, 2006, 33 (7), 1223-1234.
- Panitsa, M.**; Trigas, P.; Iatrou, G. & Sfenthourakis, S. Factors affecting plant species richness and endemism on land-bridge islands – An example from the East Aegean archipelago. *Acta Oecologica*, 2010, 36, 431–437.
- Parmakelis, A.**; Stathi, I.; Chatzaki, M.; Simaiakis, S.; Spanos, L.; Louis, C.; Mylonas, M. Evolution of *Mesobuthus gibbosus* (Brulle, 1832) in the north-eastern Mediterranean region. *Mol. Ecol.*, 2006, 15, 2883-2894.
- Poulakakis, N.**; Pakaki, V.; Mylonas, M.; Lymberakis, P. Molecular phylogeny of the Greek legless skink *Ophiomorus punctatissimus* (Squamata: Scincidae): the impact of the Mid-Aegean trench in its physiogeography. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2008, 47, 396-402.
- Rauh, W.** (1949). Klimatologie und Vegetations verhältnisse der Athos-Halbinsel und der ostägäischen Inseln Lemnos, Hag. Evstratios, Mytilene und Chios. *Heidelberg*: Heidelberger, 511–615.
- Rechinger, K.H.** (1943a). Flora Aegaea. Flora der Inseln und Halbinseln des ägäischen Meeres. Akademie der Wissenschaftlichen in Wien *Mathematisch-Naturwissenschaftliche Klasse*, Denkschriften, 105: 1–924.
- Rechinger, K.H.** (1943b). Neue Beiträge zur Flora von Kreta. Akademie der Wissenschaftlichen in Wien *Mathematisch-Naturwissenschaftliche Klasse*, Denkschriften 105: 1–184.
- Saliaris, P.** (2008). Natura Chia. A Journey to the Flora and Fauna of Chios island. Egeas Ed.
- Sfenthourakis, S.** The species-area relationship of terrestrial isopods (Isopoda; Oniscidea) from Aegean archipelago (Greece): a comparative study. *Glob. Ecol. Biogeogr.*, 1996, 5, 149-157.
- Smith, P.E.**; York, D.; Chen, Y.; Evensen, M.M. Single crystal ^{40}Ar - ^{39}Ar dating of a late quaternary paroxysm on Kos, Greece: concordance of terrestrial and marine ages. *Geophys. Res. Lett.*, 1996, 23, 3047-3050.
- Snogerup, S.**; Snogerup, B. Additions to the flora of Samos, Greece. *Flora Mediterr.*, 1993, 3, 211-222.
- Snogerup, S.**; Snogerup, B.; Phitos, D.; Kamari, G. The flora of Chios island (Greece). *Bot. Chron.*, 2001, 14, 5-199.
- Spiliopoulou, K.**; Dimitrakopoulos, P.G.; Brooks, T.M.; Kelaidi, G.; Paragamian, K.; Kati, V.; Oikonomou, A.; Vavylis, D.; Trigas, P.; Lymberakis, P.; Darwall, W.; Stoumboudi, M.-Th.; Triantis, K.-A. The Natura 2000 network and the ranges of threatened species in Greece. *Biodivers. Conserv.*, 2021, 30(4), 945-961.
- Strid, A.**; Papanikolaou, K. (1985). The Greek Mountains. In: C Gomez-Campo, ed. Plant conservation in the Mediterranean area. *Geobotany* 7. Dordrecht: Dr W. Junk Publishers, 89– 111.
- Strid, A.** (1986). Mountain Flora of Greece, Vol. 1. Cambridge: Cambridge University Press.
- Strid, A.**, & Tan, K. (1997). Flora Hellenica 1. Königstein: Koeltz Scientific Books.
- Strid, A.**, & Tan, K. (2002). Flora Hellenica 2. Ruggell: Koeltz Scientific Books.
- Strid, A.** (2006). Flora Hellenica bibliography, 2nd edn. Krakow: W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences.
- Strid, A.** (2016). Atlas of the Aegean flora. Part 1: Text & plates. Part 2: Maps. – Berlin: Botanic Garden and Botanical Museum Berlin, Freie Universität Berlin. – Englera 33(1 & 2).
- Tan, K.**; Iatrou, G. (2001). Endemic plants of Greece, the Peloponnese. Copenhagen: Gads Publishers Ltd.
- Turland, N.J.**; Chilton, L.; Press, J.R. (1993). Flora of the Cretan area. Annotated check list and atlas. London: The Natural History Museum, HMSO.

Tutin, T.G.; Burges, N.A.; Chater, A.O.; Edmondson, J.R.; Heywood, V.H.; Moore, D.M.; Valentine, D.H.; Walters, S.M.; Webb, D.A. (1993). *Flora europaea*. 1, 2nd edn. Cambridge: Cambridge University Press.

Whittaker, R.J.; Fernandez-Palacios, J.M. (2007). *Island Biogeography: Ecology, Evolution, and Conservation*. Oxford: Oxford University Press.

Κεφάλαιο 2

Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Γενικά

Η Εθνοφαρμακολογία είναι ένα διεπιστημονικό πεδίο έρευνας της φαρμακευτικής και ως εκ τούτου ορίζεται από έννοιες που προέρχονται από μια σειρά διαφορετικών επιστημονικών κλάδων και μεθοδολογιών. Με τον όρο «Εθνοφαρμακολογία» περιγράφεται η ειδικότητα της φαρμακευτικής και ιδιαίτερα της φαρμακογνωσίας που ασχολείται με την διεξοδική διερεύνηση των βιολογικά ενεργών μεταβολιτών που παρατηρήθηκαν ή χρησιμοποιήθηκαν σε πρακτικές της παραδοσιακής ιατρικής. Ο όρος «Εθνοφαρμακολογία» εμφανίστηκε για πρώτη φορά το 1967 από τον Efron ([Efron, 1970](#); [Holmstedt, 1967](#)). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι αυτός ο ορισμός αποκλείει την καθημερινή ιατρική πρακτική και τις παρατηρήσεις των επαγγελματιών που σχετίζονται με αυτήν. Τέτοιες περιγραφές φαρμάκων, καθώς και αναζητήσεις σχετικά με την χρησιμότητά τους, αποτελούν μέρος των παραδόσεων όπως Ayurveda, Kamro, Unnani, αραβική ιατρική, ιατρική των Αζτέκων ή οποιαδήποτε άλλη ιατρική πρακτική που καθορίζεται από γεωγραφικά ή πολιτισμικά κριτήρια. Προφανώς πολλές από αυτές τις περιγραφές δεν επιβιώνουν μέχρι σήμερα και ως συνέπεια σήμερα έχουμε συχνά μόνο κάποια κομμάτια από το πολύπλοκο αυτό παζλ.

Συγκριτικά με την ιατρική πρακτική (είτε στο πλαίσιο της χρήσης της εντός της βιοιατρικής επιστήμης, είτε σε μία από τις παραδόσεις που παρατίθενται παραπάνω), στην εθνοφαρμακολογία, υπάρχει μια πρόσθετη εστίαση σε μία εμπειρική επιστημονική αξιολόγηση των θεραπευτικών χρήσεων (π.χ. φαρμακολογική, φυτοχημική, τοξικολογική). Σε πολύ γενικούς όρους, οποιαδήποτε μορφή εμπειρικής χρήσης και δοκιμής ενός φυτού για νέες χρήσεις στην θεραπευτική, μπορεί να θεωρηθεί εθνοφαρμακολογική προσέγγιση.

Η εθνοφαρμακολογία επικεντρώνεται σε μία συγκεκριμένη πολιτιστική «σφαίρα», την λεγόμενη «Materia Medica» η οποία ονομάζεται ευρέως και «εθνοφαρμακοποιία» και χρησιμοποιείται ευρέως από διαφορετικούς λαούς. Διερευνά την τοπική χρήση φαρμακευτικών ουσιών, τον τρόπο προετοιμασίας, της εφαρμογής και συναφών θεραπευτικών πεποιθήσεων και γνώσεων. Συνήθως η «Materia Medica», επικεντρώνεται στα φυτά και επομένως ο όρος «φαρμακευτική χλωρίδα», χρησιμοποιείται για καταγραφή των φαρμακευτικών φυτών μίας συγκεκριμένης περιοχής ή κοινότητας. Μία τοπική «Materia Medica», είναι το αποτέλεσμα μιας συναίνεσης μεταξύ της τοπικής κοινότητας και των τοπικών «λαϊκών θεραπειών» σχετικά με τα φυτικά είδη που χρησιμοποιούνται και τους τρόπους για την πρόληψη, την διάγνωση και την θεραπεία ασθενειών. Η διαμόρφωσή της εξαρτάται από εσωτερικούς και εξωτερικούς παράγοντες, σημαντικότερος από τους οποίους αποτελεί η διαπολιτισμική ανταλλαγή γνώσεων με την παγκοσμιοποίηση. Μία αποδεκτή θεωρία είναι ότι η μετάβαση από έναν νομαδικό σε έναν καθιστικό τρόπο

ζωής των αγροτών, οδήγησε στην ανταλλαγή και συναίνεση για τις θεραπευτικές ιδιότητες των φυτών και τον ρόλο τους στην ανθρώπινη υγεία ([Johns, 1990](#); [Logan, 1994](#)).

Οι άνθρωποι τροποποιούν συνεχώς τις επιλογές τους σχετικά με τα αρωματικά / φαρμακευτικά φυτά που χρησιμοποιούν με στόχο την προσαρμογή τους σε νέες ασθένειες, επιδημίες καθώς επίσης και στις δυναμικές κοινωνικοοικονομικές αλλαγές ([Bye, 1995](#)). Η μετάδοση της γνώσης μέσω γραπτών, βιβλίων και άλλων μέσων διαμορφώνει θετικά την τάση των ανθρώπων στην φαρμακευτική χρήση των φυτών ([Leonti, 2013](#)). Οι κύριες εθνοφαρμακολογικές μελέτες καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα θεματολογίας που αφορά τόσο την χρήση συγκεκριμένων ουσιών ως φαρμακευτικές όσο και την εξέλιξη της «Materia Medica» ([Leonti, 2013](#)). Σε μεγάλο βαθμό αλληλεπικαλύπτονται με εθνοβοτανικές μελέτες.

Η βασική εθνοφαρμακολογική έρευνα ασχολείται τόσο με την χρήση φαρμακευτικών φυτών και την διάδοση της εμπειρικής γνώσης εντός μίας συγκεκριμένης κοινότητας, όσο και με την ιστορική εξέλιξη της γνώσης των φαρμακευτικών φυτών και πώς το περιβάλλον και ο πολιτισμός επηρεάζουν δυναμικά την χρήση της «Materia Medica» ([Heinrich, 2009](#)). Πολλά φάρμακα έχουν εισέλθει στην διεθνή φαρμακοποιία μέσω της μελέτης της εθνοφαρμακολογίας και της παραδοσιακής ιατρικής. Σύγχρονες αναλυτικές τεχνικές και η βοήθεια της τεχνολογίας (τεχνικές αυτοματοποιημένου διαχωρισμού, συνδυαστική χημεία, η τεχνητή νοημοσύνη), φέρνουν πλέον επανάσταση στην ανακάλυψη νέων φαρμακευτικών ουσιών.

2.1 Διαφοροποίηση μεταξύ «Εθνοφαρμακολογίας» και «Φαρμακογνωσίας»

Σύμφωνα με τον [Wardwell \(1994\)](#) οι έννοιες της «Εθνοφαρμακολογίας» και της «Φαρμακογνωσίας» αν και αλληλεπικαλύπτονται σημαντικά, μπορούν να διαφοροποιηθούν σε πολλά διαφορετικά χαρακτηριστικά όπως:

- Η Φαρμακογνωσία εξετάζει ένα ευρύ φάσμα φυσικών προϊόντων που χρησιμοποιούνται για ιατρικούς σκοπούς (όπως για παράδειγμα το βαμβάκι), ως φαρμακευτικά βοηθήματα και ως δηλητήρια. Η Εθνοφαρμακολογία από την σειρά της περιορίζεται στα φυσικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται στην λαϊκή ιατρική.
- Η Φαρμακογνωσία ασχολείται με τις δρόγες και τα συστατικά φυσικής προέλευσης. Η Εθνοφαρμακολογία επιδιώκει να παρέχει μία ολοκληρωμένη εικόνα της ανθρώπινης χρήσης ουσιών στην οποία περιλαμβάνει εθνογραφικά στοιχεία.

2.2 Διαμόρφωση και στάδια της Εθνοφαρμακολογικής έρευνας

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η Εθνοφαρμακολογία είναι ένας επιστημονικός κλάδος της φαρμακευτικής επιστήμης στον οποίο μπορούν να ενσωματωθούν διαφορετικές ομάδες γνωστικών αντικειμένων. Έτσι για παράδειγμα η νέα πληροφορία που προκύπτει από μία επιτόπια μελέτη σε ένα συγκεκριμένο πληθυσμό ή ομάδα, μπορεί να ενσωματωθεί και να διαμορφωθεί δυναμικά με βάση εμπειρικά στοιχεία από προηγούμενες μελέτες.

Συνήθως η εθνοφαρμακολογική έρευνα ξεκινάει με την λεγόμενη «έρευνα πεδίου» η οποία βασίζεται σε εθνογραφικές μεθόδους όπως η παρατήρηση συμμετεχόντων (συμμετοχική παρατήρηση) και μία σειρά από τεχνικές ερωτηματολογίων, καθώς και βοτανικές μεθόδους συμπεριλαμβανομένων της κωδικοποίησης (voucher number) των φυτικών ειδών και της προετοιμασίας δειγμάτων ερμπαρίου. Δεδομένου ότι η εθνοφαρμακολογία είναι μία διεπιστημονική έρευνα και συνδυάζει έννοιες ή μεθοδολογίες από τις ανθρωπιστικές επιστήμες και τις φυσικές επιστήμες, είναι σημαντικό να οριστεί το βασικό πλαίσιο μεθοδολογίας έτσι ώστε να βεβαιωθούμε ότι τα εθνοφαρμακολογικά δεδομένα πεδίου είναι έγκυρα και μπορούν να συγκριθούν διαπολιτισμικά ([Martin, 1995](#); [Alexiades, 1996](#); [Bernard, 2006](#); [Heinrich, 2009](#); [Bussmann, 2015](#)).

Για την συλλογή δεδομένων (data sampling) στην εθνοφαρμακολογική έρευνα, ουσιαστικό ρόλο παίζει ο αριθμός των συνεντεύξεων (αριθμός των πληροφοριοδοτών). Δεδομένου ότι είναι αδύνατη μία γενική απογραφή, πρέπει να πραγματοποιηθεί η συνέντευξη από ένα υπο-δείγμα του πληθυσμού. Βασική παράμετρος που καθορίζει την επιλογή του πληθυσμού είναι το επίκεντρο της εθνοφαρμακολογικής μελέτης, το οποίο μπορεί είτε να κατευθυνθεί προς την μέση τοπική «ιατρική γνώση» και έτσι ο ερευνητής να κατευθυνθεί σε ένα ιδανικά αμερόληπτο δείγμα ολόκληρου του πληθυσμού ή να υπάρξει μία πιο συγκεκριμένη επιλογή ειδικών στην βοτανοθεραπεία (γνώση εμπειρογνομόνων). Αυτή η διαφοροποίηση είναι κρίσιμη, καθώς οι ερευνητικές στρατηγικές και οι μέθοδοι δειγματοληψίας διαφέρουν ([Bernard, 2006](#)). Έτσι λοιπόν, εάν οι μελέτες επικεντρώνονται στις γνώσεις των εμπειρογνομόνων (ειδικών της χλωρίδας της περιοχής), η επιλογή των πληροφοριοδοτών πρέπει να γίνεται πολύ προσεκτικά ([Heinrich, 2009](#)). Ο [Bernard \(2006\)](#), αναφέρεται στις εξειδικευμένες γνώσεις με τον όρο «cultural data» ή «πολιτιστικά δεδομένα» και περιγράφει την απαιτούμενη μέθοδο δειγματοληψίας ως «non-probability sampling».

Είναι πολύ σημαντικό να διασφαλίζεται ότι ολόκληρη η ερευνητική διαδικασία είναι αναπαραγώγιμη, κάτι απαραίτητο για κάθε επιστημονική έρευνα. Γενικά για όλα τα φυτά στα οποία γίνεται αναφορά στις συνεντεύξεις πρέπει να τεκμηριωθούν και να επικυρωθούν με κλείδες ταξινόμησης (βοτανική) και

δείγματα ερμπαρίου. Κάθε βοτανική αναφορά της βάσης δεδομένων θα πρέπει να συνδέεται με συγκεκριμένο αριθμό «voucher» και η κατάθεση του δείγματος θα πρέπει να γίνει σε ένα αναγνωρισμένο ερμπάριο.

Παρόλο που οι ερευνητές πεδίου προσπαθούν να πάρουν αξιόπιστα δεδομένα και να επιλέξουν «πολιτισμικά» αντιπροσωπευτικούς πληροφοριοδότες από το σύνολο του πληθυσμού, σε κάθε εθνογραφικό δεδομένο υφίστανται ένα περιθώριο σφάλματος ([Romney, 1986](#)). Σύμφωνα με τον [Weller \(2007\)](#), η αξιοπιστία ενός πληροφοριοδότη καθώς επίσης και το γνωσιακό του επίπεδο μπορεί να εκτιμηθεί συγκρίνοντας τις απαντήσεις του με εκείνες των άλλων ερωτηθέντων, αξιολογώντας έτσι το επίπεδο της συμφωνίας. Μετέπειτα με την βοήθεια του λεγόμενου «triangulation», η συμφωνία που προκύπτει μεταξύ των συμμετεχόντων μπορεί να διασταυρωθεί με τον έλεγχο των συμμετεχόντων αν όντως πραγματοποιούν αυτό που πραγματικά αναφέρουν στο ερωτηματολόγιο. Όσοι περισσότεροι πληροφοριοδότες παρέχουν τις ίδιες πληροφορίες για ένα συγκεκριμένο θέμα, τόσο μεγαλύτερη είναι η πιθανότητα λήψης μίας πολιτισμικά έγκυρης εικόνας.

Προκειμένου να προσδιοριστεί η ομοιότητα (similarity) και η μοναδικότητα (uniqueness) εντός μίας πολιτισμικής κοινότητας ή μεταξύ διαφορετικών, είναι απαραίτητο να δημιουργηθεί μία κλίμακα που θα επιτρέπει την σύγκριση και να αποφασίζει αν μία εθνοφαρμακολογική αναφορά διαφέρει από κάποια άλλη. Οι μετρήσεις για την δημιουργία της κλίμακας μπορούν να βασίζονται είτε σε ποιοτικά είτε σε ποσοτικά δεδομένα. Η δυνατότητα ποσοτικοποίησης των μετρήσεων εξαρτάται από την εστίαση της έρευνας και το ερευνητικό ερώτημα. Η τεκμηρίωση και η λεπτομερής περιγραφή των τοπικών φαρμακευτικών γνώσεων, αποτελεί την βάση οποιασδήποτε εθνοφαρμακολογικής έρευνας. Για την ποσοτικοποίηση της «ιατρικής γνώσης», τα λεγόμενα «use reports» χρησιμοποιούνται ευρέως. Ορίζονται ως ένα φυτικό ή ζωικό taxon ή ακόμα και ορυκτό ή και μέρος αυτών που αναφέρονται από έναν μεμονωμένο θεραπευτή για μία συγκεκριμένη χρήση. Με τα «use reports» είναι επίσης πολύ εύκολο να γίνει αντιληπτή η συχνότητα αναφοράς των παραπάνω. Για την λήψη αξιόπιστων δεδομένων που αντιπροσωπεύουν το συνολικό μοτίβο «pattern», είναι σημαντικό να ακολουθηθεί ο «νόμος των μεγάλων αριθμών». Αυτό σημαίνει ότι ο ερευνητής πρέπει να εργαστεί όσο το δυνατόν πληρέστερα με όσο περισσότερους πληροφοριοδότες μπορεί, προκειμένου να λάβει όσο το δυνατόν περισσότερα πολιτιστικά αντιπροσωπευτικά δεδομένα. Όσο περισσότερα δεδομένα έχουμε, τόσο μικρότερο είναι το σφάλμα δειγματοληψίας και περισσότερο στατιστικά σημαντικά είναι τα αποτελέσματα. Υψηλά ποσοστά αναφορών χρήσης «user cases», βρίσκονται σε taxa που χρησιμοποιούνται πολύ συχνά σε πληθυσμούς και κοινότητες και άρα με υψηλό ερευνητικό ενδιαφέρον. Εκτός από τον αριθμό των «user cases», στην εθνοβοτανική και στην εθνοφαρμακολογική βιβλιογραφία υπάρχουν πολλοί «δείκτες». Πολλοί από αυτούς τους δείκτες είναι αμφισβητήσιμοι ([Collins, 2006](#)). Θα αναφερθούμε σε έναν από τους πιο αξιόπιστους. Αυτόν του [Trotter](#)

[και Logan \(1986\)](#): η συσχέτιση της συμφωνίας του πληροφοριοδότη (informant agreement ratio) ή ο συντελεστής συναίνεσης του πληροφοριοδότη (informant consensus factor), που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της ενδο-πολιτιστικής συναίνεσης ως προς τις θεραπείες που χρησιμοποιούνται για μία συγκεκριμένη κατηγορία ασθένειας, βασίζεται στην παρακάτω μαθηματική εξίσωση και οι τιμές του μπορεί να είναι 0 ή 1, όπου το 1 δηλώνει υψηλό δείκτη συμφωνίας.

$$F_{ic} = n_{ur} - n_{spp. \text{ used}} / n_{ur} - 1$$

όπου n_{ur} είναι ο αριθμός των αναφορών χρήσης (user reports) ανά κατηγορία χρήσης και n_{spp} είναι ο αριθμός των ειδών που χρησιμοποιείται ανα κατηγορία χρήσης.

2.3 Εθνοφαρμακολογικές μελέτες στον Ελλαδικό χώρο

Όπως αναφέρθηκε στην εισαγωγή της διατριβής, η Ελλάδα χαρακτηρίζεται από μία πολύ πλούσια βιοποικιλότητα. Παράλληλα οι διαπολιτισμικές επιρροές στην συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή της γηραιάς ηπείρου ήταν τόσο ισχυρές, που διαμόρφωσαν την πορεία εξέλιξης και πτώσης πολιτισμών. Η Ελλάδα ως απόληξη της Βαλκανικής χερσονήσου, αποτελεί κομμάτι μίας γεωγραφικής περιοχής που χαρακτηρίζεται ως μια «γέφυρα σύνδεσης» μεταξύ πολιτισμών.

Η φυτοθεραπεία στον Ελλαδικό χώρο, αποτελεί σημαντικό κομμάτι της «λαϊκής ιατρικής», ακόμα και αν έχει σε μεγάλο βαθμό αντικατασταθεί από τις πρακτικές της λεγόμενης δυτικής ιατρικής. Παρόλ' αυτά ελάχιστες μελέτες έχουν γίνει σχετικά με την εθνοφαρμακολογική χρήση της βιοποικιλότητας της Ελλάδας σε σχέση με άλλες χώρες της νότιας Βαλκανικής. Μία σχετικά παλιά μελέτη σχετικά με την γνώση των φαρμακευτικών φυτών της Ελλάδας ([Lawrendiadis, 1961](#)), ανέφερε ορισμένα στοιχεία σχετικά με τα πιο σημαντικά φυτά που χρησιμοποιούνται στην λαϊκή ιατρική σε όλη την επικράτεια.

Οι πιο πρόσφατες μελέτες έχουν επικεντρωθεί κυρίως στην περιοχή του Ζαγορίου ([Vokou, 1993](#); [Malamas, 1992](#)), Θεσσαλονίκη ([Kleftoyanni, 2003](#); [Hanlidou, 2004](#); [Karousou, 2007](#)), Κρήτη ([Skoula, 2009](#)), Πήλιο ([Brussel, 2004](#)), κεντρική Μακεδονία ([Tsioutsiou, 2017](#)) και το 2019 η εθνοφαρμακολογική μελέτη φυτών από αγορές βοτάνων της Πελοποννήσου ([Petrakou, 2019](#)).

2.4. Εθνοφαρμακολογική μελέτη των νησιών Βορείου Αιγαίου

Τα νησιά του Βορειοανατολικού Αιγαίου ([Εικόνα A2](#)) προσφέρουν ένα μοναδικό οικοσύστημα με σημαντικά «hotspots» ειδογένεσης, διαφοροποίησης και ενδημισμού. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το Αιγαίο Πέλαγος είναι ένα αρχιπέλαγος ηπειρωτικών νησιών που βρίσκεται στην σύζευξη της Ευρώπης,

της Ασίας και της Αφρικής ([Gogou, 2016](#)). Ο διαθέσιμος «οικολογικός χώρος» με «περιβαλλοντική ετερογένεια» επιπλέον με το «σύστημα γεφυρών εδάφους» με τις γειτονικές ηπείρους καθόρισε μία υψηλή χλωριδική ποικιλομορφία και ενδημισμό ([Kallimanis, 2011](#)).

Έχουν διεξαχθεί πολλές βοτανικές μελέτες σε αυτά τα νησιά ([Christodoulakis, 1986](#); [Panitsa, 1994, 1998, 2006](#); [Bazos, 2005](#); [Axiotis, 2012](#)). Παρόλα αυτά υπάρχει περιορισμένη πληροφορία σχετικά με τα φαρμακευτικά φυτά και τις παραδοσιακές φυτοθεραπείες σε αυτή την γεωγραφική περιοχή.

ΜΕΡΟΣ Α: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Οι πληροφορίες που συνοψίζονται στην παρούσα μελέτη συγκεντρώθηκαν από 15 χωριά που επιλέχθηκαν τυχαία από τα νησιά της περιοχής ([Εικόνα Α2](#)). Το μεγαλύτερο ποσοστό του πληθυσμού ασχολείται με αγροτικές ή κτηνοτροφικές εργασίες. Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε στις επιτόπιες έρευνες βασίζεται στην μελέτη του [Fujita \(1995\)](#). Τα δεδομένα συλλέχθηκαν μέσω ημιδομημένων (semi-structured) συνεντεύξεων στον ντόπιο πληθυσμό ([Martin, 1995](#)). Μετά την επεξήγηση της μελέτης μας στους πληροφοριοδότες, ένα ελληνικό ερωτηματολόγιο τους παραδόθηκε με ερωτήσεις σχετικά με την ηλικία, την εκπαίδευση, και το ενδιαφέρον τους για την παραδοσιακή ιατρική. Συνολικά συλλέχθηκαν 200 ερωτηματολόγια, 100 γυναίκες και 100 άνδρες, με μέσο όρο ηλικίας τα 40 έτη. Οι πληροφοριοδότες με γνώσεις σχετικά με τα φαρμακευτικά / αρωματικά φυτά της περιοχής, ρωτήθηκαν αρκετές φορές έτσι ώστε να γίνει αντιληπτή η επαναληψιμότητα στις απαντήσεις. Κατά την διάρκεια της συνέντευξης πραγματοποιήθηκαν ερωτήσεις σχετικά με τις τοπικές ονομασίες των φυτών, τις συντεταγμένες του τόπου συλλογής τους, τις μεθόδους παρασκευής συνταγών καθώς επίσης και τον τρόπο παραδοσιακής καλλιέργειας κάποιων ειδών.

Η πλειονότητα των εξειδικευμένων πληροφοριοδοτών ήταν ιατροί, φαρμακοποιοί και αγρότες με γνώσεις στην ταυτοποίηση των ειδών. Όλοι οι πληροφοριοδότες είχαν γνώσεις λαϊκής ιατρικής είτε από προσωπικό ενδιαφέρον, είτε από οικογενειακή παράδοση. Πρέπει να αναφερθεί ότι όλες οι πληροφορίες ελήφθησαν μετά από προφορική συγκατάθεση εκ των προτέρων από τους συμμετέχοντες, σύμφωνα με τον [κώδικα δεοντολογίας του ISE](#) (International Society of Ethnobiology).

Τα είδη που αναφέρονται στον [Πίνακα 2.1](#) αποτελούνται τόσο από αυτοφυή φυτά όσο και καλλιεργούμενα είδη. Η ταυτοποίησή τους πραγματοποιήθηκε με βάση τον χλωριδικό κατάλογο (Dimopoulos *et al.*, 2016), κωδικοποιήθηκαν με «Voucher number» και αποθηκεύτηκαν στο ερμπάριο της φαρμακευτικής σχολής Αθηνών.

Όπως αναφέραμε και στην [Παράγραφο 2.2, «Διαμόρφωση και στάδια της Εθνοφαρμακολογικής έρευνας»](#), για να εκτιμήσουμε την μεταβλητότητα χρήσης ενός φυτικού είδους, χρησιμοποιήσαμε το «Informant Consensus Factor» για κάθε φαρμακευτική κατηγορία.

$$FIC = n_{ur} - n_{spp. \text{ used}} / n_{ur} - 1$$

Υψηλή τιμή FIC υποδηλώνει συμφωνία μεταξύ των πληροφοριοδοτών σχετικά με την χρήση taxa σε μία φαρμακευτική υποκατηγορία και άρα ομοιογένεια των πληροφοριών που παρέχονται από διαφορετικούς πληροφοριοδότες.

Άλλος ένας δείκτης που χρησιμοποιήθηκε στην μελέτη μας είναι ο λεγόμενος «Fidelity Level Index (FL)». Ορίζεται με την παρακάτω εξίσωση ([Friedman, 1986](#)):

$$FL (\%) = (Np/N) \times 100$$

Όπου **Np** είναι ο αριθμός των «use reports» για ένα συγκεκριμένο φυτικό είδος ή τμήμα φυτού για το οποίο έχει αναφερθεί η χρήση του για μία συγκεκριμένη κατηγορία ασθένειας και **N** είναι ο συνολικός αριθμός των «use reports», για όλα τα φυτικά είδη ή τμήματα φυτών που χρησιμοποιούνται στην θεραπευτική.

Στον πίνακα γίνεται αναφορά και στον δείκτη «Use Value». Αυτή η τεχνική χρησιμοποιείται για να αποδείξει την σχετική σημασία στην λαϊκή ιατρική κάθε είδους φυτού, που αναγνωρίζεται η χρήση του στην τοπική κοινότητα και ορίζεται με την παρακάτω εξίσωση ([Rossato, 1999](#)):

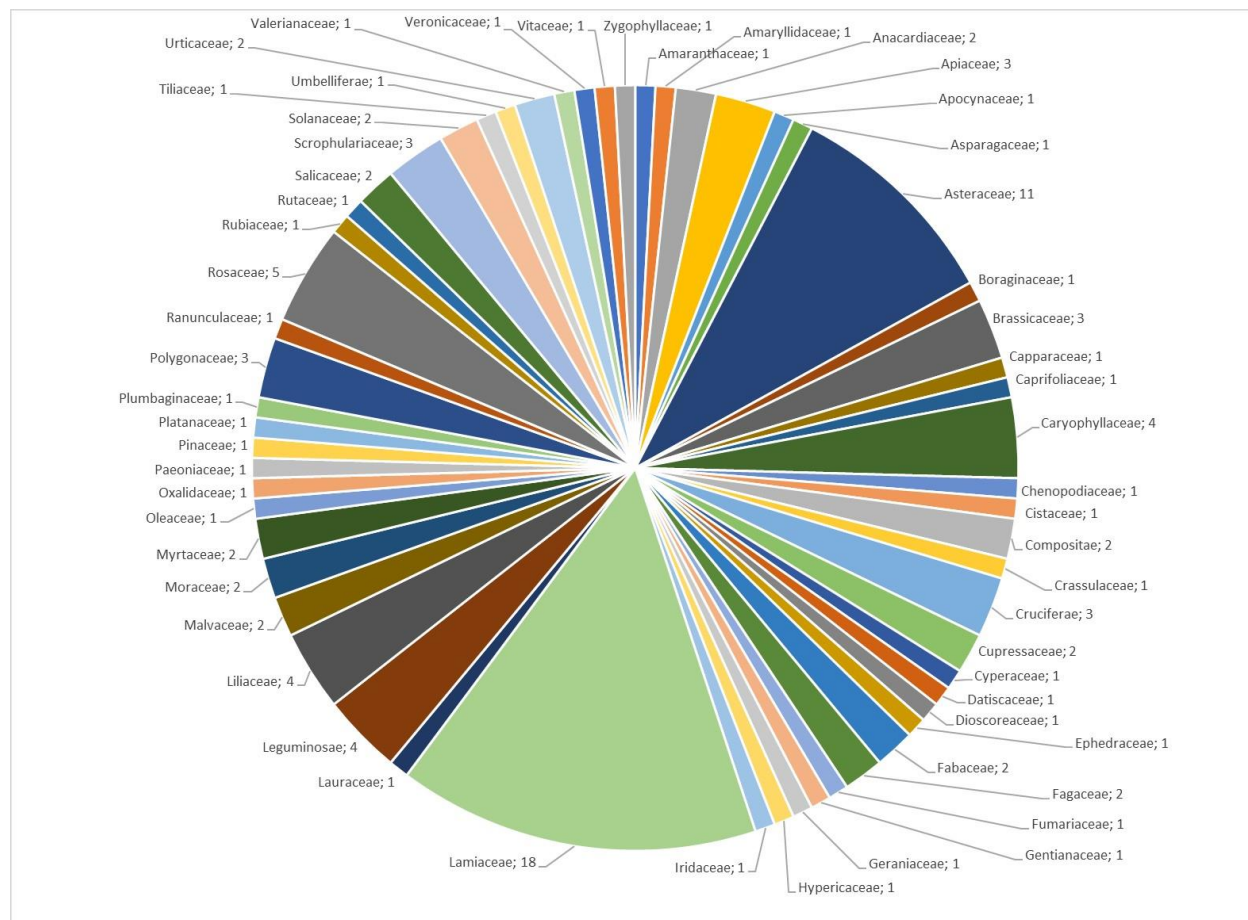
$$UV = \sum U_i / n$$

όπου **U_i** είναι ο αριθμός των χρήσεων που έχουν αναφερθεί για κάθε είδος φυτό για κάθε πληροφοριοδότη και **n** είναι ο συνολικός αριθμός των πληροφοριοδοτών.

Διεξήχθησαν βοτανικές εκδρομές στο πεδίο σε όλες τις περιοχές που αναφέρονται στην παρούσα μελέτη με τους εξειδικευμένους πληροφοριοδότες για την συλλογή δειγμάτων φυτών (με εξαίρεση τα απειλούμενα είδη). Δημιουργήθηκε ένα φωτογραφικό αρχείο των παρατηρηθέντων ειδών για να βοηθήσει στην αναγνώριση. Τα δείγματα συλλέχθηκαν και δημιουργήθηκε ερμπάριο με κωδικούς voucher. Επιπλέον αξιολογήθηκε το θεραπευτικό αποτέλεσμα και στα παρασκευάσματα κάθε φυτού με βάση τα δεδομένα που συλλέχθηκαν από τους πληροφοριοδότες συγκριτικά με βιβλιογραφικές αναφορές.

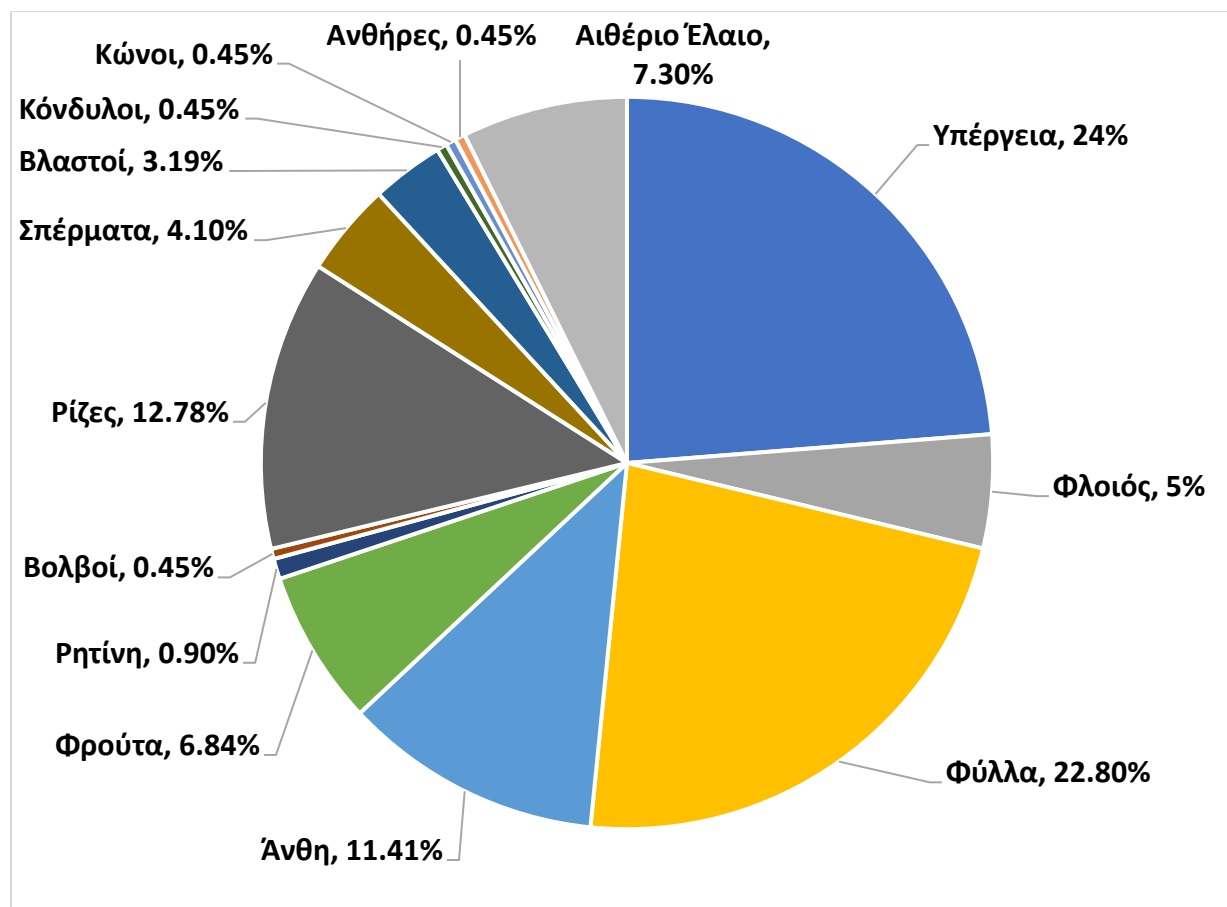
ΜΕΡΟΣ Β: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στο πλαίσιο της τρέχουσας έρευνας διερευνήθηκαν πολλά αρωματικά / φαρμακευτικά φυτά με εθνοφαρμακολογικό ενδιαφέρον (Πίνακας 2.2, σελ.76). Οι συνεντεύξεις έδειξαν ότι **109** αυτοφυή είδη από 52 διαφορετικές οικογένειες χρησιμοποιούνται στα νησιά του Βορείου Αιγαίου για θεραπευτικούς σκοπούς. Η οικογένεια Lamiaceae, αντιπροσωπεύεται από τον υψηλότερο αριθμό ειδών (17), όπως το ενδημικό και απειλούμενο *Sideritis siphylea* Boiss. Η οικογένεια Asteraceae αντιπροσωπεύεται από 11 διαφορετικά είδη, ενώ οι οικογένειες Brassicaceae και Rosaceae από 5 είδη. Οι υπόλοιπες οικογένειες φυτών φαίνονται στην **Εικόνα 2.1**.



Εικόνα 2.1. Συνολικός αριθμός φυτικών ειδών για κάθε οικογένεια αρωματικών / φαρμακευτικών φυτών.

Τα περισσότερα από τα μέρη των φυτών που αναφέρονται στην θεραπεία διαφορετικών ασθενειών τα οποία συλλέχθηκαν και αποθηκεύτηκαν ως επί το πλείστον σε γυάλινες φιάλες ως ξηρές σκόνες. Για τα διαφορετικά τμήματα φυτών χρησιμοποιήθηκε ο δείκτης FL (%). Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα μέρη είναι φύλλα (22.8%), ρίζες (12.78%), άνθη (11.41%), αιθέρια έλαια (7.30%), καρποί (6.84%) και φλοιός (5%). Το πιο κοινό παρασκεύασμα είναι το αφέψημα (**Εικόνα 2.2**).



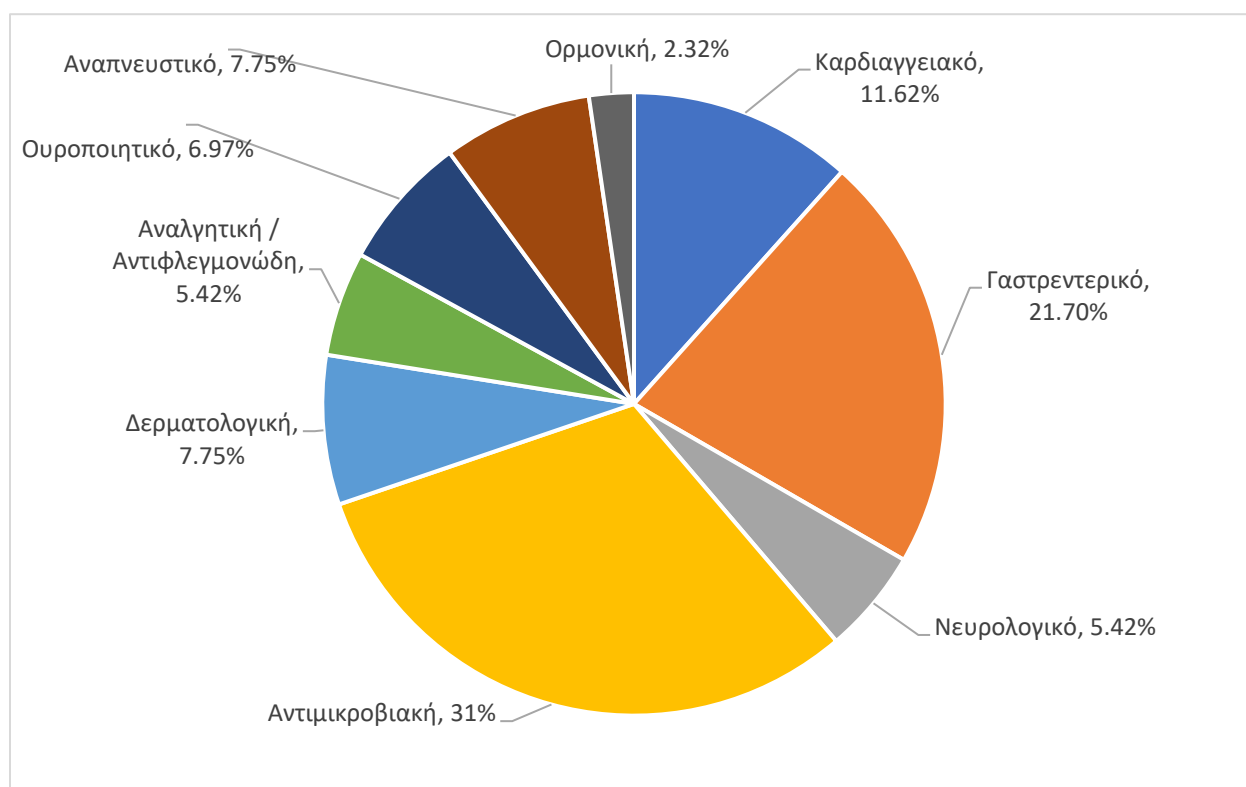
Εικόνα 2.2. FL (%) των διαφορετικών μερών των φυτών που χρησιμοποιούνται στην λαϊκή θεραπευτική.

Είναι ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι τα *Hypericum perforatum* L. και *Verbascum ikaricum* Murb. διατηρούνται σε ελαιόλαδο και χρησιμοποιούνται ως διαλύματα για την επούλωση πληγών και σε εγκαύματα από τον ήλιο. Φαρμακοποιοί από την Λέσβο, την Χίο και την Σάμο, εξακολουθούν να χρησιμοποιούν αυτά τα παρασκευάσματα ως παραδοσιακή θεραπεία για την επούλωση τραυμάτων δέρματος σε συνδυασμό με σύγχρονες θεραπείες. Επιπλέον, γιατροί από την Λέσβο χρησιμοποιούν την σκόνη της ρίζας της *Alkanna tinctoria* για την επούλωση του δέρματος μετά από τραυματισμούς. Παρατήρησαν μια παράλληλη αντιμικροβιακή δράση, η οποία μειώνει τον χρόνο επούλωσης της πληγής. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα είδη όπως *Sideritis sipylea* Boiss., *Origanum sipyleum* L. και *Thymus sipyleus* Boiss., τα οποία είναι ενδημικά φυτά, χρησιμοποιούνται από κατοίκους της Λέσβου, της Χίου και της Ικαρίας με πολλούς θεραπευτικούς σκοπούς, ειδικά για λοιμώξεις της αναπνευστικής και γαστρεντερικής οδού όπως υποδεικνύεται από τις τιμές UV ([Πίνακας 2.2](#)). Επιπλέον για την ρητίνη από την *Pistacia lentiscus* L., από την Χίο, έχει αναφερθεί η χρήση ως αντιδιαρροϊκό, αποχρεμπτικό και για την θεραπεία του έλκους. Επίσης πρέπει να αναφερθεί η χρήση του υδατικού εκχυλίσματος των ριζών του

Anthyllis hermanniae L., ως αποτελεσματική θεραπεία κατά των λίθων στα νεφρά, τόσο στην Λέσβο όσο και στην Λήμνο.

Παρατηρήθηκε επίσης ότι χρησιμοποιείται το ίδιο όνομα για διαφορετικά είδη φυτών. Για παράδειγμα τόσο για το *Cistus creticus* L. όσο και για το *Cistus salvifolius* L. αντιστοιχεί το ίδιο όνομα «αξίσταρος» και έτσι χρειάζεται μεγάλη προσοχή για την ακριβή ταυτοποίηση του είδους έτσι ώστε να αξιολογηθεί η δράση του. Επίσης τα είδη *Origanum vulgare*, *Origanum sipyleum*, αποκαλούνται και τα δύο «ρίγανη». Αυτή η αδυναμία ταυτοποίησης του ενδημικού από το καλλιεργούμενο και μη απειλούμενο είδος από τον τοπικό πληθυσμό υπογραμίζει τους κινδύνους για τα είδη που απειλούνται με εξαφάνιση.

Πολύ ενδιαφέρουσα είναι και η κατανομή των ασθενειών που αντιμετωπίζονται έναντι των φυτικών ειδών που χρησιμοποιούνται. Όπως παρουσιάζεται στην **Εικόνα 2.3**, επιλέγονται συγκεκριμένα είδη φυτών κυρίως για αντιμικροβιακή δράση, για αναπνευστικές και γαστρεντερικές διαταραχές, τοπικές φλεγμονές και επούλωση τραυμάτων ή εγκαυμάτων ή και καρδιαγγειακές παθήσεις.



Εικόνα 2.3. Κατανομή ασθενειών έναντι φυτικών ειδών που χρησιμοποιήθηκαν με βάση τον Πίνακα 2.2.

Στο **Πίνακα 2.1** συνοψίζονται οι τιμές FIC κατηγοριών ασθενειών. Οι ορμονικές διαταραχές έχουν την υψηλότερη τιμή FIC (0.722), ενώ η χαμηλότερη τιμή καταγράφεται για τις παθήσεις του καρδιαγγειακού

συστήματος (0.161). Επιπλέον για τις τιμές UV, μεταξύ των καταγεγραμμένων φυτών, την υψηλότερη τιμή εμφανίζει το είδος *Matricaria chamomilla* L. (0.75) και

Lavandula stoechas L. (0.64) και από τα ενδημικά είδη η υψηλότερη τιμή UV καταγράφεται για το *Sideritis sipylea* Boiss. (0.31).

Πίνακας 2.1. *FIC = $Nur - N_t / Nur - 1$, όπου Nur είναι ο αριθμός των αναφορών για κάθε κατηγορία και N_t είναι ο αριθμός των φυτικών ειδών που χρησιμοποιούνται. Το εύρος κυμαίνεται από 0 έως 1. Υψηλότερη τιμή FIC (τιμή στο 1) δείχνει ότι ένας σχετικά μικρός αριθμός φυτών χρησιμοποιείται από μεγάλο αριθμό πληροφοριοδοτών.

Ασθένεια	FIC*
Καρδιαγγειακές	0.161
Γαστρεντερικές	0.319
Νευρολογικές	0.571
Μικροβιακές λοιμώξεις	0.245
Δερματολογικές	0.217
Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή	0.434
Ουροποιητικό	0.214
Αναπνευστικό	0.411
Ορμονικό	0.722

Τα αιθέρια έλαια επίσης χρησιμοποιούνται ευρέως στην περιοχή της μελέτης και προέρχονται κυρίως από αρωματικά φυτά της οικογένειας Lamiaceae και παράγονται με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης με νερό σε βρασμό, υδροαπόσταξης με ατμό ή ακόμα και με μίγμα νερού-ατμού. Τα έλαια χρησιμοποιούνται συνήθως απευθείας στο δέρμα ή σε γαληνικά σκευάσματα, για δερματικές φλεγμονές ή εγκαύματα. Σε ορισμένες περιπτώσεις χρησιμοποιούνται για προβλήματα του πεπτικού (*Anthemis* sp.) ή ακόμα και για ουρολογικές λοιμώξεις (*Sideritis sipylea* Boiss.). Τα πιο συνηθισμένα φυτά που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή αιθερίων ελαίων είναι τα: *Salvia fruticosa* Miller, *Salvia officinalis* L., *Origanum vulgare* L., *Sideritis sipylea* Boiss και *Lavandula stoechas* L. Επιπλέον, έχει αναφερθεί μία παραδοσιακή μέθοδος παραγωγής ελαίου από τα πέταλα της *Rosa damascena* Mill., από ένα μικρό χωριό της Λέσβου (Φίλια). Το λάδι αυτό χρησιμοποιείται εξωτερικά για εγκαύματα ή φλεγμονές του δέρματος.

Οι φαρμακολογικές ιδιότητες των φαρμακευτικών φυτών που παρουσιάζονται στην παρούσα μελέτη έχουν ήδη επαληθευτεί από δημοσιευμένα αποτελέσματα. Για παράδειγμα, το αιθέριο έλαιο της *Laurus nobilis* L., που χρησιμοποιείται ως αντιφλεγμονώδες αναφέρεται από τους [Sayyah \(2003\)](#). Η αποχρεμπτική δράση του *Cistus creticus* L., και η χρήση της *Mentha spicata* L. για το κοινό κρυολόγημα έχουν αναφερθεί από τον [Fakir \(2009\)](#). Οι τονωτικές δράσεις του *Rosmarinus officinalis* L., και η διουρητική δράσεις του *Raphanus raphanistrum* L., έχουν αναφερθεί από τους [Bruni \(1997\)](#). Επίσης η αντιμικροβιακή και η αντιφλεγμονώδης δράση του αιθερίου έλαιου του *Sideritis sipylea* έχουν αναφερθεί από τους [Alijannis \(2001\)](#).

Γενικά όλα αυτά τα φυτά και κυρίως στην Λέσβο, Χίο, Σάμο και την Ικαρία είναι αυτοφυή. Μία σοβαρή απειλή για ορισμένα από αυτά τα φυτά, είναι ότι η συλλογή τους πραγματοποιείται σε μεγάλη ποσότητα για τις τοπικές αγορές. Μερικά από αυτά, όπως το *Sideritis sipylea* Boiss. το *Origanum sipyleum* L., το *Thymus sipyleus* Boiss, είναι καταγεγραμμένα στο «Βιβλίο με την λίστα των απειλούμενων ειδών». Πολλά είδη, όπως *Origanum vulgare* L. και *Paeonia mascula* (L.) Mill. δεν συγκαταλέγονται στα είδη προς εξαφάνιση, αλλά ο πληθυσμός τους βρίσκεται σε οριακά επίπεδα. Τα ενδημικά φυτά της περιοχής στην οποία πραγματοποιήθηκε η μελέτη αναφέρονται στον [Πίνακα 2.3](#).

Ένα μεγάλο πρόβλημα στα νησιά του Βορείου Αιγαίου είναι η αυξημένη χρήση φαρμακευτικών φυτών, κάτι το οποίο έχει οδηγήσει σε μεγάλη πίεση στους γηγενείς πληθυσμούς. Αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί με συστηματική καλλιέργεια, προκειμένου να προστατευτούν από την οριστική εξαφάνιση. Η απώλεια οικοτόπων και η αποψίλωση των δασών στην Λέσβο, την Χίο και την Σάμο, οδήγησαν σε μία γενικότερη υποβάθμιση των οικοσυστημάτων που θα οδηγήσει μακροπρόθεσμα στην εξαφάνιση πολλών ειδών.

Επίσης με την κλιματική αλλαγή υπάρχει μία γενικότερη υποβάθμιση των οικοσυστημάτων και είσοδος ξενικών φυτικών ειδών με κίνδυνο την εξαφάνιση σπάνιων ενδημικών ειδών ([Christopoulou, 2021](#); [Dimitrakopoulos, 2017, 2022](#); [Axiotis, 2019 a, 2019b, 2020a, 2020b](#)).

Πίνακας 2.2. Εθνοφαρμακολογικές χρήσεις των φαρμακευτικών / αρωματικών φυτών από τα νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου (1=Λήμνος, 2=Άγιος Ευστράτιος, 3=Λέσβος, 4=Χίος, 5=Ψαρά, 6=Οινούσες, 7=Σάμος, 8=Ικαρία, 9=Φούρνοι). Αναφέρονται τα τμήματα του φυτού που χρησιμοποιήθηκαν για τις παρασκευές (Bk, φλοιός; Lf, φύλλα; AeP, υπέργεια τμήματα; Fl, άνθη; Fr, καρποί; Rn, ρητίνη; Bu, βολβοί; Rt, ρίζες; Sd, σπέρματα; Sh, βλαστοί; Tb, κόνδυλοι; Cn, κώνοι; An, στίγματα. Use Value: UV=U/N, όπου U είναι ο αριθμός των αναφορών για κάθε είδος φυτού, και N είναι ο αριθμός των ερωτηθέντων. Σε κάθε τιμή UV αναφέρεται η κατηγορία της ασθένειας (Πίνακας 2.1), με την υψηλότερη τιμή από τις υπόλοιπες αναφορές για το ίδιο φυτικό είδος.

Οικογένεια	Βοτανική Ονομασία	Τοπική Ονομασία	Περιοχή	Voucher number	Use Value	Τμήμα Φυτού	Ασθένειες που αντιμετωπίζονται, θεραπευτικό αποτέλεσμα και προετοιμασία
Alliaceae	<i>Allium ampeloprasum</i> L.	Αγριόπρασο	3, 4, 5, 7, 8	KL183	0.24 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	AeP	Όλο το φυτό ως φυτοφάρμακο, μυκητοκτόνο, αντισηπτικό (καντιντίαση, κολπίτιδα), ανθελμινθικό
Amaranthaceae	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	Βλίτο	1, 3, 4, 7, 8	AXL035	0.07 (Γαστρεντερικές)	AeP, Lf	Όλο το φυτό ως αιμοστατικό (κατάπλασμα). Ως αφέψημα για τη διάρροια
Amaryllidaceae	<i>Galanthus elwesii</i> (Hook.f.)	Γάλανθος ο Ελβέσιος	3, 4, 6, 7	AXL036	0.06 (Νευρολογικές)	AeP	Όλο το φυτό ως αφέψημα για τη νόσο Αλτσχάιμερ

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Anacardiaceae	<i>Pistacia lentiscus</i> L.	Σχίνος	3, 4, 6, 7, 8, 9	KL191	0.40 (Γαστρεντερικές)	Lf, Rn	Φύλλα για την ανάπτυξη των μαλλιών. Ρητίνη κατά των διαρροιών, ως αποχρεμπτικό, διουρητικό και για την επούλωση του έλκους
Anacardiaceae	<i>Rhus coriaria</i> L.	Σουμάκι	3, 7	AXL037	0.33 (Γαστρεντερικές)	Sd, Lf	Φύλλα και καρποί ως διουρητικά, κατά της δυσεντερίας και της επιπεφυκίτιδας
Apiaceae	<i>Daucus carota</i> L.	Άγριο καρότο	1,2,3,4,5,7,8	KL047	0.13 (Ουροποιητικό)	AeP, Lf, Rt, Sd, Fl	Υπέργεια τμήματα βρασμένα ως ανθελμινθικό και για νεφρολιθίαση. Τσάι από άνθη για διαβήτη. Σπόροι βρασμένοι ως διουρητικά

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

							και ανθελμινθικά. Τσάι από ρίζες για νεφρολιθίαση
Apiaceae	<i>Foeniculum vulgare</i> Miller	Μάραθο	1, 2, 3, 4, 7, 8, 9	AXL001	0.14 (Γαστρεντερικές)	Lf, Fr	Καρποί για αεροφαγία. Αφέψημα από φύλλα ως διουρητικό (2 κουταλάκια του γλυκού φυτική σκόνη σε 1/2 λίτρο νερό)
Apiaceae	<i>Scandix pecten-veneris</i> L.	Χάτζικας	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	F019	0.04 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	AeP	Μαγειρεύεται και τρώγεται για αντισηπτική, αντιμικροβιακή, αντιμυκητιακή δράση
Apiaceae	<i>Tordylium apulum</i> L.	Κανκαλήθρα	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	AXL031	0.08 (Γαστρεντερικές)	AeP	Όλο το φυτό βρασμένο ως αντισηπτικό και αντιμικροβιακό του γαστρεντερικού σωλήνα
Apocynaceae	<i>Vinca major</i> L.	Βίνκα η μείζων	1, 2, 4, 7, 8	AXL038	0.14 (Δερματολογικές)	Lf	Αποξηραμένα φύλλα ως κατάπλασμα για αιμορραγίες και τσιμπήματα εντόμων. Υδατικό διάλυμα μετά από

							βρασμό για δερματίτιδα εκζέματα, ακμή
Asparagaceae	<i>Asparagus acutifolius</i> L.	Σπαράγγι	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	NEK029	0.22 (Καρδιαγγειακές)	Rt	Μαγειρεμένο, τρώγεται ως διουρητικό, τονωτικό για παθήσεις των ματιών και των νεφρών
Asphodelaceae	<i>Asphodelus aestivus</i> Brot.	Ασπούρδουλας	1, 3, 4, 7, 8	UoA003	0.35 (Δερματολογικές)	Rt	Οι ρίζες ως σκόνη με βρασμένο νερό ως σπασμολυτικό και διουρητικό. Φρεσκοκομμένες ρίζες για ψωρίαση, πληγές δέρματος (μίγμα με μαστίχα Χίου, ελαιόλαδο, κερί μέλισσας και θυμίαμα)
Asteraceae	<i>Anthemis tomentosa</i> L.	Ανθεμίζ η εριώδης	1, 3, 4, 7	KL098	0.01 (Γαστρεντερικές)	Fl (e/o)	Το αιθέριο έλαιο χρησιμοποιείται για πόνους στο στομάχι, νευρικές παθήσεις
Asteraceae	<i>Anthemis rosea</i> Sm subsp. <i>rosea</i>	Ανθέμιδα η ρόδινη	7	AXL039	0.01 (Γαστρεντερικές)	Fl	Το αιθέριο έλαιο για πόνους στο στομάχι, νευρικές παθήσεις

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Asteraceae	<i>Eupatorium cannabinum</i> L.	Ευπατόριο το καννάβινο	3, 7	AXL040	0.19 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	AeP, Rt	Τσάι από φύλλα για πυρετό, κοινά κρυολογήματα και γρίπη. Σκόνη από ρίζες ως τονωτικό
Asteraceae	<i>Artemisia arborescens</i> L.	Αψιθιά	3, 4, 7, 8	KL202	0.12 (Δερματολογικές)	AeP	Αιθέριο έλαιο για δερματικά εγκαύματα, μικροβιακή δερματίτιδα, ηλιακά εγκαύματα
Asteraceae	<i>Calendula arvensis</i> L.	Αγροδιαίτος / νεκρολούλουδο	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	AXL041	0.18 (Γαστρεντερικές)	AeP	Όλο το φυτό και ιδιαίτερα το τσάι από άνθη (ξηρά ή φρέσκα) για πληγές, αιμορροΐδες, αντισπασμωδικό
Asteraceae	<i>Carthamus lanatus</i> L.	Σταυράγκαθο	3, 4, 7, 8	AXL013	0.13 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Lf	10-12 φύλλα του φυτού αλεσμένα και 1 κουταλάκι του γλυκού βραστό, φιλτραρισμένο, για πληγές ως αναλγητικό και αντιφλεγμονώδες
Asteraceae	<i>Centaurea cyanus</i> L.	Κενταυρία η κυανή	3, 7	AXL042	0.21 (Γαστρεντερικές)	Sd, Fl	Σπέρματα βρασμένα ως καθαρτικό για τα παιδιά.

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

							Άνθη σε απεσταγμένο νερό για επιπεφυκίτιδα
Asteraceae	<i>Cichorium spinosum</i> L.	Σταμναγκάθι της Κρήτης	5, 4, 7, 8, 9	KL011	0.11 (Δερματολογικές)	Rt, Lf, Sh	Φύλλα βρασμένα για δερματικές φλεγμονές και οιδήματα (5ml βρασμένα φύλλα σε 250ml νερό)
Asteraceae	<i>Helichrysum stoechas</i> DC.	Αμάραντο	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	AXL015	0.55 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Fl (e/o)	Υδατικό διάλυμα ανθέων μετά από βρασμό για κρυολόγημα και αποχρεμπτικό. Αιθέριο έλαιο ως αντιμικροβιακό για δερματικές πληγές
Asteraceae	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Χαμομήλι	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	AXL023	0.75 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Fl (e/o)	Τσάι από άνθη και αιθέριο έλαιο ως ηρεμιστικό, αντισηπτικό, αντισπασμωδικό, αγγειοδιασταλτικό, αντιφλεγμονώδες.
Asteraceae	<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	Αγκαθούρα	1, 2, 3, 4, 7	AXL016	0.23 (Γαστρεντερικές)	AeP	Όλο το φυτό βρασμένο σε νερό για ηπατικές

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

							παθήσεις (ηπατίτιδα, κίρρωση του ήπατος)
Asteraceae	<i>Taraxacum hellenicum</i> Dahlst.	Πικροράδικο	1, 2, 3, 4, 5, 7	AXL043	0.10 (Δερματολογικές)	Lf, Rt	Τσάι του φυτού ως καθαρτικό και για χρόνιες δερματικές παθήσεις
Asteraceae	<i>Urospermum picroides</i> (L.) Scop. ex F.W. Schmidt	Άγριος ζόχος	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	AXL025	0.16 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	AeP	Μαγειρεύεται και τρώγεται για αντισηπτική, αντιμικροβιακή, αντιμυκητιακή δράση
Boraginaceae	<i>Alkanna tinctoria</i> Tausch	Αλκάννα	1, 3, 4, 5, 7, 8, 9	AXL034	0.34 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Rt	Σκόνη ρίζας εξωτερικά για αιμορροΐδες, χρόνια έλκη, αντιβακτηριακή και αντιφλεγμονώδη δράση
Brassicaceae	<i>Alliaria officinalis</i> Andr. ex DC.	Αλλιάρια	3, 4, 7	AXL044	0.41 (Αναπνευστικό)	Lf, Sh, Rt	Τα φύλλα και οι βλαστοί βράζονται (κατάπλασμα) για τα εκζέματα. Ρίζες με καυτό ελαιόλαδο για βρογχίτιδα (κατάπλασμα)
Brassicaceae	<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.	Ταγάρι του βοσκού	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	KL084	0.15 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	AeP, Fr	Όλο το φυτό ως αφέψημα ως καθαρτικό, αιμοστατικό. Ξηρό φυτικό αφέψημα για μηνορραγίες, ρινορραγίες, κυστίτιδα,

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

							ουρολιθίαση (όχι περισσότερο από 1 έτος)
Brassicaceae	<i>Lepidium latifolium</i> L.	Δράβα	3, 4, 7	AXL045	0.12 (Γαστρεντερικές)	AeP, Lf	Έγχυμα φύλλων για παθήσεις των νεφρών και του ήπατος.
Brassicaceae	<i>Nasturtium officinale</i> R.Br.	Νεροκάρδαμο	1, 2, 4, 7, 8	AXL046	0.16 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	AeP, Lf, Fr	Φυτό πλούσιο σε βιταμίνη C. Χυμός από φύλλα για παθήσεις των νεφρών και των πνευμόνων.
Brassicaceae	<i>Raphanus raphanistrum</i> L.	Ρεπάνι	1, 3, 4, 7, 8	AXL047	0.25 (Καρδιαγγειακές)	AeP	Μαγειρεμένο ως διουρητικό και αντισκορβουτικό
Brassicaceae	<i>Sisymbrium officinale</i> (L.) Scop.	Σισύμβριο	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	AXL048	0.21 (Καρδιαγγειακές)	AeP, Sh	Διουρητικό, αποχρεμπτικό
Capparaceae	<i>Capparis spinosa</i> L.var. <i>spinosa</i>	Κάππαρις	1, 3, 4, 5, 7, 8, 9	AXL021	0.41 (Γαστρεντερικές)	Rt, Fl, Lf	Οι φλοιοί των ριζών ως αναλγητικό, ανθελμινθικό, διουρητικό και αγγειοσυσταλτικό. Τουρσιά των ανθέων για πόνο στο στομάχι.

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Caprifoliaceae	<i>Sambucus nigra</i> L.	Σαμπούκος ο μελανός	1, 3, 7, 8	Ath011	0.23 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Fl, Sd	Άνθη και καρποί βρασμένοι (3-5gr ξερά μέρη σε 150ml νερό για 15 λεπτά) για βρογχίτιδα, βήχα, πυρετό και αποχρεμπτικό.
Caryophyllaceae	<i>Cerastium glomeratum</i> Thuill.	Κεράστιο	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8	AXL049	0.09 (Νευρολογικές)	AeP	Όλος ο χυμός φυτών για πονοκέφαλο ως έμπλαστρο και ως σταγόνες για ρινορραγία
Caryophyllaceae	<i>Herniaria hirsuta</i> L.	Χερνιάρια	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8	AXL050	0.07 (Καρδιαγγειακές)	AeP	Τα υπέργεια τμήματα ως χυμός ως διουρητικό
Caryophyllaceae	<i>Saponaria officinalis</i> L.	Σαπωναρία / Τσουένι	3, 7	Ath010	0.12 (Αναπνευστικό)	Rt, Lf	Όλο το φυτό βράζεται και χρησιμοποιείται ως αποχρεμπτικό
Caryophyllaceae	<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	Στελλάρια	1, 3, 4, 7, 8	AXL051	0.20 (Δερματολογικές)	AeP	Όλο το φυτό για κάθε τύπο κνησμού και ως κατάπλασμα για ψωρίαση, πληγές.

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Chenopodiaceae	<i>Chenopodium album</i> L.	Χηνοπόδιον	1, 3, 4, 7, 8, 9	AXL052	0.18 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	Lf, Fr, Rt	Φύλλα ως ανθελμινθικά, αντιρευματικά και πόνο στα δόντια. Επίσης ως κατάπλασμα για ηλιακά εγκαύματα και οιδήματα. Ο χυμός των ριζών χρησιμοποιείται για την αιματηρή διάρροια
Cistaceae	<i>Cistus creticus</i> L.	Αξίσταρος	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	KL057	0.53 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Lf, Bk	Τα φύλλα ως κατάπλασμα, ως αντισηπτικό και το τσάι ως αποχρεμπτικό
Crassulaceae	<i>Umbilicus rupestris</i> (Salisb.) Dandy	Ουμπίλικος	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	AXL053	0.10 (Καρδιαγγειακές)	AeP, Lf	Φύλλα ως διουρητικά (αφέψημα). Όλο φυτικό (χυμός) ως αντιεπιληπτικό
Cupressaceae	<i>Cupressus sempervirens</i> L.	Κυπαρίσσι	1, 3, 4, 7	KL165	0.18 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Cn	Ως αφέψημα για κοινό κρυολόγημα, διάρροια, έλκος, δυσκοιλιότητα, νυκτερινή ενούρηση, αιμορροΐδες

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Cupressaceae	<i>Juniperus oxycedrus</i> L.	Κέδρος	3, 4, 7	Pang018	0.29 (Δερματολογικές)	Fr (e/o)	30-60gr φρούτα σε 1 λίτρο λευκό κρασί για κυστίτιδα. Βάμμα φρούτων για δερματικές παθήσεις και αλωπεκία
Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Ζιζάνιο	1, 2, 3, 4, 7, 8	AXL054	0.41 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Rt, Tb, e/o	Οι ρίζες βρασμένες σε νερό ως αναλγητικό, αντισπασμωδικό. Το αιθέριο έλαιο ως αντιβηχικό, διουρητικό και καθαρτικό
Datisceae	<i>Datisca cannabina</i> L.	Δατίσκη η καννάβινος	3, 7	AXL055	0.32 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	Lf, Rt, Sh	Φύλλα για ρευματικούς πόνους και πόνους δοντιών (κατάπλασμα)
Dioscoreaceae	<i>Tamus communis</i> L.	Σβυρνιά	1, 2, 3, 4, 7, 8	KL051	0.41 (Δερματολογικές)	AeP, Rt	Η ρίζα σε λάδι (βάμμα) για ηλιακά εγκαύματα, μώλωπες
Ephedraceae	<i>Ephedra foeminea</i> Forssk.	Εφέδρα η γκριζωπή	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	AXL060	0.03 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	Sh	Φυτικό εκχύλισμα για άσθμα, αλλεργική ρινίτιδα, αλλεργικό πυρετό

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Fabaceae	<i>Medicago sativa</i> L.	Μηδική	3, 4, 7, 8	AXL061	0.04 (Καρδιαγγειακές)	Lf, AeP	Φύλλα ως αντιαιμικά, αντιαιμορραγικά. Ολόκληρο το φυτό μαγειρεμένο για προβλήματα εμμήνου ρύσεως
Fabaceae	<i>Melilotus indicus</i> (L.) All.	Μελίλοτος	1, 2, 3, 4, 7, 8	AXL062	0.10 (Γαστρεντερικές)	AeP, Sd	Σπέρματα σε χυλό για διάρροιες και πόνους στο στομάχι. Υπέργειο τμήμα ως αφέψημα ως καθαρτικό
Fagaceae	<i>Castanea sativa</i> Mill.	Καστανιά	1, 3, 4, 7, 8	AXL063	0.31 (Γαστρεντερικό)	Lf, Fr	Φύλλα και καρποί κατά της διάρροιας (βρασμός για 2 λεπτά σε 3 ή 4 δόσεις). Ως αποχρεμπτικό. Φλοιός ως αντιπυρετικό
Fagaceae	<i>Quercus ilex</i> L.	Δρυς	1, 7, 8	AXL064	0.21 (Γαστρεντερικές)	Bk	Χρόνια διάρροια, αιμορροΐδες, δυσεντερία
Fumariaceae	<i>Fumaria officinalis</i> L.	Καπνιά	1, 2, 4, 7, 8	AXL065	0.03 (Γαστρεντερικές)	AeP	Όλο το φυτό για τη θεραπεία του αποφρακτικού ήπατος. Χολαγωγικός

Gentianaceae	<i>Centaurium erythraea</i> Rafn	Θερμόχορτο	1, 3, 7, 8	AXL066	0.13 (Γαστρεντερικές)	AeP, Fl, Lf	Όλο το φυτό βρασμένο για το γαστρεντερικό και το ουροποιητικό. Το εξωτερικά φρέσκο φυτό χρησιμοποιείται για πληγές και έλκη
Geraniaceae	<i>Erodium cicutarium</i> (L.) L'Hér	Ερόδιο	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	AXL067	0.14 (Δερματολογικές)	AeP, Lf, Rt	Έγχυμα των υπέργειων τμημάτων για δήγματα ζώων και δερματικές λοιμώξεις. Φύλλα σε βρασμένο νερό ως αντιρευματικό.
Geraniaceae	<i>Geranium dissectum</i> L.	Γεράνιο	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8	AXL068	0.11 (Γαστρεντερικές)	AeP, Rt	Έγχυμα των υπέργειων τμημάτων και των ριζών για διάρροιες, δυσεντερίες, γαστρεντερίτιδα
Hypericaceae	<i>Hypericum perforatum</i> L.	Αγούδουρας / βάλσαμο	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8	Eb005	0.49 (Δερματολογικές)	AeP, Fl	Άνθη σε λάδι (βάλσαμο). Εσωτερικά για έλκη δωδεκαδακτύλου και εξωτερικά για πληγές, ηλιακά εγκαύματα, έλκη

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Iridaceae	<i>Crocus cartwrightianus</i> Herb.	Κρόκος παλάσι	8	AXL069	0.03 (Νευρολογικές)	An	Αναλγητικό (τσάι), αντισπασμωδικό, αποχρεμπτικό και ηρεμιστικό
Lamiaceae	<i>Lavandula stoechas</i> L. subsp. <i>stoechas</i>	Λεβάντα ή Αβαγιανός	3, 4, 6, 7, 8, 9	KL099	0.64 (Νευρολογικές)	AeP, Lf, Fl	Το αιθέριο έλαιο από τα λουλούδια έχει αντισπαστική, αντισηπτική και αποχρεμπτική δράση. Έγχυμα από άνθη και κλαδιά για στομαχόπονο, πονοκέφαλο, ρύθμιση εμμήνου ρύσεως
Lamiaceae	<i>Melissa officinalis</i> L.	Μελισσόχορτο	1, 3, 4, 7, 8	AXL002	0.58 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Fl, Lf	Βρασμένα φύλλα και φλοιοί ως αντισπασμωδικό αλλά και ως αφέψημα για τα κρυολογήματα
Lamiaceae	<i>Mentha longifolia</i> (L.) Huds.	Μέντα	1, 3, 7, 8, 9	KL055	0.11 (Γαστρεντερικές)	AeP, Fl	Το τσάι χρησιμοποιείται για πονοκέφαλο, λοιμώξεις του αναπνευστικού, δυσπεψία, εντερικά παράσιτα

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Lamiaceae	<i>Mentha pulegium</i> L.	Φλισκούνη	1, 3, 4, 5, 7, 8	AXL003	0.64 (Γαστρεντερικές)	AeP, Fl	Το τσάι χρησιμοποιείται για πόνους στο στομάχι και ως ορεκτικό
Lamiaceae	<i>Mentha spicata</i> L.	Μέντα	1, 3, 4, 7, 8	KL054	0.32 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	AeP, Fl	Το τσάι χρησιμοποιείται για κρυολογήματα και γρίπη
Lamiaceae	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Βασιλικός	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8	AXL070	0.28 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Fl, Bk	Έγχυμα από άνθη και κλαδιά για το κρυολόγημα και την κοινή γρίπη
Lamiaceae	<i>Micromeria juliana</i> (L.) Benth. Ex Rchb.	Πολύκομπο	3, 4, 6, 7, 8	AXL009	0.03 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	AeP	Αφέψημα κατά των κονδυλωμάτων (3 φορές/ημέρα). Το αιθέριο έλαιο έχει ισχυρή αντιβακτηριδιακή δράση
Lamiaceae	<i>Origanum calcaratum</i> Juss.	Ορίγανων το πληκτροφόρο	8	AXL071	0.12 (Ορμονικό)	e/o	Όλο το φυτό για κρυολόγημα, δυσπεψία, δυσμηνόρροια
Lamiaceae	<i>Origanum sipyleum</i> L.	ορίγανο η Σίπυλος	4, 7	CHI001	0.09 (Ορμονικό)	e/o	Όλο το φυτό για κρυολόγημα, δυσπεψία, δυσμηνόρροια

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Lamiaceae	<i>Origanum vulgare</i> L.	ορίγανο το κοινό	1, 3, 4, 7, 8	Pang004	0.31 (Αναπνευστικό)	e/o, AeP	Όλο το φυτό για κρυολόγημα, δυσπεψία, δυσμηνόρροια
Lamiaceae	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Δενδρολίβανο	1, 3, 4, 7, 8, 9	KL163	0.42 (Αναπνευστικό)	AeP, Fl (e/o), Lf	Βρασμός του φυτού και χρήση των ατμών για κοινά κρυολογήματα και πονοκέφαλο. Τσάι ως αντισηπτικό, αντισπασμωδικό, εμμηναγωγό και τονωτικό του νευρικού συστήματος
Lamiaceae	<i>Salvia fruticosa</i> Mill.	Φασκόμηλο	1, 2, 4, 7, 8, 9	KL053	0.39 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Lf (e/o)	Το τσάι χρησιμοποιείται ως ηρεμιστικό, αντιπυρετικό, αντισηπτικό και αγγειοδιασταλτικό. Το αιθέριο έλαιο χρησιμοποιείται για πόνο στο στομάχι, δυσεντερία και ανορεξία. 100gr φύλλα σε 1 lt νερό για μυκητιασική μόλυνση των ποδιών

Lamiaceae	<i>Satureja thymbra</i> L.	Σατουρέια η θύμπρα	3, 4, 5, 7, 8, 9	AXL008	0.25 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	AeP	Βραστά φύλλα για αντιβακτηριακή δράση του γαστρεντερικού και αποχρεμπτικό. Το αιθέριο έλαιο έχει αντιμυκητιακή δράση
Lamiaceae	<i>Sideritis sipylea</i> Boiss.	Σιδερίτης	3, 4, 7, 8	AXL035	0.31 (Γαστρεντερικές)	AeP (e/o)	Αιθέριο έλαιο και τσάι για λοιμώξεις του γαστρεντερικού, του ουροποιητικού συστήματος. Αντιμικροβιακή και αντιμυκητιακή δράση και ως αντισπασμωδικό για το στομάχι
Lamiaceae	<i>Stachys cretica</i> (L.) subsp <i>lesbiaca</i> Rech.f.	Στάχυς	1, 2, 3, 4, 7	AXL022	0.01 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	AeP	Το αιθέριο έλαιο ως αντιβακτηριδιακό (<i>E. coli</i>) και <i>Staphylococcus epidermidis</i>

Lamiaceae	<i>Thymbra capitata</i> (L.) Cav.	Θυμάρι	1, 3, 4, 5, 7, 8, 9	AXL072	0.18 (Αναπνευστικό)	Fl (e/o), AeP, Lf	Τσάι από φρέσκα και ξερά φύλλα για βήχα, δυσκοιλιότητα. Βραστά φύλλα ατμοί για τα κρυολογήματα. Φρέσκα φύλλα για τον πόνο των δοντιών. Η αποσύνθεση χρησιμοποιείται για έλκος δωδεκαδακτύλου (0,5-1,5mg ξηρού φυτού)
Lamiaceae	<i>Thymus sipyleus</i> Boiss.	Θύμος	4, 7	AXL073	0.10 (Αναπνευστικό)	AeP	Φύλλα φρέσκα ή ξερά σε βρασμένο νερό ως αποχρεμπτικό, καθαρτικό. Ατμοί για πνευμονικές παθήσεις και κρυολογήματα. Τσάι (0,5-1,5mg) για έλκη δωδεκαδακτύλου
Lamiaceae	<i>Ziziphora taurica</i> subsp. <i>cleonioides</i> (Boiss.) P.H. Davis	Μέντα	3	AXL004	0.26 (Γαστρεντερικές)	AeP (e/o)	Αφέψημα για πόνο στο στομάχι και έλκος δωδεκαδακτύλου. Το αιθέριο έλαιο για εξωτερικές πληγές

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i> L.	Δάφνη / Βάγια	3, 4, 7, 8	AXL074	0.43 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Lf, Fr	Φύλλα ως αντισηπτικά, διουρητικά και εμετογόνα. Το λάδι από τα φύλλα έχει αντιμικροβιακή και αντιμυκητιακή δράση
Leguminosae	<i>Anthyllis hermanniae</i> L.	Ανθυλλίς η ερμάννειος	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	NEK001	0.01 (Ουροποιητικό)	Rt	Ρίζες σε σκόνη για νεφρική νόσο (1 κουταλάκι του γλυκού σε 1 λίτρο νερό)
Leguminosae	<i>Glycyrrhiza glabra</i> Torr.	Γλυκόρριζα	3, 7	PROK007	0.17 (Αναπνευστικό)	Rt	Σκόνη ριζών ως σπασμολυτική. Το μαύρο εκχύλισμα ως αποχρεμπτικό (15-60gr σε 1 λίτρο νερό)
Leguminosae	<i>Psoralea bituminosa</i> L.	Ψωραλέα η ασφάλτοσμός	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	BO003	0.01 (Δερματολογικές)	Fl (e/o)	Το αιθέριο έλαιο χρησιμοποιείται σε δερματικά εκζέματα.
Leguminosae	<i>Spartium junceum</i> L.	Σπάρτο το βρουλόμορφο	1, 2, 4, 6, 7, 8	AXL075	0.05 (Καρδιαγγειακές)	Sh, Sd	Οι φρέσκοι φλοιοί έχουν καρδιοτονωτική, διουρητική δράση

Liliaceae	<i>Lilium candidum</i> L.	Κρίνος	3, 4	AXL076	0.14 (Δερματολογικές)	Bu	Μαλακτικό κατάπλασμα για έλκη. Ως κατάπλασμα στα εγκαύματα του δέρματος
Malvaceae	<i>Abutilon theophrastii</i> Medik.	Αβούτιλο	3,4	AXL077	0.01 (Γαστρεντερικές)	Lf, Rt	Τσάι από φύλλα και ξερή ρίζα για δυσεντερία και πυρετό. Κατάπλασμα από φύλλα για έλκη
Malvaceae	<i>Malva sylvestris</i> L.	Μολόχα	1, 2, 4, 5, 7, 8, 9	AXL078	0.40 (Αναπνευστικό)	AeP, Fl, Lf	Τσάι από άνθη και φύλλα ως αποχρεμπτικό και πνευμονικές παθήσεις (10gr σε 1000 μέρη νερού). Αφέψημα από φύλλα ως στοματικό διάλυμα για τις άφθες
Moraceae	<i>Ficus carica</i> L.	Συκιά	1, 2, 4, 6, 7, 8, 9	AXL079	0.13 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	Lf, Fr	Φύλλα σε βραστό νερό για αιμορροΐδες. Βρασμένοι καρποί ως κατάπλασμα για τη φλεγμονή των ούλων
Moraceae	<i>Morus alba</i> L.	Σκαμιά	3, 4, 7, 8	NEK029	0.02 (Καρδιαγγειακές)	Lf and Bk	Φύλλα για κοινό κρυολόγημα, φλεγμονή των ματιών, ρινορραγίες. Οι φλοιοί

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

							χρησιμοποιούνται ως αντιρευματικά, διουρητικά και αντιυπερτασικά.
Myrtaceae	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.	Ευκάλυπτος ο ρυγχωτός	3, 4, 7, 8	AXL080	0.12 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	e/o, Lf	Το αιθέριο έλαιο από φύλλα είναι ισχυρό αντισηπτικό και χρησιμοποιείται για παθήσεις των πνευμόνων
Myrtaceae	<i>Myrtus communis</i> L.subsp. <i>communis</i>	Μυρσινιά	3, 4, 6, 7, 8	KL146	0.10 (Αναπνευστικό)	Lf, Fr, e/o	Φύλλα ως αιμοστατικά, ουρολοιμώξεις, βρογχίτιδα. Αιθέριο έλαιο για την ακμή, φλεγμονή των ούλων, ψώρα
Oleaceae	<i>Olea europea</i> L var. <i>europeae</i> .	Ελιά	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	AXL081	0.04 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Lf	Αφέψημα ως αποχρεμπτικό, ρευματισμοί, καρδιαγγειακές παθήσεις, αμυγδαλίτιδα, αντισπασμωδικό,

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

							οιδήματα, προβλήματα εμμήνου ρύσεως, αιμορροΐδες.
Oxalidaceae	<i>Oxalis corniculata</i> L.	Ξινήθρα	1, 3, 4, 7, 8	AXL082	0.03 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	AeP	Υπέργεια τμήματα ως έγχυμα ως αντιπυρετικό, πόννοι στο στομάχι, ναυτία. Ολόκληρο το φυτό ως κατάπλασμα για οιδήματα.
Paeoniaceae	<i>Paeonia mascula</i> (L.) Mill. subsp <i>mascula</i>	Παιώνια	3, 4, 7	AXL026	0.01 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	Rt	Ρίζες ως αντισπασμωδικό (σε σκόνη). Το τσάι από ξηρά πέταλα χρησιμοποιείται για τον βήχα, τις αιμορροΐδες και τους κισσούς
Papaveraceae	<i>Persicaria lapathifolia</i> (L.) Delarbre	Περσικάρια	3, 8	AXL083	0.01 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	AeP, Lf	Όλο το φυτό χρησιμοποιείται για τους ρευματικούς πόνους (με αλεύρι)

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Pinaceae	<i>Pinus brutia</i> Ten.	Πεύκη	1,3,4,7,8,9	AXL084	0.06 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Rn	Ρητίνη που εφαρμόζεται εξωτερικά στο απόστημα για την προώθηση της εξόγκωσης. Για κοιλιακό άλγος, κολίτιδα. αναμειγνύεται με βούτυρο και εφαρμόζεται στην κοιλιά
Platanaceae	<i>Platanus orientalis</i> L.	Πλάτανος	1, 2, 4, 5, 7, 8	LS008	0.07 (Γαστρεντερικές)	Lf, Bk, Fr	Ο φλοιός βράζεται με ξύδι για τη διάρροια, τη δυσεντερία και τον πόνο των δοντιών. Οι καρποί βράζονται και χρησιμοποιούνται ως διουρητικά.
Plumbaginaceae	<i>Plumpago europea</i> L.	Πλουμπάγκο η ευρωπαϊκή	1, 2, 3, 4, 7	AXL085	0.02 (Δερματολογικές)	Lf, Rt	Κατάπλασμα από σκόνη φύλλων για αλωπεκία γενειάδας και τριχωτού της κεφαλής. Το βότανο αποκαλύπτεται σε πιατάκι με θείο και λάιμ και το μείγμα εφαρμόζεται στη

							συνέχεια στο προσβεβλημένο μέρος
Polygonaceae	<i>Polygonum aviculare</i> L. subsp. <i>aviculare</i>	Πολύγωνο ή πολύκομπο	1, 2, 4, 7, 8	SM014	0.01 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	AeP, Fr	Όλο το φυτό ως ανθελμινθικό, χολαγωγικό, αιμοστατικό. Για βακτηριακή δυσεντερία
Polygonaceae	<i>Rumex crispus</i> L.	Λάπαθο	1, 3, 4, 7	KL186	0.13 (Γαστρεντερικές)	Lf, Rt	Ρίζα ως καθαρτικό, χολαγωγικό και ως κατάπλασμα ή σκόνη για πληγές, έλκη. Οι καρποί ως αντιδιαρροϊκό
Ranunculaceae	<i>Anemone coronaria</i> L.	Λαλές	1,3,4,5,7,8	AXL086	0.14 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	Fl	Φρέσκα άνθη για ρευματισμούς και πόνο
Rosaceae	<i>Agrimonia eupatoria</i> L.	Αγριμόνια ή ευπατόριος	1, 3, 7	G002	0.19 (Δερματολογικές)	AeP, Rt	Όλο το φυτό είναι ισχυρά στυπτικό και χρησιμοποιείται για δερματικές παθήσεις και εξωτερικές αιμορροΐδες. Για ηπατικές παθήσεις και ίκτερο (1 κουταλάκι του γλυκού φύλλα σε 1 λίτρο νερό)

Rosaceae	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	Τρικοκκιά	1, 3, 4, 7, 8	AXL086	0.03 (Καρδιαγγειακές)	Fr , Bk	Τσάι από άνθη για κυκλοφορικά προβλήματα (10gr λουλούδια σε 1 λίτρο νερό 2-3/die για 1 μήνα
Rosaceae	<i>Potentilla recta</i> L.	Ποτεντίλλη η όρθια	3, 4	AXL010	0.01 (Γαστρεντερικές)	AeP, Rt	Ρίζες ως ισχυρό στυπτικό και η σκόνη του εξωτερικά για αιμορραγίες
Rosaceae	<i>Rosa canina</i> L.	Άγριο τριανταφυλλιά	1,2,3,4,7,8	AXL087	0.02 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Fr, Bk	Το αφέψημα χρησιμοποιείται ως τσάι για προβλήματα στα νεφρά. Οι καρποί βράζονται και πολτοποιούνται για να ληφθεί κατάπλασμα για επούλωση πληγών. Αποκατάσταση ως τσάι για σακχαρώδη διαβήτη, για αιμορροΐδες. Ως

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

							αφροδισιακό και τονωτικό (2-3 κιλά φρέσκων καρπών βράζονται και κοσκινίζονται μέσα από μουσελίνα για να ληφθεί πάστα και προστίθεται μέλι. Η πάστα καταπίνεται με άδειο στομάχι
Rosaceae	<i>Rubus sanctus</i> Schreb.	Βάτος	1, 3, 4, 7, 8	ln024	0.05 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Lf, Rt, Fr	Φύλλα ως κατάπλασμα για διάρροιες, αιμορροΐδες, κυστίτιδα
Rubiaceae	<i>Rubia tinctorum</i> L.	Ριζάρι	1,2,3,4,7	KL209	0.01 (Ορμονικές)	Rt	Ξηρές ρίζες βρασμένες ως διουρητικό, στυπτικό, χολαγωγό, εμμηναγωγό
Rutaceae	<i>Ruta chalepensis</i> L.	Απήγανος	2, 3, 4, 5, 7, 8, 9	AXL088	0.01 (Ορμονικές)	AeP, Lf	Ξηρές ρίζες βρασμένες ως διουρητικό, στυπτικό, χολαγωγό, εμμηναγωγό
Salicaceae	<i>Populus alba</i> L.	Λεύκη	1, 3, 4, 8, 9	AXL089	0.14 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	Bk	Αναλγητικό, αντιφλεγμονώδες, αντισηπτικό, διουρητικό. (Η τέφρα του φλοιού

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

							επηρεάζεται στα προσβεβλημένα μέρη)
Salicaceae	<i>Salix alba</i> L.	Ιτιά	1, 2, 3, 4, 7	AXL090	0.04 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	Bk	Πόνος, Φλεγμονή, Πυρετός
Scrophulariaceae	<i>Scrophularia canina</i> L.	Σκροφουλαρία	1, 4, 5, 6, 7, 8	DR028	0.06 (Δερματολογικές)	AeP, Lf, Bk, Rt	Όλο φυτό βρασμένο ως κατάπλασμα για πληγές, ραγάδες στο στήθος. 10-20gr φύλλα σε 1 λίτρο νερό ως αποσμητικό ως καθαρτικό
Scrophulariaceae	<i>Verbascum ikaricum</i> Murb.	Βερμπάσκο	7, 8, 9	IK091	0.02 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	AeP	Λουλούδια σε λάδι για ωτίτιδα του εσωτερικού ή μέσου αυτιού

Scrophulariaceae	<i>Verbascum mucronatum</i> Lam.	Καπτούρα, βοϊδόγλωσσα	3		0.01 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	AeP, Lf, Fl	Τα υπέργεια τμήματα του φυτού έχουν αντιμικροβιακή, αντιακή και αντιμυκητιακή δράση. 10-20gr φύλλα σε 1 λίτρο νερό, φιλτραρισμένα, για βρογχίτιδα, άσθμα, φυματίωση, ως αποχρεμπτικό. Τα αποξηραμένα ή φρέσκα άνθη βράζονται στο γάλα και εφαρμόζονται εξωτερικά για κνησμώδεις καταστάσεις.
Solanaceae	<i>Datura stramonium</i> L.	Διαβολόχορτο	1,2,3,4,7,8	A-LS 002	0.01 (Αναπνευστικό)	Lf	Αφέψημα από φύλλα για το άσθμα.
Solanaceae	<i>Hyoscyamus albus</i> L.	Υοσκάμος	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8	AXL091	0.04 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	Lf, Sd	Τα βρασμένα φύλλα και καρποί χρησιμοποιούνται ως αφέψημα για τον πόνο των νεφρών, αντισπασμωδικό και αναλγητικό

Solanaceae	<i>Mandragora officinarum</i> L.	Μανδραγούδας	6, 7, 9	BO008	0.01 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	Rt	Χυμός από την ψιλοτριμμένη ρίζα εφαρμόζεται εξωτερικά για την ανακούφιση των ρευματικών πόνων. Χρησιμοποιείται επίσης εσωτερικά για τη θεραπεία της μελαγχολίας, των σπασμών και της μανίας
Tiliaceae	<i>Tilia platyphyllos</i> Scop.	Φλαμουριά	3, 4, 7	F024	0.13 (Ουροποιητικό)	Fl, Lf, Bk	Ο φλοιός χρησιμοποιείται για ρευματισμούς και ουρικό οξύ (40gr φλοιού σε 1 λίτρο νερό και βρασμένος μέχρι τα 3/4 του συνολικού όγκου)

Urticaceae	<i>Parietaria judaica</i> L.	Κολητσίδα	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9	AXL092	0.24 (Δερματολογικές)	AeP, Lf	Όλο το φυτό ως αντιβηχικό και ως κατάπλασμα σε εγκαύματα και πληγές. Τα φρέσκα βότανα κοπανίζονται σε γουδί για να πάρουν χυμό και εφαρμόζονται στην πληγείσα περιοχή με έκζεμα.
Urticaceae	<i>Urtica dioica</i> L.	Τσουκνίδα	3, 4	AXL093	0.24 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	AeP, Sh, Lf, Rt	Όλο το φυτό αντιασματική, διουρητική, υπογλυκαιμική σαν τσάι. Τα φύλλα βράζονται σε γάλα για να παρασκευαστεί το κατάπλασμα και στη συνέχεια εφαρμόζονται στην πάσχουσα περιοχή (ρευματικός πόνος). Οι ρίζες ως τσάι (έγχυμα) για αλλεργιογόνο κνησμό στο

							δέρμα. Ολόκληρο το φυτό αναμειγνύεται με <i>Thymus</i> sp. για σακχαρώδη διαβήτη
Valerianaceae	<i>Valeriana dioscoridis</i> Sm.	Βαλεριάνα	1, 3, 4, 7, 8	AXL020	0.04 (Νευρολογικές)	Rt	2-4gr σκόνη ρίζας βρασμένη με νερό για πονοκεφάλους
Veronicaceae	<i>Digitalis cariensis</i> Jaub&Spach subsp. <i>ikarica</i> (P.H. Davis) Strid	Δακτυλίτιδα	8, 9	IK094	0.01 (Νευρολογικές)	Lf	Χρησιμοποιείται για επιληψία και επιληπτικές κρίσεις
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i> L. subsp. <i>sylvestris</i> (C.C. Gmel.)	Αμπέλι	1,3,4	KL076b	0.31 (Ανοσοποιητικό / Φλεγμονή)	Fr, Sd	Κονοποιημένοι καρποί (φρέσκοι ή αποξηραμένοι) εφαρμόζονται στο απόστημα για να προάγουν την εξόγκωση. Η κονιοποιημένη ξηρή σταφίδα εφαρμόζεται σε μώλωπες για να ανακουφίσει τον πόνο.

Κεφάλαιο 2: Εθνοβοτανική Μελέτη Φαρμακευτικών Φυτών των Νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου

Zygophyllaceae	<i>Tribulus terrestris</i> L.	Τρίβολας	1,2,3,4,7,8	AXL094	0.02 (Μικροβιακές λοιμώξεις)	Sd, Fl, Fr	Σπέρματα βρασμένα ως κατάπλασμα ως ανθελμινθικά, διουρητικά. Ξηροί καρποί για πονοκεφάλους και στοματίτιδα

Πίνακας 2.3. Ενδημικά είδη στα νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου.

Οικογένεια	Είδος	Νήσος στην περιφέρεια βορείου Αιγαίου	Voucher Number
Alliaceae	<i>Allium candargyi</i>	Λέσβος	AXL095
Alliaceae	<i>Allium pilosum</i>	Άγιος Ευστράτιος	AGE001
Amaryllidaceae	<i>Galanthus ikariae</i>	Ικαρία	IK095
Asteraceae	<i>Anthemis rosea</i> subsp. <i>rosea</i>	Σάμος	SAM096
Asteraceae	<i>Anthemis scopulorum</i>	Σάμος	SAM097
Asteraceae	<i>Carthamus leucocaulos</i>	Ικαρία, Φούρνοι	IK096
Asteraceae	<i>Centaurea acicularis</i>	Σάμος, Ικαρία, Φούρνοι	SAM098
Asteraceae	<i>Centaurea raphanina</i> subsp. <i>mixta</i>	Άγιος Ευστράτιος, Ικαρία	IK096
Asteraceae	<i>Centaurea rechingeri</i>	Σάμος	SAM098
Asteraceae	<i>Centaurea xylobasis</i>	Σάμος	SAM099
Asteraceae	<i>Crepis fraasii</i>	Λέσβος, Χίος, Σάμος, Ικαρία	AXL096
Asteraceae	<i>Leontodon graecus</i>	Χίος	CHI095
Asteraceae	<i>Onopordum majorii</i>	Σάμος, Ικαρία, Φούρνοι	SAM100
Asteraceae	<i>Ptilostemon gnaphaloides</i> subsp. <i>pseudofruticosus</i>	Ικαρία	IK097
Asteraceae	<i>Taraxacum graecum</i>	Λέσβος, Χίος, Ικαρία	AXL097
Boraginaceae	<i>Symphytum davisii</i> subsp. <i>icaricum</i>	Ικαρία	IK098
Brassicaceae	<i>Aethionema samium</i>	Λέσβος, Χίος, Σάμος, Ικαρία	AXL098
Brassicaceae	<i>Erysimum hayekii</i>	Χίος, Σάμος	CHI096
Brassicaceae	<i>Erysimum rechingeri</i>	Λήμνος	LIM001
Brassicaceae	<i>Erysimum senoneri</i> subsp. <i>icaricum</i>	Ικαρία	IK098
Brassicaceae	<i>Iberis runemarkii</i>	Ικαρία	IK099
Brassicaceae	<i>Rorippa icarica</i>	Ικαρία	IK100
Caryophyllaceae	<i>Arenaria guicciardii</i>	Λέσβος, Χίος, Σάμος	AXL099
Caryophyllaceae	<i>Paronychia chionaea</i>	Λέσβος, Χίος, Σάμος	AXL100
Geraniaceae	<i>Erodium vetteri</i>	Σάμος	SAM101
Hyacinthaceae	<i>Muscari kerkis</i>	Σάμος	SAM102
Iridaceae	<i>Crocus cartwrightianus</i>	Ικαρία	IK101
Lamiaceae	<i>Satureja icarica</i>	Ικαρία	IK102

Lamiaceae	<i>Thymus samius</i>	Σάμος	SAM103
Orchidaceae	<i>Dactylorhiza kalopissii</i> subsp. <i>pythagorae</i>	Σάμος (ορ. Καρβούνι)	SAM104
Paeoniaceae	<i>Paeonia mascula</i> subsp. <i>hellenica</i> var. <i>icarica</i>	Ικαρία	IK103
Plumbaginaceae	<i>Acantholimon aegaeum</i>	Χίος, Σάμος	SAM105
Plumbaginaceae	<i>Armeria icarica</i>	Ικαρία	IK104
Plumbaginaceae	<i>Limonium palmare</i>	Ικαρία, Φούρνοι	IK105
Polygonaceae	<i>Polygonum icaricum</i>	Λήμνος, Χίος, Ικαρία	IK106
Rubiaceae	<i>Asperula icarica</i>	Ικαρία	IK107
Rubiaceae	<i>Asperula lilaciflora</i>	Χίος, Ικαρία	CHI096
Rubiaceae	<i>Asperula nitida</i> subsp. <i>mytilinica</i>	Λέσβος, Χίος	AXL101
Rubiaceae	<i>Asperula samia</i>	Σάμος	SAM106
Rubiaceae	<i>Galium conforme</i>	Χίος	CHI097
Rubiaceae	<i>Galium pastorale</i>	Σάμος (ορ. Κέρκη)	SAM107
Rubiaceae	<i>Galium samium</i>	Σάμος, Ικαρία	SAM108
Scrophulariaceae	<i>Verbascum ikaricum</i>	Ικαρία	SAM109
Veronicaceae	<i>Cymbalaria microcalyx</i> subsp. <i>dodecanesi</i>	Ικαρία	IK108
Veronicaceae	<i>Digitalis cariensis</i> subsp. <i>ikarica</i>	Ικαρία	IK109
Veronicaceae	<i>Veronica sartoriana</i>	Σάμος	SAM110

2.6. Συμπεράσματα

Τα ελληνικά νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου είναι ένα σύνολο εννέα κατοικημένων νησιών (Λήμνος, Άγιος Ευστράτιος, Λέσβος, Χίος, Ψαρά, Οινούσες, Σάμος, Ικαρία και Φούρνοι) που βρίσκονται στο βόρειο τμήμα του Αιγαίου, κοντά στη Μικρά Ασία. Κάθε νησί αυτής της περιοχής μπορεί να θεωρηθεί αυτόνομο από άποψη πολιτισμού και βιοποικιλότητας.

Στα πλαίσια της παρούσας διατριβής καταγράφηκαν και αξιολογήθηκαν οι παραδοσιακές χρήσεις των φαρμακευτικών / αρωματικών φυτών στην περιοχή αυτή. Ενδημικά και απειλούμενα είδη όπως *Sideritis sipylea* Boiss., *Origanum sipyleum*, *Thymus sipyleus* Boiss., *Pistacia lentiscus*, *Verbascum ikaricum* Murb., εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία διαφόρων παθήσεων. Επιπλέον, η χρήση ορισμένων ενδημικών ειδών στα νησιά του Βορείου Αιγαίου, για τη θεραπεία συγκεκριμένων ασθενειών, αναφέρεται για πρώτη φορά. Αναφέρονται περίπου 109 αυτοφυή φυτά φαρμακευτικής σημασίας, από 52 οικογένειες, και παρατίθενται πίνακες με τις καταγεγραμμένες χρήσεις τους για θεραπευτικούς σκοπούς και τα γαληνικά σκευάσματα που παρέχονται από τοπικούς γιατρούς και φαρμακοποιούς.

Οι πληροφορίες προέρχονται από βιβλιογραφικές πηγές και συλλέχθηκαν επιπλέον μέσω τυποποιημένων ημιδομημένων συνεντεύξεων (semistructured interview) που πραγματοποιήθηκαν σε 200 πληροφοριοδότες (100 άνδρες και 100 γυναίκες). Επιπλέον, ο παράγοντας συναίνεσης πληροφοριών (FIC) και η τιμή UV υπολογίστηκαν για τα φαρμακευτικά φυτά στην τρέχουσα μελέτη σε σχέση με τις ασθένειες που αντιμετωπίστηκαν.

Η μελέτη αυτή επιβεβαιώνει τη σημασία των φαρμακευτικών φυτών και της χρήσης τους στην παραδοσιακή ιατρική στην περιοχή αυτή ακόμα και αν μεγάλο μέρος του πληθυσμού των νήσων στηρίζεται στην σύγχρονη δυτική ιατρική σε αντίθεση με τους πληθυσμούς των ακτών της Μικράς Ασίας.

Αποτελεί ένα πολύ σημαντικό βήμα για τη διατήρηση της τοπικής γνώσης τόσο για περαιτέρω επιστημονική έρευνα όσο και για την προστασία των απειλούμενων και ενδημικών φαρμακευτικών φυτών στα νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου.

2.7. Βιβλιογραφικές αναφορές

- Alexiades, M.N.** (1996). Collecting ethnobotanical data: An introduction to basic concepts and techniques, in *Selected Guidelines for Ethnobotanical Research: A Field Manual* (eds M.N. Alexiades and J.W. Sheldon), *Advances in Economic Botany*, New York Botanical Garden Bronx, New York, 53–94.
- Aligiannis, N.**, Kalpoutzakis, E., Chinou, I. B., Mitakou, S., Gikas, E., and Tsabropoulos, A. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of five taxa of *Sideritis* from Greece. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49, 811–815.
- Axiotis, E.**; Axiotis, M.; Tan, K. New floristic records in the Balkans. *Phytol. Balc. (Sofia Online)*, 2020a, 26(3), 537–572.
- Axiotis, E.**; Axiotis, M.; Tan, K. New floristic records in the Balkans. *Phytol. Balc. (Sofia Online)*, 2020b, 26(2), 187–216.
- Axiotis, E.**; Verloove, F.; Tan, K. New floristic records in the Balkans. *Phytol. Balc. (Sofia Online)*, 2019a, 25(1), 97–120.
- Axiotis, E.**; Axiotis, M.; Tan, K. New floristic records in the Balkans. *Phytol. Balc. (Sofia Online)*, 2019b, 24(3), 397–461.
- Axiotis, M.** & Axiotis, E. (2012). *Medicinal Plants of Greece. The Research in Lesvos Island*. Athens: Endelexeia Editions.
- Bazos, I.** (2005). Study of the Flora and Vegetation of Lesvos. Ph.D. thesis, University of Athens, Athens.
- Bernard, H.R.** (2006). *Research Methods in Anthropology – Qualitative and Quantitative Approaches*, Altamira Press, New York.
- Bruni, A.**, Ballero, M., and Polli, F. Quantitative ethnopharmacological study of the Campidano Valley and Urzulei district, Sardinia, Italy. *J. Ethnopharmacol.*, 1997, 57, 97–124.
- Brussell, D.E.** Medicinal plants of Mt. Pelion, Greece, *Econ. Bot.*, 2004, 58, S174–S202.
- Bye, R.**; Linares, E; & Estrada, E. (1995). Biological diversity of medicinal plants in Mexico, in *Phytochemistry of Medicinal Plants* (eds J.T. Arnason, R. Mata, and J.T. Romeo), Plenum Press, New York, 65–82.
- Bussmann, R.W.** (2015). Taxonomy – an irreplaceable tool for validation of herbal medicine, in *Evidence-Based Validation of Herbal Medicines. Farm to Pharma*, (ed. P. Mukherjee), Elsevier, 87–118.
- Christodoulakis, D.** (1986). Flora and Vegetation of Samos. Ph.D. thesis, University of Patras, Patras.
- Christodoulakis, D.** The flora of Ikaria (Greece, E. Aegean Islands). *Phyton*, 1996, 36, 63–91.
- Christopoulou, A.**; Christopoulou, A.; Fyllas, N.M.; Dimitrakopoulos, P.G. Arianoutsou, M. How effective are the protected areas of the natura 2000 network in halting biological invasions? A case study in Greece. *Plants*, 2021, 10(10), 2113.
- Collins, S.**; Martins, X.; Mitchell. Quantitative ethnobotany in two East Timorese cultures. *Econ. Bot.*, 2006, 60, 347–361.
- Dimitrakopoulos, P.G.**; Koukoulas, S.; Galanidis, A.; Delipetrou, P.; Gounaridis, D.; Touloumi, K.; Arianoutsou, M. Factors shaping alien plant species richness spatial patterns across Natura 2000 Special Areas of Conservation of Greece. *Sci. Total Environ.*, 2017, 601–602, 461–468.
- Dimitrakopoulos, P.G.**; Koukoulas, S.; Michelaki, C.; Galanidis, A. Anthropogenic and environmental determinants of alien plant species spatial distribution on an island scale. *Sci. Total Environ.*, 2022, 805, 150314.
- Dimopoulos, P.**; Raus, T.; Bergmeier, E. Vascular plants of Greece: An annotated checklist. Supplement, *Willdenowia*, 2016, 46, 3, 301–347.

- Efron, D.;** Holmstedt, B.; & Kline, N.L. (1970). Ethnopharmacologic Search for Psychoactive Drugs, Government Printing Office, Public Health Service Publications No. 1645 (original 1967), Etkin, N.L. Anthropological methods in ethnopharmacology. *J. Ethnopharmacol.*, 1993, 38, 93–104. Reprint, Washington, D.C.
- Fakir, H.;** Korkmaz, M., and Güller, B. Medicinal plant diversity of Western Mediterranean region in Turkey. *J. Appl. Biol. Sci.*, 2009, 3, 30–40.
- Friedman, J.;** Yaniv, Z.; Dafni, A.; & Palewitch, D. A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among Bedouins in the Negev Desert, Israel. *J. Ethnopharmacol.*, 1986, 16, 2-3, 275–287.
- Fujita, T.;** Sezik, E.; Tabata, M.; Yesilada, E.; Honda, G.; Takeda, Y. Traditional medicine in Turkey vii. Folk medicine in middle and west Black Sea regions. *Econ. Bot.*, 1995, 49, 406–422.
- Gesler, W.M. Therapeutic landscapes: Medical issues in light of the new cultural geography. *Soc. Sci. Med.*, 1992, 34, 735–746.
- Gogou, A.;** Triantaphyllou, M., Xoplaki, E., Izdebski, A., Parinos, C., Dimiza, M. Climate variability and socio-environmental changes in the northern Aegean (NE Mediterranean) during the last 1500 years. *Quat. Sci. Rev.*, 2016, 136, 209–228.
- Hanlidou, E.;** Karousou, R.; Kleftoyanni, V. & Kokkini, S. The herbal market of Thessaloniki (N Greece) and its relation to the ethnobotanical tradition. *J. Ethnopharmacol.*, 2004, 91, 2-3, 281–299.
- Heinrich, M.;** Edwards, S.; Moerman, D.E. & Leonti, M. Ethnopharmacological field studies: a critical assessment of their conceptual basis and methods. *J. Ethnopharmacol.*, 2009, 124, 1–17.
- Holmstedt, B.** An overview of ethnopharmacology. Historical survey. *Psychopharmacol. Bull.*, 1967, 4 (3), 2–3.
- Johns, T.** (1990). With Bitter Herbs They Shall Eat it: Chemical Ecology and the Origins of Human Diet and Medicine, University of Arizona Press, Tucson.
- Kallimanis, A. S.;** Panitsa, M., Bergmeier, E., and Dimopoulos, P. Examining the relationship between total species richness and single island palaeo- and neo-endemics. *Acta Ecol. Int. J. Ecol.*, 2011, 37, 65–70.
- Karousou, R.;** Balta, M.; Hanlidou, E.; & Kokkini, S. “Mints”, smells and traditional uses in Thessaloniki (Greece) and other Mediterranean countries, *J. Ethnopharmacol.*, 2007, 109, 2, 248–257.
- Kleftoyanni, V. &** Kokkini, S. The Labiatae plants used traditionally in Thessaloniki, *Bocconeae*, 2003, 16, 1117–1121.
- Lawrendiadis, G.** Contribution to the Knowledge of the Medicinal Plants of Greece. *Planta Med.*, 1961, 9, 164–169.
- Leonti, M. &** Casu, L. Traditional medicines and globalization: current and future perspectives in ethnopharmacology. *Front. Pharmacol.*, 2013, 4, 92.
- Logan, M.H. &** Dixon, A.R. (1994). Agriculture and the acquisition of medicinal plant knowledge, in Eating on the Wild Side, (ed. N.L. Etkin), University of Arizona Press, Tucson, 25–45.
- Malamas, M. &** Marselos, M. The tradition of medicinal plants in Zagori, Epirus (northwestern Greece), *J. Ethnopharmacol.*, 1992, 31, 197–203.
- Martin, G.M.** (1995) Ethnobotany, Chapman and Hall, London.
- Panitsa, M.;** Dimopoulos, P.; Iatrou, G.; & Tzanoudakis, D. Contribution to the study of the Greek flora: flora and vegetation of the Enousses (Oinousses) islands (E. Aegean area). *Flora*, 1994, 189, 69–78.
- Panitsa, M.;** & Tzanoudakis, D. Contribution to the study of the Greek flora: flora and vegetation of the E. Aegean islands Agathonisi and Pharmakonisi. *Willdenowia*, 1998, 28, 95–116.
- Panitsa, M. & Tzanoudakis, D. A floristic investigation of the islet groups Arki and Lipsi (East Aegean area, Greece). *Folia Geobot.*, 2001, 36, 265–279.

- Panitsa, M.;** Tzanoudakis, D.; Triantis, K. A. & Sfenthourakis, S. Patterns of species richness on very small islands: the plants of the Aegean archipelago. *J. Biogeogr.*, 2006, 33, 1223–1234.
- Panitsa, M.;** Trigas, P.; Iatrou, G. & Sfenthourakis, S. Factors affecting plant species richness and endemism on land-bridge islands – An example from the East Aegean archipelago. *Acta Oecol.*, 2010, 36, 431–437.
- Petrakou, K.;** Iatrou, G.; Lamari, F.N. Ethnopharmacological survey of medicinal plants traded in herbal markets in the Peloponnisos, Greece. *J. Herb. Med.*, 2009, 100305.
- Romney, A.K.;** Weller, S. & Batchelder, W. Culture as consensus: A theory of culture and informant accuracy. *Am. Anthropol.*, 1986, 88, 313–338.
- Rossato, S.C.;** Leitão, F.H.; Begossi, A. Ethnobotany of Caiçaras of the Atlantic Forest Coast (Brazil). *Econ. Bot.*, 1999, 53, 387–395.
- Sayyah, M.;** Saroukhani, G., Peirovi, A., and Kamalinejad, M. Analgesic and antiinflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* Linn. *Phytother. Res.*, 2003, 17, 733–736.
- Skoula, C.;** D’Agata, Dal Cin & Sarpaki, A. Contribution to the ethnobotany of Crete, Greece, *Boccone*, 2009, 23, 479– 487.
- Trotter, R. & Logan, M.** (1986). Informant consensus, a new approach for identifying potentially effective medicinal plants, in *Plants in Indigenous Medicine and Diet, Biobehavioral Approaches* (ed. N.L. Etkin), Redgrave Publishers, Bedford Hills, NY, 91–112.
- Tsioutsiou, E.E.;** Giordani, P.; Hanlidou, E.; Biagi, M.; De Feo, V.; Cornara, L. Ethnobotanical Study of Medicinal Plants Used in Central Macedonia, Greece. *Evidence-based Complement. Altern. Med.*, 2019.
- Vokou, D.;** Katradi, K. & Kokkini, S. Ethnobotanical survey of Zagori (Epirus, Greece), a renowned centre of folk medicine in the past. *J. Ethnopharmacol.*, 1993, 39 (3), 187–196.
- Wardwell W.I.** Alternative medicine in the United States. *Sue. Sci. Med.*, 1994, 38, 1061–1068.
- Weller, S.C.** Cultural consensus theory: Applications and frequently asked questions. *Field Method.*, 2007, 19, 339–36.

Κεφάλαιο 3

Η χρήση της Τεχνητής Νοημοσύνης στην Εθνοφαρμακολογική Αναζήτηση με Αλγόριθμους Μηχανικής Μάθησης

Γενικά

Όπως αναφέραμε και σε προηγούμενο κεφάλαιο, η Εθνοφαρμακολογία είναι ένα διεπιστημονικό πεδίο έρευνας που βασίζεται τόσο σε ανθρωπολογικές όσο και σε επιστημονικές προσεγγίσεις ([Heinrich, 2015](#)). Η ανάπτυξη μιας τυπικής επιστημονικής προσέγγισης για την ανάκτηση πληροφοριών από την εμπειρική χρήση και τον καθορισμό μιας φαρμακολογικής αξίας από τα παραδοσιακά σκευάσματα θεωρείται ένα εξαιρετικά περίπλοκο και δύσκολο έργο, που φιλτράρεται έντονα από την εξέλιξη της ανθρώπινης ιστορίας ([Lukman, 2007](#)).

Στην περιοχή της Νοτιοανατολικής Ευρώπης, οι εθνοβοτανικές μελέτες παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον λόγω των πολιτικών και οικονομικών αλλαγών που έχουν επηρεάσει τους τοπικούς τρόπους ζωής, τις οικονομίες, τους τρόπους διατροφής και τη μετάδοση της παραδοσιακής γνώσης σχετικά με τις τοπικές πρακτικές που σχετίζονται με την υγεία. ([Quave, 2012](#)).

Η πρόκληση της ανακάλυψης και του εμπλουτισμού των γνώσεων με προϋπάρχουσα επιστημονική έρευνα ήταν μια επίμονη ανάγκη της επιστημονικής κοινότητας. Σήμερα, τα έξυπνα συστήματα γνωστά ως «focused crawlers» ([Chakrabati, 1999](#)), έχουν υποστηρίξει ειδικούς τομείς στην εξατομικευμένη αναζήτηση. Τέτοιες προσεγγίσεις συνδυάζουν τη δύναμη των μηχανών αναζήτησης με τη ρητή ανατροφοδότηση του χρήστη για τον εντοπισμό των εγγράφων που αφορούν στο μέγιστο το ενδιαφέρον του ειδικού. Ο ανιχνευτής αξιοποιεί ένα περιορισμένο σύνολο λέξεων -κλειδιών, που παρέχονται από τους χρήστες, για την ανάκτηση σχετικών εγγράφων. Οι ειδικοί, λοιπόν, επιλέγουν αυτά που σχετίζονται με το ενδιαφέρον τους και τα τροφοδοτούν πίσω στον ανιχνευτή. Με τις επόμενες επαναλήψεις, ο ανιχνευτής μπορεί να εντοπίσει νέες λέξεις-κλειδιά και να ανακτήσει πιο σχετικά έγγραφα βελτιώνοντας τις αναζητήσεις του.

Πρόσφατες εργασίες χρησιμοποίησαν τεχνικές εξόρυξης δεδομένων για τον προσδιορισμό της γνώσης που σχετίζεται με την εθνοφαρμακολογία ([Yadong, 2019](#)). Ωστόσο, καμία εργασία δεν έχει ακόμη προσφέρει εξατομικευμένη, προσαρμοστική υποστήριξη σε πραγματικό χρόνο σε ειδικούς. Η παρούσα μελέτη επικεντρώνεται στην ταξινόμηση της εθνοφαρμακολογικής γνώσης της Ελλάδας, των νότιων Βαλκανίων και της παράκτιας ζώνης της Μικράς Ασίας (**Εικόνα 3.1**), με ευρύτερο στόχο την εισαγωγή μιας εξατομικευμένης υπολογιστικής προσέγγισης στη βιοϊατρική εξόρυξη ως αποτελεσματικό επιστημονικό εργαλείο, για έρευνα στην εθνοφαρμακολογία.

Η εθνοφαρμακολογική αναζήτηση σε ένα ευρύτερο γεωγραφικό πεδίο από αυτό της περιοχής του Βορείου Αιγαίου έγινε με στόχο να αυξηθεί η βάση δεδομένων (έγγραφα εθνοφαρμακολογικού ενδιαφέροντος που ανακτώνται), απαραίτητη για την δημιουργία ενός ικανοποιητικού “pool” για την σωστή «εκπαίδευση» των αλγορίθμων μηχανικής μάθησης.



Εικόνα 3.1. Η Γεωγραφική Ζώνη Εθνοφαρμακολογικού Ενδιαφέροντος. Νότια Βαλκανική και παράκτια ζώνη της Μικράς Ασίας.

Αυτή η προσέγγιση εφαρμόζει τεχνικές Μηχανικής Μάθησης (ML), για την λήψη α) αυτοματοποιημένων συμπερασμάτων σχετικά με τα ενδιαφέροντα του ειδικού και β) την βελτιστοποίηση της διαδικασίας ανίχνευσης (πληροφορίες σχετικά με την έρευνα), με στόχο την ελαχιστοποίηση της ανατροφοδότησης του ειδικού, με έγγραφα που έχουν ανακτηθεί ξανά.

Προτείνεται ένα έξυπνο σύστημα αναζήτησης που υποστηρίζει πρακτικά την εθνοφαρμακολογική έρευνα μέσω εστιασμένης ανίχνευσης, χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό Ενεργούς Μάθησης (AL) και Ενισχυτικής Μάθησης (RL).

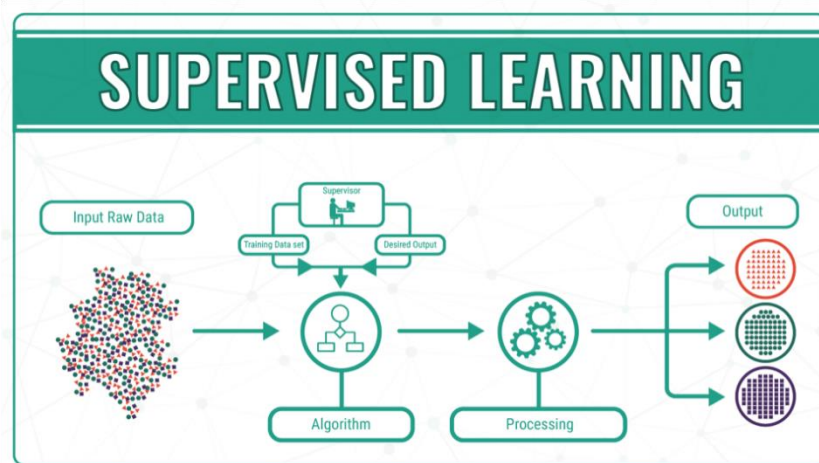
3.1. Εισαγωγή στην Μηχανική Μάθηση (ML)

Η Μηχανική Μάθηση (Machine Learning) είναι ένα υποσύνολο της Τεχνητής Νοημοσύνης (Artificial Intelligence). Ένα πρόγραμμα υπολογιστή θεωρείται ότι μαθαίνει από εμπειρία E ως προς μία κλάση εργασιών T και ένα μέτρο επίδοσης P , αν η επίδοσή του σε εργασίες της κλάσης T , όπως αποτιμάται από το μέτρο P , βελτιώνεται με την εμπειρία E (Mitchell, 1997). Οι αλγόριθμοι της Μηχανικής Μάθησης τις περισσότερες φορές απαιτούν την ύπαρξη ενός συνόλου δεδομένων, το οποίο περιέχει παρατηρήσεις για ένα συγκεκριμένο πρόβλημα, και προσπαθούν να προβλέψουν ή να πάρουν αποφάσεις με αυτοματοποιημένο τρόπο.

Οι κύριες κατηγορίες της Μηχανικής Μάθησης είναι η Επιβλεπόμενη, η Μη Επιβλεπόμενη Μάθηση και η Ενισχυτική Μάθηση.

3.1.1. Επιβλεπόμενη Μάθηση

Η Επιβλεπόμενη Μάθηση (Supervised Learning) είναι η διαδικασία μάθησης όπου ο αλγόριθμος κατασκευάζει μία συνάρτηση που απεικονίζει δεδομένες εισόδους (σύνολο εκπαίδευσης) σε γνωστές επιθυμητές εξόδους, με απώτερο στόχο τη γενίκευση της συνάρτησης αυτής και για εισόδους με άγνωστη έξοδο ([Kontogiannis, 2021](#)). Η διαδικασία αυτή προϋποθέτει την ύπαρξη ενός συνόλου δεδομένων, το οποίο περιλαμβάνει επισημειωμένες παρατηρήσεις (labeled data). Το σύνολο αυτών των δεδομένων αποτελεί το σύνολο εκπαίδευσης (training set) της μάθησης. Ο αλγόριθμος της Επιβλεπόμενης Μάθησης (**Εικόνα 3.2**) έχει ως στόχο να αναλύει τα δεδομένα του συνόλου εκπαίδευσης και να συμπεραίνει μία συνάρτηση που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αντιστοιχήσει νέες παρατηρήσεις στις σωστές τους επισημειώσεις (labels).



Εικόνα 3.2. Διαδικασία Επιβλεπόμενης Μάθησης (Supervised Learning).

Στην Επιβλεπόμενη μάθηση υπάρχουν 2 υποκατηγορίες. Η ταξινόμηση (classification) και η παλινδρόμηση (regression). Στην ταξινόμηση, το πρόβλημα περιέχει ως υποσημειώσεις κλάσεις, δηλαδή κατηγορίες της ταξινόμησης και το μοντέλο εκπαιδεύεται έτσι ώστε να προβλέπει την σωστή κλάση εισόδου. Στην παλινδρόμηση, το πρόβλημα περιέχει ως επισημειώσεις συνεχείς τιμές και το μοντέλο εκπαιδεύεται ώστε να προβλέπει την τιμή που αντιστοιχεί στην είσοδο (**Εικόνα 3.2**).

3.1.2. Μη Επιβλεπόμενη Μάθηση

Η Μη Επιβλεπόμενη Μάθηση (Unsupervised Learning) είναι η μάθηση στην οποία τα δεδομένα δεν είναι επισημειωμένα (unlabeled data). Πιο συγκεκριμένα προσπαθεί να εντοπίσει μοτίβα στο σύνολο των παρατηρήσεων που δεν έχουν εντοπιστεί. Η Μη Επιβλεπόμενη Μάθηση έχει ανάγκη από τον ανθρώπινο παράγοντα για την εύρεση του συνόλου των παρατηρήσεων και για την αξιολόγηση της χρησιμότητας των παραγόμενων αποτελεσμάτων. Στην συγκεκριμένη περίπτωση ο αλγόριθμος κατασκευάζει ένα μοντέλο για κάποιο σύνολο εισόδων υπό μορφή παρατηρήσεων χωρίς να γνωρίζει τις επιθυμητές εξόδους. Η συνηθέστερη υποκατηγορία της αφορά την συσταδοποίηση (clustering) των

παρατηρήσεων. Μία άλλη υποκατηγορία της Μη Επιβλεπόμενης Μάθησης είναι τα Παραγωγικά Μοντέλα (Generative Models) τα οποία λαμβάνουν τις μη επισημειωμένες παρατηρήσεις σαν είσοδο και επιστρέφουν νέες παραγόμενες οι οποίες προέρχονται από την ίδια κατανομή. Με αυτόν τον τρόπο αυτά τα μοντέλα, μαθαίνουν την οργάνωση και την δομή των παρατηρήσεων, με σκοπό να παράξουν νέες πανομοιότυπες.

3.1.3. Ενισχυτική Μάθηση

Στην Ενισχυτική Μάθηση (Reinforcement Learning) ή **RL**, υπάρχει ένας ευφυής πράκτορας (agent), ο οποίος «ζει» σε ένα περιβάλλον (environment) (**Εικόνα 3.3**). Το περιβάλλον παρέχει καταστάσεις (states). Ο πράκτορας μπορεί κάθε στιγμή (**t**) να βρίσκεται σε μία κατάσταση (**state**) ή **S_t**. Όταν ο πράκτορας βρίσκεται σε μία κατάσταση, το περιβάλλον του παρέχει δράσεις (actions), τις οποίες μπορεί να επιλέξει. Όταν ο πράκτορας επιλέγει κάποια δράση στην χρονική στιγμή (**t+1**), τότε μετακινείται σε κάποια άλλη κατάσταση (**S_{t+1}**) επιλέγοντας κάποια διαθέσιμη δράση (**action**) ή **A_t**. Η μετακίνησή του αυτή ανταμοίβεται από το περιβάλλον με μία επιβράβευση (reward). Η συνάρτηση της επιβράβευσης ορίζεται:

$$r_t = R(S_t, A_t, S_{t+1})$$

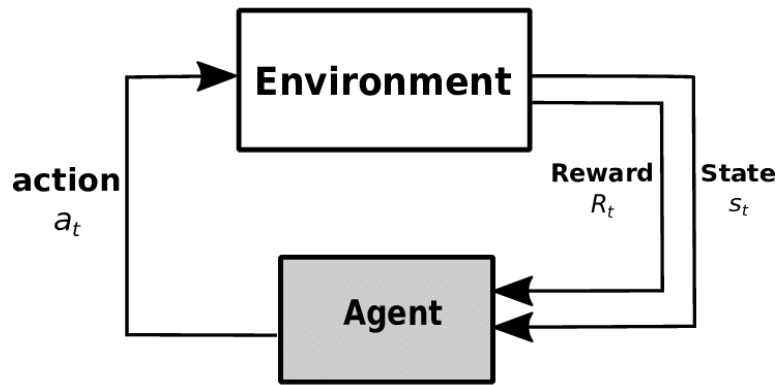
Σκοπός του πράκτορα είναι να μεγιστοποιήσει την μελλοντική συσσωρευτική επιβράβευση (**cumulative reward**). Έτσι ο πράκτορας προσπαθεί να βρεί μία βέλτιστη στρατηγική ή πολιτική (**policy**), ώστε να πετύχει αυτόν τον στόχο. Μια τέτοια συμπεριφορά του περιβάλλοντος συνήθως εκφράζεται τυπικά με το **Markov Decision Process (MDP)**. Τα MDPs στηρίζονται στην Μαρκοβιανή Ιδιότητα, η οποία αναφέρει ότι «το μέλλον είναι ανεξάρτητο του παρελθόντος δεδομένου του παρόντος» και άρα μαθηματικά αυτό ορίζεται ως εξής:

$$P[S_{t+1} | S_1, \dots, S_t] = P[S_{t+1} | S_t]$$

Με αυτό τον τρόπο, μπορούμε να ορίσουμε τις πιθανότητες μετάβασης (transition probabilities ή state transition probabilities) μεταξύ του ενός state σε ένα άλλο.

Μπορούμε να φανταστούμε ένα πρόβλημα της Ενισχυτικής Μάθησης σαν ένα παιχνίδι, όπου ο πράκτορας είναι ο παίκτης που προσπαθεί να παίξει βέλτιστα το παιχνίδι. Ο πράκτορας - παίκτης - βρίσκεται σε μία κατάσταση, πχ μία πίστα ή ένα στιγμιότυπο του παιχνιδιού, και μπορεί να επιλέξει κάποιες δράσεις, πχ. κινήσεις. Σκοπός του είναι να ανακαλύψει μία βέλτιστη στρατηγική (policy) ώστε με σωστή αλληλουχία κινήσεων να κερδίσει με τον πιο κερδοφόρο τρόπο το παιχνίδι.

Η Ενισχυτική Μάθηση διαφέρει από την Επιβλεπόμενη Μάθηση στο ότι δεν χρειάζονται επισημειωμένα ζευγάρια «είσοδος-έξοδος». Επίσης, δεν απαιτείται οι υποβέλτιστες δράσεις να είναι απαραίτητα σωστές. Αντίθετα, ο πράκτορας καλείται να βρει μια ισορροπία μεταξύ της εξερεύνησης και της εκμετάλλευσης της τρέχουσας γνώσης για το πρόβλημα ([Kontogiannis, 2021](#)).



Εικόνα 3.3. Διαδικασία Ενισχυτικής Μάθησης (Reinforcement Learning).

3.2. Ενεργός Μάθηση

Η Ενεργός Μάθηση (**Active Learning**) αποτελεί έναν τύπο Μηχανικής Μάθησης. Κύρια υπόθεση της Ενεργού Μάθησης είναι εάν ένας αλγόριθμος μάθησης μπορεί να καταλάβει ποιες παρατηρήσεις είναι πιο σημαντικές με στόχο να μειώσει τον συνολικό αριθμό των δεδομένων εκπαίδευσης.

Η παρούσα μελέτη θα περιοριστεί στην Επιβλεπόμενη Ενεργό Μάθηση. Τα μοντέλα Επιβλεπόμενης Μάθησης συνήθως χρειάζονται αρκετά δεδομένα εκπαίδευσης, ώστε να φθάσουν σε σύγκλιση. Μερικές φορές, σε πραγματικού χρόνου προβλήματα, οι επισημειώσεις των παρατηρήσεων είναι ελάχιστα ή καθόλου διαθέσιμες, όπως στην περίπτωση του email spamming. Σε τέτοιες περιπτώσεις, θα θέλαμε να εκπαιδεύσουμε μοντέλα Επιβλεπόμενης Μάθησης χρησιμοποιώντας όσο το δυνατόν ελάχιστες επισημειώσεις, λαμβάνοντας υπόψιν πως η διαδικασία απόκτησης όλων των επισημειώσεων μπορεί να είναι αρκετά χρονοβόρα, δύσκολη ή/και ακριβή. Σημειώνουμε πως σε αυτές τις περιπτώσεις το σύνολο δεδομένων μπορεί να είναι πολύ μεγάλο, χωρίς ωστόσο να έχουμε πολλές επισημειώσεις. Έτσι, η Ενεργός Μάθηση ρωτά (query) έναν ειδικό (Oracle), για παράδειγμα έναν άνθρωπο επισημειωτή, ώστε να αποκτήσει επισημειώσεις για έναν περιορισμένο αριθμό παρατηρήσεων υποθέτοντας πως θα είναι οι λιγότερες απαραίτητες για υψηλές επιδόσεις.

Η τυπική διαδικασία της Ενεργού Μάθησης είναι η εξής: το μοντέλο εκπαιδεύεται πάνω στα επισημειωμένα δεδομένα του. Στην συνέχεια ρωτάει τον Oracle, δάσει κάποιου επιλεγμένου κριτηρίου, έναν συγκεκριμένο αριθμό παρατηρήσεων για επισημειώσεις. Ονομάζουμε την διαδικασία αυτή ως γύρο της Ενεργού Μάθησης. Ένας νέος γύρος θα συμβαίνει μέχρις ότου το μοντέλο να φθάσει σε σύγκλιση ή αυτό να ξεπεράσει ένα προκαθορισμένο μέγιστο όριο ερωτήσεων που έχει οριστεί. Ονομάζουμε «batch» της Ενεργού Μάθησης τον αριθμό των ερωτήσεων που συμβαίνουν σε κάθε γύρο.

3.3. Νευρωνικά δίκτυα και Deep Q- learning

3.3.1. Deep Reinforcement Learning (Deep RL)

Στην περίπτωση όπου ο αριθμός των states ή / και των actions, στα οποία αναφερθήκαμε προηγουμένως είναι πολύ μεγάλος ή ακόμα και μη πεπερασμένος, έχουμε μη πεπερασμένο (infinite) MDP. Σε αυτή την περίπτωση υπάρχει ανάγκη ενός νευρωνικού δικτύου. Σε αυτή την περίπτωση η Ενισχυτική Μάθηση συνδυάζεται με την Βαθιά Μάθηση και τότε έρχεται ο νέος όρος της Βαθιάς Ενισχυτικής Μάθησης (Deep Reinforcement Learning ή Deep RL). Ο Mnih (2015) πρότειναν το λεγόμενο Deep Q-learning μέσα από την χρήση δύο νευρωνικών δικτύων που λέγονται Deep Q-Networks (DQN). Ο αλγόριθμος αυτός είναι ο εξής:

Algorithm 1: deep Q-learning with experience replay.

```

Initialize replay memory  $D$  to capacity  $N$ 
Initialize action-value function  $Q$  with random weights  $\theta$ 
Initialize target action-value function  $\hat{Q}$  with weights  $\theta^- = \theta$ 
For episode = 1,  $M$  do
    Initialize sequence  $s_1 = \{x_1\}$  and preprocessed sequence  $\phi_1 = \phi(s_1)$ 
    For  $t = 1, T$  do
        With probability  $\epsilon$  select a random action  $a_t$ 
        otherwise select  $a_t = \operatorname{argmax}_a Q(\phi(s_t), a; \theta)$ 
        Execute action  $a_t$  in emulator and observe reward  $r_t$  and image  $x_{t+1}$ 
        Set  $s_{t+1} = s_t, a_t, x_{t+1}$  and preprocess  $\phi_{t+1} = \phi(s_{t+1})$ 
        Store transition  $(\phi_t, a_t, r_t, \phi_{t+1})$  in  $D$ 
        Sample random minibatch of transitions  $(\phi_j, a_j, r_j, \phi_{j+1})$  from  $D$ 
        Set  $y_j = \begin{cases} r_j & \text{if episode terminates at step } j+1 \\ r_j + \gamma \max_{a'} \hat{Q}(\phi_{j+1}, a'; \theta^-) & \text{otherwise} \end{cases}$ 
        Perform a gradient descent step on  $(y_j - Q(\phi_j, a_j; \theta))^2$  with respect to the network parameters  $\theta$ 
        Every  $C$  steps reset  $\hat{Q} = Q$ 
    End For
End For

```

Ο αλγόριθμος μετά από έναν προκαθορισμένο αριθμό χρονικών βημάτων ανανεώνει επαναληπτικά τις παραμέτρους (θ^-) του Target Q-Network με τις αντίστοιχες (θ) του άλλου. Η χρήση του Target Q-Network γίνεται με στόχο να εξασφαλιστεί η σταθερή μάθηση.

3.3.2. Αναδρομικά Νευρωνικά Δίκτυα (Recurrent Neural Networks – RNNs) και Long Short-Time Memory (LSTM).

Σε αντίθεση με ένα MLP, τα RNNs δεν έχουν ένα σταθερό αριθμό νευρώνων εισόδου αλλά λαμβάνει ως είσοδο μια ολόκληρη αλληλουχία μη σταθερού μεγέθους. Αυτό γίνεται με την χρήση μιας εσωτερικής κατάστασης που δουλεύει ως μνήμη του δικτύου.

Μια αλληλουχία σαν είσοδος μπορεί να είναι μια τυπική χρονοσειρά δεδομένων. Έτσι, ορίζεται η έννοια του χρονικού δήματος (timestep), που αφορά την στιγμή κατά την οποία το RNN διαβάζει την αντίστοιχη είσοδο της ακολουθίας. Πολλές εφαρμογές μπορούμε να τις εκφράσουμε έμμεσα σαν χρονοσειρές για παράδειγμα να θεωρήσουμε ως χρονικά δήματα τις λέξεις ενός κειμένου ή τα φωνήματα κατά την επεξεργασία της φωνής. Με την άνθηση της Βαθιάς Μάθησης, τα RNNs έχουν γνωρίσει φοβερή αναγνωρισιμότητα σε ανάλογα προβλήματα, όπως η ταξινόμηση κειμένων, η

αυτόματη μετάφραση φράσεων, η ανάκτηση πληροφορίας κ.ά. Το RNN είναι αναδρομικό, καθώς η έξοδος της κατάστασής του σε ένα χρονικό δήμα αποτελεί την είσοδο της κατάστασής του στο αμέσως επόμενο. Αυτή η κατάσταση - μνήμη - αποκαλείται hidden state το οποίο παράγεται από το λεγόμενο hidden layer.

Ένας από τους πιο διαδεμένους τύπους RNN είναι το Long Short-Time Memory (**LSTM**).

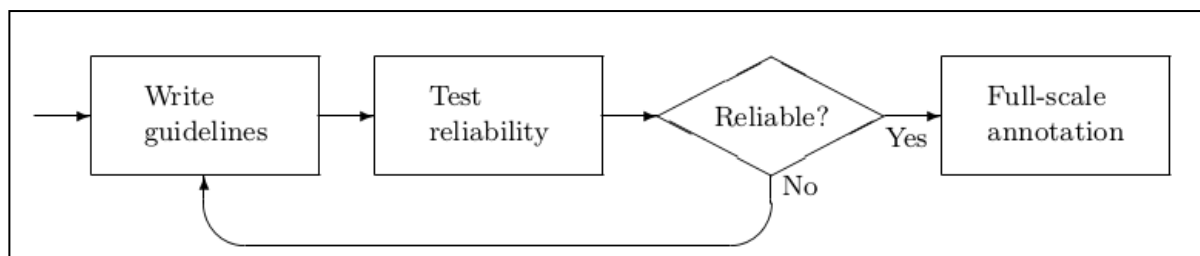
3.4. Διαχείριση Κειμένων και Natural Language Processing (NLP)

Στο NLP είναι απαραίτητη η μετατροπή του κειμένου σε μία μορφή έτσι ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί από αλγόριθμο Μηχανικής Μάθησης. Στο δικό μας πρόβλημα, στόχος είναι η έξυπνη αναζήτηση κειμένων που θα μας προσδώσουν πληροφορίες σχετικά με την εθνοφαρμακολογία. Η προεπεξεργασία του κειμένου είναι απαραίτητη έτσι ώστε να του αποδώσουμε την σωστή μορφή (Text Preprocessing). Με λίγα λόγια οι λέξεις ενός κειμένου θα πρέπει να αποδίδονται με την μορφή διανύσματος σταθερού μεγέθους. Δηλαδή κάθε λέξη του κειμένου αντικαθίσταται με ένα διάνυσμα σταθερής διάστασης. Με τον τρόπο αυτό η κάθε λέξη ορίζεται αναπαρίσταται στον χώρο και ορίζεται σε έναν βαθμό η ομοιότητα ή η διαφορετικότητα των λέξεων μέσα από τα διανύσματα αναπαράστασης. Οι διανυσματικές αναπαραστάσεις των λέξεων ονομάζονται **word embeddings**. Επιπλέον το κάθε κείμενο μπορεί να αναπαρίσταται ως ένας πίνακας (matrix) με γραμμές τα word embeddings των αντίστοιχων λέξεών του. Δηλαδή ένα κείμενο με διάσταση των word embeddings (D) και N λέξεις τότε η διάστασή του ορίζεται ως matrix μεγέθους Nx D.

3.5. Συμφωνία Επισημειωτών

3.5.1. Raw Agreement

Για ένα σύνολο παρατηρήσεων, πρέπει να ελέγχουμε κατά το πόσο οι επισημειωτές συμφωνούν μεταξύ τους (Inter-annotator agreement). Η ένδειξη συμφωνίας μεταξύ των επισημειωτών υποδηλώνει την αξιοπιστία των επισημειώσεων, που αποτελεί αναγκαία αλλά όχι ικανή συνθήκη για σωστές επισημειώσεις. Οι επισημειωτές πρέπει να είναι γνώστες του αντικειμένου που μελετάται. Είναι μια επαναληπτική διαδικασία και αρχικά γίνεται επιλογή ενός αντιπροσωπευτικού δείγματος του συνόλου δεδομένων (**Εικόνα 3.4**).



Εικόνα 3.4. Επαναληπτική διαδικασία Inter-annotator agreement.

Για την συμφωνία των επισημειωτών, η πιο συχνή μέθοδος για την μέτρηση της συμφωνίας δίνεται από την σχέση του Raw Agreement:

$$\text{Raw Agreement} = \text{Number of Agreed Annotations} / \text{Number of All Annotations}$$

3.5.2. Cohen's kappa

Στατιστικά υπάρχουν κάποιοι δείκτες που μετράνε το ποσό της συμφωνίας. Για το ποσό της συμφωνίας που διαπιστώθηκε πάνω από το επίπεδο της τυχαιότητας χρησιμοποιούμε το Cohen's kappa και δίνεται από την παρακάτω σχέση:

$$k = \frac{(A_0 - A_e)}{1 - A_e}$$

όπου A_0 είναι το πραγματικό ποσοστό συμφωνίας και το A_e είναι το αναμενόμενο. Έτσι το k είναι ένας συντελεστής που κυμαίνεται από 0 έως 1. Σε περίπτωση τέλει συμφωνίας η τιμή είναι 1 ενώ σε περίπτωση παντελούς διαφωνίας είναι ίσο με 0.

3.5.3. Krippendorff's alpha

Για την διαφωνία μεταξύ των επισημειωτών υπάρχει ο στατιστικός δείκτης Krippendorff's alpha. Η μετρική αυτή λαμβάνει υπόψη τις αποστάσεις μεταξύ των όλων επισημειώσεων, που δόθηκαν για μία παρατήρηση, θεωρώντας πως οι δυνατές διαφορετικές επισημειώσεις λαμβάνουν διάταξη (ordered annotations). Δίνεται από την σχέση:

$$a = 1 - \left(\frac{D_0}{D_e} \right)$$

Ο συγκεκριμένος στατιστικός δείκτης δεν θεωρεί ότι η διαφωνία είναι αυστηρά το συμπληρωματικό της συμφωνίας.

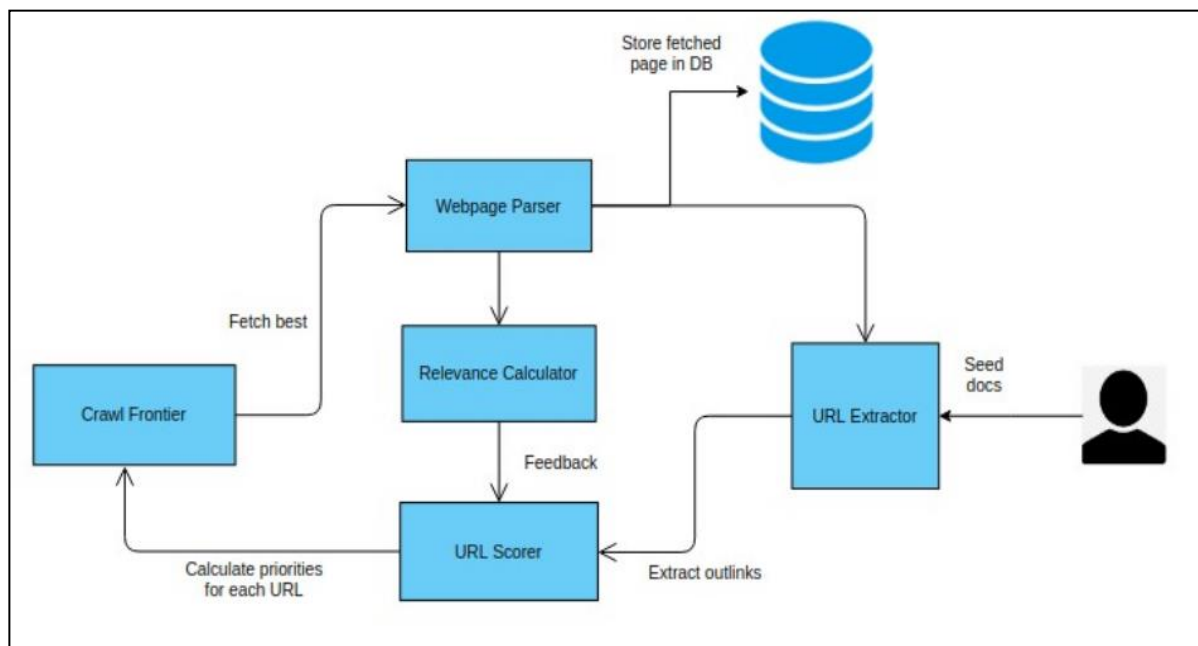
3.6. Εστιασμένη Διαδικτυακή Αναζήτηση (Focused Crawler)

Γενικά

Στόχος είναι η δημιουργία ενός ευφυούς συστήματος αναζήτησης, που εστιάζει σε συγκεκριμένα θέματα μελέτης και προσπαθεί να βρίσκει όσο το δυνατόν περισσότερες ιστοσελίδες στο διαδίκτυο ([Batsakis, 2009](#)).

Οι focused crawlers ([Εικόνα 3.5](#)) λειτουργούν ως αυτόνομοι πράκτορες σχεδιασμένοι με τέτοιο τρόπο, ώστε να συλλέγουν ιστοσελίδες, σχετικές με ένα προκαθορισμένο θέμα που ορίζει ο χρήστης. Δοθισών μίας ή περισσότερων αρχικών σελίδων, που ονομάζονται σπόροι (seeds), ο focused crawler βρίσκει σχετικές ιστοσελίδες. Αυτό γίνεται με το να αξιοποιεί τους υπερσυνδέσμους (hyperlinks) και τους Ενιαίους Εντοπιστές Πόρων (Uniform Resource Locators ή URLs), που περιέχονται στις ιστοσελίδες αυτών που έχει ήδη επισκεφθεί. Τις περισσότερες φορές, οι focused crawlers χρησιμοποιούν μια δομή, η οποία ονομάζεται μέτωπο αναζήτησης (crawl frontier ή frontier) που χρειάζεται για την προσωρινή αποθήκευση των προς επίσκεψη (unvisited) URLs, μέχρις ότου αυτά να προσπελαστούν. Σε κάθε νέο URL που εξάγεται από την τρέχουσα ανακτημένη (visited) σελίδα,

προκειμένου να εισαχθεί στο μέτωπο αναζήτησης μαζί με τα υπόλοιπα unvisited URLs, του ανατίθεται μια τιμή προτεραιότητας που αφορά την εκτίμηση του focused crawler για την συνάφειά του. Ο focused crawler επιλέγει να επισκεφτεί κάθε φορά εκείνο το URL από το μέτωπο αναζήτησης με την μεγαλύτερη τιμή προτεραιότητας. Παράλληλα, το αποθηκεύει - πχ. σε μια δάση δεδομένων - και το εξάγει στον χρήστη. Όταν το σύστημα επισκέφτεται μια ιστοσελίδα, υπολογίζει και την αντίστοιχη τιμή συνάφειας της. Έτσι, λαμβάνοντας υπόψιν αυτήν την τιμή, ο focused crawler καλείται να προσαρμόζει την συμπεριφορά του, δελτιώνοντας τον τρόπο που υπολογίζει τις προτεραιότητες των URLs. Επιπλέον, πολύ συχνά γίνεται χρήση ενός είδους ταξονομίας. Από αυτή, παρέχονται στον σύστημα λέξεις-κλειδιά (keywords), τα οποία σχετίζονται με πιθανά διαφορετικά επιθυμητά θέματα ή/και υποθέματα. Τα θέματα αυτά μπορούν να οργανωθούν σε ένα δέντρο ταξονομίας θεμάτων ταξινόμησης των κειμένων. Η χρήση ταξονομίας αποσκοπεί στην ύπαρξη προϋπάρχουσας γνώσης, σχετικά με την ιεραρχία των θεμάτων. Με αυτόν τον τρόπο, συχνά, γίνεται μία ταξινόμηση των κειμένων ως προς τα επιθυμητά θέματα, με βάση την ύπαρξη μιας λέξης-κλειδιού ή ενός συνδυασμού αυτών.



Εικόνα 3.5. Αρχιτεκτονική γενικού μοντέλου Focused crawler.

Στην παραπάνω προσέγγιση θα στηριχτεί και η ανάπτυξη του μοντέλου αναζήτησης κειμένων με εθνοφαρμακολογικό ενδιαφέρον. Το κλειστό σύνολο, εξασφαλίζει ότι όλα τα URLs που θα φέρει το σύστημα είναι μεταξύ τους διαφορετικά. Στόχος είναι να βρει όσες περισσότερες σχετικές, με το θέμα αναζήτησης, ιστοσελίδες, αλλά και όσες πιο λίγες μη σχετικές. Επιπλέον σημαντικός είναι να ανταποκρίνεται στην χρονική και χωρική βελτιστοποίηση της αναζήτησης.

Ο γενικός αλγόριθμος Focused Crawler που χρησιμοποιείται είναι ο παρακάτω:

Input: *seeds* URLs, *TIMESTEPS*, URLScorer and RelevanceCalculator

Initialize empty crawl frontier *F* and closure *C*

while *seeds* not empty **do**

Pop a URL *url* from *seeds*

Add *url* to *C*

Fetch webpage *w url*

L := Extract all outlinks URLs from *w* that are not in *C*

for *l* in *L* **do**

score := URLScorer(*l*)

 Add tuple (*l*, *score*) to *F*

end for

end while

timestep := 1

while not *timestep* > *TIMESTEPS* **do**

 Select the (*url*, *score*) from *F* with the best score

 Observe relevance := RelevanceCalculator(*url*)

 Give feedback to URLScorer with respect to the observed relevance

 Add *url* to *C*

 Delete all tuples from *F* that have as URL the *url*

L' := Extract all outlinks from *url* that are not in *C*

for *l* in *L'* **do**

score := URLScorer(*l*)

 Add tuple (*l*, *score*) to *F*

end for

timestep := *timestep* + 1

end while

Output: *C*

Στην παρούσα μελέτη γίνεται προσέγγιση του focused crawler με συνδυασμό της χρήσης της Ενεργού Μάθησης (Active Learning) και Ενισχυτικής Μάθησης (Reinforcement Learning) με χρήση ενός focused crawler δύο σταδίων με βάση το πρότυπο «ερευνητή – μαθητή». Για την περίπτωση μίας εξειδικευμένης αναζήτησης, θα γίνει χρήση ενός συστήματος ταξινόμησης από λέξεις-κλειδιά (keywords). Αυτό συμβάλλει στην αποτελεσματικότερη εύρεση και αναγνώριση σχετικών κειμένων, καθώς και στην άμεση αξιολόγησή τους.

Η κύρια μετρική που χρησιμοποιείται είναι το ποσοστό επιτυχίας της συλλογής (Harvest Rate), η οποία εκφράζει το ποσοστό των πραγματικά σχετικών κειμένων, που επέστρεψε ο focused crawler, σε σχέση με το σύνολο των κειμένων. Το Harvest Rate δίνεται από την παρακάτω σχέση:

$$\text{Harvest Rate} = \text{Number of Relevant Pages Crawled} / \text{Number of all Pages Crawled}$$

Οι τιμές του κυμαίνονται από το 0% στο 100%. Επειδή ο σκοπός μας είναι να μεγιστοποιήσουμε το τελικό Harvest rate του focused crawler, μας ενδιαφέρει η τιμή του να τείνει στο μέγιστο δυνατό.

3.6.1. Focused Crawler δύο Σταδίων

Στην περίπτωση της εθνοφαρμακολογικής αναζήτησης, το σύστημα focused crawler περιέχει δύο στάδια ανάπτυξης. Το σύστημα βασίζεται στο πρότυπο «ερευνητή-μαθητή» όπως αναφέραμε παραπάνω. Στο πρώτο στάδιο, ο ερευνητής εκπαιδεύει τον μαθητή του, προκειμένου να μπορεί να ταξινομήσει μία δημοσίευση σε μία από τις ορισμένες κατηγορίες, που έχει ορίσει ο ερευνητής. Η εκπαίδευση γίνεται με αλγορίθμους Ενεργού Μάθησης (**Active Learning**). Όταν ο «μαθητής» έχει εκπαιδευτεί επαρκώς πάνω στο παραπάνω πρόβλημα, τότε ξεκινάει το δεύτερο στάδιο του focused crawler. Σε αυτό το σημείο ο «μαθητής» εκπαιδεύεται για να ψάχνει και να παρουσιάζει τα πιο σχετικά ή πιο σημαντικά για την αναζήτησή του κείμενα. Η εκπαίδευση σε αυτό το στάδιο γίνεται με αλγορίθμους Ενισχυτικής Μάθησης (**Reinforcement Learning**), θεωρώντας ότι ο πράκτορας ζει σε ένα περιβάλλον Markov Decision Process (MDP).

Η εκπαίδευση των δύο σταδίων πρέπει να γίνει αυστηρά σειριακά, δηλαδή με την ολοκλήρωση του πρώτου σταδίου. Με αυτό τον τρόπο, το πρώτο στάδιο της Ενεργού Μάθησης χρησιμοποιείται για τον εκτιμητή συνάφειας (AL Relevance Calculator) και η Ενισχυτική Μάθηση, για τον εκτιμητή των τιμών προτεραιότητας των URLs (RL URL scorer) ([Εικόνα 3.5](#)).

Πρέπει να αναφέρουμε ότι στο πρώτο στάδιο απαιτείται ένα σύνολο δεδομένων βιβλιογραφικών αναφορών εκ των προτέρων (a priori). Έτσι έχουμε να αντιμετωπίσουμε ένα πρόβλημα Ενεργού Μάθησης βασισμένο στην συλλογή δεδομένων (**pool-based Active Learning**). Η βάση δεδομένων πραγματοποιείται εκτελώντας αρχικά ένα τυχαίο πιλοτικό τρέξιμο (Random Crawling) του παρακάτω αλγορίθμου χωρίς παραμέτρους:

Input: seeds URLs, *TIMESTEPS*

```
Initialize empty crawl frontier F and closure C
Initialize empty buffer
while seeds not empty do
  Pop a URL url from seeds
  Add url to C
  Fetch webpage w url
  L := Extract all outlinks URLs from w that are not in C
  for l in L do
    Add l to F
  end for
end while
timestep := 1
while not timestep > TIMESTEPS do
  Select a url from F at random
  Add url to buffer
  Add url to C
  Delete all records from F that have as URL the url
  L' := Extract all outlinks from url that are not in C
  for l in L' do
    Add l to F
  end for
timestep := timestep + 1
```

end while
Output: *buffer*

Με αυτόν τον τρόπο πραγματοποιείται ανάκτηση ενός εφικτού αριθμού URLs τα οποία αποθηκεύουμε στο pool.

Το δεύτερο στάδιο του focused crawler στηρίζεται στην χρήση Ενισχυτικής Μάθησης (Reinforcement Learning). Σκοπός είναι η εκμάθηση του «μαθητή», ώστε αυτός να βρίσκει δημοσιεύσεις στο διαδίκτυο, με αποτελεσματικό και αποδοτικό τρόπο, έχοντας πλέον κατανοήσει σε βάθος τί ενδιαφέρει τον «ερευνητή».

Η Ενισχυτική Μάθηση (Reinforcement Learning) αναζητά μία βέλτιστη στατηγική (policy), δεδομένων των καταστάσεων (states) και των δράσεων (actions), με στόχο να μεγιστοποιήσει την συνολική συσσωρευτική επιβράβευση – ανταμοιβή (reward). Όπως αναφέραμε προηγουμένως το περιβάλλον του focused crawler θα μοντελοποιηθεί σε ένα **Markov Decision Process** (MDP).

Θα πρέπει επίσης να αναφερθούμε στην λεγόμενη «επιβράβευση – reward function». Ως reward θεωρούμε πως θα είναι 1 εάν η ιστοσελίδα του νέου τρέχοντος state είναι σχετική, διαφορετικά είναι 0. Προκειμένου να καταλάβουμε αν μία ιστοσελίδα είναι σχετική, προτείνουμε την εκμάθηση του θέματος από τον μαθητή που συνέβη στο πρώτο στάδιο του focused crawler.

ΜΕΡΟΣ Α: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.7 Επισκόπηση της Μεθόδου

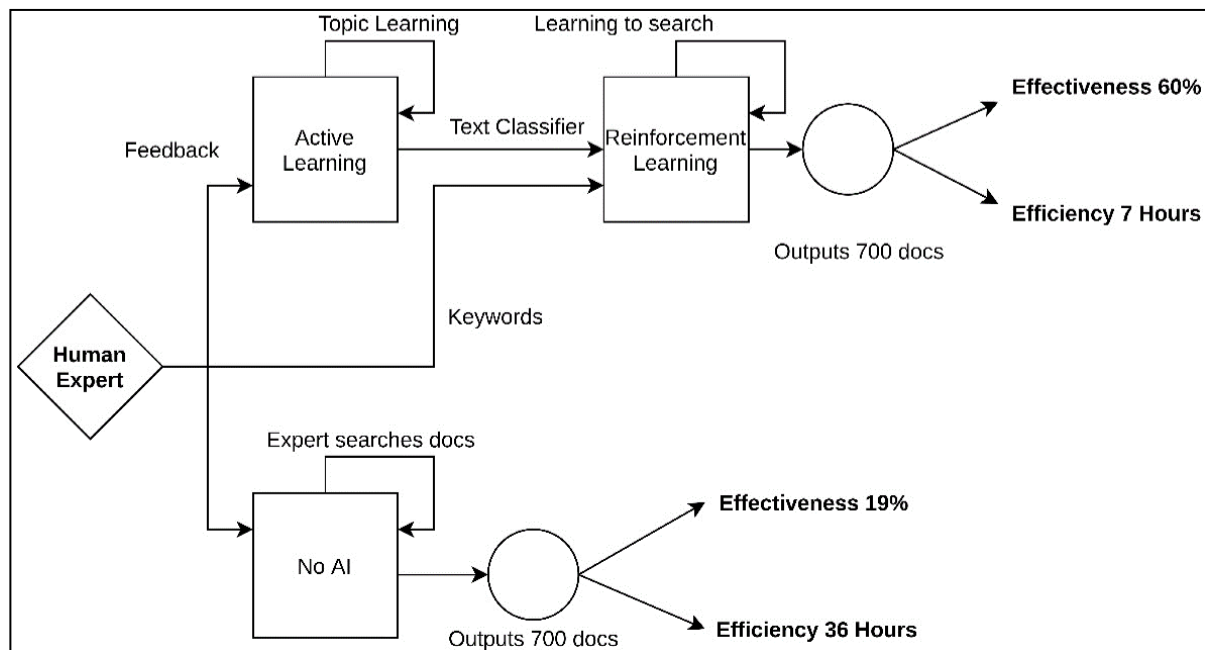
Η παρούσα μελέτη ακολουθεί ένα παράδειγμα «Ερευνητή-Μαθητή». Ο Ερευνητής έχει σαφή και έμμεσα συμφέροντα. Ο Μαθητής υποστηρίζει τον Ερευνητή, μαθαίνοντας τα ενδιαφέροντα με δύο τρόπους. Πρώτον, ο Ερευνητής παρέχει συγκεκριμένα παραδείγματα εγγράφων, που ονομάζονται «σπόροι». Δεύτερον, με την πάροδο του χρόνου ο Μαθητής ζητά περιοδικά ανατροφοδότηση από τον Ερευνητή για έναν – ιδανικά ελάχιστο – αριθμό υποψηφίων εγγράφων. Στη συνέχεια, ο ειδικός τα χαρακτηρίζει ως ενδιαφέροντα ή όχι. Ο Μαθητής συνεχίζει την εργασία του επαναληπτικά μέχρι να ανακτήσει έναν συγκεκριμένο αριθμό εγγράφων.

Στη ρύθμιση Τεχνητής Νοημοσύνης (AI), όπως φαίνεται στο διάγραμμα ροής ([Εικόνα 3.6](#)), προτείνουμε το Apprentice να είναι ένας αλγόριθμος Μηχανικής Μάθησης (ML) που αναλαμβάνει 2 εργασίες. Στην πρώτη εργασία, ο αλγόριθμος κατανοεί τα ενδιαφέροντα του χρήστη (Ερευνητής) μέσω σαφούς ανατροφοδότησης (ετικέτες των εγγράφων ως ενδιαφέροντα ή μη). Εδώ, χρησιμοποιούμε ένα μοντέλο ML που αναπτύσσει AL που βασίζεται σε “pool” για μια εργασία δυαδικής ταξινόμησης, με τον Expert να είναι ο Oracle (ανθρώπινος σχολιαστής) κατά τη διάρκεια της μαθησιακής διαδικασίας. Στην εποπτευόμενη ρύθμιση AL που βασίζεται σε “pool”, ένα μοντέλο εκπαιδεύεται σε ένα αρχικό σετ εκπαίδευσης με μικρή ετικέτα σχετικών και ορισμένων άσχετων εγγράφων.

Στη συνέχεια, ρωτά το Oracle σχετικά με τα έγγραφα που προβλέπεται να είναι τα πιο ενημερωτικά για το μοντέλο από ένα μεγαλύτερο σύνολο δεδομένων χωρίς ετικέτα, το οποίο ονομάζεται “pool”. Αφού το Oracle δώσει τις αντίστοιχες ετικέτες για αυτά τα δείγματα, το σετ εκπαίδευσης επαυξάνεται με αυτά και το μοντέλο επανεκπαιδεύεται χρησιμοποιώντας τα ενημερωμένα δεδομένα. Αυτή η διαδικασία εκπαίδευσης συνεχίζεται επαναληπτικά έως ότου απευθυνθεί στην Oracle ένας προκαθορισμένος αριθμός ερωτημάτων (“προϋπολογισμός”). Σημειώνουμε ότι το AL έχει ήδη χρησιμοποιηθεί σε άλλες βιοϊατρικές εφαρμογές εξόρυξης κειμένου ([Chen, 2012](#); [Naseem, 2021](#)), όπου εξετάστηκαν οι κλασικοί αλγόριθμοι ταξινόμησης ML, όπως το Support Vector Machine (SVM) και η Logistic Regression. Στην εργασία μας, χρησιμοποιούμε ένα κοινό επαναλαμβανόμενο νευρωνικό δίκτυο, τη μακροπρόθεσμη μνήμη (LSTM), ως μοντέλο ταξινόμησης για τη ρύθμιση AL.

Στη δεύτερη εργασία, ο Apprentice είναι ένας πράκτορας RL που ανακαλύπτει μια στρατηγική - πολιτική - ανίχνευσης εγγράφων. Ο στόχος του πράκτορα είναι να ελαχιστοποιήσει τον αριθμό των ανακτημένων εγγράφων, ενώ να μεγιστοποιήσει τον αριθμό των σχετικών. Για το σκοπό αυτό, ο πράκτορας προσπαθεί να συνδέσει τα έγγραφα που έχουν ληφθεί μέχρι τώρα με την απόφαση ποιου υποψηφίου εγγράφου θα ληφθεί στη συνέχεια. Θεωρούμε ότι συγκεντρώνουμε υποψήφια έγγραφα από τις παραπομπές κάθε δημοσίευσης που έχει ληφθεί. Κάθε λίγες δημοσιεύσεις που ανακτώνται, ο αλγόριθμος εξετάζει πόσο καλά πέτυχε η στρατηγική στη μεταφορά σχετικών εγγράφων χρησιμοποιώντας το εκπαιδευμένο μοντέλο AL. Στη συνέχεια, ο αλγόριθμος ενημερώνει τη στρατηγική του, με βάση αυτό το feedback, προσπαθώντας να βελτιώσει τις αποφάσεις του σε

μελλοντικά βήματα ανίχνευσης. Έτσι, χρησιμοποιούμε το RL για να βελτιστοποιήσουμε την αυτόματη διαδικασία εξαγωγής URL του εστιασμένου ανιχνευτή.



Εικόνα 3.6. Διάγραμμα ροής της Πειραματικής Μεθόδου.

3.7.1. Καθορισμός των σχετικών θεμάτων

Τα σχετικά θέματα της εθνοφαρμακολογικής αναζήτησης ορίζονται από τον Ερευνητή και αυτά αναφέρονταν στην εθνοφαρμακολογία στις βαλκανικές χώρες και τη Μικρά Ασία με έμφαση σε ορισμένες οικογένειες και είδη φυτών. Πιο συγκεκριμένα, οι κύριοι ειδικοί επεσήμαναν 31 από τις πιο σημαντικές οικογένειες φυτών. Χρησιμοποιώντας την ταξινόμηση των αγγειόσπερμων που δημοσιεύτηκε στη Χλωρίδα της Ελλάδας ([Flora of Greece](#)), καταφέραμε να εξαγάγουμε τα ονόματα όλων των ειδών από αυτές τις οικογένειες. Έτσι, κατασκευάσαμε μια ταξινόμηση 578 λέξεων-κλειδιών με βάση γεωγραφικές τοποθεσίες και οικογένειες φυτών.

3.7.2. Βάση Δεδομένων

Στο επιλεγμένο πλαίσιο εθνοφαρμακολογίας, εξετάστηκε αρχικά εάν δύο διαφορετικοί ερευνητές συμφωνούν στον ορισμό της συνάφειας. Αυτό σημαίνει ότι το θέμα ενδιαφέροντος έχει περιγραφεί επαρκώς για να αποκτήσει κοινή κατανόηση μεταξύ των ειδικών. Για το σκοπό αυτό, τους ζητήσαμε να παράσχουν μια λίστα με 25 σχετικά έγγραφα - seeds - που προσδιορίζονται από τις διευθύνσεις URL τους. Με βάση αυτά τα seeds, εντοπίστηκαν συνολικά 427 έγγραφα, τα οποία εξήχθησαν από τις αναφορές τους. Ανακτήθηκαν επίσης άλλες 800 δημοσιεύσεις, χωρίς προηγούμενη γνώση για το αν θα σχετίζονται με το θέμα. Αυτό επιτεύχθηκε με μια ανίχνευση, η οποία ακολουθούσε τυχαία αναφορές που εμφανίζονται σε επισκέψεις δημοσιεύσεις, μέσω ομοιόμορφης δειγματοληψίας.

Καταργώντας τα διπλότυπα, καταλήξαμε με συνολικά 1012 έγγραφα, επιπλέον των seeds. Επιλέξαμε αυθαίρετα συνολικά 50 έγγραφα, εκ των οποίων σχεδόν το 50% ήταν μέρος του σετ seeds (πολύ

σχετικό). Στη συνέχεια, ζητήθηκε ανεξάρτητα από τους 2 ειδικούς του τομέα να επισημάνουν τα έγγραφα σε κλίμακα από το 1 έως το 4 (1 = «πολύ σχετικό» και 4 = «άσχετο»). Στη συνέχεια μετρήσαμε τον βαθμό της συμφωνίας μεταξύ των σχολιαστών μέσω τριών μεθόδων: Raw Agreement (RA), κάπα του Cohen (CK) και Krippendorff's alpha (KA), οι οποίες έδειξαν όλες ουσιαστική ή καλή συμφωνία μεταξύ των κριτών (RA: 0.82, CK: 0.71, KA: 0.92). Αυτό έδειξε ξεκάθαρα ότι οι ειδικοί έχουν μια κοινή αντίληψη για το τι σχετίζεται με τον τομέα εστίασης. Έτσι, ο πιο εξειδικευμένος από τους δύο ειδικούς ανέλαβε αυτόν τον σχολιασμό των δεδομένων στα επόμενα πειράματα.

Ο ρυθμός σχολιασμού μεταξύ των ειδικών ήταν περίπου 5 έγγραφα ανά λεπτό, που περιγράφονται μόνο από τους τίτλους και τις περιλήψεις τους. Έτσι, ο σχολιασμός των συνολικών 1012 εγγράφων από έναν μόνο εμπειρογνώμονα θα χρειαζόταν περίπου 200 λεπτά. Σημειώνουμε ότι αυτή η συλλογή εγγράφων θα είναι η ομάδα για τη ρύθμιση AL που βασίζεται στο λεγόμενο “pool”. Διαθέτουμε πλέον ένα μέσο για να λαμβάνουμε γνώμες “gold standard” σχετικά με τη συνάφεια ενός δεδομένου εγγράφου με τον τομέα ενδιαφέροντός μας.

Μπορούμε, ως εκ τούτου, να χρησιμοποιήσουμε το AL και να ανιχνεύσουμε και να αξιολογήσουμε πόσο καλά το σύστημα (α) συνάπτει τα συμφέροντα των εμπειρογνομόνων και (β) βελτιστοποιεί τη διαδικασία ανίχνευσης για να ελαχιστοποιήσει τον αριθμό των εγγράφων που χρειάζεται για την ανάκτηση.

3.7.3. Ενεργή Μάθηση και ενδιαφέρον των ειδικών

Για τον πρώτο σκοπό, δηλαδή να συνάγουμε τι θεωρεί ο ειδικός σχετικά με το θέμα που μας ενδιαφέρει, εκπαιδεύσαμε ένα μοντέλο LSTM με την AL, το οποίο υλοποιεί μέρος της ροής εργασίας «Expert-Apprentice» που περιγράψαμε.

Ουσιαστικά, στην περίπτωσή μας, αναφέρεται στον αλγόριθμο που ταξινομεί ένα δεδομένο έγγραφο ως σχετικό ή μη προς το ενδιαφέρον του Ερευνητή. Για αυτή τη διαδικασία, ορίσαμε τον προϋπολογισμό των ερωτημάτων ίσο με 250, δηλαδή μπορούμε να ζητήσουμε τη γνώμη του εμπειρογνώμονα για το πολύ 250 έγγραφα. Η ομάδα εγγράφων αποτελείται από 1012 έγγραφα χωρίς ετικέτα που συλλέχθηκαν χρησιμοποιώντας την τυχαία σειρά ανίχνευσης και αυτά που εξάγονται από τα λεγόμενα “seeds”. Το LSTM μας χρησιμοποιεί ένα “Mean Pooling Layer”, για τον μέσο όρο των διανυσμάτων κρυφής κατάστασης όλων των χρονικών βημάτων, δηλαδή λέξεων σε ένα έγγραφο. Αυτό το επίπεδο συνδέεται με δύο πλήρως συνδεδεμένα επίπεδα. Το μοντέλο AL επιλέγει από μια ομάδα εκείνα τα k έγγραφα για τα οποία οι αντίστοιχες πιθανότητες ταξινόμησης είναι οι μικρότερες k .

Για να εξάγει το μοντέλο μας τιμές πιθανότητας για κάθε αντίστοιχη κλάση, χρησιμοποιούμε το Softmax ως συνάρτηση ενεργοποίησης του επιπέδου εξόδου. Χρησιμοποιούμε αυθαίρετα $k = 10$. Ως είσοδο, χρησιμοποιούμε τις προεκπαιδευμένες ενσωματώσεις λέξεων word2vec κάθε εγγράφου, με βάση την ενσωμάτωση bio.nlpplab.org (BioNLP).

Στη συνέχεια, ελέγχθηκε εάν το σύστημα θα βοηθούσε τον ειδικό να ανακτήσει επαρκή αριθμό σχετικών εγγράφων με σημαντικά μειωμένο ανθρώπινο χρόνο κατανομής. Για το σκοπό αυτό, πραγματοποιήσαμε 4-fold-cross-validation (4 πειράματα). Σε κάθε πείραμα AL, το εκπαιδευτικό σετ αποτελούταν αρχικά από 23 σχετικά και 27 άσχετα έγγραφα, για ένα σύνολο 50 εγγράφων. Σε κάθε εκτέλεση, κρατούσαμε 100 έγγραφα, αξιολογώντας την απόδοση της πρόβλεψης AL: 50 σχετίζονταν και 50 δεν σχετίζονται με το υπό εξέταση θέμα. Ζητήσαμε ουσιαστικά από τον εμπειρογνώμονα περίπου 250 έγγραφα (έναντι 1012 που θα χρειαζόταν να αξιολογήσει εάν δεν χρησιμοποιούταν ενεργή μάθηση), μειώνοντας τον απαιτούμενο χρόνο και προσπάθεια κατά περίπου 75%. Για αυτό το επίπεδο μείωσης, το μοντέλο AL κατάφερε να ταξινομήσει σωστά 88 από τα 100 έγγραφα κατά μέσο όρο (ακρίβεια 88%).

3.7.4. Ενισχυτική Μάθηση (Reinforcement Learning)

Στη ρύθμισή μας, ένας αλγόριθμος RL επιτρέπει στον ανιχνευτή να καθορίσει μια στρατηγική, έτσι ώστε να ανακτά έναν σταθερό αριθμό εγγράφων, ενώ μεγιστοποιεί τον αριθμό των σχετικών. Πρόσφατα, υπήρξαν προσεγγίσεις εστιασμένης ανίχνευσης ([Han, 2018](#); [Souid, 2021](#)) και εξόρυξης βιοϊατρικών δεδομένων ([Sutton, 2018](#)) με RL. Ένας πράκτορας (ο ανιχνευτής) ανακτά διευθύνσεις URL με επαναληπτικό τρόπο. Κάθε επανάληψη θεωρείται ένα χρονικό βήμα. Ο πράκτορας ενεργεί μέσα σε ένα περιβάλλον ανίχνευσης. Το περιβάλλον έχει την κατάσταση του ανά χρονικό βήμα. Υπάρχει ένας αριθμός ενεργειών που μπορεί να κάνει ο πράκτορας σε κάθε χρονικό βήμα. Αυτές οι ενέργειες οδηγούν σε ανταμοιβές με την πάροδο του χρόνου. Τυπικά, κάθε χρονικό βήμα (t) ο πράκτορας ανακτά μια νέα διεύθυνση URL, ως αποτέλεσμα μιας επιλογής ενέργειας (A_t), στη συνέχεια μεταβαίνει από την τρέχουσα κατάσταση (S_t) σε άλλη κατάσταση (S_{t+1}) και παρατηρεί μια ανταμοιβή (R_t).

Θεωρούμε ότι οι καταστάσεις σχετίζονται με το ιστορικό των πληροφοριών (αριθμός σχετικών και άσχετων διευθύνσεων URL) που ανακτήθηκαν από το πρόγραμμα ανίχνευσης. Οι ενέργειες σχετίζονται με τις διευθύνσεις URL (λέξεις-κλειδιά που βρίσκονται στο κύριο κείμενο) που εξάγονται από μια μετάβαση κατάστασης. Η ανταμοιβή σχετίζεται με τη συνάφεια της τρέχουσας δημοσίευσης που ανακτήθηκε με το καθορισμένο θέμα. Ορίζουμε την ανταμοιβή ίση με 1 για σχετικές δημοσιεύσεις και 0 διαφορετικά. Για τη λειτουργία επιβράβευσης, αρχικά, χρησιμοποιούμε το LSTM που έχει εκπαιδευτεί από την AL για να αποφασίσουμε εάν ένα έγγραφο επαναπροσδιορίζεται στην εθνοφαρμακολογία. Στη συνέχεια, φιλτράρουμε ντετερμινιστικά τις σχετικές προβλέψεις χρησιμοποιώντας την ταξινόμηση των λέξεων -κλειδιών που κατασκευάζονται.

Ο στόχος του πράκτορα είναι να βρει μια πολιτική, να μεγιστοποιήσει την προεξοφλημένη σωρευτική λαμβανόμενη ανταμοιβή $G_t = R_t + \gamma R_{t+1} + \gamma^2 R_{t+2} + \dots + \gamma^T R_T$, όπου T είναι ο σταθερός αριθμός των συνολικών εγγράφων που ο ανιχνευτής πρέπει να φέρει και το γ είναι ο συντελεστής έκπτωσης. Για το πείραμά μας, θέσαμε αυθαίρετα $T = 700$ και $\gamma = 0.99$.

Το μέτρο αξιολόγησής μας για την εστιασμένη ανίχνευση είναι το **Harvest Rate**, $HR(t)$ ([Chakrabarti, 1999](#)), το οποίο είναι το σωρευτικό ποσοστό των σχετικών παραληφθέντων εγγράφων μέχρι το χρονικό βήμα t . Δεδομένου ότι ο παράγοντας RL χρησιμοποιείται για τη βελτιστοποίηση της διαδικασίας αυτόματης εξαγωγής URL και λαμβάνοντας υπόψη ότι η ανταμοιβή είναι 1 όταν η ληφθείσα ιστοσελίδα είναι σχετική με το θέμα μας, το ποσοστό συγκομιδής είναι επίσης ένα μέτρο αξιολόγησης για το RL. Στην πραγματικότητα μετρά τη μέση αθροιστική ανταμοιβή που λαμβάνει ο πράκτορας καθ' όλη τη διαδικασία εκμάθησης (ανίχνευσης). Έτσι, η βελτιστοποίηση του **Harvest Rate** είναι πάντα ίση με τη βελτιστοποίηση της μέσης συσσωρευτικής ανταμοιβής του παράγοντα RL.

Χρησιμοποιούμε μια προσέγγιση Deep Q-learning, χρησιμοποιώντας τον παράγοντα Deep Q-Network (DQN) ([Mnih, 2015](#)), ο οποίος βασίζεται στο σφάλμα TD, $R_{t+1} + \max_a Q^\pi(S_{t+1}, a; \theta) - Q^\pi(S_t, A_t; \theta)$, όπου Q^π και Q^π είναι οι συναρτήσεις τιμής ενέργειας κάτω από τις πολιτικές π και π' , αντίστοιχα. Δηλαδή $Q^\pi(S_t, A_t) = E_{U(\pi)} [R_{t+1} + \max_a Q^\pi(S_{t+1}, a; \theta) | S_t, A_t]$. Ο παράγοντας DQN αποτελείται από δύο νευρωνικά δίκτυα με την ίδια αρχιτεκτονική-ένα Q-Network (θ) και ένα Target Q-Network (θ^-)-προκειμένου να προσεγγίσει το Q^π και το Q^π , αντίστοιχα. Επιπλέον, έχει μια προσωρινή μνήμη επανάληψης D , που ονομάζεται Επανάληψη εμπειρίας, η οποία είναι σημαντική για ομοιόμορφη δειγματοληψία μίνι-παρτίδων μη συσχετισμένων μεταβάσεων προηγούμενων καταστάσεων. Για κάθε δίκτυο Q , χρησιμοποιούμε ένα πολυστρωματικό perceptron (MLP) με δύο κρυφά επίπεδα. Αρχικοποιούμε το Experience Replay με a priori εμπειρία που δίνεται από seeds, τα οποία είναι όλα πολύ σχετικά έγγραφα, προκειμένου να επιταχύνουμε τη διαδικασία εκπαίδευσης. Χρησιμοποιώντας το Deep Q-learning, αντιμετωπίζουμε ουσιαστικά ένα πρόβλημα παλινδρόμησης, ελαχιστοποιώντας το Μέσο Τετραγωνικό Σφάλμα του Σφάλματος TD σε σχέση με το θ .

Επιπλέον, για να εξισορροπήσουμε το δίλημμα Εξερεύνηση-Εκμετάλλευση, καλώντας μας να αποφασίσουμε μεταξύ της επιλογής πάντα της καλύτερης δράσης (εκμετάλλευση) και της ομοιόμορφης επιλογής μερικές φορές μιας (εξερεύνηση), χρησιμοποιούμε μια πολιτική ε-άπληστη για δειγματοληψία, δηλ., επιλογή δράσης. Δηλαδή, η καλύτερη ενέργεια μιας δεδομένης κατάστασης επιλέγεται με πιθανότητα $1-\epsilon$, διαφορετικά επιλέγεται μια τυχαία (με πιθανότητα ϵ). Καθώς η προπόνηση προχωρά, το ϵ μειώνεται με την πάροδο του χρόνου κατά ένα συντελεστή λ μέχρι να φτάσει σε μια καθορισμένη τιμή ϵ_F . Τυπικά, $\epsilon = \max \{\epsilon_F, \lambda \epsilon\}$. Θέτουμε $\lambda = 0.99$, αρχικό $\epsilon_0 = 0.15$ και $\epsilon_F = 0.03$. Για να μπορεί ο αντιπρόσωπός μας να επιλέγει διευθύνσεις URL - που σχετίζονται με ενέργειες - που έχουν εξαχθεί από προηγούμενες μεταβάσεις καταστάσεων, χρησιμοποιούμε μια ουρά προτεραιότητας, που ονομάζεται σύνορα, έτσι ώστε η καλύτερη ενέργεια να επιλέγεται στο $O(\log(N))$, όπου N είναι το μέγεθος συνόρων. Σημειώνουμε ότι μια διεύθυνση URL αποθηκεύεται στο σύνορο μαζί με την αντίστοιχη τιμή Q , η οποία υπολογίστηκε από το Q-Network. Επίσης, ορίζουμε μια άλλη δομή, που ονομάζεται Κλείσιμο, όπου αποθηκεύουμε τις ανακτημένες διευθύνσεις URL, έτσι ώστε ο πράκτορας να μην τις ανακτήσει ξανά.

Τέλος, μπορούμε να περιγράψουμε την προτεινόμενη εστιασμένη διαδικασία ανίχνευσης που ακολουθεί ο αντιπρόσωπός μας. Στο σημείο αυτό θεωρούμε ότι έχει ολοκληρωθεί η διαδικασία **Active Learning (AL)**. Έτσι, έχουμε ένα εκπαιδευμένο μοντέλο **LSTM** για να προβλέψουμε εάν ένα έγγραφο (δημοσίευση) είναι σχετικό με το θέμα που μας ενδιαφέρει. Θυμηθείτε ότι οι προβλέψεις αυτού του μοντέλου φιλτράρονται αρχικά, χρησιμοποιώντας μια δεδομένη ταξινόμηση λέξεων-κλειδιών, προκειμένου να δοθούν οι αντίστοιχες ανταμοιβές που λαμβάνει ο πράκτορας κατά τη διάρκεια ολόκληρης της διαδικασίας ανίχνευσης. Αρχικά, ο χρήστης δίνει μερικές αναφορές seeds (URL), οι οποίες είναι όλες πολύ σχετικές με το θέμα που ενδιαφέρει, μαζί με την ταξινόμηση των λέξεων-κλειδιών. Αυτά τα seeds είναι το σημείο εκκίνησης της διαδικασίας ανίχνευσης. Όπως αναφέραμε παραπάνω, οι αντίστοιχες πληροφορίες από αυτά αποθηκεύονται στο Experience Replay, πριν ξεκινήσει η διαδικασία ανίχνευσης. Επίσης, οι αναφορές που εξάγονται από τις δημοσιεύσεις seeds αποθηκεύονται στο frontier με μια αρχική τιμή Q, ενώ οι διευθύνσεις URL αποθηκεύονται στο κλείσιμο. Θυμηθείτε ότι χρησιμοποιούμε τη δομή κλεισίματος για να μην ανακτήσουμε μια διεύθυνση URL περισσότερες από μία φορές. Όταν έχει ξεκινήσει η διαδικασία ανίχνευσης, σε κάθε χρονικό βήμα ο πράκτορας DQN, δεδομένης της κατάστασής του, λαμβάνει δείγματα μιας ενέργειας (που σχετίζεται με μια διεύθυνση URL) από τα σύνορα χρησιμοποιώντας την πολιτική ε-greedy. Μετά την ανάκτηση της αντίστοιχης δημοσίευσης, οι αναφορές της εξάγονται και αποθηκεύονται στο frontier μαζί με μια αντίστοιχη τιμή Q που υπολογίζεται από τον πράκτορα. Ταυτόχρονα, η διεύθυνση URL της δημοσιοποιημένης έκδοσης αποθηκεύεται στο κλείσιμο. Επιλέγοντας μια ενέργεια από το front-tier, ο πράκτορας λαμβάνει μια ανταμοιβή.

Στη συνέχεια, μεταβαίνει σε μια άλλη κατάσταση, που σχετίζεται με την τρέχουσα δημοσίευση που ανακτήθηκε και το ιστορικό των δημοσιεύσεων που ανακτήθηκαν κατά τη διάρκεια ολόκληρης της διαδικασίας ανίχνευσης. Αυτή η μετάβαση κατάστασης αποθηκεύεται στη συνέχεια στο Experience Replay. Στη συνέχεια, ο πράκτορας μαθαίνει από τις προηγούμενες μεταβάσεις, σύμφωνα με το Deep Q-learning algorithm. Σημειώστε ότι αυτή η διαδικασία επαναλαμβάνεται συνεχόμενα, έως ότου ληφθεί ένας προκαθορισμένος αριθμός δημοσιεύσεων από το εστιασμένο πρόγραμμα ανίχνευσης. Σημειώνουμε ότι χρησιμοποιούμε βελτιστοποιητή Adam με αρχικό ρυθμό εκμάθησης ίσο με 0.001. Επίσης, για κάθε βήμα προπόνησης του συστήματος, λαμβάνουμε δείγμα από το Experience Replay με σταθερό μέγεθος παρτίδας ίσο με το 16. Ορίζουμε την περίοδο ενημέρωσης στόχου ίση με 100, δηλαδή οι τιμές βάρους του Q-Network αντιγράφονται στο Target Q-Network μετά από 100 χρονικά βήματα. Έτσι, κατά τη διάρκεια ολόκληρης της διαδικασίας 700 χρονικών βημάτων ανίχνευσης, το δίκτυο Q-στόχου ενημερώνεται 7 φορές. Επιπλέον, για να συλλέξει περισσότερα δεδομένα, ο αντιπρόσωπός μας αρχίζει να μαθαίνει αφού περάσουν 40 χρονικά βήματα. Σημειώνουμε ότι για αυτά τα 40 χρονικά βήματα, εκτελούμε μόνο εξερεύνηση χρησιμοποιώντας τυχαία ανίχνευση, δηλαδή, επιλέγεται μια διεύθυνση URL από το όριο με ομοιόμορφη δειγματοληψία.

Τελευταίο αλλά εξίσου σημαντικό, σε αυτό το σημείο, θα συζητήσουμε περισσότερες λεπτομέρειες εφαρμογής. Αναπτύξαμε το εστιασμένο σύστημα ανίχνευσης χρησιμοποιώντας την [Python 3](#). Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήσαμε το [Keras](#) και το [TensorFlow 2](#) για τη δημιουργία και την εκπαίδευση όλων των νευρωνικών δικτύων που περιγράφονται στις προηγούμενες ενότητες. Επιπλέον, δημιουργήσαμε το περιβάλλον ανίχνευσης χρησιμοποιώντας την εργαλειοθήκη ανοιχτού κώδικα [Gym](#). Σημειώνουμε ότι η όλη διαδικασία ανίχνευσης διεξήχθη χρησιμοποιώντας διευθύνσεις URL από το [PubMed](#) και το [MEDLINE](#). Για το σκοπό αυτό, προκειμένου να ανακτήσουμε ιστοσελίδες και να αποκτήσουμε πρόσβαση σε δημοσιεύσεις αναφοράς, χρησιμοποιήσαμε το εργαλείο ανοιχτού κώδικα [PubMed_parser](#).

ΜΕΡΟΣ Β: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.8. Εθνοφαρμακολογική Αναζήτηση

Η εθνοβοτανική στην περιοχή της νοτιοανατολικής (ΝΑ) Ευρώπης περιλαμβάνει τοπική παραδοσιακή γνώση από χώρες όπως η Αλβανία ([Pieroni, 2008](#)), η Δημοκρατία της Βόρειας Μακεδονίας ([Miskoska-Milevska, 2020](#)), η Βουλγαρία ([Ivanova, 2018](#)) και η Ελλάδα ([Vokou, 1993](#); [Axiotis, 2018](#); [Tsioutsiou, 2019](#)). Στην παρούσα μελέτη περιλαμβάνεται και η παραλιακή ζώνη της Μικράς Ασίας ([Ugulu, 2009](#); [Kargioğlu, 2010](#); [Polat, 2012](#)) (**Εικόνα 3.1**). Οι εμφανείς χλωριδικές συγγένειες των νησιών του Ανατολικού Αιγαίου με τη γειτονική δυτική Ανατολία, μαζί με τη διαρκή επιρροή που είχαν οι Τούρκοι της Ανατολίας στην ανατολική Ευρώπη κατά την Οθωμανική Αυτοκρατορία, μας ώθησαν να συγκρίνουμε τα δεδομένα των εθνοφαρμακολογικών μελετών από αυτήν την περιοχή.

Η περιοχή των Βαλκανίων μπορεί να περιγραφεί ταυτόχρονα ως «γέφυρα σύνδεσης» πολιτισμών και ως βίαιη μεταβατική ζώνη μεταξύ των πολιτισμών. Το βιοπολιτισμικό-ιστορικό κράμα φυλών στο νότιο τμήμα της χερσονήσου αντιπροσωπεύει τον πυρήνα της «βαλκανοποίησης» ([Ballinger, 1999](#)), μια έννοια που επινοήθηκε για να ορίσει το ανθρωπολογικό μείγμα στη νοτιοανατολική Ευρώπη.

Προχωρώντας προς τα νότια μέρη της χερσονήσου, έχει εξελιχθεί ένα μοναδικό πολιτιστικό και γλωσσικό πρότυπο με τους πληθυσμούς που επηρεάζονται από την κυριαρχία των αρχαίων Μακεδόνων (500–168 π.Χ.), των Ρωμαίων (168–284 π.Χ.), των Βυζαντινών (395–1453 μ.Χ.), και Οθωμανών (1299–1922 μ.Χ.). Από τις αρχές του 19^{ου} αιώνα, τα Βαλκάνια μετατράπηκαν από προτεκτοράτα ξένων αυτοκρατοριών σε ανεξάρτητες χώρες, αλλά το πολιτισμικό κράμα ήταν τόσο συνυφασμένο που ενσωματώθηκε στα σύνορα αυτών των εθνικών κρατών ακόμη και μετά από πολλές γενιές. Ακόμα κι αν υπάρχουν εκατοντάδες διαφορετικές εθνοτικές ομάδες σε αυτές τις χώρες, ενσωματώνονται στις τοπικές κοινωνίες με τέτοιο τρόπο που είναι πολύ δύσκολο να διερευνηθεί η προέλευσή τους ([Carter, 1977](#)). Σε πολλές περιπτώσεις, οι ερευνητές έχουν περιγράψει μια «διάβρωση» της παραδοσιακής ιατρικής γνώσης λόγω μεγάλων κοινωνικών αλλαγών ([Quave, 2012](#)). Ως αποτέλεσμα, η απώλεια πληροφοριών είναι αναπόφευκτη.

Επιπλέον, η πλούσια βιοποικιλότητα που χαρακτηρίζει αυτές τις περιοχές και μεγάλος αριθμός ειδών, έχει χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή ιατρική. Ένας μη εξαντλητικός κατάλογος ειδών στα παλαιότερα γραπτά αρχεία, που διατηρούνται ακόμη, έχει αξιοποιηθεί από τα τοπικά συστήματα υγειονομικής περίθαλψης ([Legakis, 2018](#)).

Τον τελευταίο καιρό, πολλοί διαδικτυακοί πόροι προσπάθησαν να μεταδώσουν αυτή τη γνώση, κυρίως προφορικές αναφορές από ηλικιωμένους. Αυτές οι προσπάθειες δημιουργούν μια εμφανή ποικιλία πηγών που χρειάζονται νέες τεχνολογίες προκειμένου να υποστούν επεξεργασία ([Yao, 2019](#)), να ταξινομηθούν και να επικυρωθούν προς όφελος της επιστημονικής κοινότητας.

Στην παρούσα μελέτη βρεθήκαμε αντιμέτωποι με αυτή τη μεγάλη πρόκληση. Ο όγκος των πηγών που έπρεπε να παρακολουθηθούν ξεπέρασε μια βάση δεδομένων 10.000 αναγνωρισμένων αναφορών με βάση τα θέματα που συνοψίζονται στον **Πίνακα 3.1**. Περιορίσαμε τις φυτικές οικογένειες στα Αγγειόσπερμα και, από αυτές, εξετάσαμε 31 από τις πιο σημαντικές οικογένειες φυτών που χρησιμοποιούνται στην εθνοφαρμακολογία. Επιπλέον, το μέρος του φυτού που χρησιμοποιήθηκε, οι χρήσεις και οι συνταγές, οι όροι ιατρικού θέματος (MeSH) και οι γεωγραφικές περιοχές χρησιμοποιήθηκαν για το φιλτράρισμα των αναγνωρισμένων αναφορών.

Πίνακας 3.1. Εθνοφαρμακολογικές Αναφορές / Mesh Terms που χρησιμοποιήθηκαν στον αλγόριθμο.

Οικογένειες Φυτών	Τμήμα του Φυτού	Χρήσεις/Συνταγές	MeSH Terms	Γεωγραφική Περιοχή
Alliaceae	Aerial Part	Decoction	Greek ethnopharmacology	Albania FYROM or Northern Macedonia Bulgaria (southern) Greece Coastal zone of Turkey or Asia Minor
Anacardiaceae	Flower	Infusion	Traditional greek medicine	
Apiaceae	Chalices of flowers	Maceration	Natural product	
Asparagaceae	Seed	Powder	Medicinal plant	
Asphodelaceae	Leaf	Juice	Plant extracts	
Asteraceae	Fruit	Poultice	Pharmacological action	
Boraginaceae	Stem	tsp of oil	Disease	
Brassicaceae	Bark	Paste	Treatment	
Cactaceae	Root	Whole plant preparation	Antimicrobial activity	
Cannabaceae	Clove	Cook	Radical scavenging activity	
Capparaceae	Stigma	Raw	Antioxidant activity	
Cistaceae	Bulb	Milk	Ethnobotany	
Fabaceae	Foliage	Solvent / adjuvant used	Pharmacognosy	
Fagaceae	Shoot	Honey	Herbal medicine	
Gentianaceae	Branch	Wine / Water	Greek folk medicine	
Hypericaceae	Whole Plant	Filtrate	Home remedies	
Lamiaceae	Wooden	Pounded	Folk remedies	

Liliaceae	Kernel	Extract	Materia medica
Malvaceae	Fiber	Dried	Phytotherapy
Moraceae	Rhizome	Fresh	Southern Balkans
Myrtaceae	Ground plant	Soup	Balkans
Oleaceae	Petioles	Soaked in	Albanian ethnopharmacology
Paeoniaceae	Stem bark	Milled	Bulgarian ethnopharmacology
Platanaceae	Tuberous root	Mixed with	Southern Bulgary ethnopharmacology
Rosaceae	Styles	Warm and smoke	FYROM ethnopharmacology
Salicaceae	Latex	Chew	Northern Macedonia ethnopharmacology
Scrophulariaceae	Gum	Swallow	Turkish ethnopharmacology
Solanaceae	Peels	Bake	Turkish coastal zone ethnopharmacology
Urticaceae	Ripe ears	Bandage	Turkish folk medicine
Valerianaceae	Hard wood	Squeez	Southern Balkans folk medicine
Vitaceae	Radix	Disperse in	Pharmacotherapy

3.9. Αποτελέσματα Ανίχνευσης

Σε μια ρύθμιση της baseline, η αυτόματη ανίχνευση απλώς θα επέστρεφε εξαντλητικά τις αναφορές των seeds και, στη συνέχεια, αναδρομικά τις αναφορές αυτών των αναφορών. Αυτό προκαλεί σημαντική αύξηση στον αριθμό των παραληφθέντων εγγράφων, χωρίς να διασφαλίζονται ποιοτικά αποτελέσματα. Ένας άνθρωπος, από την άλλη πλευρά, θα ακολουθούσε μια πολύ πιο στοχευμένη προσέγγιση, αξιολογώντας κάθε φορά τα πιο πολλά υποσχόμενα έγγραφα και με τη σειρά του κρίνοντας τις αναφορές τους.

Στη ρύθμιση RL, ο πράκτορας μπορεί να καθορίσει ότι σε ορισμένες περιπτώσεις είναι πολλά υποσχόμενο να ακολουθήσει μια οριακά σχετική αναφορά, για να φτάσει στη συνέχεια σε μια πληθώρα άλλων δημοσιεύσεων που μπορεί να μην είχαν ληφθεί με την προηγούμενη μέθοδο.

Σε αυτήν την περίπτωση, μετράμε τη μείωση στις ανιχνευμένες δημοσιεύσεις, σε σύγκριση με τη γραμμή βάσης. Λαμβάνουμε επίσης υπόψη πόσα έγγραφα που ανακτήθηκαν ήταν όντως σχετικά με το θέμα μας. Σημειώνουμε ότι στη βασική προσέγγιση:

- στα πρώτα 25 έγγραφα, έχουμε περίπου **850** αναφορές για έλεγχο.
- στα πρώτα **700** έγγραφα που ανακτήθηκαν, οι ταυτοποιημένες αναφορές είναι περίπου **10.000**.

Έχουμε υπολογίσει, δειγματοληπτικά 50 αντιπροσωπευτικά έγγραφα, ότι το ποσοστό των σχετικών αναφορών ανά έγγραφο είναι περίπου 19%. Από την άλλη πλευρά, ο αλγόριθμος DQN πήρε 700 έγγραφα, μετρώντας το HR ως 60% (420 σχετικά έγγραφα από 700), δηλαδή βελτιώνοντας 3,1 φορές την αποτελεσματικότητα σε σχέση με την αρχική τιμή. Πρέπει να αναφέρουμε ότι αυτή η βαθμολογία HR είναι επίσης η μέση αθροιστική ανταμοιβή που έλαβε ο πράκτορας κατά τη διάρκεια ολόκληρης της διαδικασίας ανίχνευσης (μάθησης).

Ως δεύτερη πτυχή, εξετάσαμε τον ίδιο αριθμό (420) σχετικών εγγράφων που μπορεί να ανακτήσει ο ειδικός στη μονάδα χρόνου. Λαμβάνοντας υπόψη τον χρόνο που χρειάζεται ο ειδικός για να σχολιάσει ένα μεμονωμένο έγγραφο, εκτιμούμε ότι χρειάζονται συνολικό χρόνο 36 ωρών για αυτήν την εργασία, που είναι ένας ρυθμός 13 σχετικών εγγράφων ανά ώρα. Το σύστημα που βασίζεται σε RL πέτυχε ρυθμό 68 σχετικών εγγράφων ανά ώρα μέσω μιας εργασίας ανίχνευσης 7 ωρών, και έτσι βελτίωσε 5.14 φορές την αποτελεσματικότητα σε σχέση με τον ειδικό.

3.10. Συμπεράσματα

Με την παρούσα μελέτη αποδείχθηκε ότι μια μεθοδολογία που χρησιμοποιεί μεθόδους AL και RL μπορεί να ενισχύσει σημαντικά την αποτελεσματικότητα και την αποδοτικότητα των ερευνητών εθνοφαρμακολογίας. Επιπλέον, έγινε φανερό ότι η έρευνα που βασίζεται στην τεχνητή νοημοσύνη μπορεί να βελτιώσει 3.1 φορές την αποτελεσματικότητα και 5.14 φορές την αποδοτικότητα του ειδικού τομέα, υποδηλώνοντας τη χρήση τέτοιων εργαλείων για έρευνα εθνοφαρμακολογίας.

Μετά από αυτήν την προκαταρκτική μελέτη, μπορούμε με ασφάλεια να υποθέσουμε ότι η χρήση εργαλείων τεχνητής νοημοσύνης μπορεί πράγματι να υποστηρίξει τους ερευνητές να ενισχύσουν την αποτελεσματικότητα της αναγνώρισης και ανάκτησης κατάλληλων εγγράφων.

Μελλοντικός στόχος είναι η ανάπτυξη ενός εξορθολογισμένου συστήματος λογισμικού, που συνδυάζει την αναπτυγμένη (back-end) μεθοδολογία με μια διαισθητική (front-end) εμπειρία χρήστη, υποστηρίζοντας πρακτικά τις ροές εργασιών έρευνας εθνοφαρμακολογικής έρευνας. Η συμβολή αυτού του συστήματος στην καθημερινή πρακτική θα ήταν η σημαντική μείωση του χρόνου και της προσπάθειας που διατίθεται για τον εντοπισμό και τη συλλογή εγγράφων που σχετίζονται με την εστίαση ενός ερευνητή.

3.11. Βιβλιογραφικές Αναφορές

- Axiotis, E.;** Halabalaki, M.; Skaltsounis, L.A. An ethnobotanical study of medicinal plants in the Greek islands of North Aegean Region. *Front. Pharmacol.*, 2018, 9, 1–6.
- Ballinger, P.** Definition Dilemmas: Southeastern Europe as a «Culture Area»? *Balkanologie*, 1999, III, 2.
- Batsakis, S.;** Petrakis, E. & Milios, E. Improving the Performance of Focused Web Crawlers. *Data Knowl. Eng.*, 2009, 68(10), 1001–1013.
- Biomedical natural language processing.** Tools and resources. Available online: <https://bio.nlplab.org/>.
- Carter, F.W.** An Historical Geography of the Balkans; Academic Press: New York, NY, USA, 1977, 580.
- Chakrabarti, S.;** Van den Berg, M.; Dom, B. Focused crawling: a new approach to topic-specific Web resource discovery. *Computer networks*, 1999, 31, 1623–1640.
- Chen, Y.;** Mani, S.; Xu, H. Applying active learning to assertion classification of concepts in clinical text. *J. Biomed. Inform.*, 2012, 45, 265–272.
- Flora of Greece.** Vascular Plant Checklist of Greece. Available online: <http://portal.cybertaxonomy.org/flora-greece/>
- Han, M.;** Wuillemin, P.-H.; Senellart, P. Focused Crawling Through Reinforcement Learning. In *Web Engineering. ICWE. Lecture Notes in Computer Science*; Mikkonen, T., Klamma, R., Hernández, J., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2018, 10845.
- Heinrich, M.;** Jäger, A. K. Ethnopharmacology, John Wiley & Sons: Chichester, UK, England, 2015.
- Ivanova, T.A.;** Bosseva, Y.Z.; Ganeva-Raycheva, V.G.; Dimitrova, D. Ethnobotanical knowledge on edible plants used in zelnik pastries from Haskovo province (Southeast Bulgaria). *Phytol. Balc.*, 2018, 24, 389–395.
- Kargioğlu, M.;** Cenkci, S.; Serteser, A.; Konuk, M.; Vural, G. Traditional uses of wild plants in the middle Aegean region of Turkey. *Hum. Ecol.*, 2010, 38, 429–450.
- Kontogiannis, A.** Focused Crawling Ethnopharmacological References with Active and Reinforcement Learning. 2021, Thesis, Athens, Greece.
- Legakis, A.;** Constantinidis, T.; Petrakis, P.V. Biodiversity in Greece. In *Global Biodiversity*; Apple Academic Press: Boca Raton, FL, USA, 2018.
- Lukman, S.;** He, Y.; Hui, S.C. Computational methods for Traditional Chinese Medicine: A survey. *Comput. Methods Programs Biomed.*, 2007, 88, 283–294.
- Miskoska-Milevska, E.;** Stamataska, A.; Jordanovska, S. Traditional uses of wild edible plants in the Republic of North Macedonia. *Phytol. Balc.*, 2020, 26, 155–162.
- Mitchell, Thomas.** Machine Learning. McGraw-Hill, Inc., USA, 1st Edition, 1997.
- Mnih, V.;** Kavukcuoglu, K.; Silver, D.; Rusu, A.; Veness, J.; Bellemare, M.G.; Graves, A.; Riedmiller, M.; Fidjeland, A.K.; Ostrovski, G.; Petersen, S.; Beattie, C.; Sadik, A.; Antonoglou, I.; King, H.; Kumaran, D.; Wierstra, D.; Legg, S. & Hassabis, D. Human-level control through deep reinforcement learning. *Nature*, 2015, 518(7540), 529–533.
- Naseem, U.;** Khushi, M.; Khan, S.K.; Shaukat, K.; Moni, M.A. A Comparative Analysis of Active Learning for Biomedical Text Mining. *Appl. Syst. Innov.*, 2021, 4, 23.
- Pieroni, A.** Local plant resources in the ethnobotany of Theth, a village in the Northern Albanian Alps. *Genet. Resour. Crop. Evol.*, 2008, 55, 1197–1214.
- Polat, R.;** Satıl, F. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Edremit Gulf (Balıkesir-Turkey). *J. Ethnopharmacol.*, 2012, 139, 626–641.
- Quave, C.L.;** Pardo-De-Santayana, M.; Pieroni, A. Medical ethnobotany in Europe: From field ethnography to a more culturally sensitive evidence-based cam? *Evid-Based Compl. Alt.*, 2012.

Souid, A.; Sakli, N.; Sakli, H. Classification and Predictions of Lung Diseases from Chest X-rays Using MobileNet V2. *Appl. Sci.*, 2021, 11, 2751.

Sutton, R.S.; **Barto, A.G.** *Reinforcement Learning: An Introduction*; MIT Press: Cambridge, MA, USA, 2018.

Tsioutsiou, E.E.; Giordani, P.; Hanlidou, E.; Biagi, M.; De Feo, V.; Cornara, L. Ethnobotanical Study of Medicinal Plants Used in Central Macedonia, Greece. *Evid.-Based Complement. Altern. Med.*, 2019, 4513792.

Ugulu, I.; Baslar, S.; Yorek, N.; Dogan, Y. The investigation and quantitative ethnobotanical evaluation of medicinal plants used around Izmir province, Turkey. *J. Med. Plants Res.*, 2009, 3, 345–367.

Vokou, D.; Katradi, K.; Kokkini, S. Ethnobotanical survey of Zagori (Epirus, Greece), a renowned centre of folk medicine in the past. *J. Ethnopharmacol.*, 1993, 39, 187–196.

Yadong, Z.; Kongfa, H.; Tao, Y. Mining effect of Famous Chinese Medicine Doctors on Lung-cancer based on Association rules. *IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM)*, 2019, 2036–204.

Yao, Y.; Wang, Z.; Li, L.; Lu, K.; Liu, R.; Liu, Z.; Yan, J. An Ontology-Based Artificial Intelligence Model for Medicine Side-Effect Prediction: Taking Traditional Chinese Medicine as an Example. *Comput. Math. Methods Med.*, 2019, 861750.

Κεφάλαιο 4

Φυτοχημικό Προφίλ και Βιολογική Αξιολόγηση του *Sideritis sipylea* Boiss από την νήσο Λέσβο

Γενικά

Το τσάι του βουνού ή σιδερίτης (*Sideritis* spp), περιλαμβάνει περίπου 150 είδη και υποείδη, που βρίσκονται κυρίως στις παραμεσόγειες χώρες στις Καναρίους νήσους και στην Βόρειο Ασία ([Davis, 1982](#)). Φύεται σε εύκρατες περιοχές και τροπικά κλίματα του βόρειου ημισφαιρίου, από τις Μπαχάμες έως την δυτική Κίνα και από την Γερμανία έως το Μαρόκο ([González-Burgos, 2011](#); [Güvenç, 2005](#)).

Στον Ελληνικό χώρο έχουν γίνει εργασίες μορφολογικής μελέτης και ταξινόμησης. Από τον Παπανικολάου και Κοκκίνη ([Papanicolaou & Kokkini, 1984](#)), έχουν πραγματοποιηθεί εργασίες και σύμφωνα με αυτές τις εργασίες τα αυτοφυή είδη του γένους *Sideritis* στην Ελλάδα είναι γνωστά με το κοινό όνομα «τσάι του βουνού», ανήκουν στο γένος *Sideritis* L., *Section Empedoclia* (Raffin.) Benth. Τα είδη και υποείδη του γένους *Sideritis* που απαντώνται στην Ελλάδα είναι πολυετή είδη του γένους, τα οποία φύονται σε ασβεστολιθικές περιοχές και σε μεγάλα υψόμετρα (800 έως 2.000μ.). Το είδος ***S. romana* L.**, φύεται σε ξηρούς και αιχμηρούς τόπους σε όλη τη χώρα, είναι γνωστό με το όνομα βλάχικο τσάι ή μπετόνικα ή χόρτο του καλόγερου. Το είδος ***S. montana* L.**, που φύεται σε ξηρούς, άγονους και αιχμηρούς τόπους της βορειο-ηπειρωτικής Ελλάδας, μέχρι και τη Θεσσαλία, είναι γνωστό και αυτό με το όνομα βλάχικο τσάι. Ως τσάι του Ολύμπου είναι γνωστό το είδος ***S. scardica* Griseb.**, που φύεται σε βραχώδεις υποαλπικές και αλπικές θέσεις της βορειο-ηπειρωτικής Ελλάδας, μέχρι το Πήλιο. Το είδος ***S. clandestina* Boiss** ή ***S. theezans* Boiss & Heldr.** φύεται σε βραχώδεις υποαλπικές και αλπικές θέσεις της Πελοποννήσου και είναι γνωστό ως τσάι του Μαλεβού. Το είδος ***S. raeseri* Boiss & Heldr.** είναι γνωστό ως τσάι του Βελουχιού ή τσάι του Παρνασσού και φύεται σε βραχώδεις υποαλπικές και αλπικές θέσεις της κεντρικής και δυτικής ηπειρωτικής Ελλάδας. Μαζί με το ***S. scardica***, το είδος ***S. raeseri*** έχει τη μεγαλύτερη εξάπλωση στον ελληνικό γεωγραφικό χώρο. Πρόκειται για πολυετή πόα με βλαστούς έως 40cm. Τα άνθη του έχουν κίτρινο χρώμα. Το είδος ***S. euboica* Heldr.** είναι γνωστό ως τσάι του Δέλφι και φύεται επί του όρους Δίρφου της Ευβοίας. Αποτελεί πολυετή πόα ύψους 15-35cm, που καλύπτεται από εριώδες, λευκό τρίχωμα. Τα φύλλα έχουν επίμηκες ωοειδές σχήμα και η ταξιανθία είναι σταχυόμορφη με κίτρινα άνθη. Είναι ενδημικό φυτό στα όρη Δίρφου, Ξηροβούνι και Όχη της Εύβοιας. Το είδος ***S. syriaca* L. (*S. cretica* Boiss., *S. boissieri* Magn.)** που φύεται σε βράχους της Κρήτης, είναι γνωστό με το όνομα μαλοτήρα. Αυτό το λαϊκό όνομα προέρχεται από τις ιταλικές λέξεις male (αρρώστια) και tirare (σύρω), επειδή στην ενετοκρατούμενη Κρήτη το θεωρούσαν πανάκεια για τα κρυολογήματα και τις παθήσεις του αναπνευστικού. Το είδος ***S. sipylea* Boiss.** απαντά σε νησιά του Αιγαίου, σε ανοιχτές, βραχώδεις περιοχές και ύψος μέχρι τα 1.400 m. Τέλος το είδος ***S. perfoliata* L.** με δύο υποείδη. Το πρώτο είναι το **ssp. *perfoliata*** που απαντά στη νότια Πίνδο. Είναι είδος υψηλής βιολογικής αξίας. Πρόκειται για ένα φυτό ύψους 20-40cm, όπου τα στελέχη του είναι μη διακλαδισμένα και φέρουν ίνες. Τα φύλλα έχουν πράσινο χρώμα και είναι σχεδόν άτριχα ενώ οι ταξιανθίες είναι πυκνές

και θυμίζουν στάχυ. Το δεύτερο είναι το **ssp. *athoa*** που ενδημεί στο όρος Άθως και τη Σαμοθράκη. Είναι γνωστό ως τσάι «βλάχικο». Ο βλαστός στην βάση του είναι απλός με διακλαδώσεις. Τα φύλλα του έχουν χρώμα πράσινο ή κιτρινοπράσινο και σχήμα λογχοειδές. Ο κάλυκας είναι κωδωνοειδής και τα πέταλα του άνθους έχουν χρώμα κίτρινο.

Σύμφωνα με μία εκδοχή, η ονομασία αυτή προέρχεται από την λέξη «σίδηρος», εξαιτίας της ικανότητάς του να θεραπεύει τις πληγές που προκαλούνται από σιδερένια αντικείμενα. Σύμφωνα με άλλη πηγή, ονομάστηκε έτσι επειδή αποτελεί φυσική πηγή σιδήρου, αφού στα ροφήματα που παρασκευάζονται από αυτό περιέχεται αρκετός σίδηρος. Παράλληλα μία άλλη εκδοχή είναι ότι το όνομά του οφείλεται στο σχήμα του άνθους (τα δόντια του κάλυκα του άνθους) που μοιάζουν με αιχμή λόγχης ([Γεννάδιος, 1959](#)).

Η πρώτη αναφορά στον Σιδερίτη γίνεται από τον Θεόφραστο στην Αρχαία Ελλάδα. Ο Διοσκουρίδης, στο «De Materia Medica» αναφέρει τρεις σιδερίτες, οι οποίοι όμως σύμφωνα με την περιγραφή τους δεν πρέπει να σχετίζονται με είδη του γένους *Sideritis*. Ο Λινναίος ήταν ο πρώτος ο οποίος περιέγραψε τους σιδερίτες, το 1753, ενώ οι Webb και Berthelot το 1836 υποστήριξαν ότι αποτελούσαν ένα ξεχωριστό γένος, το οποίο το ονόμασαν *Leucophaea*. Σύμφωνα με τους Mendoza-Hener (1977) το γένος *Sideritis* χωρίζεται σε δύο υπογένη, το *Sideritis* και *Marrubiastrum* ([Barber, 2002](#); [Fraga, 2012](#)).

4.1. Βοτανικά Χαρακτηριστικά του γένους *Sideritis*

4.1.α. Ταξινόμηση και Ονοματολογία του είδους

Βασίλειο (Regnum) :	Plantae
Άθροισμα (Division) :	Magnoliophyta
Κλάση (Classis) :	Magnoliopsida
Τάξη (Ordo) :	Lamiales
Οικογένεια (Familia) :	Labiatae (Lamiaceae)
Γένος (Genus) :	<i>Sideritis</i> L.
Είδος (Species) :	<i>Sideritis sipylea</i> Boiss.

Το γένος σιδερίτη περιλαμβάνει περισσότερα από 150 είδη φαρμακευτικών και αρωματικών φυτών. Είναι δικοτυλήδονα και ανήκουν στην οικογένεια των χειλανθών (Lamiaceae). Είναι μονοετείς ή πολυετείς πόες αποξυλωμένες στην βάση και τριχωτές, συνήθως δε πολύ αρωματικές λόγω του αιθερίου ελαίου. Τα άνθη φέρονται μεμονωμένα ή πολλά μαζί στις μασχάλες των φύλλων. Τα φύλλα είναι ακέραια ή οδοντωτά και τα άνθη ερμαφρόδιτα, λευκά ή κίτρινα και συνήθως σχηματίζουν στάχυ. Ο κάλυκας είναι κωνοειδής με 10 νευρώσεις και 5 οδόντες διαταγμένους σε δύο χείλη. Η στεφάνη είναι δίχειλη, κίτρινη, κιτρινόλευκη, λευκή ή ροδόχρωμη. Το επάνω χείλος αποτελείται από δύο συμφυή πέταλα και συνήθως είναι δισχιδές, ενώ το κάτω καταλήγει σε τρεις λοβούς, από τους οποίους ο μεσαίος είναι μεγαλύτερος. Οι στήμονες είναι τέσσερις και οι μπροστινοί δύο είναι επιμηκέστεροι από τους άλλους δύο. Ο στύλος καταλήγει σε δύο άνισα στίγματα. Η ωοθήκη είναι δίχωρη, ενώ με ψευδή διαφράγματα γίνεται τετράχωρη. Οι καρποί είναι τέσσερα κάρυα που περικλείουν από ένα σπέρμα ([Γκόλιαρης, 1999](#)). Αναπτύσσονται σε ύψος μέχρι 40-50cm.

Τα είδη του σιδερίτη αναπτύσσονται άριστα σε πλήρη ήλιο και είναι καλά προσαρμοσμένα σε συνθήκες ξηρασίας. Βρίσκονται σε βραχώδεις πλαγιές και λιβάδια, από λίγα μέτρα πάνω από την επιφάνεια της θάλασσας μέχρι και περισσότερο από 3000 μ., και απαιτούν μέτρια πλούσια σε θρεπτικά συστατικά και ελαφρώς αλκαλικά εδάφη.

Κατά την διάρκεια της ιστορικής εξέλιξης, ο βαθμός πολυμορφισμού, η παρουσία της διακύμανσης οικοτύπου και ο συχνός υβριδισμός μεταξύ των ειδών, καθιστά πολύ δύσκολη την ταξινόμηση τους γένους. Για αυτόν ακριβώς τον λόγο, η μελέτη κάποιων μορφολογικών χαρακτηριστικών όσο και η ανάλυση των δευτερογενών μεταβολιτών (διτερπενοειδή και φλαβονοειδή) που θεωρούνται ως χημειοταξονομικοί δείκτες αυτού του γένους, φάνηκαν χρήσιμοι για την συστηματική ταξινόμηση των ειδών του σιδερίτη.

Στην Ελλάδα, απαντώνται 17 ενδημικά είδη του γένους, τα οποία είναι ιδιαίτερα αρωματικά ([EMA/HMPC/39455/2015](#)).

Ο *Sideritis sipylea* Boiss αποτελεί ενδημικό είδος των Βαλκανίων που εμφανίζεται στις νήσους του Βόρειο Ανατολικού Αιγαίου (Λέσβο, Χίο, Σάμο και την Ικαρία) και στις δυτικές ακτές της Μικράς Ασίας (**Εικόνα 4**).



Εικόνα 4. Αριστερά το υπέργειο τμήμα του *Sideritis sipylea* Boiss από το όρος Όλυμπος της Λέσβου. Δεξιά η γεωγραφική κατανομή του είδους στα νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου.

Το φυτό είναι πολυετές, ύψους 20-60 cm, διακλαδισμένο και καλυμένο με πυκνό χνούδι. Είναι φυτό αρωματικό μεσαίου μεγέθους με φύλλα αντίθετα, άμισχα, λογχοειδή τριχωτά. Άνθη στο άνω, χωρίς φύλλα των βλαστών, σε κόμβους ανά 4 συνήθως. Μέσα σε φυλλοειδή, τριχωτά βράκτια. Στεφάνη με βραχύ σωλήνα, δίλοβη με το άνω χείλος ευθύ, με δύο οδόντες, κίτρινο με βυσσινιές γραμμές, το κάτω τρίλοβο κίτρινο. Κάλυκας με 5 ίσους τριχωτούς λοβούς. Η ανθοφορία του αν και μετατοπισμένη λόγω κλιματικής αλλαγής, είναι από τα μέσα Μαΐου με μέσα Αυγούστου και σε υψόμετρο από 300-700 μ. (εννίστε και 1200 μ.). Θεωρείται απειλούμενο είδο στα νησιά του Βορείου Αιγαίου και στην Ελλάδα ([Phitos, 2009](#)), επειδή συλλέγεται σε μεγάλες ποσότητες από πληθυσμούς που αναπτύσσονται στην άγρια φύση.

4.2. Εθνοφαρμακολογικές Χρήσεις

Τα τελευταία χρόνια η χρήση φυσικών προϊόντων στον τομέα φαρμάκων, καλλυντικών και τροφίμων είναι διαρκώς αυξανόμενη. Παράλληλα με την συστηματική και σε βάθος έρευνα για την μελέτη της χημικής σύστασης, της βιολογικής δράσης ή της βελτίωσης της ποιότητας, γίνεται ιδιαίτερη προσπάθεια σε διεθνή κλίμακα για την ανακάλυψη νέων φυτικών ειδών – πηγών διαφόρων συστατικών – που μπορεί να έχουν φαρμακευτική ή βιομηχανική χρήση.

Τα είδη του σιδερίτη χρησιμοποιούνται παραδοσιακά ως αφεψήματα, βελτιωτικά γεύσης ή για θεραπευτικούς σκοπούς. Οι περισσότερες από τις θεραπευτικές χρήσεις του σιδερίτη, περιορίζονται στην λαϊκή ιατρική, αν και αξίζει να σημειωθεί ότι ολοένα και πιο συχνή γίνεται η παρουσία του *Sideritis* spp. σε εμπορικά σκευάσματα, με αποτέλεσμα την αυξημένη ζήτηση του φυτικού είδους. Όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 2, το αιθέριο έλαιο και το έγχυμα του ενδημικού σιδερίτη (*Sideritis sipylea* Boiss), εμφανίζει ευεργετική δράση τόσο για λοιμώξεις του γαστρεντερικού και ουροποιητικού συστήματος (**αντιβακτηριακή** έναντι Gram-θετικών ή Gram-αρνητικών) ή **αντιμυκητιασική δράση** επί του μύκητα *Candida albicans*, όπως έχει μελετηθεί από τον [Dulger, 2006](#)). Πιο συγκεκριμένα, το εξανικό εκχύλισμα του *S. scardica* σημείωσε σημαντική δράση έναντι του *Staphylococcus aureus* ([Kostadinova, 2008](#)) ενώ τα μεθανολικά εκχυλίσματα των ειδών *S. albiflora*, *S. brevibracteata* και *S. pisidica* έδειξαν θετικά αποτελέσματα έναντι *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* και *Pseudomonas aeruginosa* ([Dulger, 2006](#)).

Γενικότερα, παρασκευάσματα διαφόρων ειδών του γένους *Sideritis* χρησιμοποιούνται στην λαϊκή ιατρική κατά πολλών ασθενειών, όπως έχει αναφερθεί ευρέως σε πολλές εθνοφαρμακολογικές μελέτες. Αφέψημα και εγχύσεις, που προέρχονται από τα εναέρια τμήματα των φυτών, χρησιμοποιούνται παραδοσιακά για την θεραπεία πολλών παθήσεων, κυρίως **γαστροπροστατευτική**. Υδατικά εκχυλίσματα του *S. caesarea* χορηγούμενα *p.o.* εμφάνισαν σημαντική **γαστρική προστασία** έναντι πειραματικά επαγόμενου έλκους σε αρουραίους, γεγονός που επιβεβαίωσε και η ιστοπαθολογική εξέταση ([Gürbüz, 2005](#)). Παρατηρήθηκε δράση του αιθερίου ελαίου του είδους *S. italica* έναντι του *Helicobacter pylori* ([Basile, 2006](#)) Επίσης έχει αναφερθεί και **αντισπασμωδική δράση** για το στομάχι από το αιθανολικό εκχύλισμα του *S. raeseri*, σε μελέτες σε ποντίκια ([Bahmani, 2015](#); [Tunalier, 2004](#)).

Πειραματικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι τα εκχυλίσματα του *S. javalambrensis* με εξάνιο, διχλωρομεθάνιο και μεθανόλη μειώνουν την **φλεγμονή σε χρόνια φάση** ([Alcaraz, 1988](#); [Zarzuolo, 1993](#)ό [Gürbüz, 2005](#)). Εκχυλίσματα με εξάνιο και νερό του ίδιου φυτού βρέθηκε ότι καταστέλλουν το οίδημα που προκαλείται σε κουνέλι από την έγχυση κροτωνελαίου, τόσο σε οξεία όσο και σε χρόνια φάση. Επίσης **αντιφλεγμονώδη** και **ανοσορυθμιστική** δράση εμφανίζει ακόμα ένα στερολικό κλάσμα του φυτού *S. foetens* Clem. ([Villar, 1986](#); [Moroney, 1988](#); [Navarro, 2001](#)).

Στα μεθανολικά εκχυλίσματα του είδους *S. libanotica* spp. *linearis*, παρατηρήθηκε σημαντική **αντιπολλαπλασιαστική** δράση του μεθανολικού εκχυλίσματος των εναερίων τμημάτων του παραπάνω είδους σε καρκινικές κυτταρικές σειρές ([Demirtas, 2009](#)).

Η **αντιϊκή δράση** έχει μελετηθεί επί των ιών HSV και HIV. Σε μελέτη που στηρίζεται στην δραστικότητα των εκχυλισμάτων επί του ερπητοϊού, το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα του *S. perfoliata* spp. *perfoliata* έδειξε σημαντική αναστολή του σχηματισμού των ιικών πλακών και έντονη ιοκτόνο δράση ([Lazari, 2006](#)).

Η **αναλγητική** δράση στο είδος έχει αναφερθεί από το εκχύλισμα πετρελαϊκού αιθέρα από τα ανθοφόρα εναέρια τμήματα του είδους *S. taurica* σε χορηγούμενη δόση 400mg/kg (p.os) και παρατηρήθηκε ανάλογη δράση με αυτή που προκαλείται από 400mg/kg ακετυλοσαλικυλικού οξέος ([Aboutabl, 2002](#)). Το ευρέως γνωστό ελληνικό είδος *Sideritis scardica* Griseb., γνωστό και ως «τσάι του βουνού», έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε παραδοσιακά φαρμακευτικά σκευάσματα ως **τονωτικό, διουρητικό και αποτοξινωτικό**. Το αφέψημα από τα εναέρια τμήματα έχει χρησιμοποιηθεί συνήθως για λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος (κοινό κρυολόγημα) ([Kostadinova, 2008](#); [González-Burgos, 2011](#)).

Τα αφεψήματα και υδατικά εκχυλίσματα φυτών του γένους *Sideritis*, όπως και άλλων φυτών που ανήκουν στην οικογένεια Lamiaceae, εμφανίζουν **αντιοξειδωτικές ιδιότητες** ([Triantaphyllou, 2001](#); [Ivanova, 2005](#)). Αντιοξειδωτικές ιδιότητες εμφανίζουν επίσης και αιθερικά, μεθανολικά, βουτανολικά και οξικοαιθυλεστερικά εκχυλίσματα φυτών του γένους *Sideritis* ([Koleva, 2003](#); [Tunalier, 2004](#); [Tepe, 2006](#); [Armata, 2008](#); [Axiotis, 2018](#)) καθώς και αιθέρια έλαια από τα φύλλα και τα άνθη φυτών του γένους αυτού ([Basile, 2006](#)). Τα εκχυλίσματα, αφεψήματα και τα εγχύματα του σιδερίτη εμφανίζουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε φλαβονοειδή ([Gabrieli, 2005](#)), διτερπένια ή φαινολικά συστατικά, όπως είναι οι φαινυλοπροπανοϊδείς γλυκοσίδες ([Charami, 2008](#)).

Τελευταία έχει παρατηρηθεί ότι εκχυλίσματα των ειδών *S. euboea* και *S. scardica* ξεχωριστά ή και σε συνδυασμό έδειξαν δράση κατά του **Alzheimer** – βελτίωση της μνήμης σε πειραματόζωα και μείωση της συνολικής ποσότητας β-αμυλοειδούς έπειτα από την χορήγηση εκχυλισμάτων *Sideritis scardica*, *in-vivo* ([Feistel, 2013](#)). Τα αποτελέσματα βελτίωσης της μνήμης ήταν καλύτερα όταν χορηγήθηκε συνδυασμός και των δύο εκχυλισμάτων ([Hofrichter, 2016](#)). Επίσης *in-vivo* πειράματα σε ποντίκια ανέδειξαν θετικά αποτελέσματα εκχυλισμάτων *Sideritis scardica*, σε ψυχικές διαταραχές που σχετίζονται με μια δυσλειτουργική μονοαμινεργική νευροδιαβίβαση, όπως αγχώδεις διαταραχές, μείζονα κατάθλιψη, διαταραχή ελλειμματικής προσοχής-υπερκινητικότητας, νοητική ανεπάρκεια ή νευροεκφυλιστική νόσο ([Knörle, 2012](#)).

Η **κυτταροτοξική δράση** των εκχυλισμάτων του σιδερίτη μελετάται τα τελευταία χρόνια για την πρόληψη του καρκίνου. Το διαιθυλαιθερικό εκχύλισμα σημείωσε σημαντική κυτταροτοξική δράση έναντι των B-16 και HL-60 σειρών. Τα φαινολικά συστατικά όπως η apigenin, luteolin και οι γλυκοσίδες τους είναι υπεύθυνα για την κυτταροτοξική δράση του συγκεκριμένου εκχυλίσματος ([Tadic, 2012](#)).

Τα **αιθέρια έλαια** των *Sideritis angustifolia* και *Sideritis tragoriganum* είναι δραστικά κυρίως έναντι Gram-θετικών βακτηρίων, έναντι της *Candida albicans* και των μυκοβακτηριδίων, ενώ σε αραιώση 1/100 δεν είναι δραστικά έναντι των Gram-αρνητικών μικροοργανισμών. Πλέον δραστικό αποδείχθηκε το αιθέριο έλαιο του *S. mugronensis* έναντι του *Staphylococcus aureus*, ενώ το αιθέριο έλαιο του *S. angustifolia* έχει τη μεγαλύτερη μυκητοκτόνο και βακτηριοκτόνο δράση έναντι της *Candida albicans* και του *Mycobacterium phlei*, αντιστοίχως, τα οποία αναστέλλονται και από το αιθέριο έλαιο του *S. tragoriganum* ([Villar, 1986](#)). Τα αιθέρια έλαια των *S. curvidens* και *S. lanata* έδειξαν έντονη αντιμικροβιακή δράση για τα Gram-θετικά βακτήρια, με πιο ευαίσθητα τα *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* και *Micrococcus luteus*, τα οποία έδειξαν μεγαλύτερη ευαισθησία ακόμη και από αυτή στα αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν για τη συγκεκριμένη μελέτη ([Ugur, 2005](#)). Ικανή αντιβακτηριδιακή δράση εμφάνισε το αιθέριο έλαιο του *S. italica*, το οποίο σε MIC από 3.9-15.6 μg/ml έδρασε μικροβιοστατικά έναντι στελεχών *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*, *Helicobacter pylori* και *Proteus vulgaris* ([Basile, 2006](#)). Τα είδη *S. cilicica* και *S. bilgerana* περιέχουν αιθέρια έλαια με καλή μυκητοστατική δράση έναντι του *Candida albicans* ([Iscan, 2005](#)). Μελετήθηκαν, επίσης, αιθέρια έλαια των *S. congesta*, *S. argyrea* και *S. lycia* και βρέθηκε ότι και αυτά εμφανίζουν αντιβακτηριακή και μυκητοκτόνο δράση ([Ezer, 1996](#)).

Τα διάφορα είδη *Sideritis* περιέχουν αρκετά μέταλλα και ιχνοστοιχεία, κυρίως Al, Ca, Fe, K, Mg, Na, P και Zn. Επίσης περιέχουν σε μικροποσότητες B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mn, Ni, Pb, Sr, Tl και V. Ένα αφέψημα *Sideritis* ssp. με χρόνο προετοιμασίας 10 min, είναι πλούσιο σε ωφέλιμα ιχνοστοιχεία και ειδικά σε Cu. Τα βαρέα μέταλλα αντιθέτως εμφανίζονται σε πολύ χαμηλά επίπεδα στη δρόγη αλλά και στο αφέψημά της ([Musa Ozcan, 2008](#)).

Μελέτες δράσης έχουν πραγματοποιηθεί και σε απομονωμένες ουσίες. Έτσι, το ακετονικό εκχύλισμα του *S. trojana* αλλά και τα εξ αυτού απομονωμένα διτερπένια 7-epicandicandiol και 18-acetyl-sideroxol παρουσίασαν εντομοκτόνο δράση έναντι των *Acanthoscelides obdectus* και *Sitophilus granarius*, ενώ η διακετυλιωμένη 7-epicandicandiol μπορεί να χρησιμοποιηθεί έναντι του *Ephestia kuehniella* ([Aslan, 2006](#)). Επίσης, μια πολυμεθοξυ-φλαβόνη του *S. tragoriganum*, η 5-O-demethylnobiletin, εμφανίζει αντιφλεγμονώδη δράση *in-vivo*, πιθανώς μέσω της άμεσης αναστολής της 5-LOX ([Bas, 2006](#)). Το φλαβονοειδές ozturkoside C που απομονώθηκε από το *S. ozturkii*, εμφάνισε *in vivo* σημαντική αναλγητική και αντιφλεγμονώδη δράση, χωρίς να προκαλέσει παρενέργειες στα πειραματόζωα ([Kupeli, 2007](#)).

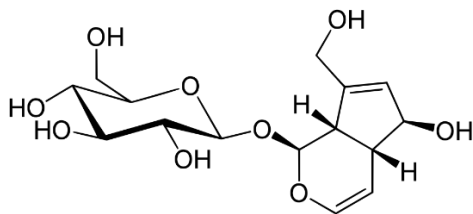
4.3. Φυτοχημικό Προφίλ στο γένος *Sideritis* σε Μεσογειακά είδη

Η φυτοχημική ανάλυση των ειδών του γένους σιδερίτη έχει μελετηθεί εκτενώς σε ερευνητικές εργασίες και έχουν πραγματοποιηθεί πρόσθετες μελέτες για την διερεύνηση της επίδρασης των γεωγραφικών παραγόντων στην συγκέντρωση βιολογικά ενεργών δευτερογενών μεταβολιτών ([Taskova, 1997](#); [Karapandzova, 2013](#)). Το [2013, Vasilopoulou et al.](#), παρουσίασε το φυτοχημικό προφίλ από το τσάι σιδερίτη (*Sideritis clandestina* subsp. *clandestina*) με αναλυτική μεθοδολογία (LC/DAD/ESI-MSⁿ) και οι ταυτοποιημένες ουσίες ταξινομήθηκαν σε κατηγορίες όπως: παράγωγα του κινικού οξέος, ιριδοειδή, φαινυλαιθανοϊδικοί γλυκοσίδες και φλαβονοειδή. Επιπλέον, το 2013 δημοσιεύτηκε μία μελέτη που επικεντρώθηκε στους μεταβολίτες των φλαβονοειδών και των φαινολικών οξέων που απεκκρίνονται στα ανθρώπινα ούρα κατά την κατάποση του αφεψήματος *S. scardica* ([Stanoeva, 2013](#)). Ανιχνεύθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν 31 διαφορετικοί μεταβολίτες γλυκοσιδών της hypolaetin, methyl-hypolaetin, isoscutellarein, methyl-isoscutellarein, apigenin και τα μεθυλιωμένα ανάλογά τους. Οι Todorova και Trendafilova, δημοσίευσαν λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με το περιεχόμενο των φαινολικών ενώσεων, των τερπενοειδών, των υδρογονανθράκων και των συναφών χημικών ενώσεων, το 2014 για του *S. scardica* και *S. raeseri* από την Ελλάδα, την Βουλγαρία και την Βόρεια Μακεδονία ([Todorova, 2014](#)) με την αναλυτική τεχνική LC/DAD/ESI-MS. Πραγματοποιήθηκε σύγκριση του μεταβολικό προφίλ έξι διαφορετικών ειδών σιδερίτη που αναπτύσσονται στον Ελλαδικό χώρο: *S. clandestina* subsp. *clandestina*, *S. euboea*, *S. perfoliata* subsp. *perfoliata*, *S. raeseri* subsp. *raeseri*, *S. scardica* και *S. syriaca* ([Papaefstathiou, 2014](#)). Από αυτήν την μελέτη προέκυψαν οι δευτερογενείς μεταβολίτες, όπως ο martinoside, apigenin, η hypolaetin και isoscutellarein. Επίσης αξιολογήθηκαν τα πολυφαινολικά προφίλ μεταξύ διαφορετικών ειδών σιδερίτη (*S. lanata*, *S. scardica*, *S. raeseri*, *S. syriaca* και *S. taurica*) ([Stanoeva, 2013](#)). Οι κύριες ενώσεις που απομονώθηκαν σε όλα τα είδη που αναλύθηκαν ήταν οι lavandulofolioside, verbascoside και οι γλυκοσίδες της hypolaetin και της isoscutellarein.

4.3.1. Ιριδοειδή

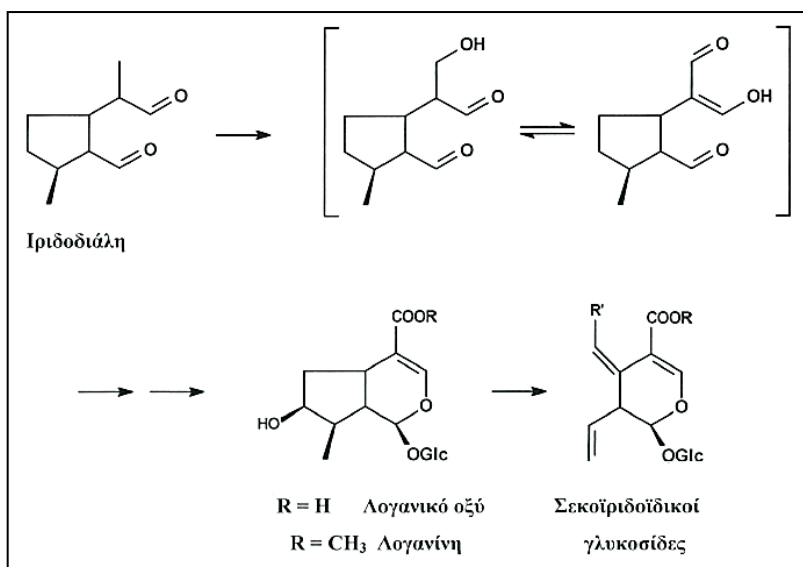
α) Γενικά Χαρακτηριστικά

Τα ιριδοειδή ανήκουν στα μονοτερπένια και αντιπροσωπεύουν μία μεγάλη ομάδα δευτερογενών μεταβολιτών. Χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός κυκλοπέντανο-(c)-πυρανικού δακτυλίου και έχουν στο μόριό τους δέκα άτομα άνθρακα, διπλό δεσμό μεταξύ του C₃ και C₄ και γλυκοσιδική ομάδα στην θέση C₁ (**Εικόνα 4.1**).



Εικόνα 4.1. Χημική δομή ιριδοειδών.

Με την διάνοιξη του κυκλοπεντανικού δακτυλίου, προκύπτουν τα **σεκοΐριδοειδή** (Εικόνα 4.2)



Εικόνα 4.2. Χημική δομή σεκοΐριδοειδών.

βιογενετικά συγγενείς ενώσεις με τα ιριδοειδή. Εκτός από μερικά προϊόντα τα οποία παράγονται από έντομα, όλα τα ιριδοειδή αποτελούν συστατικά δικοτυλήδων φυτών, και απαντώνται συνήθως με την μορφή γλυκοσίδων.

Οι κυριότερες δομικές κατηγορίες των ιριδοειδών είναι:

- **Αλδεΐδες, αλκοόλες, λακτόνες** και άλλα παράγωγα τα οποία φέρουν ένα μη τροποποιημένο μέθυλ-κυκλοπεντανικό δακτύλιο: Ως παραδείγματα αναφέρουμε την iridodiol, την isoiridomyrmecin, την nepetalactone και την iridodial.
- **Αλκαλοειδή:** Η actinidine και η skytanthine αποτελούν δύο από τα παραδείγματα της κατηγορίας αυτής.
- **Ιριδοειδικοί γλυκοσίδες και ιριδοειδικά άγλυκα:** Ανάλογα με τον αριθμό των ατόμων άνθρακα του βασικού σκελετού τους, οι γλυκοσίδες διακρίνονται στις ακόλουθες υποκατηγορίες:

- **Παράγωγα με βασικό σκελετό οκτώ ατόμων άνθρακα**, από τα οποία λείπουν τα άτομα άνθρακα των θέσεων 10 και 11.
- **Παράγωγα με βασικό σκελετό εννέα ατόμων άνθρακα**, από τα οποία άλλα φέρουν το ένατο άτομο άνθρακα στη θέση 4 (π.χ strictoside).
- **Παράγωγα με βασικό σκελετό δέκα ατόμων άνθρακα**, τα οποία φέρουν μέθυλ-, υδρόξυμέθυλ-, καρβόξυ-, καρβομεθόξυ- και φόρμυλ- ομάδες στις θέσεις 4 και 8. (π.χ decapetaloside).

Μη γλυκοσιδικά παράγωγα τα οποία προκύπτουν από τις απογλυκοσιδίωση των αντίστοιχων γλυκοσιδών (π.χ η genipine η οποία προέρχεται από την geniposide) και τα οποία ταξινομούνται στις παρακάτω κατηγορίες:

- Μη γλυκοσιδικά ιριδοειδή ποικίλης δομής, όπου υπάγεται και το genipic acid.
- Μη γλυκοσιδικά ιριδοειδή της ομάδας της πλουμερίας (π.χ. ploumerikine).
- Μη γλυκοσιδικά ιριδοειδή της ομάδας της βαλεριανής (π.χ. valtrate).

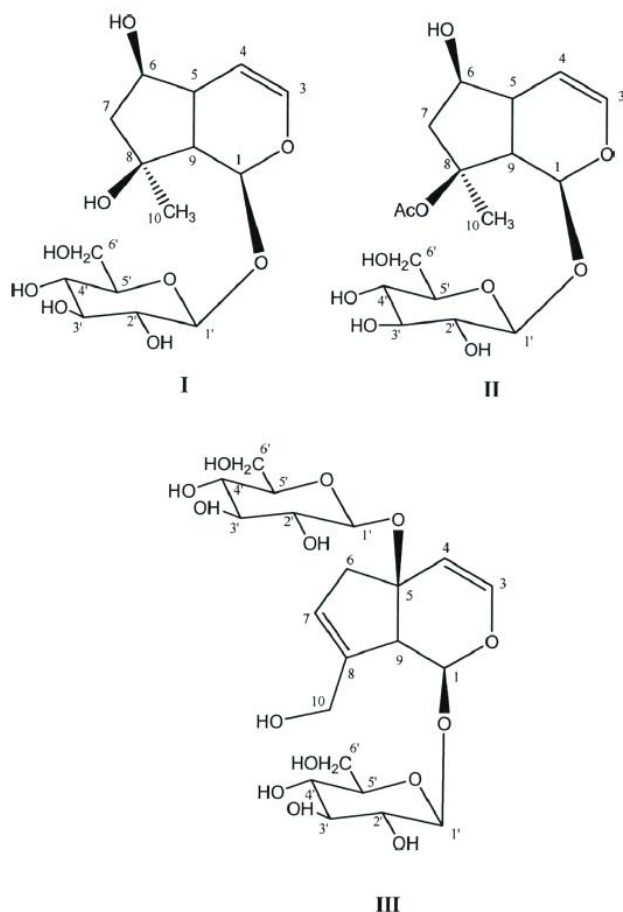
Τα σεκοϊριδοειδή διακρίνονται στις παρακάτω κατηγορίες:

- Απλοί σεκοϊριδοειδικοί γλυκοσίδες, οι οποίοι διακρίνονται σε αυτούς που φέρουν μία βινυλική ομάδα στη θέση 9 (π.χ. gentiopicroside) και σε αυτούς που φέρουν μία αιθυλίδενο- ή υδρόξυαιθυλίδενο- ομάδα στη θέση 9 και μία καρβόξυ- ομάδα στη θέση 7 (π.χ. oleoside).
- Αλκαλοϊδικοί γλυκοσίδες, οι οποίοι προκύπτουν από τη συμπύκνωση της secologanin με τη τρυπταμίνη, την τρυπτοφάνη ή την φαίνυλαιθυλαμίνη (π.χ. ipecoside).
- Γλυκοσίδες που καταλήγουν σε τερπενική ομάδα (π.χ. foliamenthin).
- Γλυκοσίδες με υποκαταστάτη κάποια φαινολική ομάδα (π.χ. oleuropein).
- Γλυκοσιδικά διμερή σεκοϊριδοειδών και ιριδοειδών (π.χ. sylvestroside III).

Τα ιριδοειδή απαντώνται σε διάφορα είδη της οικογένειας Lamiaceae, και αποτελούν χημειοταξινομικούς δείκτες. Έχουν εμφανιστεί σε είδη όπως το *Phlomis*, *Stachys*, *Eremostachys*, *Lamium*, *Ajuga*, *Scutellaria*, *Sideritis*.

Στα είδη σιδερίτη στην Ελλάδα, η εξάπλωσή των ιριδοειδών εμφανίζεται:

- ***Sideritis scardica***: έχουν μελετηθεί κυρίως για την αντιοξειδωτική τους δράση η ajugol, η 8-acetylo-ajugol και ο melittoside ([Koleva, 2003](#)).
- ***Sideritis syriaca***: και για το συγκεκριμένο είδος έχουν μελετηθεί για την αντιοξειδωτική τους δράση η ajugol, η 8-acetylo-ajugol και ο melittoside ([Koleva, 2003](#)).
- ***Sideritis montana***: οι ίδιοι μεταβολίτες όπως και παραπάνω



Εικόνα 4.3. Χημικές δομές ajugol (I), 8-acetyl-ajugol (II) και melittoside (III).

β) Βιολογικές δράσεις

Οι ιριδολακτόνες (iridomyrmecin και isoiridomyrmecin), είναι αμυντικές ουσίες εκκρινόμενες από τα μυρμήγκια του γένους *Iridomyrmex* και έχει αναφερθεί ότι η dolichodial (προϊόν έκκρισης των ειδών *Iridomyrmex* και *Dolichoderus* ([Cavill, 1961](#)) και η anisomorphal που προέρχεται από τα είδη του γένους *Anisomorpha* ([Meinwald, 1962](#)) έχουν αποθητικό ρόλο. Αντίθετα υπάρχουν ιριδολακτόνες που παρουσιάζουν προσελκυστική δράση, όπως για παράδειγμα η actinidine και η nepelactone η οποία έχει απομονωθεί από το γένος *Nepeta* ([Bates, 1958](#)). Παράλληλα πρέπει να αναφέρουμε τις βασικότερες αναφορές που παρουσιάζονται για την δράση τους ως συστατικά σε ολικά εκχυλίσματα και η χρήση τους στην λαϊκή θεραπευτική. Μερικές από τις σημαντικότερες δράσεις είναι:

- **Κεντρικό Νευρικό Σύστημα:** οι βαλεπροτριάτες (valtrate, isovaltrate, dihydrovaltrate και acetoxo valeporiates), το οποίο είναι ένα μείγμα από ιριδοειδή βαλεριανικού τύπου που έχουν απομονωθεί από το ριζικό σύστημα της *Valeriana officinalis*. Είναι γνωστό για την ήπια ηρεμιστική δράση. Τα

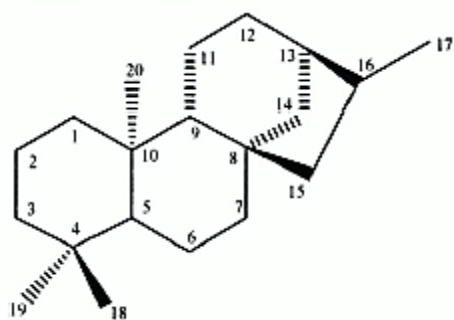
γαληνικά σκεύασματα (βάμμα) χρησιμοποιούνται ως αντισπασμωδικά, ηρεμιστικά στο Κ.Ν.Σ. (Wang, 2020)

- **Αναλγητική, αντιφλεγμονώδης:** Τα ιριδοειδή από το φυτό *Harpagophytum procubens* (harpagide, acetylo harpagide, harpagoside και procumbine) έχουν αναλγητικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις (Sticher, 1977).
- **Αντιοξειδωτική:** Η oleuropein, ένα σεκοϊριδοειδές που απομονώθηκε από τα φύλλα του φυτού *Olea europae* (Turner, 2005).
- **Διουρητική:** Ο catalposide που έχει απομονωθεί από διάφορα είδη *Catalpa* (*Catalpa orata*)
- **Καθαρτική:** Η verbenaline και ο asperuloside είναι δύο από τους μεταβολίτες που εμφανίζουν τέτοια δράση. Επίσης ο geniposide που απομονώνεται από την κινεζική δρόγη Zhizi έχει μέτρια καθαρτική δράση (Yamauchi, 1976).
- **Κυτταροτοξική:** Η alamandine παρουσιάζει *in-vitro* σε διάφορες σειρές λευχαιμίας (Wang, 2020)

4.3.2. Καουράνια

α) Γενικά Χαρακτηριστικά

Τα ent-καουράνια ανήκουν στην κατηγορία των τετρακυκλικών διτερπενίων με μοριακό τύπο $C_{20}H_{30}O_3$ και απομονώνονται κυρίως από τις οικογένειες των Asteraceae, Lamiaceae, Rubiaceae και Chrysobalanaceae. Ο δομικός σκελετός εμφανίζεται στο παρακάτω σχήμα.



Εικόνα 4.4. Δομικός σκελετός καουρανίων

Όσο αφορά την δομή των καουρενίων υπάρχουν διάφοροι συνδυασμοί (οξέα, εστέρες, εποξειδία, γλυκοσίδες)

Η **linearol** (ent-18-acetoxy-3 β ,7 α ,18-diidroxyl-kaur-16-ene), η **sideridiol**, **siderol**, **sidol** (ent-3 β -acetoxy-7 α ,18-diidroxyl-kaur-16-ene), **epicandicadiol** (ent-7 α ,18-diidroxyl-kaur-16-ene), **foliol** (ent-3 β ,7 α , 8-τριυδροξυ-καουρ-16-ένιο) είναι μερικά από τα βασικά καουρένια που εμφανίζονται στην οικογένεια Lamiaceae και ειδικά στον σιδερίτη.

Κάποια είδη σιδερίτη της Ελληνικής βιοποικιλότητας, στα οποία εμφανίζονται τα καουράνια / καουρένια παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

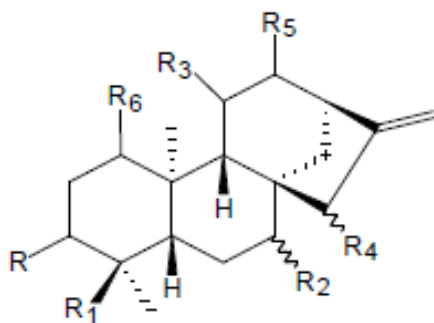
Πίνακας 4.1. Καουράνια από διαφορετικά είδη σιδερίτη της Ελληνικής βιοποικιλότητας.

Είδος Σιδερίτη	Διτερπένια	Βιβλιογραφία
<i>S. athoa</i> Papanikolau et Kokkini	Canadiol	Topcu,1999 Fraga, 2003 Kilic, 2003
	Athonolone	
	<i>Ent-3β-hydroxykaur-16-ene</i>	
	<i>Ent-3β,7α-dihydroxykaur-16-ene 7-epicandicadiol</i>	
	Linearol	
	Foliol	
	Sidol	
	<i>Ent-7α,18-dihydroxybeyer-15-ene</i>	
<i>S. Euboea</i>	Eubotriol	Venturella, 1977a Venturella, 1977b
	Isolinearol	
	Eubol	
	Sideroxol	
	Epoxyisiderol	
	Siderol	
	Sideridiol	
	Isolinearol	
<i>S. perfoliata</i> L.	<i>Ent-2-hydroxy-13-epimanoxy oxide</i>	Sezik, 1985 Bruno, 2005 Topcu, 2007
	Sideridiol	
	Sideritriol	
	Siderol	
<i>S. raeseri</i> Boiss. et Heldr.	Sideroxol	Venturella, 1977b
	Epoxyisolinearol	
	Epoxyisiderol	

	Siderol	
	Sideridiol	
<i>S. scardica</i> Griseb	Epoxyssiderol	Venturella, 1979
	Siderol	
	Isolinearol	
	Eubol	
	Sideroxol	
	18-acetyl-leucanthol	
<i>S. sipylea</i> Boiss	Linearol	Topcu, 2002 Kilic, 2003; 2006 Loğoğlu, 2006 Topcu, 2002
	7-Epicandicandiol	
	Siderol	
	Sideridiol	
	Isolinearol	
	Isosidol	
	Epoxyisolinearol	
<i>S. syriaca</i> L.	Ucriol	Venturella, 1977b Venturella, 1983a Venturella, 1983b
	Siderone	
	Sideroxol	
	Epoxyssiderol	
	Siderol	
	Sideridiol	

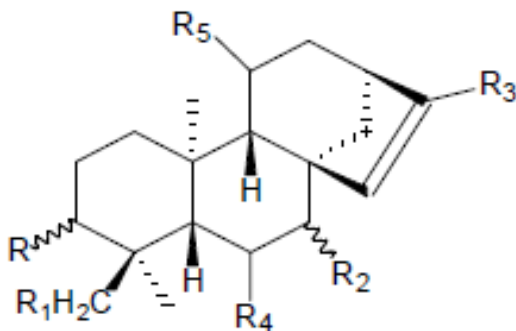
Παρακάτω παρουσιάζονται δομές kaurenes που απομονώθηκαν από φυτά του γένους *Sideritis*:

• **ent-16-kaurenes**



	R	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅	R₆
Linearol	OH	CH ₂ OAc	OH	H	H	H	H
Sidol	OAc	CH ₂ OH	OH	H	H	H	H
Foliol	OH	CH ₂ OH	OH	H	H	H	H
7-epicandiciol	H	CH ₂ OH	OH	H	H	H	H
18-acetyl-leucanthol	OH	CH ₂ OAc	OH	H	OH	H	H
Canadiol	H	CH ₂ OH	H	H	H	H	OH
Eubol	H	CH ₂ OH	OAc	H	OH	H	H
Eubotriol	H	CH ₂ OH	OH	H	OH	H	H
Ent-kaur-16-ene	H	CH ₃	H	H	H	H	H

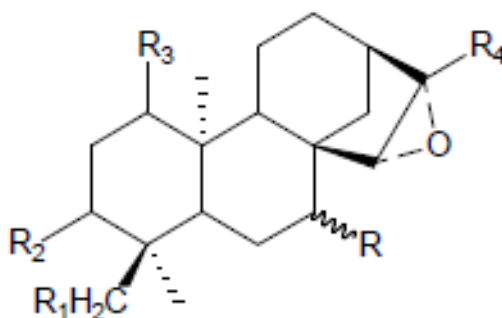
• **ent-15-kaurenes**



	R	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅
Isofoliol	OH	OH	OH	CH ₃	H	H

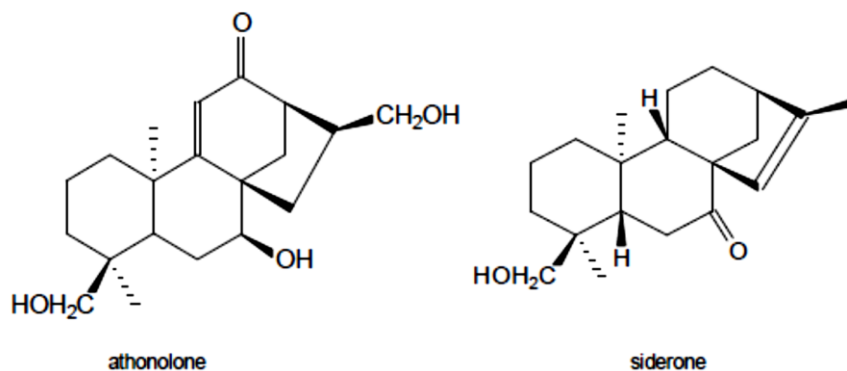
Siderol	H	OH	OAc	CH ₃	H	H
Sideridiol	H	OH	OH	CH ₃	H	H
Isolinearol	OH	OAc	OH	CH ₃	H	H
18-acetyl-isoleucanthol	OH	OAc	OH	CH ₂ OH	H	H

• ent-15 β ,16 β -epoxykauranes



	R	R₁	R₂	R₃	R₄
Sideroxol	OH	OH	H	H	CH ₃
Epoxyisolinearol	OH	OAc	OH	H	CH ₃
Epoxysiderol	OAc	OH	H	H	CH ₃

- **Διτερπενικές κετόνες**



β) Βιολογικές δράσεις

- **Αντιφλεγμονώδης:** Τα διτερπενοειδή kaurenes ανήκουν στην ευρύτερη κατηγορία των αναστολέων του παράγοντα NF- κ B και σχετίζονται με αντιφλεγμονώδη και αντικαρκινική δράση ([Bremner, 2002](#)).
- **Κυτταροτοξική:** Κάποια καουράνια επιδεικνύουν κυτταροτοξική δράση σε καρκινικές σειρές όπως HL-60, K562, MKN-28 ([Hou, 2000](#)).
- **Αντιμικροβιακή δράση:** Η 7-epicandicadiol (έναντι του *E.Coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*, *E. Faecalis*) και το ent-7 α ,18-diidroxy-15 β -epoxy-kaurene (*B.subtilis*) που απομονώθηκαν από διάφορα είδη σιδερίτη ([Kilic, 2003](#)).
- **Αντική δράση (αντί-HIV):** Μεγάλος αριθμός kaurenes έχει αντική δράση. Ημισυνθετικά παράγωγα της linearol έδειξαν αντική δράση ([Bruno, 2002](#)). Από αυτά αποδεικνύεται ότι σημαντικό ρόλο στην δράση παίζει η εστερική υποκατάσταση στις θέσεις C₃ και C₇.

4.3.3. Φαινολικά Παράγωγα

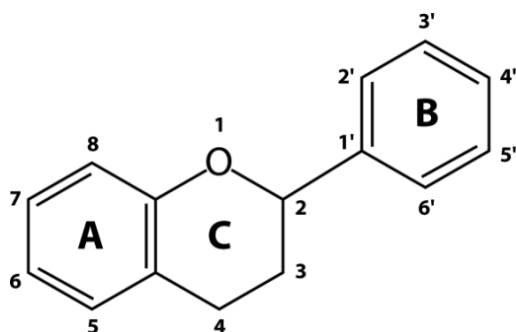
α) Γενικά Χαρακτηριστικά

Τα φαινολικά παράγωγα αποτελούν μία ευρύτερη κατηγορία φυσικών προϊόντων, με κύριο δομικό χαρακτηριστικό τον βενζολικό δακτύλιο με ένα ή περισσότερα υδροξύλια ελεύθερα ή συνδεδεμένα. Βιοσυνθετικά προέρχονται από το βιοχημικό μονοπάτι του σικιμικού και του οξικού οξέος. Τα φαινολικά παράγωγα κατηγοριοποιούνται σε **φλαβονοειδή**, **φαινολικά οξέα** και **φαινυλοαιθανοϊδικοί γλυκοσίδες**.

Φλαβονοειδή: μέχρι σήμερα έχουν απομονωθεί πάνω από 4000 διαφορετικά φλαβονοειδή. Τα φλαβονοειδή μπορεί να εμφανίζουν χρώμα (όπως κίτρινο, κόκκινο και μπλε). Μπορεί όμως να είναι και άχρωμα (φλαβόνες) και οι οποίες εμφανίζονται στα λευκά άνθη. Έχουν απομονωθεί από διάφορες

οικογένειες φυτών όπως: *Asteraceae*, *Leguminosae*, *Polypodiaceae*, *Rutaceae*, *Betulaceae*, *Lamiaceae*, *Rosaceae*.

Από χημικής άποψης, τα φλαβονοειδή συνίστανται από 15 άτομα άνθρακα. Αυτός ο βασικός σκελετός της φλαβάνης αποτελεί το μητρικό μόριο για τα ανώτερα φλαβονοειδή (**Εικόνα 4.5**).



Εικόνα 4.5. Δομικός σκελετός των φλαβονοειδών.

Η ταξινόμηση των φλαβονοειδών μπορεί να γίνει με συγκεκριμένα κριτήρια:

i) Με βάση την ακορεστότητα του ετεροκυκλικού δακτυλίου:

- **Φλαβανόνες**, αν ο ετεροκυκλικός δακτύλιος είναι κορεσμένος. Είναι 2,3-διϋδρο-φλαβόνες, οι οποίες μετατρέπονται στις ισομερείς τους χαλκόνες.
- **Φλαβάνες**, αν ο ετεροκυκλικός δακτύλιος είναι ακόρεστος και αυτές με την σειρά τους ταξινομούνται σε ανθοκυάνες,
- **Φλαβόνες** (2-φαινυλο-χρωμόνες, όπως η apigenin) και
- **Φλαβονόλες** (3-υδροξυ-φλαβόνες) με κυριότερες την quercetin και την rutin.

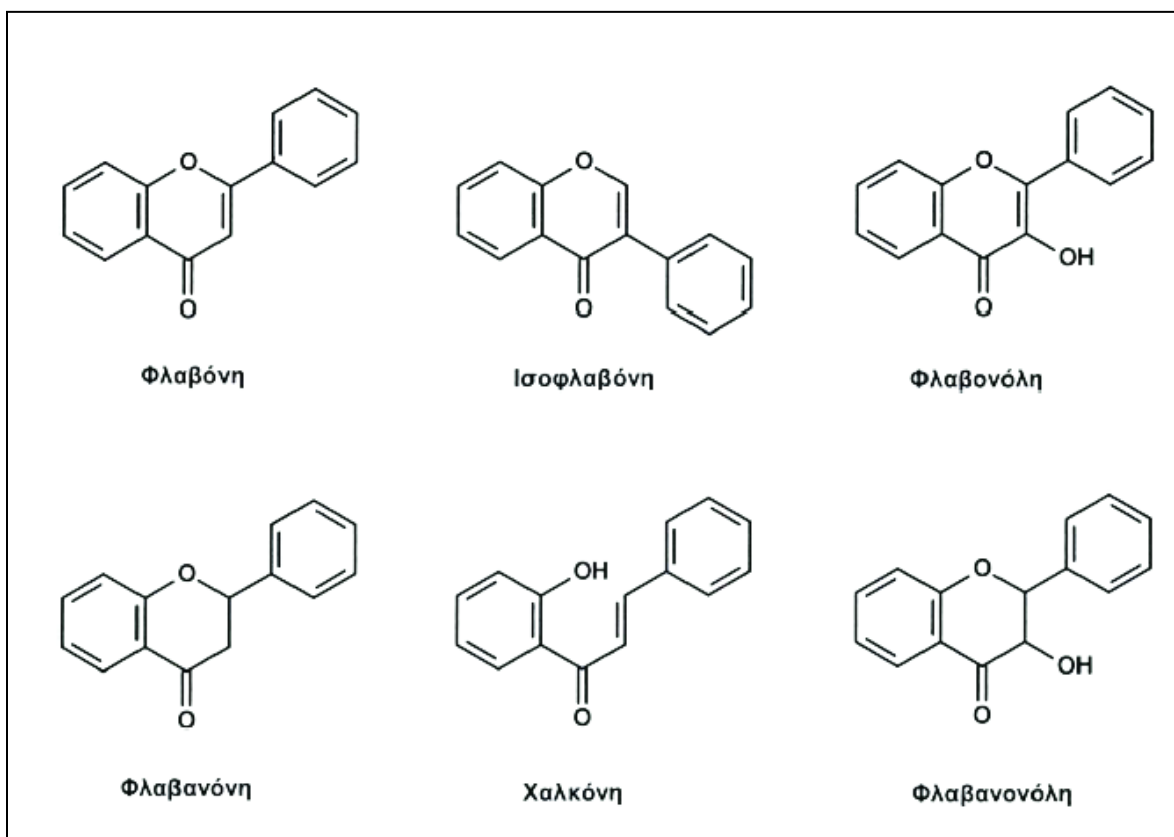
ii) Μονομερή, διμερή και πολυμερή με βάση το μοριακό τους βάρος.

iii) Ανάλογα με την βιοσυνθετική πορεία, κατατάσσονται σε κύρια προϊόντα (**χαλκόνες, φλαβανόνες**) και παραπροϊόντα (**ανθοκυάνες**).

iv) Ανάλογα με την θέση της πλάγιας αλυσίδας της φαινυλομάδας στις θέσεις 2 και 3 του ετεροκυκλικού δακτυλίου, κατατάσσονται σε φλαβόνες ή ισοφλαβόνες.

v) Ανάλογα με το σάκχαρο που είναι συνδεδεμένο και τον τρόπο, διακρίνονται σε μονοσακχαρίτες, δισακχαρίτες, ολιγοσακχαρίτες, O-γλυκοσίδες και C-γλυκοσίδες.

Οι υποκατηγορίες των φλαβονοειδών παρουσιάζονται στην **Εικόνα 4.6**:



Εικόνα 4.6. Βασικές υποκατηγορίες φλαβονοειδών.

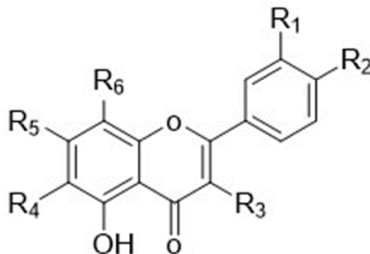
Οι *O*-γλυκοσίδες, αποτελούν την μορφή στην οποία αφθονούν τα φλαβονοειδή.

Τα φλαβονοειδή και οι *O*-γλυκοσίδες απαντώνται σε διάφορα γένη της οικογένειας Lamiaceae, όπως *Thymbra*, *Satureja*, *Coridothymus*, *Majorana*, *Origanum*, *Stachys*, *Sideritis*.

Πιο συγκεκριμένα, στο γένος *Sideritis* συναντώνται τα φλαβονοειδή (apigenin, luteolin, chrysoeriol) με επικρατέστερη υποκατάσταση στην θέση 7 του βασικού σκελετού από γλυκοσίδες (Tomás-Barberán, 1988). Στα είδη σιδερίτη της κεντρικής και ανατολικής Μεσογείου είναι χαρακτηριστικά φλαβονοειδή είναι η diosmetin, η οποία έχει απομονωθεί από το είδος *Sideritis montana* (Menkovic, 1993), και η Kaempferol έχει απομονωθεί από τον ενδημικό σιδερίτη *Sideritis euboica* (Tsaknis, 2005). Επίσης υποκατεστημένες φλαβόνες της isoscutellarein και της apigenin έχουν απομονωθεί από τα υπέργεια τμήματα του *Sideritis syriaca* (Plioukas, 2010) ενώ από το είδος *Sideritis lanata* απομονώθηκε το φλαβονοειδές chrysoeriol-7-*O*-(6''-*O*-acetyl)- β -glucoside (Alipieva, 2009).

Στον Πίνακα 4.2 παρουσιάζονται συνοπτικά κάποια από τα χαρακτηριστικά φλαβονοειδή που απομονώθηκαν από τα είδη *Sideritis* της Ελληνικής επικράτειας.

Πίνακας 4.2. Χαρακτηριστικά φλαβονοειδή που έχουν απομονωθεί από είδη σιδερίτη που συναντώνται και στην Ελληνική επικράτεια.

Φλαβονοειδή							<i>S.euboea</i>	<i>S.lanata</i>	<i>S.montana</i>	<i>S.perfoliata</i>	<i>S.raeseri</i>	<i>S.scardica</i>	<i>S.clandestina</i>	<i>S.syriaca</i>	Βιβλιογραφικές Αναφορές
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆									
Apigenin	H	OH	H	H	OH	H	+			+	+	+		+	Gabrieli, 1990 Venturella, 1995 Kokkalou, 1997 Gabrieli, 2005 Armata, 2008 Todorova, 2014 Tomou, 2019 Sarikurkcu, 2020
Apigenin-7- <i>p</i> -coumaroyl-glucoside	H	OH	H	H	<i>p</i> -coumaroyl-glu	H						+		+	Gil, 1993 Proestos, 2008 Plioukas, 2010 Todorova, 2014
Apigenin-7-di- <i>p</i> -coumaroyl-glucoside	H	OH	H	H	di- <i>p</i> -coumaroyl-glu	H					+			+	Gabrieli, 1990 Kokkalou, 1997 Gabrieli, 2005 Gil, 1993 Proestos, 2008

Apigenin-7- <i>O</i> -glucoside	H	OH	H	H	O-glu	H	+			+		+	+	+	
Apigenin-7-xyloside	H	OH	H	H	xyloside	H								+	
Apigenin-7-(4''- <i>p</i> -coumaroylglucoside)	H	OH	H	H	(4''- <i>p</i> -coumaroylglucoside)	H						+		+	
Apigenin-7-(6''- <i>p</i> -coumaroylglucoside)	H	OH	H	H	(6''- <i>p</i> -coumaroylglucoside)	H						+		+	
Apigenin-7- <i>O</i> -(4''- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroyl)- β -D-glucopyranoside	H	OH	H	H	<i>O</i> -(4''- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroyl)- β -D-glucopyranoside	H				+			+		
Apigenin-7-(4- <i>O</i> - β -glucosyl-trans- <i>p</i> -coumarate)	H	OH	H	H	4- <i>O</i> - β -glucosyl-trans- <i>p</i> -coumarate	H					+		+		

[Sattar, 1993](#)
[Venturella, 1995](#)
[Atoui, 2005](#)
[Armata, 2008](#)
[Vasilopoulou, 2013](#)
[Todorova, 2014](#)
[Tomou, 2019](#)
[Sarikurcu, 2020](#)

[Ezer, 1992](#)
[Charami, 2008](#)
[Vasilopoulou, 2013](#)

[Gabrieli, 1990](#)
[Kokkalou, 1997](#)
[Gabrieli, 2005](#)
[Vasilopoulou, 2013](#)

Κεφάλαιο 4: Φυτοχημικό Προφίλ και Βιολογική Αξιολόγηση του *Sideritis sipylea* Boiss από την νήσο Λέσβο

Isoscutellarein-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -acetyl- β -D-allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside]	H	OH	H	H	<i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -acetyl- β -D-all-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glu]	OH	+	+	+	+		+		+	Ezer, 1992 Sattar, 1993 Venturella, 1995 Alipieva, 2009 Charami, 2008 Venditti, 2016 Tomou, 2019
Isoscutellarein-7- <i>O</i> -[β -D-allopyranosyl- (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside]	H	OH	H	H	<i>O</i> -[β -D-allopyranosyl- (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glu]	OH				+		+	+		Gabrieli, 1990 Kokkalou, 1997 Gabrieli, 2005 Todorova, 2014 Venditti, 2016
Isoscutellarein-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -acetyl- β -D-allopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)]-6''- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranoside	H	OH	H	H	<i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -acetyl- β -D-all-(1 $\rightarrow$ 2)] 6''- <i>O</i> -acetyl- β -D-glu]	OH				+	+		+		Ezer, 1992 Sattar, 1993 Charami, 2008 Venditti, 2016
4'- <i>O</i> -Methylisoscuteallarein-7- <i>O</i> -[β -D-allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-6''- <i>O</i> -acetyl-glucopyranoside]	H	OMe	H	H	<i>O</i> -[β -D-all-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-6''- <i>O</i> -acetyl- glu]	OH	+				+			+	Ezer, 1992 Charami, 2008 Tomou, 2019
4'- <i>O</i> -Methylisoscuteallarein-7- <i>O</i> -[β -D-allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside]	H	OMe	H	H	<i>O</i> -[β -D-all-(1 $\rightarrow$ 2) - β -D- glu]	OH						+		+	Gabrieli, 1990 Venturella, 1995 Kokkalou, 1997 Gabrieli, 2005

Κεφάλαιο 4: Φυτοχημικό Προφίλ και Βιολογική Αξιολόγηση του *Sideritis sipylea* Boiss από την νήσο Λέσβο

4'-O-Methylisoscutellarein-7-O-[6'''-O-acetyl-β-D-allopyranosyl (1→2)-6''-O-acetyl-β-D-glucopyranoside]	H	OMe	H	H	O-[6'''-O-acetyl-β-D-all ((1→2)(1→2)-6''-O-acetyl-β-D-glu]	OH					+	+	+		+	Gabrieli, 1990 Kokkalou, 1997 Gabrieli, 2005 Ezer, 1992 Atoui, 2005 Armata, 2008 Charami, 2008 Todorova, 2014
4'-O-Methylisoscutellarein-7-O-[6'''-O-acetyl-β-D-allopyranosyl- (1→2)-β-D-glucopyranoside]	H	OMe	H	H	O-[6'''-O-acetyl-β-D-all-(1→2)-β-D-glu]	OH					+		+			Ezer, 1992 Charami, 2008 Todorova, 2014
Luteolin	OH	OH	H	H	OH	H					+	+	+		+	Gabrieli, 1990 Gil, 1993 Kokkalou, 1997 Gabrieli, 2005 Proestos, 2008 Todorova, 2014 Sarikurkcü, 2020
Diosmetin	OH	OMe	H	H	OMe	H			+							Menkovic, 1993
Chrysoeriol	OMe	OH	H	H	OH	H							+		+	Gil, 1993 Proestos, 2008 Todorova, 2014
Chrysoeriol-7-glucoside	OMe	OH	H	H	O-glu	H		+					+		+	Gil, 1993 Sattar, 1993 Proestos, 2008 Alipieva, 2009

Chrysoeriol-7-O-(6'''-O-acetyl)- β -glucoside	OMe	OH	H	H	O-(6'''-O-acetyl)- β -glu	H		+					+			Alipieva, 2009 Todorova, 2014
Chrysoeriol-7-allosylglucoside	OMe	OH	H	H	O-all-glu	H									+	Gil, 1993 Proestos, 2008
Hypolaetin-7-glucoside	OH	OH	H	H	O-glu	OH							+			Sattar, 1993
Hypolaetin-4'-O-methylether-7-O-[6'''-acetyl- β -D-allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-glycopyranoside	OH	OMe	H	H	O-[6'''-O-acetyl- β -D-all (1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-gly]	OH			+				+		+	Sattar, 1993 Venturella, 1995 Atoui, 2005 Armata, 2008
Hypolaetin-4'-O-methylether-7-O-[6'''-O-acetyl- β -D-allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]-6''-O-acetyl- β -D-glycopyranoside	OH	OMe	H	H	O-[6'''-O-acetyl- β -D-all-(1 $\rightarrow$ 2)] 6''-O-acetyl- β -D-glu	OH			+				+		+	Sattar, 1993 Venturella, 1995 Atoui, 2005 Armata, 2008
Hypolaetin-7-O-[6'''-O-acetyl- β -D-allopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-glycopyranoside]	OH	OH	H	H	O-[6'''-O-acetyl- β -D-all (1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-gly]	OH		+								Alipieva, 2009
Hypolaetin 7-O-[β -D-allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-glycopyranoside]	OH	OH	H	H	O-[β -D-allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-glu]	OH						+				Gabrieli, 1990 Kokkalou, 1997 Gabrieli, 2005

3'- <i>O</i> -Methylhypolaetin-7- <i>O</i> -[β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside]	OMe	OH	H	H	<i>O</i> -[β-D-all-(1→2)-β-D-glu]	OH					+				Gabrieli, 1990 Kokkalou, 1997 Gabrieli, 2005
3'- <i>O</i> -Methylhypolaetin-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -acetyl-β-D-allopyranosyl-(1→2)- β-D-glucopyranoside]	OMe	OH	H	H	<i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -acetyl-β-D-all (1→2)-β-D-glu]	OH		+			+				Gabrieli, 1990 Kokkalou, 1997 Gabrieli, 2005 Alipieva, 2009
4'- <i>O</i> -Methylhypolaetin-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -acetyl-β-D-allopyranosyl-(1→2)- β-D-glucopyranoside]	OH	OMe	H	H	<i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -acetyl-β-D-all (1→2)-β-D-glu]	OH					+				Gabrieli, 1990 Kokkalou, 1997 Gabrieli, 2005
Kaempherol	H	OH	OH	H	OH	H	+			+		+			Tsaknis, 2005 Sarikurkcü, 2020
Quercetin	OH	OH	OH	H	OH	H				+		+		+	Gil, 1993 Proestos, 2008 Sarikurkcü, 2020
(+) - Catechin	OH	OH	OH	H	OH	H				+		+		+	Gil, 1993 Proestos, 2008 Sarikurkcü, 2020
(-) - Epicatechin	OH	OH	OH	H	OH	H				+		+		+	Gil, 1993 Proestos, 2008 Sarikurkcü, 2020

β) Βιολογικές δράσεις

Στα φλαβονοειδή αποδίδονται πολυάριθμες βιολογικές δράσεις αλλά κυρίως οι έρευνες έχουν επικεντρωθεί στην εξακρίβωση της δράσης τους επί των τριχοειδών αγγείων και επί του καρδιαγγειακού συστήματος (θετικός ινότροπος επίδραση ακόμη και αύξηση της κυκλοφορίας μέσω σταφανιαίων αρτηριών της καρδιάς. Οι σημαντικότερες κατηγορίες συνοψίζονται παρακάτω:

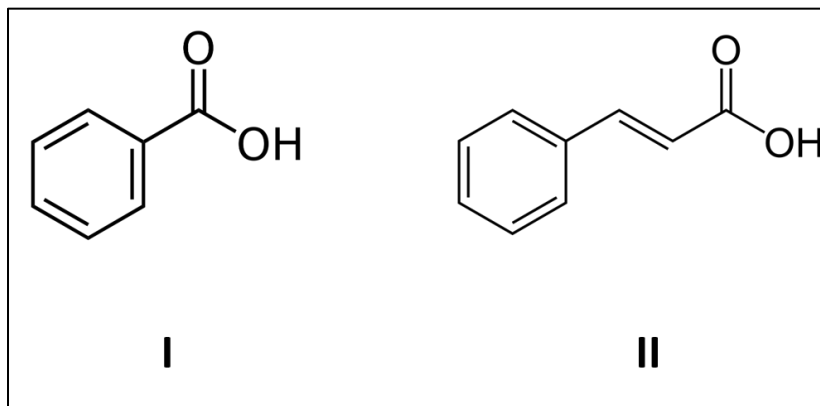
- **Αντιοξειδωτική:** Η αντιοξειδωτική δράση είναι αποτέλεσμα της παρουσίας φαινολικών υδροξυλίων στον σκελετό του μορίου. Πλέον είναι αναρίθμητες οι βιβλιογραφικές αναφορές για την συσχέτιση των φλαβονοειδών στα φυτικά εκχυλίσματα και την αντιοξειδωτική τους δράση. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των φλαβονοειδών έχουν ευεργετικά αποτελέσματα στην προστασία της οξείδωσης της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL) και έχει άμεση σχέση με την μείωση των καρδιαγγειακών παθήσεων ([Cirico, 2006](#); [Opie, 2007](#)).
- **Αντιφλεγμονώδης:** Τα φλαβονοειδή παρουσιάζουν δράση στον μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος, βιοχημικό μονοπάτι της φλεγμονής ([Moutinho, 2018](#)).
- **Αντιελκωγόνος και Αντισπασμωδική:** Η χρήση φυτικών εκχυλισμάτων για τα γαστρικά έλκη είναι γνωστή στην λαϊκή θεραπευτική και αποδίδεται στην παρουσία των φλαβονοειδών ([Sannomiya, 2005](#)).
- **Αντιμικροβιακή δράση:** υπάρχουν πλέον αναφορές για την αντιμικροβιακή και αντιμυκητιασική δράση ([Arif, 2011](#)) φλαβονοειδών. Στελέχη όπως *Staphylococcus aureus* και η *Escherichia coli* εμφανίζουν ευαισθησία στην δράση από συγκεκριμένα φλαβονοειδή ([Alvarez, 2006](#)).
- **Άλλες δράσεις:** διουρητικές ([Vargas, 2018](#)), αντιϊκές ([Cushnie, 2011](#)) και οιστρογονικές δράσεις ([Garritano, 2005](#)).

4.3.4. Φαινολικά Οξέα

α) Γενικά Χαρακτηριστικά

Βιοσυνθετικά προέρχονται από την οδό του σικιμικού οξέος και σχηματίζονται μέσω της L-φαινυλαλανίνης.

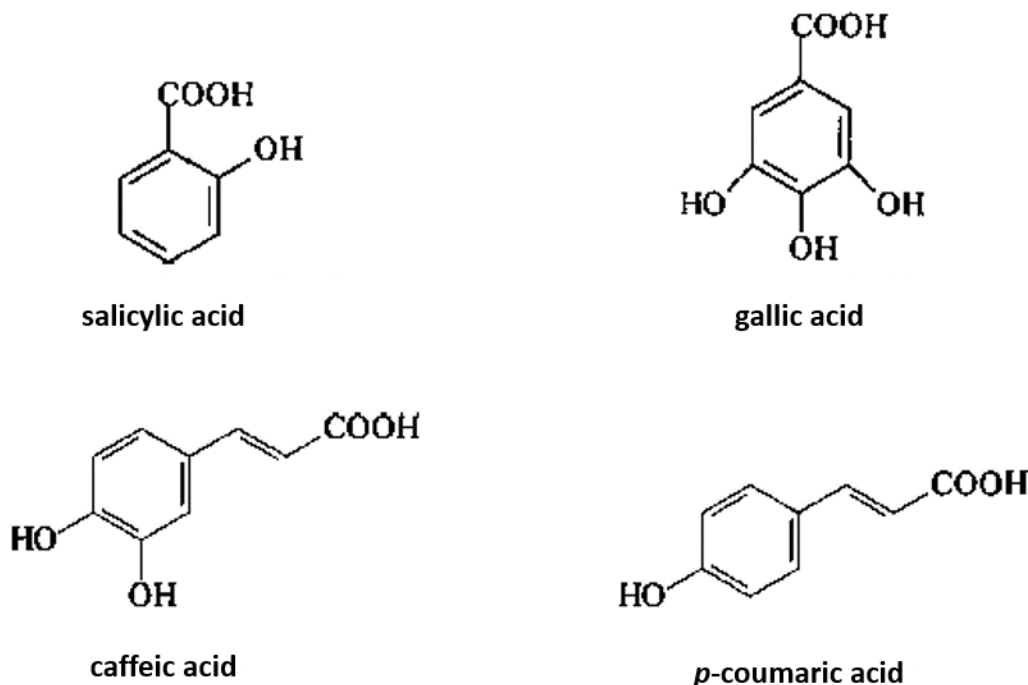
Τα φαινολικά οξέα μπορούν να διακριθούν σε δύο βασικές κατηγορίες: στα **παράγωγα του βενζοϊκού οξέος** (C_6-C_1) και στα **παράγωγα του κινναμωμικού οξέος** (C_6-C_3) (Εικόνα 4.7)



Εικόνα 4.7. Benzoic acid (I) και cinammic acid (II).

- **Παράγωγα βενζοϊκού οξέος:** ανήκουν το salicylic και το gallic acid. Απαντώνται ελεύθερα ή συνδυασμένα με την μορφή εστέρων ή ετεροσιδίων.

Παράγωγα κινναμωμικού οξέος: ανήκουν το 4-coumaric, caffeic, ferrulic και sinaric και η κατανομή τους είναι ευρεία στο φυτικό βασίλειο.



Εικόνα 4.8. Παράγωγα Φαινολικών οξέων.

Τα φαινολικά οξέα εμφανίζονται με την μορφή εστέρων ή με την μορφή γλυκοσίδων. Αποτελεί ένα είδος άμυνας του φυτικού κυττάρου στον παθογόνο μικροοργανισμό ([Flamegos, 2001](#)).

Τα φαινολικά οξέα έχουν απομονωθεί από διάφορα φυτικά είδη, οικογενειών όπως: Ericaceae, Umbeliferae, Boraginaceae, Compositae, Ranunculaceae, Lamiaceae, Urticaceae, Tiliaceae, Hypericaceae, Oleaceae, Vitaceae, Echinaceae

Τα γένη στα οποία εμφανίζονται τα φαινολοξέα είναι: *Melissa*, *Ocimum*, *Salvia*, *Origanum*, *Rosmarinus*, *Mentha*, *Thymus*, *Lavandula* και *Sideritis*.

β) Βιολογικές δράσεις

- **Αντιοξειδωτική:** Τα φαινολοξέα εμφανίζουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση ([Armata, 2008](#)).
- **Κυτταροτοξική:** Φαινολοξέα έχουν εμφανίσει κυτταροστατική δράση σε κυτταρικές σειρές ([Lee, 2005](#)).
- **Αντιφλεγμονώδης:** Στα φαινολοξέα αποδίδεται επίσης αντιφλεγμονώδη δράση ([Ambriz-Pérez, 2016](#)).

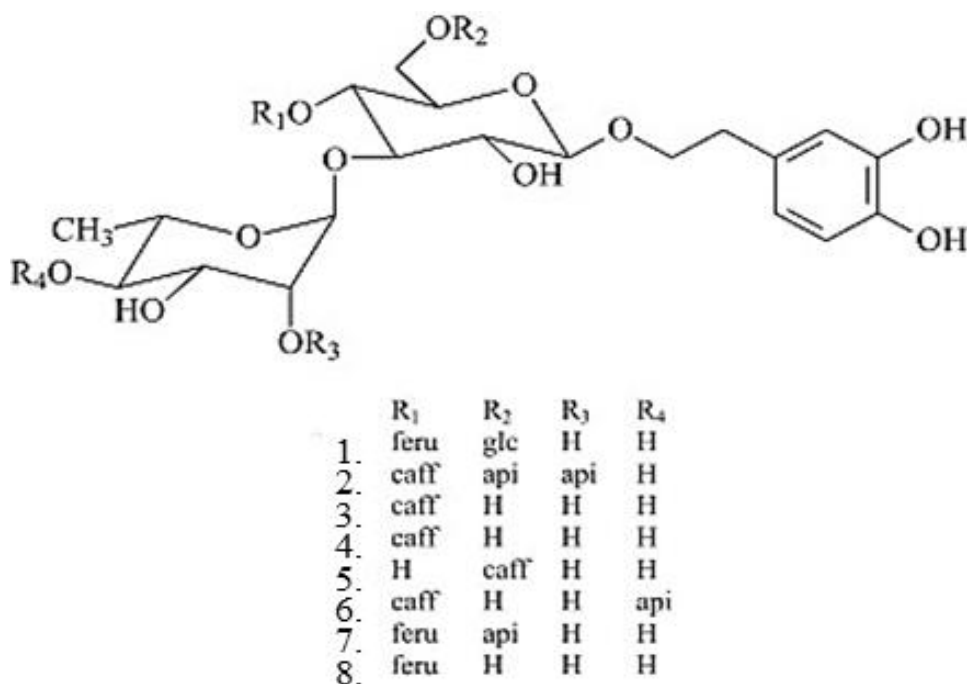
- **Αντιμικροβιακή:** Πολλά φαινολοξέα παρουσιάζουν αντιμικροβιακή, αντιμυκητιασική και αντιϊκή δράση. Το chlorogenic, το caffeic, το *p*-coumaric και το ferrulic παρουσιάζουν δράση έναντι του μικροβίου *Listeria monocytogenes* με βακτηριοστατική και βακτηριοκτόνα δράση ([Wen, 2003](#)).
- **Ηπατοτοξική** Ορισμένα πολυφαινολικά μόρια μεταξύ των οποίων και φαινολικά οξέα που έχουν απομονωθεί από το πράσινο τσάι, φέρονται να εμφανίζουν *in-vitro* και *in-vivo* ηπατοτοξικότητα ([Galati, 2006](#)).
- **Χολαγωγός δράση:** Το caffeic και το chlorogenic acid είναι χολαγωγά. Από τα φύλλα της αγγινάρας (*Cynara scolymus*) και το δενδρολίβανο (*Rosmarinus officinalis*), έχουν απομονωθεί φαινολικά οξέα που παρουσιάζουν χολαιρετική δράση.

4.3.5. Φαινυλαιθανοϊκοί Γλυκοσίδες

α) Γενικά Χαρακτηριστικά

Είναι ομάδα υδατοδιαλυτών μεταβολιτών που αναφέρονται συνήθως ως βερμπασκοσίδες ή ως φαινυλοπροπανοϊκοί γλυκοσίδες. Έχουν απομονωθεί από διάφορα φυτικά είδη από οικογένειες όπως Aracaceae, Oleaceae, Scrophulariaceae, Pedaliaceae, Orobanchaceae, Plantaginaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Magnoliaceae και δεν εμφανίζονται σε κάποια συγκεκριμένα φυτικά όργανα.

Το μόριό τους χαρακτηρίζεται από δύο αρωματικές ομάδες (φαινυλαιθανολική και κινναμωμικού τύπου) οι οποίες εμφανίζουν υποκαταστάτες σε διάφορες θέσεις και συνδέονται μεταξύ τους με μία β -D-γλυκοπυρανόση μέσω γλυκοσιδικού και εστερικού δεσμού αντίστοιχα. Συγκεκριμένα η φαινυλαιθανολική ομάδα συνδέεται στην ανωμερική θέση της γλυκόζης, ενώ στον εστερικό δεσμό συμμετέχει η υδροξύλομάδα της θέσης 4 του σακχάρου (Εικόνα 4.9).



Εικόνα 4.9. Δομικός σκελετός φαινυλαιθανοειδικών γλυκοσίδων (1. Echinacoside; 2. Lavandulifolioside; 3. Verbascoside; 4. Forsythoside A; 5. Isoverbascoside; 6. Samioside; 7. Allysonoside; 8. Leucoseptoside A). feru=feruoyl; Caff=caffeoyl; Glc=glucose; Api= Apiose.

Χημική Ταξινόμηση

Με βάση τα δομικά χαρακτηριστικά τους μπορούμε να διακρίνουμε τις παρακάτω υποκατηγορίες:

- **Μονοσακχαριδικά παράγωγα:** γλυκοκυρανοσίδες στους οποίους το caffeic και το gallic acid είναι οι αρωματικές ενώσεις που συνδέονται με την β -D-γλυκοκυρανόση. Αυτά διακρίνονται σε απλούς φαινολικούς γλυκοσίδες που φέρουν την καφεϊκή ή φερουλική ομάδα συνδεδεμένη στις θέσεις 4 ή 6 του σακχάρου, σε παράγωγα που φέρουν μία *p*-υδροξυκινονική ομάδα.
- **Δισακχαριδικά παράγωγα:** διακρίνονται σε παράγωγα τα οποία φέρουν μία ομάδα α -L-ραμνοκυρανόσης συνδεδεμένη στην θέση 3 της γλυκόζης με πιο κοινά τον acteoside και τον martynoside και σε παράγωγα που φέρουν ενσωματωμένη την φαινυλαιθανολική ομάδα μέσω 1,4-διοξανικού δακτυλίου (crenatosides).
- **Τρισακχαριδικά παράγωγα:** είναι οι πιο κοινοί φαινυλαιθανοϊδικοί γλυκοσίδες και φέρουν την α -L-ραμνοκυρανόζη ως δεύτερο σάκχαρο. Το τρίτο σάκχαρο μπορεί να είναι γλυκόζη, αραβινόζη, ξυλόζη, απιόζη, γαλακτόζη και λυξόζη. Το caffeic, ferrulic και cinnamic acid είναι τα πιο γνωστά αρωματικά οξέα τα οποία εστεροποιούν την γλυκόζη στην θέση 4 του μορίου. Επίσης εμφανίζονται παράγωγα που φέρουν την α -L-ραμνοκυρανόζη στην θέση 6 της β -D-γλυκοκυρανόζης. Παράγωγα που φέρουν την β -D-γλυκοκυρανόζη ως κεντρικό σάκχαρο (magnolosides). Σύνθετα παράγωγα συνδυασμού με ιριδοειδή όπου ο βασικός σκελετός είναι συνδεδεμένος με κάποιο σεκοϊριδοειδές (oleoacteoside).

B) Βιολογική Δράση

Η βιολογική δράση στους βερμπασκοσίδες κυρίως στις αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντιϊκές και αντιφλεγμονώδη δράση ([Alipieva, 2014](#)).

- **Αντιμυκητιασική:** Η παρουσία φαινολικών ομάδων σαν υποκαταστάτες είναι υπεύθυνοι για την αντιμυκητιασική δράση. Η ορθο-διϋδρόξυ-φαινολομάδα είναι απαραίτητη ([Funari, 2012](#)).
- **Αντιμικροβιακή:** Από τα εκχύλισματά των ειδών *Forsythia* έχουν απομονωθεί ουσίες όπως forsythoside D, forsythoside B, acteoside και άλλα παράγωγα όπως ο echinacoside που είναι δραστικά έναντι στελεχών του *Staphylococcus aureus* ([Kuo, 2014](#)).
- **Ανοσοκατασταλτική:** Το αιθανολικό εκχύλισμα των ριζών του *Rehmania glutinosa* είναι πλούσιο σε φαινυλαιθανοϊδικούς γλυκοσίδες (ionoside A1 και B1), και ο verbascoside παρουσιάζουν σημαντική ανοσοκατασταλτική δράση. Η παρουσία της υδροξυφαινυλαιθανολικής ομάδας είναι απαραίτητη για την δράση ([Alipieva, 2014](#)).

- **Αναλγητική-αντιφλεγμονώδης:** Ο lavandulofolioside, martinocide, acteoside, και leucoseptoside από τον *Sideritis lycia* Boiss, παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδη δράση *in-vivo* σε ποντίκια. Πολλοί από τους φαινυλαιθανοϊδικούς γλυκοσίδες (acteoside, isoacteoside, ionoside) έχουν ανασταλτική δράση έναντι του 5-λιποοξυγενάσης και του σχηματισμού του 5-υδροξυ-6,8,11,14-εικοσατετρανοϊκού οξέος, κάτι που αποδεικνύει την δράση για την αντιμετώπιση φλεγμονών και αλλεργιών ([Alipieva, 2014](#)).
- **Αντιηπατοτοξική:** Από τα υδατικά εκχυλίσματα ειδών του γένους *Buddleja* ανέστειλαν τοξικούς παράγοντες σε ηπατοκύτταρα και η δράση τους αποδόθηκε σε βερμπασκοσίδες ([Lee, 2004](#)).
- **Αντιοξειδωτική:** Η παρουσία ελεύθερων φαινολικών υδροξυλίων οφείλουν την αντιοξειδωτική δράση και την εξουδετέρωση ελευθέρων ριζών. Τα πιο δραστικά παράγωγα είναι αυτά που φέρουν όρθο-διϋδροξυ-φαινολική ομάδα ([Harput, 2006](#)). Ο acteoside, isoacteoside παρουσιάζουν συγκρίσιμη αντιοξειδωτική δράση με αυτή του πράσινου τσαγιού ([Wong, 2001](#)).
- **Δερμοπροστατευτική:** Ο echinacoside και τα καφεοϋλ-παράγωγα παρουσιάζουν προστατευτικό ρόλο επί των ελευθέρων ριζών που προκαλούν αποικοδόμηση του κολλαγόνου τύπου III ([Facino, 1995](#)). Ο verbascoside παρουσίασε προστατευτική δράση *in-vitro* από την νέκρωση που προκαλεί η υπεριώδης ακτινοβολία (UV) ([Alipieva, 2014](#)). Επίσης έχει αναφερθεί η δράση της verbascoside στην αναστολή παραγωγής τυροσινάσης και / ή μελανίνης ([Vertuari, 2011](#)).

ΜΕΡΟΣ Α: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

4.4. Κατεργασία Φυτικού Υλικού και Εκχύλιση

Τα υπέργεια τμήματα του *Sideritis sipylea* Boiss., αγοράστηκαν από εμπόρους οι οποίοι πραγματοποίησαν την συλλογή του από το όρος Όλυμπος της νήσου Λέσβου στο βόρειο-ανατολικό Αιγαίο στα 800μ. την περίοδο Ιούλιο-Αύγουστο 2018. Ακολούθησε η διαλογή, η ξήρανση, η κονιοποίηση του υπέργειου τμήματος και η ζύγιση της σκόνης. Το τελικό βάρος της ξηρής σκόνης ανήλθε σε 1.5kg. Το δείγμα κωδικοποιήθηκε στο ερμπάριο του εργαστηρίου με κωδικό Voucher (AXL035).

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η εκχύλιση του φυτικού υλικού με τεχνικές όπως η εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO₂ (Supercritical Fluid Extraction, SFE) και η εκχύλιση με υπερήχους (Ultrasound-Assisted Extraction, UAE) καθώς επίσης και η τεχνική της υδροαπόσταξης για το αιθέριο έλαιο. Η εκχύλιση με τους υπερήχους πραγματοποιήθηκε με την χρήση ενός εκχυλιστήρα PEX 3 Sonifier (REUS Contes, France) 3L, αποτελούμενο από ένα δοχείο εκχύλισης από ανοξείδωτο χάλυβα, εξοπλισμένο με διπλό μανδύα και έναν μετατροπέα παραγωγής υπερήχων που λειτουργεί με συχνότητα 25kHz και με μέγιστη ισχύ εισόδου τα 150W. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαλύτες διαφορετικής πολικότητας (διχλωρομεθάνιο (DCM), οξικός αιθυλεστέρας (EtOAc), μεθανόλη (MeOH)) καθώς επίσης και με ένα σύστημα ενδιάμεσης πολικότητας (αιθανόλη/νερό 50:50 (v/v) (EtOH/H₂O), 3 φορές με τον κάθε διαλύτη (3x3L). Η χρονική διάρκεια μεταξύ των διαδοχικών εκχυλίσεων ήταν 3 ημέρες. Τα εκχυλίσματα που προέκυψαν (DCM, EtOAc, MeOH και EtOH/H₂O) συμπυκνώθηκαν, με εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό, και ζυγίστηκε το ξηρό υπόλειμμα. Το υδατικό εκχύλισμα συμπυκνώθηκε με εξάτμιση του νερού υπό κενό, μέχρι μικρού όγκου, στην συνέχεια καταψύχθηκε στους -80°C και λυοφιλοποιήθηκε μέχρι ξηρού υπολείμματος.

Το αιθέριο έλαιο παραλήφθηκε από τις φυσικά αποξηραμένες ταξιανθίες του σιδερίτη (50g) με υδροαπόσταξη (HD).

Τα αποτελέσματα με τις αποδόσεις και τα βάρη στα τελικά εκχυλίσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 4.3. Ολικά εκχυλίσματα και αιθέριο έλαιο *Sideritis sipylea*, η μέθοδος εκχύλισης / κατεργασίας και το βάρος τους με την απόδοση (w/w).

Εκχύλισμα	Διαλύτης	Τύπος Εκχύλισης	Απόδοση (% w/w)
Αιθέριο Έλαιο (EO)	—	HD	0.08 ± 0.02
sCO ₂ εκχύλισμα (SFE)	sCO ₂	SFE	1.65 ± 0.09
DCM εκχύλισμα (DCM)	DCM	UAE	1.12 ± 0.12
EtOAc εκχύλισμα (EtOAc)	EtOAc	UAE	1.00 ± 0.08

MeOH εκχύλισμα (ME)	MeOH	UAE	12.90 ± 0.60
EtOH/H ₂ O (50:50 v/v) (HA)	H ₂ O/EtOH	UAE	14.64 ± 0.52

Τα εκχυλίσματα και το αιθέριο έλαιο τοποθετήθηκαν στους +4°C στην συντήρηση έως ότου αναλυθούν.

4.5. Βιολογική Αξιολόγηση των Εκχυλισμάτων *Sideritis sipylea* Boiss.

4.5.1. Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου με την μέθοδο Folin-Ciocalteu

Ο προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των [Arnous \(2002\)](#). Πρόκειται για μία φωτομετρική μέθοδος ο βασικός μηχανισμός της οποίας είναι μία αντίδραση οξειδοαναγωγής, χωρίς να διαχωρίζει τα φαινολικά συστατικά (μονομερή, διμερή).

Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu Phenol Reagent (FCPr) αποτελείται από ένα μείγμα φωσφορομολυβδαινικού οξέος και φωσφοροβολφραμικού οξέος (10% v/v σε H₂O dist.).

Σε σωλήνες Erpendorf των 1.5 mL πραγματοποιούνται οι τελικές συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων του σιδερίτη (αραίωση σε DMSO για τελικές συγκεντρώσεις από 4 mg/mL – 0.025 mg/mL). Για κάθε διαφορετικό εκχύλισμα σιδερίτη (25 μL/ κελί για κάθε αραίωση) προστίθεται 125 μL αντιδραστήριο FCPr. Κατόπιν ανάδευσης και μετά την πάροδο 3 min, προστίθενται 100 μL κορεσμένου διαλύματος Na₂CO₃ (7.5% w/v σε H₂O dist.). Το μείγμα ανακινείται ξανά και φυλάσσεται σε σκοτάδι για 1h. Το προϊόν της αντίδρασης, φωτομετρείται στα 735 nm ως προς το blank (25 uL εκχύλισμα κάθε συγκέντρωσης + 225 uL H₂O dist.). Κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς με γαλλικό οξύ (GA) σε συγκεντρώσεις (0.05 - 1.25 mg/mL και τελικό όγκο, 25μL/κελί) με την προσθήκη αντιδραστηρίου Folin (125 μL), κορεσμένου διαλύματος Na₂CO₃ (100 μL) για τελικό όγκο 250 μL.

Η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των δειγμάτων (TPC) υπολογίζεται με την βοήθεια της καμπύλης αναφοράς γαλλικού οξέος (50-250 μg/mL) και εκφράζεται σε ισοδύναμα του γαλλικού οξέος σε mg GAE / g ξηρού εκχυλίσματος με την εξίσωση που προέκυψε από την καμπύλη αναφοράς του γαλλικού οξέος (GA) ([Παράρτημα](#)).

4.5.2. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH*

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των [Arnous \(2002\)](#).

Χρησιμοποιείται η ελεύθερη η ρίζα 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine (DPPH*). Ο μηχανισμός στηρίζεται στην μεταφορά ηλεκτρονίων και ατόμων υδρογόνου από το αντιοξειδωτικό στην σταθερή ελεύθερη ρίζα. Είναι μία φωτομετρική μέθοδος που μετράται η απορρόφηση στα 517 nm. Το διάλυμα DPPH προετοιμάζεται από 12.4mg DPPH σε 100 mL EtOH (absolute).

Οι αραιώσεις των δειγμάτων (εκχυλίσματα σιδερίτη) πραγματοποιούνται με DMSO όπως και με το TPC. Στην συνέχεια στα 10 µL δείγματος / κελί προστίθενται 190 µL διαλύματος DPPH και το μείγμα αφήνεται για επώση σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι για 30 min. Η απορρόφηση μετρήθηκε στα 517nm στην συσκευή ανάγνωσης Infinite® 200 PRO (Tecan Group Ltd., Männedorf, Ελβετία). Τα πειράματα έγιναν εις τριπλούν για κάθε δείγμα και 2 φορές συνολικά.

Το γαλλικό οξύ χρησιμοποιήθηκε ως θετικός μάρτυρας σε συγκέντρωση 30 µM . Ο αρνητικός μάρτυρας (negative control) πραγματοποιήθηκε κάθε φορά με 10 µL DMSO και 190 µL DPPH. Σαν θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε διάλυμα DPPH και γαλλικού οξέος (GA) με όγκους 190 και 10 µL αντίστοιχα. Η αντιοξειδωτική ικανότητα (Radical Scavenging Capacity ή RSC %) υπολογίζει το % αποχρωματισμού του διαλύματος DPPH (µωβ) και εκφράζεται από την παρακάτω εξίσωση:

$$\text{RSC \%} = (\text{Abs A} - \text{AbB}) / (\text{Abs A}) \times 100$$

Όπου Abs A = Abs Blank και Abs B = Abs Δείγματος. Abs Δείγματος είναι η απορρόφηση του δείγματος και Abs Blank Δείγματος είναι η απορρόφηση διαλύματος 190 µL EtOH και 10 µL δείγματος (εκχυλίσματος).

Επιπλέον υπολογίστηκε η τιμή IC₅₀ που υποδεικνύει την συγκέντρωση του εκχυλίσματος που απαιτείται για την μείωση του 50% της DPPH που υπάρχει στην αντίδραση μετά από την επώση 30min.

4.5.3. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας ABTS^{•+}

Χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, βασιζόμενη στην ικανότητα αλληλεπίδρασης αντιοξειδωτικών μορίων με την σταθερή ρίζα ABTS^{•+}. Το ABTS 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-sulphonic acid) παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) μέσω της δράσης του ενζύμου περοξειδάση (HRP), έχει σαν αποτέλεσμα την οξείδωση του (ABTS) και την δημιουργία μιας δραστικής ρίζας, του κατιόντος ABTS^{•+}.

Η συγκεκριμένη ρίζα έχει κυανοπράσινο χρώμα και απορροφά στα 734 nm. Προκειμένου να εκτιμήσουμε την αντιοξειδωτική ικανότητα της ουσίας πρέπει πρώτα να σχηματίσουμε την τεχνητή αυτή ρίζα. Όταν στο διάλυμα προστεθεί μια ουσία με αντιοξειδωτική δράση τότε η ρίζα ABTS^{•+}, ανάγεται είτε μέσω προσθήκης ενός ηλεκτρονίου είτε μέσω προσθήκης ενός ατόμου υδρογόνου, με αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό του διαλύματος σε βαθμό ανάλογο της συγκέντρωσης του αντιοξειδωτικού και συνέπεια την μείωση της οπτικής απορρόφησης στα 734 nm.

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας ABTS^{•+} πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των [Re, 1999](#).

Η ABTS^{•+} παρασκευάστηκε με ανάμιξη 7mM ABTS με 2.45 mM υπερθειικού νατρίου (Na₂S₂O₈). Το μείγμα στην συνέχεια διατηρήθηκε στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου για 16 ώρες για να επιτραπεί η δημιουργία ελευθέρων ριζών. Πρίν από την χρήση της ABTS^{•+}, για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων το διάλυμα της ρίζας αραιώνεται κατάλληλα για αιθανόλη ώστε να δίνει τιμή απορρόφησης 0.70±0.02. Για τον προσδιορισμό της δραστικότητας αναμίχθηκαν 100μL αντιδραστηρίου ABTS^{•+} με 100μL δείγματος σε μικροπλάκες 96 φρεατίων και επώστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 6 λεπτά. Μετά την επώση, η απορρόφηση μετρήθηκε στα 734 nm με την συσκευή ανάγνωσης Infinite® 200 PRO (Tecan Group Ltd., Männedorf, Ελβετία). Τα διαφορετικά εκχυλίσματα του σιδερίτη δοκιμάστηκαν σε 6 διαφορετικές συγκεντρώσεις (1, 4, 5, 6, 7.5 και 10 μM) και ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το Trolox, της οποίας το stock παρασκευάζεται σε αιθανολικό διάλυμα 0.006M, και κατασκευάζεται η καμπύλη αναφοράς.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα υπολογίζεται από την παρακάτω εξίσωση:

$$AA\% = (Abs\ Control - Abs\ Δείγματος) / (Abs\ Control) \times 100$$

Όπου Abs Control είναι η απορρόφηση του αντιδραστηρίου ABTS^{•+} χωρίς το δείγμα και Abs Δείγματος είναι η απορρόφηση της αντίδρασης του ABTS^{•+} με το δείγμα.

Για την αντιοξειδωτική ικανότητα του ABTS ^{•+} πραγματοποιήθηκε καμπύλη αναφοράς Trolox (0-10μM). Σε 3 mL του διαλύματος ABTS προστίθενται 30 μL από τα διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων Trolox ή νερό για το τυφλό. Αναμιγνύονται και τοποθετούνται σε θερμοστατημένο κλίβανο στους 30°C για 6 min και μετράται η απορρόφηση στα 734 nm υπολογίζοντας το ποσοστό παρεμπόδισης της ρίζας και στην συνέχεια κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη ([Παράρτημα](#)).

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity – ισοδύναμα Trolox) (μmol/L). Οι απαραίτητες αραιώσεις πραγματοποιήθηκαν στο αντιδραστήριο με στόχο οι τιμές του ABTS να συμπίπτουν στο γραμμικό τμήμα της καμπύλης αναφοράς.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα εκφράστηκε ως τιμή IC₅₀ (η συγκέντρωση του δείγματος που απαιτείται για την αναστολή του 50% των ριζών ABTS^{•+}). Από την καμπύλη αναφοράς για το Trolox η τιμή IC₅₀ = 12.64 μM ή 3.95 μg/mL.

4.5.4. Αναστολή της δράσης της Τυροσινάσης

Όλα τα εκχυλίσματα του *S.sipylea*, αξιολογήθηκαν σε τελική συγκέντρωση 150 μg/ml. Η ικανότητα των εκχυλισμάτων να αναστέλλουν την καταλυτική δράση της τυροσινάσης στην οξείδωση του L-DOPA στο ντοπαχρόμιο (5,6-διοξο-2,3,5,6-τετραϋδρο-1H-ινδολο-2-καρβοξυλικό οξύ), προσδιορίστηκε με μία ενζυματική μέθοδο ([Masuda, 2005](#)). Η δραστηριότητα της τυροσινάσης μετρήθηκε στα 475nm χρησιμοποιώντας το φασματοφωτόμετρο Infinite® 200 PRO.

Η ανασταλτική ισχύς των δειγμάτων έναντι αυτού του ενζύμου συγκρίθηκε με αυτό του θετικού μάρτυρα, Kojic acid (IC₅₀=10μM), γνωστός ισχυρός αναστολέας της τυροσινάσης. Σε μία μικροπλάκα 96 θέσεων, προστέθηκαν 40μL του δείγματος (εκχύλισμα αραιωμένο σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS σε συγκεντρώσεις από 1.5 έως και 0.3 mg/mL) και 40μL τυροσινάσης (προέλευση από μύκητα). Αναμείχθηκαν και επώστηκαν για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, αποφεύγοντας την έκθεση στο φως.

Στην συνέχεια, προστέθηκαν 40μL 2.5mM L-DOPA σε ρυθμιστικό διάλυμα και πραγματοποιήθηκε η μέτρηση του σχηματισμού dopachrome στα 475nm. Οι τελικές συγκεντρώσεις DMSO δεν ξεπέρασαν το 5% του συνολικού όγκου.

Το ποσοστό αναστολής της τυροσινάσης υπολογίστηκε με την παρακάτω εξίσωση:

$$\text{Αναστολή (\%)} = (\text{Abs A} - \text{Abs B}) / (\text{Abs A}) \times 100$$

όπου Abs A = Abs Control – Abs Control Blank και Abs B = Abs Δείγματος – Abs Blank Δείγματος. Abs Control είναι η απορρόφηση του ρυθμιστικού διαλύματος PBS με 5% DMSO, την τυροσινάση και το

υπόστρωμα, και Abs Δείγματος είναι η απορρόφηση του δείγματος σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS, την τυροσινάση, και το υπόστρωμα. Το Blank αποτελείται από όλα τα προαναφερθέντα αντιδραστήρια εκτός από το ένζυμο.

4.5.5. Αναστολή της δράσης της Ελαστάσης

Η ελαστάση από πάγκρεας χοίρου τύπου IV (PPE) που χρησιμοποιήθηκε, είναι μια λυοφιλοποιημένη σε ≥ 4 μονάδες/mg πρωτεΐνη. Τα διαφορετικά εκχυλίσματα *S. sipylea* αξιολογήθηκαν σε συγκεντρώσεις 500 $\mu\text{g/mL}$ (τελική συγκέντρωση στο κελί). Η αναστολή των PPE καθορίστηκε σύμφωνα με την μέθοδο [Kwan, 2009](#), χρησιμοποιώντας N-succinyl-Ala-Ala-Ala-*p*-nitroanilide ως υπόστρωμα και παρακολουθώντας την απελευθέρωση της *p*-nitroaniline. Η ποσότητα της *p*-nitroaniline προσδιορίστηκε φασματοφωτομετρικά στα 405 nm.

Το μίγμα της αντίδρασης περιείχε 80 μL ρυθμιστικό Trizma-base (50 mM, pH 7.5), 10 μL δείγματος (500 $\mu\text{g/mL}$ σε ρυθμιστικό διάλυμα) και 5 μL ελαστάση (0.4725U/ml). Τα τελικά διαλύματα επωάστηκαν για 15 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος στο σκοτάδι. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 15 μL 2 mM N-succinyl-Ala-Ala-Ala-*p*-nitroanilide διαλυμένα σε ρυθμιστικό Trizma και τα διαλύματα επωάστηκαν για 30 λεπτά στους 37 ° C. Η ελαστατινάλη (Sigma-Aldrich) χρησιμοποιείται ως θετικός μάρτυρας ($\text{IC}_{50} = 0.5 \mu\text{g/mL}$). Όλα τα πειράματα διεξήχθησαν εις τριπλούν και η απορρόφηση μετρήθηκε χρησιμοποιώντας το φασματοφωτόμετρο Infinite® 200 PRO (Tecan).

Η % αναστολή της ελαστάσης υπολογίστηκε με τον τύπο:

$$\text{Αναστολή (\%)} = (\text{Abs A} - \text{Abs B}) / (\text{Abs A}) \times 100$$

Όπου Abs A = Abs Control – Abs Control Blank και Abs B = Abs Δείγματος – Abs Blank δείγματος. Abs Control είναι η απορρόφηση του ρυθμιστικού διαλύματος Trizma, την ελαστάση, και το υπόστρωμα. Το blank αποτελείται από όλα τα προαναφερθέντα αντιδραστήρια εκτός από το ένζυμο.

4.5.6. Μελέτη της Προστασίας Νευρικών κυττάρων μετά από Τοξικότητα εκ διεγέρσεως (διεγερσιμοτοξικότητα) από γλουταμινικό οξύ.

Α) Φυτικά Εκχυλίσματα

Από τα εκχυλίσματα μελετήθηκαν τα ολικά υδατοαιθανολικά εκχυλίσματα (HA) μετά από εμπλουτισμό τους με ρητίνη XAD-7, για την απαλλαγή τους από τα σάκχαρα, καθώς επίσης τα εκχυλίσματα με υπερκρίσιμο CO_2 (SFE) και διχλωρομεθάνιο (DCM). Η επιλογή έγινε με στόχο το μεγαλύτερο δυνατό εύρος πολικότητας συστατικών στα εκχυλίσματα.

Πίνακας 4.4. Κωδικοί εκχυλίσμάτων του *Sideritis sipylea* που χρησιμοποιήθηκαν στις καλλιέργειες των ντοπαμινεργικών νευρώνων (HA=υδατοαιθανολικό ολικό εκχύλισμα; SFE= εκχύλισμα με υπερκρίσιμα ρευστά; DCM=διχλωρομεθανικό εκχύλισμα).

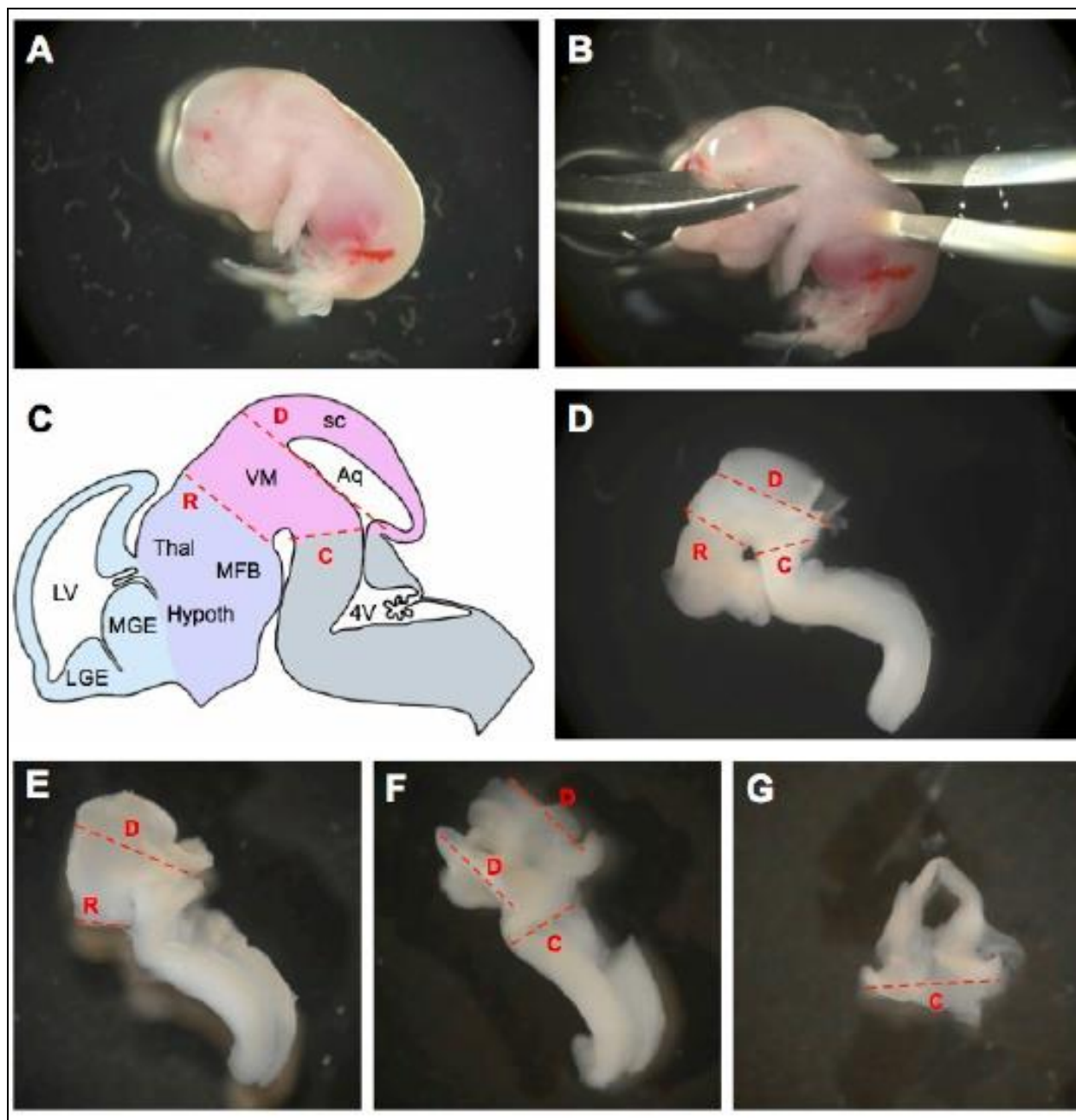
<i>Sideritis sipylea</i>	Ολικό εκχύλισμα HA χωρίς XAD	Ολικό εκχύλισμα HA με XAD	SFE	DCM
Κωδικός	BioS_5	BioS_9	BioS_10	BioS_12
Βάρος Εκχυλίσματος	13.5	10.6	11	24.1
DMSO added (ml)	1.35	1.06	1.1	2.41

Τα φυτικά εκχυλίσματα διαλύθηκαν σε DMSO (100%) και ομογενοποιήθηκαν με την χρήση υπερήχων με ή χωρίς θέρμανση όπου ήταν απαραίτητο για μία τελική συγκέντρωση 10 mg/ml (**Πίνακας 4.4**). Τα δείγματα διατηρήθηκαν στους -20°C (**Stock Solution**).

B) Πρωτογενείς Κυτταρικές Καλλιέργειες Ντοπαμινεργικών Νευρώνων

Οι φλοιώδεις νευρώνες ελήφθησαν από έμβρυα αρουραίων Wistar (Janvier Labs France, St. Berthevin, France) οι οποίοι θανατώθηκαν μετά από 15 ημέρες κύησης έπειτα από βαθιά αναισθησία σε θάλαμο με CO₂ και μηχανικό απεγκεφαλισμό. Οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες αρουραίων ελήφθησαν και καλλιεργήθηκαν με βάση το πρωτόκολλο του ([Visanji, 2008](#)). Συνοπτικά οι μεσεγκεφάλοι ελήφθησαν από έμβρυα αρουραίων ηλικίας 15 ημερών.

Τα έμβρυα τοποθετήθηκαν σε πιάτα Petri και πραγματοποιήθηκαν πλύσεις με PBS. Στην συνέχεια η διατομή των εγκεφάλων έγινε με την βοήθεια ενός διοφθαλμικού μικροσκοπίου και τοποθετήθηκαν σε Falcon. Στην **Εικόνα 4.10**, παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής για την λήψη μεσεγκεφάλων από τους εγκεφάλους των εμβρύων αρουραίων.



Εικόνα 4.10. Κύρια βήματα εκτομής του εγκεφάλου εμβρύου αρουραίου για την λήψη του τμήματος του μεσεγκεφάλου. Α) Αφαίρεση του εμβρύου από την μήτρα και Β) χωρίς αποκεφαλισμό με εκτομή του εγκεφάλου. Στο C παρατηρείται μια σχηματική αναπαράσταση του εμβρυϊκού εγκεφάλου με την περιοχή του κοιλιακού μεσεγκεφάλου VM. Οι διακεκομενες γραμμές δείχνουν πώς πρέπει να προχωρήσει η εκτομή με στόχο την απομόνωση του τμήματος. Στις εικόνες D, E, F και G με κόκκινες, διακεκομένες γραμμές παρουσιάζονται οι τομές (R= rostral cut, C= caudal cut και D=dorsal cut).

Οι εμβρυϊκοί μεσεγκεφαλοι στην συνέχεια τοποθετήθηκαν σε παγωμένο μέσο L15 Leibovitz (L15, Pan Biotech, Aidenbach, Γερμανία) που περιείχε 2% πενικιλίνη (10.000 U / mL) και στρεπτομυκίνη (10 mg /

mL) διάλυμα PS, (Pan Biotech) και 1% αλβουμίνης ορού βοοειδών (BSA, Pan Biotech). Το κοιλιακό τμήμα της μεσεγκεφαλικής κάμψης, μια περιοχή του αναπτυσσόμενου εγκεφάλου πλούσια σε ντοπαμινεργικούς νευρώνες, χρησιμοποιήθηκε για τα κυτταρικά παρασκευάσματα.

Έπειτα οι εμβρυϊκοί μεσεγκέφαλοι διαχωρίστηκαν με θρυψινοποίηση για 20 λεπτά στους 37°C (Trypsin 0.05% σε EDTA 0.02%, Pan Biotech). Η αντίδραση θρυψινοποίησης διακόπηκε με την προσθήκη τροποποιημένου μέσου Eagle της Dulbecco (DMEM, Pan Biotech) που περιείχε 0.1mg/ml Dnase I grade II (Pan Biotech) και 10% ορό εμβρύου μόσχου (FCS, Invitrogen, Cergy Pontoise, France).

Τα κύτταρα στην συνέχεια διαχωρίστηκαν μηχανικά με 3 περάσματα μέσω πιπέτας των 10ml. Στην συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν στα 180 x g για 10 λεπτά στους +4°C και τοποθετήθηκαν σε παγωμένο διάλυμα L15 (Leibovitz, Pan Biotech, Aidenbach, Γερμανία) που περιείχε 2% πενικιλίνη (10.000 U/ml) και στρεπτομυκίνη (10 mg/ml) (PS, Pan Biotech) καθώς επίσης και 1% ορός αλβουμίνης βοοειδών (BSA, Pan Biotech). Το υπερκείμενο διάλυμα απορρίφθηκε και τα κύτταρα επαναιωρήθηκαν σε θρεπτικό μέσο κυτταροκαλλιέργειας Nb (Neurobasal medium, Invitrogen). Η καταμέτρηση των βιώσιμων κυττάρων πραγματοποιήθηκε με αιμοκυτταρόμετρο (πλάκα Neubauer) με την χρωστική κυανό του τρυπανίου (Trypan Blue Solution 0.4%, ThermoFischer Scientific), τεχνική με την οποία τα υγιή κύτταρα μετρώνται καθώς δεν επιτρέπουν στο μπλε του τρυπανίου να εισέλθει και άρα να τα χρωματίσει σε αντίθεση με τα νεκρά κύτταρα.

Το σύνολο των κυττάρων στο διάλυμα υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$\text{Σύνολο κυττάρων/mL}^{-1} = (\text{αριθμός μετρηθέντων κυττάρων}) \times (10^4) \times (\text{αραίωση})$$

Η βιωσιμότητα του κυτταρικού πληθυσμού του δείγματος υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Βιωσιμότητα \%} = (\text{Ολικός αριθμός αχρωμάτιστων κυττάρων} / \text{ολικός αριθμός κυττάρων}) \times 100$$

Για την πρωτογενή κυτταρική καλλιέργεια χρησιμοποιήθηκαν 25.000 κύτταρα/κελί σε προεπικαλυμμένες πλάκες των 96 φρεατίων με poly-L-Lysine (Corning Biocoat, Le Pont de Claix, France). Τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό μέσο Nb + συμπλήρωμα 2% B27 (Invitrogen) + 2% διαλύματος PS + 2mmol/l L-Glu + 10ng/ml νευροτροφικού παράγοντα BDNF (Pan Biotech) και 1ng/ml νευροτροφικού παράγοντα που προέρχεται από γλοία (Pan Biotech). Τα βιώσιμα κύτταρα μετρήθηκαν με αιμοκυτταρόμετρο όπως περιγράφηκε παραπάνω. Η ανανέωση του θρεπτικού μέσου πραγματοποιήθηκε κάθε 2 ημέρες με την αντικατάσταση του μισού όγκου με φρέσκο. Τα κύτταρα τοποθετήθηκαν σε επωαστήρα στους 37 °C, 95% υγραποιημένου αέρα και 5% CO₂ για 13 ημέρες. Οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες ταυτοποιήθηκαν με ανοσόχρωση (ανοσοφθορίωση) της υδροξυλάσης της τυροσίνης (Tyrosine Hydroxylase – TH), τεχνική που αναλύεται στην επόμενη παράγραφο (**Γ. Ανοσοφθορισμός (Immunostaining)**). Είναι σημαντικό να

αναφερθεί ότι οι νευρώνες που εκφράζουν TH αποτελούν το 6% με 8% του συνολικού πληθυσμού των νευρώνων, παρόλο που στις συγκεκριμένες συνθήκες, παραμένει ένας υπολειπόμενος πληθυσμός μικρογλοιακών κυττάρων, που αντιπροσωπεύει το ~1% όλων των κυττάρων της καλλιέργειας.

Μετά από τις 13 ημέρες καλλιέργειας, αφαιρέθηκε το θρεπτικό υλικό και τα κύτταρα προ-επωάστηκαν με τα φυτικά εκχυλίσματα για 1 ώρα και στην συνέχεια μεθύνονται για 20 λεπτά με γλουταμινικό οξύ, με ή χωρίς τα εκχυλίσματα (control group).

Για τα φυτικά εκχυλίσματα, με στόχο να χρησιμοποιηθούν στις κυτταρικές καλλιέργειες, έγινε έλεγχος διαλυτότητας σε DMSO 100% και στην συνέχεια ετοιμάστηκαν τα διαλύματα (φυτικό υλικό σε DMSO) σε μία τελική συγκέντρωση 10 mg/ml (stock solution) όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο ([Α. Φυτικά εκχυλίσματα](#)).

Για τις *in-vitro* δοκιμές, ετοιμάστηκε ένα διάλυμα με 3ul του **Stock Solution** + 3ml θρεπτικό υλικό για τις κυτταροκαλλιέργειες. Το διάλυμα στην συνέχεια αραιώθηκε σε DMSO 0.1% (αραίωση 1:1000) με στόχο να έχω τελική συγκέντρωση 10 ug/ml. Η αραιώση που πραγματοποιήθηκε ήταν σειριακή (1:10) – 10ul διαλύματος με εκχύλισμα + 90 ul DMSO). Τα προς εξέταση διαλύματα με τα διαφορετικά εκχυλίσματα σιδηρίτη είχαν τις συγκεντρώσεις 10 ug/ml (S1), 1 ug/ml (S2), 0.1 ug/ml(S3) και 0.01 ug/ml (S4) (**Πίνακας 4.5**).

Στην συνέχεια αφαιρέθηκε το θρεπτικό υλικό από τις πλάκες και στα κελιά με τα κύτταρα προστέθηκαν 100ul με τα διαλύματα με τα φυτικά εκχυλίσματα σιδηρίτη στις διαφορετικές συγκεντρώσεις (S1-S4). Οι πλάκες τοποθετήθηκαν στον επωαστήρα για 1ώρα.

Έπειτα τοποθετήθηκε διάλυμα γλουταμινικού οξέος (40 ug/ml) + 100ul των εκχυλισμάτων έτσι ώστε η τελική συγκέντρωση του γλουταμινικού οξέος να είναι 20 ug/ml (20 uM). Οι πλάκες τοποθετήθηκαν στον επωαστήρα για 20 λεπτά.

Στο τέλος έγινε αποδέσμευση των κυττάρων από τα διαλύματα και εν συνεχεία προστέθηκε θρεπτικό υλικό στην καλλιέργεια και αφήνουμε στον επωαστήρα για 48ώρες για το τέλος του πειράματος της διεγερσιμοτοξικότητας από γλουταμινικό οξύ και να προχωρήσουμε στον ανοσοφθορισμό.

Πίνακας 4.5 . Οι τρεις πειραματικές πλάκες με τις κυτταρικές καλλιέργειες ντοπαμινεργικών νευρώνων σε τέσσερις διαφορετικές συγκεντρώσεις (0.01; 0.1; 1 και 10 $\mu\text{g/mL}$) των ολικών εκχυλισμάτων *Sideritis sipylea* (BioS_5= *Sideritis sipylea* HA without XAD; BioS_9 = *Sideritis sipylea* HA with XAD; BioS_12 = *Sideritis sipylea* DCM).

Πλάκα 1	Πλάκα 2	Πλάκα 3
Control (Θρεπτικό Υλικό + Κύτταρα)	Control (Θρεπτικό Υλικό + Κύτταρα)	Control (Θρεπτικό Υλικό + Κύτταρα)
Γλουταμινικό Οξύ (20 μM)	Γλουταμινικό Οξύ (20 μM)	Γλουταμινικό Οξύ (20 μM)
+ BioS_5 (0.01 $\mu\text{g/mL}$)	+ BioS_9 (0.01 $\mu\text{g/mL}$)	+ BioS_12 (0.01 $\mu\text{g/mL}$)
+ BioS_5 (0.1 $\mu\text{g/mL}$)	+ BioS_9 (0.1 $\mu\text{g/mL}$)	+ BioS_12 (0.1 $\mu\text{g/mL}$)
+ BioS_5 (1 $\mu\text{g/mL}$)	+ BioS_9 (1 $\mu\text{g/mL}$)	+ BioS_12 (1 $\mu\text{g/mL}$)
+ BioS_5 (10 $\mu\text{g/mL}$)	+ BioS_9 (10 $\mu\text{g/mL}$)	+ BioS_12 (10 $\mu\text{g/mL}$)

Γ) Ανοσοφθορισμός (Immunostaining)

Έπειτα από την επώαση 48 ωρών, απομακρύνθηκε το θρεπτικό υλικό από τις κυτταρικές καλλιέργειες των νευρώνων και το επίστρωμα σταθεροποιήθηκε σε μονιμοποιητικό διάλυμα παραφορμαλδεΐδης (PFA, Sigma Aldrich) 2% σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS, pH 7.3 και επωάζεται για 20 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (RT). Μετά την επώαση απομακρύνεται το διάλυμα PFA και πραγματοποιούνται πλύσεις με ρυθμιστικό διάλυμα PBS/0.1M γλυκίνη για 10 λεπτά. Απομακρύνεται το ρυθμιστικό διάλυμα PBS και σε κάθε κελί προστίθεται 300ul διάλυμα Triton X-100 (20%) σε PBS (0.05%) (**Διάλυμα 1**) και επώαστηκε για 30 λεπτά σε RT με στόχο την αύξηση της διαπερατότητα των κυττάρων.

Στην συνέχεια για τον αποκλεισμό των μη ειδικών θέσεων χρησιμοποιήθηκε ένα διάλυμα 0.1% (0.1 mg/ml) σαπωνίνης σε PBS (Sigma Aldrich) και 1% FCS για 15 λεπτά σε RT (**Διάλυμα 2**). Απομακρύνθηκε το Διάλυμα 2 και επώαστηκαν τα κύτταρα με 300 ul/κελί διαλύματος (1/10000) πρωτογενών αντισωμάτων (Ab) στο Διάλυμα 2 που προετοιμάστηκε προηγουμένως Το πρωτογενές αντίσωμα που χρησιμοποιήθηκε για τους ντοπαμινεργικούς νευρώνες και ειδικά για την TH είναι το μονοκλωνικό (Anti-Tyrosinase Hydroxylase) (Sigma). Αφέθηκε σε επώαση για 2 ώρες σε RT.

Μετά την επώαση, απομακρύνθηκε το διάλυμα με το πρωτογενές αντίσωμα και πραγματοποιήθηκαν 3 πλύσεις με το Διάλυμα 2 για 10 λεπτά η καθεμία. Στην συνέχεια προστέθηκαν 300ul/ κελί δευτερογενούς αντισώματος (Abs) με Διάλυμα 2 και τοποθετήκαν στην επώαση για 1 ώρα σε RT στο σκοτάδι. Το δευτερογενές αντίσωμα που χρησιμοποιήθηκε είναι το anti-MAP2 antibody Alexa GAM 488, Invitrogen), σε τελική συγκέντρωση 5ug/ml. Το συγκεκριμένο αντίσωμα δίνει πράσινο φθορισμό. Μετά το πέρας της επώασης απομακρύνθηκε το διάλυμα με το δευτερογενές αντίσωμα και πραγματοποιήθηκαν πλύσεις με PBS.

Για τους πυρήνες των κυττάρων χρησιμοποιήθηκε διάλυμα Hoechst (Thermo Fischer Scientific), σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS (1:2000). Το συγκεκριμένο διάλυμα δίνει μπλέ χρώμα.

Δ) Ποσοτική Ανάλυση Ανοσοφθορισμού

Οι καλλιέργειες που έχουν υποστεί ανοσοχρωματισμό, εξετάστηκαν με το σύστημα ομοεστιακής μικροσκοπίας ImageXpress (Molecular Devices, San Jose, CA, USA) σε μεγέθυνση 10x. Για την ανίχνευση του φθορισμού, ο αναλυτής κυττάρων έλαβε υπόψη κύτταρα που παρουσιάζουν σήμα μεγαλύτερο ή ίσο του ορίου που καθορίζεται αυτόματα με την παρατήρηση καλλιιεργειών που υποβάλλονται σε επεξεργασία μόνο με δευτερεύοντα αντισώματα. Όλα τα κελιά στις πλάκες παρατηρήθηκαν ακριβώς κάτω από τις ίδιες συνθήκες, έτσι ώστε οι νευρώνες που παρατηρήθηκαν από τον αναλυτή κυττάρων να ανήκουν στην ίδια κατηγορία, κάνοντας πιθανές στατιστικές συγκρίσεις.

Για κάθε μέτρηση σε κελί της πλάκας κυτταροκαλλιέργειας, μετρήθηκαν 20 αυτόματα επιλεγμένα πεδία που αντιπροσωπεύουν το 80% της συνολικής επιφάνειας του κελιού. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό MetaXpress (Molecular Devices) για τον προσδιορισμό του συνολικού αριθμού νευρικών κυττάρων που εκφράζουν TH.

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως προς το ποσοστό των νευρώνων που εμφανίζουν τον φαινότυπο που αναλύθηκε, σε σύγκριση με τις συνθήκες ελέγχου (control) με κύτταρα των οποίων ο δευτερογενής ανοσοφθορισμός είναι κάτω από το όριο που έχει τεθεί στον αλγόριθμο του λογισμικού.

4.5.7. Στατιστική Ανάλυση των Αποτελεσμάτων

Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσος όρος $\pm$ SE ($n \geq 3$) για όλες τις μετρήσεις αναστολής των ενζύμων τυροσινάσης, ελαστάσης, κολλαγενάσης ενώ για το ποσοστό κυτταροτοξικότητας από γλουταμινικό οξύ όλες οι τιμές εκφράστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ SEM. $n = 6$ /ομάδα. Για την σύγκριση των δειγμάτων με τον θετικό μάρτυρα, πραγματοποιήθηκαν πολλαπλές συγκρίσεις μέσων τιμών με μονόδρομα ANOVA και την χρήση του τεστ Dunnett (τιμές $p < 0,05$ (*), $< 0,01$ (**), $< 0,001$ (***) και $< 0,0001$ (***) αντίστοιχα. Διαφορετικά, οι μέσες τιμές διαχωρίστηκαν χρησιμοποιώντας το τεστ Tukey για DPPH και ABTS ενώ για την κυτταροτοξικότητα το τεστ Fischer LSD.

Για όλες τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό GraphPad Prism 9 (GraphPad Software Inc., California, CA, USA).

4.6. Φυτοχημική Μελέτη Αιθερίου Έλαιου και των Εκχυλισμάτων

4.6.1. Αιθέριο Έλαιο

4.6.1.α. Ποσοτικός Προσδιορισμός Αιθερίου ελαίου

Το περιεχόμενο των υπέργειων τμημάτων του φυτού σε αιθέριο έλαιο (ml/100g νωπού ιστού), προσδιορίστηκε με υδροαπόσταξη τους σε συσκευή τύπου Clevenger, σύμφωνα με τις προδιαγραφές της Ευρωπαϊκής φαρμακοποιίας. Το υπέργειο τμήμα (30 g) αφού κόπηκε σε μικρότερα τμήματα, υποβλήθηκε σε υδροαπόσταξη για 4 ώρες με ρυθμό απόσταξης 3-3.5 ml/min. Το περιεχόμενο αιθέριο έλαιο των ιστών παραλαμβάνονται σε γυάλινα σκουρόχρωμα φιαλίδια, στα οποία προστίθεντοθειικό νάτριο (Na_2SO_4) για να απορροφά την πιθανή υγρασία από το έλαιο και αποθηκεύονται σε ψυγείο σε θερμοκρασία 4-6°C. Πραγματοποιήθηκαν 3 συνολικά αποστάξεις. Η απόδοση ήταν 0.08 (% w/w).

4.6.1.β. Ανάλυση αιθερίων ελαίων με Αέρια Χρωματογραφία- Φασματομετρία Μάζας

Τα αιθέρια έλαια αναλύθηκαν σε Αέριο Χρωματογράφο, με ανιχνευτή Φασματογράφο Μάζας (Finnigan Trace GC Ultra 2000 apparatus – Thermo Electron Corporation) σε σύζευξη με Finnigan Trace DSQ mass selective detector. Οι αναλύσεις έγιναν σε στήλη Trace TR-5MS της Thermo Scientific (30m x 0.25mm i.d.; 0.25μm). Θερμοκρασία στο σημείο έγχυσης: 220 και 260°C, αντίστοιχα, θερμοκρασία πηγής ιονισμού 200°C, θερμοκρασία σύνδεσης GC-MS: 300°C, τύπος ιονισμού EI (Electron Ionization):70eV, εύρος σάρωσης: 40-400 *m/z*. Σαν φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε το ήλιο.με ροή 1.0 ml/min.

Εφαρμόστηκε το παρακάτω θερμοκρασιακό πρόγραμμα: αραιωμένα δείγματα 1 ul (2 mg/ml σε DCM), εγχύθηκαν σε κατάσταση splitless. Η θερμοκρασία του φούρνου προγραμματίστηκε να αυξηθεί από 40 σε 260 με ρυθμό 4 /min και στην συνέχεια διατηρήθηκε ισοθερμικά για 10 λεπτά. Ο συνολικός χρόνος εκτέλεσης ήταν 65 λεπτά. Το λογισμικό Xcalibur 2.0.7 (Thermo Scientific) χρησιμοποιήθηκε για την λειτουργία του συστήματος καθώς επίσης και για την τελική επεξεργασία των δεδομένων.

Η ταυτοποίηση των συστατικών του ελαίου βασίστηκε στην σύγκριση των δεικτών Kovats τους σε σχέση με αυτούς γνωστών αλκανίων (standard n-alkanes) με αντίστοιχα δεδομένα της βιβλιογραφίας,

Παρασκευή εκχυλισμάτων

4.6.2. Εκχύλιση με Υπερήχους

Στην εκχύλιση με υπερήχους, τα υπέργεια τμήματα του *S. sipylea* σε σκόνη (10g) για κάθε διαφορετικό τύπο διαλύτη (DCM, EtOAc, EtOH / H₂O 50:50v/v), τοποθετήθηκαν σε λουτρό υπερήχων 3L συχνότητας 25kHz (PEX 3 Sonifier – REUS, Contes, France). Το λουτρό υπερήχων είναι από ανοξείδωτο ατσάλι εξοπλισμένο με διπλό μανδύα, με μέγιστη ισχύ εισόδου 150W. Ο διπλός μανδύας επιτρέπει τον έλεγχο της θερμοκρασίας με νερό βρύσης. Όλες οι εκχυλίσσεις πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, χρησιμοποιώντας 400ml διαλύτη κάθε φορά. Μετά την εκχύλιση, ακολούθησε διήθηση και συμπύκνωση μέχρι ξηρού. Τα τελικά βάρη των εκχυλισμάτων μετά την συμπύκνωση παρουσιάζονται στον [Πίνακα 4.3](#). Όλα τα εκχυλίσματα από τους υπερήχους αποθηκεύτηκαν στους 4°C μέχρι την ανάλυση και την περαιτέρω χρήση.

4.6.3. Υπερκρίσιμη εκχύλιση με διοξείδιο του άνθρακα (Supercritical Fluid Extraction–SFE)

Πραγματοποιήθηκε επίσης εκχύλιση με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα (SFE-CO₂) με στόχο να παραληφθούν από το ολικό εκχύλισμα μεταβολιτές μικρής πολικότητας. Με στόχο να αυξηθεί η διαλυτική ικανότητα του CO₂ προς μη πολικές ουσίες χρησιμοποιήσαμε συνδιαλύτη (EtOH 99% καθαρότητα).

Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε σε εξοπλισμό υπερκρίσιμου ρευστού εργαστηριακής κλίμακας, μοντέλου SFE 100ml, (SEPAREX, Champigneulle, Γαλλία). Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για 2 ώρες με δοχείο εκχύλισης από ανοξείδωτο χάλυβα (100ml) με περίπου 14g αποξηραμένου φυτικού υλικού. Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε εις διπλούν χρησιμοποιώντας CO₂ 100%. Η πίεση στο δοχείο εκχύλισης διατηρήθηκε συνεχώς στα 300bar, ενώ ο ρυθμός ροής του CO₂ ήταν 25 g/min. Οι θερμοκρασίες εκχύλισης και διαχωρισμού ρυθμίστηκαν στους 40°C και 35°C αντίστοιχα. Στην συνέχεια η βαλβίδα άνοιγε κάθε 20 λεπτά για να συλλέγει εν μέρει το εκχύλισμα. Τέλος το εκχύλισμα που παρελήφθει αποθηκεύτηκε στους 4°C μέχρι την ανάλυσή του.

Η απόδοση της εκχύλισης ανήλθε σε 1,65% (w/w) του αποξηραμένου φυτικού υλικού.

4.6.4. Φυτοχημική ανάλυση με Υγρή Χρωματογραφία συζευγμένη με Φασματομετρία Μάζας (LC-MS)

Για τον προσδιορισμό των συστατικών του *S. sipylea*, και πιο συγκεκριμένα για τα φαινολικά συστατικά, η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης συζευγμένη με Φασματομετρία Μάζας (LC-MS) σε αναλυτή μαζών LC-MS τύπου Acquity H-Class UPLC system (Waters Corp., Milford, USA) εξοπλισμένο με αντλία, αυτόματο δειγματολήπτη, ηλεκτρονικό σύστημα κενού και στήλη ελεγχόμενης θερμοκρασίας, συζευγμένο σε ένα υβριδικό φασματόμετρο μάζας (LTQ-Orbitrap, Discovery XL) της Thermo Scientific (Brehmen, Germany) με ESI ως μέθοδος ιοντισμού με ηλεκτροψεκασμό. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε είναι Fortis C18 (Fortis Technologies Ltd, Cheshire, UK) με διαστάσεις (100 x 2.1mm, 1.7μm).

Τα συστήματα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν σαν κινητή φάση αποτελούνται από H₂O (διαλύτης Α) και ακετονιτρίλιο (διαλύτης Β). Και στους δύο διαλύτες έχει προστεθεί μυρμηγκικό οξύ (0.1% v/v). Η συνολική διάρκεια της ανάλυσης ήταν 32 λεπτά με σταθερή ροή 0.4mL/min. Ο όγκος έγχυσης των δειγμάτων ήταν 10μL και η θερμοκρασία της στήλης σταθεροποιήθηκε στους 40°C.

Για το συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε πηγή ιόντων ESI αρνητικού φορτίου (-) και η ποιοτική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με αυτοματοποιημένο σύστημα MS/MS, στο πλήρες εύρος μάζας σάρωσης m/z 115.0 – 1000.0 με ανάλυση (resolution), 30.000. Η θερμοκρασία στο τριχοειδές ορίστηκε στους 350°C. Η τάση της πηγής ορίστηκε στα 2.70kV (ESI-), ενώ το ρεύμα στην πηγή ήταν 100μΑ. Η ανάλυση των φασμάτων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό Xcalibur 2.0.7.

ΜΕΡΟΣ Β: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.7. Βιολογική Αξιολόγηση των εκχυλισμάτων του *Sideritis sipylea* Boiss

4.7.1. Αντιοξειδωτική Ικανότητα με την μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH

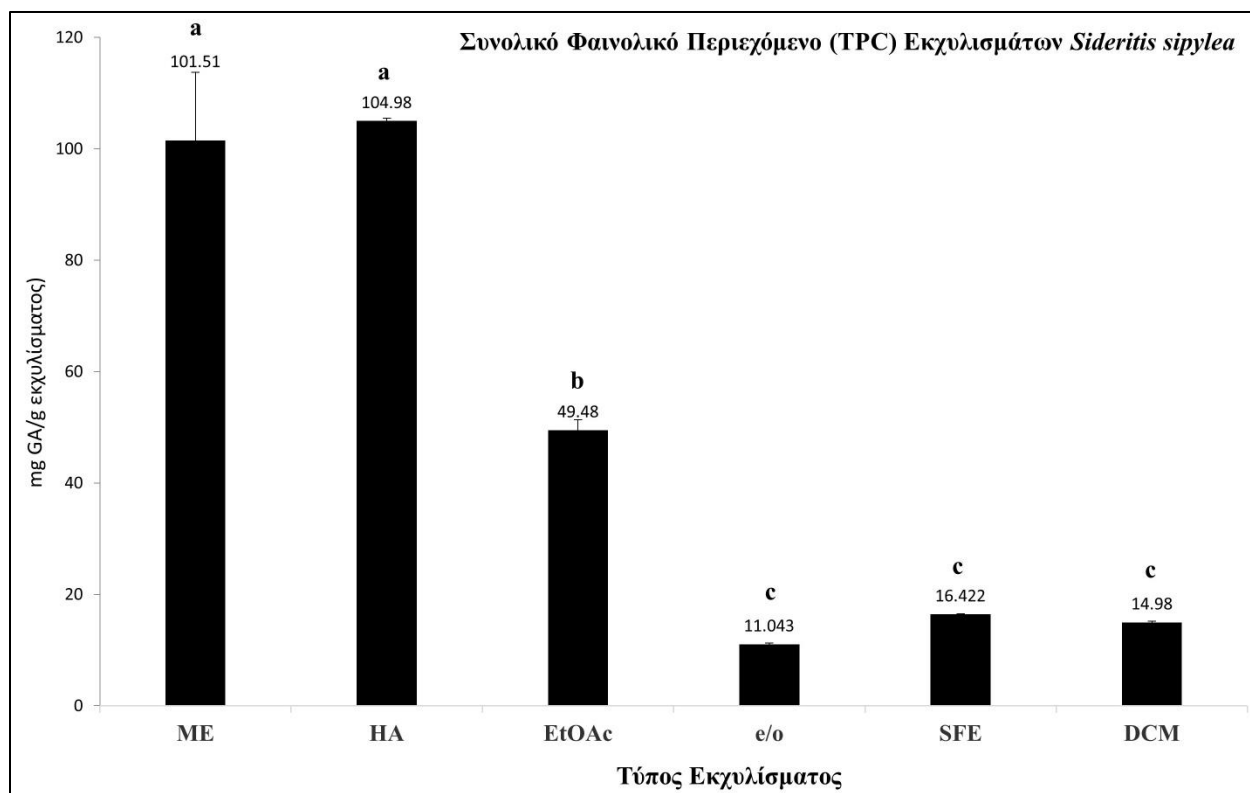
Η κυτταρική οξείδωση είναι μία σύνθετη βιοχημική κατάσταση που προκαλείται από τα λεγόμενα ROS (Reactive Oxygen Intermediates) και τα υποπροϊόντα που παράγονται από τον αερόβιο μεταβολισμό. Τα ROS προέρχονται από φυσιολογικές μεταβολικές διεργασίες που είναι απαραίτητες για το κύτταρο. Στο φυτικό βασύλειο υπάρχουν διαφορετικές κατηγορίες σύνθετων μεταβολιτών που μπορούν να λειτουργήσουν ως αντιοξειδωτικά ([Valko, 2007](#)).

Τα φλαβονοειδή, όπως οι φλαβονόλες, οι φλαβόνες, οι φλαβανόνες, τα ισοφλαβονοειδή και οι ανθοκυανιδίνες, μεταξύ άλλων, έχουν την ικανότητα να μετριάσουν αποτελεσματικά τις βλαβερές επιδράσεις των ROS. Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν μια γνωστή κατηγορία αντιοξειδωτικών για την απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών. Το Συνολικό Φαινολικό Περιεχόμενο (TPC) μαζί με δοκιμές αντιοξειδωτικής δραστηριότητας *in-vitro* όπως η απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλοϋδραζυλίου (DPPH) του ενδημικού *S. sipylea* στην Τουρκία έχει αναφερθεί προηγουμένως και με βάση αυτή τη μελέτη, το ολικό μεθανολικό εκχύλισμα παρουσίασε την υψηλότερη τιμή TPC, υπερβαίνοντας την αντίστοιχη τιμή για το υδατικό εκχύλισμα ([Nakiboglu, 2007](#)). Πρέπει να σημειωθεί ότι η TPC υδροαλκοολικών εκχυλισμάτων από *S. sipylea* δεν αναφέρθηκε εκεί.

Υψηλότερη αναλογία φαινολικών ενώσεων παραλαμβάνεται με περισσότερο πολικούς διαλύτες και αυτό μπορεί να εξηγήσει τις υψηλότερες τιμές TPC ([Cheynier, 2005](#)).

Περαιτέρω οι τιμές TPC των εκχυλισμάτων ME, HA, EtOAc, DCM και SFE μαζί με τον ΕΟ του *S. sipylea*, προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.

Οι τιμές TPC λήφθηκαν από την καμπύλη αναφοράς του γαλλικού οξέος με βάση τις συγκεντρώσεις που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) για κάθε εκχύλισμα εκφράστηκε ως ισοδύναμο γαλλικού οξέος (GAE) σε mg GAE/g ξηρού εκχυλίσματος από την εξίσωση: $TPC = C \times V / M$ με C (συγκέντρωση του γαλικού οξέος από την καμπύλη αναφοράς (x) - [Παράρτημα](#)) σε (mg/mL), V είναι ο όγκος του εκχυλίσματος (mL) και M είναι το βάρος του εκχυλίσματος (g). Η υψηλότερη τιμή του TPC παρουσιάστηκε από το υδατοαιθανολικό εκχύλισμα (HA) (104.98 ± 0.05 mg GAE/g), ακολουθούμενο από το μεθανολικό εκχύλισμα (ME) (101.51 ± 12.20 mg GAE/g), αλλά χωρίς σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($p = 0.9536$). Όλες οι άλλες τιμές παρουσιάζονται στην **Εικόνα 4.11**.

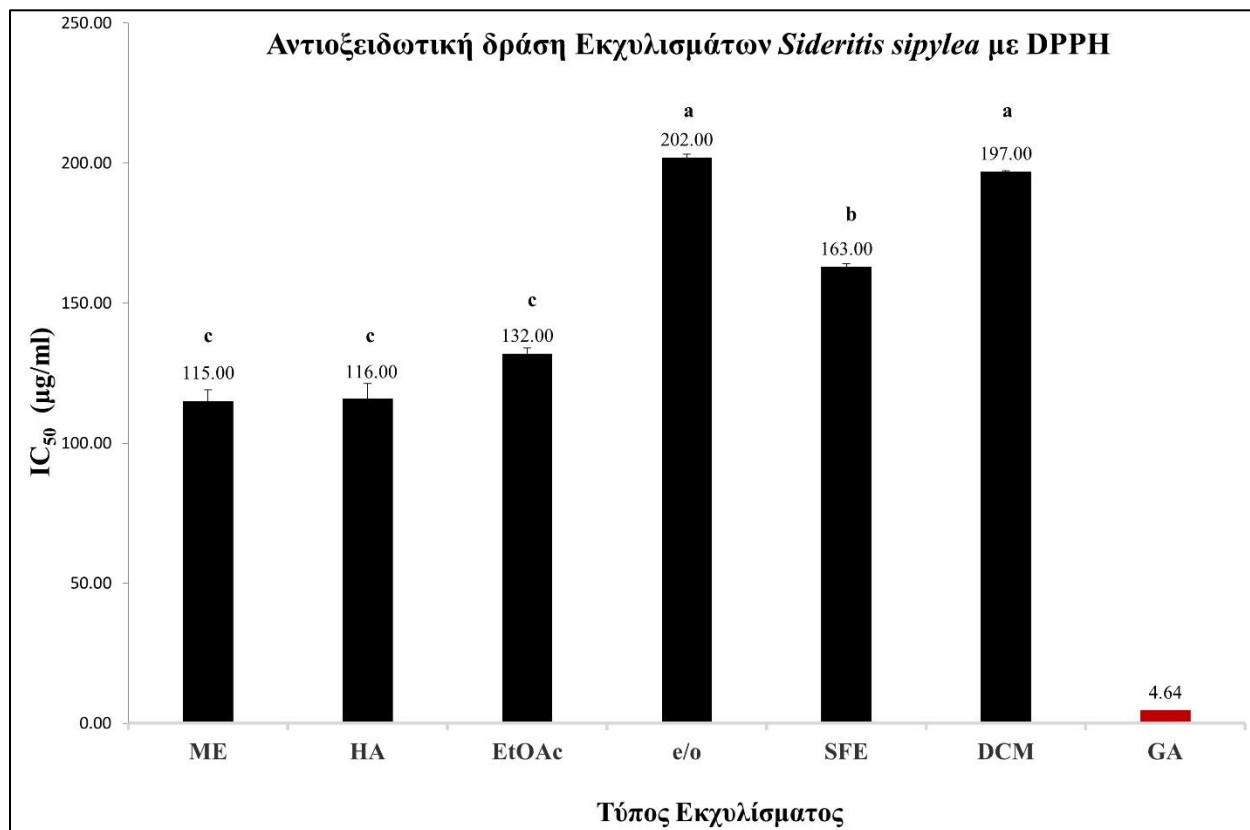


Εικόνα 4.11. Ολικά φαινολικά TPC (mg GAE/g εκχυλίσματος) για τα διαφορετικά εκχυλίσματα του *Sideritis sipylea* (ME= μεθανολικό; HA= υδατοαιθανολικό; EtOAc= οξικός αιθυλεστέρας; DCM= διχλωρομεθάνιο; SFE= εκχύλισμα με υπερκρίσιμο CO₂ και EO= αιθέριο έλαιο). Σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών mgGA/g των εκχυλίσμάτων υποδεικνύονται από τα διαφορετικά γράμματα (a-c). Οι τιμές είναι ο μέσος όρος (mean) 3 επαναλύσεων ± SD (n≥3).

Ένα ευρύ φάσμα φαινολικών ενώσεων παρατηρήθηκε στα εκχυλίσματα. Υψηλότερες τιμές TPC σχετίζονται με υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις στα ολικά εκχυλίσματα. Το αιθέριο έλαιο (EO) που λαμβάνεται με υδροαπόσταξη και τα μη πολικά κλάσματα που λαμβάνονται με SFE και διχλωρομεθανικό (DCM) περιείχαν πολύ μικρότερες ποσότητες φαινολικών ενώσεων από τα εκχυλίσματα EtOAc, ME και HA. Τα συγκριτικά αποτελέσματα που αφορούν όλο το φάσμα διαφορετικής πολικότητας εκχυλίσματα στο *S. sipylea* δεν έχουν αναφερθεί προηγουμένως.

Επιπλέον, η αντιοξειδωτική δραστηριότητα αυτών των εκχυλίσμάτων προσδιορίστηκε με βάση την εξουδετέρωση της ελεύθερης ρίζας, DPPH. Είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την αξιολόγηση της ικανότητας των φυτικών εκχυλίσμάτων να απομακρύνουν τις ελεύθερες ρίζες, που παράγονται από το αντιδραστήριο DPPH. Η αποτελεσματική συγκέντρωση για τη μείωση της ρίζας DPPH στο 50% (IC₅₀) (ορίζεται ως η συγκέντρωση υποστρώματος που προκαλεί απώλεια 50% της δραστηριότητας του DPPH), προσδιορίστηκε με τη γραφική παράσταση γραμμικής καμπύλης της δραστηριότητας DPPH έναντι της αναλογίας συγκέντρωσης δείγματος προς DPPH, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως ([Marxen,](#)

2007). Σας θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το γαλικό οξύ ($IC_{50} = 49.9 \mu\text{g/mL}$) Η χαμηλότερη τιμή IC_{50} σημαίνει υψηλότερο αντιοξειδωτικό δυναμικό του φυτικού εκχυλίσματος. Τα πιο πολικά εκχυλίσματα (δηλαδή μεθανολικά και υδατο αλκοολικά) έδειξαν τις χαμηλότερες τιμές IC_{50} ($115 \mu\text{g/mL}$ για ME και $116 \mu\text{g/mL}$ για HA), ενώ η υψηλότερη τιμή IC_{50} ($202 \mu\text{g/mL}$) και ως εκ τούτου η χαμηλότερη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάστηκε για το αιθέριο έλαιο (Εικόνα 4.12).

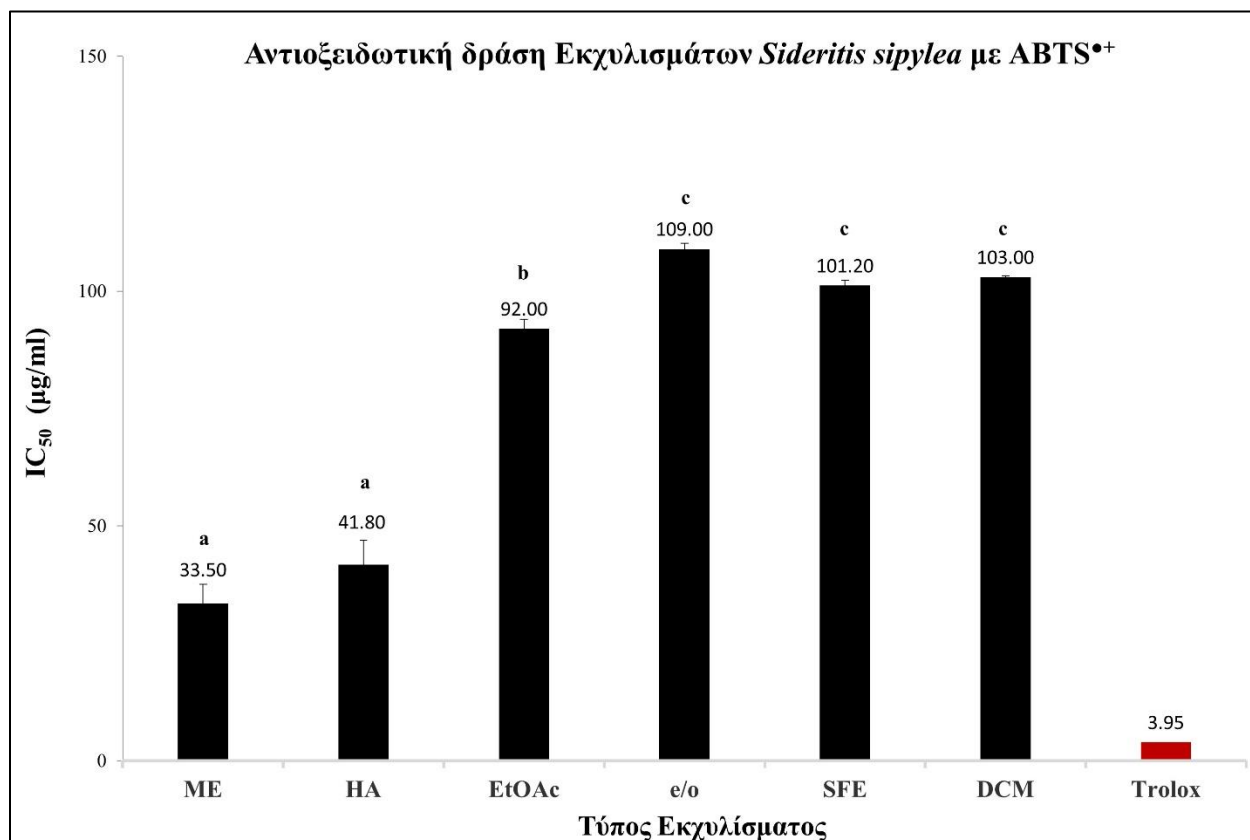


Εικόνα 4.12. Αντιοξειδωτική ικανότητα (IC_{50} σε $\mu\text{g/mL}$) των διαφορετικών εκχυλισμάτων του *Sideritis sipylea* με DPPH (ME = μεθανολικό; HA = υδατοαιθανολικό; EtOAc = οξικός αιθυλεστέρας; DCM= διγλωρομεθάνιο; SFE= εκχύλισμα με υπερκρίσιμο CO_2 και e/o = αιθέριο έλαιο). Θετικός μάρτυρας το γαλλικό οξύ (GA) ($IC_{50} = 50 \mu\text{g/mL}$). Σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών IC_{50} των εκχυλισμάτων υποδεικνύονται από τα διαφορετικά γράμματα (a-c). Οι τιμές είναι ο μέσος όρος (mean) 3 επαναλύσεων $\pm$ SD ($n \geq 3$). Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με one-way ANOVA και Turkey's test για την σύγκριση των εκχυλισμάτων με τον θετικό μάρτυρα. Σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών IC_{50} των εκχυλισμάτων παρουσιάζεται με τα διαφορετικά γράμματα (a-c) ($p < 0.05$).

Τα αποτελέσματα δείχνουν σαφώς ότι τα εκχυλίσματα HA και ME, τα οποία περιείχαν την υψηλότερη ποσότητα ολικών φαινολικών, ήταν τα πιο ισχυρά από αντιοξειδωτικής άποψης.

4.7.2. Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της δέσμευσης της ρίζας ABTS^{•+}

Με την μέθοδο ABTS^{•+}, μετρήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των 6 διαφορετικών εκχυλισμάτων *Sideritis sipylea*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως IC₅₀. Σαν θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε διάλυμα Trolox (IC₅₀ = 3.95 µg/mL). Στο διάγραμμα είναι φανερό ότι το μεθανολικό (ME) και υδατοαιθανολικό (HA) εκχύλισμα παρουσιάζουν την χαμηλότερη τιμή IC₅₀ (33.5 και 41.8 µg/ml αντίστοιχα) και άρα είναι τα πιο δραστικά ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, σε αντίθεση με το αιθέριο έλαιο (EO) και το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα (DCM) με τιμές 109 και 103 µg/ml αντίστοιχα.

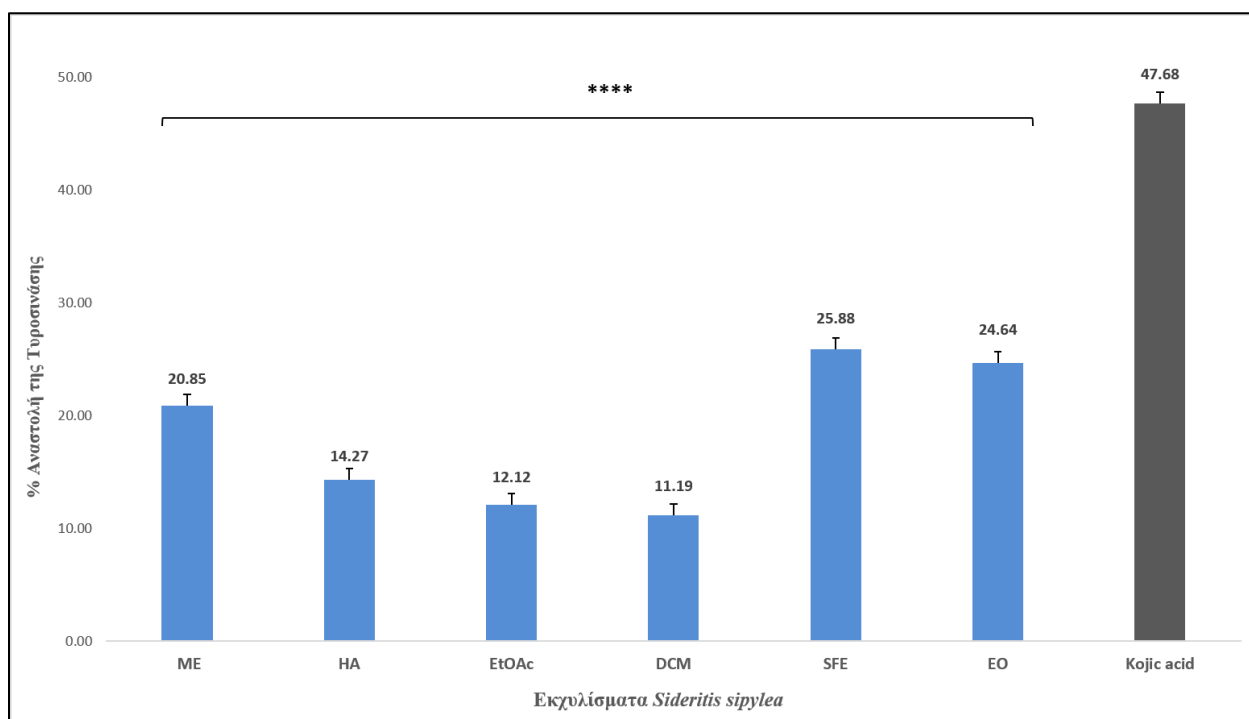


Εικόνα 4.13. Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω δέσμευσης της ρίζας ABTS^{•+}. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος (mean) 3 επαναλύσεων ± SD (n ≥ 3). Θετικός μάρτυρας είναι το Trolox (IC₅₀ = 3.95 µg/mL). Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με one-way ANOVA και Tukey's test για την σύγκριση των εκχυλισμάτων με τον θετικό μάρτυρα. Σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών IC₅₀ των εκχυλισμάτων παρουσιάζεται με τα διαφορετικά γράμματα (a-c) *p* < 0.05.

Συνολικά η αντιοξειδωτική ικανότητα έχει την ακόλουθη σειρά: **EO < DCM < SFE < EtOAc < HA < ME**. Τα αποτελέσματα έρχονται να συμπληρώσουν τις μετρήσεις με τις προηγούμενες μεθόδους και να επιβεβαιώσουν τα εκχυλίσματα με ικανοποιητική αντιοξειδωτική δράση.

4.7.3. Αναστολή της δράσης της Τυροσινάσης και της Ελαστάσης

Η ανασταλτική δράση στην τυροσινάση των δύο πιο πολικών εκχυλισμάτων ME και HA, των μη πολικών εκχυλισμάτων DCM και SFE, καθώς και του ΕΟ του *S. sipylea* ερευνήθηκε σε πέντε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Η τυροσινάση είναι ένα βασικό ρυθμιστικό ένζυμο που καταλύει τη σύνθεση μελανίνης μέσα στα μελανοκύτταρα. Ως εκ τούτου, οι αναστολείς τυροσινάσης έχουν γίνει όλο και πιο σημαντικοί στα καλλυντικά και τα φαρμακευτικά προϊόντα ως λευκαντικοί παράγοντες (Hwang, 2007). Μέχρι στιγμής, ωστόσο, δεν υπήρξαν αναφορές που να παρέχουν αξιολόγηση της ανασταλτικής δράσης της τυροσινάσης των διαφορετικών εκχυλισμάτων πολικότητας από τα υπέργεια τμήματα του *S. sipylea*. Τα αποτελέσματα για την ανασταλτική δραστηριότητα της τυροσινάσης παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 4.14)



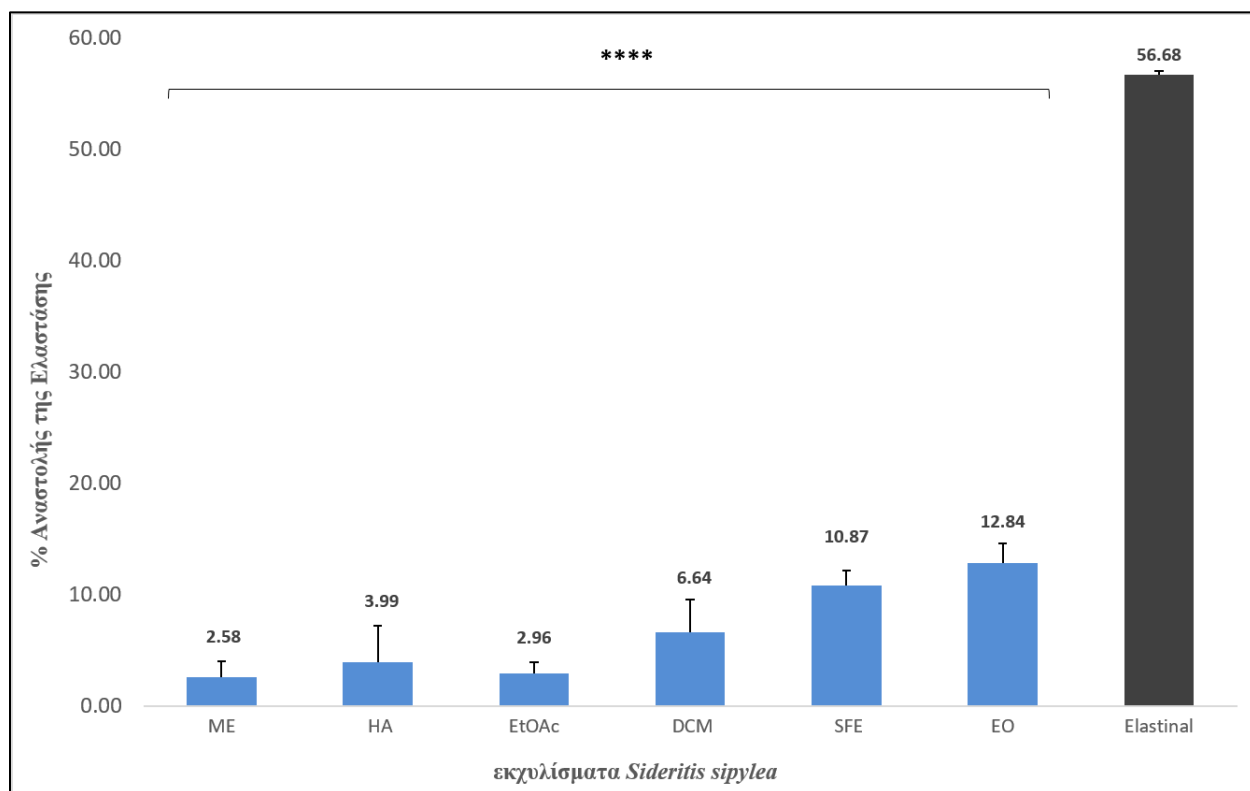
Εικόνα 4.14. Αναστολή της δράσης της τυροσινάσης (% αναστολής) στα διαφορετικά εκχυλίσματα του *Sideritis sipylea* (ME = μεθανολικό; HA = υδατοαιθανολικό; EtOAc = οξικός αιθυλεστέρας; DCM= διχλωρομεθάνιο; SFE= εκχύλισμα με υπερκρίσιμο CO₂ και ε/ο = αιθέριο έλαιο) σε συγκέντρωση 150 µg/mL. Σαν θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το kojic acid (150 µg/mL). Οι τιμές είναι ο μέσος όρος (mean) 3 επαναλύσεων (± standard error). Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με one-way ANOVA, και Dunnett's test για την σύγκριση των εκχυλισμάτων με τον θετικό μάρτυρα, με $p < 0.0001$ (****).

Η ανασταλτική δράση της τυροσινάσης ενισχύθηκε με αυξανόμενη συγκέντρωση. Τα εκχυλίσματα που εξετάστηκαν δείχνουν μέγιστη αναστολή ~ 26% σε συγκέντρωση 150 µg/mL, ενώ το ελάχιστο ποσοστό αναστολής παρουσιάζεται από το εκχύλισμα DCM με τιμή ~ 11% (Εικόνα 4.14). Προηγουμένως είχε

αναφερθεί ότι τα εκχυλίσματα ακετόνης και μεθανόλης του *S. stricta* παρουσίασαν $15,66 \pm 0,11\%$ και $23,29 \pm 0,56\%$ αναστολή της τυροσινάσης, αντίστοιχα, στα 200 $\mu\text{g/mL}$ (Deveci, 2018). Με την εξέταση χαμηλότερης συγκέντρωσης (150 $\mu\text{g/mL}$), όλα τα εκχυλίσματα των HA, SFE και EO παρουσίασαν πολλά υποσχόμενη αναστολή της τυροσινάσης.

Προηγουμένως, αρκετές ενώσεις που απομονώθηκαν από το *S. perfoliata*, συμπεριλαμβανομένου του acteoside (verbascoside), του caffeic acid, της leucoseptoside A και της martinosite, έδειξαν δραστηριότητα στην αναστολή της τυροσινάσης (Iwai, 2004; Son, 2011; Tundis, 2015).

Τα αντίστοιχα αποτελέσματα για την ανασταλτική δράση της ελαστάσης των εκχυλισμάτων *S. sipylea* φαίνονται στην **Εικόνα 4.15**.



Εικόνα 4.15. Αναστολή της δράσης της ελαστάσης (% αναστολής) στα διαφορετικά εκχυλίσματα του *Sideritis sipylea*. Σαν θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε η Ελαστατινάλη (0.5 $\mu\text{g/mL}$). Οι τιμές είναι ο μέσος όρος (mean) 3 επαναλύσεων ($\pm$ standard error). Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με one-way ANOVA, και Dunnett's test για την σύγκριση των εκχυλισμάτων με τον θετικό μάρτυρα, με $p < 0.0001$ (****).

Η ελαστίνη είναι μια εξαιρετικά ελαστική πρωτεΐνη που βρίσκεται στους συνδετικούς ιστούς και έχει θεμελιώδη ρόλο στη διαμόρφωση του ιστού. Οι παρενέργειες όπως η έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία και η οξειδωτική βλάβη ρυθμίζουν την έκφραση της ελαστάσης, μιας πρωτεάσης σερίνης, η οποία υδρολύει

τη δερματική ελαστίνη. Αυτό μειώνει την ελαστικότητα του δέρματος και αυτό το αποτέλεσμα μπορεί να σχετίζεται με τη γήρανση του δέρματος. Οι αναστολείς της ελαστάσης μπορεί να έχουν αντιγηραντική δράση και η τοπική εφαρμογή τους στην επιφάνεια του ανθρώπινου δέρματος μπορεί να έχει ευεργετικά αποτελέσματα, ειδικά σε περίπτωση αυξημένης ξηρότητας ([Thring, 2009](#)).

Διερευνώντας τη δράση κατά της ελαστάσης των εκχυλίσμάτων *S. sipylea*, και τα τρία μη πολικά εκχυλίσματα (DCM, SFE και EO) έδειξαν ανασταλτικό αποτέλεσμα στην ελαστάση (6.64% ,10.87% και 12.84%, αντίστοιχα) στα 0.5 μg/ml, ενώ τα πολικά εκχυλίσματα ME και HA έδειξαν ασήμαντη επίδραση (**Εικόνα 4.15**). Όσον αφορά το EO, σε συγκέντρωση 0.5 μg/mL, έδειξε την υψηλότερη ανασταλτική επίδραση στην ελαστάση (12.84%).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ανάλυσης με GC-MS, το EO του *S. sipylea* χαρακτηρίζεται από την παρουσία οξυγονωμένων ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων των οξυγονωμένων σεσκιτερπενίων και των διτερπενίων. Τέτοιες ενώσεις έχουν δείξει μια μέτρια δράση αναστολής στο ένζυμο ελαστάσης που εξηγείται από την άμεση σύνδεσή τους με το ένζυμο ([Kacem, 2006](#)). Ακόμα κι αν έχει αναφερθεί προηγουμένως ανασταλτική δραστηριότητα ελαστάσης για το εκχύλισμα EtOH του *S. perfoliata* ([Lall, 2019](#)), δεν έχει αναφερθεί παρεμπόδιση ελαστάσης προηγουμένως για τον *S. sipylea*.

Τα αποτελέσματα υποδηλώνουν επίσης ότι η αναστολή τυροσινάσης συσχετίζεται θετικά με τη δραστηριότητα έναντι TPC και DPPH, και την παρουσία φλαβονοειδών που υπάρχουν στο *S. sipylea*. Επιπλέον, συσχετισμός μεταξύ της μείωσης της πολικότητας του εκχυλίσματος και της % αναστολής της ελαστάσης, παρατηρήθηκε στα 500 μg/mL. Το EO στην ίδια συγκέντρωση παρουσίασε την υψηλότερη τιμή (%) της αναστολής της ελαστάσης (20.28%). Μείωση της δραστηριότητας της ελαστάσης έως και 70% έχει παρατηρηθεί για τα αιθέρια έλαια που έχουν eugenol, cinnamaldehyde και geraniol ([Aumeeruddy-Elalfi, 2018](#)). Από τα δεδομένα που ελήφθησαν σε αυτή τη μελέτη, και σε σύγκριση, με αυτά που αναφέρονται στη βιβλιογραφία ([Aligiannis, 2001](#)), μπορεί κανείς να υποστηρίξει ότι οι δραστηριότητες που παρατηρήθηκαν για το EO του *S. sipylea* δεν οφείλονται μόνο στα κύρια συστατικά του, αλλά μπορεί επίσης να οφείλονται σε συνεργιστικές επιδράσεις με άλλα δευτερεύοντα συστατικά. Επομένως, μπορεί να υποστηριχθεί ότι το EO του *S. sipylea* είναι ένας δυναμικός αναστολέας των πρωτεολυτικών ενζύμων και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε δερμοκαλλυντικά σκευάσματα. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για τη σταθερότητα του στα υδατικά διαλύματα και μελέτη της τοξικότητάς του.

4.7.4. Μελέτη της προστασίας νευρικών κυττάρων μετά από τοξικότητα εκ διεγέρσεως (διεγερσιμοτοξικότητα) από γλουταμινικό οξύ.

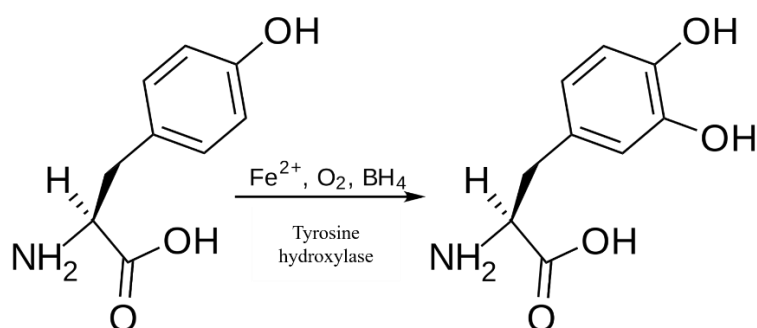
Τα εκχυλίσματα δοκιμάστηκαν σε μία πρωτογενή καλλιέργεια νευρώνων του εγκεφαλικού φλοιού από έμβρυα αρουραίων τύπου Wistar μετά από κύηση 15 ημερών. Χρησιμοποιήθηκαν πρωτογενείς καλλιέργειες νευρώνων του μεσεγκέφαλου καθώς όπως έχει ήδη παρατηρηθεί αυτές οι καλλιέργειες αποτελούνται από 70% νευρώνες (κυρίως GABAergic) εκ των οποίων το 8% είναι ντοπαμινεργικοί νευρώνες ([Visanji, 2008](#)).

Αυτό το χαμηλό ποσοστό νευρώνων ρυθμίζει σημαντικές λειτουργίες όπως ο κινητικός έλεγχος, τα κίνητρα και την μνήμη εργασίας. Οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες της μελαινораβδωτής οδού (nigrostriatal area), εκφυλίζονται επιλεκτικά στη νόσο του Πάρκινσον (PD). Αυτή η προοδευτική απώλεια των νευρώνων συνδέεται αναμφίβολα με τα κινητικά συμπτώματα της παθολογίας (βραδυκίνησια, τρόμος και μυϊκή ακαμψία). Ο κύριος παράγοντας που ευθύνεται για τον εκφυλισμό του ντοπαμινεργικού νευρώνα είναι ακόμα άγνωστος. Ωστόσο, αυτοί οι νευρώνες φαίνεται να είναι εξαιρετικά ευάλωτοι σε διαφορετικές συνθήκες. Οι πρωτογενείς καλλιέργειες αποτελούν ένα από τα πιο κατάλληλα *in-vitro* μοντέλα για τη διερεύνηση των ιδιοτήτων και χαρακτηριστικά των ντοπαμινεργικών νευρώνων. Αυτές οι καλλιέργειες μπορούν να υποβληθούν σε διάφορους παράγοντες στρες που μιμούνται την παθολογία νευροεκφυλιστικών νόσων και σε νευροπροστατευτικές ενώσεις προκειμένου να σταματήσει ή να επιβραδυνθεί ο εκφυλισμός των νευρώνων.

Οι νευρώνες τέθηκαν σε καλλιέργεια με 25.000 κύτταρα/κελί και μετά από 13 ημέρες τα κύτταρα προ-επώστηκαν με τα φυτικά εκχυλίσματα και το γλουταμινικό οξύ στις συνθήκες που περιγράφηκαν στην προηγούμενη ενότητα. Στόχος του γλουταμινικού οξέος είναι να δημιουργήσει στρεσογόνες συνθήκες, το λεγόμενο «γλουταμινεργικό στρες», το οποίο είναι χαρακτηριστικό που εμφανίζεται σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες ([Blandini, 1996](#)). Συνοπτικά το γλουταμινικό οξύ διαδραματίζει έναν κεντρικό ρόλο στο «κύκλωμα» των φυσιολογικών γαγγλίων. Σε νευροεκφυλιστικές νόσους όπως το Πάρκινσον σε συνέχεια της ντοπαμινεργικής εξάντλησης, οι γλουταμινεργικές προεξοχές από τον υποθαλαμικό πυρήνα στους πυρήνες εξόδου των βασικών γαγγλίων γίνονται υπερδραστικές και υπάρχουν παράλληλα ρυθμιστικές αλλαγές στους υποδοχείς γλουταμινικού οξέος σε αυτές τις περιοχές ([Blandini, 1996](#)).

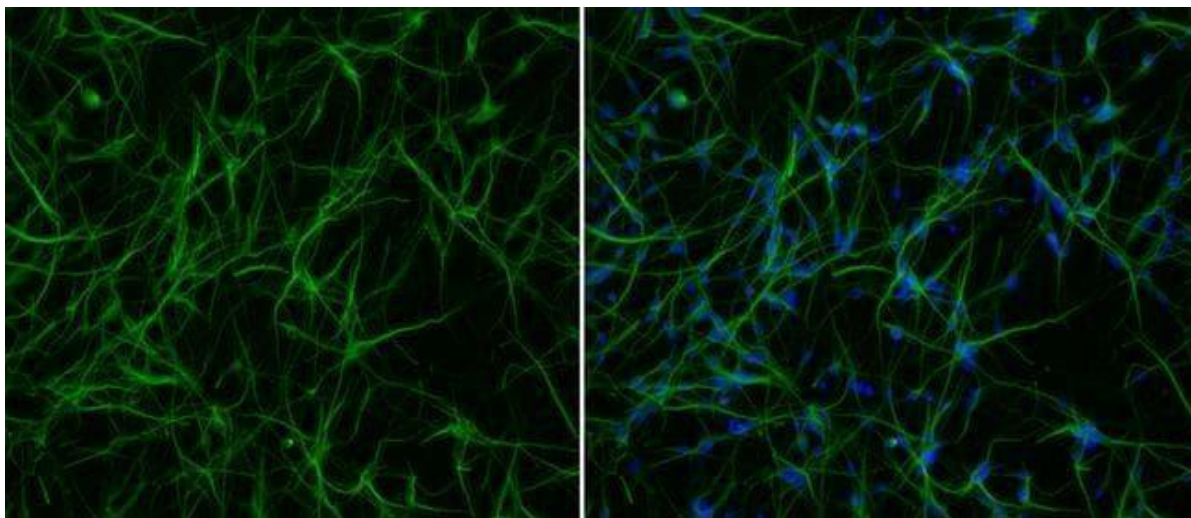
Επίσης αναφερόμενοι στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες, απελευθερώνουν ντοπαμίνη, έναν κατεχολαμινεργικό νευροδιαβιβαστή. Η υδροξυλάση της τυροσίνης (TH) παίζει ένα πολύ σημαντικό ρόλο στην σύνθεση των κατεχολαμινών και βρίσκεται σε όλο το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) των θηλαστικών, συμπεριλαμβανομένου του κοιλιακού μεσεγκέφαλου (VM) από τους οποίους έγινε η

καλλιέργεια των νευρώνων ([Lindvall, 1983](#)). Πιο αναλυτικά η υδροξυλάση της τυροσίνης καταλύει την αντίδραση κατά την οποία η L-τυροσίνη υδροξυλιώνεται στη μετα-θέση για να ληφθεί L-3,4-διυδροξυφαινυλαλανίνη (L-DOPA) (**Εικόνα 4.16**). Το ένζυμο είναι μια οξυγενάση που σημαίνει ότι χρησιμοποιεί μοριακό οξυγόνο για να υδροξυλιώσει τα υποστρώματά του. Ένα από τα άτομα οξυγόνου στο O_2 χρησιμοποιείται για την υδροξυλίωση του μορίου τυροσίνης για τη λήψη L-DOPA και το άλλο χρησιμοποιείται για την υδροξυλίωση του συμπαράγοντα. Όπως και οι άλλες αρωματικές υδροξυλάσες αμινοξέων (AAHs), η υδροξυλάση της τυροσίνης χρησιμοποιεί τον συμπαράγοντα τετραϋδροβιοπτερίνη (BH₄) υπό κανονικές συνθήκες, αν και άλλα παρόμοια μόρια μπορεί επίσης να λειτουργήσουν ως συμπαράγοντες για την υδροξυλάση της τυροσίνης ([Haavik, 1998](#)).



Εικόνα 4.16. Κατάλυση της τυροσίνης σε L-DOPA από την τυροσίνη υδροξυλάση

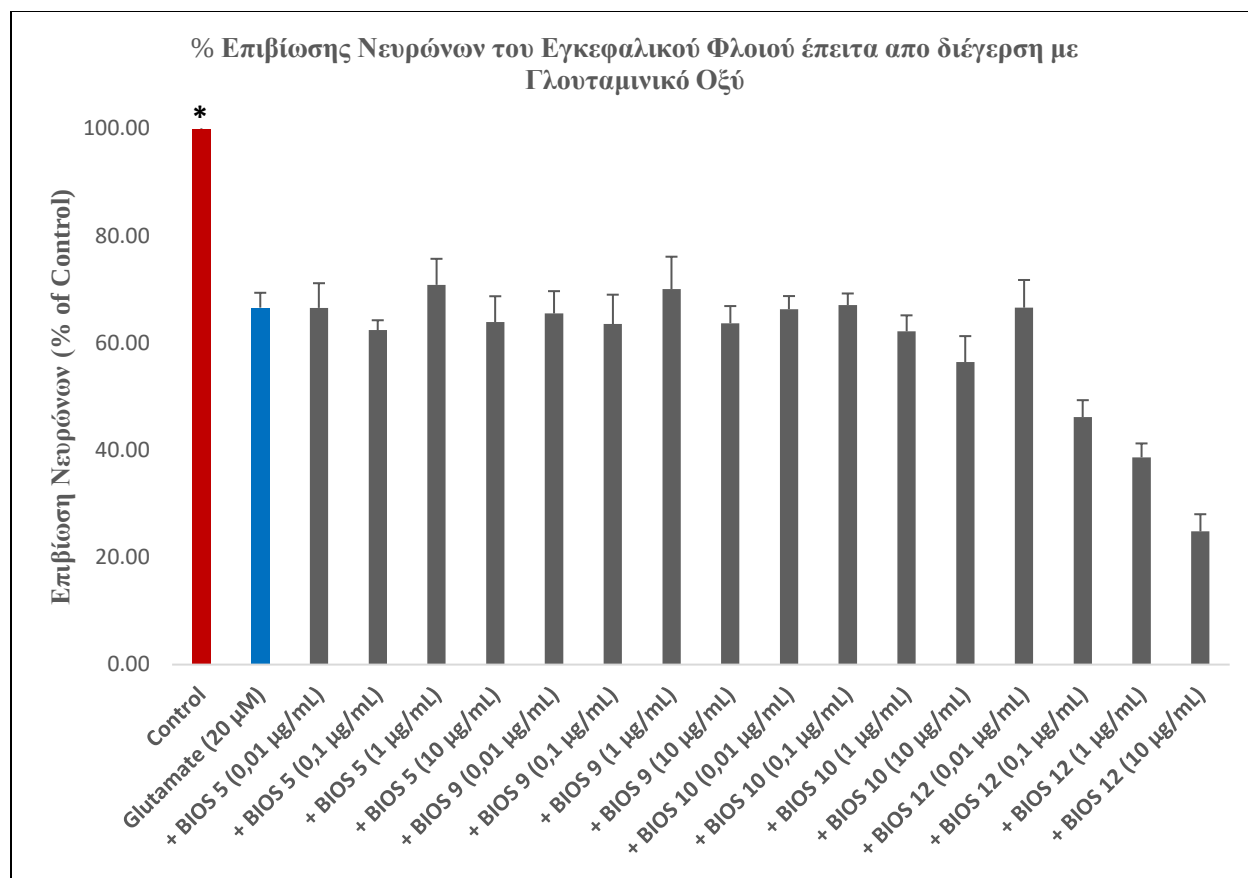
Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι η υδροξυλάση της τυροσίνης είναι δείκτης για ντοπαμινεργικούς νευρώνες. Επομένως η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων που αναγνωρίζουν αυτά τα ένζυμα αποτέλεσε επιλογή-στόχο για την τεχνική ανοσοφθορίωσης για τους νευρώνες ([Wulle, 1989](#)). Για το συγκεκριμένο μονοκλωνικό αντίσωμα χρησιμοποιήθηκε ένα δευτερογενές αντίσωμα anti-MAP2 antibody Alexa GAM 488 που δίνει πράσινο φθορισμό. Επίσης με την βοήθεια της συνεστιακής μικροσκοπίας τα νεκρά κυτταρικά σώματα (νευρόνες) κατακερματίστηκαν και άρα δεν εμφανίζεται ο πυρήνας (που φθορίζει μπλε με Hoechst) και άρα εξαφανίστηκαν από την καλλιέργεια (**Εικόνα 4.17**).



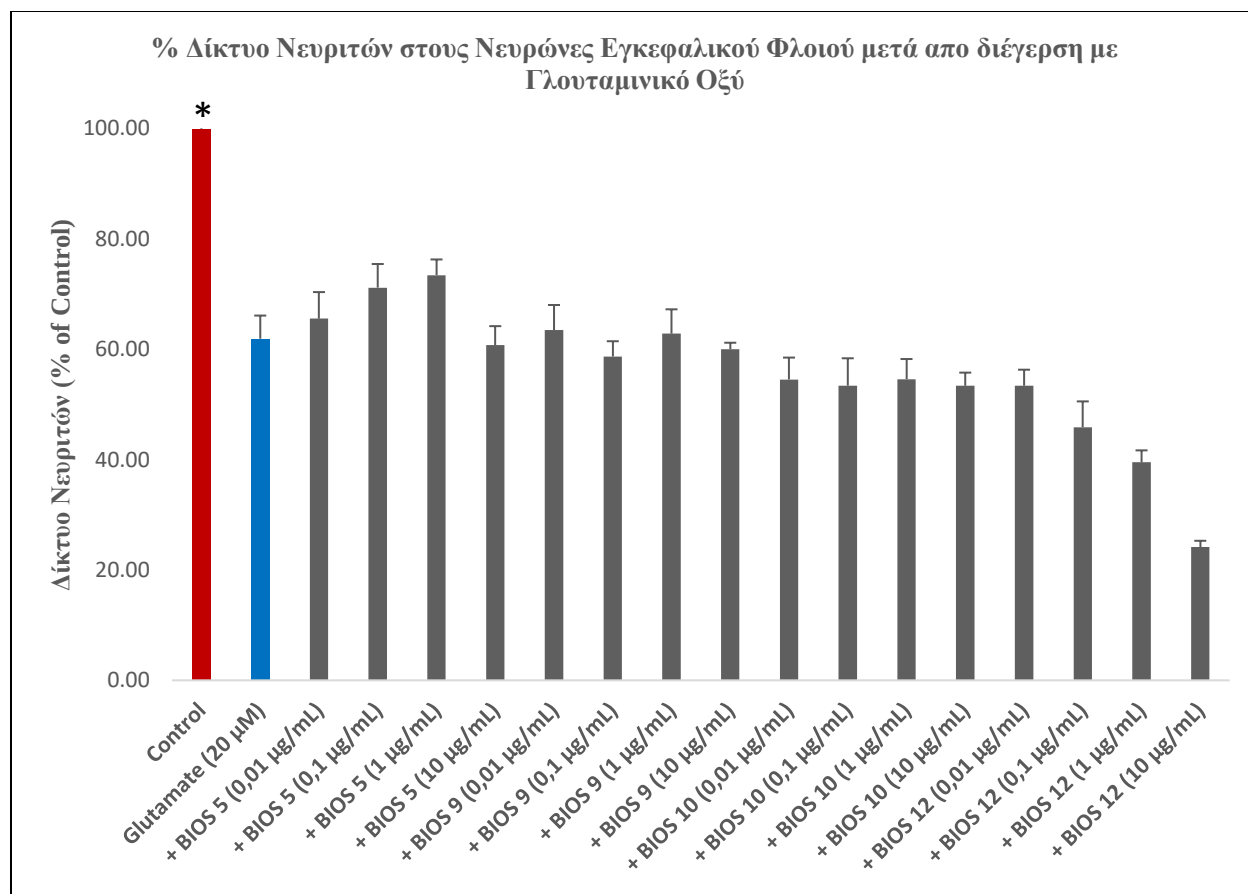
Εικόνα 4.17. Ανοσοφθορίωση ντοπαμινεργικών νευρώνων με πρωτογενές αντίσωμα για TH και δευτερογενές αντίσωμα anti-MAP2 antibody Alexa GAM 488 (πράσινο). Σε μπλε είναι οι πυρήνες με Hoechst.

Με βάση τις πειραματικές συνθήκες που αναλύθηκαν στην προηγούμενη ενότητα, παρελήφθησαν εικόνες που ανταποκρίνονται στο προφίλ της Εικόνας 4.17 με το σύστημα ομοεστιακής μικροσκοπίας ImageXpress σε μεγέθυνση 10X. Μετά την αυτόματη σάρωση 20 επιλεγμένων πεδίων για κάθε κελί ντοπαμινεργικών νευρώνων και την βοήθεια αλγορίθμων του λογισμικού MetaXpress πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός του αριθμού νευρικών κυττάρων που εκφράζουν TH. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως % επιβίωσης και % νέου δικτύου νευριτών στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες.

Στο εκχύλισμα **BioS_5** ([Πίνακας 4.5](#)), το οποίο είναι το ολικό υδατικό αιθανολικό εκχύλισμα του *S.sipylea* με την παρουσία σακχάρων (χωρίς XAD), σε συγκέντρωση 1ug/ml, αυξήθηκε το δίκτυο των νευριτών μετά από «τραυματισμό», αλλά δεν είχε σημαντική επίδραση στην συνολική επιβίωση των νευρώνων (**Εικόνα 4.18** και **Εικόνα 4.19**).



Εικόνα 4.18. % Επιβίωσης νευρώνων του εγκεφαλικού φλοιού με εκχυλίσματα *Sideritis sipylea*, έπειτα από διέγερση με γλουταμινικό οξύ (20μM) για 20min. Τα εκχυλίσματα που δοκιμάστηκαν ήταν BioS_5 (HA preXAD); BioS_9 (HA postXAD); BioS_10 (SFE) και BioS_12 (DCM extract) σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις (0.01; 0.1; 1 και 10mg/mL). Control (θεραπευτικό υλικό + κύτταρα). Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με one-way ANOVA, και Fischer's LSD test για την σύγκριση των εκχυλισμάτων με τον θετικό μάρτυρα, με $p < 0.05$ (*).



Εικόνα 4.19. % Δίκτυο νευριτών στους νευρώνες του εγκεφαλικού φλοιού με εκχυλίσματα *Sideritis sipylea*, έπειτα από διέγερση με γλουταμινικό οξύ (20μM) για 20min. Τα εκχυλίσματα που δοκιμάστηκαν ήταν BioS_5 (HA preXAD); BioS_9 (HA postXAD); BioS_10 (SFE) και BioS_12 (DCM extract) σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις (0.01; 0.1; 1 και 10mg/mL). Control (θρεπτικό υλικό + κύτταρα). Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με one-way ANOVA, και Fischer's LSD test για την σύγκριση των εκχυλισμάτων με τον θετικό μάρτυρα, με $p < 0.05$ (*)

Στα υπόλοιπα εκχυλίσματα δεν παρουσιάστηκαν σημαντικά αποτελέσματα που να αναδεικνύουν «προστατευτική δράση» ακόμα και αν δεν παρουσιάστηκε νευροεκφυλισμός (νευροτοξικότητα).

Αντίθετα το εκχύλισμα με κωδικό **BioS_12 (ολικό εκχύλισμα DCM)**, επιδείνωσε την τοξικότητα του γλουταμινικού (ισχυρός νευροεκφυλισμός) σε δόσεις που κυμαίνονται από 0.1μg/mL – 10μg/mL. Σε αντίθεση με το εκχύλισμα SFE (BioS_10) από το οποίο γίνεται παραλαβή των άπολων μεταβολιτών του φυτού. Περισσότερη μελέτη απαιτείται για να γίνει αντιληπτό αν αυτή η ισχυρή τοξικότητα στο ολικό εκχύλισμα DCM οφείλεται στον διαλύτη και όχι στην παρουσία συγκεκριμένων μεταβολιτών.

Οι τιμές των % προστασίας επιβίωσης των νευρώνων του εγκεφαλικού φλοιού όπως επίσης και το % αναγέννησης του δικτύου νευριτών παρουσιάζονται αναλυτικά στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 4.6. Αναλυτικός πίνακας στον οποίο αναγράφεται το % επιβίωσης των νευρώνων του εγκεφαλικού φλοιού και το % αναγέννησης νευριτών έπειτα από την δράση ολικών εκχυλισμάτων *Sideritis sipylea* σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

		Συνθήκη	Δόση	% Επιβίωσης	% Δίκτυο Νευριτών
Φυτό	Εκχύλιση	Glutamate	20 μ M	65.78%	58.22%
<i>Sideritis sipylea</i>	HA χωρίς XAD	+BioS_5	0.01 μ g/mL	66.57%	65.56%
			0.1 μ g/mL	62.41%	71.19%
			1 μ g/mL	70.86%	73.45%
			10 μ g/mL	63.93%	60.76%
	HA με XAD	+BioS_9	0.01 μ g/mL	65.52%	63.50%
			0.1 μ g/mL	63.55%	58.71%
			1 μ g/mL	70.06%	62.84%
			10 μ g/mL	63.68%	60.01%
	SFE	+BioS_10	0.01 μ g/mL	66.30%	54.54%
			0.1 μ g/mL	67.10%	53.42%
			1 μ g/mL	62.18%	54.60%
			10 μ g/mL	56.46%	53.40%
	DCM	+BioS_12	0.01 μ g/mL	66.60%	53.41%
			0.1 μ g/mL	46.20%	45.88%
			1 μ g/mL	38.66%	39.53%
			10 μ g/mL	24.85%	24.17%

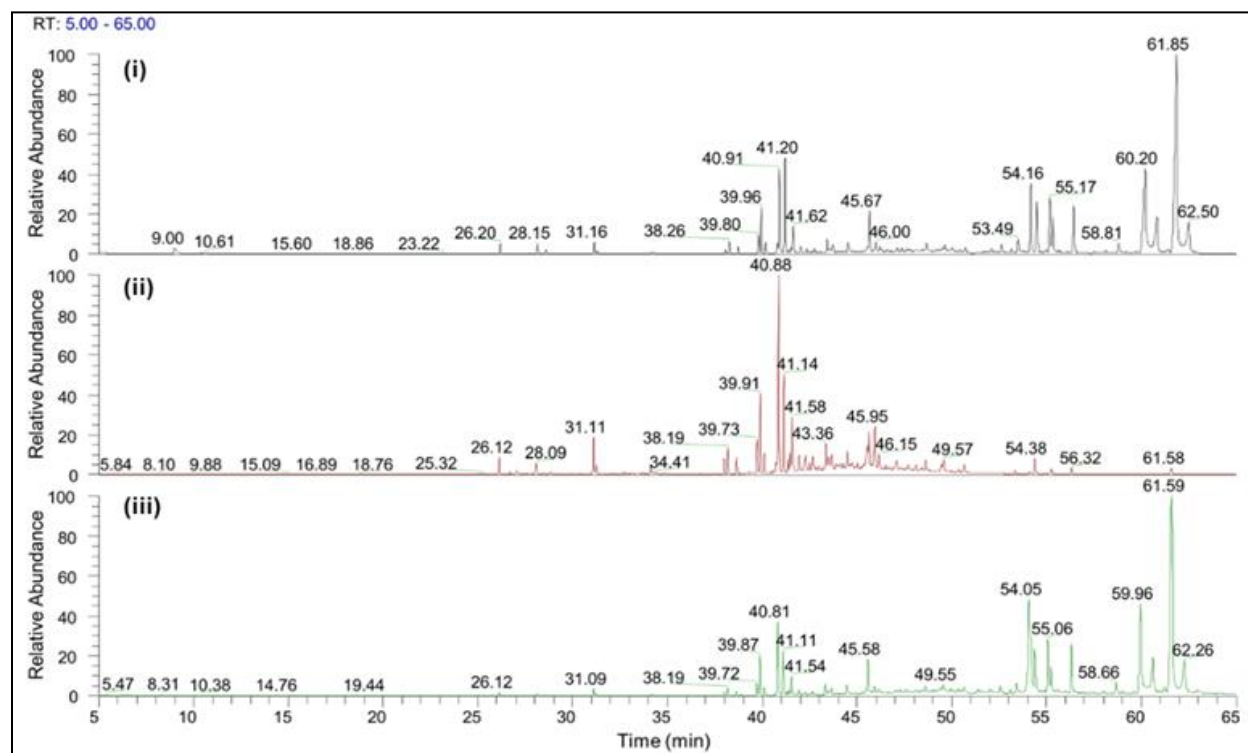
Τα πειραματικά αποτελέσματα αναδεικνύουν την ικανότητα των ολικών υδατοαιθανολικών εκχυλισμάτων του *Sideritis sipylea* να αυξάνουν το συνολικό μήκος του δικτύου των νευριτών μετά από γλουταμινεργικό στρες, το οποίο θα μπορούσε να αποδοθεί στην αναγεννητική επίδραση των εκχυλισμάτων στους τραυματισμένους νευρώνες. Παράλληλα παρατηρείται και αύξηση στο ποσοστό επιβίωσης των κυττάρων κάτι που αποδεικνύει ότι τα εκχυλίσματα του φυτού μπορούν να έχουν μία επιπλέον βιολογική δράση στο

ΚΝΣ και ειδικά σε νευροεκφυλιστικές νόσους. Το ενδιαφέρον παρατηρείται επίσης στο γεγονός ότι η δράση εμφανίζεται στα ολικά εκχυλίσματα με την παρουσία σακχάρων (χωρίς XAD) κάτι το οποίο δεν παρατηρείται στα ίδια εκχυλίσματα τα οποία έχουν εμπλουτιστεί με ρητίνες XAD.

4.8. Μελέτη της Χημικής Σύστασης του *Sideritis sipylea* Boiss

4.8.1. Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα, αιθέριο έλαιο και εκχύλισμα SFE

Η χημική σύσταση του εκχυλίσματος DCM με υπερήχους, του αιθερίου ελαίου καθώς επίσης και από το SFE, μελετήθηκε με αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με μάζα (GC-MS). Στην **Εικόνα 4.20**, παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα των τριών αυτών διαφορετικών εκχυλισμάτων.



Εικόνα 4.20. Χρωματογραφήματα των ολικών εκχυλισμάτων με διχλωρομεθάνιο (DCM) (i), του αιθερίου ελαίου (ii) και του εκχυλίσματος με υπερκρίσιμα ρευστά (SFE)(iii)

Επίσης στον **Πίνακα 4.7** εμφανίζονται οι βασικοί δευτερογενείς μεταβολίτες οι οποίοι ταυτοποιήθηκαν.

Πίνακας 4.7. Δευτερογενείς μεταβολίτες που ταυτοποιήθηκαν έπειτα από αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με μάζα (GC-MS) από το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα (DCM), το αιθέριο έλαιο (EO) καθώς επίσης και του εκχυλίσματος με υπερκρίσιμα ρευστά (SFE).

N.	RI ^a	Δευτερογενής Μεταβολίτης	% Peak area		
			DCM	EO	SFE
1	965	α -Pinene	0.95	-	-
2	988	Sabinene	0.10	-	-
3	991	β -Pinene	0.37	-	-
4	1082	cis-Sabinene hydrate	0.03	-	-
5	1107	Linalool	-	0.03	-
6	1123	trans-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	0.05	-	-

7	1141	α -Campholenal	0.02	-	-
8	1154	<i>trans</i> -Pinocarveol	0.02	0.04	-
9	1158	<i>cis</i> -Verbenol	0.04	0.06	-
10	1185	Borneol	0.02	0.04	-
11	1191	Terpinen-4-ol	-	0.07	-
12	1208	Myrtenol	0.03	0.11	-
13	1289	Bornyl acetate	0.02	0.03	-
14	1333	δ -Elemene	0.03	0.03	-
15	1340	α -Terpinyl acetate	-	0.03	-
16	1374	α -Copaene	0.01	0.03	-
17	1381	(<i>E</i>)- β -Damascenone	-	0.07	-
18	1386	β -Elemene	0.03	0.10	-
19	1417	β -Caryophyllene	0.57	1.32	0.20
20	1435	(<i>Z</i>)- β -Farnesene	0.04	0.17	-
21	1445	(<i>E</i>)- β -Farnesene	0.08	0.54	-
22	1453	α -Humulene	0.02	0.08	0.04
23	1461	α -Acoradiene	0.03	0.08	-
24	1465	9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-Caryophyllene	0.04	0.11	0.02
25	1475	<i>ar</i> -Curcumene	-	0.19	-
26	1477	Germacrene D	0.58	0.97	0.16
27	1487	α -Zingiberene	-	0.12	-
28	1490	Bicyclogermacrene	0.21	0.11	0.07
29	1499	β -Bisabolene	-	0.11	-
30	1500	β -Curcumene	0.04	0.22	-
31	1511	δ -Cadinene	-	0.06	-
32	1531	(<i>E</i>)- γ -Bisabolene	-	0.05	-
33	1536	<i>cis</i> -Sesquisabinene hydrate	0.07	0.08	0.05
34	1575	Spathulenol	0.66	3.02	0.41
35	1579	Caryophyllene oxide	0.17	0.73	0.14
36	1606	Humulene epoxide II	-	0.07	0.02
37	1630	Isospathulenol	0.04	0.19	-
38	1636	α -Acorenol	0.02	0.07	-
39	1641	β -Acorenol	0.03	0.02	-
40	1645	<i>allo</i> -Aromadendrene epoxide	-	0.16	-
41	1667	<i>epi</i> - β -Bisabolol	-	0.17	-
42	1680	α -Bisabolol	0.17	0.94	-
43	1691	Amorpha-4,9-dien-2-ol	0.03	0.12	-
44	1705	(2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i>)-Farnesal	-	0.18	-
45	1726	(<i>E</i>)-Sesquilavandulyl acetate	0.03	-	0.02
46	1825	Cyclopentadecanolide	0.04	0.06	0.07
47	1835	Hexahydrofarnesyl acetone	0.26	1.16	0.20
48	1843	(<i>Z</i>)-Lanceol acetate	0.68	1.99	0.46
49	1905	Isopimara-9(11),15-diene	0.97	2.52	0.70
50	1914	Totarene	2.37	6.22	2.18
51	1923	Beyerene	0.56	1.66	0.40
52	1949	Geranyl- α -terpinene	0.46	0.62	0.11
53	1954	Geranyl- <i>p</i> -cymene	4.46	17.49	4.66
54	1967	(<i>Z,Z</i>)-Geranyl linalool	5.20	8.06	2.76

55	1976	Dolabradiene	0.15	0.75	0.22
56	1981	Sclarene	0.30	1.30	0.26
57	1987	(E,Z)-Geranyl linalool	1.56	4.87	1.31
58	2003	(Z,E)-Geranyl linalool	0.47	1.43	0.32
59	2015	13- <i>epi</i> -Dolabradiene	0.28	1.88	0.21
60	2028	13- <i>epi</i> -Manool oxide	-	0.66	0.09
61	2033	(E,E)-Geranyl linalool	0.34	1.60	0.28
62	2059	Manool	0.72	2.17	0.63
63	2071	13- <i>epi</i> -Manool	0.52	1.67	0.46
64	2105	Phytol	0.58	1.46	0.53
65	2158	Abienol	2.42	1.68	2.18
66	2173	Abieta-8(14),13(15)-diene	0.72	5.71	0.62
67	2185	Sandaracopimarinal	0.50	1.73	0.51
68	2238	Sclareol	0.19	0.24	0.19
69	2259	7- α -hydroxy-Manool	0.18	0.54	0.21
70	2301	3- α -hydroxy-Manool	0.61	0.76	0.36
71	2343	Isopimarol	0.29	0.69	0.21
72	2580	Sideridiol	4.77	0.22	5.92
73	2584	<i>n</i> -Hexacosane	-	-	8.87
74	2596	7-Epicandicandiol	3.53	1.48	3.89
75	2639	Siderol	2.43	0.54	1.88
76	2694	<i>n</i> -Heptacosane	3.63	0.63	3.91
77	2802	<i>n</i> -Octacosane	0.97	0.06	1.09
78	2929	<i>n</i> -Nonacosane	29.38	0.95	30.17
79	2958	Sidol	5.34	-	4.50
<i>Hydrocarbon compounds</i>			47.35	44.08	53.89
<i>Oxygenated compounds</i>			32.08	39.24	27.60
<i>Monoterpene hydrocarbons</i>			1.42	-	-
<i>Oxygenated monoterpenes</i>			0.23	0.41	-
<i>Sesquiterpene hydrocarbons</i>			1.68	4.29	0.49
<i>Oxygenated sesquiterpenes</i>			2.20	8.96	1.37
<i>Diterpene hydrocarbons</i>			10.27	38.15	9.36
<i>Oxygenated diterpenes</i>			29.65	29.80	26.23
<i>Norisoprenoids</i>			-	0.07	-
<i>Alkanes</i>			33.98	1.64	44.04
Total identified (%)			79.43	83.32	81.49

^a RI (Retention indices). Δείκτες κατακράτησης που προσδιορίστηκαν σε σχέση με *n*-αλκάνια (C8-C29) σε μία πολική στήλη TR-5 ms. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέση τιμή $\pm$ τυπική απόκλιση (n = 2).

Συνολικά ταυτοποιήθηκαν **79** ενώσεις που αντιπροσωπεύουν το 79.43% (DCM), 83.32% (Αιθέριο έλαιο) και 81.49% (SFE) της συνολικής περιοχής της κορυφής. Οι υδρογονάνθρακες ήταν οι ενώσεις με την μεγαλύτερη αφθονία που ανιχνεύθηκαν και στα τρία άπολα εκχυλίσματα με αυτό του SFE να παρουσιάζει την μεγαλύτερη ποσότητα (53.89%). Αυτός ο τύπος εμπλουτισμού σε ενώσεις υδρογονανθράκων, όπως αλκάνια μακράς αλυσίδας, μπορεί να εξηγηθεί, ωστόσο, από το γεγονός ότι η υψηλότερη απόδοση εκχύλισης (1.65% w/w) παρατηρήθηκε στην περίπτωση του SFE. Όσο αφορά το δείγμα του αιθερίου

έλαιου, οι **σεσκιτερπενικοί υδρογονάνθρακες**, τα **οξυγονωμένα σεσκιτερπένια**, οι **διτερπενικοί υδρογονάνθρακες** και τα **οξυγονωμένα διτερπένια** ήταν τα κύρια συστατικά (4.29%; 8.96%; 38.15% και 29.80%) αντίστοιχα.

Οι **μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες**, όπως το **α -pinene**, **β -pinene**, **sabinene**, **verbenole** και **borneol**, ταυτοποιήθηκαν μόνο από στο εκχύλισμα DCM, αντιπροσωπεύοντας ένα μικρό ποσοστό (1.42%), σε αντίθεση με προηγούμενες αναφορές ([Gergis, 1989](#); [Aligiannis, 2001](#)). Τα δικυκλικά σεσκιτερπένια όπως το **β -caryophyllene** και το οξείδιο του καρυοφυλλενίου παρουσιάζονται και στα τρία διαφορετικά τύπου εκχυλίσματα και έχουν διερευνηθεί για πιθανή δράση ως **αναλγητικά** και **αντικαρκινικά** ([Fidyt, 2016](#)). Αυτά τα δύο δικυκλικά σεσκιτερπένια δρουν ως εκλεκτικοί αγωνιστές των υποδοχέων των κανναβινοειδών (CB).

Η παρουσία **spathulenol** μπορεί να εμπλέκεται και στην αναφερόμενη **αντιβακτηριακή** δράση του αιθερίου ελαίου ([Loğoğlu, 2006](#); [Axiotis, 2018](#)). Επιπλέον η **geranyl linalool** που υπάρχει και στα τρία διαφορετικά εκχυλίσματα είναι ένα κοινό αρωματικό συστατικό που χρησιμοποιείται στην κοσμητολογία ([Caballero, 2003](#)).

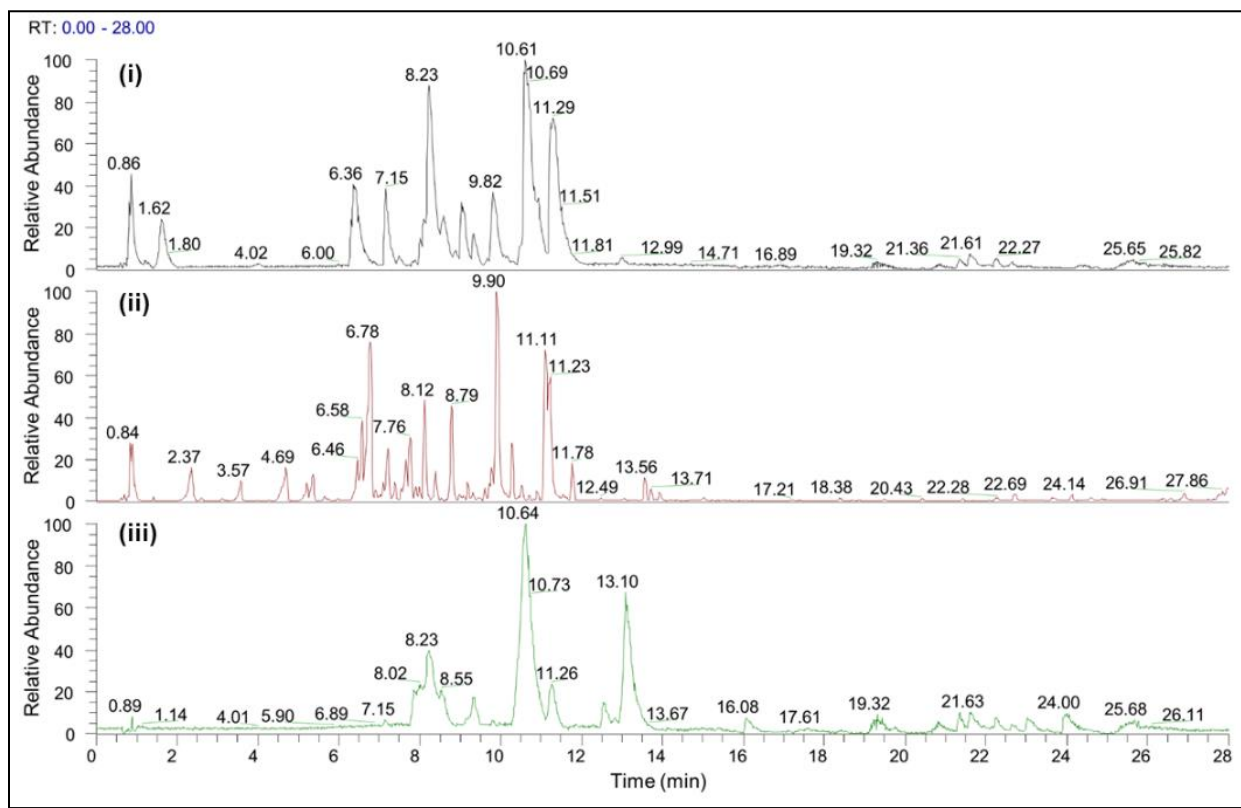
Τα **οξυγονωμένα διτερπένια** ήταν η πιο άφθονη ομάδα τερπενοειδών που ανιχνεύτηκαν στα μη πολικά εκχυλίσματα του *Sideritis sipylea*, ειδικά στο διχλωρομεθανικό εκχύλισμα και στο SFE. Είναι γνωστό ότι ο Μεσογειακός *Sideritis*, περιέχει τετρακυκλικά διτερπένια τύπου καουρενίου ([Stanoeva, 2015](#)). Siderol, sideridiol και 7-epicandicandiol ταυτοποιήθηκαν σε όλα τα μη πολικά εκχυλίσματα του *S. sipylea*.

Το προαναφερθέν εκχύλισμα χαρακτηρίζεται κυρίως από υδρογονάνθρακες μακράς αλυσίδας (44.04%) και οξυγονωμένα διτερπένια (26.32%). Αυτά τα δεδομένα αναφέρονται για πρώτη φορά.

Αξίζει να σημειωθεί ότι μέχρι στιγμής, σε όλες τις προηγούμενες ερευνητικές μελέτες πραγματοποιήθηκε η φυτοχημική ανάλυση του αιθερίου ελαίου αυτού του ενδημικού είδους ή η απομόνωση μεταβολιτών χρησιμοποιώντας εκχύλιση και συμβατικές χρωματογραφικές τεχνικές ([Villar, 1986](#); [Gergis, 1989](#); [Aligiannis, 2001](#); [Kilic, 2003](#)). Επιπλέον η χρήση της τεχνολογίας SFE έχει αναφερθεί μέχρι τώρα μόνο για τον *Sideritis scardica* ([Tadić, 2012](#)).

4.8.2. Υδατοαιθανολικό Εκχύλισμα, εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα και μεθανόλης

Η χημική σύνθεση των πολικών εκχυλισμάτων (HA, Me) καθώς επίσης και το μέσης πολικότητας εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα (EtOAc) του *Sideritis sipylea*, διερευνήθηκε με βάση την ανάλυση UPLC-ESI-HRMSn, ταξινομώνοντας τις ενώσεις σε διάφορες χημικές κατηγορίες. Τα χρωματογραφήματα UPLC-HRMS που λαμβάνονται με την ανάλυση των τριών εκχυλισμάτων με την χρήση αρνητικού ιοντισμού ESI(-), απεικονίζονται στην **Εικόνα 4.21**.



Εικόνα 4.21. Χρωματογραφήματα UPLC-HRMS των τριών διαφορετικών εκχυλισμάτων *Sideritis sipylea* (Υδατοαιθανολικού=HA; Μεθανολικού= Me και οξικού αιθυλεστέρα = EtOAc).

Οι κύριες ενώσεις που ανιχνεύτηκαν ήταν παράγωγα του υδροξυκινναμωμικού οξέος, φαινυλαιθανοειδείς γλυκοσίδες και φλαβονοειδή, συμπεριλαμβανομένων των 7-Ο-διγλυκοσιδών. Οι ενώσεις αυτές παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα στον οποίο αναφέρεται ο μεταβολίτης, ο προτεινόμενος μοριακός τύπος και η βιβλιογραφική αναφορά.

Πίνακας 4.8. Φαινολικά συστατικά που ταυτοποιήθηκαν με την μέθοδο UPLC-HRMS σε αρνητικό ιοντισμό από τρία διαφορετικά εκχυλίσματα *Sideritis sipylea* (ME= μεθανολικό; HA=υδατοαιθανολικό; EtOAc= οξικός αιθυλεστέρας).

	Μεταβολίτης	t_R (min)	$[M-H]^-$ m/z	Σφάλμα (ppm)	Προτεινόμενος Μοριακός Τύπος	HRMS ² $[M-H]^-$	<i>S. sipylea</i>			Βιβλιογραφικές Αναφορές
							ME	HA	EtOAc	
1	6-O-Caffeoyl-glucose	0.84	341.1095	1.57	C ₁₂ H ₂₁ O ₁₁	179*	+	+	-	-
2	Quinic acid	0.88	191.0568	3.71	C ₇ H ₁₁ O ₆	173, 127 , 85	+	+	-	-
3	Melittoside	2.37	523.1672	0.64	C ₂₁ H ₃₁ O ₁₅	478, 457, 287, 197	+	+	-	Koleva, 2003
4	Melittoside derivative	2.37	569.1726	0.51	C ₂₂ H ₃₃ O ₁₇	523 , 179	+	+	+	-
5	Unknown	3.57	375.1297	0.16	C ₁₆ H ₂₃ O ₁₀	213 , 169, 151	+	+	-	-
6	Chlorogenic acid	4.69	353.088	0.5	C ₁₆ H ₁₇ O ₉	191 , 179	+	+	-	Petreska, 2011
7	Unknown	5.36	435.1512	0.81	C ₁₈ H ₂₇ O ₁₂	389 , 287, 197	+	+	+	-
8	Feruloylquinic acid	6.03	367.1036	0.5	C ₁₇ H ₁₉ O ₉	287, 191	+	+	-	Stanoeva,2013
9	Echinacoside	6.46	785.2509	-0.06	C ₃₅ H ₄₅ O ₂₀	623 , 161	+	+	-	Stanoeva,2013

Κεφάλαιο 4: Φυτοχημικό Προφίλ και Βιολογική Αξιολόγηση του *Sideritis sipylea* Boiss από την νήσο Λέσβο

10	Forsythoside B	6.58	755.2408	0.58	C ₃₄ H ₄₃ O ₁₉	623, 593 , 461	+	+	-	Petreska, 2011
11	Verbascoside	6.78	623.1992	1.63	C ₂₉ H ₃₅ O ₁₅	477, 461 , 315	+	+	+	Stanoeva, 2013
12	Samioside	6.91	755.2408	0.58	C ₃₄ H ₄₃ O ₁₉	623, 593 , 461	+	+	-	Stanoeva, 2013
13	Apigenin 7-O- allosyl(1→2)glucoside	6.97	593.1518	1.01	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₅	431, 269	+	+	-	Vasilopoulou, 2013
14	Isoscutellarein 7-O- allosyl(1→2)glucoside	7.11	609.1471	1.61	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₆	447, 429, 285	+	+	-	Stanoeva, 2013
15	Isoverbascoside	7.18	623.1989	1.13	C ₂₉ H ₃₅ O ₁₅	461 , 315	+	+	+	Stanoeva, 2013
16	Allysonoside	7.39	769.2563	0.31	C ₃₅ H ₄₅ O ₁₉	637, 593 , 575, 461	+	+	-	Stanoeva, 2013
17	Hypolaetin 7-O-[6'''-O- acetyl]- allosyl(1→2)glucoside	7.41	667.1517	0.12	C ₂₉ H ₃₁ O ₁₈	625 , 463, 301	+	+	-	Petreska, 2011
18	Leucoseptoside A	7.66	637.2142	0.69	C ₃₀ H ₃₇ O ₁₅	491, 461 , 443	+	+	-	Stanoeva, 2013

Κεφάλαιο 4: Φυτοχημικό Προφίλ και Βιολογική Αξιολόγηση του *Sideritis sipylea* Boiss από την νήσο Λέσβο

19	Apigenin 7- <i>O</i> -glucoside	7.76	431.099	1.53	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₀	269	+	+	-	Stanoeva,2013
20	Apigenin 7- <i>O</i> -[6"- <i>O</i> -acetyl]-allosyl(1→2)glucoside	8	635.1625	1.14	C ₂₉ H ₃₁ O ₁₆	593, 515, 269	+	+	-	Vasilopoulou, 2013
21	Luteolin 7- <i>O</i> -allosyl-(1→2)-[6"- <i>O</i> -acetyl]-glucoside	8.12	651.157	0.47	C ₂₉ H ₃₁ O ₁₇	591, 429, 285	+	+	+	Petreska, 2011
22	3'- <i>O</i> -Methylhypolaetin 7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -acetyl]-allosyl(1→2)glucoside	8.41	681.1679	0.9	C ₃₀ H ₃₃ O ₁₈	639 , 621, 459, 315	+	+	+	Stanoeva,2013
23	4'- <i>O</i> -Methylisoscuteallarein 7- <i>O</i> -allosyl(1→2)glucoside	8.79	623.1625	1.26	C ₂₈ H ₃₁ O ₁₆	461, 443, 299 , 284	+	+	+	Stanoeva,2013

Κεφάλαιο 4: Φυτοχημικό Προφίλ και Βιολογική Αξιολόγηση του *Sideritis sipylea* Boiss από την νήσο Λέσβο

24	Martynoside	9.33	651.2297	0.46	C ₃₁ H ₃₉ O ₁₅	505, 475 , 457	+	+	+	Fraga, 2012; Vasilopoulou, 2013
25	4'-O-Methylisoscuteallarein 7-O-allosyl-(1→2)-[6"-O-acetyl]-glucoside	9.96	665.1728	0.7	C ₃₀ H ₃₃ O ₁₇	623, 461, 299	+	+	+	Stanoeva, 2013; Petreska, 2011
26	Isoscuteallarein 7-O-[6"-O-acetyl]-allosyl-(1→2)-[6"-O-acetyl]-glucoside	9.98	693.1644	-4.14	C ₃₁ H ₃₃ O ₁₈	651, 633, 471, 285	+	-	-	Petreska, 2011
27	Apigenin 7-(6"-p-coumaroylglucoside)	10.28	577.1358	1.02	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂	431, 413, 307, 269	+	+	-	Petreska, 2011
28	Apigenin 7-(4"-p-coumaroylglucoside)	11.11	577.1356	0.82	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂	431, 413, 307, 269	+	+	+	Stanoeva, 2013

Κεφάλαιο 4: Φυτοχημικό Προφίλ και Βιολογική Αξιολόγηση του *Sideritis sipylea* Boiss από την νήσο Λέσβο

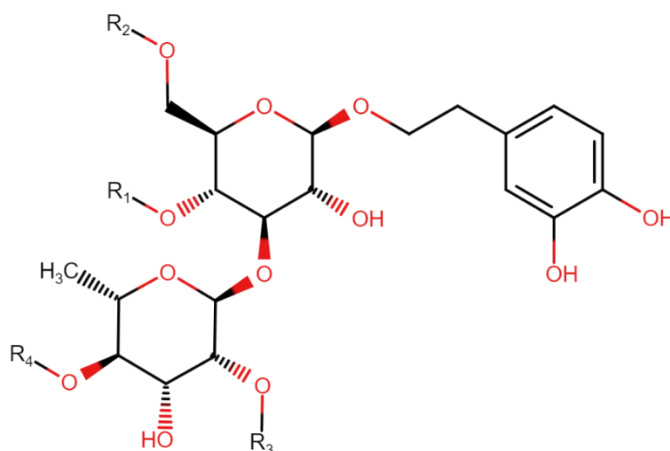
29	4'-O-Methylisoscutellarein 7-O-[6"-O-acetyl]-allosyl-(1→2)-[6"-O-acetyl]-glucoside	11.78	707.1829	0.05	C ₃₂ H ₃₅ O ₁₈	665, 647, 299 , 284	+	+	+	Stanoeva,2013
30	Sideritoflavone	12.04	359.0776	0.86	C ₁₈ H ₁₅ O ₈	344	-	-	+	Fraga, 2012
31	Luteolin derivative	12.54	313.0722	1.4	C ₁₇ H ₁₃ O ₆	298	+	-	+	-
32	Xanthomicrol	13.1	343.0826	0.74	C ₁₈ H ₁₅ O ₇	328 , 313	-	-	+	Fraga 2012; Kostadinova, 2008
33	Unknown	13.56	723.1722	0.35	C ₃₉ H ₃₁ O ₁₄	577, 559, 453 , 269	+	+	-	-

Ο χρόνος έκλουσης (t_R in min), ο προτεινόμενος μοριακός τύπος, τα ισοδύναμα διπλού δεσμού (RDBeq) καθώς επίσης και ο τρόπος θραυσματοποίησης, χρησιμοποιήθηκαν για τον τελικό προσδιορισμό των μεμονωμένων ενώσεων. Συνολικά ανιχνεύτηκαν και προσδιορίστηκαν **33** ενώσεις που ανήκουν σε διαφορετικές χημικές κατηγορίες. Όπως απεικονίζεται στον **Πίνακα 4.8**.

Συγκεκριμένα, ταυτοποιήθηκαν επτά διαφορετικοί φαινυλαιθανοειδείς γλυκοσίδες (**Εικόνα 4.21**):

Echinacoside (R_1 =feru; R_2 =glc; R_3 =H; R_4 =H) , **Forsythoside B** (R_1 =caff; R_2 =H; R_3 =H; R_4 =H), **Verbascoside** (R_1 =caff; R_2 =H; R_3 =H; R_4 =H), **Samioside** (R_1 =caff; R_2 =H; R_3 =H; R_4 =api), **Isoverbascoside** (R_1 =H; R_2 =caff.; R_3 =H; R_4 =H), **Allysonoside** (R_1 =feru; R_2 =api; R_3 =H; R_4 =H) και **Leucoseptoside A** (R_1 =feru; R_2 =H; R_3 =H; R_4 =H),

με τον verbascoside να έχει την μεγαλύτερη ένταση στο σήμα.

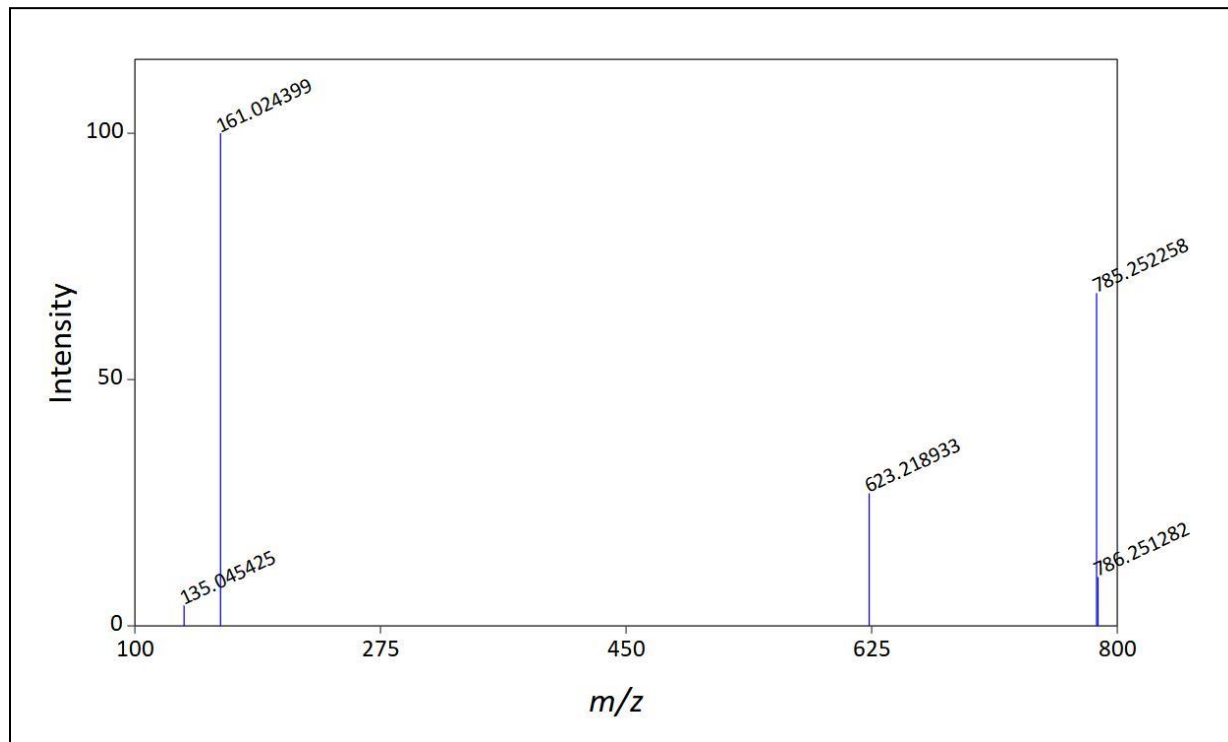


Εικόνα 4.22. Δομικός σκελετός των φαινυλαιθανοειδών γλυκοσίδων (Feru=feruloyl; Caff=caffeoyl; glc=glucose; api=apiose).

Σε αρνητικό ιοντισμό τα φάσματα των κυριότερων γλυκοσιδών καθώς επίσης και η βιολογική δραστηριότητα.

- **Echinacoside ($C_{35}H_{46}O_{20}$), $[M-H]^- = 785.25$**

Απομονώθηκε για πρώτη φορά από την *Echinacea angustifolia* DC. Εμφανίζει σημαντική δερμοπροστατευτική δράση επί των ελευθέρων ριζών που προκαλούν αποικοδόμηση του κολλαγόνου τύπου III ([Facino, 1995](#)). Από τις πολυάριθμες φαρμακολογικές του ιδιότητες, η νευροπροστατευτική και καρδιαγγειακή είναι αυτές που ξεχωρίζουν στις αναφορές. Έδειξε πολλά υποσχόμενες δυνατότητες για την θεραπεία της νόσου του Πάρκινσον και του Αλτσχάιμερ, αλλά έχουν προκύψει αρκετά ζητήματα όπως η χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα.



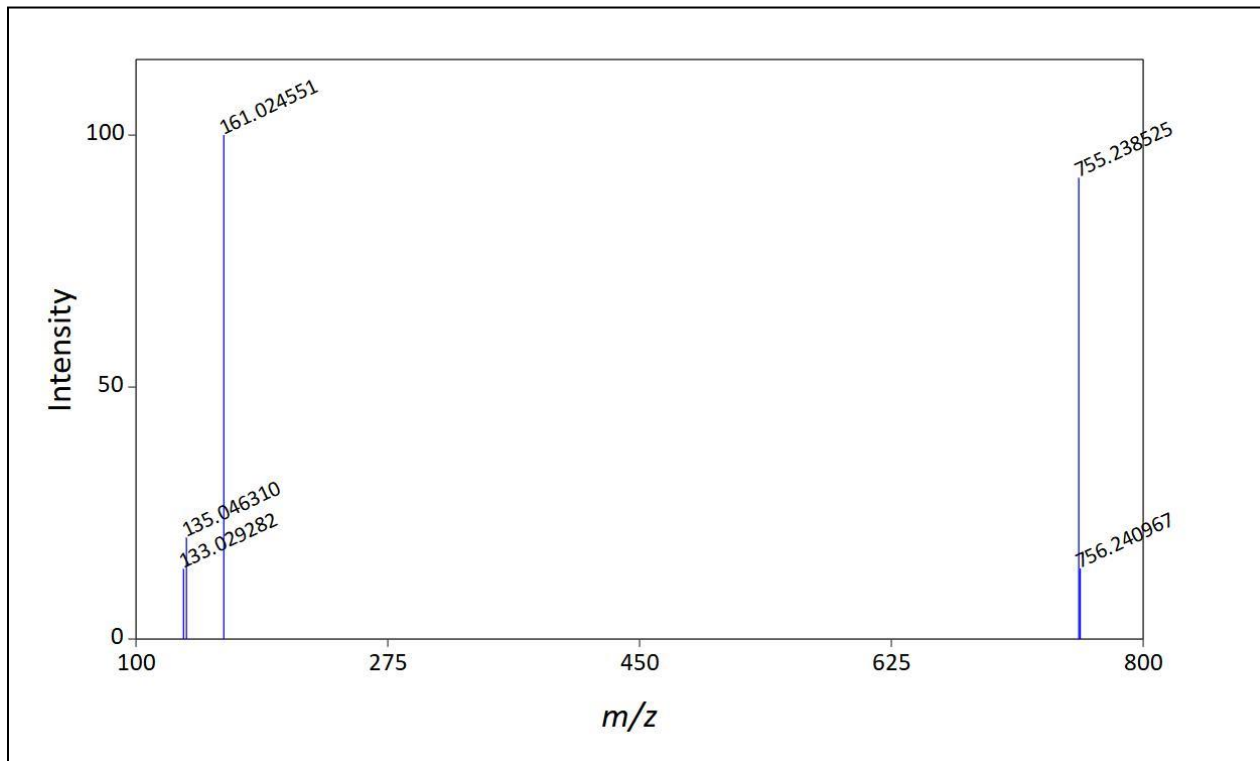
Εικόνα 4.23. Φάσμα MS του echinacoside σε αρνητικό ιοντισμό.

- **Forsythoside B ($C_{34}H_{44}O_{19}$), $[M-H]^- = 755.24$**

Ταυτοποιήθηκε τόσο στο μεθανολικό όσο και στο υδατοαιθανολικό εκχύλισμα του *Sideritis sipylea*. Έχει ταυτοποιηθεί άλλα είδη σιδερίτη όπως *Sideritis raeseri* Boiss. et Heldr. και *Sideritis scardica* L. ([Koleva, 2003](#); [Petreska, 2011](#); [Fraga, 2012](#)).

In vitro έχει αναφερθεί ότι έχει δόσοεξαρτώμενη δράση σε κυτταρικές σειρές τύπου RAW264.7 στις οποίες παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων TNF- α και IL-6, αναστέλλει το βιοχημικό μονοπάτι της I κ B κινάσης (IKK) και ρυθμίζει την έκφραση του παράγοντα NF- κ B ([Jiang, 2012](#)).

In vivo η ενδοφλέβια ένεση forsythoside B μειώνει τα επίπεδα TNF- α , IL-6, HMGB1 ενεργοποιώντας τον υποδοχέα που εκφράζεται στα μυελοειδή κύτταρα (TREM-1), ενώ μειώνεται το επίπεδο της IL-10. Επίσης σε δόσεις υψηλότερες από 8mg/kg αναφέρεται σημαντική νευροπροστατευτική δράση με αποτελέσματα επαναμιάτωσης μετά από επεισόδιο εγκεφαλικής ισχαιμίας σε αρουραίους ([Jiang, 2010](#)).



Εικόνα 4.24. Φάσμα MS του forsythoside B σε αρνητικό ιοντισμό.

- **Verbascoside (C₂₉H₃₆O₁₅), [M-H]⁻ = 623.19**

Έχει απομονωθεί και ταυτοποιηθεί από τα είδη σιδερίτη της Ελληνικής χλωρίδας όπως, *Sideritis scardica* Gris., *Sideritis syriaca* L. ([Koleva, 2003](#)), *Sideritis raeseri* Boiss. et Heldr. ([Petreska, 2011](#)) και *Sideritis perfoliata* subsp. *perfoliata* ([Charami, 2008](#)).

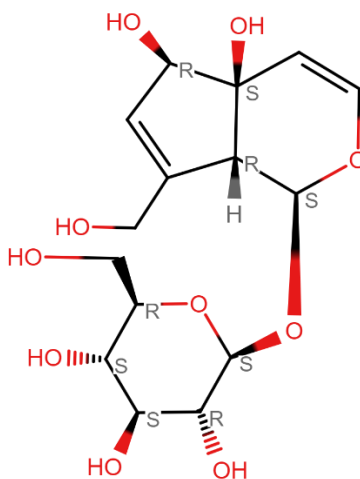
Έχει αναφερθεί σημαντική αντιοξειδωτική και νευροπροστατευτική δράση, και γι αυτό ερευνάται η εφαρμογή του στην νόσο του Alzheimer. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2015, τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά και φάνηκε πως η χορήγηση του μπορεί να βελτιώσει την απώλεια μνήμης ([Peng, 2015](#)). Επίσης έχει εμφανίσει κατασταλτική δράση στην μετάσταση καρκίνου του πνεύμονα ([Ohno, 2002](#)).

Επίσης και στα τρία διαφορετικά ολικά εκχυλίσματα του *Sideritis sipylea*, ανιχνεύτηκαν 17 διαφορετικά φλαβονοειδή, με το φλαβονοειδές **4'-O-methylisoscuteallarein 7-O-allosyl-(1→2)-[6''-O-acetyl]-glucoside**, να παρουσιάζει την μεγαλύτερη σχετική αφθονία (relative abundance). Έχει απομονωθεί από

τα είδη *Sideritis montana* subsp. *montana* ([Venditti, 2016](#)), *Sideritis pullulans* ([Faiella, 2014](#)), *Sideritis trojana* Bornm. ([Kirmizibekmez, 2012](#)) και *Sideritis syriaca* ssp. *syriaca* ([Plioukas, 2010](#)).

Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει την αντιοξειδωτική δράση της **isoscutellarein** ([Gabrieli, 2005](#); [Armata, 2008](#); [Charami, 2008](#); [Kirmizibekmez, 2012](#)). Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι τα флаβονοειδή με τουλάχιστον μία ομάδα υδροξυλίου στον δακτύλιο B παρουσιάζουν υψηλή αντιοξειδωτική δράση ([Charami, 2008](#); [Sarian, 2017](#)). Ωστόσο, η ύπαρξη μιας ομάδας υδροξυλίου στον δακτύλιο A και η δομή της κατεχόλης ή της 4'-υδροξυλικής ομάδας στον δακτύλιο B βελτιώνουν περισσότερο την αντιοξειδωτική δράση ([Charami, 2008](#); [Sarian, 2017](#)).

Από την κατηγορία των ιριδοειδών (γλυκοσίδες), ανιχνεύτηκε κυρίως στο υδατικό και μεθανολικό εκχύλισμα ο melittoside (**Εικόνα 4.25**).



Εικόνα 4.25. Melittoside.

Ο melittoside έχει ταυτοποιηθεί στο είδος *S. euboea* Heldr. ([Tomou, 2019](#)), *S. montana* L. ([Koleva, 2003](#); [Fraga, 2012](#)), *S. montana* L. subsp. *montana* ([Venditti, 2016](#)), *S. germanicopolitana* Bornm ([Kirmizibekmez, 2019](#)), *S. perfoliata* L. subsp. *perfoliata* ([Chrysargyris, 2019](#)) και *S. syriaca* L. ([Koleva, 2003](#); [Fraga, 2012](#)).

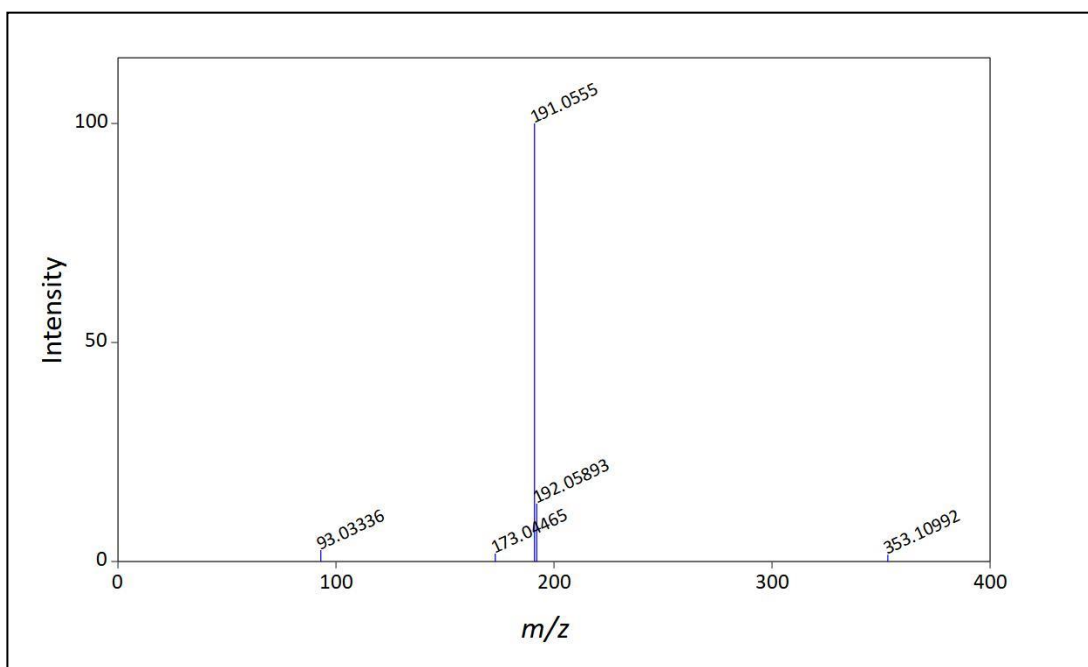
Η παρουσία των φαινολικών οξέων, περιορίζεται στα **6-O-caffeoyl-glucose**, **chlorogenic acid** και **feruloylquinic acid** (**Εικόνα 4.27**).

- **Chlorogenic acid ($C_{16}H_{18}O_9$), $[M-H]^- = 353.09$**

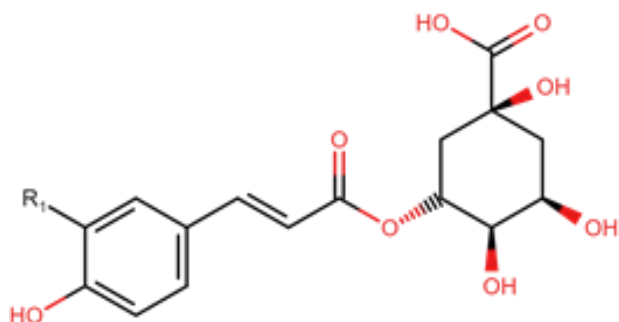
Έχει προηγουμένως ταυτοποιηθεί ως συστατικό κυρίως του *S. syriaca* από την ευρύτερη περιοχή της Κρήτης ([Armata, 2008](#); [Stanoeva, 2013](#)). Παρ'όλα αυτά επειδή αποτελεί ένα μεταβολίτη που ταυτοποιείται σε πολλά άλλα είδη φυτών το καθιστά έναν αδύναμο δείκτη χημειοταξονομίας για συγκεκριμένα είδη σιδερίτη.

Το chlorogenic acid είναι ιδιαίτερα μελετημένο φαινολικό οξύ, το οποίο. Προέρχεται βιοσυνθετικά από την φαινυλαλανίνη ακολουθώντας το βιοχημικό μονοπάτι της αντίδρασης των φαινυλπροπανοειδών, το οποίο είναι υπεύθυνο για την σύνθεση πολλών σημαντικών ενώσεων όπως φλαβονοειδή, φυτοαλεξίνες, κουμαρίνες και λιγνίνη ([Clifford, 2017](#)).

Το φάσμα των βιολογικών ιδιοτήτων του είναι ευρύτατο με σημαντικότερες τις ηπατοπροστατευτικές, αντιοξειδωτικές, αντιδιαβητικές, αντιμικροβιακές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. ([Maalik, 2016](#); [Santana-Gálvez, 2017](#); [Tošović, 2017](#); [Naveed, 2018](#)).



Εικόνα 4.26. Φάσμα MS του chlorogenic acid σε αρνητικό ιοντισμό.

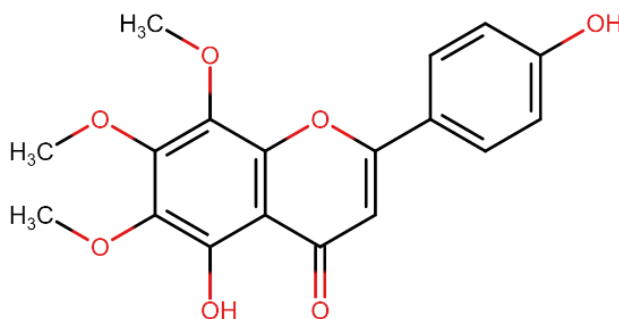


Εικόνα 4.27. Chlorogenic acid ($R_1=OH$); feruloylquinic acid ($R_1=OCH_3$).

Στο εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα (EtOAc) του *Sideritis sipylea*, ταυτοποιήθηκε η **xanthomicrol**, η οποία δεν ταυτοποιήθηκε στα άλλα εκχυλίσματα.

- **Xanthomicrol ($C_{18}H_{16}O_7$), $[M-H]^- = 343.08$**

Είναι μια τριμεθοξυφλαβόνη (**Εικόνα 4.28**) και είναι ευρέως γνωστό ότι οι μεθοξυλιωμένες φλαβόνες έχουν πολλές φαρμακολογικές δράσεις όπως αντισπασμωδική, antipaf και αντικαρκινική ([Moghaddam, 2012](#); [Fattahi, 2014](#); [Turkmenoglu, 2015](#)).

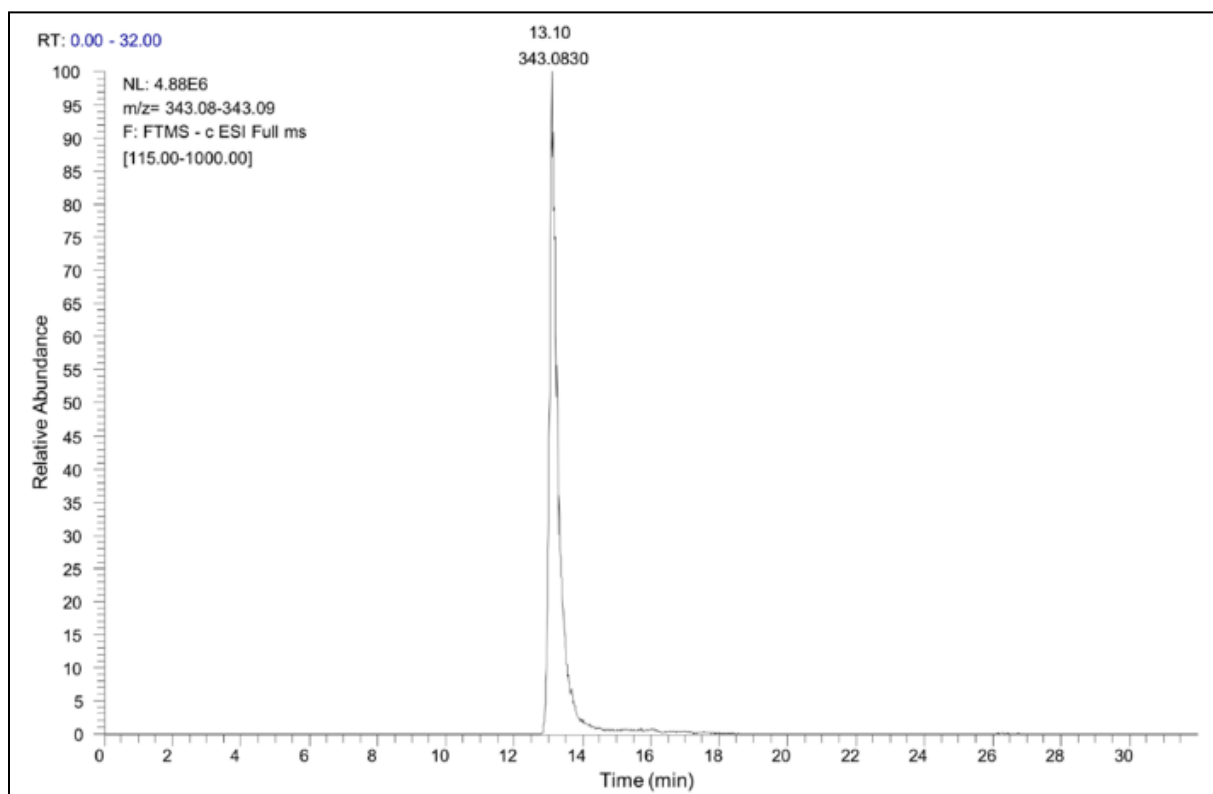


Εικόνα 4.28. Xanthomicrol.

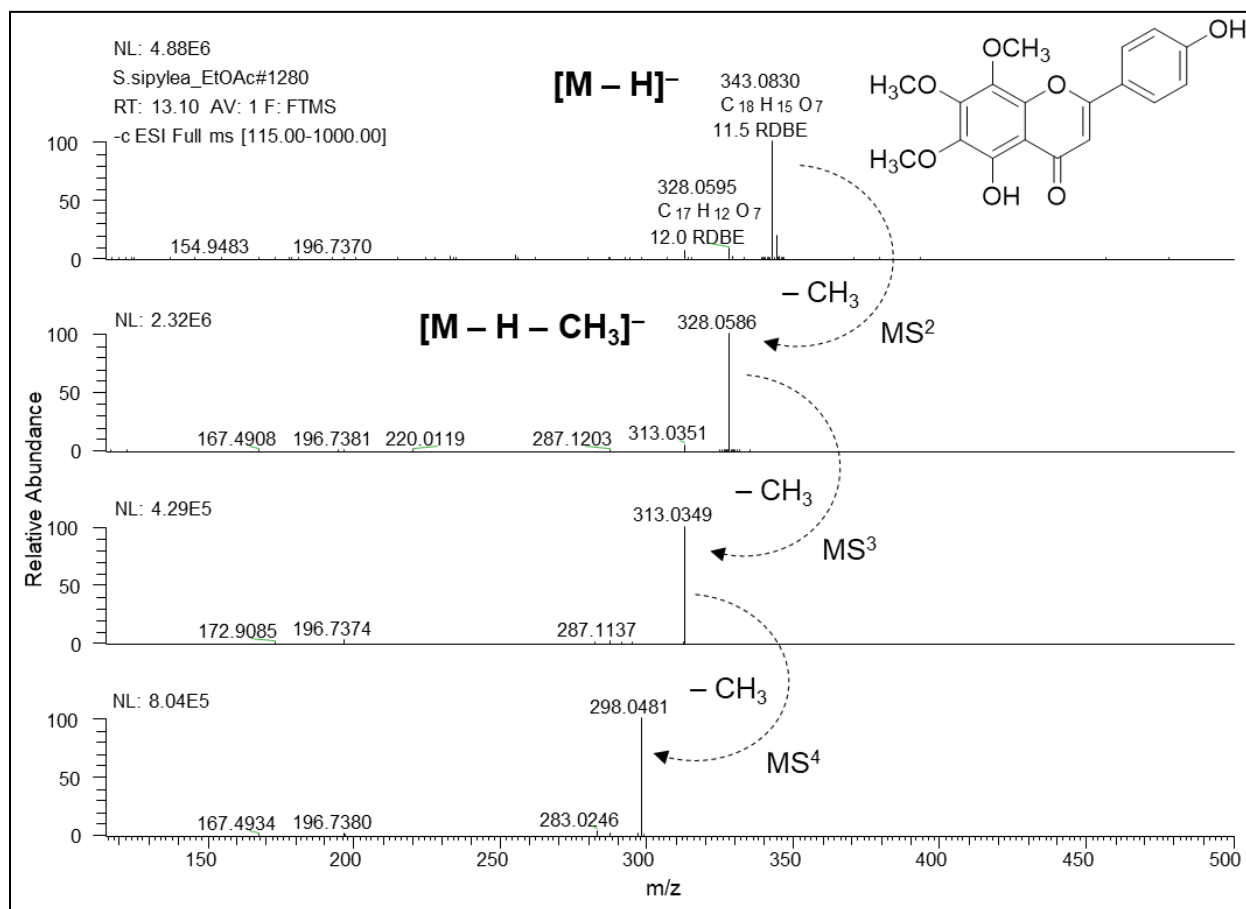
Οι υψηλά μεθοξυλιωμένες φλαβόνες συσσωρεύονται στα φύλλα ορισμένων φυτικών ειδών και ο φυσιολογικός τους ρόλος είναι να προστατεύουν το φυτό από την επιβλαβή υπεριώδη ακτινοβολία, ενώ παρουσιάζουν χημειοπροστατευτική δράση ([Berim, 2015](#)).

Η xanthomicrol είναι μία από τις μεθοξυλιωμένες φλαβόνες που προσελκύει αυτήν τη στιγμή τη μεγαλύτερη προσοχή από ερευνητές παγκοσμίως λόγω των πολλά υποσχόμενων φαρμακολογικών της δράσεων.

Για την επιβεβαίωση της δομής της xanthomicrol, πραγματοποιήσαμε μελέτη θραυσματοποίησης του φάσματος LC-MS και την πλήρη σάρωση με τα φάσματα HRMS² έως HRMS⁴ (**Εικόνα 4.29** και **Εικόνα 4.30**).



Εικόνα 4.29. Χρωματογράφημα Ιόντων (XIC) από το φάσμα xanthomicrol στο εκχύλισμα EtOAc.



Εικόνα 4.30. Φασματομετρία μάζας υψηλής ανάλυσης (HRMS) που υποδεικνύει τον τρόπο θραυσματοποίησης της xanthomicrol. Πλήρης σάρωση (πάνω ίχνος) και φάσματα HRMS² έως HRMS⁴.

4.9. Συμπεράσματα

Το γένος *Sideritis* χρησιμοποιείται στη λαϊκή ιατρική και τον τελευταίο καιρό τα εκχυλίσματά του έχουν γίνει διαδεδομένα σε πολλά καλλυντικά σκευάσματα. Στην Περιφέρεια Βορείου Αιγαίου υπάρχει το ενδημικό είδος σιδερίτη (*Sideritis sipylea* Boiss.) στις νήσους Λέσβο, Χίο και Σάμο.

Στα πλαίσια της παρούσας διατριβής πραγματοποιήθηκε φυτοχημική μελέτη και βιολογική αξιολόγηση των εκχυλισμάτων και του αιθερίου ελαίου. Ελπιδοφόρα αποτελέσματα ελήφθησαν σύμφωνα με τις γνωστές αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές του είδους. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έδειξαν τα υδατικά – υδατοαιθανολικά εκχυλίσματα του *S. sipylea* μπορεί να αποτελέσουν πηγή για την ανάπτυξη νέων δερμοκαλλυντικών προϊόντων.

Παράλληλα πραγματοποιήθηκε περαιτέρω μελέτη εκχυλισμάτων του είδους σε πρωτογενείς καλλιέργειες νευρώνων που παράγουν την ντοπαμίνη. Στόχος αυτής της μελέτης ήταν να προσδιοριστεί αν υπάρχουν εκχυλίσματα που να έχουν δράση στο ΚΝΣ και σε νευροεκφυλιστικές νόσους, όπως αναφέρεται σε κείμενα εθνοφαρμακολογίας ή λαϊκής ιατρικής. Τα αποτελέσματα ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά, κάτι το οποίο επιβεβαιώνει το ερευνητικό ενδιαφέρον για το συγκεκριμένο είδος.

Πρέπει να γίνει γνωστό ότι ο ενδημικός σιδερίτης δεν καλλιεργείται στα νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου και αυτό δημιουργεί σοβαρά προβλήματα ως προς την προστασία του από την αλόγιστη κοπή. Ελπίζουμε ότι με την ανάδειξη των ιδιοτήτων του θα οδηγήσουμε στην ευασθητοποίηση της πολιτείας, με στόχο την ενημέρωση των πολιτών και την στοχευμένη καλλιέργειά του και προστασία του γενετικού του υλικού.

4.10. Βιβλιογραφικές Αναφορές

- Aboutabl, E. A.;** Nasar, M. I.; Elsakhawy, F. M.; Maklad, Y. A.; Osman, A. F. & El-Khrisy, E. A. M. Phytochemical and pharmacological studies on *Sideritis taurica* Stephan ex Wild. *J. Ethnopharmacol.*, 2002, 82, 177–184.
- Adams, R.P.** *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*, 4th ed.; Allured Publishing Corporation: Carol Stream, IL, 2007. ISBN 9781932633214.
- Alcaraz, M. J., &** Tordera, M. Studies on the gastric anti-ulcer activity of hypolaetin-8-glucoside. *Phytother. Res.*, 1988, 2, 85–88.
- Aliigiannis, N.;** Kalpoutzakis, E.; Chinou, I., B. & Mitakou, S. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of five taxa of *Sideritis* from Greece. *J. Agr. Food Chem.*, 2001, 49, 811–815.
- Alipieva, K.I.;** Kostadinova, E.P.; Evstatieva, L.N; Stefova, M.; Bankova, V.S. An iridoid and a flavonoid from *Sideritis lanata* L. *Fitoterapia*, 2009, 80, 51-3.
- Alipieva, K.;** Korkina, L.; Orhan, IE.; Georgiev, MI. Verbascoside — A review of its occurrence, (bio)synthesis and pharmacological significance. *Biotechnol. Adv.*, 2014, 32(6), 1065–1076.
- Ambriz-Pérez, DL.;** Leyva-López, N.; Gutierrez-Grijalva, EP.; Heredia, JB. Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*, 2016, 2(1).
- Alvarez, M.DE.L.;** Debattista, N.B. & Pappano, NB. Synergism of flavonoids with bacteriostatic action against *Staphylococcus aureus* ATCC 25 923 and *Escherichia coli* ATCC 25 922. *Biocell.*, 2006, 30, 39-42.
- Arif, T.;** Mandal, TK; Dabur, R. Natural products: Anti-fungal agents derived from plants. *J Asian Nat Prod Res.*, 2011,11, 621–638.
- Armata, M.;** Gabrieli, A.; Termentzi, M.; Zervou, E.; Kokkalou, E. Constituents of *Sideritis syriaca*. ssp. *syriaca* (Lamiaceae) and their antioxidant activity. *Food Chem.*, 2008, 111, 179–186.
- Arnous, A.;** Makris, D.P.; Kefalas, P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. *J.Food Compos. Anal.*, 2002, 15, 655-665.
- Aslan, I.;** Kilic, T.; Goren, A.C.; Topcu, G. Toxicity of acetone extract of *Sideritis trojana* and 7-epicandicandiol, 7-epicandicandiol diacetate and 18- acetylsideroxol against stored pests *Acanthoscelides obtectus* (Say), *Sitophilus granarius* (L.) and *Ephestia kuehniella* (Zell.). *Ind. Crops Prod.*, 2006, 23 (2), 171-176.
- Atoui, A.K.;** Mansouri, A.; Boskou, G.; Kefalas, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem.*, 2005, 89 (1), 27-36.
- Aumeeruddy-Elalfi, Z.;** Lall, N.; Fibrich, B.; Blom van Staden, A.; Hosenally, M.; Mahommodally, M.F. Selected essential oils inhibit key physiological enzymes and possess intracellular and extracellular antimelanogenic properties *in vitro*. *J. Food Drug Anal.*, 2018, 26, 232-243.
- Axiotis, E.;** Halabalaki, M.; Skaltsounis, L.A. An Ethnobotanical Study of Medicinal Plants in the Greek Islands of North Aegean Region. *Front. Pharmacol.*, 2018, 9, 409.
- Bahmani, M.;** Shirzad, H.; Rafieian, S. & Rafieian-Kopaei, M. *Silybum marianum*: beyond hepatoprotection. *J. Evid. Complementary Altern. Med.*, 2015, 20, 292–301.
- Barber, J.;** Ortega, J.F.; Guera, A.S.; Turner, K.G.; Jansene, R.K. Origin of Macaronesian *Sideritis* L. (Lamioideae: Lamiaceae) inferred from nuclear and chloroplast sequence datasets. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2002, 23, 293-306.
- Bas, E.;** Recio, M.C.; Giner, R.M.; Manez, S.; Cerda-Nicolas, M.; Rios, J.L. Anti- inflammatory activity of 5-O-demethylnobiletin, a polymethoxyflavone isolated from *Sideritis tragoriganum*. *Planta Med.*, 2006, 72 (2), 136-142.

- Basile, A.**; Senatore, F.; Gargano, R.; Sorbo, S.; Del Pezzo, M.; Lavitola, A.; Ritieni, A.; Bruno, M.; Spatuzzi, D.; Rigano, D.; & Vuotto, M. L. Antibacterial and antioxidant activities in *Sideritis italica* (Miller) Greuter et Burdet essential oils. *J. Ethnopharmacol.*, 2006, 107, 240–248.
- Bates, R.B.**; Eisenbraun, E.J. & Mc El Vain, S.M. The Configurations of the Nepetalactones and Related Compounds *J. Am. Chem. Soc.*, 1958, 80, 3420-3424.
- Berim, A.**; Gang, DR. Methoxylated flavones: occurrence, importance, biosynthesis. *Phytochem. Rev.*, 2015, 15, 363-390.
- Blandini, F.**; Porter, R.H.; Greenamyre, J.T. Glutamate and Parkinson's disease. *Mol. Neurobiol.*, 1996, 12(1), 73-94.
- Bremner, P.** & Heinrich, M. Natural products as targeted modulators of the nuclear factor- κ B pathway. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2002, 54, 453-472.
- Bruno, M.**; Rosselli, S.; Pibiri, I.; Kilgore, N.; Lee, K.H. Anti-HIV Agents Derived from the ent-Kaurane Diterpenoid Linearol. *J. Nat. Prod.*, 2002, 65, 1594-1597.
- Bruno, M.**; Piozzi, F.; Arnold, A.N.; Baser, K.H.C.; Tabanca, N.; Kirimer, N. Kaurane diterpenoids from three *Sideritis* species. *Turk.J.Chem.*, 2005, 29 (1), 61-64.
- Caballero, B.**; Trugo, L.C.; Finglas, P.M. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 2nd ed; Academic Press: San Diego, CA, 2003. ISBN 9780080917917.
- Cavill, G.W.K.** & Hinterberger, H. The chemistry of ants -V. Structure and reactions of dolichodial. *Aust. J. Chem.*, 1961, 14, 143-149.
- Charami, M.T.**; Lazari, D.; Karioti, A.; Skaltsa, H.; Hadjipavlou-Litina, D.; Souleles, C. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Sideritis perfoliata* subsp. *perfoliata* (Lamiaceae). *Phytother. Res.*, 2008, 22 (4), 450-454.
- Cheynier, V.** Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2005, 81(1Suppl), 223S–229S.
- Chrysargyris, A.**; Kloukina, C.; Vassiliou, R.; Tomou, E.-M.; Skaltsa, H.; Tzortzakis, N. Cultivation strategy to improve chemical profile and anti-oxidant activity of *Sideritis perfoliata* L. subsp. *perfoliata*. *Ind. Crop Prod.*, 2019, 140, 111694.
- Cirico, T.L.** & Omaye, S.T. Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation. *Food Chem. Toxicol.*, 2006, 44, 510-516.
- Clifford, MN.**; Jaganath, IB.; Ludwig, IA.; Crozier, A. Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity. *Nat. Prod. Rep.*, 2017, 34, 1391–1421.
- Cushnie, TPT**; Lamb, AJ. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2011, 38, 99–107.
- Davis, P. H.** (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, (Vol. 7), (pp. 178–199). Edinburgh, UK: Edinburgh University Press.
- Demirtas, I.**; Sahin, A.; Ayhan, B.; Tekin, S.; Telci, I. Antiproliferative effects of the methanolic extracts of *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis*. 2009 *Rec.Nat.Prod.*, 3, 104–109.
- Deveci, E.**; Tel-Çayan G.; Emin Duru, M. Phenolic profile, antioxidant, anticholinesterase, and anti-tyrosinase activities of the various extracts of *Ferula elaeochytris* and *Sideritis stricta*. *Int. J. Food Prop.*, 2018, 21.
- Dulger, B.**; Gonuz, A.; Aysel, V. Inhibition of clotrimazole-resistant *Candida albicans* by some endemic *Sideritis* species from Turkey. *Fitoterapia*, 2006, 77 (5), 404-405.
- Ezer, N.**; Sakar, M.K.; Rodriguez, B.; de la Torre, C. Flavonoid glycosides and a phenylpropanoid Glycoside from *Sideritis perfoliata*. *Int. J. Pharmacogn.*, 1992, 30, 61-65.

- Ezer, N.;** Abbasoglu, U. Antimicrobial activity of essential oils of some *Sideritis* species growing in Turkey. *Fitoterapia*, 1996, 67 (5), 474-475.
- Facino, RM.;** Carini, M.; Aldini, G.; Saibene, L.; Pietta, P. & Mauri, P. Echinacoside and caffeoyl conjugates protect collagen from free radical-induced degradation: a potential use of Echinacea extracts in the prevention of skin photodamage. *Planta Med.*, 1995, 61, 510-514.
- Faiella, L.;** Braca, A.; Piaz, FD.; Bader, A. Diterpenes and phenolic compounds from *Sideritis pullulans*. *Phytochemistry*, 2014, 106, 164 – 170.
- Fattahi, M.;** Cusido, R.M.; Khojastan, A.; Bonfill, M.; Palazon, J. Xanthomicrol: a comprehensive review of its chemistry, distribution, biosynthesis and pharmacological activity. *Mini Rev. Med. Chem.*, 2014, 14, 725–733.
- Feistel, B.;** Walbroel, B.; Pahnke, J. Extract preparation from *Sideritis scardica* enhances memorizing skills of mice in Morris water maze. *Planta Med.*, 2013, 79.
- Fidy, K.;** Fiedorowicz, A.; Strzdała, L.; Szumnuy, A. β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide – natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer Med.*, 2016, 5(10), 3007–3017.
- Flamegos, Y.C.;** Nanos, C.G.; Vervoort, J. & Stalika, C.D. Analytical procedure for the in-vial derivatization—extraction of phenolic acids and flavonoids in methanolic and aqueous plant extracts followed by gas chromatography with mass-selective detection. *J. Chrom. A.*, 2001, 1041, 11-18.
- Forster, H.;** Nicklas, H. & Lutz, S. Antispasmodic effects of some medicinal plants. *Planta Med.*, 1980, 40, 309-319.
- Fraga, B.M.;** Hernandez, M.G. & Diaz, C.E. On the ent kaurene diterpenes from *Sideritis athoa*. *Nat. Prod. Res.*, 2003, 17, 141-144.
- Fraga B.M.** Phytochemistry and chemotaxonomy of *Sideritis* species from the Mediterranean region. *Phytochemistry*, 2012, 76, 7–24.
- Funari, CS.;** Gullo, FP.; Napolitano, A.; Carneiro, RL.; Mendes-Giannini, MJ; Fusco-Almeida, AM. Chemical and antifungal investigations of six *Lippia* species (Verbenaceae) from Brazil. *Food Chem.*, 2012, 135, 2086–94.
- Gabrielli, C.;** & Kokkalou, E. A glycosylated acylflavone from *Sideritis raeseri*. *Phytochemistry*, 1990, 29, 681 -683.
- Gabrielli, C.N.;** Kefalas, P.G. & Kokkalou, E.L. Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri* *J. Ethnopharmacol.*, 2005, 96, 423-8.
- Galati, G.;** Lin, A.; Sultan, A.M. & O’ Brien, P.J. Cellular and *in vivo* hepatotoxicity caused by green tea phenolic acids and catechins. *Free Radic. Biol. Med.*, 2006, 40, 570-580.
- Garritano, S.;** Pinto, B.; Giachi, I.; Pistelli, L.; Reali, D. Assessment of estrogenic activity of flavonoids from Mediterranean plants using an in vitro short-term test. *Phytomedicine*, 2005, 12, 143-147.
- Gergis, N.;** Argyriadou, N.; Poulos, C.P. Composition of the essential oils of *Sideritis clandestina* ssp. *cyllenea* and *Sideritis sipylea*. *J. Sci. Food Agric.*, 1989, 47, 501–507.
- Gil, M.I.;** Ferreres, F.; Marrero, A.; Tomas-Lorente, F.; Barberan, F.A.T. Distribution of flavonoid aglycones and glycosides in *Sideritis* species from the Canary Islands and Madeira. *Phytochemistry*, 1993, 34, 227-232.
- González-Burgos, E.;** Carretero, M. E.; & Gómez-Serranillos, M. P. *Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities – A review. *J. Ethnopharmacol.*, 2011, 135, 209–225.
- Gürbüz, I.;** Özkan, A. M.; Yesilada, E.; & Kutsal, O. Anti-ulcerogenic activity of some plants used in folk medicine of Pinarbasi (Kayseri, Turkey). *J. Ethnopharmacol.*, 2005, 101, 313–318.

- Güvenç, A.;** Houghton, P. J.; Duman, H.; Coşkun, M.; & Şahin, P. Antioxidant activity studies on selected *Sideritis* species native to Turkey. *Pharm. Biol.*, 2005, 43, 173–177.
- Haavik, J.;** Toska, K. Tyrosine hydroxylase and Parkinson's disease. *Mol. Neurobiol.*, 1998, 16, 285–309.
- Harput, U. S.;** Çalic, L; Saracoglu, L; Donmez, A.A. & Nagatsu, A. Secondary Metabolites from *Phlomis syriaca* and Their Antioxidant Activities. *Turk J. Chem.*, 2006, 30, 383–390.
- Hanson, J.R.** Diterpenoids *Nat. Prod. Rep.*, 2002, 19, 125–132.
- HMPC. Committee on Herbal Medicinal Products** (2015). European Union herbal monograph on *Sideritis scardica* Griseb.; *Sideritis clandestina* (Bory & Chaub) Hayek; *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr.; *Sideritis syriaca* L., herba. EMA/HMPC/39453/2015.6.
- Hofrichter, J.;** Krohn, M.; Schumacher, T.; Lange, C.; Feistel, B.; Walbroel, B.; & Pahnke, J. *Sideritis* spp. extracts enhance memory and learning in Alzheimer's β -amyloidosis mouse models and aged C57Bl/6 mice. *J. Alzheimer's Dis.*, 2016, 53, 967–980.
- Hou, A.J.;** Li, M.L.; Jiang, B.; Lin, Z.W.; Ji, S.Y.; Zhou, Y.P. & Sun, H.D. New 7,20:14,20-Diepoxy ewf-Kauranoids from *Isodon xerophilus*. *J. Nat. Prod.*, 2000, 63, 599–601.
- Hwang, J.H.;** Lee, B.M. Inhibitory effects of plant extracts on tyrosinase, L-DOPA oxidation, and melanin synthesis. *J. Toxicol. Env. Health A.*, 2007, 70(5), 393–407.
- Iscan, G.;** Kirimer, N.; Kurkcuglu, M.; Baser, K.H.C. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two endemic species from Turkey: *Sideritis cilicica* and *Sideritis bilgerana*. *Chem. Nat. Compd.*, 2005, 41 (6), 679–682.
- Ishiguro, K.;** Yamaki, M. & Takagi S. Studies on Iridoid-Related Compounds, II. The Structure and Antimicrobial Activity of Aglucones of Galioside and Gardenoside. *J. Nat. Prod.*, 1983, 46, 532–536.
- Ivanova, D.;** Gerova, D.; Chervenkov, T.; Yankova, T. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, 2005, 96 (1-2), 145–150.
- Iwai, K.;** Kishimoto, N.; Kakino, Y.; Mochida, K.; Fujita, T. *In vitro* antioxidative effects and tyrosinase inhibitory activities of seven hydroxycinnamoyl derivatives in green coffee beans. *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52, 4893–4898.
- Jiang, WL.;** Tian, JW.; Fu, FH.; Zhu, HB.; Hou, J. Neuroprotective efficacy and therapeutic window of Forsythoside B: in a rat model of cerebral ischemia and reperfusion injury. *Eur. J. Pharmacol.*, 2010, 640 (1-3), 75–81.
- Jiang, WL.;** Yong-Xu; Zhang, S.-P.; Zhu, H.-B; and Jian-Hou. Forsythoside B Protects Against Experimental Sepsis by Modulating Inflammatory Factors. *Phytother. Res.*, 2012, 26, 981–987.
- Kacem, R.;** Meraihi, Z. Effects of essential oil extracted from *Nigella sativa* (L.) seeds and its main components on human neutrophil elastase activity. *Yakugaku Zasshi*, 2006, 126, 301–305.
- Karapandzova, M.;** Qazimi, B.; Stefkov, G.; Bačeva, K.; Stafilov, T.; Kadifkova Panovska, T.; & Kulevanova, S. Chemical characterization, mineral content and radical scavenging activity of *Sideritis scardica* and *S. raeseri* from R. Macedonia and R. Albania. *Nat. Prod. Commun.*, 2013, 8, 639–644.
- Kassi, E.;** Paliogianni, A.; Dontas, I.; Aligiannis, N.; Halabalaki, M.; Papoutsis, Z., Skaltsounis, AL., & Moutsatsou, P. Effects of *Sideritis euboea* (Lamiaceae) Aqueous Extracts on IL-6, OPG and RANKL Secretion by Osteoblasts. *Nat. Prod. Commun.*, 2011, 6, 1689–1696.
- Kilic, T.;** Yildiz, Y.K.; Goren, A.C.; Tumen, G. & Topcu, G. Phytochemical analysis of some *Sideritis* species of Türkiye. *Chem. Nat. Compd.*, 2003, 39, 453–456.
- Kilic, T.** Isolation and Biological Activity of New and Known Diterpenoids from *Sideritis stricta* Boiss. & Heldr. *Molecules*, 2006, 11, 257–262.

- Kirmizibekmez, H.;** Ariburnu, E.; Masullo, M.; Festa, M.; Capasso, A.; Yesilada, E.; Piacente, S. Iridoid, phenylethanoid and flavonoid glycosides from *Sideritis trojana*. *Fitoterapia*, 2012, 83(1), 130 – 136.
- Kirmizibekmez, H.;** Erdoğan, M.; Kúsz, N.; Karaca, N.; Erdem, U.; Demirci, F. Secondary metabolites from the aerial parts of *Sideritis germanicopolitana* and their in vitro enzyme inhibitory activities. *Nat. Prod. Res.*, 2019, 1–4.
- Knörle, R.** Extracts of *Sideritis scardica* as triple monoamine reuptake inhibitors. *J. Neural. Transm.*, 2012, 119, 1477–1482.
- Kokkalou, E.;** Gabrieli, C. A new phenylpropanoid glycoside and two flavones from *Sideritis raeseri*. *Pharmazie*, 1997, 52, 322-324.
- Koleva, I.I.;** Linssen, J.P.H.; Van Beek, T.A.; Evstatieva, L.N.; Kortenska, V.; Handjieva, N. Antioxidant activity of extracts from *Sideritis* species (Labiatae) grown in Bulgaria. *J. Sci. Food Agric.* 2003, 83 (8), 809-819.
- Kostadinova, E.;** Alipieva, K., Stefova, M., Antonova, D., Evstatieva, L., Stefkov, G., Tsvetkova, I., Naydenski, H., & Bankova, V. Influence of cultivation on the chemical composition and antimicrobial activity of *Sideritis* spp. *Pharmacogn. Mag.*, 2008, 4, 102–106.
- Kuo, P-C.;** Chen, G-F.; Yang, M-L.; Lin, Y-H.; Peng, C-C. Chemical constituents from the fruits of *Forsythia suspensa* and their antimicrobial activity. *Biomed. Res. Int.*, 2014, 304830.
- Kupeli, E.;** Sahin, F.P.; Calis, I.; Yesilada, E.; Ezer N. Phenolic compounds of *Sideritis ozturkii* and their in vivo anti-inflammatory and antinociceptive activities. *J. Ethnopharmacol.*, 2007, 112 (2), 356-360.
- Kwan, JC;** Taori, K.; Paul, VJ; Luesch, H. Lyngbyastatins 8–10, elastase inhibitors with cyclic depsipeptide scaffolds isolated from the marine cyanobacterium *Lyngbya semiplena*. *Mar. Drug*, 2009, 7, 528–538.
- Lall, N.;** Chrysargyris, A.; Lambrechts, I.; Fibrich, B.; Blom Van Staden, A.; Twilley, D.; de Canha, M.N.; Oosthuizen, C.B.; Bodiba, D.; Tzortzakis, N. *Sideritis Perfoliata* (Subsp. *Perfoliata*) Nutritive Value and Its Potential Medicinal Properties. *Antioxidants*, 2019, 8, 521.
- Lazari, DM;** Sylignaki, GI; Matta, MK; Panagiotidis, CA. Evaluation of the antiherpetical activities of *Sideritis perfoliata* L. subsp *perfoliata* (Lamiaceae). *Planta Med.*, 2006, 29, 72.
- Lee, Y.T.;** Don, M.J.; Hung, P.S.; Shen, Y.C.; Lo, Y.S.; Chang, K.W.; Chen, C.F. & Ho, L.K. (2005) Cytotoxicity of phenolic acid phenethyl esters on oral cancer cells. *Cancer Letters*, 2005, 223, 19-25.
- Lee, KJ.;** Woo, E.-R.; Choi, CY.; Shin, DW.; Lee, DG.; You, HJ.;Jeong, H. G. Protective Effect of Acteoside on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity. *Life Sci.*, 2004, 74(8), 1051–1064.
- Lindvall, O.;** Björklund, A.; Skagerberg, G. Dopamine-containing neurons in the spinal cord: anatomy and some functional aspects. *Ann. Neurol.*, 1983, 14(3), 255-60.
- Loğoğlu, E.;** Arslan, S.; Öktemer, A.; Şakōyan, I. Biological activities of some natural compounds from *Sideritis sipylea* Boiss. *Phytother. Res.*, 2006, 20, 294–297.
- Maalik, A.;** Bukhari, SM; Zaidi, A.; Shah, KH; Khan, FA. Chlorogenic acid: A pharmacologically potent molecule. *Acta Pol. Pharm.*, 2016, 73, 851–854.
- Marxen, K.;** Vanselow, K.H.; Lippemeier, S.; Hintze, R.; Ruser, A.; Hansen, U.P. Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgae species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements. *Sensors*, 2007, 7, 2080–2095.
- Masuda, T.;** Yamashita, D.; Takeda, Y; Yonemori, S.; Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*. *Biosci. Biotech. Bioch.*, 2005, 69(1), 197–201.

- Meinwald, J.;** Chadha, M.S.; Hurst, J.J. & Eisner, T. Defense mechanisms of arthropods - IX anisomorph, the secretion of a phasmid insect. *Tetrahedron Lett.*, 1962, 3, 29-33.
- Menkovic, N.R.;** Kovacevic, N.N.; Savin, K. & Ristic, M.S. Investigation of flavonoid complex of *Sideritis montana* L. from different localities of Serbia. 344: International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants *Acta Hort.*, 1993, (ISHS) 344, 582-584.
- Moghaddam, G.;** Ebrahim, S.A.; Rahbar-Roshandel, N.; Foroumad, A. Antiproliferative activity of flavonoids: Influence of the sequential methoxylation state of the flavonoid structure. *Phytother. Res.*, 2011, 26(7), 1023–1028.
- Moroney, M. -A.;** Alcaraz, M. J.; Forder, R. A.; Carey, F.; & Hoult, J. R. S. Selectivity of neutrophil-5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1988, 40, 787–792.
- Moutinho, MSS;** Aragao, S.; Carmo, D.; Casaca, F.; Silva, S.; Ribeiro, J.; Sousa, H.; Pires, I.; Queiroga, F. Curcumin and rutin down-regulate cyclooxygenase-2 and reduce tumor-associated inflammation in HPV16-transgenic mice. *Anticancer Res.*, 2018, 38, 1461–1466.
- Musa Ozcan, M.;** Unver, A.; Ucar, T.; Arslan, D. Mineral content of some herbs and herbal teas by infusion and decoction. *Food Chem.*, 2008, 106 (3), 1120- 1127.
- Nakiboglu, M.;** Ozturk-Urek, R.; Ayar-Kayali, H.; Tarhan, L. Antioxidant capacities of endemic *Sideritis sipylea* and *Origanum sipyleum* from Turkey. *Food Chem.*, 2007, 104, 630–635.
- Navarro, A.;** de las Heras, B.; & Villar, A. Anti-inflammatory and immunomodulating properties of a sterol fraction from *Sideritis foetens* Clem. *Biol. Pharm. Bull.*, 2001, 24, 470–473.
- Naveed, M.;** Hejazi, V.; Abbas, M.; Kamboh, AA; Khan, GJ; Shumzaid, M, et al. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomed. Pharmacother.*, 2018, 97, 67–74.
- Ohno, T.;** Inoue, M.; Ogihara, Y.; Saracoglu, I. Antimetastatic activity of acteoside, a phenylethanoid glycoside. *Biol. Pharm. Bull.*, 2002, 25(5), 666-8.
- Opie, LH;** Lecour, S. The red wine hypothesis: From concepts to protective signalling molecules. *Eur Heart J.*, 2007, 28, 1683–1693.
- Papaefstathiou, G.;** Aligiannis, N.; Fokialakis, N., & Skaltsounis, L. . Metabolic profiling and antioxidant activity of *Sideritis* species growing in southeast Europe. *Planta Med.*, 2014, 80, P2B105.
- Papanicolaou, K.;** Kokkini, S. A thin-layer chromatographic study of some chemical leaf constitutions in *Sideritis* L. sect. *Empedoclia* (rafin.) Bentham (Labiatae) in Greece. *Feddes Repert.*, 1984, 95, Heft 5-6, 359-368.
- Peng, XM.;** Gao, L.; Huo, SX.; Liu, XM.; Yan, M. The Mechanism of Memory Enhancement of Acteoside (Verbascoside) in the Senescent Mouse Model Induced by a Combination of D-gal and AlCl₃. *Phytother. Res.*, 2015, 29(8), 1137-44.
- Petreska, J.;** Stefova, M.; Ferreres, F.; Moreno, DA.; Tomas-Barberan, FA; Stefkov, G.; Kulevanova, S.; Gil-Izquierdo. Potential bioactive phenolics of Macedonian *Sideritis* species used for medicinal “mountain tea”. *Food Chem.*, 2011, 125, 13-20.
- Petreska Stanoeva, J.;** Stefova, M. Assay of urinary excretion of polyphenols after ingestion of a cup of mountain tea (*Sideritis scardica*) measured by HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, 61(44), 10488–10497.
- Phitos, D.;** Constantinidis, T.; Kamari, G. (2009). The Red Data Book of Rare and Threatened Plants of Greece; Hellenic Botanical Society: Patra, Greek.
- Plioukas, M.;** Termentzi, A.; Gabrieli, C.; Zervou, M.; Panaglotis, K.; Kokkalou, E. Novel acylflavones from *Sideritis syriaca* ssp. *syriaca*. *Food Chem.*, 2010, 123, 1136– 1141.

- Proestos, C.;** Kapsokefalou, M.; Komaitis, M. Analysis of naturally occurring phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS after silylation. *J. Food Qual.*, 2008, 31 (3), 402-414.
- Re, R.;** Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, 26 (9-10), 1231-7.
- Sannomiya, M.;** Fonseca, V.B.; da Silva, M.A.; Rocha, L.R.M.; dos Santos, L.C.; Hiruma-Lima, C.A.; Brito, A.R.M.S. & Vilegas, W. Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *J. Ethnopharm.*, 2005, 97, 1-6.
- Santana-Gálvez, J.;** Cisneros-Zevallos, L.; Jacobo-Velázquez, DA. Chlorogenic acid: Recent advances on its dual role as a food additive and a nutraceutical against metabolic syndrome. *Molecules*, 2017, 22(3), 358.
- Sarian, M. N.;** Ahmed, Q. U.; Mat So'ad, S. Z.; Alhassan, A. M.; Murugesu, S.; Perumal, V. Antioxidant and Antidiabetic Effects of Flavonoids: A Structure-Activity Relationship Based Study. *BioMed. Res. Int.*, 2017, 1–14.
- Sarikurkcü, C.;** Locatelli, M.; Mocan, A.; Zengin, G.; Kirkan, B. Phenolic profile and bioactivities of *Sideritis perfoliata* L.: The plant, its most active extract, and its broad biological properties. *Front. Pharmacol.*, 2020, 10: 1642.
- Sattar, A.A.;** Bankova, V.; Spassov, S.; Duddeck, H. Flavonoid glycosides from *Sideritis* species. *Fitoterapia*, 1993, 64 (3), 278-279.
- Sezik, E.;** Ezer, N.; Hueso-Rodriguez, J.A.; Rodriguez, B. Ent-2 α -hydroxy-13-epi- manoyl oxide from *Sideritis perfoliata*. *Phytochemistry*, 1985, 24 (11), 2739-2740.
- Son, Y.O.;** Lee, S.A.; Kim, S.S.; Jang, Y.S.; Chun, J.C.; Lee, J.C. Acteoside inhibits melanogenesis in B16F10 cells through ERK activation and tyrosinase down-regulation. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2011, 63, 1309–1319.
- Stanoeva, J. P., &** Stefova, M. Assay of urinary excretion of polyphenols after ingestion of a cup of mountain tea (*Sideritis scardica*) measured by HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, 61, 10488–10497.
- Sticher, O.** (1977) Plant mono-, di and sesquiterpenoids with pharmacological or Therapeutical Activity. In: WAGNER, H. & WOLFF, P. (eds): New Natural Products and plant drugs with pharmacological, biological or Therapeutical Activity. Springer Verlag, 137-176.
- Tadić, V.;** Bojović, D.; Arsić, I.; Đorđević, S.; Aksentijević, K.; Stamenić, M.; Janković, S. Chemical and Antimicrobial Evaluation of Supercritical and Conventional *Sideritis scardica* Griseb., Lamiaceae Extracts. *Molecules*, 2012, 17(3), 2683–2703.
- Taskova, R.;** Mitova, M.; Evstatieva, L.; Ančev, M.; Peev, D.; Handjieva, N.; Bankova, V.; & Popov, S. Iridoids, flavonoids and terpenoids as taxonomic markers in Lamiaceae, Scrophulariaceae, and Rubiaceae. *Boccone*, 1997, 5, 631–636.
- Tepe, B.;** Sokmen, M.; Akpulat, H.A.; Yumrutas, O.; Sokmen, A. Screening of antioxidative properties of the methanolic extracts of *Pelargonium endlicherianum* Fenzl., *Verbascum wiedemannianum* Fisch. & Mey., *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis* (Bentham) Borm., *Centaurea mucronifera* DC. and *Hieracium cappadocicum* Frayne from Turkish flora. *Food Chem.*, 2006, 98 (1), 9-13.
- Thring, T.S.;** Hill, P.; Naughton, D.P. Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complem. Altern. Med.*, 2009, 9 (2).
- Todorova, M., &** Trendafilova, A. *Sideritis scardica* Griseb., an endemic species of Balkan Peninsula: Traditional uses, cultivation, chemical composition, biological activity. *J. Ethnopharmacol.*, 2014, 152, 256–265.

- Tomás-Barberán, F.A.**, Rejdali, M., Harborne, J.B., Heywood, V.H.. External and vacuolar flavonoids from Ibero-North African *Sideritis* species. A chemosystematic approach. *Phytochemistry*, 1988, 27, 165–170.
- Tomou, E. M.**; Chatzopoulou, P.; Skaltsa, H. NMR analysis of cultivated *Sideritis euboea* Heldr. *Phytochem. Anal.*, 2019, 31, 1–9.
- Tošović, J.**; Marković, S.; Dimitrić Marković, JM; Mojović, M.; Milenković, D. Antioxidative mechanisms in chlorogenic acid. *Food Chem.*, 2017, 237, 390–398.
- Topcu, G.**; Goren, A.C.; Yildiz, Y.K.; Tumen G. Ent-kaurene diterpenes from *Sideritis athoa*. *Nat. Prod. Lett.*, 1999, 14 (2), 123-9.
- Topcu, G.**; Goren, A.C.; Kilic, T.; Yildiz, Y.K.; Tumen, G. Diterpenes from *Sideritis sipylea* and *S. dichotoma*. *Turk. J. Chem.*, 2002, 26 (2), 189-194.
- Triantaphyllou, K.**; Blekas, G.; Boskou, D. Antioxidative properties of water extracts from herbs of the species Lamiaceae. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2001, 52 (4), 313-317.
- Tsaknis, J.**; & **Lalas, S.** Extraction and Identification of Natural Antioxidant from *Sideritis euboea* (Mountain Tea). *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53, 6375-6381.
- Tunalier, Z.**; Kosar, M.; Ozturk, N.; Baser, K.H.C.; Duman, H.; Kirimer, N. 2004. Antioxidant properties and phenolic composition of *Sideritis* species. *Chem. Nat. Compd.*, 2004. 40 (3), 206-210.
- Tundis, R.**; Bonesi, M.; Pugliese, A.; Nadjafi, F.; Menichini, F.; Loizzo, M.R. Tyrosinase, acetyl- and butyryl-cholinesterase inhibitory activity of *Stachys lavandulifolia* Vahl (Lamiaceae) and Its major constituents. *Rec. Nat. Prod.*, 2015, 9, 81–93.
- Turkmenoglu, F.**; Baysal, I.; Ciftci-Yabanoglu, S.; Yelekci, K.; Temel, H.; Pasa, S.; Flavonoids from *Sideritis* species: human monoamine oxidase (hMAO) inhibitory activities, molecular docking studies and crystal structure of Xanthomicrol. *Molecules*, 2015, 20, 7454–73.
- Turner, R.**; Etienne, N.; Alonso, M.G.; de Pasqual-Teresa, S.; Minihane, A.M.; Weinberg, P.D. Rimbach, G. Antioxidant and anti-atherogenic activities of olive oil phenolics. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 2005, 75, 61-70.
- Tunalier, Z.**, Kosar, M., Ozturk, N., and Baser, H. C. Antioxidant properties and phenolic composition of *Sideritis* species. *Chem. Nat. Compd.*, 2004, 40, 206–210.
- Ugur, A.**; Varol, O.; Ceylan, O. Antibacterial activity of *Sideritis curvidens* and *Sideritis lanata* from Turkey. *Pharm. Biol.*, 2005, 43 (1), 47-52.
- Vargas, F.**; Romecín, P.; García-Guillén, A. I.; Wangesteen, R.; Vargas-Tendero, P.; Paredes, M. D.; García-Estañ, J. Flavonoids in Kidney Health and Disease. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9.
- Valko, M.**; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Cronin, M.T.; Mazur, M.; Telser, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human diseases. *Int. J. Biochem. Cell B.*, 2007, 39 (1), 44–84.
- Vasilopoulou, C.G.**; Kontogianni, V.G.; Linardaki, Z.I.; Iatrou, G.; Lamari, F.N.; Nerantzaki, A.A.; Gerothanassis, I.P.; Tzakos, A.G.; Margarity, M. Phytochemical composition of “mountain tea” from *Sideritis clandestina* subsp. *clandestina* and evaluation of its behavioural and oxidant / antioxidant effects on adult mice. *Eur. J. Nutr.*, 2013, 52, 107-116.
- Venditti, A.**; Frezza, C.; Serafini, M.; Giacomello, G.; Giuliani, C.; Bramucci, M.; Quassinti, L.; Lupidi, G.; Lucarini, D.; Papa, F.; Maggi, F. Secondary Metabolites, Glandular Trichomes and Biological Activity of *Sideritis montana* L. subsp. *montana* from Central Italy. *Chem. Biodivers.*, 2016, 13(10), 1380 – 1390.
- Venturella, P.** & Bellino, A. Eubotriol and eubol, new diterpenes from *Sideritis euboea*. *Experientia*, 1977a, 33, 1270-1271.
- Venturella, P.** & Bellino, A. Diterpenes from some Greek *Sideritis* species. *Fitoterapia*, 1977b, 48,3-4.

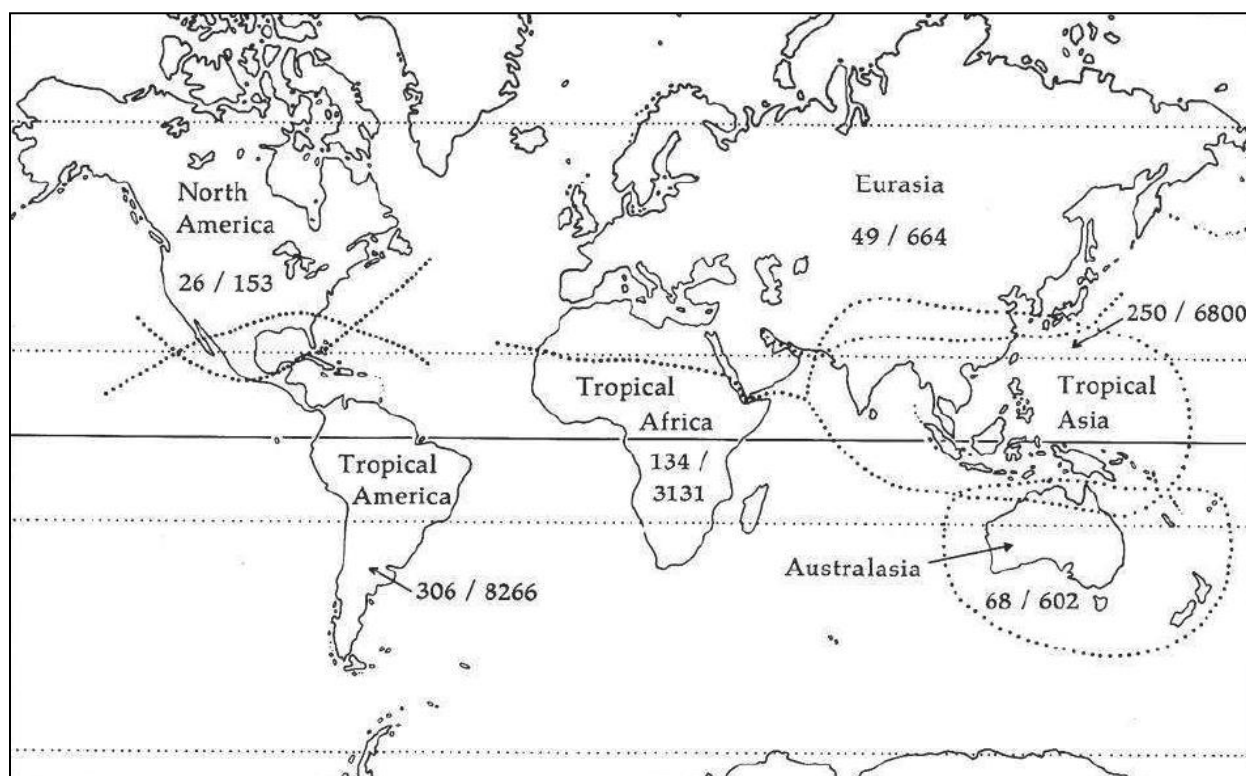
- Venturella, P.** & Bellino, A. Isolation and partial synthesis of ent-18-acetoxykaur-16-ene-3 β ,7 α ,15 β -triol from *Sideritis scardica*. *Phytochemistry*, 1979, 18, 1571-1572.
- Venturella, P.**; Bellino, A.; Marino, M.L. Ucriol, an epoxy-diterpene from *Sideritis syriaca*. *Phytochemistry*, 1983a, 22 (2), 600-1.
- Venturella, P.**; Bellino, A.; Marino, M.L. Siderone, a diterpene from *Sideritis syriaca*. *Phytochemistry*, 1983b, 22 (11), 2537-8.
- Venturella, P.**; Bellino, A. & Marino, M.L. Three acylated flavone glycosides from *Sideritis syriaca*. *Phytochemistry*, 1995, 38, 527-530.
- Vertuani, S.**; Erika Beghelli, E.; Scalambra, E.; Malisardi, G.; Copetti, S.; Dal Toso, R.; Baldisserotto, A.; Manfredini, S. Activity and stability studies of verbascoside, a novel antioxidant, in dermo-cosmetic and pharmaceutical topical formulations. *Molecules*, 2011, 16, 7068–7080.
- Villar, M. J.**, Jiménez, A.; & Alcaraz, M. J. The anti-inflammatory activity of the genus *Sideritis*: a new insight. *Plantas medicinales et phytothérapie*, 1986, 20, 31–36.
- Visanji, NP**; Orsi, A.; Johnston, TH; Howson, PA; Dixon, K.; Callizot, N. PYM50028, a novel, orally active, nonpeptide neurotrophic factor inducer, prevents and reverses neuronal damage induced by MPP+ in mesencephalic neurons and by MPTP in a mouse model of Parkinson's disease. *FASEB J. Off Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, 2008, 22, 2488–2497.
- Wang, C.**; Gong, X.; Bo, A.; Zhangm L.; Zhang, M.; Znag, E.; Zhang, C.; Li, M. Iridoids: Research Advances in Their Phytochemistry, Biological Activities, and Pharmacokinetics. *Molecules*, 2020, 25(2), 287.
- Wen, A.**; Delaquis, P.; Stanich, K. & Toivonen, P. Antilisterial activity of selected phenolic acids. *Food Microbiol.*, 2003, 20, 305-311.
- Wong, Y.F.I.**; Ziteng-Dan, H.; Huang, Y. & Chen Z.Y. Antioxidative activities of phenylethanoid glycosides from *Ligustrum purpurascens*. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49, 3113-3119.
- Wulle I.**, Schnitzer J. Distribution and morphology of tyrosine hydroxylase-immunoreactive neurons in the developing mouse retina. *Brain Res. Dev. Brain Res.*, 1989, 48, 59–72.
- Yamauchi, K.**; Fujimoto, N.; Kuwano, S.; Inouye, H.; Inoue, K. The mechanism of purgative action of geniposide, an iridoid of the fruit of *Gardenia*, in mice. *Planta Med.*, 1976, 30, 39-47.
- Zarzuelo, A.**; Garcia, E.; Jiménez, J.; Ocete, M. A.; Utrilla, P.; & Socorro, O. Anti-inflammatory and anti-ulcerative activity of various species of the genus *Sideritis* from the Alpujarra region of Spain. *Fitoterapia*, 1993, 64, 26–30.
- Γεννάδιος, Π.**, Λεξικόν Φυτολογικόν, Γκιούρδα, 1959.
- Γκόλιαρης Απ.** Καλλιέργεια, αυτοφυή είδη και βελτίωση στο ελληνικό τσάι του βουνού (*Sideritis* L.). ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. Τμήμα Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών.

Κεφάλαιο 5

Φυτοχημική Ανάλυση και Βιολογική Αξιολόγηση των Υποπροϊόντων καλλιέργειας της ορχιδέας *Cymbidium* sp. από την νήσο Σάμο

Γενικά

Η οικογένεια Orchidaceae είναι μία από τις μεγαλύτερες βοτανικές οικογένειες ανθοφόρων φυτών με συνολικό αριθμό ειδών που κυμαίνεται μεταξύ 25.000 και 35.000 ([Gutiérrez, 2010](#); [Musharof Hossain, 2011](#)). Ο αριθμός τους αυξάνεται συνεχώς και σύμφωνα με το “[The Plant List](#)”, περιλαμβάνει σήμερα περί τα 27.801 είδη, κατανεμημένα σε 925 γένη, ενώ υπάρχουν πολλά ονόματα ορχιδέων που θεωρούνται συνώνυμα βοτανικά και γίνεται μία πολύ μεγάλη προσπάθεια στην τελική ταξινόμησή τους. Εξαιτίας της μοναδικής προσαρμοστικότητάς τους, οι ορχιδέες διανέμονται σε πάνω από ένα τέταρτο της επιφάνειας της γης. Τα πιο γνωστά είδη ορχιδέας βρίσκονται αφ’ ενός στην κεντρική και τροπική Νότιο Αμερική και στις δυτικές Ινδίες και αφ’ ετέρου σε περιοχές όπως Ινδία, Κίνα, Ταϊβάν, Βιρμανία, Ταϊλάνδη, Βιετνάμ,, Φιλιππίνες, Ανατολικές Ινδίες και την Αυστραλία ([Dresler, 1990](#)).



Εικόνα 5.1. Γεωγραφική εξάπλωση των Ορχιδέων

Ο Θεόφραστος ήταν ο πρώτος από τους αρχαίους συγγραφείς που αναφέρθηκαν στις ορχιδέες. Έδωσε την ονομασία «Ορχις» επιστημονικά, από τον μύθο του Όρχι και παράλληλα από την ομοιότητά της διπλοκόνδυλης ρίζας τους με τα ανδρικά γεννητικά όργανα. Υπάρχουν αναφορές στα αρχαία κείμενα ότι οι αρχαίοι Έλληνες μπορούσαν να ελέγξουν το φύλο των αγέννητων παιδιών τους τρώγοντας κονδύλους ορχιδέας. Οι Κινέζοι με την σειρά τους τις χρησιμοποιούσαν και τις χρησιμοποιούν ακόμα και σήμερα σε αμέτρητες συνταγές λαϊκής θεραπευτικής. Από την αρχή του 18^{ου} αιώνα, καθιερώθηκε η συγκομιδή της

ορχιδέας σε πολλά σημεία του κόσμου και έτσι ξεκίνησε η εξάπλωσή τους ανα την υφήλιο και αποτελεί προϊόν πολύ μεγάλης οικονομικής σημασίας.

Η ποικιλομορφία στα άνθη τους έχει κινήσει το ενδιαφέρον για την καλλιέργειά της με αποτέλεσμα έναν τεράστιο αριθμό υβριδίων που δυσκολεύει ακόμα περισσότερο την ταξινόμησή τους.

Από τα 2000 είδη που περιλαμβάνει η οικογένεια των Ορχεοειδών στο φυτικό βασίλειο, περίπου 350 φυτρώνουν στην Ευρώπη ως γεώφυτα. Στην Ελλάδα το κλίμα και η γεωμορφολογία του εδάφους επιτρέπει την ανάπτυξη 130 ειδών με υποείδη και ποικιλίες κάτι το οποίο την κατατάσει στην πρώτη θέση πανευρωπαϊκά. Από αυτά το 1/3 είναι ενδημικά.

Η συστηματική καλλιέργεια της Ορχιδέας ξεκίνησε στις αρχές του 20^{ου} αιώνα όπου η μεγάλη ζήτησή τους ώθησε στην συστηματική παραγωγή τους. Το 1913 ιδρύθηκε στην Σιγκαπούρη η επιχείρηση Sun Kee η οποία έως και σήμερα διατηρεί μία έκταση περί των 130στρ. με καλλιέργειες των γενών *Arahis*, *Aranda* και *Aranthera*, τα κομμένα άνθη των οποίων εξάγονται στην Ευρώπη. Μέχρι σήμερα από την συστηματική τους καλλιέργεια έχουν προκύψει περισσότερα από 100.000 υβρίδια ειδικά για να αυξηθεί η χρωματική ποικιλομορφία στα άνθη. Οι καλλιεργούμενες ορχιδέες αποτελούν πλέον κηπευτικό προϊόν μεγάλης οικονομικής σημασίας. Ένα από τα πιο γνωστά διακοσμητικά είδη ορχιδέας είναι η *Paphiopedilum wardii* ([Gutiérrez 2010](#)).

Στην Ιαπωνία το «ραν» που η ιαπωνική λέξη για την ορχιδέα αποτελούσε το σύμβολο της αρετής, της απλότητας και της πλήρους θηλυκότητας. Τα είδη ορχιδέας που περιγράφονται στη ιαπωνική βιβλιογραφία είναι τα είδη από το γένος *Cymbidium*, *Dendrobium* και *Bletilla*, καθώς επίσης και *Aerides* και *Neofinetia* ([Hossain, 2011](#)).

Στην Ελλάδα υπάρχουν μόνο δύο μονάδες συστηματικής καλλιέργειας ορχιδέας σε θερμοκήπιο, στην νήσο Σάμο. Αυτό οφείλεται κυρίως στα εδαφοκλιματολογικά χαρακτηριστικά, αλλά και στην συστηματική επιστημονική ενασχόληση ανθρώπων της περιοχής με το αντικείμενο. Η ετήσια παραγωγή της ορχιδέας *Cymbidium* από τις θερμοκηπιακές μονάδες της Σάμου, ανέρχεται σε περισσότερα από 100.000 φυτά από 80 διαφορετικές ποικιλίες. Επομένως γίνεται αντιληπτός ο τεράστιος όγκος βιομάζας υποπροϊόντων που παράγεται κατά τις διαδικασίες καλλιέργειάς του, από το οποίο εμπορεύονται μόνο τα άνθη. Τα υπόλοιπα τμήματα του φυτού (ψευδοβολβοί, ρίζες, φύλλα και ξηραμένα-μη εμπορεύσιμα άνθη) χρησιμοποιούνται σαν λίπασμα στα αγροκτήματα.

Στο πλαίσιο λοιπόν της λεγόμενης κυκλικής οικονομίας στον αγροδιατροφικό τομέα του Βορείου Αιγαίου η παρούσα μελέτη περιλαμβάνει την βιολογική και φυτοχημική αξιολόγηση των υποπροϊόντων της καλλιεργούμενης ορχιδέας *Cymbidium*, με στόχο την αξιοποίησή τους στον τομέα της κοσμητολογίας.

5.1. Βοτανικά Χαρακτηριστικά της οικογένειας *Orchidaceae*

5.1.α. Ταξινόμηση και Ονοματολογία

Βασίλειο (Regnum):	Plantae
Διαίρεση (Divisio):	Magnoliophytes
Κλάση (Classis):	Liliopsides
Τάξη (Ordo):	Asparagales
Οικογένεια (Familia):	Orchidaceae
Γένος (Genus):	<i>Cymbidium</i>
Είδος (Species):	<i>Cymbidium</i> sp. (υβρίδιο)

Οι ορχιδέες είναι ποώδη, χερσαία ή επιφυτικά φυτά (δηλαδή φυτά που αναπτύσσονται σε ένα στήριγμα, όπως ένα δένδρο, τον κορμό ή τα κλαδιά του). Ορισμένα είδη ορχιδέων εμφανίζονται σε προεξοχές βράχων και αναπτύσσουν ιδιότητες λιθοφυτικών ειδών. Ένας μικρός αριθμός ειδών ορχιδέας στερείται πράσινων φύλλων και αναπτύσσονται όπως τα σαπρόφυτα: τρέφονται με οργανική ύλη, προϊόν αποσύνθεσης. Αυτό συμβαίνει με ορισμένα είδη όπως *Habenaria* ή *Eulophia* ([Lecoufle, 2004](#)).

Υπάγονται στην τάξη ανθοφόρων φυτών μικρόσπερμα (*Microspermae*) και περιλαμβάνουν χιλιάδες υβρίδια. Είναι μονοκότυλα, πολυετή φυτά, μικρής ανάπτυξης. Οι περισσότερες ορχιδέες αναπτύσσονται στο χώμα (επίγειες), όμως μερικές είναι επίφυτες. Το είδος *Epiphytes* που μεγαλώνει στα δέντρα και σε άλλα φυτά. Έχουν μεγάλες εναέριες ρίζες και παίρνουν τις θρεπτικές ουσίες από την σκόνη του αέρα και το βρόχινο νερό. Τα επίφυτα που καλλιεργούνται εμπορικά περιλαμβάνουν τις *Cattleya* και *Phalaenopsis*. Οι πιο σημαντικές εμπορικές σοδειές είναι οι ορχιδέες *Cattleya* και *Laelia* και τα διάφορα υβρίδια που προέρχονται από αυτές. Οι χερσαίες ορχιδέες που αναπτύσσονται για το εμπόριο είναι οι *Calanthe*, *Cymbidium*, *Cypripedium* και *Vanda*.

Οι ορχιδέες έχουν δύο συνήθειες ανάπτυξης: αναπτύσσονται είτε κάθετα (μοναποδιακή ανάπτυξη) είτε οριζόντια (συμποδιακή ανάπτυξη).

- **Μοναποδιακή ανάπτυξη:** είναι από τις πιο γνωστές μορφές ανάπτυξης. Δεν υπάρχει ρίζωμα αλλά μόνο ένα κοτσάνι το οποίο συνεχίζει την ανάπτυξή τους από την κορυφή του. Ο ακραίος οφθαλμός αναπτύσσεται σε μια κάθετη θέση και από τον βλαστό αναπτύσσονται νέες ρίζες. Όπως και στα περισσότερα λουλούδια αυτή η μορφή ανάπτυξης είναι κάθετη.
- **Συμποδιακή ανάπτυξη:** τα σύγκαρπα φυτά έχουν ένα ρίζωμα το οποίο μεγαλώνει οριζοντίως. Ο βλαστός αναπτύσσεται κατά μήκος της επιφάνειας του μέσου ανάπτυξης. Μετά από μια ή δύο

περιόδους το βλαστάρι σταματάει να αναπτύσσεται και σχηματίζει έναν ψευδοβολβό και ένα φύλλο για κάλυμμα λουλουδιού. Κάθε ψευδοβολβός ακολουθεί τον επόμενο και παράγει τον διάδοχό του από ένα φύτρωμα ή μπουμπούκι από την βάση του. Οι ορχιδέες που έχουν συμποδιακή ανάπτυξη είναι *Cattleya* και *Cymbidium* ([Mc Kenzie Black, 1982](#)).

Υπάρχουν και γένη ορχιδέας που είναι αναρριχώμενα (το *Vanilla*). Το φυτό αυτό μπορεί να αναρριχηθεί όπου υπάρχει παρουσία φωτός και μεγαλώνει σε αρκετά μέρη του πλανήτη από το Μεξικό έως και τις δυτικές Ινδίες.

5.1.β. Μέρη του Φυτού

5.1.β.1. Άνθη

Τα άνθη στις ορχιδέες είναι μεταμορφωμένα φύλλα που προκύπτουν από τους ανθοφόρους οφθαλμούς που βρίσκονται στις μασχάλες των φύλλων. Τα άνθη των Ορχεοειδών αποτελούνται από έξι ανθόφυλλα τα οποία είναι διατεταγμένα σε δύο κύκλους. Τα τρία εξωτερικά που λέγονται σέπαλα έχουν περίπου το ίδιο μέγεθος και καλύπτουν εξωτερικά το άνθος όταν αυτό είναι ακόμα μπουμπούκι. Το δύο πλαϊνά, από τον εξωτερικό κύκλο, ονομάζονται πέταλα, είναι πολύ μικρότερα από το μεσαίο εσωτερικό, το οποίο πέφτει προς τα κάτω και αποτελεί την γλώσσα ή το χείλος του άνθους (labellum). Το χείλος με την σειρά του είναι χωρισμένο σε κόλπους (εγκοπές) και σχηματίζει λοβία τα οποία έχουν διάφορα χρώματα ή σχήματα, φέρουν χνούδι ή μικρές τρίχες και πολλές φορές κηλίδες διαφόρων χρωμάτων (σημάδια).



Εικόνα 5.2. Άνθη ορχιδέας ποικιλίας *Cymbidium* sp.

Από το κέντρο του άνθους και προς τα επάνω υπάρχει μια προεξοχή που περιλαμβάνει τα αρσενικά (ανθηρίδια) και τα θηλυκά (στίγμα) όργανα του άνθους και λέγεται κύονας. Προς την κορυφή του κύονα βρίσκονται τα ανθηρίδια κολλημένα σ' ένα σώμα και κάτω από αυτά βρίσκεται το στίγμα. Το άνθος

ποικίλει σε σχήμα και μέγεθος, από μερικά χιλιοστά μέχρι και 45εκ. σε διάμετρο. Απαντάται σχεδόν σε όλα τα χρώματα και αποχρώσεις. Υπάρχουν διχρωμίες και τριχρωμίες.

5.1.β.2. Τα φύλλα

Τα φύλλα των ορχεοειδών ανάλογα με τα είδη ή τα γένη έχουν διάφορα σχήματα, όπως στενόμακρα και ευθύγραμμα, οξέος λογχοειδή, ελλειψοειδή, καρδιοειδή, είναι παχιά ή δερματώδη και είτε λεπτά και μαλακά. Συνήθως εμφανίζονται εναλλασσόμενα κατά μήκος του βλαστού. Τα φύλλα παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους όσο αφορά την διάταξη στο στέλεχος, τις κηλίδες, αλλά η σχεδόν παράλληλη νεύρωση των φύλλων σε όλα τα είδη ορχιδέων είναι το βασικό χαρακτηριστικό γνώρισμα της οικογένειας αυτής ([Lecoufle, 2004](#)).

5.1.β.3. Ψευδοβολβοί

Οι ψευδοβολβοί είναι σημαντικά όργανα αποθέματος νερού και εμφανίζονται κυρίως στις επιφυτικές ορχιδέες. Είναι σε θέση να διατηρούν έως και το 90 με 95% του νερού ακόμα και σε περιόδους ξηρασίας και μπορούν να διατηρήσουν έως και το 64% της υγρασίας μετά από 42 ημέρες σε άνυδρη περιοχή και απουσία βροχοπτώσεων (**Εικόνα 5.3**).



Εικόνα 5.3. Ψευδοβολβός ορχιδέας *Cymbidium* sp. (εγκάρσια τομή).

Η αντοχή στην έλλειψη θρεπτικών συστατικών συνδέεται επίσης με την ανάπτυξη των ψευδοβολβών. Η ανάλυση του ιστού έδειξε ότι η συγκέντρωση των θρεπτικών συστατικών διαμορφώνεται ανάλογα με τις περιόδους του έτους και την ανάπτυξη του φυτού. Κατά την διάρκεια ανάπτυξης νέων ψευδοβολβών παρατηρείται μείωση των ανόργανων στοιχείων ([Ng, 2000](#)). Επίσης είναι γνωστό ότι τα αποθέματα υδατανθράκων στους ψευδοβολβούς είναι ιδιαίτερα σημαντική για την ανάπτυξη των νέων ταξιανθιών,

καθώς η φωτοσύνθεση σαν μοναδική πηγή δεν είναι επαρκής κατά την διάρκεια της βλαστικής ανάπτυξης (Ng, 2000).

5.1.β.4. Οι ρίζες

Το ριζικό σύστημα διαφέρει στα διάφορα είδη των ορχιδέων. Διαφέρουν από τις υπόλοιπες ρίζες των φυτών επειδή είναι ομοιόμορφες σε μέγεθος σε όλο το μήκος τους και όλες εκτείνονται από την κεντρική γραμμή του φυτού. Οι ψευδοβολβοί δεν είναι ποτέ εμφανείς. Στα χερσαία είδη, τα υπόγεια τμήματα είναι συχνά μικροί κόνδυλοι. Σε επιφυτικές ορχιδέες, οι ρίζες είναι εναέριες, συχνά κρεμασμένες, μακριές, στρογγυλές και σαρκώδεις (*Aerides*). Στο γένος *Dendrobium* οι ανεπτυγμένες ρίζες είναι πολυάριθμες και λεπτές και πολλές φορές μπορούν να ξεπερνούν τα 2/3 του βάρους του φυτού.

Η κύρια λειτουργία των εναέριων ριζών είναι να συγκρατούν το φυτό με ασφάλεια. Παράλληλα οι εναέριες ρίζες είναι σε θέση να απορροφούν υγρασία και θρεπτικά συστατικά από την ατμόσφαιρα. Στερούνται απορροφητικών τριχών, οι οποίες αντικαθίστανται από την βελαμίνη και σχηματίζεται από υγροσκοπικά κύτταρα. Αποτελεί προστατευτικό στρώμα για να διατηρεί την υγρασία του φυτού σε περίοδο ξηρασίας.

Στον συγκεκριμένο τύπο καλλιεργούμενης ορχιδέας παρουσιάζεται ένα ριζικό σύστημα ανάλογο με αυτό των ορχιδέων τύπου *Dendrobium*.

5.2. Καλλιεργούμενα γένη και είδη ορχιδέων στην νήσο Σάμο

Η οικογένεια των ορχιδέων όπως αναφέραμε σε προηγούμενη ενότητα, αποτελείται από 700 περίπου γένη και πάνω από 30.000 είδη. Τα τέσσερα που καλλιεργούνται στην νήσο Σάμο είναι:

5.2.1. *Cymbidium* (Standard – Mini)

Είναι από τα πιο διαδεδομένα και γνωστά γένη ορχιδέων και αυτό οφείλεται κυρίως στην εύκολη καλλιέργειά τους, τα άνθη τους έχουν μια ευρεία κλίμακα αρμονικών χρωμάτων με μακριά ανθοταξία και πλούσια (10-20 και περισσότερα άνθη). Το φύλλωμα τους είναι αρμονικό και τα φυτά μπορεί να διατίθενται ως γλαστρικά, ιδιαίτερα οι μινιατούρες που έχουν αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια στις θερμοκηπιακές καλλιέργειες. Παράλληλη η εισόδός τους στην παραγωγή είναι σχετικά ταχεία συγκριτικά με άλλα είδη ορχιδέας και δεν απαιτούν υψηλές θερμοκρασίες για την καλλιέργειά τους.

Συναντώνται αυτοφυή σε Κορέα, Ιαπωνία, Κίνα, Φορμόζα, Φιλιππίνες, νοτιανατολική Ασία, μέχρι την Νέα Γουινέα και την Αυστραλία. Παρατηρείται υβριδισμός των αυτοφυών στην Ευρώπη, ΗΠΑ και Αυστραλία από το 1945 και μετά.

5.2.2. *Cattleya*

Το γένος περιλαμβάνει 65 περίπου είδη, με αναρίθμητες ποικιλές και υβρίδια που έχουν παραχθεί τόσο φυσιολογικά όσο και τεχνητά. Αυτά τα είδη είναι διαδεδομένα στην τροπική Αμερική, στην περιοχή των Άνδεων της βόρειας και νοτιοδυτικής Αμερικής και την Βραζιλία κυρίως στις παραθαλάσσιες περιοχές. Είναι επίφυτο, δηλαδή αναπτύσσεται πάνω στους κορμούς των δέντρων χωρίς αυτό να είναι παράσιτο.

5.2.3. *Phalaenopsis*

Αυτοφυείς ορχιδέες στην νοτιοδυτική Ασία, στην Ισημερινή τροπική ζώνη (Ινδία, Μαλαισία, Φιλιππίνες) και στην Αυστραλία. Συνήθως αναπτύσσονται σε χαμηλά υψόμετρα (200-400μ.) σαν επίφυτα. Είναι φυτό των τροπικών περιοχών της Ανατολικής Ασίας. Οι ορχιδέες αυτές χαρακτηρίζονται από έλλειψη ψευδοβολβών, μονοποδιακή ανάπτυξη, επιμήκεις εναέριες ρίζες, μεγάλα επιμήκη λογχοειδή φύλλα πάνω σε κοντό βλαστό και βοτριώδεις ανθοταξίες που εκφύονται από την μασχάλη του φύλλου. Αυτές που καλλιεργούνται προέρχονται από 20 περίπου είδη τα οποία είναι: *Ph. amabilis*, *Ph. esmeralda*, *Ph. schilleriana*.

Τα μοντέρνα υβρίδια (πάνω από 300) χαρακτηρίζονται πλέον από άνθη μεγάλων διαστάσεων, που φέρονται από μακριά ανθοταξία, διαφορετικές ημερομηνίες άνθησης, που επιτρέπουν την μεγαλύτερη κλιμάκωση της παραγωγής και μεγάλη ποικιλία χρωμάτων (λευκό, ροζ και μοβ).

5.2.4. *Paphiopedillum*

Το γένος ανήκει στην υπο-οικογένεια *Cypripedioideae* και είναι κυρίως χερσαία φυτά και διανέμονται γύρω από τις εύκρατες ζώνες και τις περιοχές ανάμεσα στις ΗΠΑ και τον Καναδά. Η διαφοροποίηση μεταξύ τους γίνεται από το σχήμα των λουλουδιών τους. Τα φύλλα της είναι σε ζευγάρια (δίστιχα) και εναλλάσσονται από ένα κοντό ρίζωμα. Είναι χωρίς στέλεχος και ποικίλουν σε σχήμα. Είναι σαν λωρίδες κονταροειδείς και μυτερά στην άκρη. Οι ρίζες τους είναι χοντρές και καλυμμένες με λευκό βέλο και κοντά ινώδη ριζίδια με τα οποία προσκολλούνται στην επιφάνεια που αναπτύσσονται (χαρακτηριστικό των λιθόφυτων).

5.3. Βιολογική δράση και Εθνοφαρμακολογικές χρήσεις στο γένος *Cymbidium*

Ακόμα και αν το γένος *Dendrobium* είναι το πιο διαδεδομένο για τις εθνοφαρμακολογικές του χρήσεις ([Chen, 2021](#)) υπάρχουν αναφορές και για το γένος *Cymbidium*. Για παράδειγμα οι ρίζες του *Cymbidium macrorhizon* χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση της διαφόρεσης και ως αντιπυρετικό ([Rao, 2004](#)).

Οι ρίζες του *Cymbidium aloifolium* χρησιμοποιούνται για την επιτάχυνση της οστικής ανάπτυξης. Ολόκληρο το φυτό χρησιμοποιήθηκε ως εμετικό, τονωτικό, για την ανακούφιση του πόνου των αυτιών (ωταλγία), των εγκαυμάτων και των πληγών. Οι λαοί στου λόφους Chittagong (Μπαγκλαντές) χρησιμοποιούν τα εκχύλίσματα ως αντιπυρετικό.

Αφέψημα από το ρίζωμα του *Cymbidium ensifolium* χρησιμοποιήθηκε κατά της γονόρροιας. Ο χυμός που παραλαμβάνεται από τα θρυμματισμένα φύλλα του *Cymbidium giganteum* έχει ισχυρές ιδιότητες πήξης. Το *Cymbidium longifolium* χρησιμοποιείται για την παρασκευή σαλέπ γνωστό στην Ευρωπαϊκή αγορά, ειδικά πριν από την εισαγωγή του καφέ. Το υδατικό διάλυμα του αποξηραμένου και κονιοποιημένου ψευδοβολβού που λαμβάνεται από το στόμα με άδειο στομάχι, έχει εμετική δράση ([Hossain, 2011](#)).

Το εκχύλισμα *Cymbidium aloifolium* σε συνδυασμό με το *Zeuxine strateumatica* χρησιμοποιούνται για την παρασκευή σαλέπ με τονωτική δράση ([Hossain, 2011](#)). Η τεμαχισμένη ρίζα του *Cymbidium devonianum* που εφαρμόζεται στο δέρμα καταπραΰνει επιφανειακά εγκαύματα. Το αφέψημα του φυτού έχει ευεργετικές επιδράσεις στο βήχα και στο κρυολόγημα. Τέλος ο χυμός που λαμβάνεται από τις ρίζες, τους ψευδοβολβούς και τα φύλλα έχει χρησιμοποιηθεί ως αντιαιμοραγικό σε πληγές ([Pant, 2013](#)).

5.4. Φυτοχημικό προφίλ της οικογένειας *Orchidaceae*

Οι ορχιδέες εμφανίζουν μεγάλο αριθμό μεταβολιτών μεταξύ των οποίων έχουν προσδιοριστεί αλκαλοειδή, φλαβονοειδή, στυλβενοειδή, ανθοκυάνες και στερόλες. Μικρός αριθμός ειδών ορχιδέας έχουν αναλυθεί διεξοδικά. Η παρούσα διατριβή περιλαμβάνει την φυτοχημική ανάλυση των υποπροϊόντων της καλλιέργειας της ορχιδέας *Cymbidium* από θερμοκηπιακή μονάδα της Σάμου. Τα υποπροϊόντα που αναλύθηκαν αποτελούνται από τα ξηραμένα άνθη, φύλλα, ψευδοβολβούς και ρίζες. Στην επιστημονική βιβλιογραφία παρουσιάζονται φυτοχημικές αναλύσεις για την *Bletilla*, *Cymbidium* και *Gastrodia*. Το *Dendrobium* είναι το πιο μελετημένο είδος ορχιδέας με περίπου 100 διαφορετικούς μεταβολίτες μεταξύ των οποίων αλκαλοειδή, κουμαρίνες, δι-βενζύλια, φαινανθρένια και σεσκιτερπένια ([Hossain, 2011](#)).

5.4.1. Σάκχαρα

α) Γενικά Χαρακτηριστικά

Τα πιο συνηθισμένα είδη σακχάρων που συναντώνται στις ορχιδέες είναι γλυκόζη, φρουκτόζη και σακχαρόζη. Σε μικρότερο ποσοστό είναι επίσης δυνατή η παρουσία της ραμνόζης και της γαλακτόζης ([Bruneton, 2009](#)). Στις ορχιδέες οι ολιγοσακχαρίτες εμφανίζονται κυρίως στο νέκταρ τους και αποτελούν στοιχείο έλξης των επικονιαστών. Στα γένη *Oncidium*, *Angraecum* και *Laeliocattleya* εμφανίζεται η ραφινόζη. Η melibiose έχει ταυτοποιηθεί στο γένος *Sobralia* όπως επίσης και η stachyose, ένας τετρασακχαρίτης που εμφανίζεται σε κάποια είδη του γένους *Cymbidium*.

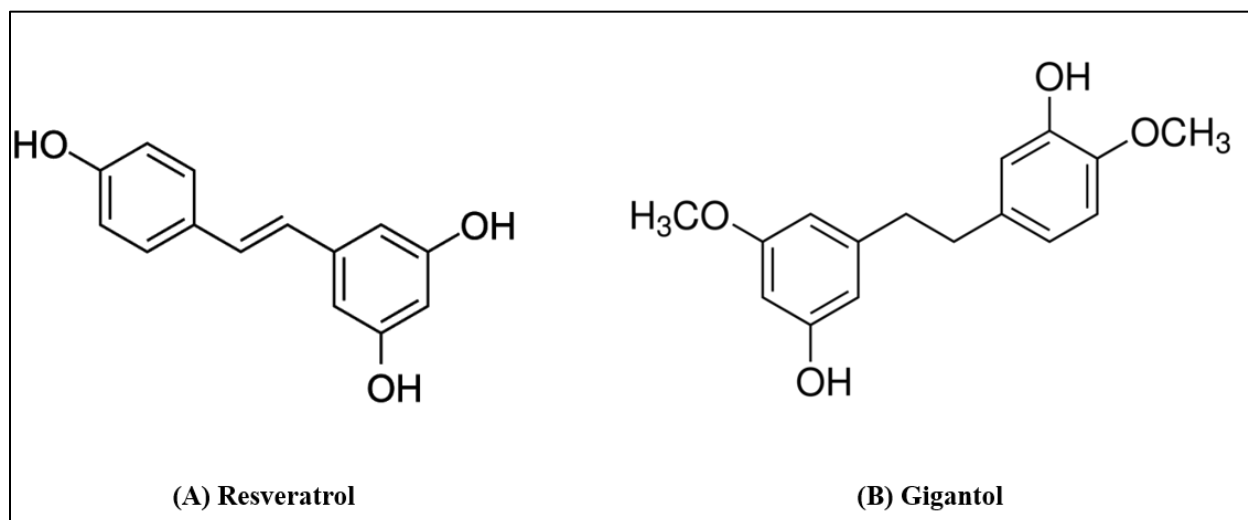
Διαφορετικοί τύποι πολυσακχαριτών έχουν απομονωθεί κυρίως από το τμήμα των βολβών, ψευδοβολβών από ορχιδέες του γένους *Dendrobium*, *Cyrtopodium* και *Catasetum*.

5.4.2.α. Στυλβενοειδή

α) Γενικά χαρακτηριστικά

Είναι φαινολικές ενώσεις με δύο αρωματικούς δακτύλιους που διαχωρίζονται με γέφυρα αιθανίου ή αιθενίου. Αποτελούν υδροξυλιωμένα παράγωγα του στυλβενίου. Διαχωρίζονται σε δύο υποομάδες: τα

στιλβένια όπως η resveratrol και τα **δι-βενζύλια** χωρίς την παρουσία διπλού δεσμού, όπως gigantol. (Εικόνα 5.4)



Εικόνα 5.4. Δομές της resveratrol (A) και gigantol (B).

β) Βιολογικές δράσεις

Ορισμένα στιλβένια και δι-βενζύλια είναι φυτοαλεξίνες οι οποίες μπορούν να λειτουργήσουν σαν **ρυθμιστές ανάπτυξης**. Επίσης συχνά γίνεται αναφορά στην **αντιμυκητιασική** και **αντιμικροβιακή** τους δράση. Χαρακτηριστικές είναι οι αναφορές στην resveratrol ([Vestergaard, 2019](#)) και ο ρόλος τους είναι σημαντικός στην άμυνα του ίδιου του φυτού ενάντια σε επιθέσεις από μικροοργανισμούς ([Bruneton, 2009](#)). Παρακάτω παρουσιάζονται οι κυριότερες βιολογικές δράσεις:

- **Αντιοξειδωτική:** είναι ιδιαίτερα γνωστή η αντιοξειδωτική δράση της resveratrol ([Gambini, 2015](#)). Επίσης έχει αναφερθεί αντιοξειδωτική δράση για τα δι-βενζύλια gigantol και isoamoenylin που απομονώθηκαν από τις ορχιδέες *Cymbidium goeringii*, *Dendrobium nobile*, *Epidendrum rigidum* (για την gigantol) και *Dendrobium amoenum* για την isoamoenylin ([Venkateswarlu, 2002](#); [Simmler, 2010](#)).
- **Αντικαρκινική:** είναι γνωστή η αντικαρκινική δράση *in-vitro* της resveratrol ([Elshaer, 2018](#)). Επίσης και η δράση της batatasin III, η οποία απομονώθηκε από την ορχιδέα *Epidendrum rigidum*, σε *in-vitro* καλλιέργειες ([Hernandez-Romero, 2005](#)).
- **Αντι-αγγειογενετική:** έχει αποδειχθεί η δράση της resveratrol στην αναστολή της αγγειογένεσης μέσω της ρύθμισης του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) ([Elshaer, 2018](#)) καθώς επίσης και ο ρόλος της στην συσσώρευση των αιμοπεταλίων (*in-vitro* και *in-vivo*) ([Gambini, 2015](#)).

- **Αντιδιαβητική:** βελτίωση της υπεργλυκαιμίας και της δυσλιπιδαιμίας για την resveratrol *in-vitro* και *in-vivo* ([Yang, 2018](#)).

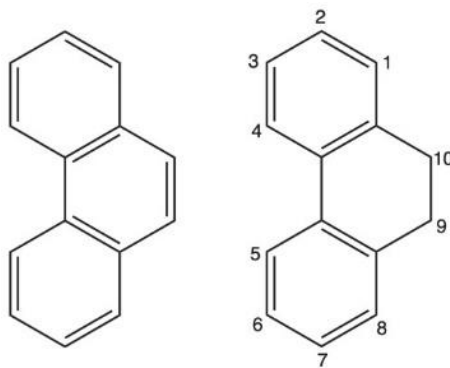
5.4.2.β. Φαινανθρένια και Φαινανθροπυράνια

Τα φυσικά φαινανθρένια απαντούν σαν μονομερή, διμερή ή τριμερή.

α) Γενικά Χαρακτηριστικά

Τα φαινανθρένια είναι αρωματικοί δευτερογενείς μεταβολίτες που προέρχονται από τα στιλβένια, με κύριο βιοσυνθετικό μονοπάτι την οξειδωτική σύζευξη των δύο αρωματικών δακτυλίων που οδηγεί σε μεγάλο αριθμό παραγώγων.

Τα μονομερή φαινανθρένια σε πολλές περιπτώσεις έχουν υδροξυλικούς ή μεθοξυ υποκαταστάτες στον βασικό σκελετό τους. Είναι μία από τις πιο κοινές μορφές που απαντάται στην φύση με περίπου 210 γνωστές ενώσεις. Σχεδόν οι μισές από αυτές είναι καθαρά φαινανθρενικά παράγωγα και 9,10-διυδροφαινανθρένια (**Εικόνα 5.5**).

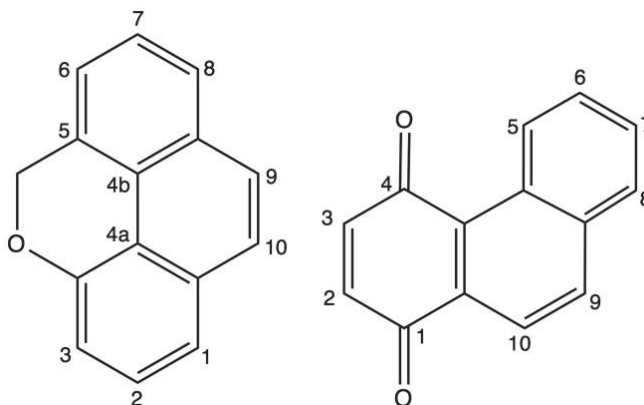


Εικόνα 5.5. Χημική δομή φαινανθρενίων.

Η ποικιλομορφία τους οφείλεται βασικά στον αριθμό και την θέση των υποκαταστατών μεθόξυ (-OCH₃) και υδρόξυ (-OH) όπως αναφέρθηκε προηγουμένως. Πολύ συχνά οι θέσεις των υποκαταστατών κυμαίνεται μεταξύ 3 και 6 και η θέση τους σε C-2, C-3, C-6 και C-7. Ορισμένες κατηγορίες φαινανθρενίων τα βρίσκουμε σε γλυκοζυλιωμένη μορφή όπως συμβαίνει με την dendrisine A ([Ye, 2003](#)).

Στην κατηγορία των μονομερών φαινανθρενίων στα *Orchidaceae* ανήκει και η φαινανθροκινόνη και τα παράγωγα φαινανθροπυρανίου τα οποία ταξινομούνται στις 9,10-διυδρομορφές τους (**Εικόνα 5.6**). Τα

μονομερή φαινανθρενικά παράγωγα ταυτοποιήθηκαν στο γένος *Aeridinae*. Από το είδος *Vanda parviflora* και *Vanda tessellata*, έχει ταυτοποιηθεί η aeridine ([Anuradha, 1998](#)).



Εικόνα 5.6. Χημική δομή φαινανθροπυρανίου και 9,10-διϋδρομορφές.

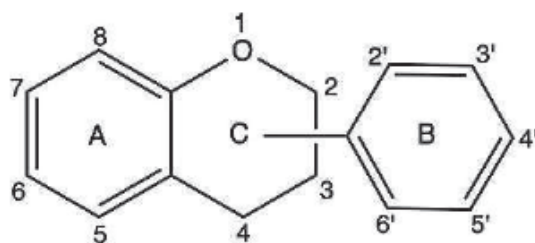
β) Βιολογικές δράσεις

Για τα φαινανθρένια και φαινανθροπυράνια έχουν παρουσιαστεί βιβλιογραφικά πολλαπλές βιολογικές δράσεις. Συχνά παρουσιάζεται η **αντιμικροβιακή**, **αντιφλεγμονώδη** και **αντικαρκινική** δράση τους σε κύτταρα και πειραματόζωα ενώ έχουν περιγραφεί οι ιδιότητές τους ως **αντιαιμοπεταλιακοί** παράγοντες ή **αντιαλλεργικοί**. Παρακάτω παρουσιάζονται κάποιες από τις κύριες βιολογικές δράσεις:

- **Αντιφλεγμονώδη, αντιοξειδωτική:** Τα φαινανθρένια όπως η coeline και το μεθόξυ παραγωγό της που απομονώθηκαν από τις ορχιδέες *Bletilla striata*, *Vanda coerulea* και *Cymbidium aloifolium* παρουσίασαν ισχυρή αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση *in-vitro* ([Yamaki, 1991](#); [Majumber, 1996 a](#); [1996b](#); [Simmler, 2010](#)).
- Τα φαινανθροπυράνια imbricatine και flavidin από τις ορχιδέες *Vanda coerulea*, *Pholidota imbricata* και *Coelogune flaccida* αντίστοιχα, παρουσίασαν αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση *in-vitro* ([Majumber, 1988](#); [Simmler, 2010](#)).
- **Αντιμυκητιακή:** η orchinol που απομονώθηκε από την ορχιδέα *Orchis militaris* ([Baller, 1957](#); [Fisch, 1973](#)).
- **Αντιαιμοπεταλιακή:** η moscatiline η οποία απομονώθηκε από τις ορχιδέες *Dendrobium moscatum*, *Dendrobium chrysanthum*, *Dendrobium loddigesii* ([Majumber, 1987](#)).

5.4.3. Φλαβονοειδή

Η βασική δομή των φλαβονοειδών παρουσιάζεται στην **Εικόνα 5.7**.



Εικόνα 5.7. Χημική δομή φλαβονοειδών.

Στις ορχιδέες ταυτοποιούνται κυρίως φλαβονοειδή που ανήκουν στις φλαβόνες, φλαβονόλες, προανθοκυανιδίνες, χαλκόνες, αουρόνες και ισοφλαβονοειδή.

5.4.3.α Φλαβόνες και φλαβονόλες

Η μελέτη του Williams C.A. σε περίπου 142 είδη που αντιπροσωπεύουν 75 γένη ορχιδέων έχει δείξει ότι τα πιο κοινά φλαβονοειδή στα φύλλα τους είναι οι ετεροσιδές φλαβονοειδών (53%) και φλαβονόλες (37%) ([Williams, 1979](#)). Αν και υπάρχει η θεωρία ότι ο τύπος της φλαβόνης/φλαβονόλης μπορεί να αποτελεί δείκτη γεωγραφικής κατανομής του είδους, για το γένος των ορχιδέων δεν ισχύει κάτι ανάλογο. Έχει παρουσιαστεί ένας μόνο συσχετισμός σε μία μελέτη όπου οι C-ετεροσιδές των φλαβονών είναι πιο διαδομένες στα υποτροπικά είδη ορχιδέων (ειδικά *Epidendroideae*) ([Hossain, 2011](#)).

Από τα άγλυκα των φλαβονολών, καεμφερόλη ή η κερσετίνη έχουν απομονωθεί από το γένος *Dendrobium*. Παράλληλα στο ίδιο γένος έχει αναφερθεί η παρουσία της ναριγκενίνης, χρυσίνης, ομοερινδυκτόλης ([Hossain, 2011](#)).

5.4.3.β. Ανθοκυάνες

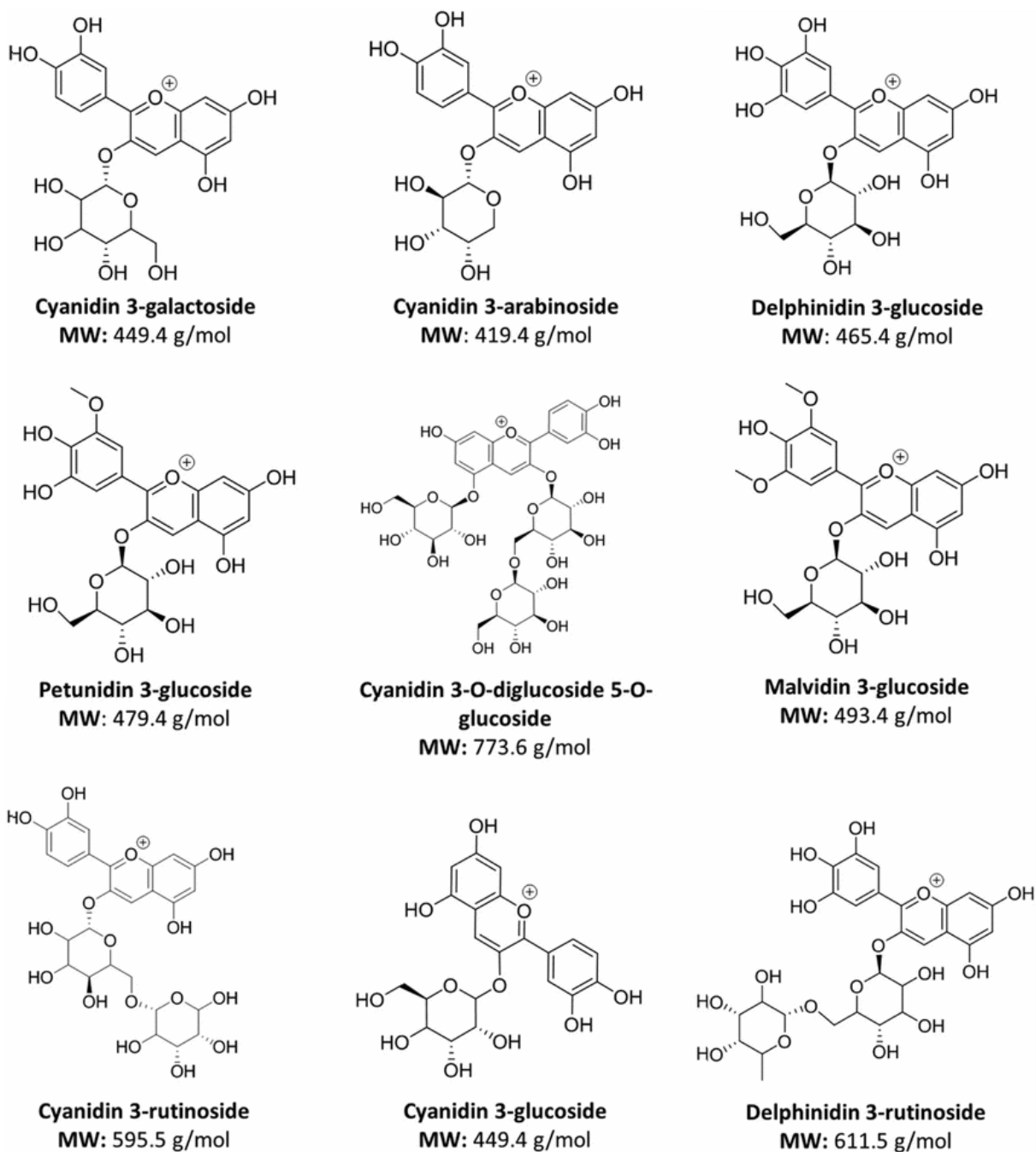
Οι ανθοκυανιδίνες και τα ετεροσιδικά τους παράγωγά τους (ανθοκυανοσιδές) είναι φυσικές χρωστικές ουσίες που εμφανίζονται κυρίως στα φύλλα, τα πέταλα και τα φρούτα. Το άγλυκο (πυρήνας) του μορίου επηρεάζει το χρώμα των πετάλων όσο και στο τελικό χρώμα. Οι ανθοκυανιδίνες από κόκκινο μετατρέπονται σε μπλε σε όξινο περιβάλλον, σε ενδιάμεσο pH γίνονται άχρωμες και μετατρέπονται σε κίτρινες σε βασικό μέσο. Η ελεύθερη μορφή τους είναι ασταθής και επομένως δεν εμφανίζεται στο φυτικό ιστό των ορχιδέων. Συνήθως η Ο-γλυκοζυλίωση στην θέση του C-3 είναι η πιο σταθερή μορφή και η πιο υδατοδιαλυτή.

Έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες αναφορικά με την παρουσία ανθοκυανιδινών στα άνθη της ορχιδέας και σαν κύρια γενίνη την κυανιδίνη. Από τα άνθη του γένους *Dendrobium* έχουν απομονωθεί οι 3,7,3' -

τριγλυκοσίδες και ακετυλιωμένα παράγωγά της με υδροξυβενζοϊκό οξύ στα κόκκινα-μωβ άνθη ([Saito, 1994](#)). Μετά την ανάλυση 28 ειδών ορχιδέας του είδους *Dendrobium*, [Kuehnle \(1997\)](#), προσδιόρισε ανθοκυάνες με γενίνη την κυανιδίνη, πελαργονιδίνη και παιωνιδίνη.

Ανθοκυάνες εντοπίστηκαν στις ορχιδέες *Dendrobium* spp., *Laelia pumila* Rchb. F. × *Cattleya walkeriana* Gardn., *Bletilla striata*, *Phalaenopsis* spp., *Sophranitis coccinea*) ([Saito, 1994, 1995](#); [Tatsuzawa, 1994, 1995, 1997](#); [Kanlayavattanakul, 2018](#)).

Στην **Εικόνα 5.8**, παρουσιάζονται οι δομές κάποιων από τις πιο γνωστές ανθοκυάνες που έχουν απομονωθεί από τις ορχιδέες.

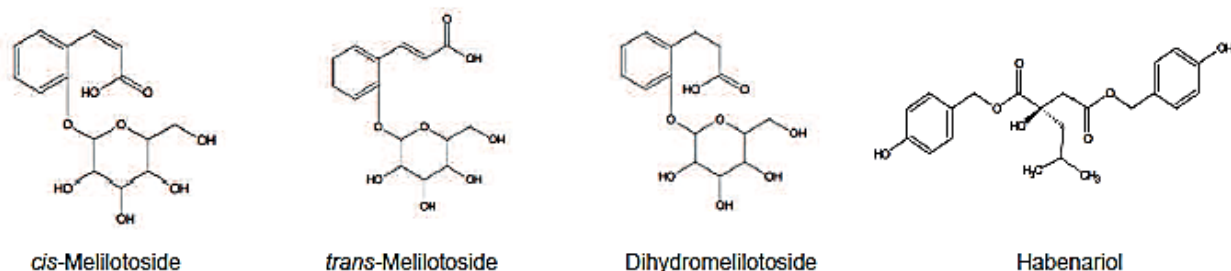


Εικόνα 5.8. Χημική δομή ανθοκυανών στις ορχιδέες.

5.4.4. Φαινολικά Παράγωγα

5.4.4.α. Φαινολικά Οξέα

Από το γένος *Dendrobium*, ταυτοποιήθηκαν γλυκοζυλιωμένα παράγωγα του κινναμωμικού οξέος, όπως *cis*- και *trans*-melilotoside και dihydromelilotoside (Yang, 2007). Τα περισσότερα φαινολικά παράγωγα που έχουν απομονωθεί από τις ορχιδέες, είναι 4-υδρόξυβενζυλ αλκοόλες με εστεροποίηση ενός οργανικού οξέος (Εικόνα 5.9).

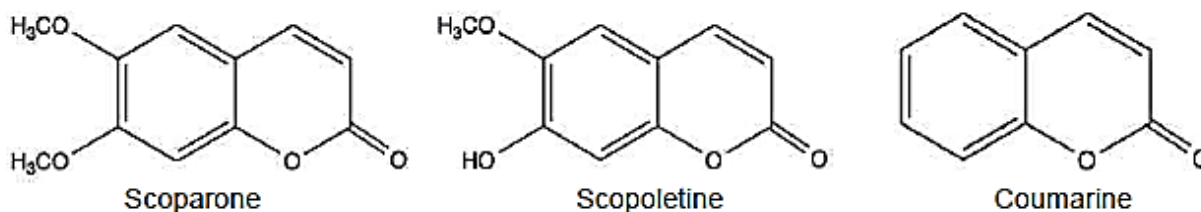


Εικόνα 5.9. Φαινολικά παράγωγα που έχουν απομονωθεί από ορχιδέες.

Η βιολογική δράση αυτών των μεταβολιτών έγκειται στην **αντιοξειδωτική** και **νευροπροστατευτική** δράση (Yue, 2010; Qin, 2010).

5.4.4.β. Κουμαρίνες

Στις ορχιδέες έχουν απομονωθεί πρενυλιωμένες κουμαρίνες που ταυτοποιήθηκαν στο *Spiranthes sinensis*, *sinensis* A και B (Pen, 2008). Στο γένος *Epidendroideae*, η κουμαρίνη που απομονώθηκε από το είδος *Dendrobium aurantiacum* είναι η scoparone και η scopoletin (Εικόνα 5.10).



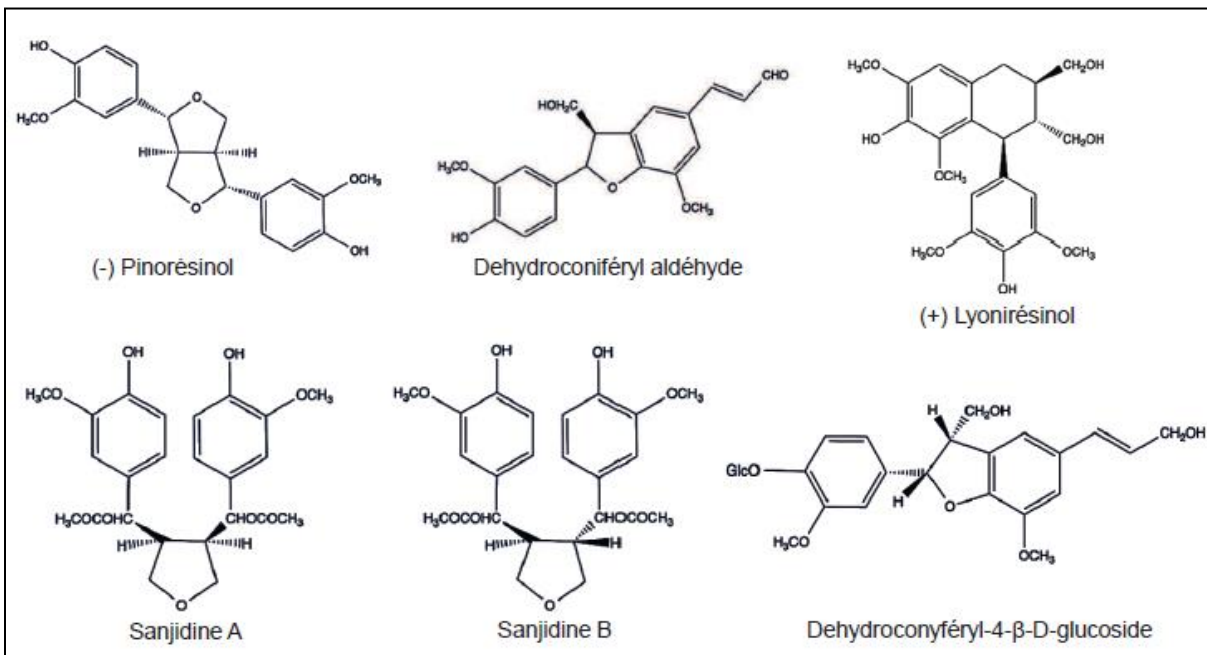
Εικόνα 5.10. Κουμαρίνες από το γένος *Epidendroideae*.

In-vitro παρουσιάζουν **αντιαιμοπεταλιακή** δράση (Fan, 2001)

5.4.4.γ. Λιγνάνια

Υπάρχουν διάφοροι τύποι λιγνανίων οι οποίες διαφέρουν δομικά ως προς τον τύπο του δεσμού μεταξύ των δύο μονάδων μετά τον διμερισμό ([Ng, 2012](#)).

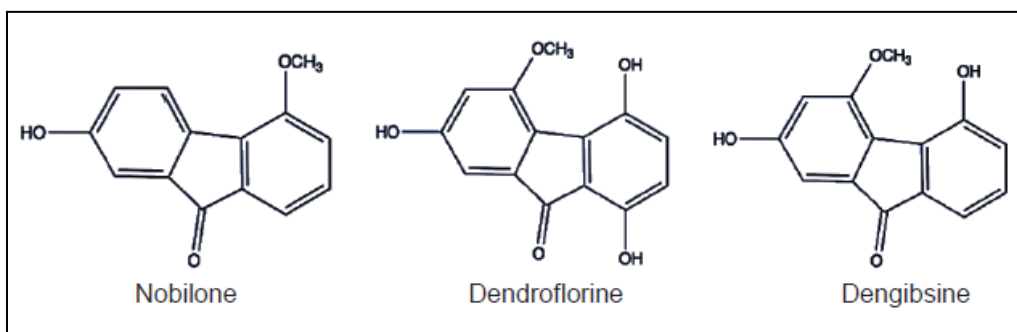
Στην **Εικόνα 5.11** αναφέρονται κάποια από τα λιγνάνια τα οποία έχουν απομονωθεί από τις ορχιδέες *Dendrobium moniliforme*, *Dendrobium chrysanthum* και *Pleione bulbocodoides* ([Bai, 1997](#); [Ye, Q-H., 2003](#); [Čáková, 2013](#); [Zhao, 2016](#))



Εικόνα 5.11. Χημικές δομές λιγνανίων από τις ορχιδέες.

5.4.4.δ. Φλουορενόνες

Οι φλουορενόνες είναι τρικυκλικά οργανικά οξέα με έναν κεντρικό δακτύλιο με 5 άτομα άνθρακα και με υποκαταστάτη μία καρβονυλομάδα ή μία υδρόξυ ομάδα. Εμφανίζεται σε διάφορα είδη του γένους *Orchidaceae*, όπως *Dendrobium* ([Fan, 2001](#); [Ye, 2003](#)). Η nobilone, dendroflorine και dengibsine είναι κάποιες από τις φλουορενόνες που έχουν ταυτοποιηθεί (**Εικόνα 5.12**).



Εικόνα 5.12. Χημικές δομές φλουρενονών.

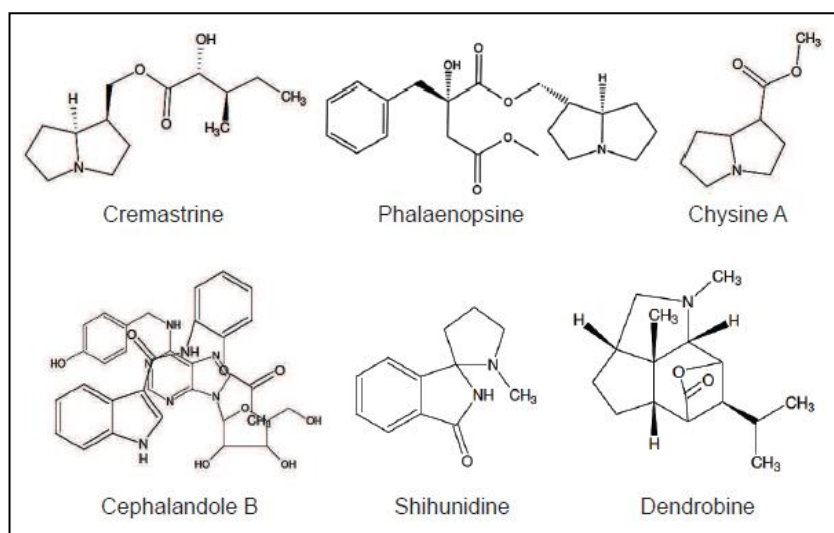
5.4.5. Φυτοστερόλες

Η β -sitosterol έχει απομονωθεί από το υπέργειο τμήμα της ορχιδέας *Vanda coerulea*. Έχουν εντοπιστεί παράγωγα τύπου cycloartenol ή cycloartenal στο γένος *Maxilaria* (Flach, 2004). Άλλες φυτοστερόλες έχουν ταυτοποιηθεί από την ορχιδέα *Dendrobium ochreatum* (Behr, 1976).

5.4.6. Αλκαλοειδή

Μεγάλο μέρος των αλκαλοειδών είναι τοξικά και η παρουσία τους στα φυτά τους προσδίδει ένα αποτελεσματικό τρόπο άμυνας έναντι σε έντομα, μικροοργανισμούς, άλλα φυτά ή φυτοφάγα ζώα.

Τα δύο πρώτα αλκαλοειδή που απομονώθηκαν από τις ορχιδέες είναι dendrobine και η nobiline από το είδος *Dendrobium nobile*. Ο μεγαλύτερος αριθμός αλκαλοειδών έχουν απομονωθεί από το γένος *Dendrobium* (Hossain, 2011). Κυρίως απομονώθηκαν αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης, ινδόλιου και σεσκιτερπένια (Εικόνα 5.13).

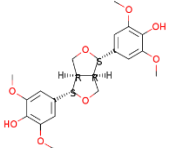
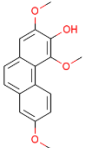
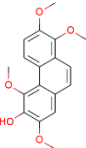
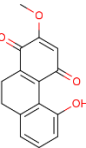


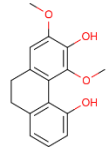
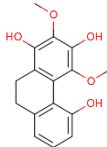
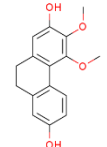
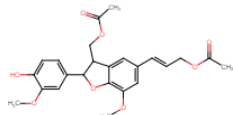
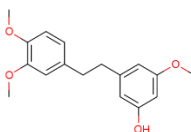
Εικόνα 5.13. Χημικές δομές αλκαλοειδών από το γένος *Dendrobium*.

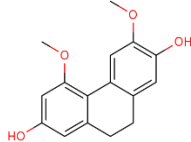
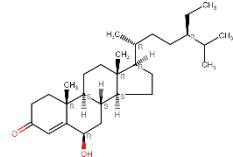
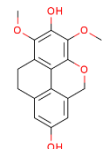
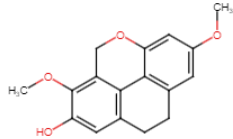
In-vitro έχουν αναφερθεί οι φαρμακολογικές ιδιότητες της dendrobine σε πειραματικά μοντέλα ζώων. Παρουσίασε **αντισπασμωδική** δράση στους υποδοχείς GABA του ΚΝΣ. Επίσης τα αλκαλοειδή της dendrobine είναι **νευροπροστατευτικά** σε παθολογικές συνθήκες εξασθένησης της μνήμης ([Li, 2010](#)).

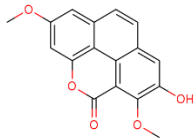
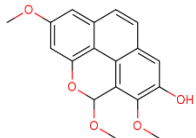
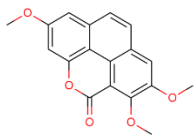
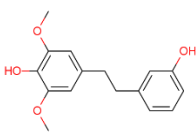
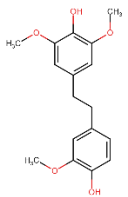
Στον **Πίνακα 5.1** γίνεται μία γενική αναφορά των βασικών δευτερογενών μεταβολιτών (σε αλφαβητική σειρά) που έχουν απομονωθεί από διάφορα είδη ορχιδέας με την χημική δομή, τον μοριακό τύπο και το μοριακό βάρος.

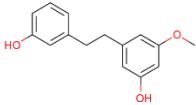
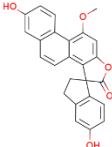
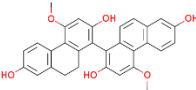
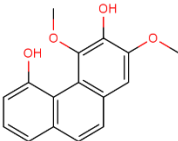
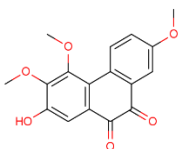
Πίνακας 5.1. Μεταβολίτες που έχουν απομονωθεί από διαφορετικά είδη ορχιδέας. Γίνεται αναφορά στον χημικό τύπο και στην φυτοχημική κατηγορία.

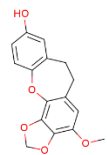
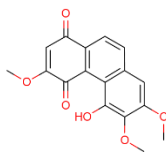
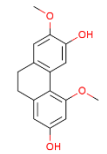
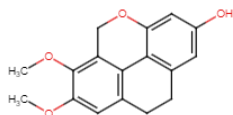
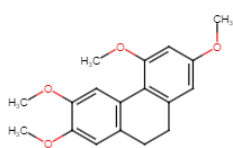
	Μεταβολίτης	Μοριακός Τύπος	Μοριακό Βάρος (g/mol)	Είδος Ορχιδέας	Αναφορά	Φυτοχημική Κλάση	Δομή
1	(+)-Syringaresinol	C ₂₂ H ₂₆ O ₈	418.40	<i>Dendrobium Moniliforme</i>	Zhao, 2016	Furofuran lignin	
2	3-hydroxy-2,4,7-trimethoxy-phenanthrene	C ₁₇ H ₁₆ O ₄	284.31	<i>Cymbidium</i> Great Flower Marie Laurencin	Yoshikawa, 2012	Phenanthrene	
3	3-hydroxy-2,4,7,8-tetramethoxy-phenanthrene	C ₁₈ H ₁₈ O ₅	314.34	<i>Cymbidium</i> Great Flower Marie Laurencin	Yoshikawa, 2012	Phenanthrene	
4	5-hydroxy-2-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-1,4-dione	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256.26	<i>Cymbidium</i> Great Flower Marie Laurencin	Yoshikawa, 2012	Phenanthrene	

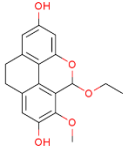
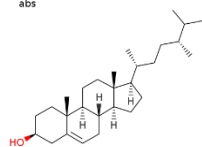
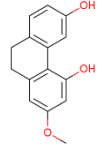
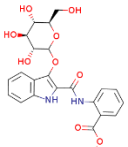
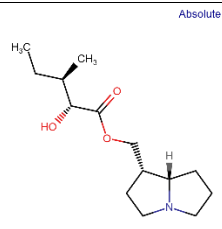
5	3,5-dihydroxy-2,4-dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene	$C_{16}H_{16}O_4$	272.30	<i>Cymbidium</i> Great Flower Marie Laurencin	Yoshikawa, 2012	Phenanthrene	
6	1,3,5-trihydroxy-2,4-dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene	$C_{16}H_{16}O_5$	288.30	<i>Cymbidium</i> Great Flower Marie Laurencin	Yoshikawa, 2012	Phenanthrene	
7	3,4-dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,7-diol	$C_{16}H_{16}O_4$	272.29	<i>Cymbidium</i> Great Flower Marie Laurencin	Yoshikawa, 2012	Phenanthrene	
8	9,9'-diacetyl-dehydrodiconiferyl-alcohol	$C_{24}H_{26}O_8$	442.46	<i>Dendrobium</i> sp.	Kang, 2014	Dehydrodiconiferyl alcohol	
9	3-O-methylgigantol	$C_{17}H_{20}O_4$	288.34	<i>Dendrobium sinense</i>	Chen, 2014	Stilbenoid	

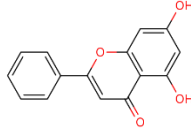
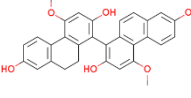
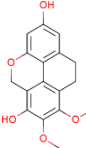
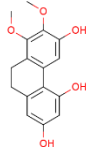
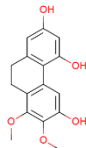
10	6-methoxycoelonin	$C_{16}H_{16}O_4$	272.29	<i>Agrostophyllum callosum</i>	Majumber, 1996a	Phenanthrene	
				<i>Appendicula reflexa</i>	Dumontet, 2012		
11	(24R)-6β-hydroxy-24-ethyl-cholest-4-en-3-on	$C_{29}H_{48}O_2$	428.70	<i>Eria bambusifolia</i>	Zhan, 2016	Steroid	
12	Aeridin	$C_{17}H_{16}O_5$	300.30	<i>Aerides crispum</i>	Anuradha, 1998	Phenanthropyran	
13	Argostophyllin	$C_{17}H_{14}O_4$	282.29	<i>Agrostophyllum khasianum</i>	Majumber, 1996b	Phenanthropyran	
				<i>Agrostophyllum callosum</i>	Majumber, 1996a		

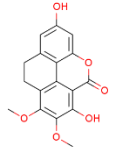
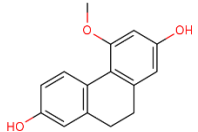
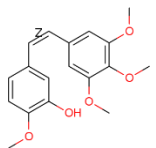
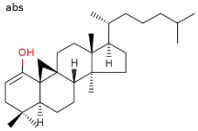
14	Agrostophyllone	C ₁₇ H ₁₂ O ₅	296.27	<i>Agrostophyllum khasiyanum</i>	Majumber, 1996b	Phenanthropyran	
15	Agrostophylloxidin	C ₁₈ H ₁₆ O ₅	312.30	<i>Agrostophyllum khasiyanum</i>	Majumber, 1996b	Phenanthropyran	
16	Agrostophylloxin	C ₁₈ H ₁₄ O ₅	310.30	<i>Agrostophyllum khasiyanum</i>	Majumber, 1996b	Phenanthropyran	
17	Aloifol I	C ₁₆ H ₁₈ O ₄	274.31	<i>Dendrobium Moniliforme</i>	Zhao, 2016	Stilbenoid	
18	Aloifol II	C ₁₇ H ₂₀ O ₅	304.34	<i>Agrostophyllum khasiyanum</i> , <i>Dendrobium Moniliforme</i> , <i>Dendrobium loddigesii</i>	Majumber, 1996b	Stilbenoid	
					Zhao, 2016		
					Tsai, 2010		

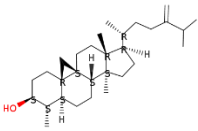
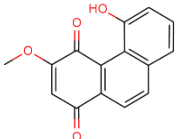
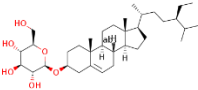
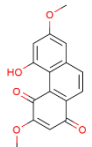
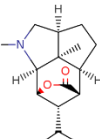
19	Batatasin III	C ₁₅ H ₁₆ O ₃	244.28	<i>Bulbophyllum odoratissimum</i>	Chen, Y., 2008	Stilbenoid	
20	Blespirol	C ₂₅ H ₁₈ O ₅	398.40	<i>Bletilla striata</i>	Yamaki, 1993	Phenanthrene	
21	Blestriarene B	C ₃₀ H ₂₄ O ₆	480.50	<i>Cremastra appendiculata</i>	Liu, J., 2008	Dihydrophenanthrene	
22	Bulbophyllanthrin	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.28	<i>Bulbophyllum leopardium</i>	Majumder, 1993	Phenanthrene	
23	Bulbophyllanthrone	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.29	<i>Bulbophyllum odoratissimum</i>	Majumder, 1991	Phenanthrene	

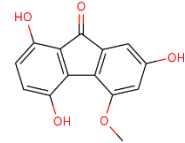
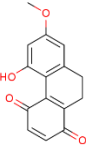
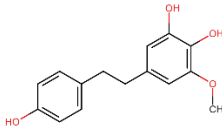
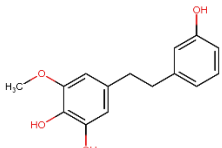
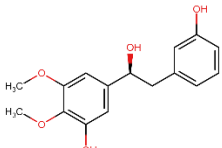
24	Bulbophylol B	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	286.28	<i>Pholidota chinensis</i>	Wang, 2007	Benzoxepin derivative	
25	Calanquinone A	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.29	<i>Cymbidium</i> Great Flower Marie Laurencin	Yang, 2007	Phenanthrene	
26	Callosin	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	272.29	<i>Agrostophyllum callosum</i>	Majumber, 1996a	Phenanthrene	
27	Callosinin	C ₁₈ H ₁₈ O ₄	298.30	<i>Agrostophyllum callosum</i>	Majumber, 1996a	Phenanthrene	
28	Callosumin	C ₁₈ H ₂₀ O ₄	300.30	<i>Agrostophyllum callosum</i>	Majumber, 1996a	Phenanthrene	

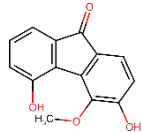
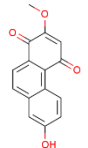
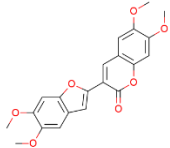
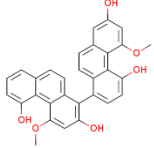
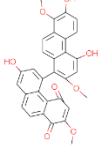
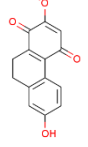
29	Callosumindin	$C_{18}H_{18}O_5$	314.30	<i>Agrostophyllum callosum</i>	Majumber, 1996a	Phenanthrene	
30	Campesterol	$C_{28}H_{48}O$	400.70	<i>Arundina and Cattleya</i>	Wan, 1971	Triterpenoid	
31	Cannabidihydrophenanthrene	$C_{15}H_{14}O_3$	242.27	<i>Pholidota chinensis</i>	Wang, 2007	Phenanthrene	
32	Cephalandole C	$C_{23}H_{23}N_2O_9$	472.40	<i>Cephalancerops is gracilis</i>	Wu, 2006	Alkaloid	
33	Cremastrine	$C_{14}H_{25}NO_3$	255.35	<i>Cremastra appendiculata</i>	Ikeda, 2005	Alkaloid	

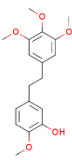
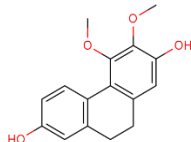
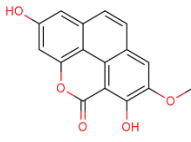
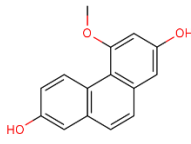
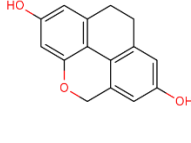
34	Chrysin	C ₁₅ H ₁₄ O ₄	254.24	<i>Bulbophyllum odoratissimum</i>	Majumder, 1991	Flavonoid	
35	Cirrhopetalanthrin (Blestiarene B)	C ₃₀ H ₂₄ O ₆	480.50	<i>Cremastra appendiculata</i> , <i>Thunia alba</i>	Xue, 2006 Majumder, 1998	Dihydrophenanthrene	
36	Coelogin	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.30	<i>Coelogyne cristata</i>	Majumder, 2001	Phenanthrene	
37	Coeloginanthridin	C ₁₆ H ₁₆ O ₅	288.29	<i>Coelogyne cristata</i>	Majumder, 2001	Phenanthrene	
38	Coeloginanthrin	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	286.28	<i>Coelogyne cristata</i>	Majumder, 2001	Phenanthrene	

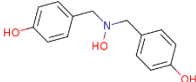
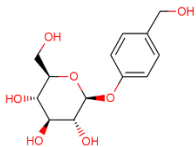
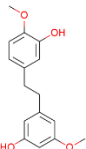
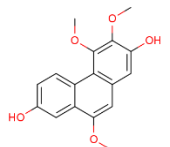
39	Coeloginin	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.29				
40	Coelonin	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	242.27	<i>Appendicula reflexa</i> ,	Dumontet, 2012	Phenanthrene	
				<i>Bulbophyllum odoratissimum</i> ,	Chen, 2008		
				<i>Pholidota chinensis</i> ,	Wang, 2007		
				<i>Vanda coerulea</i>	Simmler, 2010		
41	Combretastina A4	C ₁₈ H ₂₀ O ₅	316.35	<i>Pholidota chinensis</i>	Xue, 2006	Stilbenoid	
42	Cycloartenol	C ₃₀ H ₅₀ O	426.70	<i>Arundina and Cattleya</i>	Wan, 1971	Triterpenoid	

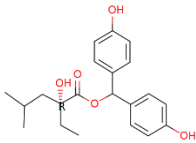
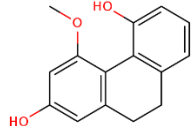
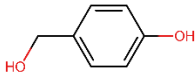
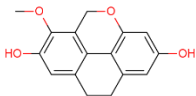
43	Cycloeucalenol	$C_{30}H_{50}O$	426.70	<i>Arundina and Cattleya</i>	Wan, 1971	Triterpenoid	
44	Cymbinodin A	$C_{15}H_{10}O_4$	254.24	<i>Cymbidium Great Flower Marie Laurencin</i>	Yoshikawa, 2012	Phenanthrene	
45	Daucosterol	$C_{35}H_{60}O_6$	576.80	<i>Dendrobium Moniliforme</i>	Zhao, 2016	Sterol	
46	Denbinobin	$C_{16}H_{12}O_5$	284.26	<i>Dendrobium nobile</i>	Ye, 2003	Phenanthrene	
47	Dendrobine	$C_{16}H_{25}NO_2$	263.37	<i>Dendrobium nobile</i>	Li, 2010	Alkaloid	

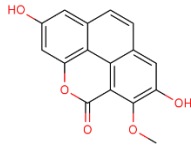
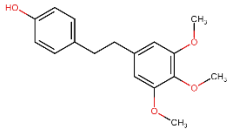
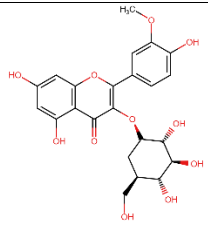
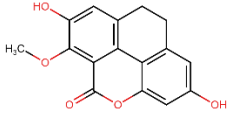
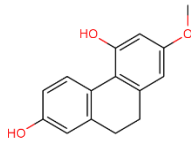
48	Dendroflorin	C ₁₄ H ₁₀ O ₅	258.23	<i>Dendrobium densiflorum</i>	Fan, 2001	Fluorenone	
49	Dendronone	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256.26	<i>Dendrobium cariniferum</i>	Chen, 2008	Phenanthrene	
50	Dendrosinen C	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	260.10	<i>Dendrobium sinense</i>	Chen, 2014	Stilbenoid	
51	Dendrosinen B	C ₁₅ H ₁₄ O ₄	258.09	<i>Dendrobium sinense</i>	Chen, 2014	Stilbenoid	
52	Dendrosinen A	C ₁₆ H ₁₈ O ₅	290.31	<i>Dendrobium sinense</i>	Chen, 2014	Stilbenoid	

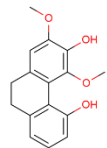
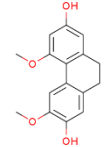
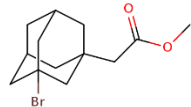
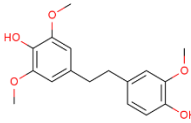
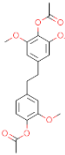
53	Dengibsina	C ₁₄ H ₁₀ O ₄	242.23	<i>Dendrobium nobile</i>	Zhang, 2005	Fluorenone	
54	Densirflorol B	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254.24	<i>Bulbophyllum odoratissimum</i>	Chen, 2008	Phenanthrene	
55	Denthysin	C ₂₁ H ₁₈ O ₇	382.40	<i>Dendrobium thysiflorus</i>	Zhang, 2005	Coumarin- benzofuran dimer	
56	Denthysinol	C ₃₀ H ₂₂ O ₆	478.50	<i>Dendrobium thysiflorus</i>	Zhang, 2005	Coumarin- benzofuran dimer	
57	Denthysinone	C ₃₁ H ₂₂ O ₈	522.50	<i>Dendrobium thysiflorus</i>	Zhang, 2005	Coumarin- benzofuran dimer	
58	Ephemeranthoquinone	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256.25	<i>Dendrobium plicatile</i>	Yamaki, 1996	Phenanthrene	

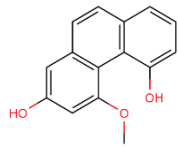
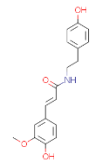
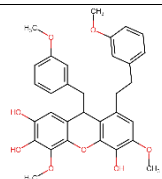
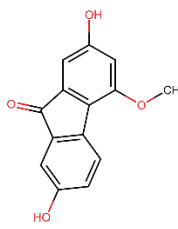
59	Erianin	C ₁₈ H ₂₂ O ₅	318.40	<i>Dendrobium chrysotoxum</i>	Gong, 2004	Stilbenoid	
60	Erianthridin	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	272.29	<i>Eria convallarioides</i>	Majumder, 1987	Phenanthrene	
61	Flaccidin	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.28	<i>Agrostophyllum callosum</i> , <i>Coelogyne flaccid</i>	Majumber, 1996a	Phenanthrene	
					Majumder, 1988		
62	Flavanthrinin	C ₁₅ H ₁₂ O ₃	240.25	<i>Cremastra appendiculata</i> .	Xue, 2006	Phenanthrene	
63	Flavidin	C ₁₅ H ₁₂ O ₃	240.25	<i>Vanda coerulea</i>	Simmler, 2010	Phenanthrene	

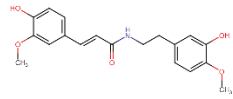
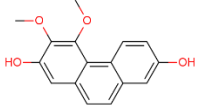
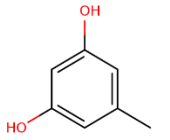
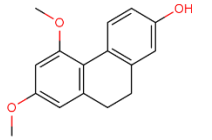
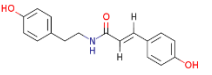
64	Gastrodamine	C ₁₄ H ₁₅ NO ₃	245.27	<i>Gastrodia elata</i> <i>Blume</i>	Zhan, 2016	Alkaloid, hydroxylamine	
65	Gastrodin	C ₁₃ H ₁₈ O ₇	286.28	<i>Cremastra appendiculata</i>	Wang, 2013	Glucoside	
				<i>Gastrodia elata</i> <i>Blume</i>	Zhan, 2016		
66	Gigantol	C ₁₆ H ₁₈ O ₄	274.31	<i>Bulbophyllum odoratissimum</i> ,	Chen, 2014	Stilbenoid	
				<i>Cymbidium goeringii</i> ,	Won, 2006		
				<i>Dendrobium moniliforme</i> ,	Zhao, 2016		
				<i>Vanda coerulea</i>	Simmler, 2010		
67	Gymnopusin	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.30	<i>Bulbophyllum gymnopus</i> ,	Majumder, 1988	Phenanthrene	
				<i>Maxillaria densa</i>	Valencia-Islas, 2002		

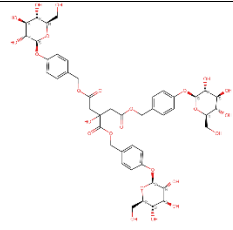
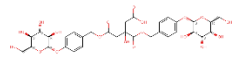
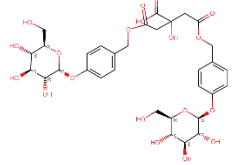
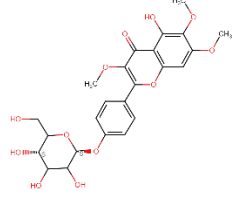
68	Habenariol	C ₂₁ H ₂₆ O ₅	358.4	<i>Habenaria repens</i>	Johnson, 1999	Phenolic	
69	Hircinol	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	242.27	<i>Dendrobium Moniliforme, Pholidota chinensis</i>	Zhao, 2016	Phenanthrene	
					Wang, 2007		
70	Hydroxybenzyl alcohol	C ₇ H ₈ O ₂	124.14	<i>Gastrodia elata Blume</i>	Zhan, 2016	Phenol	
71	Imbricatin	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.28	<i>Agrostophyllum khasianum,</i>	Majumber, 1996a	Phenanthrene	
				<i>Agrostophyllum callosum ,</i>	Majumber, 1996b		
				<i>Pholidota yunnanens,</i>	Guo, 2007		
				<i>Vanda coerulea</i>	Simmler, 2010		

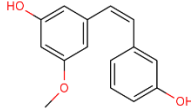
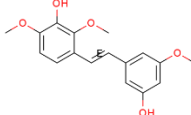
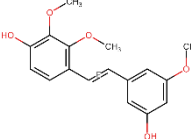
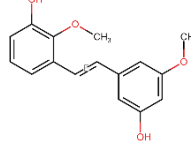
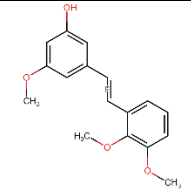
72	Isoflaccidin	C ₁₆ H ₁₀ O ₅	282.25	<i>Agrostophyllum khasiyanum</i>	Majumber, 1996b	Phenanthrene	
73	Isoamoenylin	C ₁₇ H ₂₀ O ₄	288.34	<i>Dendrobium amoenum</i>	Venkateswarlu, 2002	Stilbenoid	
74	Isoramnetin-3-O-glucoside	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	478.40	<i>Anoectochilus roxburghii</i>	He, 2006	Flavonoid	
75	Isooxoflaccidin	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.26	<i>Agrostophyllum callosum</i>	Majumber, 1996a	Phenanthrene	
76	Lusianthridin	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	242.27	<i>Pholidota yunnanensis</i> , <i>Thunia alba</i>	Guo, 2007 Majumber, 1998	Phenanthrene	

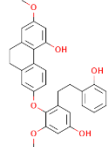
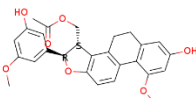
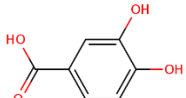
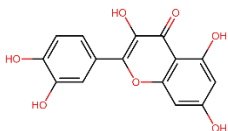
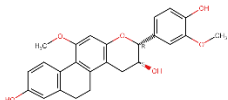
77	Marylauricinol	$C_{16}H_{16}O_4$	272.29	<i>Cymbidium</i> <i>Great Flower</i> <i>Marie</i> <i>Laurecin</i>	Yoshikawa, 2012	Phenanthrene	
78	Methoxycoelonin	$C_{16}H_{16}O_4$	272.3	<i>Vanda coerulea</i>	Simmler, 2010	Phenanthrene	
79	Methyl 3 – bromo-1 – adamantaneacetate	$C_{13}H_{19}BrO_2$	287.19	<i>Bulbophyllum</i> <i>kaitense</i>	Kalaivasan, 2012	Cycloalkane	
80	Moscatilin	$C_{17}H_{20}O_5$	304.34	<i>Dendrobium</i> <i>loddigesii</i>	Chen, 2003	Stilbenoid	
81	Moscatilin diacetate	$C_{21}H_{24}O_7$	388.40	<i>Dendrobium</i> <i>loddigesii</i>	Chen, 2003	Stilbenoid	

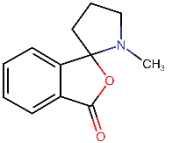
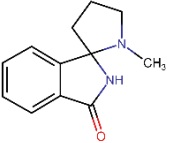
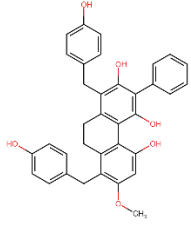
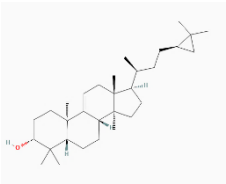
82	Moscatin	$C_{15}H_{12}O_3$	240.25	<i>Bulbophyllum odoratissimum</i>	Chen, 2008	Phenanthrene	
83	Moupinamide	$C_{18}H_{19}NO_4$	313.30	<i>Dendrobium moniliforme</i>	Zhao, 2016	Alkaloid	
84	Nobiline E	$C_{32}H_{32}O_8$	544.60	<i>Dendrobium nobile</i>	Zhang, 2005	Stilbenoid	
85	Nobilone	$C_{14}H_{10}O_4$	242.23	<i>Dendrobium nobile</i>	Zhang, 2005	Fluorenone	
86	Nonane	C_9H_{20}	128.25	<i>Bulbophyllum kaitense</i>	Kalaiaarasan, 2012	Acyclic alkane	

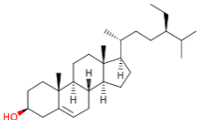
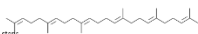
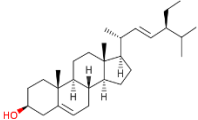
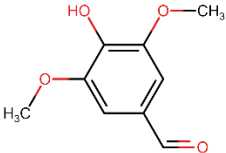
87	<i>N-trans-feruloyl 4'-O-methyldopamine</i>	C ₁₉ H ₂₁ NO ₅	343.40	<i>Dendrobium moniliforme</i>	Zhao, 2016	Alkaloid	
88	Nudol	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.28	<i>Appendicula reflexa,</i>	Dumontet, 2012	Phenanthrene	
				<i>Eria convallarioides</i>			
89	Orcinol	C ₇ H ₈ O ₂	124.14	<i>Dendrobium nobile</i>	Yang, 2007	Phenolic	
90	Orchinol	C ₁₆ H ₁₆ O ₃	256.30	<i>Agrostophyllum callosum</i>	Majumber, 1996a	Phenanthrene	
91	Paprazine	C ₁₇ H ₁₇ NO ₃	283.32	<i>Dendrobium moniliforme</i>	Zhao, 2016	Alkaloid	

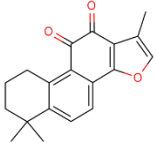
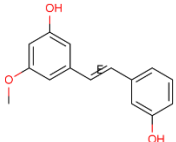
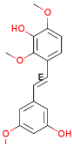
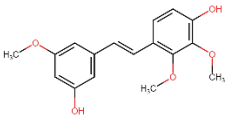
92	Parishin A	$C_{45}H_{56}O_{25}$	966.90	<i>Gastrodia elata</i> <i>Blume</i>	Zhan, 2016	Phenolic glucoside	
93	Parishin B	$C_{32}H_{40}O_{19}$	728.60	<i>Gastrodia elata</i> <i>Blume</i>	Zhan, 2016	Phenolic glucoside	
94	Parishin C	$C_{32}H_{40}O_{19}$	728.60	<i>Gastrodia elata</i> <i>Blume</i>	Zhan, 2016	Phenolic glucoside	
95	Pendulin	$C_{24}H_{26}O_{12}$	506.50	<i>Cymbidium</i> <i>pendulum</i>	Won, 2006	Phenanthrene	

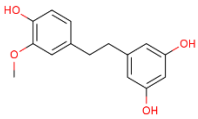
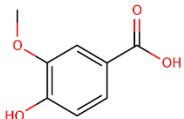
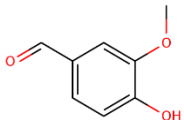
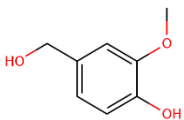
96	Pholidotol D	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	242.27	<i>Pholidota chinensis</i>	Xue, 2006	Stilbenoid	
97	Phoyunbene A	C ₁₇ H ₁₈ O ₅	302.32	<i>Pholidota yunnanensis</i>	Guo, 2006	Stilbenoid	
98	Phoyunbene B	C ₁₇ H ₁₈ O ₅	302.32	<i>Pholidota yunnanensis</i>	Guo, 2006	Stilbenoid	
99	Phoyunbene C	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	272.29	<i>Pholidota yunnanensis</i>	Guo, 2006	Stilbenoid	
100	Phoyunbene D	C ₁₇ H ₁₈ O ₄	286.32	<i>Pholidota yunnanensis</i>	Guo, 2006	Stilbenoid	

101	Phoyunnanin D	$C_{30}H_{28}O_6$	484.50	<i>Pholidota yunnanensis</i>	Guo, 2006	dibenzyl (dihydrophenanthrene) ether	
102	Pleionesins C	$C_{27}H_{26}O_7$	462.50	<i>Pleione yunnanensis</i>	Liu, 2008	Dihydrophenanthrofurane	
103	Protocatechuic acid	$C_7H_6O_4$	154.12	<i>Dendrobium moniliforme</i>	Zhao, 2016	Phenolic	
104	Quercetin	$C_{15}H_{10}O_7$	302.23	<i>Dendrobium tosaense</i>	Lo, 2004	Flavonoid	
105	Shanciolf F	$C_{25}H_{24}O_6$	420.50	<i>Pleione bulbocodioides</i>	Liu, 2009	Phenanthrofurane	

106	Shihunine	$C_{12}H_{13}NO_2$	203.24	<i>Dendrobium loddigesii</i>	Li, 2010	Alkaloid	
107	Shihunidine	$C_{12}H_{14}N_2O$	202.25	<i>Dendrobium loddigesii</i>	Li, 2010	Alkaloid	
108	Sinensol H	$C_{35}H_{30}O_6$	546.6	<i>Spiranthes sinensis</i>	Lin, 2001	Phenanthrene	
109	Sinetirucallol	$C_{31}H_{52}O$	440.70	<i>Spiranthes sinensis</i>	Lin, 2001	Steroid	

110	Sitosterol	$C_{29}H_{50}O$	414.70	<i>Eria convallarioides</i> ,	Majumder, 1987	Triterpenoid	
				<i>Dendrobium moniliforme</i> ,	Zhao, 2016		
				<i>Gastrodia elata</i> Blume	Ahn, 2007		
111	Squalene	$C_{30}H_{50}$	410.70	<i>Bulbophyllum kaitense</i>	Kalaivasan, 2012	Terpene	
112	Stigmasterol	$C_{29}H_{48}O$	412.70	<i>Arundina and Cattleya</i>	Palama, 2010	Triterpenoid	
113	Syringaldehyde	$C_9H_{10}O_4$	182.17	<i>Bulbophyllum odoratissimum</i>	Chen, 2008	Phenolic	

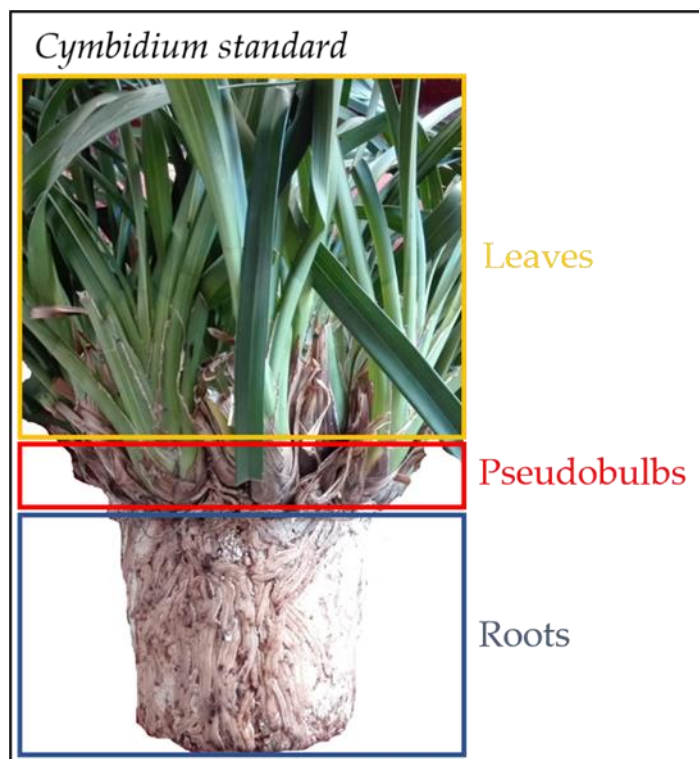
114	Tanshinone IIA	C ₁₉ H ₁₈ O ₃	294.30	<i>Pholidota cantonensis</i>	Li, 2017	Phenanthrene	
115	Thunalbene	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	242.27	<i>Thunia alba</i>	Majumder, 1998	Stilbene	
116	Phoyunbene A	C ₁₇ H ₁₈ O ₅	302.32	<i>Pholidota yunnanensis</i>	Guo, 2006	Stilbene	
117	Phoyunbene B	C ₁₇ H ₁₈ O ₅	302.32	<i>Pholidota yunnanensis</i>	Guo, 2006	Stilbene	
118	Tristin	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	260.28	<i>Bulbophyllum odoratissimum</i>	Chen, 2008	Stilbene	

				<i>Dendrobium cumulatum and Bulbophyllum triste</i>	Majumder, 1993		
119	Vanillic acid	C ₈ H ₈ O ₄	168.15	<i>Dendrobium moniliforme</i>	Zhao, 2016	Dihydroxy benzoic acid	
				<i>Bulbophyllum odoratissimum</i>	Chen, 2008		
120	Vanillin	C ₈ H ₈ O ₃	152.15	<i>Dendrobium moniliforme</i>	Zhao, 2016	Phenolic aldehyde	
121	Vanillyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154.16	<i>Gastrodia elata Blume</i>	Zhan, 2016	Phenolic	

ΜΕΡΟΣ Α: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

5.5. Κατεργασία Φυτικού Υλικού και Εκχύλιση

Το φυτικό υλικό (*Cymbidium* sp.), καθώς επίσης και αποξηραμένα άνθη από την καλλιέργειά τους, από τις θερμοκηπιακές εγκαταστάσεις του Γαρουφαλή από την νήσο Σάμο, το 2020 (**Εικόνα 5.14**).



Εικόνα 5.14. Τμήματα της ορχιδέας *Cymbidium* sp. από τα οποία παράγονται τα υποπροϊόντα (Leaves=φύλλα; Pseudobulbs = ψευδοβολβοί; Roots = ρίζες).

Η ταυτοποίησή τους κωδικοποιήθηκε με αριθμό voucher (SAM 110). Για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκε διαχωρισμός των τμημάτων της ορχιδέας σε άνθη (Fl), φύλλα (Le), ψευδοβολβούς (Ps) και ρίζες (R). Τοποθετήθηκαν σε σκιερό μέρος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με στόχο την φυσική ξήρανσή τους. Το ξηρό υλικό ανά τμήμα, κονιοποιήθηκε.

Έπειτα πραγματοποιήθηκε εκχύλιση ξεχωριστά για κάθε διαφορετικό τμήμα της ορχιδέας με υπερήχους (Ultrasound-Assisted Extraction, UAV) με σύστημα εκχύλισης που περιγράφηκε στο κεφάλαιο 4 ([Παράγραφος 4.4., Κατεργασία Φυτικού Υλικού και Εκχύλιση](#)).

400g κονιοποιημένου, αποξηραμένου υλικού (άνθη, φύλλα, ψευδοβολβοί και ρίζες) εκχυλίστηκαν διαδοχικά με διχλωρομεθάνιο (DCM), οξικό αιθυλεστέρα (EtOAc) και αιθανόλη / νερό (EtOH/H₂O). Όλες οι εκχυλίσεις πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χρησιμοποιώντας 1 λίτρο διαλύτη κάθε φορά. Μετά την διήθηση, τα συλλεχθέντα εκχυλίσματα συμπυκνώθηκαν έως ξηρού και τα υπολείμματα ζυγίστηκαν έτσι ώστε να υπολογιστεί η απόδοση της εκχύλισης.

Το εκχύλισμα με EtOH/H₂O, αφού συμπυκνώθηκε ο οργανικός διαλύτης, στην συνέχεια καταψύχθηκε στους -80°C και λυοφιλοποιήθηκε μέχρι ξηρού υπολείμματος. Για την λυοφιλοποίηση χρησιμοποιήθηκε λυοφιλοποιητής τύπου Ehrist Alpha I-5. Τα εκχυλίσματα τοποθετήθηκαν στους +4°C στην συντήρηση έως ότου αναλυθούν.

5.6. Βιολογική Αξιολόγηση των Εκχυλισμάτων των Υποπροϊόντων *Cymbidium* sp.

Για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε η μέθοδος αναστολής της ελεύθερης ρίζας 2,2-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζιλίου (DPPH), ενώ για την αξιολόγηση της λευκαντικής δράσης μελετήθηκε η αναστολή της τυροσινάσης από μανιτάρι, χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα την 3,4-διϋδροξυφαινυλαλανίνη (L-DOPA). Επίσης για την αντιγηραντική δράση μελετήθηκε η αναστολή της ελαστάσης και της κολλαγενάσης. Οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν με στόχο μια βιοκατευθυνόμενη εκχύλιση του υποπροϊόντος της καλλιεργούμενης ορχιδέας του γένους *Cymbidium*.

5.6.1. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH

Ο μηχανισμός προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας έχει αναφερθεί στο [Κεφάλαιο 4](#).

5.6.2. Αναστολή της δράσης της Τυροσινάσης και Ελαστάσης

Η μέθοδος της αναστολής της δράσης των ενζύμων της τυροσινάσης και της ελαστάσης αναλύθηκαν στο [Κεφάλαιο 4](#) με τον σιδερίτη.

5.6.3 Αναστολή της δράσης της Κολλαγενάσης

Η κολλαγενάση όπως και η ελαστάση είναι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) που ανήκουν στα ένζυμα που συμμετέχουν ενεργά στην αποικοδόμηση των πρωτεϊνών που περιέχονται στον συνδετικό ιστό του δέρματος.

Η ανασταλτική δράση της κολλαγενάσης, προσδιορίστηκε τόσο στα ολικά εκχυλίσματα, όσο και στους απομονωμένους μεταβολίτες από τις ρίζες και τους βολβούς με βάση τον φθορισμό του υποστρώματος MMP-2 μετά την αποικοδόμησή του από την κολλαγενάση. Αναλυτικά σε μαύρη μικροπλάκα 96 κελιών, 50μL ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCL (10mM, pH = 7.3), 25μL δείγματος, είτε ολικό εκχύλισμα *Cymbidium* είτε απομονωμένοι μεταβολίτες (αραιωμένα σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCL) και 25μL διαλύματος κολλαγενάσης (30μg/mL αραιωμένο σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCL).

Προεπώσθησαν για 10 λεπτά στους 37°C, αποφεύγοντας την έκθεση στο φως. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 25 μL υποστρώματος MMP-2 (50 μM αραιωμένα σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCL) και η πλάκα επώσθηκε για επιπλέον 30 λεπτά στους 37°C στο σκοτάδι. Η ένταση φθορισμού μετρήθηκε σε μέγιστη διέγερση 320 nm και μέγιστη εκπομπή 405 nm από το Tecan (Infinite 200 Pro).

Τα ολικά εκχυλίσματα αξιολογήθηκαν στα 75μg/mL, 150μg/mL και 300μg/mL και οι καθαρές ενώσεις στα 25μM, 100μM, 250μM αντίστοιχα, αραιωμένες σε ρυθμιστικό PBS, ενώ το ποσοστό DMSO ήταν κάτω από το 5% του συνολικού όγκου μέσα στην πλάκα. Ο αρνητικός έλεγχος της δοκιμασίας ήταν ρυθμιστικό διάλυμα DMSO Tris-HCL 5% και η Φωσφοραμιδόνη ήταν ο θετικός έλεγχος ($IC_{50}=6,9\mu M$), ένας ισχυρός αναστολέας μεταλλο-ενδοπεπτιδάσης. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν. Η ανασταλτική δράση της κολλαγενάσης υπολογίστηκε με την ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \text{ Αναστολής} = (\text{Abs A} - \text{Abs B}) / (\text{Abs A}) \times 100$$

Όπου Abs A = Abs Control – Abs Control Blank και Abs B = Abs Δείγματος – Abs Blank δείγματος. Abs Control είναι η απορρόφηση του ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCL με 5% DMSO, κολλαγενάση, και υπόστρωμα, και Abs Δείγματος είναι η απορρόφηση του δείγματος σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCL, κολλαγενάση και υπόστρωμα. Το blank περιλαμβάνει όλα τα προαναφερθέντα αντιδραστήρια εκτός από το ένζυμο.

5.7. Φυτοχημική Μελέτη των Εκχυλισμάτων

Η χρωματογραφική κλασματοποίηση των εκχυλισμάτων της ορχιδέας πραγματοποιήθηκε με διαφορετικές τεχνικές στα διαφορετικά τμήματά της. Για τους ψευδοβολβούς και τις ρίζες πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης ενώ για τα άνθη πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία κατανομής με φυγοκέντρηση (Centrifugal Partition Chromatography, CPC).

5.7.1. Χρωματογραφία Λεπτής Στιβάδας (Αναλυτική και Παρασκευαστική)

Για την αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) χρησιμοποιήθηκαν πλάκες αλουμινίου 20 x 20 cm κανονικής φάσης με επίστρωση γέλης οξειδίου του πυριτίου και με πάχος στιβάδας 0.1mm (Silica gel 60, F254-Merck). Η παρατήρηση των χρωματογραφημάτων έγινε σε λάμπα υπεριώδους-ορατού (UV-Vis, CAMAG TLC Visualizer) σε μήκη κύματος 254 nm και 366 nm. Τέλος ψεκάζονταν με μεθανολικό διάλυμα θειϊκής βανιλίνης, θερμαίνονταν και παρατηρούνταν στο ορατό.

Για τον ποιοτικό έλεγχο των διχλωρομεθανικών εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκαν ως συστήματα ανάπτυξης μείγματα c-Hex/DCM σε διάφορες αναλογίες καθώς και μείγματα DCM/MeOH σε αναλογίες 100:0 έως 70:30. Για τον έλεγχο του εκχυλίσματος με EtOAc χρησιμοποιήθηκε μείγμα DCM/MeOH (98:2). Επίσης έγινε έλεγχος με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας αντιστρόφου φάσης (RP-18) στην οποία χρησιμοποιήθηκαν συστήματα διαλυτών H₂O / ACN σε αναλογίες 80:20 έως 0:100. Στην συνέχεια τα χρωματογραφήματα μελετήθηκαν προσεκτικά και εξήχθησαν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- Τα διχλωρομεθανικά εκχυλίσματα, περιέχουν κυρίως λιπαρά συστατικά και τερπενοειδή. Επίσης στην περίπτωση των φύλλων περιέχονται σημαντικές ποσότητες χλωροφυλλών.
- Τα εκχυλίσματα με οξικό αιθυλεστέρα, περιέχουν κυρίως φυτοστερόλες, αλκαλοειδή.
- Τα εκχυλίσματα με EtOH/H₂O περιέχουν μια πληθώρα πολικών συστατικών τα οποία κυρίως είναι γλυκοσίδες φλαβονοειδών, φαινολικοί γλυκοσίδες και σάκχαρα.
-

Για την παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας χρησιμοποιήθηκαν υάλινες πλάκες κανονικής φάσης επιστρωμένες με γέλη οξειδίου του πυριτίου Silica F254 με πάχος 0.25mm (Silica gel 60, F254-Merck, 20x20).

Η πλάκα παρατηρείται στα 254 nm και 366 nm και ένα μικρό τμήμα της πλάκας ψεκάζεται με μεθανολικό διάλυμα θειϊκής βανιλίνης για να εντοπιστούν οι ουσίες που δεν είναι εμφανείς στο UV. Οι ζώνες της στατικής φάσης που φαίνεται να έχουν τις επιθυμητές ουσίες αποξύνονται από την επιφάνεια της πλάκας, συλλέγονται χωριστά και εκχυλίζονται με κατάλληλο διαλύτη. Ως διαλύτη εκχύλισης επιλέχθηκε το σύστημα: MeOH : CHCl₃ : H₂O – 14 : 6 : 1. Ακολουθεί εξάτμιση και ζύγιση των παραληφθέντων προς ταυτοποίηση ουσιών

5.7.2. Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC)

Το περιεχόμενο των εκχυλισμάτων με EtOAc και EtOH/H₂O μελετήθηκε με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC). Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε το όργανο Thermo Finnigan HPLC (αντλία: SpectraSystem P4000 με την ικανότητα ανάμειξης τεσσάρων διαφορετικών διαλυτών, σε οποιαδήποτε αναλογία, απαερωτή (degasser) SpectraSystem 1000, ανιχνευτή UV-DAD, αυτόματο δειγματολήπτη SpectraSystem AS3000) και η στήλη RP-18, (25cm x 4.6mm, 5μm) (Supelco).

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε παρουσιάζεται στον **Πίνακα 5.2**. Η ανάλυση των χρωματογραφημάτων πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και οι απορροφήσεις καταγράφηκαν στα 220, 280 και 366nm.

Πίνακας 5.2. Μέθοδος ανάλυσης ολικών εκχυλισμάτων της ορχιδέας με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC). Ο διαλύτης Α είναι ακετονιτρίλιο (ACN) και ο διαλύτης Β είναι H₂O με 0.1% μυρηγικό οξύ (FA) (v/v).

Χρόνος (min)	Διαλύτης Α - ACN (%)	Διαλύτης Β - H ₂ O (0.1%FA)	Ροή (mL/min)
0	15	85	0.8
20	30	70	
45	40	60	
60	95	5	
75	95	5	
80	5	95	
85	5	95	

Το οξικό οξύ προστέθηκε για να αποφευχθεί η διάσπαση των όξινων –OH των φλαβονοειδών και των ομάδων –COOH των φαινολικών οξέων. Οι διαλύτες υποβάλλονται σε καθαρισμό με ειδικά φίλτρα και διαδικασία απόμακρυνσης του αέρα με ειδική συσκευή απαέρωσης πριν την είσοδο τους χρωματογραφία. Ο ενέσιμος όγκος του δείγματος κάθε φορά ήταν 20μL. Για την χρωματογραφική ανάλυση των εκχυλισμάτων 1mg του κάθε εκχυλίσματος διαλύθηκε σε 1mL μείγματος νερού ακετονιτρίλιου (50:50).

Για την λήψη και την επεξεργασία των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό ChromQuest™

5.7.3. Χρωματογραφία Κατανομής με Φυγοκέντρηση (Centrifugal Partition Chromatography – CPC)

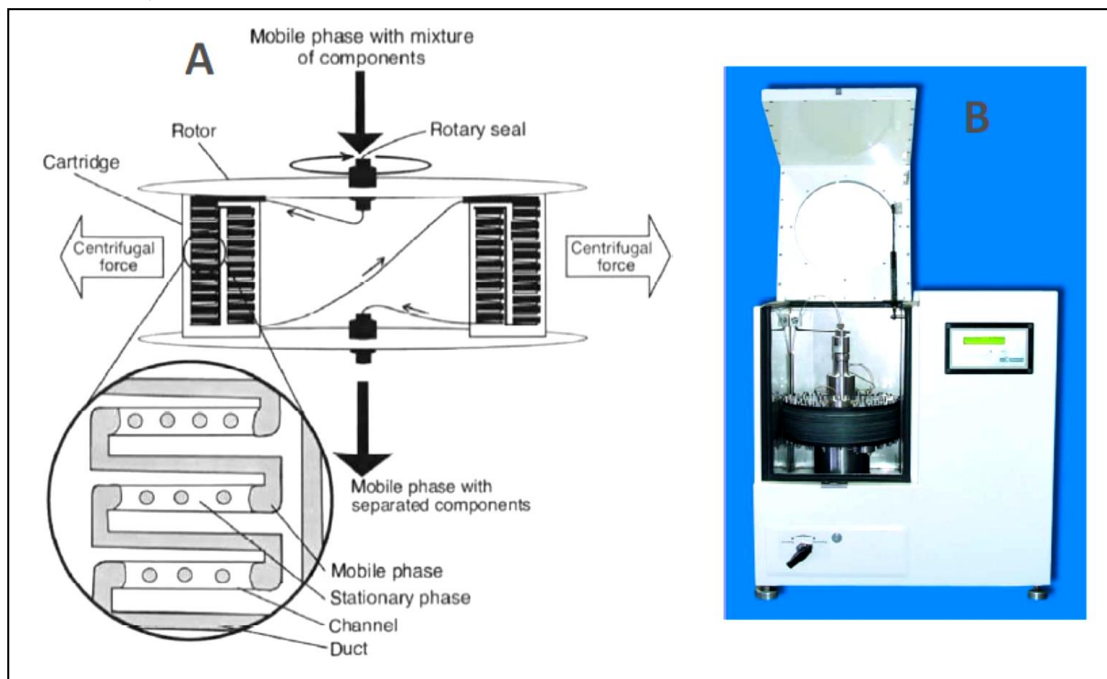
Γενικά

Η Χρωματογραφία Κατανομής με Φυγοκέντρηση αποτελεί υποκατηγορία της Χρωματογραφίας Κατ'Αντιροή (CCC). Είναι μία υγρή-υγρή τεχνική διαχωρισμού η οποία βασίζεται στην ύπαρξη δύο μη αναμιγνυόμενων υγρών φάσεων, εκ των οποίων η μία παραμένει στατική, ενώ η άλλη αποτελεί την κινητή φάση. Χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό ουσιών από μίγματα ή εκχυλίσματα και βασίζεται στην διαφορετική κατανομή των ουσιών στις δυο μη αναμιγνυόμενες φάσεις. Η όλη διαδικασία επιτελείται μέσα από περιστρεφόμενη στήλη η οποία είναι πληρωμένη με την στατική φάση (που είναι διαλυμένο ως προς το ανάλυση μίγμα), ενώ η κινητή φάση διέρχεται μέσω της στατικής με την βοήθεια της αντλίας. Αν και η τεχνική ανακαλύφθηκε από τον Ito το 1964 η χρήση της ήταν περιορισμένη μέχρι τις αρχές της δεκαετίας του 90 όπου η δημιουργία των σύγχρονων μηχανημάτων έκανε την χρήση της εύκολη και γρήγορη καθιστώντας την μια από τις κύριες τεχνικές στην απομόνωση ουσιών ([Ito, 1970](#); [Tanimura, 1970](#); [Ito, 1988](#)).

Η αρχή λειτουργίας της μεθόδου περιλαμβάνει τον διαχωρισμό των συστατικών ενός μίγματος με βάση τους συντελεστές κατανομής (K) των συστατικών αυτών στις δύο υγρές φάσεις. Καθώς η κινητή φάση διέρχεται διαμέσου της στατικής, παρασύρει τα συστατικά του μίγματος με διαφορετική ταχύτητα το καθένα, και ανάλογα με τον συντελεστή κατανομής του, κάνοντας έτσι δυνατό τον διαχωρισμό και την απομόνωσή τους. Ο συντελεστής κατανομής K (partition coefficient), ο οποίος ισούται με τον λόγο των συγκεντρώσεων της ουσίας στις δύο φάσεις του διαφασικού συστήματος. Στην CCC χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη της καταλληλότητας ενός διαφασικού συστήματος να διαχωρίσει τις ουσίες ενός μίγματος. Επιπλέον με βάση τις τιμές K των διαφόρων ουσιών, μπορούμε να προβλέψουμε τόσο την σειρά έκλουσης όσο και τον όγκο της κινητής φάσης που απαιτείται για την παραλαβή της κάθε ουσίας. Μπορεί να οριστεί είτε ως συγκέντρωση της ουσίας στην πάνω φάση προς την αντίστοιχη συγκέντρωση στην κάτω ($K_{π/κ}$) είτε το αντίστροφο ($K_{κ/π}$).

Για την φυτοχημική ανάλυση των ανθέων της ορχιδέας προχωρήσαμε με την λεγόμενη Centrifugal Partition Chromatography (CPC). Στην συγκεκριμένη περίπτωση στην στήλη εφαρμόζεται κεντρομόλος δύναμη που έχει σαν συνέπεια την γρήγορη ανάμιξη και διαχωρισμό των δύο φάσεων με αποτέλεσμα των καλύτερο διαχωρισμό των ουσιών. Η στήλη είναι κυλινδρική με έναν κεντρικό άξονα στον οποίο εφαρμόζεται περιστροφική κίνηση. Το εσωτερικό της στήλης απαρτίζεται από πολλές οβαλ κυψελίδες τοποθετημένες στην σειρά και ενωμένες μεταξύ τους με σωληνάκια σε διάταξη κεφαλή προς ουρά. Η

ισορροπία του συστήματος εξακολουθεί να είναι υδροστατικού τύπου, εφόσον η κεντρομόλος κίνηση αυτό που προσφέρει είναι να συγκρατεί πιο σταθερά την στατική φάση μέσα στην στήλη έτσι ώστε να μην παρασύρεται από την γρήγορη μετακίνηση της κινητής φάσης διαμέσου της στατικής (Murayama, 1982; Motomizu, 1990).



Εικόνα 5.15. Διάταξη Χρωματογραφίας Κατανομής με Φυγοκέντρηση - Centrifugal Partition Chromatography (CPC).

Οι υδροστατικές στήλες που χρησιμοποιούνται είναι διαφορετικού τύπου και κυρίως έχουν να κάνουν με την διαφορετική διεύθυνση των κυψελίδων μέσα στην στήλη με σκοπό την καλύτερη ανάμιξη των φάσεων και αύξηση με αυτόν τον τρόπο των θεωρητικών πλακών και κατ'επέκταση της ποιότητας διαχωρισμού (Ito, 1977). Το μέγεθος των στηλών ποικίλει και έτσι συναντάμε αναλυτικές στήλες (χωρητικότητας 10 έως 100mL), ημιπαρασκευαστικές στήλες (χωρητικότητας 200 έως 500 mL) και παρασκευαστικές στήλες (χωρητικότητας 1 έως 5 L).

5.7.3.α. Βασικές Μέθοδοι της Χρωματογραφίας Αντιστρόφου Ροής

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση με Χρωματογραφία Κατ'Αντιροή είναι κυρίως πέντε. Τρεις εξ'αυτών αναφέρονται στον τρόπο έκλουσης των διαλυτών ενώ οι άλλες δυο στην χρήση περισσότερων του ενός διφασικού συστημάτων.

- **Normal mode:** Αναφέρεται στην κλασσική χρήση της τεχνικής, δηλαδή την χρησιμοποίηση της μίας φάσης ως κινητή και της άλλης ως στατική. Για την τεχνική CPC η χρήση της πάνω φάσης

ως κινητή γίνεται από κάτω προς τα πάνω (ascending mode) ενώ όταν χρησιμοποιείται η κάτω φάση ως κινητή η είσοδος στην στήλη είναι από πάνω προς τα κάτω (descending mode).

- **Dual-mode:** Η μέθοδος αυτή αποτελεί μια παραλλαγή της παραπάνω μεθόδου και αναφέρεται στην δυνατότητα χρήσης τόσο της μιας όσο και της άλλης φάσης ως κινητής στην ίδια ανάλυση. Ουσιαστικά πρόκειται για την δυνατότητα που προσφέρουν τα μηχανήματα να αλλάζουμε την κινητή φάση σε στατική και το αντίστροφο χωρίς να χρειάζεται να αδειάζει η στήλη. Με τον τρόπο αυτόν, μειώνεται αισθητά ο χρόνος ανάλυσης ενός δείγματος και αποφεύγεται ο μεγάλος όγκος κινητής φάσης που απαιτείται για να εξέλθουν από την στήλη οι ουσίες που κατανέμονται κυρίως στην στατική φάση.
- **Elution Extraction:** Στην συγκεκριμένη μέθοδο, διοχετεύεται ένας συγκεκριμένος όγκος κινητής φάσης (διπλάσιος από τον όγκο της στατικής) και κατόπιν εξωθείται όλο το περιεχόμενο της στήλης και συλλέγονται τα κλάσματα. Το σκεπτικό με την συγκεκριμένη μέθοδο είναι ότι με την είσοδο της κινητής φάσης οι ουσίες του μίγματος διαχωρίζονται και απομακρύνονται μεταξύ τους (με βάση τον συντελεστή κατανομής) και έτσι με την εξώθηση του περιεχομένου της στήλης εξέρχονται με την σειρά που είναι τοποθετημένης στο εσωτερικό της. Ο χρόνος διαχωρισμού είναι πολύ χαμηλότερος και η κατανάλωση διαλυτών σημαντικά χαμηλότερη από τις προηγούμενες τεχνικές. Η ποιότητα του διαχωρισμού ενδέχεται να μην είναι καλή ([Berthod, 2003](#)).
- **Gradient Mode:** η μέθοδος αυτή γίνεται με την χρήση πολλών συστημάτων στην σειρά προκειμένου να γίνει καλύτερος διαχωρισμός ενός μείγματος και παραλαβή μεγαλύτερου αριθμού ουσιών σε καθαρή μορφή. Η χρήση της μεθόδου γίνεται με στόχο να διαχωριστούν μείγματα που περιέχουν μεταβολίτες που καλύπτουν μεγάλο φάσμα πολικότητων και δομών. Η επιλογή του διφασικού συστήματος γίνεται με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε διατηρήσουν την διφασικότητά τους μέσα στην στήλη. Για να αποφευχθεί το πρόβλημα καταστροφής της ισορροπίας των φάσεων, γίνεται κατάλληλη επιλογή της σειράς συστημάτων έτσι ώστε να περιέχουν τους ίδιους διαλύτες και την ίδια φάση που θα χρησιμοποιηθεί ως στατική, ενώ αλλάζει η αναλογία των διαλυτών που αποτελούν την κινητή φάση.
- **pH Zone Refining:** στην μέθοδο αυτή αλλάζει βαθμιδωτά το pH κατά την διάρκεια της ανάλυσης. Χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό ουσιών με όξινες ή βασικές ιδιότητες όπως είναι τα οξέα, τα αλκαλοειδή. Σημαντικοί παράγοντες είναι τόσο ο συντελεστής κατανομής όσο και το pK_a των ουσιών. Συνήθως το διφασικό σύστημα αποτελείται από μια οργανική και μια υδατική φάση στις οποίες προστίθενται οι παράγοντες που ρυθμίζουν το pH.

5.7.3.β. Επιλογή και Έλεγχος Διφασικών Συστημάτων

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως το διφασικό σύστημα αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά σημεία για τον διαχωρισμό των ουσιών σε ένα πολύπλοκο μίγμα. Οι διαλύτες που θα χρησιμοποιηθούν πρέπει να έχουν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- να σχηματίζουν διφασικό σύστημα
- να διαθέτουν μικρό χρόνο εξισορρόπησης (μικρότερο των 30sec)
- οι όγκοι των δύο φάσεων να είναι περίπου ίσοι
- το δείγμα να διαλύεται πλήρως
- οι τιμές των συντελεστών κατανομής των ουσιών του μείγματος να κυμαίνονται στις δύο φάσεις μεταξύ 0.2 και 5.0 (ιδανική περίπτωση η τιμή 1.0)

Η αξιολόγηση της ικανότητας διάλυσης, της ταχύτητας διαχωρισμού και της αναλογίας των δύο φάσεων, γίνεται με την χρήση δοκιμαστικού σωλήνα (10mL), όπου τοποθετούνται περίπου 10mg εκχυλίσματος ή μείγματος και προστίθενται διαλύτες του κάθε συστήματος, στις κατάλληλες αναλογίες έτσι ώστε ο τελικός όγκος να είναι περίπου 3mL. Το κάθε δείγμα ανακινείται έντονα και έπειτα αφήνεται να ηρεμήσει. Για να θεωρηθεί ένα σύστημα αποδεκτό θα πρέπει να είναι πλήρης η διάλυση του δείγματος, ο σχηματισμός και ο διαχωρισμός των δύο φάσεων να γίνεται σε χρόνο μικρότερο του ενός λεπτού και να λαμβάνονται ίσοι όγκοι για τις δύο φάσεις.

Η μέθοδος περιλαμβάνει δυο βασικούς τύπους εξισορρόπησης ανάλογα με τον τρόπο που επιτυγχάνεται η ισορροπία στο σύστημα: το Σύστημα Υδροστατικής Εξισορρόπησης (HSES) και το σύστημα Υδροδυναμικής Εξισορρόπησης (HDES). Η συσκευή που χρησιμοποιήσαμε για την ανάλυσή μας είναι κατασκευασμένη να λειτουργεί με το σύστημα HSES.

Απαραίτητη είναι επίσης και η χρήση της Χρωματογραφίας Λεπτής Στιβάδας (TLC), με στόχο να απορρίψουμε τα συστήματα στα οποία οι περισσότερες ουσίες είναι κατανεμημένες εξ ολοκλήρου στην μία από τις δύο φάσεις.

Ο ημι-παρασκευαστικός διαχωρισμός (semi-preparative) για την μελέτη και απομόνωση των μεταβολιτών από τα άνθη της ορχιδέας *Cymbidium* sp., πραγματοποιήθηκε σε ένα σύστημα FCPC200® (Fast Centrifugal Partition Chromatograph), της εταιρείας Rousselet-Robatel Kromaton Company (Anonay, France). Ο ρότορας αποτελείται από 200 κυκλικούς δίσκους διαχωρισμού χαραγμένο με 1320 κελιά διαχωρισμού (130μL ανα κελί). Η συνολική χωρητικότητα της στήλης είναι 205mL. Οι διαχωρισμοί

πραγματοποιήθηκαν σε ένα σύστημα FCPC1000® (Fast Centrifugal Partition Chromatograph), της εταιρείας Rousselet-Robatel Kromaton (Anonay, France) εξοπλισμένο με ρότορα συνολικής χωρητικότητας 955mL με 45 κυκλικούς δίσκους χωρίσματος χαραγμένους με 32 διαμερισματοποιημένα κελιά. Η ταχύτητα περιστροφής μπορεί να ρυθμιστεί από τις 200 στις 2000 στροφές ανά λεπτό, παράγοντας σταθερή φυγόκεντρο δύναμη έως 161G στα 1000rpm. Οι διαλύτες αντλήθηκαν μέσω των στηλών του CPC, με αντλία διπλού εμβόλου Prep36 της LabAlliance (State College, PA, ΗΠΑ).

5.7.4. Ταυτοποίηση Μεταβολιτών με Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Η μέθοδος εφαρμόστηκε σε φασματογράφο Bruker Ultrashield™ PLUS 600MHz. Λήφθηκαν φάσματα μίας (1D) και δύο (2D) διαστάσεων. Τα κλάσματα διαλύθηκαν σε 0.5-0.6 mL MeOD ή CDCl₃-d₆ και μεταγγίστηκαν σε στενούς υάλινους σωλήνες NMR (διάμετρος 5mm). Οι χημικές μετατοπίσεις (δ) είναι εκφρασμένες σε ppm, ενώ οι σταθερές σύζευξης (J) σε Hz. Η πολλαπλότητα των κορυφών εκφράζεται ως *s* (απλή), *brs* (ευρεία απλή), *d* (διπλή), *t* (τριπλή), *q* (τετραπλή), *dd* (διπλή-διπλή) και *m* (πολλαπλή). Έγινε λήψη φασμάτων ¹H-NMR, COSY (Correlation Spectroscopy), HSQC (Heteronuclear Single Quantum Correlation), HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation).

5.7.5. Ταυτοποίηση Μεταβολιτών με Υγρή Χρωματογραφία συζευγμένη με Φασματομετρία Μάζας (LC-MS)

Για τον προσδιορισμό των συστατικών του *S.sipylea*, και πιο συγκεκριμένα για τα φαινολικά συστατικά, η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης συνδεδεμένη με Φασματομετρία Μάζας (LC-MS). Ειδικά η ανάλυση έγινε σε αναλυτή μαζών LC-MS τύπου Acquity H-Class UPLC system (Waters Corp., Milford, USA) εξοπλισμένο με αντλία, αυτόματο δειγματολήπτη, ηλεκτρονικό σύστημα κενού και στήλη ελεγχόμενης θερμοκρασίας, συζευγμένο σε ένα υβριδικό φασματόμετρο μάζας (LTQ-Orbitrap, Discovery XL) της Thermo Scientific (Brehmen, Germany) με ESI ως μέθοδος ιοντισμού με ηλεκτροψεκασμό. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε είναι Fortis C18 (Fortis Technologies Ltd, Cheshire, UK) με διαστάσεις (100 x 2.1mm, 1.7μm).

Τα συστήματα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν σαν κινητή φάση αποτελούνται από H₂O (διαλύτης A) και ακετονιτρίλιο (διαλύτης B). Και στους δύο διαλύτες έχει προστεθεί μυρμηκικό οξύ (0,1% v/v). Η συνολική διάρκεια της ανάλυσης ήταν 32 λεπτά με σταθερή ροή 0.4mL/min. Ο όγκος έγχυσης των δειγμάτων ήταν 10μL και η θερμοκρασία της στήλης σταθεροποιήθηκε στους 40°C.

Για το συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε πηγή ιόντων ESI αρνητικού φορτίου (-) και η ποιοτική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με αυτοματοποιημένο σύστημα MS/MS, στο πλήρες εύρος μάζας σάρωσης m/z 115.0 – 1000.0 με ανάλυση (resolution), 30.000. Η θερμοκρασία στο τριχοειδές ορίστηκε στους 350°C. Η τάση της πηγής ορίστηκε στα 2.70kV (ESI-), ενώ το ρεύμα στην πηγή ήταν 100μΑ. Η ανάλυση των φασμάτων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό Xcalibur 2.0.7.

ΜΕΡΟΣ Β: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.8. Εκχυλίσματα Υποπροϊόντων Ορχιδέας

Στον Πίνακα 5.3 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των διαδοχικών εκχυλίσεων από τα διαφορετικά μέρη της ορχιδέας (ρίζες, ψευδοβολβοί, φύλλα και άνθη) με τρεις διαφορετικούς διαλύτες (DCM, EtOAc και EtOH / H₂O). Η κάθε εκχύλιση πραγματοποιήθηκε εις διπλούν. Η αρχική ποσότητα για κάθε τμήμα φυτού ήταν 400g.

Στον πίνακα γίνεται αναφορά στο τελικό ολικό βάρος και στον μέσο όρο του βάρους τους εκχυλίσματος μετά από τις δύο εκχυλίσεις έτσι ώστε να καταγραφεί η απόδοση της εκχύλισης % (w/w).

Πίνακας 5.3. Εκχυλίσματα διαφορετικών τμημάτων υποπροϊόντων ορχιδέας (*Cymbidium* sp.) σε τρεις διαφορετικές πολικότητες διαλυτών (DCM, EtOAc, EtOH/H₂O). Αποδίδονται τα τελικά βάρη των εκχυλισμάτων καθώς επίσης και οι αποδόσεις (% w/w). Οι εκχυλίσεις πραγματοποιήθηκαν δύο φορές.

Οι αποδόσεις (% w/w). Οι εκχυλίσματα πραγματοποιήθηκαν δύο φορές.							
Μέρος του Φυτού	Διαλύτης	Αρχικό Βάρος (g)	Βάρος Εκχυλίσματος (g)	Μέσος όρος	Τυπική Απόκλιση	Ολικό Βάρος (g)	Απόδοση % (w/w)
Ρίζες (R) (SAM110b)	DCM	400	1.60	1.03	0.81	2.06	0.65
			0.46				
	EtOAc		2.16	1.84	0.45	3.68	0.92
			1.52				
	EtOH/H ₂ O		5.83	4.77	1.49	9.54	2.39
			3.71				

Ψευδοβολβοί (Ps) (SAM110a)	DCM	400	2.74	3.57	1.18	7.15	1.79
			4.41				
	EtOAc		1.74	1.84	0.15	3.69	0.92
			1.95				
	EtOH/H ₂ O		5.72	7.41	2.4	14.83	3.70
			9.11				
Φύλλα (Le) (SAM110c)	DCM	400	6.01	4.18	2.6	8.36	2.09
			2.35				
	EtOAc		4.80	3.90	1.26	7.81	1.95
			3.01				
	EtOH/H ₂ O		6.80	5.65	1.62	11.30	2.82
			4.50				
Άνθη (Fl) (SAM110c)	DCM	400	5.06	3.48	2.23	6.97	1.74
			1.91				

Κεφάλαιο 5: Φυτοχημική Ανάλυση και Βιολογική Αξιολόγηση των Υποπροϊόντων καλλιέργειας της Ορχιδέας *Cymbidium* sp. από την νήσο Σάμο.

	EtOAc		4.00	3.23	1.09	6.46	1.61
			2.46				
	EtOH/H ₂ O		6.21	5.54	0.94	11.09	2.77
			4.88				

5.9. Βιολογική Αξιολόγηση των Εκχυλισμάτων *Cymbidium* sp.

5.9.1. Αντιοξειδωτική Ικανότητα με την μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH

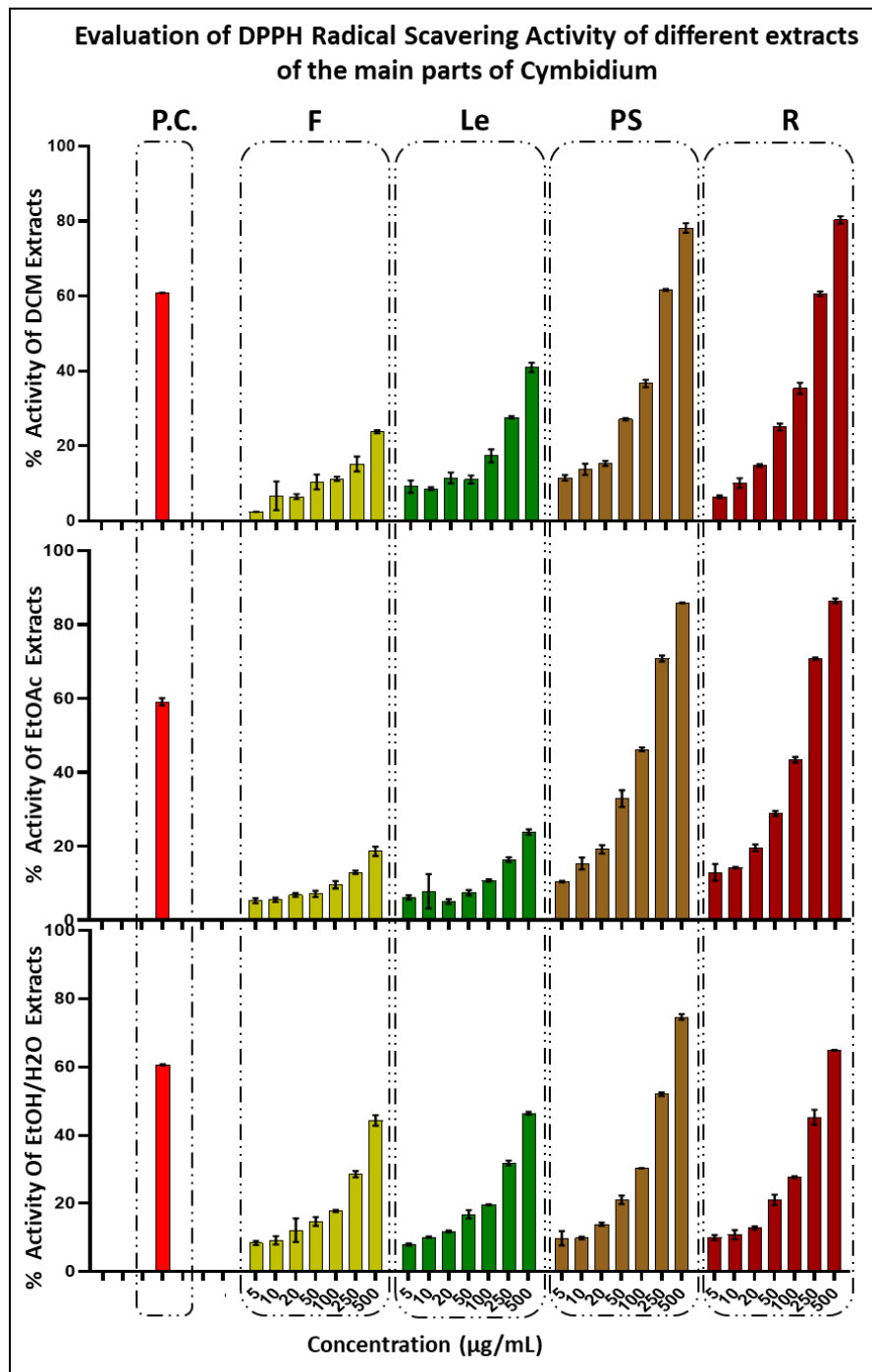
Για τα ολικά εκχυλίσματα των υποπροϊόντων (Fl, Le, Ps, R) σε τρεις διαφορετικές πολικότητες (DCM, EtOAc και EtOH/H₂O) του *Cymbidium* sp., προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητά τους με βάση την απομάκρυνση ελευθέρων ριζών DPPH. Για την παρασκευή των δειγμάτων, διαλύονται στον αντίστοιχο διαλύτη σε C = 4mg/mL για αρχικά εκχυλίσματα και σε C = 2mg/mL για κλάσματα

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα καθώς επίσης και στα συνολικά διαγράμματα:

Πίνακας 5.4. Αντιοξειδωτική ικανότητα με την μέθοδο DPPH από τα διαφορετικά τμήματα υποπροϊόντων της ορχιδέας *Cymbidium* sp. Οι τιμές έχουν εκφραστεί σαν IC₅₀ (μg/ ml).

Τμήμα του Φυτού	Διαλύτης Εκχύλισης	IC ₅₀ (μg/mL)
Άνθη (Fl)	DCM	>500
	EtOAc	>500
	EtOH / H ₂ O	>500
Φύλλα (Le)	DCM	>500
	EtOAc	>500
	EtOH / H ₂ O	>500
Ψευδοβολβοί (Ps)	DCM	165.778
	EtOAc	114.181
	EtOH / H ₂ O	233.317
Ρίζες (R)	DCM	174.605
	EtOAc	127.167
	EtOH / H ₂ O	304.020

Διάγραμμα 5.1. Συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα των διαφορετικών τμημάτων της ορχιδέας *Cymbidium* sp. (% δραστηριότητας). Τα διαφορετικά τμήματα είναι τα άνθη (F), φύλλα (Le), ψευδοβολβοί (Ps) και ρίζες (R). Όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν. Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσος όρος $\pm$ SD ($n=3$, $p<0,05$) για όλες τις δοκιμασμένες δόσεις. P.C (Positive Control – θετικός μάρτυρας) είναι το γαλλικό οξύ (Gallic acid).



Μεταξύ των εκχυλισμάτων το υψηλότερο % της δραστικότητας παρουσιάζεται από τα ολικά εκχυλίσματα Ps και R και στις 3 διαφορετικές πολικότητες και η χαμηλότερη τιμή IC_{50} παρουσιάζεται από τα εκχυλίσματα EtOAc $IC_{50} = 114.181 \mu\text{g/mL}$ για Ps και $IC_{50} = 127.167 \mu\text{g/mL}$ για R αντίστοιχα (**Διάγραμμα 5.1**).

Η τιμή IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) είναι μια παράμετρος που χρησιμοποιείται ευρέως για την μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων. Υπολογίζεται ως η συγκέντρωση αντιοξειδωτικών που απαιτούνται για την μείωση της αρχικής συγκέντρωσης DPPH κατά 50%. Έτσι η χαμηλότερη τιμή IC_{50} σημαίνει υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση. Στην περίπτωση των εκχυλισμάτων της ορχιδέας το εκχύλισμα EtOAc των Ps παρουσιάζει την χαμηλότερη τιμή IC_{50} ($114.181 \mu\text{g/mL}$).

Είναι γνωστό ότι εκχυλίσματα με IC_{50} χαμηλότερα από $50 \mu\text{g/mL}$ είναι πολύ ισχυρά αντιοξειδωτικά, με $50-100 \mu\text{g/mL}$ να είναι ισχυρά, $101-150 \mu\text{g/mL}$ να παρουσιάζουν μέτρια αντιοξειδωτική δράση και με τιμές πιο υψηλές από $150 \mu\text{g/mL}$ να είναι ασθενή αντιοξειδωτικά ([Fidrianny, 2018](#)). Τα εκχυλίσματα EtOAc των Ps και R παρουσίασαν μέτρια αντιοξειδωτική δράση σε αντίθεση με τα ολικά εκχυλίσματα DCM και EtOH/H₂O, τα οποία όπως ήταν αναμενόμενο, δεν παρουσίασαν αξιολογή δράση.

5.9.2. Αξιολόγηση *in-vitro* της αντιγηραντικής δράσης των ολικών εκχυλισμάτων *Cymbidium* sp.

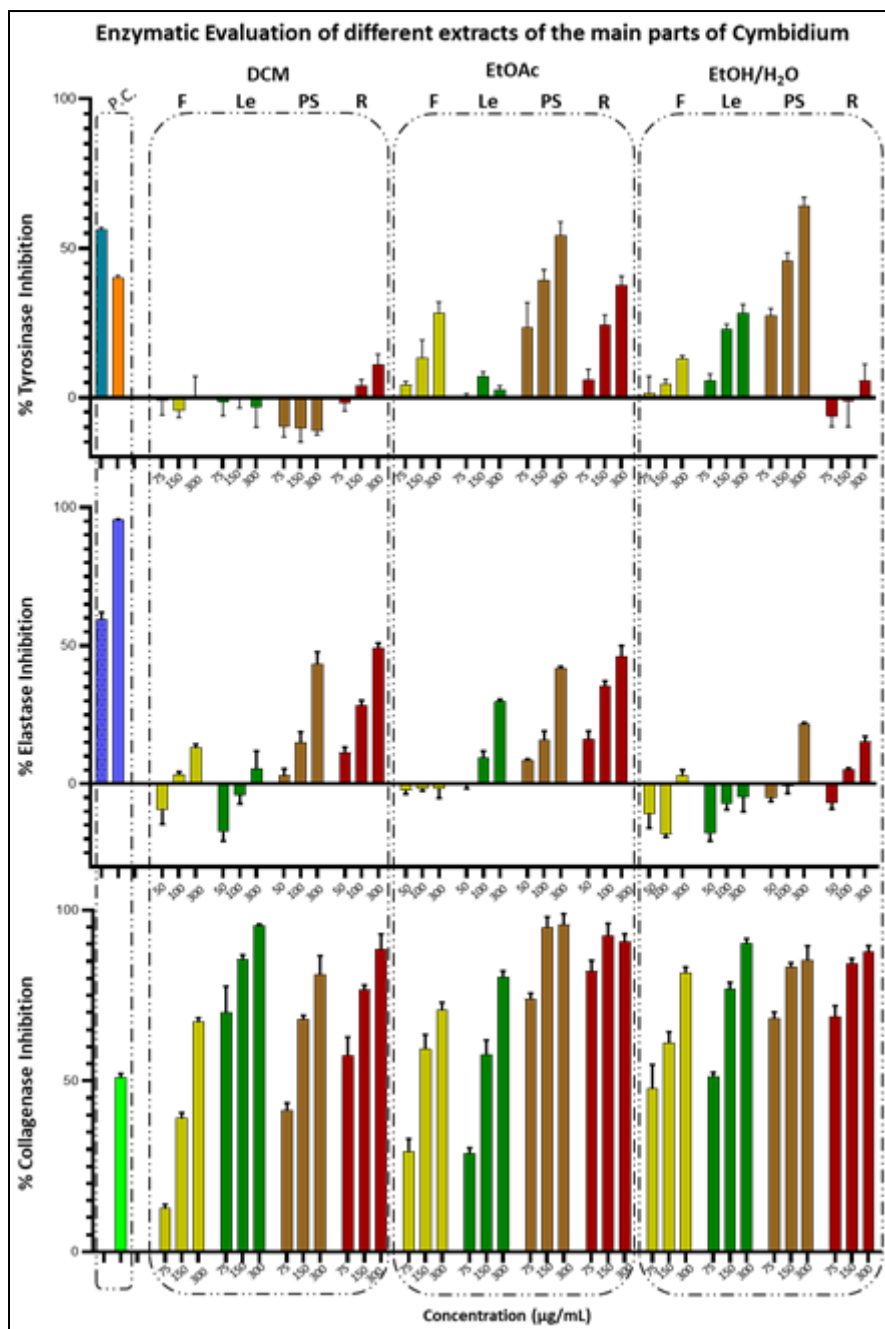
Για όλα τα προαναφερθέντα εκχυλίσματα της ορχιδέας *Cymbidium* sp. εφαρμόστηκαν οι ενζυμικές δοκιμασίες με ένζυμα όπως η ελαστάση, τυροσινάση και κολλαγενάση.

Παρόλο που στην επιστημονική βιβλιογραφία υπάρχει πληθώρα μελετών σχετικά με την δραστικότητα των εκχυλισμάτων φυσικών προϊόντων έναντι των ενζύμων της ελαστάσης ή της τυροσινάσης, δεν υπάρχουν αναφορές σχετικά με τις δράσεις αυτών των ενζύμων στα υποπροϊόντα της ορχιδέας του γένους *Cymbidium*. Όλα τα προαναφερθέντα εκχυλίσματα (F, Le, Ps, R), αξιολογήθηκαν για την ικανότητα αναστολής των τριών αυτών ενζύμων.

Ως τυπική σύγκριση χρησιμοποιήθηκε η μισή ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (IC_{50}) κάθε θετικού μάρτυρα. Την υψηλότερη ανασταλτική δραστικότητα τυροσινάσης παρουσιάζει το ολικό εκχύλισμα EtOAc ψευδοβολβών (Ps) του *Cymbidium* sp., ενώ η χαμηλότερη δραστικότητα παρατηρήθηκε στα εκχυλίσματα σε Le, F σε όλες τις διαφορετικές πολικότητες διαλυτών καθώς επίσης και στο ολικό εκχύλισμα EtOH / H₂O (**Διάγραμμα 5.2**).

Τα ολικά εκχυλίσματα των υποπροϊόντων της ορχιδέας εμφάνισαν δράση κατά της ελαστάσης με δόσοεξαρτώμενο τρόπο. Για τα ολικά εκχυλίσματα EtOH / H₂O δεν υπήρχε δραστικότητα και για τα τέσσερα διαφορετικά τμήματα της ορχιδέας.

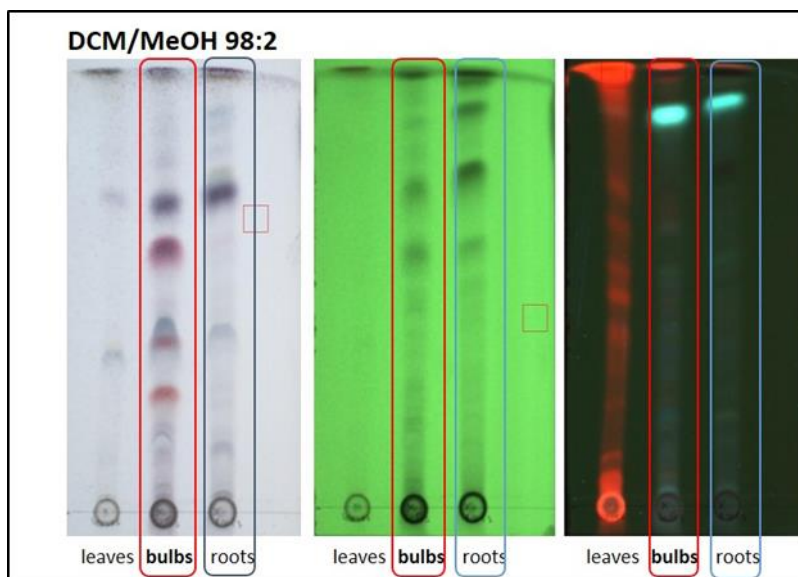
Διάγραμμα 5.2. Δραστικότητα των διαφορετικών τμημάτων της ορχιδέας *Cymbidium* sp. εκφρασμένη σε % αναστολής για την τυροσινάση, ελαστάση και κολλαγενάση. Οι κίτρινες, οι πράσινες, οι καφέ και οι κόκκινες ράβδοι αντιπροσωπεύουν τα άνθη (F), τα φύλλα (Le), τους ψευδοβολβούς (Ps) και τις ρίζες (R) του φυτού, αντίστοιχα. Οι ράβδοι απεικονίζουν μέσο όρο $\pm$ S.D., $n=3$ ανεξάρτητων πειραμάτων. P.C. = Θετικός έλεγχος για τον προσδιορισμό Τυροσινάσης είναι το Kojic Acid ($IC_{50}=10\mu M$, αριστερή μπάρα) και εκχύλισμα γλυκόριζας ($IC_{50}=1\mu g/mL$) (δεξιά μπάρα), για τον προσδιορισμό Elastase είναι η Elastatinal ($IC_{100} = 5\mu g/mL$, δεξιά μπάρα και $IC_{50} = 0.5\mu g/mL$, αριστερή μπάρα) και για την Collagenase το Phosphoramidon ($IC_{50} = 6.9\mu M$).



5.10. Φυτοχημική Ανάλυση των Επιλεγμένων Εκχυλισμάτων της Ορχιδέας *Cymbidium* sp.

Γενικά

Πριν την φυτοχημική ανάλυση των ολικών εκχυλισμάτων της ορχιδέας και για τον ποιοτικό προσδιορισμό τους, πραγματοποιήθηκε αρχικά μία ολική TLC για κάθε διαφορετικό διαλύτη εκχύλισης. Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζουμε τα ολικά εκχυλίσματα F, Ps, R σε σύστημα EtOAc και σύστημα ανάπτυξης διαλυτών DCM / MeOH (98:2).



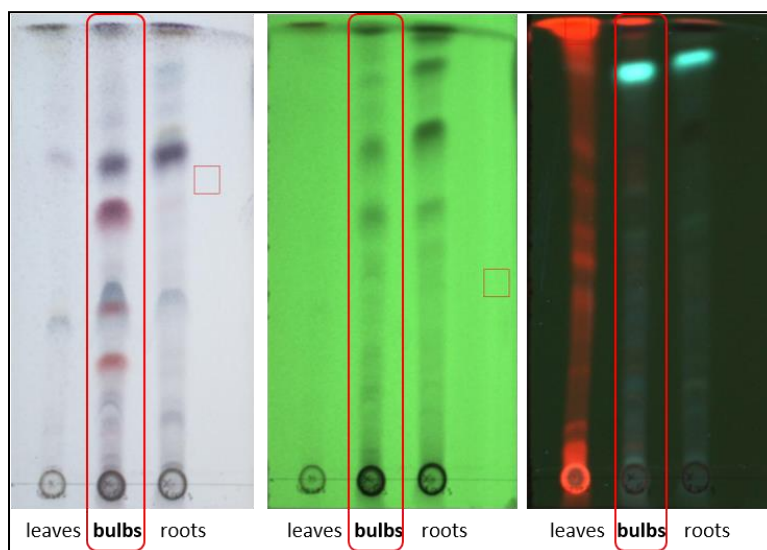
Εικόνα 5.16. Ολική TLC των εκχυλισμάτων φύλλων (leaves), ψευδοβολβών (bulbs) και ριζών (roots) σε EtOAc με σύστημα ανάπτυξης DCM / MeOH (98:2).

Η απορρόφηση παρατηρείται στα 254 nm και στα 366 nm ενώ για το ορατό γίνεται ψεκασμός με την θειϊκή βανιλίνη. Παρατηρούμε ότι τόσο το ολικό εκχύλισμα των ψευδοβολβών όσο και των ριζών εμφανίζουν πλούσιο φυτοχημικό προφίλ ενώ τα φύλλα παρουσιάζουν μία ενιαία κόκκινη ζώνη που οφείλεται στην χλωροφύλλη.

Το πλούσιο φυτοχημικό προφίλ του ολικού εκχυλίσματος EtOAc επίσης παρουσιάζεται από τα ολικά χρωματογραφήματα με LC-MS και για τους 4 διαφορετικούς τύπους υποπροϊόντων της ορχιδέας ([Παράρτημα: Εικόνες S1-4](#)) ενώ η υγρή χρωματογραφία υψηλής ανάλυσης HPLC-DAD και το ολικό προφίλ των εκχυλισμάτων των υποπροϊόντων παρουσιάζονται στο Παράρτημα ([Εικόνα S5](#))

5.10.1. Εκχύλισμα Ψευδοβολβών

Το ολικό εκχύλισμα των ψευδοβολβών αναλύθηκε με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου (TLC silica gel 60 F254, Merck Millipore, Molsheim, France) με σύστημα ανάπτυξης DCM / MeOH, 98:2 (Εικόνα 5.17).



Εικόνα 5.17. TLC ολικού εκχυλίσματος EtOAc ψευδοβολβών (Ps) με σύστημα ανάπτυξης DCM/MeOH (98:2).

Για την κατεργασία του ολικού εκχυλίσματος (3.7 g) ως διαλύτες έκλουσης χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικά συστήματα c-Hex / EtOAc; EtOAc και EtOAc / MeOH. Οι αναλογίες των συστημάτων παρουσιάζονται στον παρακάτω **Πίνακα 5.5**.

Πίνακας 5.5. Συστήματα διαλυτών με τις αναλογίες τους για την κλασμάτωση του ολικού εκχυλίσματος EtOAc ψευδοβολβών (Ps).

Σύστημα Έκλουσης	Αναλογίες (%)	Κλάσματα
c-Hex / EtOAc	90 : 10	1 έως 36
	85 : 15	37 έως 75
	80 : 20	76 έως 131
	75 : 25	132 έως 172
	70 : 30	133 έως 221
	60 : 40	222 έως 247
	50 : 50	248 έως 289
	40 : 60	290 έως 311
	30 : 70	312 έως 335

	20 : 80	336 έως 362
EtOAc	100	336 έως 380
EtOAc / MeOH	90 : 10	380 έως 401
	80 : 20	402 έως 421
	50 : 50	422 έως τέλος

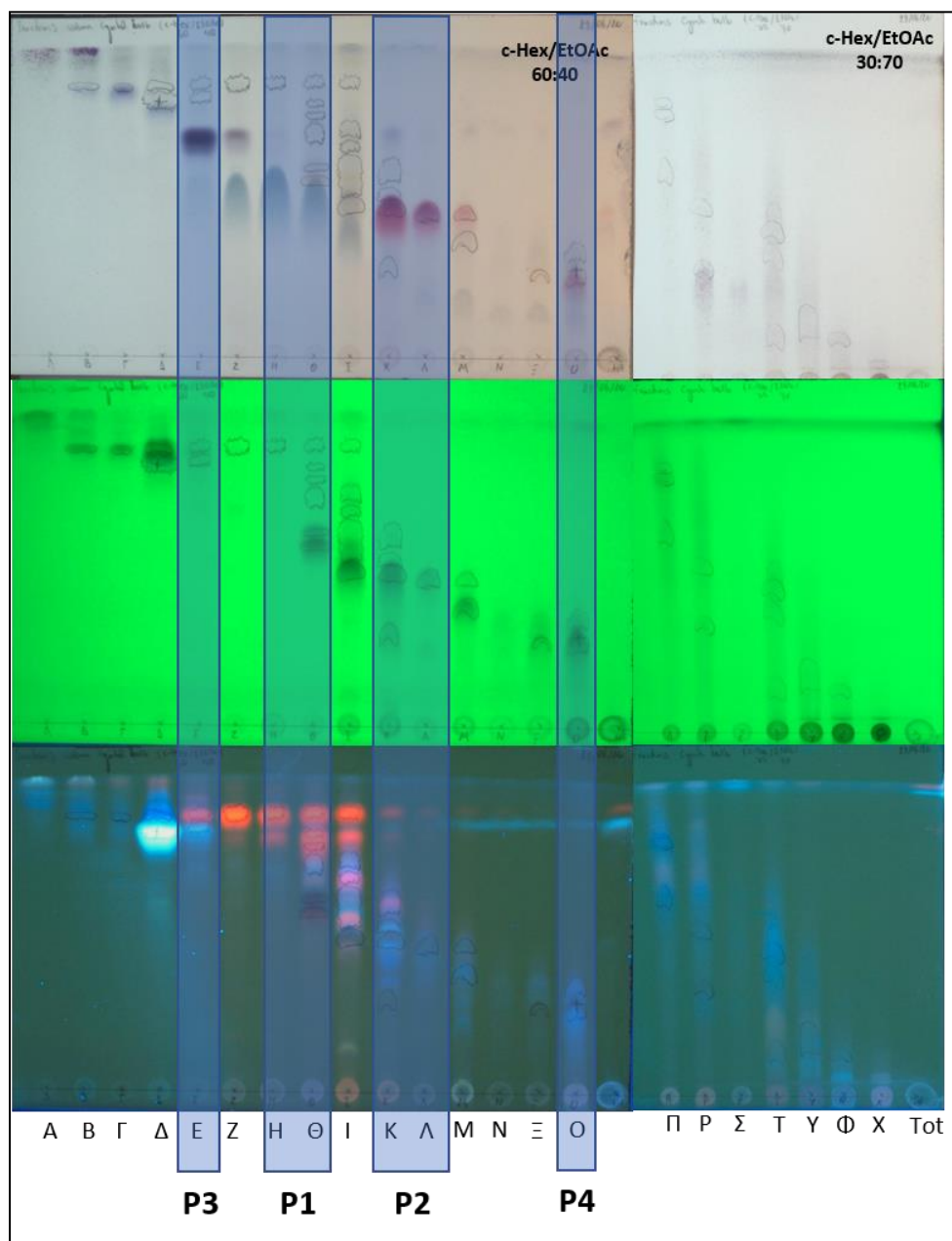
Το αποτέλεσμα ήταν η παραλαβή περισσότερων από 422 κλασμάτων. Από τα 422 κλάσματα που συλλέχθηκαν, από τα οποία επιλέχθηκε να μελετηθούν περαιτέρω τα πρώτα 380.

Στον **Πίνακα 5.6** φαίνεται το σύστημα ανάπτυξης που χρησιμοποιήθηκε για την αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας με στόχο των έλεγχο για συνένωση κλασμάτων. Το αποτέλεσμα της συνένωσης ήταν η τελική παραλαβή 22 ομάδων (**Πίνακας 5.6**) και η τελική TLC των συνενωμένων κλασμάτων παρουσιάζεται στην **Εικόνα 5.18**. Με την σειρά τους πραγματοποιήθηκε μία περαιτέρω συνένωση των κλασμάτων H+Θ (=P1), K+Λ (=P2).

Πίνακας 5.6. Συνενώσεις κλασμάτων από τον διαχωρισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των ψευδοβολβών *Cymbidium* sp.

Ομάδα Κλασμάτων	Ομάδα	Βάρος (mg)	Σύστημα TLC	Σύστημα TLC ολικό
7 έως 16	A	133.9	DCM / MeOH (98:2)	c-Hex / EtOAc (60:40)
17 έως 18	B	11.4		
19 έως 21	Γ	21.7		
22 έως 45	Δ	1049		
46 έως 57	E (P3)	173.9		
58 έως 80	Z	103.4		
81 έως 88	H	21.9		
89 έως 118	Θ	105.9		
119 έως 150	I	52.1	c-Hex / EtOAc (60:40)	
151 έως 162	K	57.5		
163 έως 185	Λ	103.1		
186 έως 233	M	100.1		
234 έως 237	N	8.1		
238 έως 251	Ξ	117.9		
252 έως 275	O	71.6		
276 έως 300	Π	39.2	c-Hex / EtOAc (40:60)	c-Hex / EtOAc (30:70)
301 έως 325	P	50.8		
326 έως 350	Σ	18.6		
351 έως 380	T	100.4		
381 έως 401	Y	83.3		

402 έως 421	Φ	104.6		
422 έως end	X	579.1		

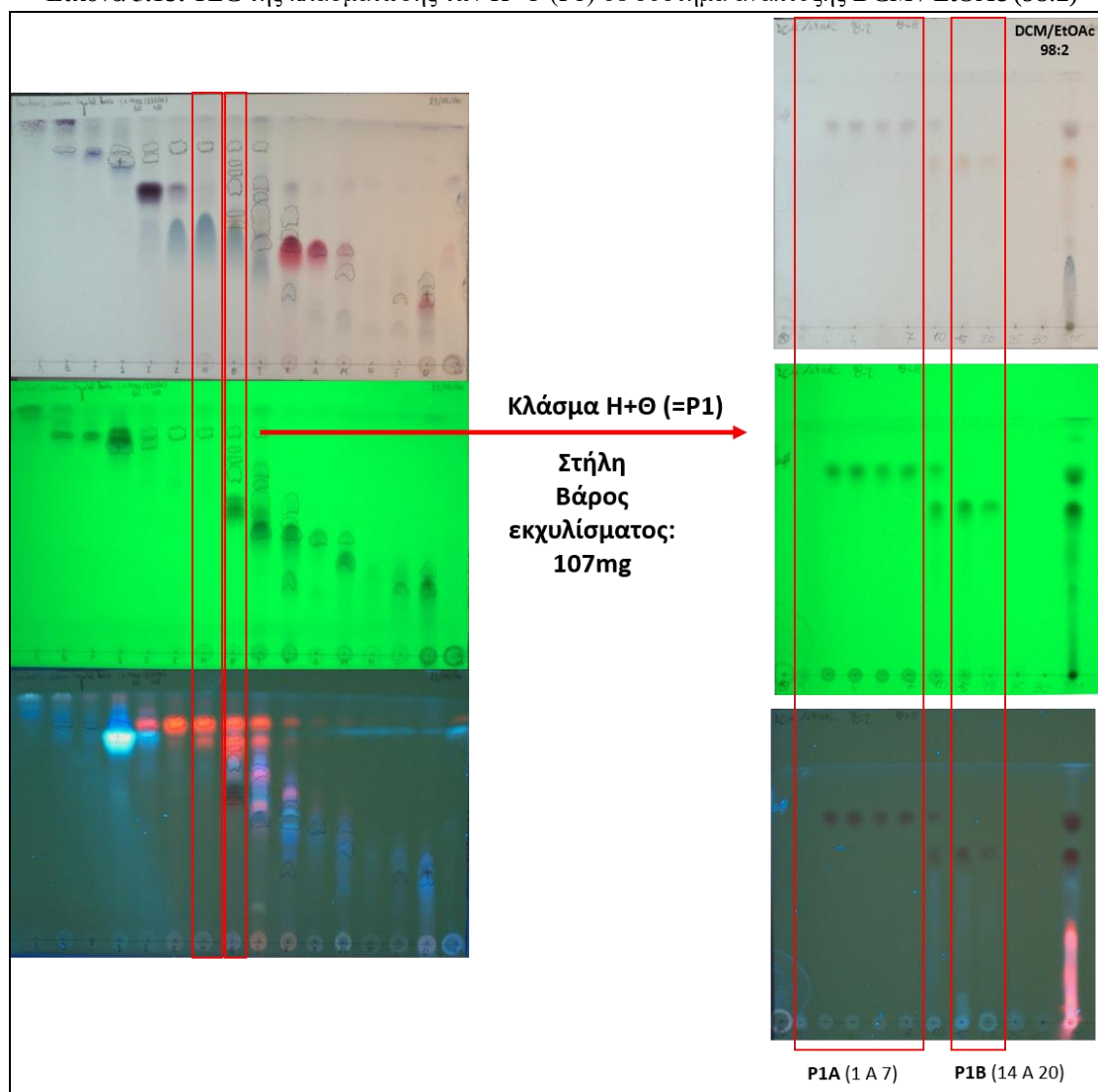


Εικόνα 5.18. Τελική TLC των συνενωμένων κλασμάτων.

Στο κλάσμα Δ (1049mg), ταυτοποιήθηκαν οι μεταβολίτες dodecyl ferulate (**11**) και dodecyl cumarate (**12**), **Εικόνα 5.37**. Η ταυτοποίησή τους πραγματοποιήθηκε με τεχνική NMR (**Παράρτημα, Πίνακας 5.11.4**) και επιβεβαιώθηκε με UPLC-HRMS τόσο στο ολικό εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα των ψευδοβολβών όσο και των ριζών. Ανήκουν στην κατηγορία των λιπαρών οξέων (**Παράρτημα, Πίνακας 5.11.12**).

Κλάσμα P1 (127.8mg), το οποίο προέρχεται από την συνένωση **H+Θ**, υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί silica με διχλωρομεθάνιο (DCM 100%). Από την παραπάνω στήλη ελήφθησαν 2 κλάσματα μέσου όγκου 20ml τα οποία συμπυκνώθηκαν στο 1 ml, στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε έλεγχος με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) επί γέλης πυριτίου με σύστημα ανάπτυξης DCM / EtOAc (98:2) και αντιδραστήριο θεϊκής βανιλίνης για το ορατό (**Εικόνα 5.19**).

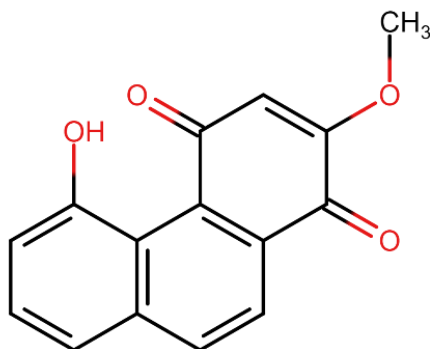
Εικόνα 5.19. TLC της κλασμάτωσης των H+Θ (P1) σε σύστημα ανάπτυξης DCM / EtOAc (98:2)



Από την παραπάνω στήλη παραλήφθηκαν 2 κλάσματα συνένωσης με τα παρακάτω βάρη:

Κλάσμα	Βάρος (mg)
P1A	3.9
P1B	2.8

Από το κλάσμα συνένωσης P1A ταυτοποιήθηκε η 5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone (**5**), ($C_{15}H_{10}O_4$, MW = 254.24) (Εικόνα 5.20). Η ταυτοποίηση της δομής με NMR, παρουσιάζεται αναλυτικά στο Παράρτημα (Πίνακας 5.11.2).



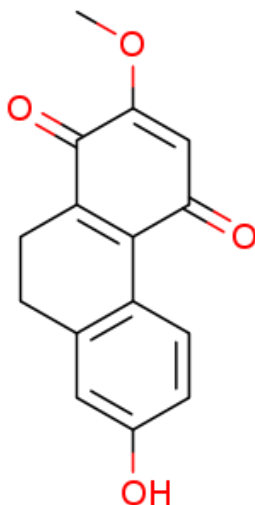
Εικόνα 5.20. 5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone (**5**).

Έχει απομονωθεί για πρώτη φορά από την ορχιδέα *Cymbidium finlaysonianum* (Lertnitikul *et al.*, 2018). Απομονώθηκε σε κρυσταλλική μορφή με έντονο ιώδες χρώμα, χαρακτηριστικό των κινονοειδών (quinonoids). Το χρώμα εξαφανίστηκε κατά την επεξεργασία με διάλυμα διθειονίτη του νατρίου και επανεμφανίστηκε κατά την έκθεση στον ατμοσφαιρικό αέρα.

Στο κλάσμα συνένωσης P1B, πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (prep-TLC) από την οποία απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε η ephemeranθοquinone B (**6**) ($C_{15}H_{10}O_4$, MW=254.24), (Εικόνα 5.21). Το φάσμα NMR της ταυτοποίησης της δομής παρουσιάζεται αναλυτικά στο Παράρτημα (Πίνακας 5.11.2).

Η ephemeranθοquinone B, ανήκει και αυτή στην κατηγορία των φαινανθοκινονών. Έχει δοκιμαστεί *in-vitro* η αντιμικροβιακή της δράση έναντι σε στελέχη των *B. subtilis* και *K. pneumoniae* με μέτρια αποτελέσματα (MIC = 4.88 μ M). Παράλληλα δοκιμάστηκε η

κυτταροτοξικότητά της σε κυτταρικές σειρές HL-60 χωρίς όμως να δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα (Yosikawa, 2012).



Εικόνα 5.21. Ephemeranthoquinone B (6).

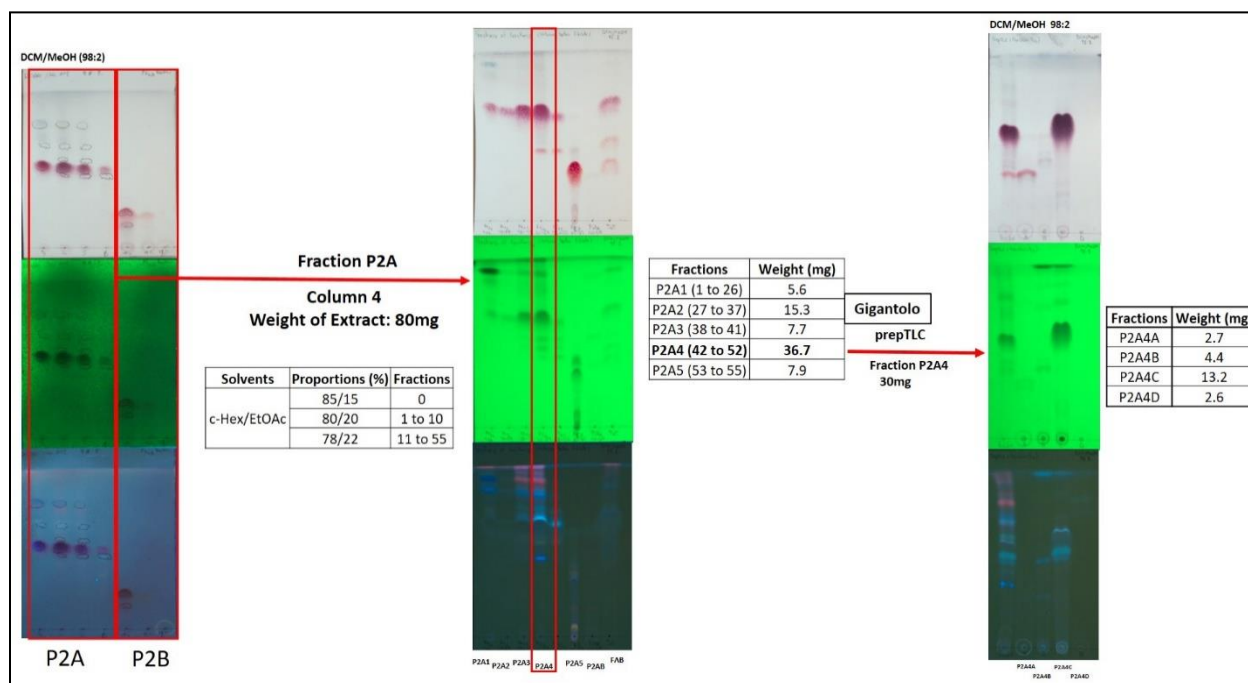
Το κλάσμα P2 (160.6 mg), υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί silica με γραμμική έκλουση και σύστημα διαλυτών c-Hex / EtOAc (85/15; 80/20; 78/22). Το αποτέλεσμα ήταν 2 κλάσματα P2A (81.1mg) και P2B (14.4mg), των οποίων το προφίλ ελέγχθηκε με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και σύστημα ανάπτυξης (DCM / MeOH, 98:2) (Εικόνα 5.22).

Στο κλάσμα P2A πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης επί silica με το ίδιο σύστημα διαλυτών c-Hex / EtOAc που χρησιμοποιήθηκε προηγουμένως. Το αποτέλεσμα ήταν η παραλαβή 5 κλασμάτων (Πίνακας 5.7).

Πίνακας 5.7. Κλάσματα από το P2A με τα αντίστοιχα βάρη τους (mg).

Κλάσματα	Βάρος (mg)
P2A1 (1 to 26)	5.6
P2A2 (27 to 37)	15.3
P2A3 (38 to 41)	7.7
P2A4 (42 to 52)	36.7
P2A5 (53 to 55)	7.9

Στο κλάσμα **P2A4** πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική TLC (prepTLC) και απομονώθηκε ο μεταβολίτης **gigantol (8)**, ($C_{16}H_{18}O_4$, MW = 274.32). Η ταυτοποίηση της δομής με NMR, παρουσιάζεται στο Παράρτημα ([Πίνακας 5.11.3](#)). Στην **Εικόνα 5.22** παρουσιάζονται τα βήματα διαχωρισμού από το κλάσμα συνένωσης P2A μέχρι την απομόνωση της gigantol.



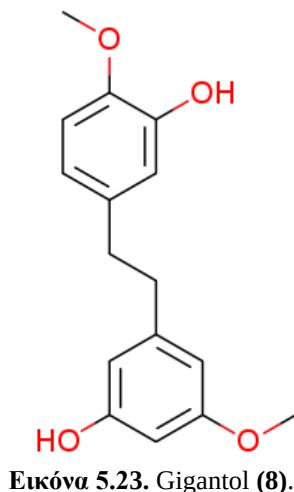
Εικόνα 5.22. Χρωματογραφικός διαχωρισμού του κλάσματος συνένωσης P2A από τους ψευδοβόλβους της ορχιδέας.

Η gigantol (**Εικόνα 5.23**), απομονώθηκε σαν μία υποκίτρινη σκόνη και ανήκει στην χημική κατηγορία των διβενζυλίων. Έχει απομονωθεί από τις ορχιδέες του γένους *Dendrobium* (*Dendrobium aphyllum*, *Dendrobium draconis*, *Dendrobium aurantiacum*) καθώς επίσης και από το είδος *Cymbidium goeringii*.

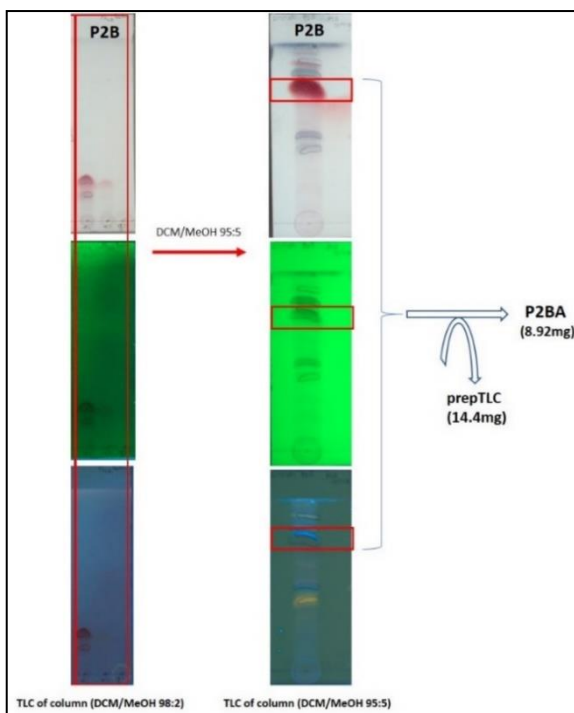
In vitro έχει αναφερθεί αντιφλεγμονώδη δράση με ανασταλτικά αποτελέσματα στην επαγόμενη από LPS παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου (NO) και προσταγλανδίνης E2 (PGE 2) σε κυτταρικές σειρές τύπου RAW 264.7. Επίσης στην ίδια μελέτη η gigantol κατέστειλε την έκφραση της επαγωγίσιμης συνθάσης νιτρικού οξειδίου (iNOS) και της κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2) σε επίπεδο πρωτεϊνικής έκφρασης σε κύτταρα τύπου RAW 264.7 με δοσοεξαρτώμενο τρόπο ([Won, 2006](#)).

Η προστατευτική δράση της gigantol στα καρδιαγγειακά νοσήματα μελετήθηκε το 2018 ([Chen, 2018](#)), με μειώσεις στην ενδοκυτταρική παραγωγή ROS, την αναλογία έκφρασης πρωτεϊνών Bax/Bcl-2, κασπάσης-3 και κασπάσης-9.

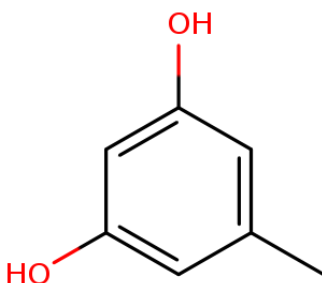
Το [2021 στην έρευνα από Cai et al](#), η gigantol κατέστειλε τον πολλαπλασιασμό και ενίσχυσε την απόπτωση των κυττάρων τύπου NSCLC με μείωση της έκφρασης Ki-67 και Bcl-2, αύξηση της έκφρασης Bax και αδρανοποίηση της Wnt/β κατενίνης. Αυτό αναδεικνύει την αντικαρκινική δράση του συγκεκριμένου μεταβολίτη.



Στο κλάσμα P2B (14.4 mg) πραγματοποιήθηκε prepTLC (Εικόνα 5.24) απ' όπου και απομονώθηκε ο μεταβολίτης orcinol (14), ($C_7H_8O_2$, MW= 124.14). Η ταυτοποίηση της δομής με NMR, παρουσιάζεται στο Παράρτημα [\(Πίνακας 5.11.6\)](#).



Εικόνα 5.24. Χρωματογραφικός διαχωρισμός του κλάσματος συνένωσης P2B από τους ψευδοβολβούς της ορχιδέας.

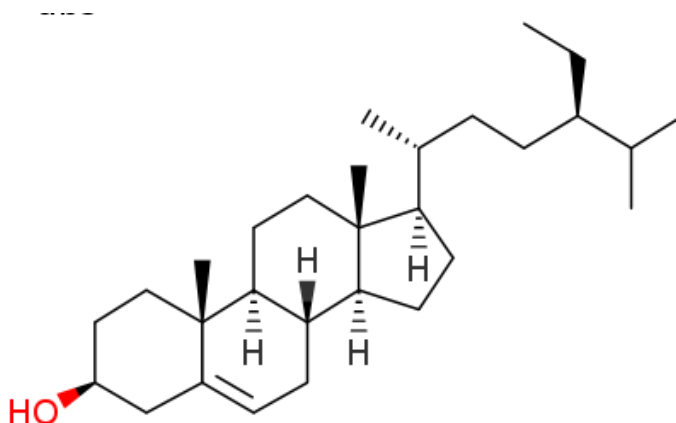


Εικόνα 5.25. Orcinol (14).

Απομονώθηκε διαφανής σκόνη και είναι μία 5-alkylresorcinol, όπου στην θέση 5 υπάρχει μια μεθυλομάδα.

Στην συνέχεια από το κλάσμα συνένωσης (E) (173.9mg) ή κλάσμα P3, ταυτοποιήθηκε ο μεταβολίτης, β -sitosterol (15), ($C_{29}H_{50}O$, MW = 414.70, Εικόνα 5.26). Η ταυτοποίηση της δομής με NMR, παρουσιάζεται στο Παράρτημα (Πίνακας 5.11.7).

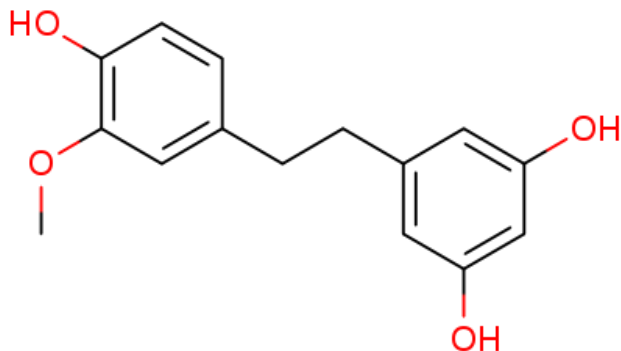
Η β -sitosterol έχει αναδειχθεί για την *in-vitro* δραστηριότητα στην καλοήγη υπερπλασία του προστάτη (Wilt, 2011).



Εικόνα 5.26. β -sitosterol (15).

Στο κλάσμα συνένωσης (O) (66.6mg) ή κλάσμα P4, πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας με αποτέλεσμα την παραλαβή και ταυτοποίηση των μεταβολιτών, dihydroresveratrol (10) και tristin (9) (Εικόνα 5.27). Τα φάσματα NMR της tristin και της dihydroresveratrol παρουσιάζονται στο Παράρτημα (Πίνακας 5.11.3).

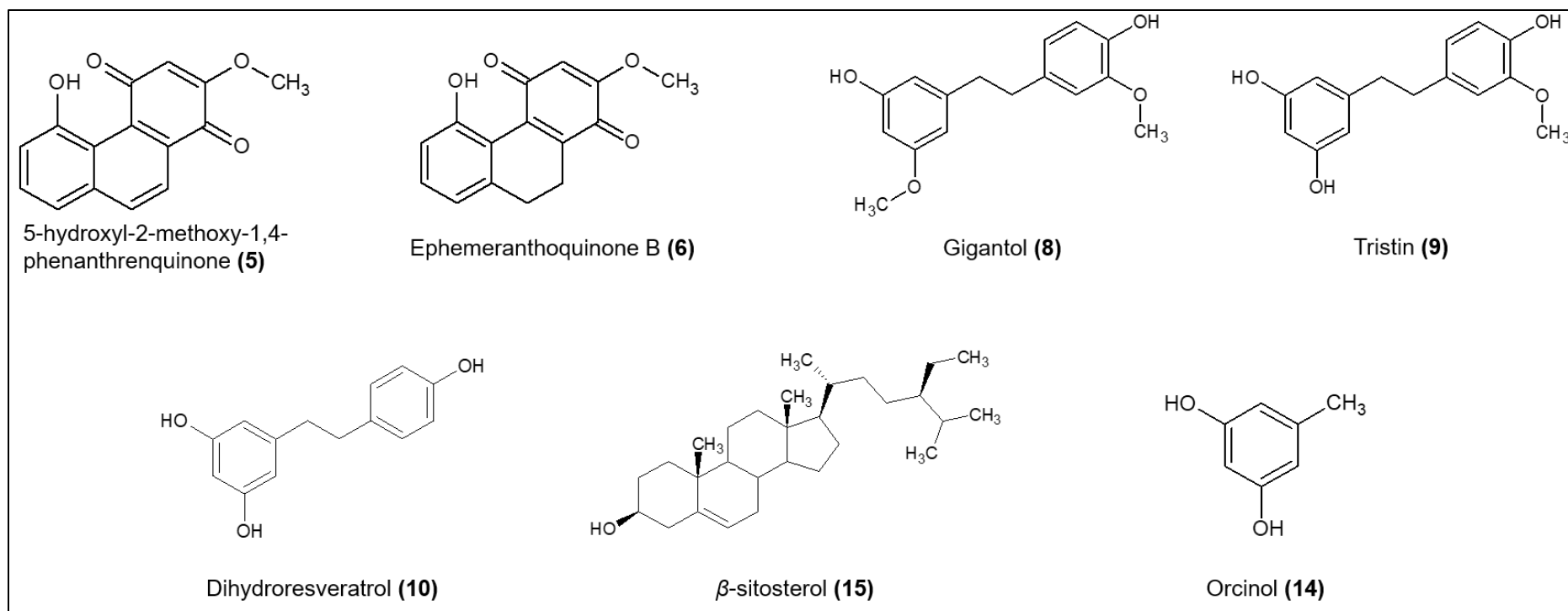
Η tristin ανήκει στην κατηγορία των διβενζυλίων, όπως και η gigantol. Έχει απομονωθεί από τις ορχιδέες *Dendrobium cumulatum* και *Bulbophyllum triste* ([Majumder, 1993](#)). Δεν έχουν αναφερθεί βιολογικές δράσεις του συγκεκριμένου μεταβολίτη, σε αντίθεση με την gigantol.



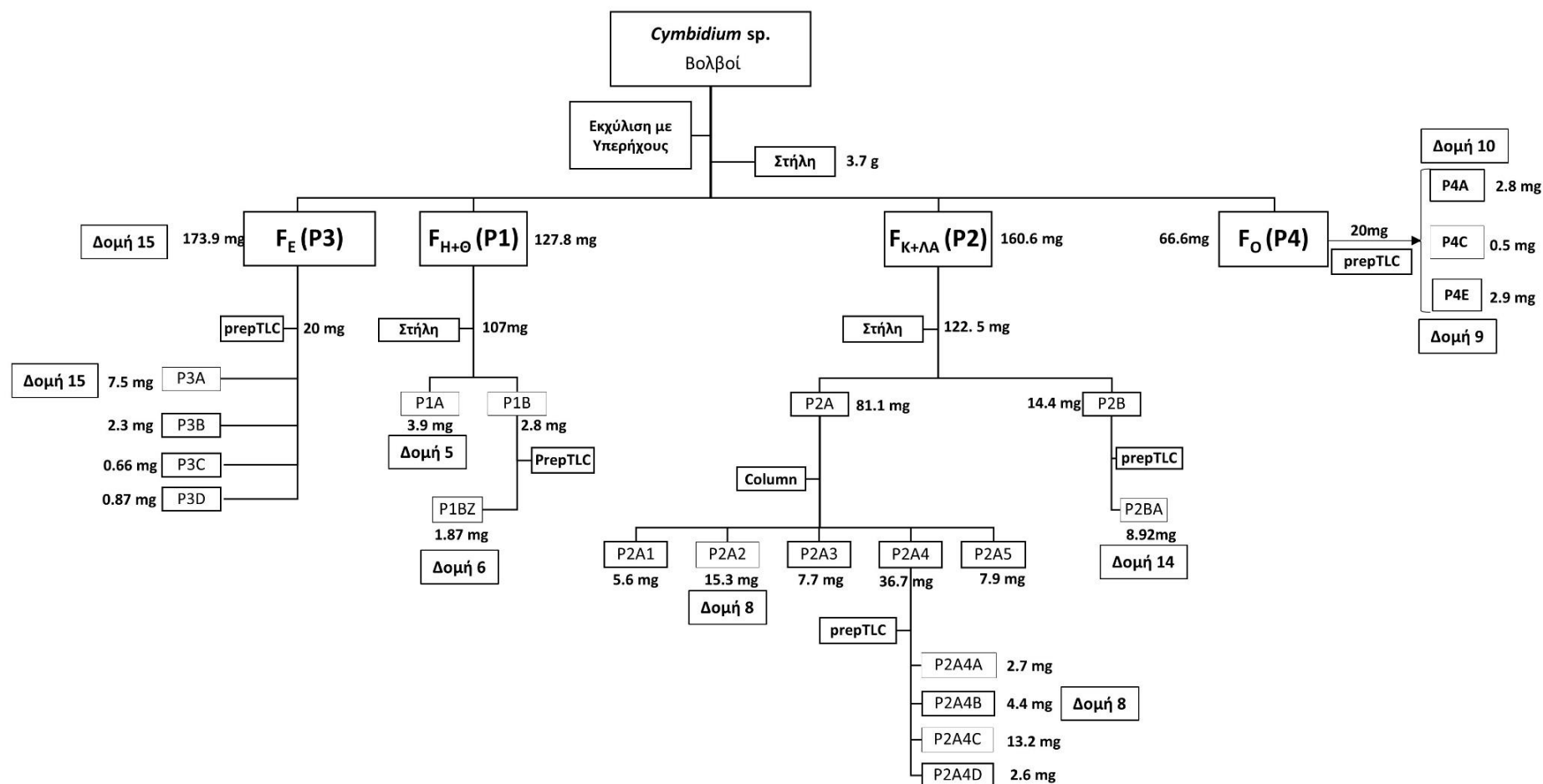
Εικόνα 5.27. Tristin (9).

Αξίζει να γίνει γνωστό ότι από τους παραπάνω μεταβολίτες οι dihydroresveratrol, 9,9'- diacetyl – dihydrodiconiferyl alcohol, dodecyl ferulate και dodecyl coumarate δεν έχουν αναφερθεί ξανά στην βιβλιογραφία για την οικογένεια Orchidaceae.

Συνολικά ταυτοποιήθηκαν 47 μεταβολίτες με UPLC-HRMS, που ανήκουν στις κατηγορίες των φαινολικών οξέων, στιλβενίων, φαινανθρενίων και 1,4 φαινανθοκινονών καθώς επίσης και φλαβονοειδών ([Παράρτημα, Πίνακας 5.11.12](#)). Το διάγραμμα ροής της φυτοχημικής ανάλυσης του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των ψευδοβολβών της ορχιδέας παρουσιάζεται στην **Εικόνα 5.29**.



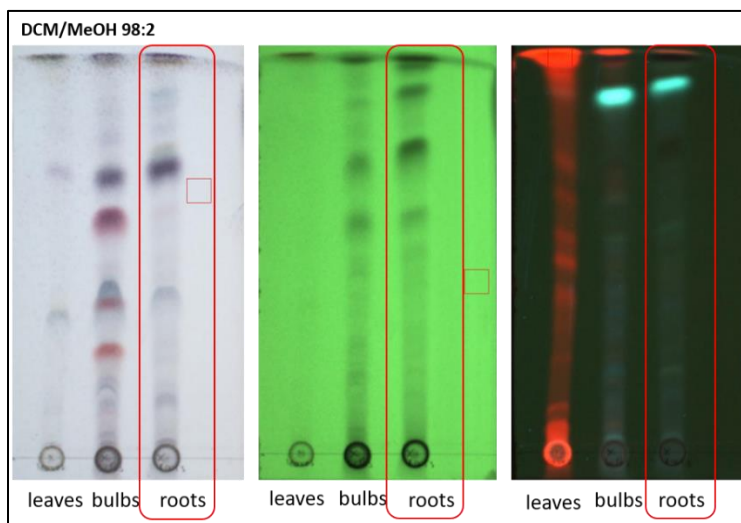
Εικόνα 5.28. Μεταβολίτες που απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν από το ολικό εκχύλισμα EtOAc ψευδοβολβών της ορχιδέας *Cymbidium* sp.



Εικόνα 5.29. Διάγραμμα ροής φυτοχημικής ανάλυσης του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των βολβών *Cymbidium* sp.

5.10.2. Εκχύλισμα Ριζών

Όπως με τους ψευδοβολβούς έτσι και με τις ρίζες, στο ολικό εκχύλισμα του EtOAc πραγματοποιήθηκε έλεγχος του φυτοχημικού του προφίλ με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (**Εικόνα 5.30**).



Εικόνα 5.30. TLC ολικού εκχυλίσματος EtOAc ριζών (R) με σύστημα ανάπτυξης DCM / MeOH (98:2).

Στην συνέχεια σε 3.6g ολικού εκχυλίσματος πραγματοποιήθηκε χρωματογραφική στήλη CC (silica gel-40-60 mesh) με διαλύτες έκλουσης, c-Hex / EtOAc; EtOAc και EtOAc / MeOH (**Πίνακας 5.8**)

Πίνακας 5.8. Συστήματα διαλυτών με τις αναλογίες τους για την κλασμάτωση του ολικού εκχυλίσματος EtOAc ριζών (R).

Σύστημα Έκλουσης	Αναλογίες (%)	Κλάσματα
c-Hex / EtOAc	90:10	1 έως 22
	85:15	23 έως 28
		29 έως 46
		47 έως 51
		52 έως 56
		57 έως 77
		78 έως 87

		88 έως 102
		103 έως 152
c-Hex / EtOAc	80:20	153 έως 176
	75:25	177 έως 197
	70:30	198 έως 235
	65:35	236 έως 309
	60:40	310 έως 349
	50:50	350 έως 381
	20:80	382 έως 401
EtOAc	100	402 έως 419
EtOAc / MeOH	90:10	420 έως 440
	50:50	441 έως 460
MeOH	100	461 έως 466

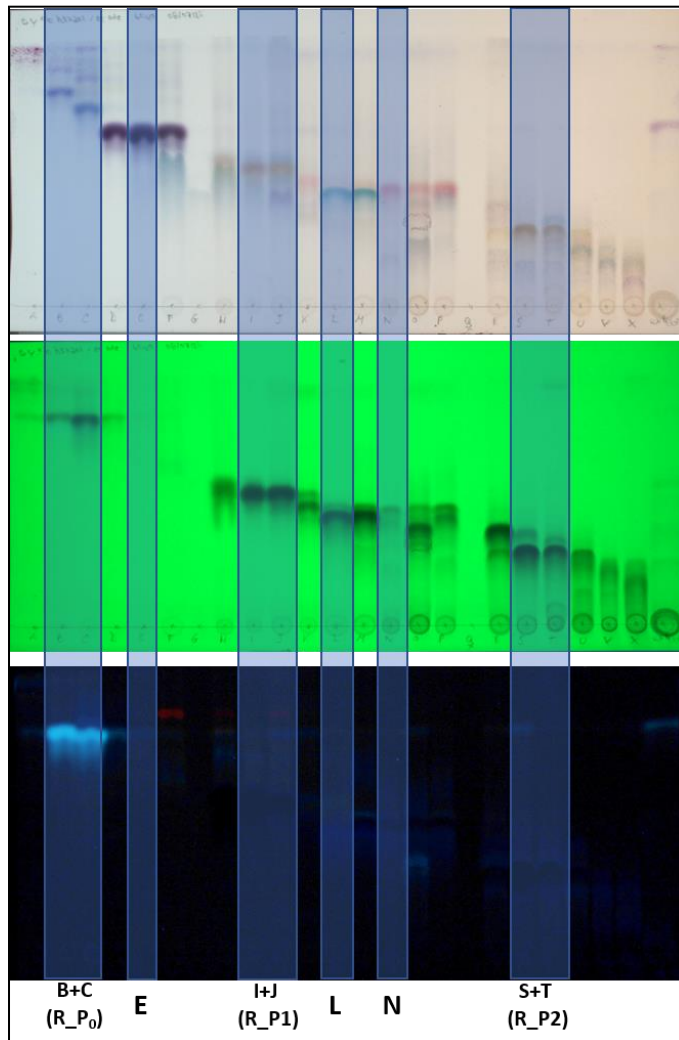
Παρελήφθησαν συνολικά 466 κλάσματα, τα οποία συνενώθηκαν σε 27 κλάσματα. Ο έλεγχος για την συνένωση πραγματοποιήθηκε με TLC και σύστημα ανάπτυξης c-Hex / EtOAc (60:40). Ο τελικός πίνακας των κλασμάτων καθώς επίσης και η τελική TLC εμφανίζονται παρακάτω.

Πίνακας 5.9. Συνενώσεις κλασμάτων με τα τελικά βάρη τους (mg).

Ομάδα Κλασμάτων	Ομάδα	Βάρος (mg)
0 έως 22	A	428.9
23 έως 28	B	28.4
29 έως 46	C	123.9
47 έως 51	D	114
52 έως 56	E	259.8
57 έως 77	F	199.5
78 έως 87	G	40.5
88 έως 102	H	60.4
103 έως 118	I	75.3
119 έως 148	J	82.89
149 έως 177	K	66.67

Κεφάλαιο 5: Φυτοχημική Ανάλυση και Βιολογική Αξιολόγηση των Υποπροϊόντων καλλιέργειας της Ορχιδέας *Cymbidium* sp. από την νήσο Σάμο.

178 έως 189	L	31.4
190 έως 204	M	49.6
205 έως 212	N	44.76
213 έως 217	O	19.9
218 έως 235	P	67.5
236 έως 251	R	53
252 έως 261	S	61.5
262 έως 287	T	94.9
288 έως 317	U	52.2
318 έως 349	V	138.5
350 έως 376	X	34.6
377 έως 395	Z	49.3
396 έως 425	Za	229.4
426 έως 435	Zb	69.6
436 έως 455	Zc	609.6
456 έως 466	Zd	28.1



Εικόνα 5.31. TLC της κλασμάτωσης των B+C (R_P0), E, I+J (R_P1), L, N και S+T (R_P2) σε σύστημα ανάπτυξης DCM / EtOAc (98:2).

Τα κλάσματα **B** και **C** συνενώθηκαν στο κλάσμα R_P0 (152.3mg) και υποβλήθηκε σε prep-TLC από την οποία απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε ο μεταβολίτης dodecyl coumarate (**12**) ([Εικόνα 5.39](#)). Το φάσμα NMR παρουσιάζεται στο Παράρτημα ([Πίνακας 5.11.4](#)).

Από το κλάσμα **E** ταυτοποιήθηκε ο μεταβολίτης, ***β*-sitosterol** όπως και στους ψευδοβολβούς.

Τα κλάσματα **I** και **J** συνενώθηκαν στο κλάσμα R_1P (158.19mg), το οποίο στην συνέχεια υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί silica με σύστημα διαοχικής έκλουσης με συστήματα DCM / c-Hex με τις

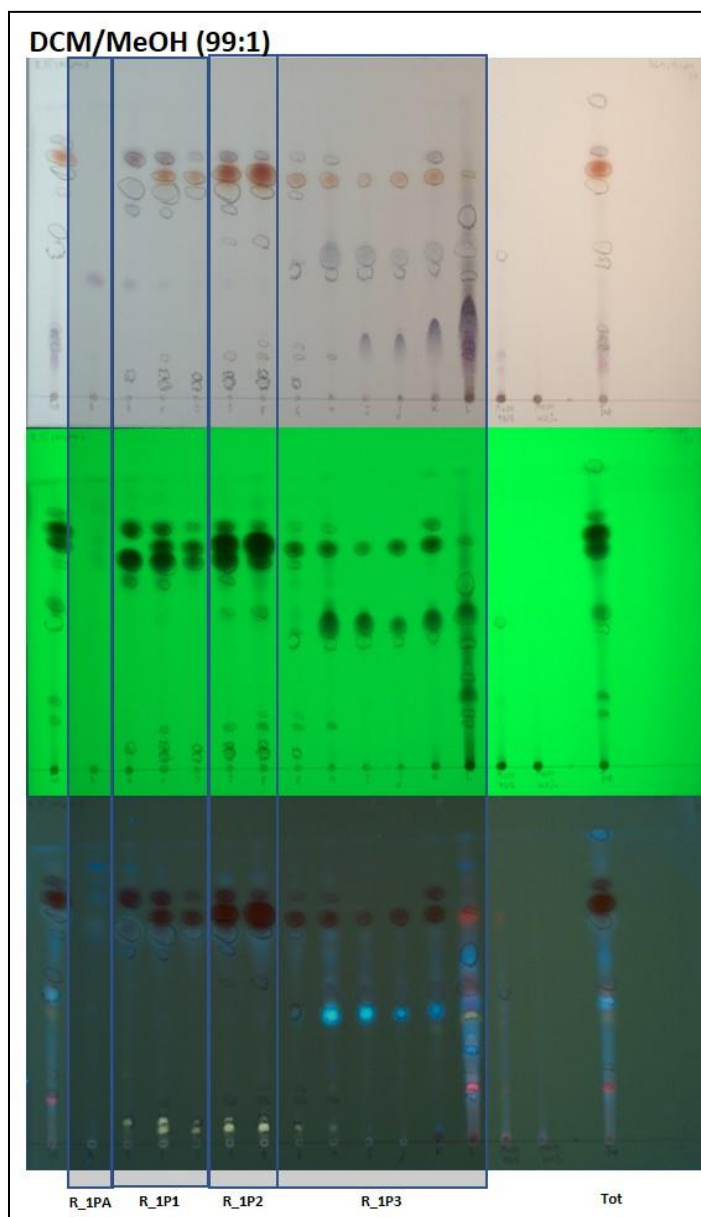
Κεφάλαιο 5: Φυτοχημική Ανάλυση και Βιολογική Αξιολόγηση των Υποπροϊόντων καλλιέργειας της Ορχιδέας *Cymbidium* sp. από την νήσο Σάμο.

ακόλουθες αναλογίες (40:60; 55:45; 60:40; 65:35; 70:30; 75:25; 80:20; 85:15). Από τον παραπάνω διαχωρισμό πραγματοποιήθηκε η παραλαβή 12 κλασμάτων (**Πίνακας 5.10**).

Πίνακας 5.10. Συνενώσεις κλασμάτων του καθαρισμού του κλάσματος R_1P και τα τελικά βάρη (mg).

Κλάσμα	Βάρος (mg)
R_1PA	0.6
R_1PB	2.4
R_1PC	4.9
R_1PD	1.1
R_1PE	23.7
R_1PF	14.6
R_1PG	0.7
R_1PH	3.4
R_1PI	2.5
R_1PJ	1.7

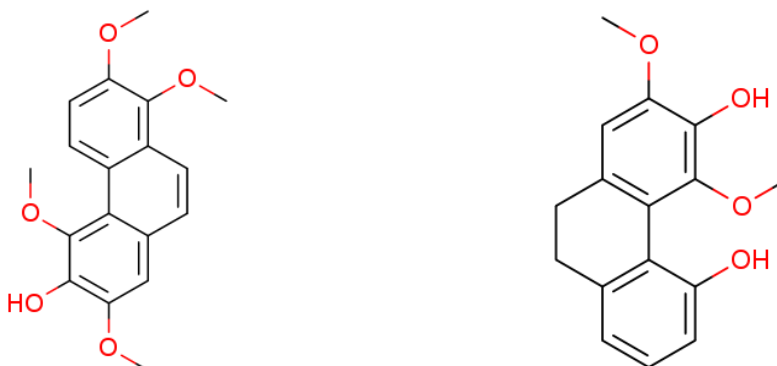
Η TLC ελέγχου οδήγησε στην περαιτέρω συνένωση των κλασμάτων (R_1PB, R_1PC, R_1PD) στο κλάσμα **R_1P1**, των κλασμάτων (R_1PE, R_1PF) στο κλάσμα **R_1P2** και των κλασμάτων (R_1PG, R_1PH, R_1PI, R_1PJ, R_1PK) στο κλάσμα **R_1P3**.



Εικόνα 5.32. TLC της συνένωσης των κλασμάτων σε σύστημα ανάπτυξης DCM/MeOH (99:1).

Στα κλάσματα αυτά πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική TLC (prepTLC) απ'όπου απομονώθηκαν ο μεταβολίτης 5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone (**5**) ([Εικόνα 5.20](#)) όπως και στους ψευδοβολβούς, το μείγμα ephemeranθοquinone B (**6**) + 5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone (**5**) καθώς επίσης και ο μεταβολίτης marylaurencinol A (**4**) ([Εικόνα 5.33](#)). Επίσης από το κλάσμα R_1P1 μετά από παρασκευαστική TLC και μελέτη του φάσματος NMR αποδείχθηκε η παρουσία μείγματος από

το οποίο ταυτοποιήθηκε ξανά ο μεταβολίτης **(5)** αλλά και το φαινανθρένιο 3-hydroxy-2,4,7-trimethoxy-phenanthrene **(2)** ([Εικόνα 5.39](#)), ([Παράρτημα, Πίνακας 5.11.1](#)).

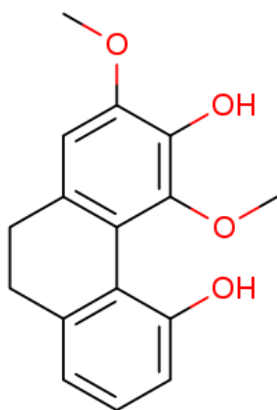


Εικόνα 5.33. Ephemeranthoquinone B **(6)** (αριστερά) και της marylaurencinol A **(4)** (δεξιά).

Το φάσμα NMR του μεταβολίτη marylaurencinol A **(4)**, ($C_{16}H_{16}O_4$, MW = 272.29, [Εικόνα 5.33](#)) παρουσιάζεται αναλυτικά στο Παράρτημα ([Πίνακας 5.11.1](#)).

Ανήκει στην κατηγορία των φαινανθρενίων (9,10-διυδροφαινανθρένια) και απομονώθηκε σαν μία άμορφη σκόνη. Έχει απομονωθεί από ορχιδέες του γένους *Cymbidium* ([Yoshikawa, 2012](#)). Η βιολογική δραστηριότητα του συγκεκριμένου μεταβολίτη έχει αναδειχθεί *in vitro* για τις ισχυρές αντιβακτηριακές δράσεις έναντι *Bacillus subtilis* και *Klebsiella pneumoniae* και της μέτριας κυτταροτοξικότητας έναντι της προμυελωματικής λευχαιμίας (PML) στην ανθρώπινης προέλευσης κυτταρική σειρά τύπου HL-60 ([Yoshikawa, 2012](#)).

Στο ολικό κλάσμα **L (R1)** με βάρος 31.4mg, ταυτοποιήθηκε ο μεταβολίτης bulbophylanthrin **(1)**, ($C_{16}H_{14}O_4$, MW = 270.28, [Εικόνα 5.34](#)). Το φάσμα NMR της bulbophylanthrin παρουσιάζεται αναλυτικά στο Παράρτημα ([Πίνακας 5.11.1](#)). Ανήκει στην κατηγορία των φαινανθρενίων όπως και η marylaurencinol A.

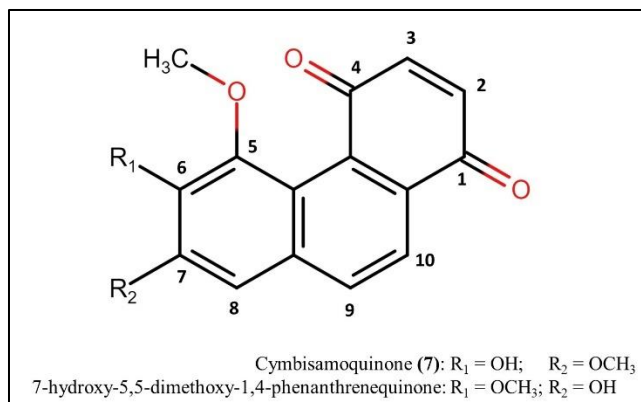


Εικόνα 5.34. Bulbophylanthrin (1).

Παράλληλα σε τμήμα του ολικού κλάσματος FL (R1), με περαιτέρω χρωματογραφική ανάλυση με παρασκευαστική TLC (prepTLC) απομονώθηκαν 2 μεταβολίτες. Το φαινανθρένιο 3-hydroxy-2,4,7,8-tetramethoxy-phenanthrene (**3**) (Εικόνα 5.39) και την στερόλη 6β-hydroxy-24-ethyl-cholest-4-en-3-on (**16**) (Εικόνα 5.39). Τα φάσματα NMR παρουσιάζονται αναλυτικά στο Παράρτημα (Πίνακες 5.11.1. και 5.11.7).

Στο κλάσμα N (R2) με βάρος 44.7mg, πραγματοποιήθηκε prepTLC από το οποίο απομονώθηκαν 2 μεταβολίτες. Η bulbophylanthrin (**1**) (R2C) (Εικόνα 5.34) καθώς επίσης και η gigantol (**8**) (R2D). Τα χαρακτηριστικά και τα φάσματά τους περιγράφηκαν προηγουμένως.

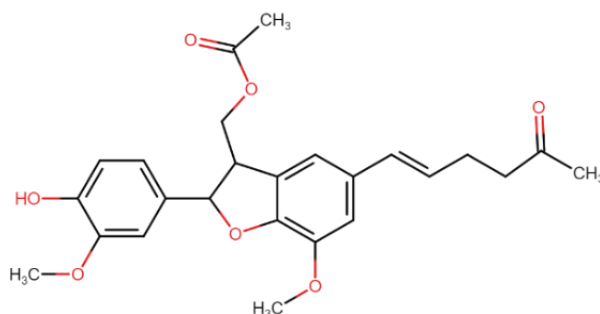
Στο κλάσμα S ταυτοποιήθηκε ο μεταβολίτης 6-hydroxy-5,7-dimethoxy-1,4-phenanthrenequinone ή cymbisamoquinone (**7**) ($C_{16}H_{12}O_5$, MW = 284.061, Εικόνα 5.35). Η διαλεύκανση της δομής έγινε με 1D και 2D NMR, LC-HRMS καθώς επίσης και στη σύγκριση με τα φασματοσκοπικά δεδομένα της παρόμοιας ένωσης 7-hydroxy-5,6-dimethoxy-1,4-phenanthrenequinone που απομονώθηκε από το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα του *Dendrobium moniliforme* (Bi, 2005). Το φάσμα HRMS της cymbisamoquinone παρουσίασε ένα ψευδομοριακό ιόν σε m/z 284.0615 [M-H] - (προτεινόμενος μοριακός τύπος (EC) $C_{16}H_{12}O_5$ και RDBeq., (Παράρτημα, Πίνακας 5.11.12). Το φάσμα NMR πρωτονίων (σε $CDCl_3$) παρουσιάζει δύο διπλές κορυφές με $J = 8.4$ Hz στα 7.95 και 7.89 ppm (H-10 και H9 αντίστοιχα), δύο διπλές ($J = 10.2$ Hz) στα 7.07 και 6.84 ppm (H-3 και H-2 αντίστοιχα), μία απλή στα 6.99 ppm (H-8), μία broad απλή στα 6.22 ppm (6-OH) και δύο singlet στα 4.07 και 3.93 ppm που αντιστοιχεί στα μεθοξυ πρωτόνια 7-OCH₃ και 5-OCH₃ αντίστοιχα (Παράρτημα, Πίνακας 5.11.2).



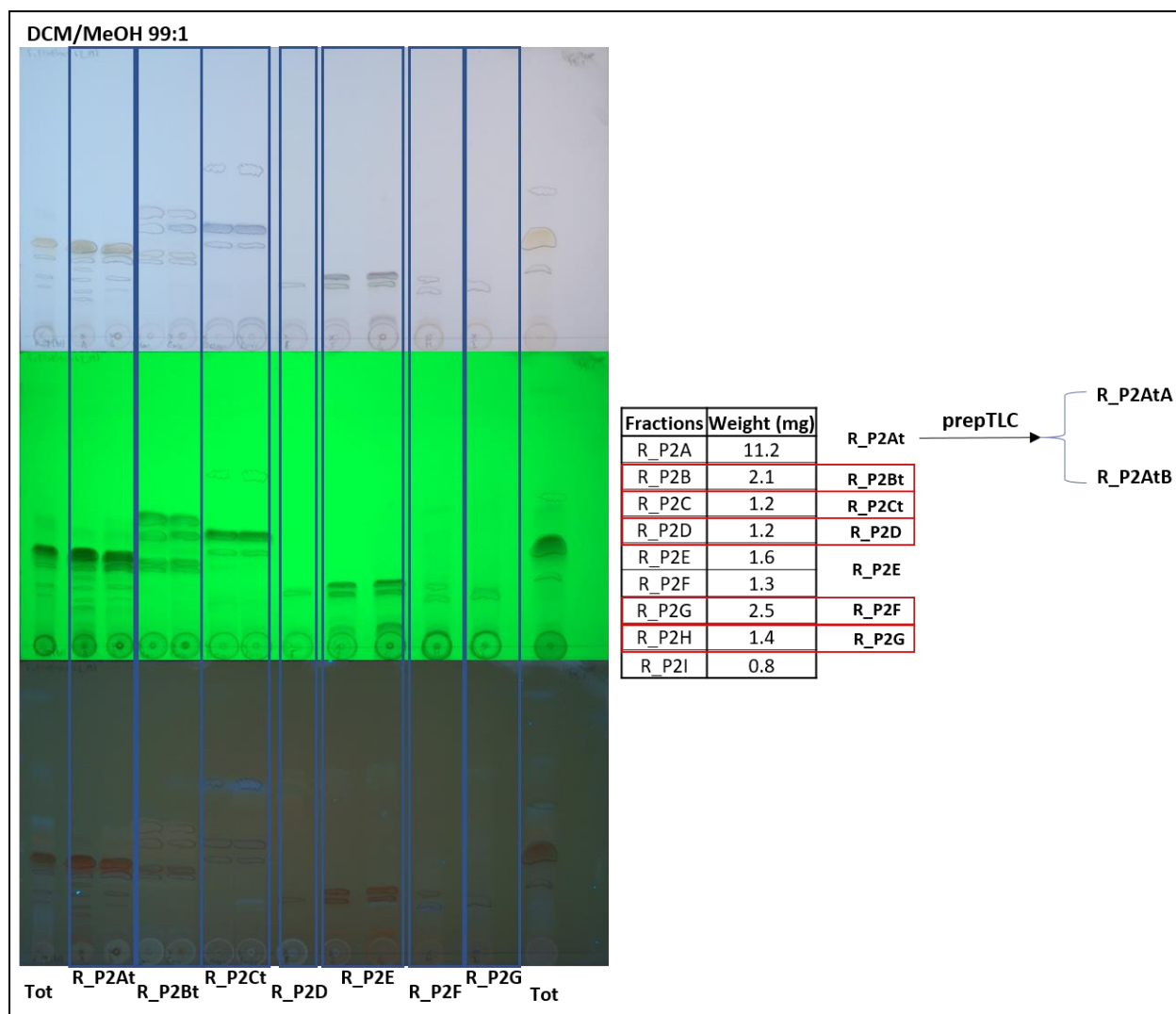
Εικόνα 5.35. Cymbisamoquinone (7) και 7-hydroxy-5,5-dimethoxy-1,4-phenanthrenequinone

Τόσο τα φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H - όσο και ^{13}C -NMR της cymbisamoquinone είναι παρόμοια με τα αντίστοιχα δεδομένα της 7-hydroxy-5,6-dimethoxy-1,4-phenanthrenequinone ([Bi, 2005](#)) (**Εικόνα 5.35**). Οι κύριες διαφορές μεταξύ των φασμάτων των δύο ισομερών παρατηρούνται στα σήματα H-8 και C-8 καθώς και στα αντίστοιχα σήματα των δύο μεθόξυ ομάδων υποδηλώνοντας έτσι μια διαφορετική διάταξη αυτών των ομάδων στις θέσεις 5, 6 και 7 από τον σκελετό της 1,4-φαινανθρενκινόνης. Η μελέτη του φάσματος HMBC επιβεβαίωσε την παρουσία των μεθόξυ ομάδων στις θέσεις 5 και 7 ([Παράρτημα, Πίνακας 5.11.2](#)). Η σύζευξη J^3 παρατηρείται μεταξύ των κορυφών σε δ 6.21 (-OH) και δ 4.07 (7-OCH₃) με τον άνθρακα στα 150.5 ppm (C-7) καθώς και τα σήματα J^3 μεταξύ των κορυφών με δ 6.21 (-OH) και δ 3.93 (5-OCH₃) με τον άνθρακα στα 142.0 (C-5) ppm. Αυτό τοποθετεί την ελεύθερη υδροξυλομάδα στη θέση 6 και μεταξύ των δύο μεθόξυ ομάδων. Επιπλέον, το σήμα σύζευξης J^3 μεταξύ της κορυφής με δ 7.89 (H-9) με τον άνθρακα στα 102.3 ppm (C-8) επαληθεύει την παρουσία του αρωματικού πρωτονίου στη θέση 8. Περαιτέρω μελέτη των φασμάτων 2D-NMR (COSY, HSQC-DEPT, HMBC, ([Παράρτημα, Εικόνες S15a-d](#)) επαλήθευσε τη δομή της cymbisamoquinone.

Τα κλάσματα **S** και **T** συνενώθηκαν στο κλάσμα **R_P2** (156.4mg), στο οποίο πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική TLC (prepTLC), με την ταυτοποίηση του μεταβολίτη 9,9'-diacetyl-dehydrodiconiferyl alcohol (**13**) (**Εικόνα 5.36**).

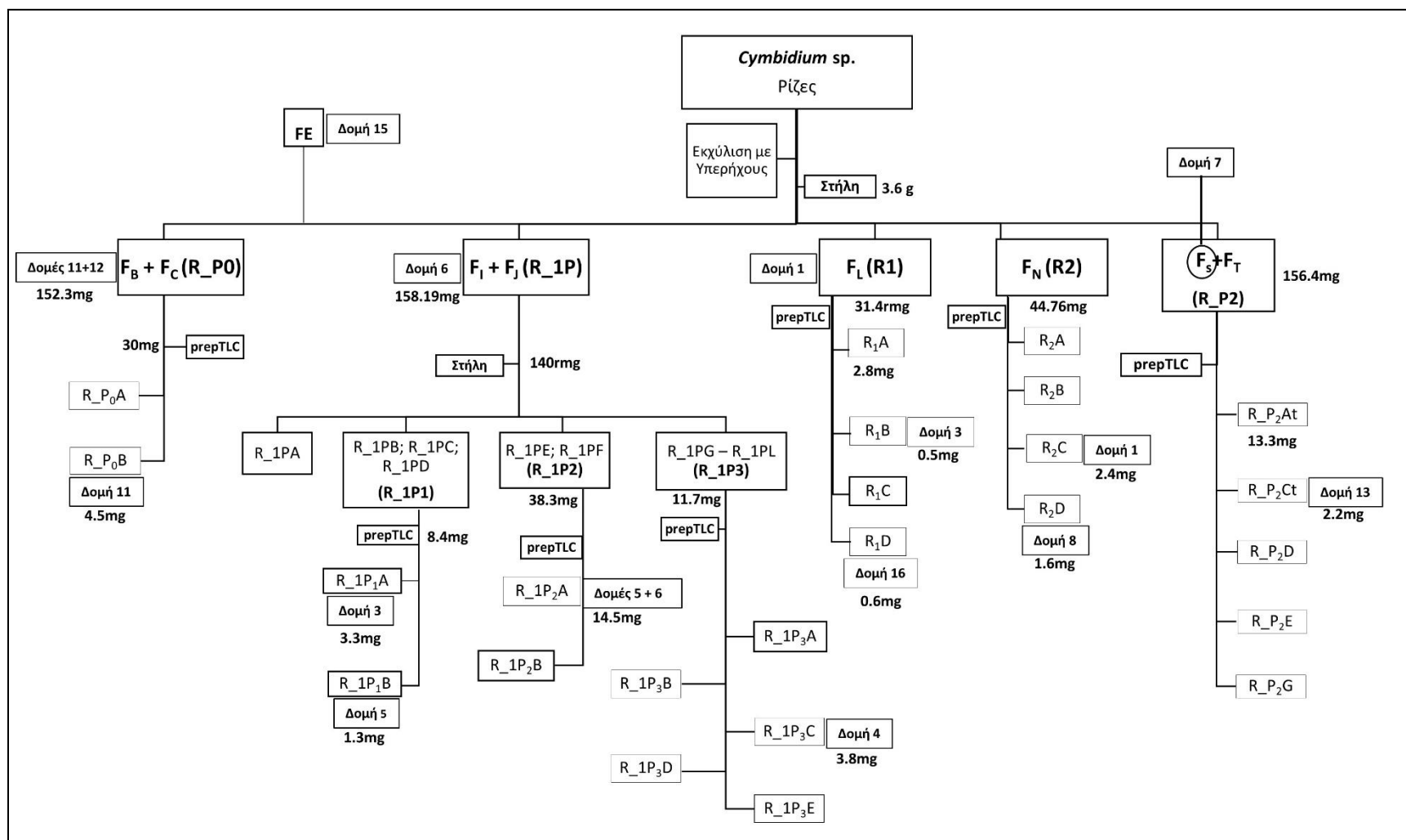


Εικόνα 5.36. 9,9'-diacetyl-dehydrodiconiferyl alcohol (**13**).

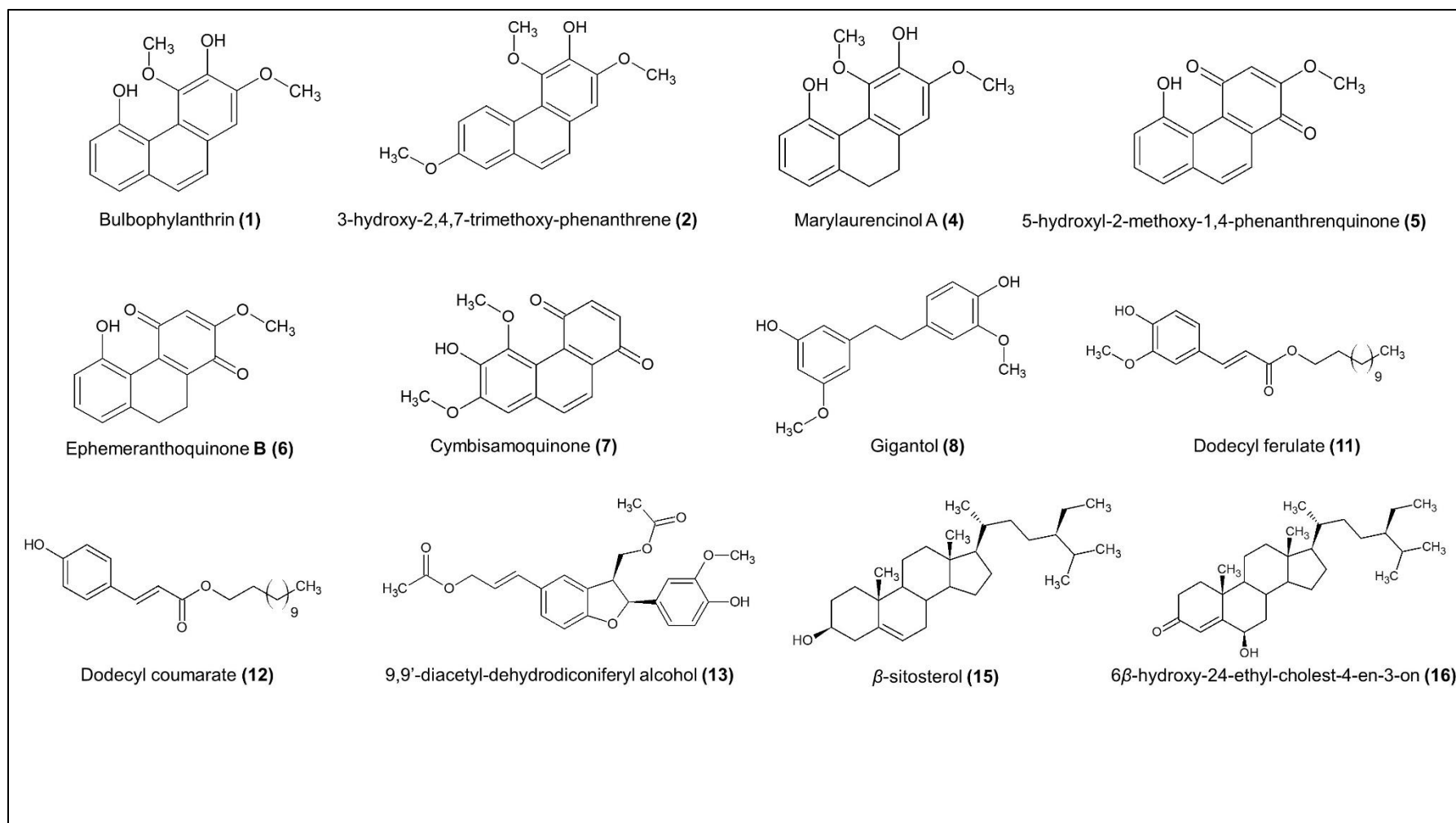


Εικόνα 5.37. TLC από τον διαχωρισμό του κλάσματος συνένωσης (S+T) σε σύστημα ανάπτυξης DCM / MeOH (99:1).

Το διάγραμμα ροής για την φυτοχημική ανάλυση του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των ριζών, συνοψίζεται παρακάτω καθώς επίσης και οι χημικές δομές των απομονωμένων μεταβολιτών από τις ρίζες παρουσιάζονται στις **Εικόνες 5.38** και **5.39** αντίστοιχα.



Εικόνα 5.38. Διάγραμμα ροής φυτοχημικής ανάλυσης του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των ριζών *Cymbidium* sp.

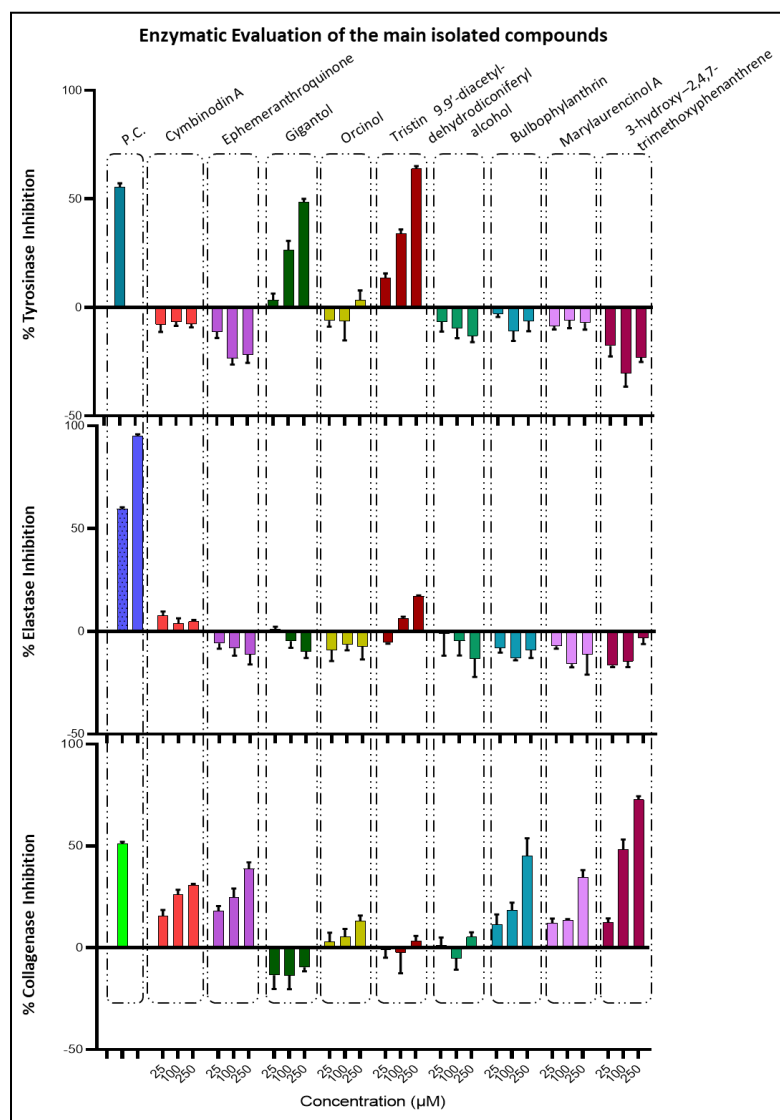


Εικόνα 5.39. Μεταβολίτες που απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν από τις ρίζες της ορχιδέας *Cymbidium* sp.

5.10.4. Αξιολόγηση *in-vitro* της αντιγηραντικής δράσης των απομονωμένων μεταβολιτών από *Cymbidium* sp.

Με στόχο να αξιολογηθεί αν η δραστηριότητα στην τυροσινάση, ελαστάση και κολλαγενάση, οφείλεται στα ολικά εκχυλίσματα ή σε συγκεκριμένους απομονωμένους μεταβολίτες από τις ρίζες (R) και τους ψευδοβολβούς (Ps), προσδιορίστηκε η δράση τους μετά από την φυτοχημική τους ανάλυση.

Στο **Διάγραμμα 5.3**, παρουσιάζεται το % δοσοεξαρτώμενης αναστολής των ενζύμων της τυροσινάσης, ελαστάσης και κολλαγενάσης για κάθε μεταβολίτη.

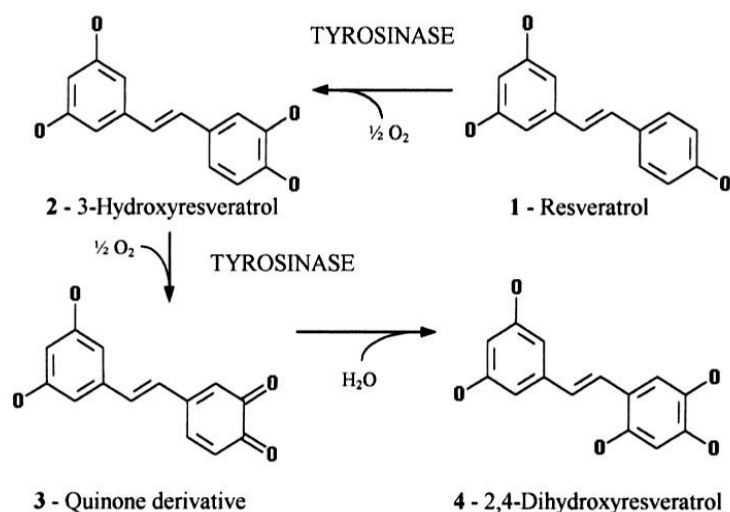


Διάγραμμα 5.3.

Δραστηριότητα απομονωμένων μεταβολιτών από τους ψευδοβολβούς (Ps) και ρίζες (R) εκφρασμένη σε % αναστολής για την τυροσινάση, ελαστάση και κολλαγενάση της ορχιδέας *Cymbidium* sp. εκφρασμένη σε % αναστολής για την τυροσινάση, ελαστάση και κολλαγενάση. Οι κίτρινες, οι πράσινες, οι καφέ και οι κόκκινες ράβδοι αντιπροσωπεύουν

τα άνθη (Fl), τα φύλλα (Le), τους ψευδοβολβούς (Ps) και τις ρίζες (R) του φυτού, αντίστοιχα. Οι ράβδοι απεικονίζουν μέσο όρο $\pm$ S.D., $n = 3$ ανεξάρτητων πειραμάτων. P.C. = Θετικός έλεγχος. P.C. για τον προσδιορισμό Τυροσινάσης είναι το Kojic Acid ($IC_{50} = 10\mu M$), για τον προσδιορισμό Elastase είναι η Elastinal ($IC_{100} = 5\mu g/mL$, $IC_{50} = 0.5\mu g/mL$) και για την Collagenase το Phosphoramidon ($IC_{50} = 6.9\mu M$).

Παρατηρείται ότι η ταξινόμηση των αναστολέων τυροσινάσης, ελαστάσης είναι δύσκολη λόγω της ικανότητας πολλών διαφορετικών χημικών ουσιών να δρουν με διαφορετικό τρόπο, αλληλεπιδρώντας με καταλυτικές και ρυθμιστικές θέσεις του ενζύμου ή μεταβολίζονται σε προϊόν που, με την σειρά του μπορεί να λειτουργήσει ως ανταγωνιστικός ή μη ανταγωνιστικός αναστολέας. Από όλες τις ουσίες που απομονώθηκαν, η gigantol και η tristin, παρουσίασαν μέτρια δραστικότητα για την τυροσινάση αλλά καμία δραστικότητα για την ελαστάση με στόχο να εξεταστούν περαιτέρω. Ακόμα και αν στην βιβλιογραφία υπάρχουν αρκετές αναφορές για την δραστικότητα ουσιών στην τυροσινάση και στην ελαστάση, δεν υπάρχουν σχετικές αναφορές ως προς την δραστικότητα της gigantol ή της tristin σε αυτά τα ένζυμα. Παράλληλα οι ενώσεις υδροξυστιλβενίου, όπως η resveratrol, που περιέχονται σε πολλά φυσικά προϊόντα και φυτικά εκχυλίσματα, έχουν ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι της τυροσινάσης από μανιτάρια. Η resveratrol πιθανώς μεταβολίζεται από την τυροσινάση, οδηγώντας στον σχηματισμό ενός *O*-υδρόξυ παραγώγου, το οποίο είναι ανταγωνιστικός αναστολέας του ενζύμου (Bernard, 2000). Είναι πιθανό ότι οι μεταβολίτες της gigantol (παράγωγα της κινόνης μετά από οξείδωση, απομεθυλίωση για την απομεθυλιωμένη gigantol, υδροξυλίωση για την hydroxy-gigantol ακολουθούμενη από γλυκουρονιδίωση για τον σχηματισμό συζυγών γλυκουρονιδίου, μπορεί να είναι υπεύθυνοι για την δραστικότητα αυτής της ένωσης στο ένζυμο της τυροσινάσης (Εικόνα 5.40).



Εικόνα 5.40. Βιομετατροπή της resveratrol από τυροσινάση και σχηματισμός παραγώγου υδροξυστιλβενίου.

Κεφάλαιο 5: Φυτοχημική Ανάλυση και Βιολογική Αξιολόγηση των Υποπροϊόντων καλλιέργειας της Ορχιδέας *Cymbidium* sp. από την νήσο Σάμο.

Η tristin (PubChem CID: 15736297) ανήκει στην ίδια χημική κατηγορία των δι-βενζυλίων και διαφέρει από την gigantol από την παρουσία μιας υδροξυλομάδας (-OH) στην θέση 3'. Επιπλέον δεν υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές για την δραστικότητα της tristin στην τυροσινάση, στην ελαστάση και την κολλαγενάση.

5.10.5. Εκχύλισμα Ανθέων

Στο ολικό εκχύλισμα του EtOAc πραγματοποιήθηκε έλεγχος του φυτοχημικού του προφίλ αρχικά με υγρή χρωματογραφία υψηλής ανάλυσης συζευγμένη με μάζα (LC-MS) ([Παράρτημα, Εικόνα S4](#)).

Ο διαχωρισμός και απομόνωση των ουσιών του εκχυλίσματος EtOAc των ανθέων πραγματοποιήθηκε σε δύο στάδια: α) κλασμάτωση του εκχυλίσματος με Χρωματογραφία Κατ' Αντιροή (CCC) και β) Απομόνωση των ουσιών από τα κλάσματα του CCC με χρωματογραφία στήλης και παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.

5.10.5.α. Κλασμάτωση του Εκχυλίσματος Οξικού Αιθυλεστέρα με Χρωματογραφία Κατ' Αντιροή (CCC)

Η παρουσία πολλών μεταβολιτών σε παρόμοιες ποσότητες οδήγησε στην επιλογή διφασικού συστήματος και μεθόδου με στόχο την καλύτερη κλασμάτωση του μείγματος και όχι τόσο την απομόνωση τους σε καθαρή μορφή

- Επιλογή του κατάλληλου διφασικού συστήματος

Ένας πρώτος έλεγχος του εκχυλίσματος με TLC και με HPLC-UV-DAD έδειξε ότι η βασική κατηγορία ουσιών που εμπεριέχονται σε αυτά είναι τα τριτερπένια. Τα συστήματα που δοκιμάσαμε για το ολικό εκχύλισμα EtOAc παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 5.11. Διφασικά συστήματα που δοκιμάστηκαν για τον διαχωρισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc ανθέων ορχιδέας *Cymbidium* sp.

Σύστημα	n-Hex	EtOAc	EtOH	H ₂ O	ACN	IsoProp.
1	4	1	2	3	-	-
2	3	2	2	3	-	-
3	2	3	2	3	-	-
4	1	4	2	3	-	-
5	1.6	-	-	-	1.6	0.2

Στις παραπάνω σειρές διφασικών συστημάτων πραγματοποιήθηκαν οι απαιτούμενοι έλεγχοι, δηλαδή αρχικός έλεγχος διαλυτότητας του εκχυλίσματος και διαχωρισμού των φάσεων και μελέτη της κατανομής

Κεφάλαιο 5: Φυτοχημική Ανάλυση και Βιολογική Αξιολόγηση των Υποπροϊόντων καλλιέργειας της Ορχιδέας *Cymbidium* sp. από την νήσο Σάμο.

των ουσιών στις φάσεις του κάθε συστήματος, τόσο με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) και υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης.

Το **σύστημα 5** (n-Hex / ACN / IsoProp; 1.6:1.6:0.2 ήταν το τελικό διφασικό σύστημα που χρησιμοποιήθηκε για τον διαχωρισμό.

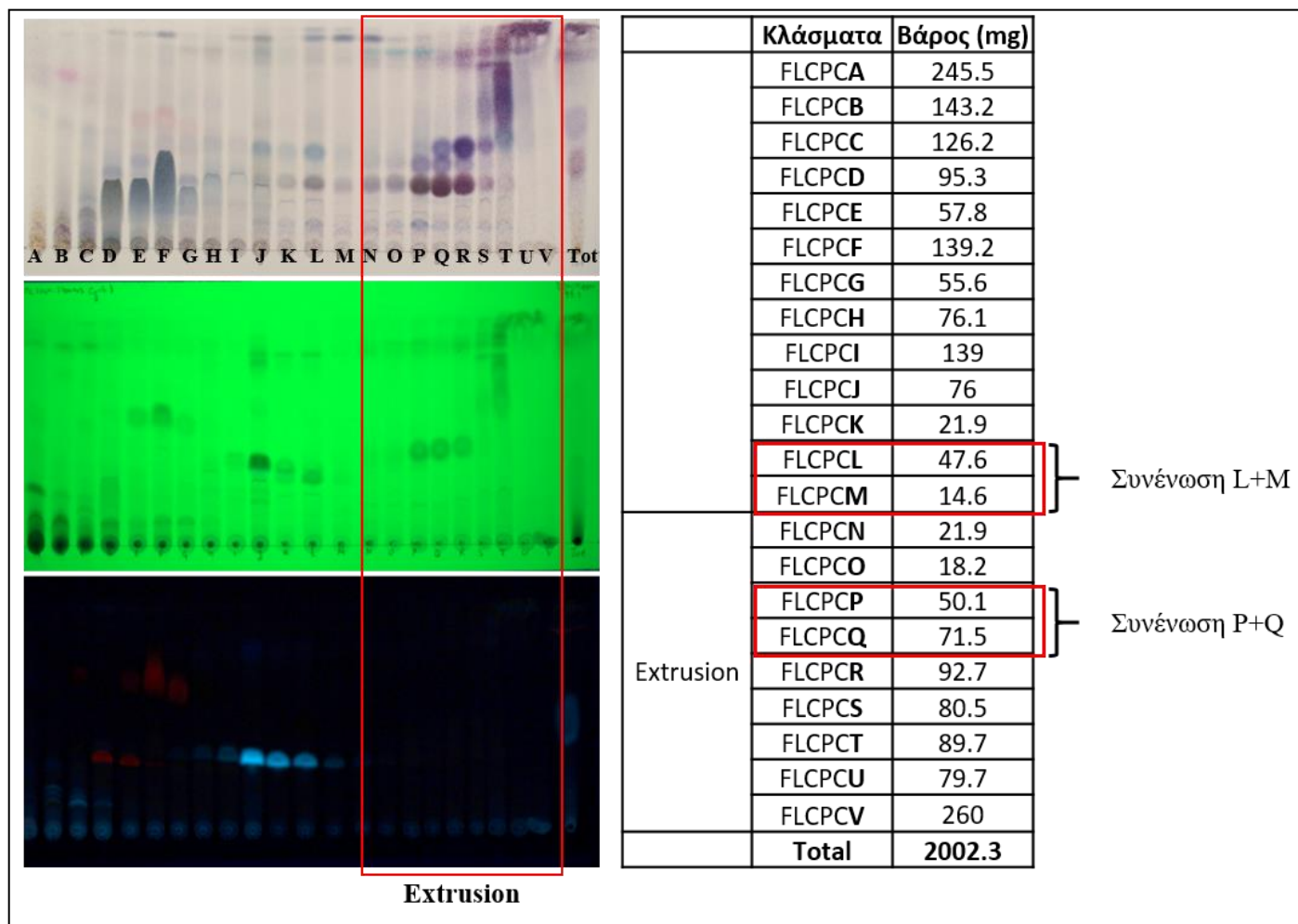
- Εκτέλεση διαχωρισμού

Για τον διαχωρισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc των ανθέων της ορχιδέας χρησιμοποιήθηκε η Normal Mode με κινητή την κάτω φάση και στατική την πάνω φάση του συστήματος (descending).

Αρχικά πληρώθηκε η στήλη με την πάνω φάση του συστήματος με 1000 ml και τέθηκε η στήλη σε περιστροφή (200 rpm) και ροή 15ml/min. Στην συνέχεια διοχετεύτηκε η κάτω φάση του συστήματος (1000 mL) και αυξήθηκε η περιστροφή της στήλης στα 550rpm. Για την εξισορρόπηση των δύο φάσεων πήραμε 250 mL στατικής φάσης.

Το εκχύλισμα (5g) εγχύθηκε μέσω 10mL sample loop για ημιπαρασκευαστική ανάλυση και 30mL sample loop για παρασκευαστικούς διαχωρισμούς. Τα κλάσματα συλλέχθηκαν με συλλέκτη Büchi B-684 (Flawil, Ελβετία).

Συνολικά παρελήφθησαν 158 κλάσματα των 10ml τα οποία στα οποία πραγματοποιήθηκαν 22 συνενώσεις. Ο έλεγχος για τις συνενώσεις των κλασμάτων πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας με DCM / MeOH (99:1), σαν σύστημα ανάπτυξης. Οι συνενώσεις παρουσιάζονται και η ολική TLC των συνενώσεων στην [Εικόνα 5.41](#).



Εικόνα 5.41. Συνολική TLC διαχωρισμού του ολικού εκχυλίσματος EtOAc ανθέων της ορχιδέας *Cymbidium* sp. σε σύστημα ανάπτυξης DCM / MeOH (98:2). Δεξιά ο πίνακας με τα κλάσματα διαχωρισμού από CPC με τα τελικά βάρη και τις συνενώσεις κλασμάτων με όμοιο προφίλ TLC.

Η ροή των διαλυτών και η περιστροφή της στήλης διατηρήθηκαν σταθερά καθ'όλη την διάρκεια της διαδικασίας διαχωρισμού στα 15ml/min και στα 550rpm αντίστοιχα. Ο διαχωρισμός διήρκεσε περίπου 7 ώρες και καταναλώθηκαν περίπου 5L διαλυτών.

Ο χρωματογραφικός έλεγχος TLC στα κλάσματα του παραπάνω διαχωρισμού έδειξε ότι είχε γίνει επιτυχημένη αρχική κλασμάτωση του εκχυλίσματος ([Εικόνα 5.41](#)). Τα κλάσματα συμπυκνώθηκαν, αποθηκεύτηκαν σε γυάλινα vial και κωδικοποιήθηκαν.

Όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου ($20 \pm 2^{\circ}\text{C}$)

5.10.5.β. Απομόνωση μεταβολιτών από τα κλάσματα του CPC με Flash Column Chromatography

Προκειμένου να διαχωρίσουν οι ουσίες και να τις παραληφθούν σε καθαρή μορφή ακολούθησε επεξεργασία των επιλεγόμενων κλασμάτων κυρίως με χρωματογραφία στήλης silica flash. Επίσης, για την ανάλυση μερικών κλασμάτων χρησιμοποιήθηκε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (prepTLC). Για κάποια από τα κλάσματα που προέκυψαν από το CPC, πραγματοποιήθηκε συνένωση καθώς παρουσίαζαν το ίδιο ποιοτικό προφίλ στην TLC.

Πιο συγκεκριμένα τα κλάσματα **L+M** όπως επίσης και **P+Q**, συνενώθηκαν με στόχο τον περαιτέρω διαχωρισμό με χρωματογραφία στήλης (13cm x 2 cm) επί γέλης πυριτίου (Merck, Art. 9385) (Flash Column Chromatography). Για την χρωματογραφία στήλης σαν σταθερό σύστημα έκλουσης χρησιμοποιήθηκε μίγμα διαλυτών (n-Hex : DCM : MeOH) αυξανόμενης πολικότητας, στις αναλογίες που εμφανίζονται στον **Πίνακα 5.12** για όλα τα κλάσματα. Για κάθε σύστημα χρησιμοποιήθηκαν 100mL με σταθερή ροή και με άσκηση χαμηλής πίεσης (300mbar).

Πίνακας 5.12. Σύστημα έκλουσης για την χρωματογραφία στήλης (n-Hex = n-εξάνιο; DCM = διχλωρομεθάνιο; MeOH = μεθανόλη).

Όγκος Συστήματος Διαλυτών (mL)	n-Hex	DCM	MeOH
100	50	50	0
	20	80	0
	0	100	0
	0	99	1
	0	98	2
	0	96	4
	0	92	8
	0	85	15
	0	70	30

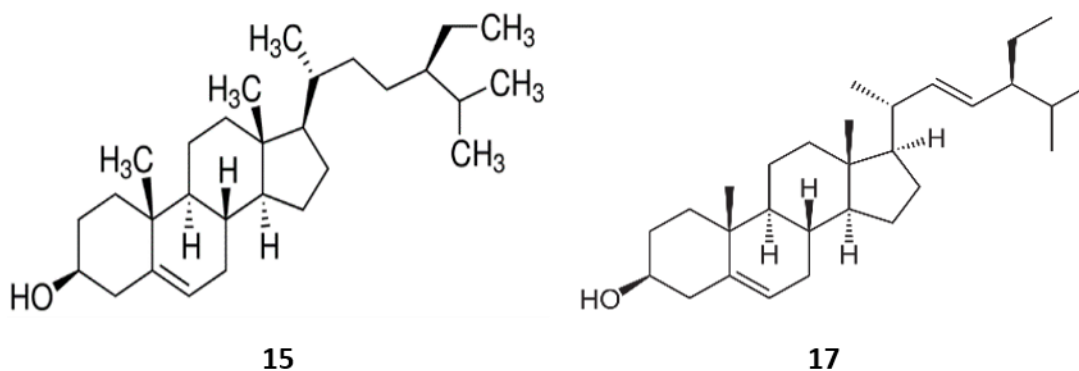
- **Κλάσματα CPC (P+Q)**

Τα κλάσματα P+Q (**Πίνακας 5.13**) συνενώθηκαν με τελικό βάρος 121.6 mg από το οποία χρησιμοποιήθηκε για την στήλη μία ποσότητα ξηρού εκχυλίσματος (110mg).

Πίνακας 5.13. Πίνακας της συνένωσης των κλασμάτων P και Q.

Κλάσμα	Συνενώσεις	Βάρη (mg)
PQ _I	2 έως 5	0.5
PQ _{II}	6 έως 9	1.1
PQ _{III}	10 έως 13	1.0
PQ _{IV}	14 έως 16	0.5
PQ _V	17 έως 20	2.9
PQ _{VI}	21 έως 23	2.5
PQ _{VII}	24 έως 28	23.3
PQ _{VIII}	29 έως 32	4.4
PQ _{IX}	33 έως 37	0.4
PQ _X	38 έως 39	5.6
PQ _{XI}	40 έως 47	6.0

Συνολικά ελήφθησαν **47** κλάσματα τα οποία συνενώθηκαν με βάση το προφίλ της συνολικής TLC. Από το κλάσμα PQ_V παραλήφθηκε ένα μείγμα από 3 μόρια που ανήκουν στην κατηγορία των τριτερπενίων (β -sitosterol (**15**), stigmasterol (**17**) και cycloeucalenol (**18**) (**Εικόνες 5.42** και **5.43** αντίστοιχα).



Εικόνα 5.42. β -sitosterol (**15**) και stigmasterol (**17**).

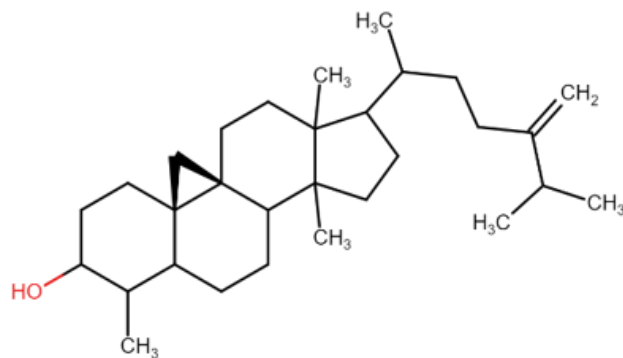
Η β -sitosterol (**15**) ($C_{29}H_{50}O$, MW = 414.7). Είναι μία φυτική στερόλη (φυτοστερόλη) που συναντάται σε τρόφιμα, φρούτα, λαχανικά και σπόρους με δομή παρόμοια με αυτή της χοληστερόλης. Είναι γνωστή για τις δράσεις της ως αναστολέας της μεθυλοτρανσφεράσης της στερόλης, ως αντιχοληστεραιμικό ([Rong, 1997](#)) και ως αντιοξειδωτικό. Το φάσμα NMR πρωτονίου της β -sitosterol παρουσιάζεται στην [Εικόνα 5.46](#).

Η stigmasterol (**17**) ($C_{29}H_{48}O$, MW = 412.7) απομονώθηκε σαν λευκή σκόνη συνήθως σαν μείγμα με την β -sitosterol. Ανήκει και αυτός ο μεταβολίτης στην κατηγορία των φυτικών στερολών και έχει ανάλογη δράση στην μείωση των επιπέδων της χοληστερόλης στο αίμα, όπως και η β -sitosterol. Χρησιμοποιείται ως προσθετικό σε πολλά τρόφιμα στην Ευρωπαϊκή ένωση και στο Ηνωμένο Βασίλειο. Στην βιομηχανία μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν πρόδρομο μόριο τόσο για την σύνθεση της βιταμίνης D3 ([Kametani, 1987](#)), όσο και για την ημισυνθετική προγεστερόνη ([Sundararaman, 1977](#)).

Στην φυσιολογία των φυτών, τα παραπάνω τριτερπένια λειτουργούν ως παράγοντες στις κυτταρικές διεργασίες των φυτών και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις αποκρίσεις του στρες των φυτών, στον μεταβολισμό και στα ένζυμα που εμπλέκονται στην βιοσύνθεση των φυτικών κυτταρικών μεμβρανών ([Ferrer, 2017](#)).

Η cycloeucalenol (**18**), ($C_{30}H_{50}O$, MW = 426.7, [Εικόνα 5.43](#)) ανήκει στα πεντακυκλικά τριτερπένια. Απομονώθηκε σε μορφή λευκής σκόνης και αποτελεί προϊόν της βιοσύνθεσης τριτερπενίων στα φυτά. Είναι πρόδρομο μόριο φυτοστερολών.

Οι πίνακες με τα NMR δεδομένα των (**15**), (**17**) και (**18**) παρουσιάζονται αναλυτικά στο παράρτημα ([Παράρτημα, Πίνακες 5.11.8](#) και [5.11.9](#)).



Εικόνα 5.43. Cycloeucalenol (**18**).

Η stigmasterol και η β -sitosterol ταυτοποιήθηκαν σε πιο καθαρή μορφή από το κλάσμα PQVII και PQVIII.

- **Κλάσμα CPC (R)**

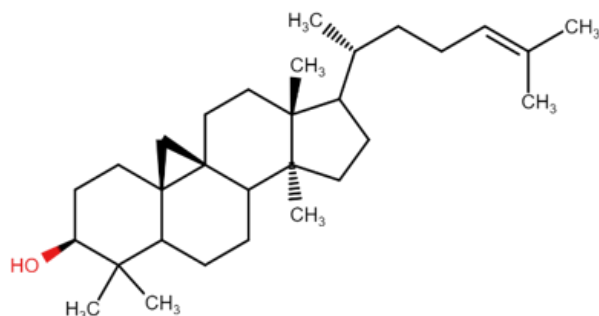
Για το κλάσμα CPC (R) πραγματοποιήθηκε χρωματογραφική στήλη με αρχικό βάρος εκχυλίσματος 90mg. Συνολικά ελήφθησαν 56 κλάσματα. Με βάση την συνολική TLC υπήρξε περαιτέρω συνένωση κλασμάτων (**Πίνακας 5.14**).

Πίνακας 5.14. Πίνακας του διαχωρισμού του κλάσματος CPC (R).

Κλάσμα	Συνενώσεις	Βάρος (mg)
R _I	1 έως 11	2.4
R _{II}	12 έως 19	1.9
R _{III}	20 έως 23	5.3
R _{IV}	24 έως 28	4.4
R _V	29 έως 35	17.8
R _{VI}	36 έως 40	4.6
R _{VII}	41 έως 44	8.5
R _{VIII}	45 έως 48	18.5
R _{IX}	49 έως 50	1.3
R _X	51 έως 56	1.8

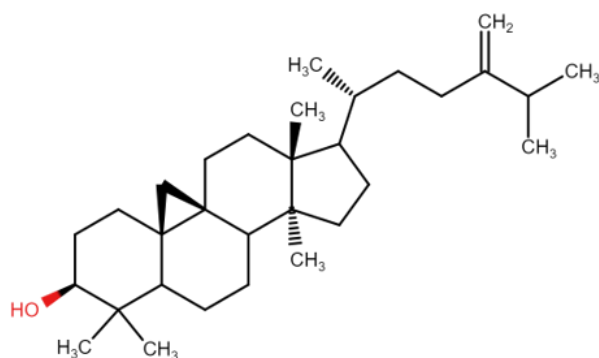
Από την παραπάνω κλασμάτωση ταυτοποιήθηκαν 2 μόρια που ανήκουν στην κατηγορία των τριτερπενίων. Η cycloartenol (**19**), (Εικόνα 5.44) και η 24-methylenecycloartanol (**20**), (Εικόνα 5.45).

Η cycloartenol (**19**), ($C_{30}H_{50}O$, MW = 426.7), απομονώθηκε από τα άνθη σε μορφή λευκής σκόνης και ταυτοποιήθηκε και σε μίγμα με τα προηγούμενα τριτερπένια. Ανήκει στην κατηγορία των τριτερπενίων και αποτελεί πρόδρομο μόριο στην σύνθεση όλων των στεροειδών στα φυτά τα οποία τα διαφοροποιεί χημικά από τα στεροειδή των μυκήτων και των ζώων, τα οποία προέρχονται από το πρόδρομο μόριο της lanosterol.



Εικόνα 5.44. Cycloartenol (**19**).

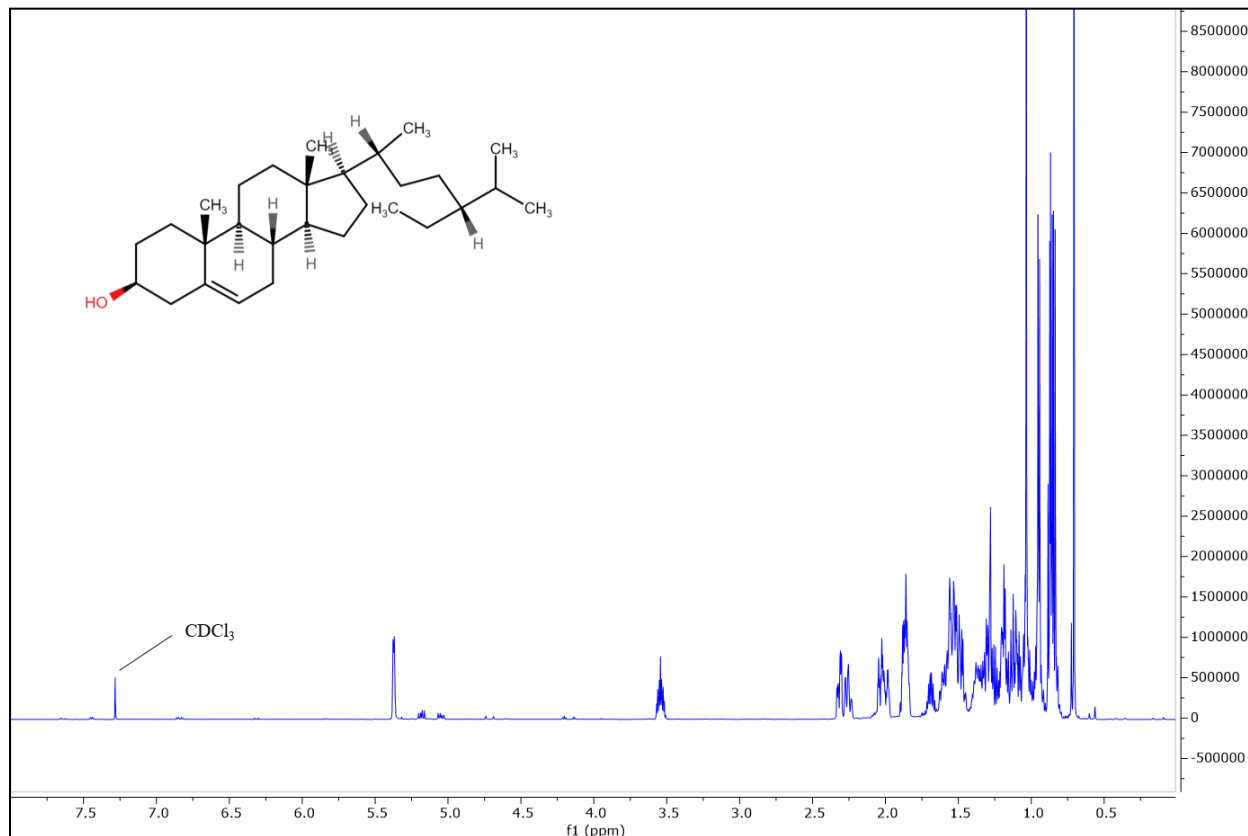
Η 24-methylenecycloartanol (**20**), ($C_{31}H_{52}O$, MW = 440.7, Εικόνα 5.45), απομονώθηκε σε μίγμα από τα άνθη της ορχιδέας. Έχει απομονωθεί από διάφορα είδη φυτών όπως *Euphorbia*, *Epidendrum*, *Psychotria* και *Sideritis*. Βιοσυνθετικά προέρχεται από την cycloartane.



Εικόνα 5.45. 24-methylenecycloartanol (**20**).

Οι πίνακες με τα NMR δεδομένα των δομών καθώς επίσης και τα φάσματα παρουσιάζονται αναλυτικά στο Παράρτημα, [Πίνακας 5.11.10](#).

Από τα κλάσματα R_V και R_{VI} απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε καθαρή β -sitosterol.

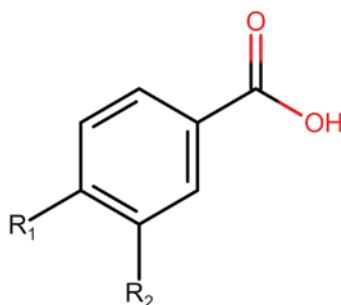


Εικόνα 5.46. Φάσμα ¹HNMR της β -sitosterol σε CDCl₃.

- **Κλάσματα CPC D, E και F**

Από τα κλάσματα **D** και **E** ταυτοποιήθηκε το protocatechuic acid (**21**) ενώ από το κλάσμα **F** ταυτοποιήθηκε το vanillic acid (**22**) (Εικόνα 5.47). Στην συνολική TLC από τον αρχικό διαχωρισμό με CPC είναι χαρακτηριστικό το προφίλ της παρουσίας οξέος μετά από ψεκασμό με διάλυμα θειϊκής βανιλίνης.

Το protocatechuic acid (**21**) (C₇H₆O₄, MW = 154.12, [M-H]⁻ = 152.95) ανήκει στην κατηγορία των φαινολικών οξέων και έχει απομονωθεί από πολλά φυτικά είδη. Έχει ταυτοποιηθεί σε πολλά φυτικά είδη που χρησιμοποιούνται ευρέως στην Κινεζική παραδοσιακή ιατρική όπως τα είδη *Stenoloma chusanum* L. Ching, *Ilex chinensis* Sims και *Cibotium batometz* (L.) J. Sm. (Li, 2017). Στις ορχιδέες έχει ταυτοποιηθεί σε υβρίδια του γένους *Phalaenopsis* (Minh, 2016), αλλά δεν υπάρχει προηγούμενη αναφορά από το γένος *Cymbidium*.



$R_1=R_2=OH$; Protocatechuic acid

$R_1=OH$, $R_2=OCH_3$; Vanillic acid

Εικόνα 5.47. Protocatechuic (**21**) και vanillic acid (**22**).

Το vanillic acid (**22**) ($C_8H_8O_4$, $MW=168.15$, $[M-H]^+ = 166.19$) ανήκει όπως και ο προηγούμενος μεταβολίτης στα φαινολικά οξέα γνωστό για τις αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Προέρχεται από την οξείδωση της βανιλίνης σε καρβοξυλικό οξύ (~ 88% απόδοση).

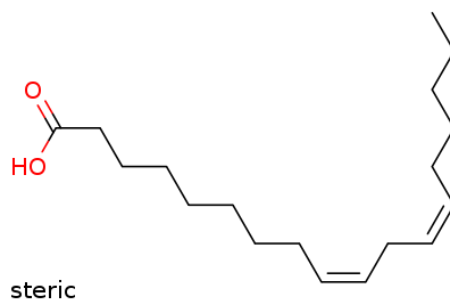
Επίσης στα παραπάνω κλάσματα από το προφίλ της ολικής TLC με την θεϊκή βανιλίνη υπάρχει η ένδειξη για την παρουσία των λιπαρών οξέων. Τόσο από το προφίλ LC-MS του ολικού εκχυλίσματος EtOAc όσο και από τα φάσματα NMR, αποδεικνύεται ότι πρόκειται κυρίως για κορεσμένα, ακόρεστα και υδροξυλιωμένα λιπαρά οξέα. Τα λιπαρά οξέα διακρίνονται σε κορεσμένα (saturated fatty acids, SFA) αν δεν διαθέτουν διπλούς δεσμούς στην αλιφατική αλυσίδα και σε ακόρεστα λιπαρά οξέα (unsaturated fatty acids, UFA). Αν τα τελευταία διαθέτουν ένα διπλό δεσμό ονομάζονται μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (monounsaturated fatty acids, MUFA) και αν διαθέτουν δύο ή περισσότερους ονομάζονται πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA). Ένας συνηθισμένος συντομογραφικός τρόπος χαρακτηρισμού των ακόρεστων οξέων είναι με αριθμούς [X:Y], όπου X είναι ο ολικός αριθμός των ατόμων άνθρακα και Y είναι ο αριθμός των διπλών δεσμών.

Τα λιπαρά οξέα ταυτοποιήθηκαν από το ολικό κλάσμα **F**, στα οποία πραγματοποιήθηκε χρωματογραφική στήλη από την οποία ανακτήθηκαν 11 διαφορετικά κλάσματα με τα παρακάτω βάρη

Πίνακας 5.15. Πίνακας του διαχωρισμού του κλάσματος CPC (F).

Κλάσματα	Συνενώσεις	Βάρος (mg)
F _I	1 έως 7	0.7
F _{II}	8 έως 19	0.7
F _{III}	20 έως 33	31.6
F _{IV}	34 έως 37	12.7
F _V	38 έως 40	22.2
F _{VI}	41 έως 43	2.5
F _{VII}	44 έως 49	6.2
F _{VIII}	50 έως 54	2.7
F _{IX}	55 έως 57	3.0
F _X	58 έως 60	1.4
F _{XI}	61 έως 71	3.9

Οι κύριες κατηγορίες λιπαρών οξέων που ταυτοποιήθηκαν στα άνθη της ορχιδέας *Cymbidium* sp., είναι **C16:0**; **C18:1** και **C18:1** (hydroxylated); **C18:2** (linoleic acid, ω-6) και **C18:3**. Πιο συγκεκριμένα στα κλάσμα FIII, FIV και FV ταυτοποιήθηκε το linoleic acid (**23**) (**Εικόνα 5.48**)



Εικόνα 5.48. Linoleic acid (**23**).

Το linoleic acid (**23**) ($C_{18}H_{32}O_2$, MW = 280.4), ανήκει στην κατηγορία των ακόρεστων λιπαρών οξέων τύπου C18:2 (ω-6) ([Whelan, 2013](#)). Είναι πρόδρομο μόριο του αραχιδονικού οξέος, το οποίο με την σειρά του συμμετέχει στο βιοχημικό μονοπάτι της φλεγμονής.

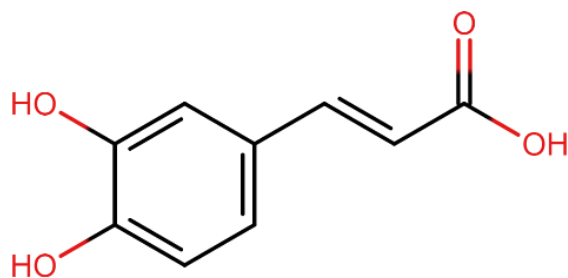
- **Κλάσμα CPC (J)**

Στο κλάσμα **J** πραγματοποιήθηκε διαχωρισμός με χρωματογραφική στήλη με το σταθερό σύστημα έκλουσης που αναφέρθηκε στην ενότητα [5.10.5.β \(Απομόνωση μεταβολιτών από τα κλάσματα του CPC με Flash Column Chromatography\)](#). Παρελήφθησαν συνολικά 12 κλάσματα με τα παρακάτω βάρη:

Πίνακας 5.16. Πίνακας του διαχωρισμού του κλάσματος CPC (J).

Κλάσματα	Συνενώσεις	Βάρος (mg)
J _I	1 έως 7	0.3
J _{II}	8 έως 14	0.6
J _{III}	14 έως 20	34.6
J _{IV}	21 έως 25	1.0
J _V	26 έως 30	29.6
J _{VI}	31 έως 37	2.0
J _{VII}	38 έως 48	8.7
J _{VIII}	49 έως 52	21.8
J _{IX}	53 έως 54	2.6
J _X	55 έως 60	2.8
J _{XI}	61 έως 63	10.8
J _{XII}	64 έως 73	5.4

Από το κλάσμα **J** ταυτοποιήθηκαν λιπαρά οξέα όπως και στο κλάσμα **F**. Πιο συγκεκριμένα, στα κλάσματα J_{VI}=J_{VII}=J_{VIII} ταυτοποιήθηκαν κορεσμένα λιπαρά οξέα, ενώ από τα κλάσματα J_{IV}=J_V ταυτοποιήθηκαν το caffeic acid (**24**) (**Εικόνα 5.49**) (*cis* και *trans*) και λιπαρές αλκοόλες σε μίγμα.



Εικόνα 5.49. Caffeic acid (24).

- **Κλάσματα CPC (L+M)**

Στα κλάσματα L+M πραγματοποιήθηκε χρωματογραφική στήλη με το σύστημα έκλουσης που αναφέρθηκε προηγουμένως με αποτέλεσμα την παραλαβή 14 κλασμάτων των οποίων οι κωδικοί και τα βάρη αναγράφονται στον **Πίνακα 5.17**.

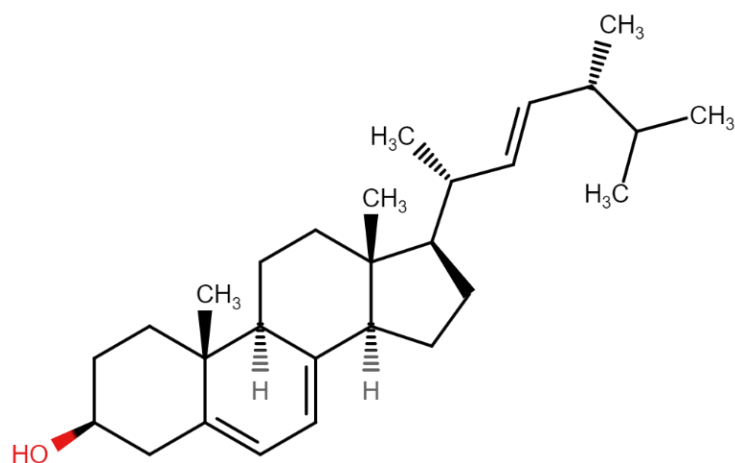
Πίνακας 5.17. Πίνακας του διαχωρισμού του κλάσματος CPC (LM).

Κλάσματα	Συνενώσεις	Βάρος (mg)
LM _I	1 έως 6	0.2
LM _{II}	7 έως 12	1.5
LM _{III}	13 έως 19	0.7
LM _{IV}	20 έως 26	1.7
LM _V	27 έως 29	0.4
LM _{VI}	30 έως 37	2.1
LM _{VII}	38 έως 46	13.9
LM _{VIII}	47	4.4
LM _{IX}	48 έως 49	1.3
LM _X	50 έως 53	3.1
LM _{XI}	54 έως 58	0.8
LM _{XII}	59 έως 61	1.4

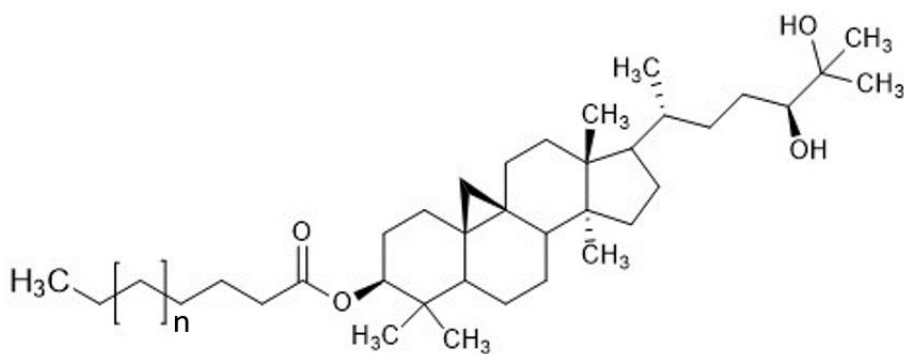
LM _{XIII}	62 έως 67	1.3
LM _{XIV}	68 έως 75	1.4

Από τα παραπάνω κλάσματα της στήλης ταυτοποιήθηκαν 2 μεταβολίτες που ανήκουν και αυτά στην κατηγορία των τριτερπενίων. Πιο συγκεκριμένα από το κλάσμα LMVI απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν με NMR η ergosterol (**25**), (Εικόνα 5.50) και τα φάσματα NMR στο [Παράρτημα, Πίνακας 5.11.11](#)

Από το κλάσμα LMVIII ταυτοποιήσαμε την (24R) cycloartan 3 β , 24,25-triol ester of fatty acid (**26**), (Εικόνα 5.51).



Εικόνα 5.50. Ergosterol (**25**).



Εικόνα 5.51. (24R) cycloartan 3 β , 24,25-triol ester of fatty acid (**26**).

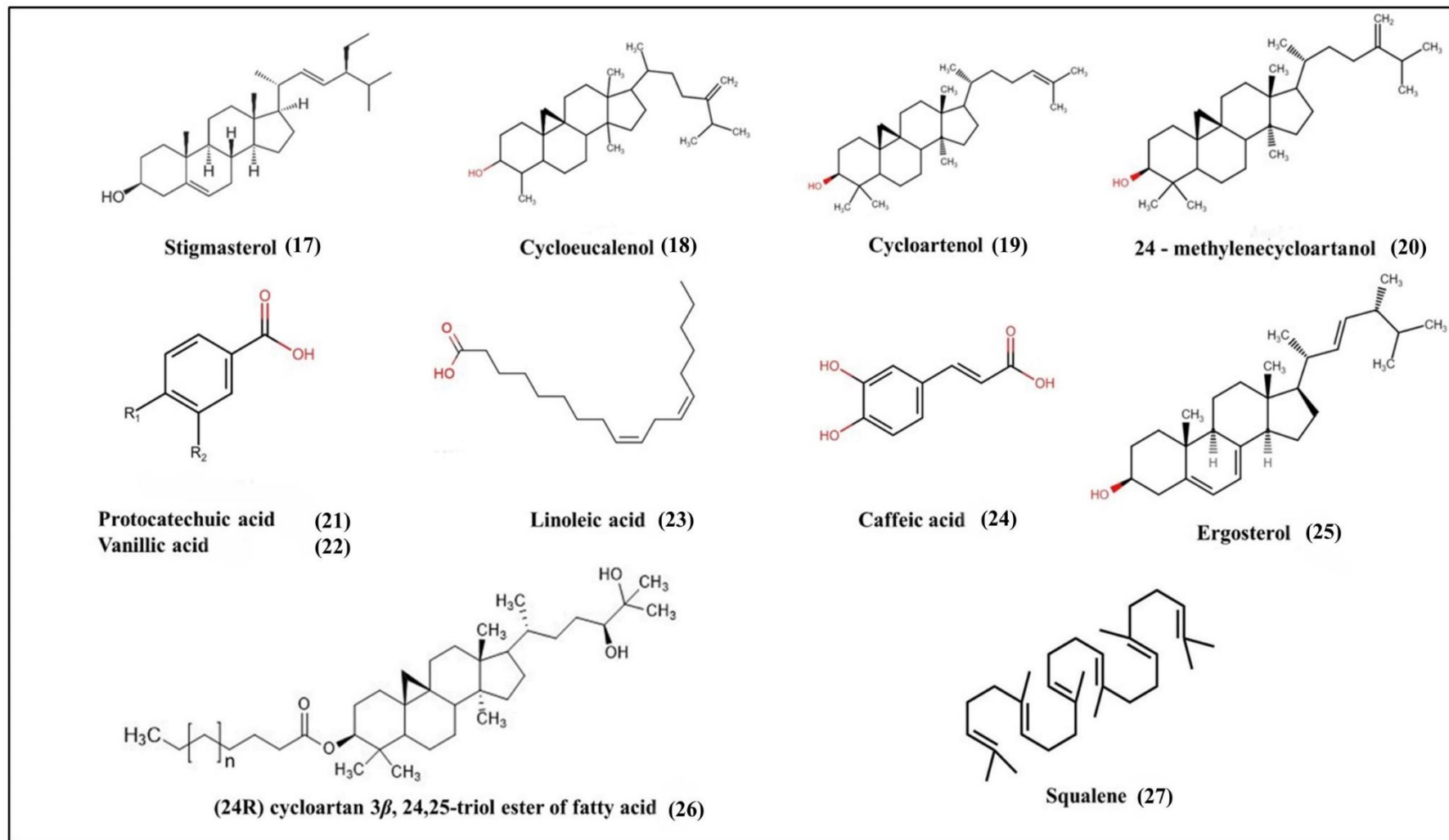
Η ergosterol (**25**) ($C_{28}H_{44}O$, **MW = 396.6**) απομονώθηκε σαν λευκή άμορφη σκόνη. Είναι μια φυτοστερόλη (3β -sterol) η οποία βρίσκεται στις κυτταρικές μεμβράνες μυκήτων και πρωτόζωων, με ιδιότητες ανάλογες με αυτές της χοληστερόλης στα ζωικά κύτταρα. Αποτελεί στόχο για αντιμυκητιασικά φάρμακα επειδή πολλοί μύκητες και πρωτόζωα δεν μπορούν να επιβιώσουν χωρίς εργοστερόλη.

Στην ανθρώπινη διατροφή, η ergosterol είναι μια μορφή προβιταμίνης, της βιταμίνης D2. Η βιταμίνη D2 παράγεται από την ergosterol μετά από έκθεση στο υπεριώδες φως (UV).

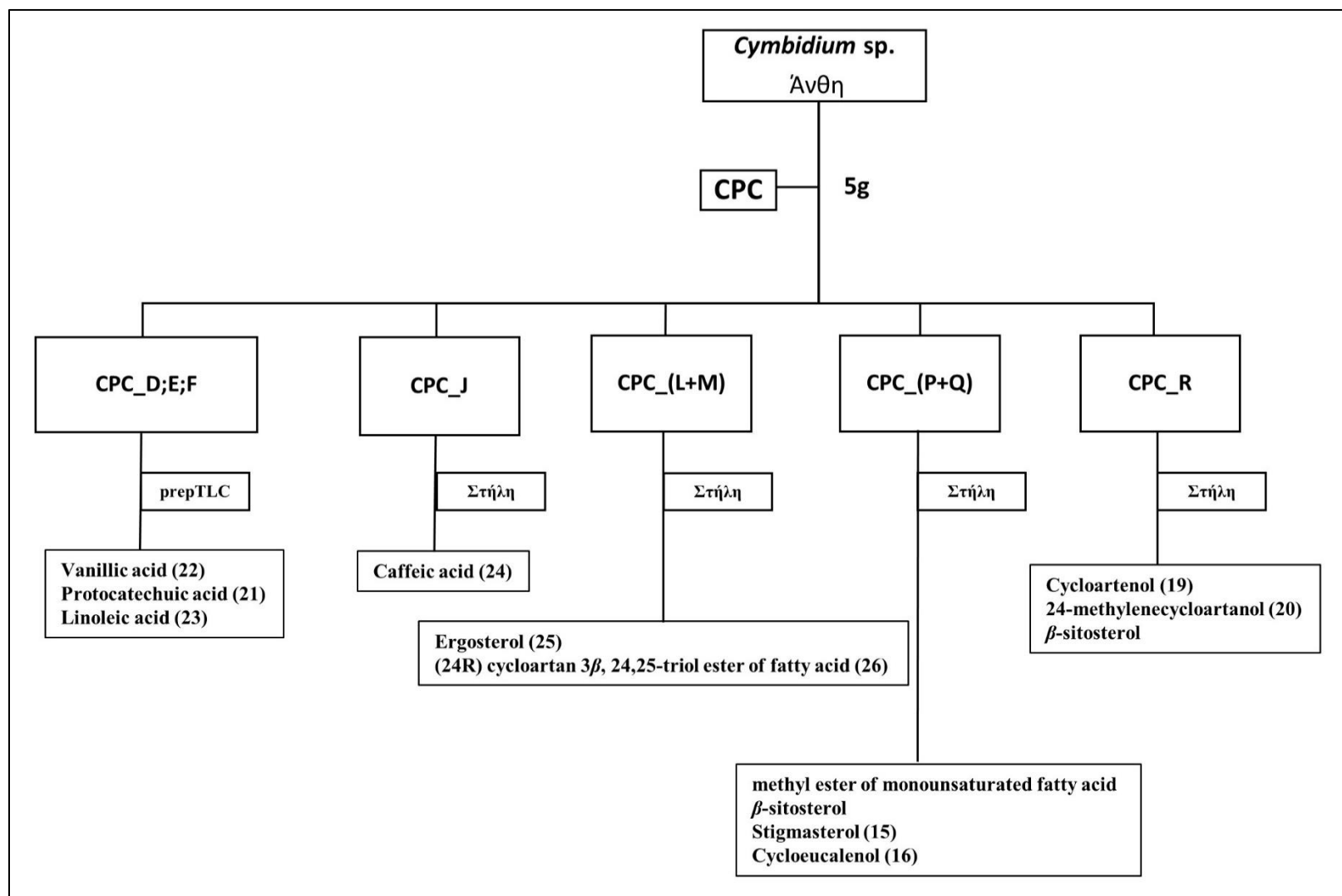
Τέλος από το κλάσμα LM_{XVIII} απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε το squalene (**27**) (**Εικόνα 5.52**). Το squalene ή (6*E*,10*E*,14*E*,18*E*)-2,6,10,15,19,23-hexamethyltetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene ($C_{30}H_{50}$, **MW = 410.7**), απομονώθηκε σαν ελαιώδες κιτρινωπό διάλυμα. Ανήκει στα τριτερπένια και οφείλει το όνομά του από την αρχική απομόνωσή του από το σκώτι καρχαρία (*Squalus*). Αποτελεί βιοχημικό ενδιάμεσο την βιοσύνθεσης φυτικών και ζωικών στερολών συμπεριλαμβανομένης της χοληστερόλης και των στεροειδών ορμονών στο ανθρώπινο σώμα ([Micera, 2020](#)).

Παρακάτω παρουσιάζονται συνοπτικά οι μεταβολίτες που απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν από το ολικό εκχύλισμα EtOAc των ανθέων *Cymbidium* sp. Επίσης στην **Εικόνα 5.53** παρουσιάζεται το συνολικό διάγραμμα ροής της φυτοχημικής ανάλυσης των ανθέων

.



Εικόνα 5.52. Χημικές δομές των μεταβολιτών που απομονώθηκαν από τα άνθη *Cymbidium* sp.



Εικόνα 5.53. Διάγραμμα ροής φυτοχημικής ανάλυσης ολικού εκχυλίσματος EtOAc ανθέων *Cymbidium* sp.

5.10.6. Εκχύλισμα Φύλλων

Τα φύλλα των ορχιδέων τύπου *Cymbidium*, αποτελούν ένα μεγάλο τμήμα της βιομάζας σαν υποπροϊόν. Επομένως ο τρόπος διαχείρισης του συγκεκριμένου υποπροϊόντος αποτελεί σημαντικό βήμα ως προς την εκμετάλλευσή του. Με στόχο την απομάκρυνση από τα φύλλα της χλωροφύλλης και την ταυτοποίηση των συστατικών τους, πραγματοποιήθηκε τεχνική CPC.

Στο ολικό εκχύλισμα EtOAc των φύλλων *Cymbidium* sp., πραγματοποιήθηκε έλεγχος του φυτοχημικού προφίλ αρχικά με υγρή χρωματογραφία υψηλής ανάλυσης συζευγμένη με μάζα (LC-MS) ([Παράρτημα, Εικόνα S4](#)).

Ο διαχωρισμός και απομόνωση των ουσιών πραγματοποιήθηκε σε δύο στάδια: α) Κλασμάτωση του εκχυλίσματος με Χρωματογραφία Κατ'αντιροή (CCC) και β) Απομόνωση των ουσιών από τα κλάσματα του CCC με χρωματογραφία στήλης, παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (prepTLC) και αέρια χρωματογραφία υψηλής ανάλυσης συζευγμένη με μάζα (GC-MS).

5.10.6.α. Κλασμάτωση του Εκχυλίσματος Οξικού Αιθυλεστέρα με Χρωματογραφία Κατ'Αντιροή (CCC)

- Διφασικό σύστημα

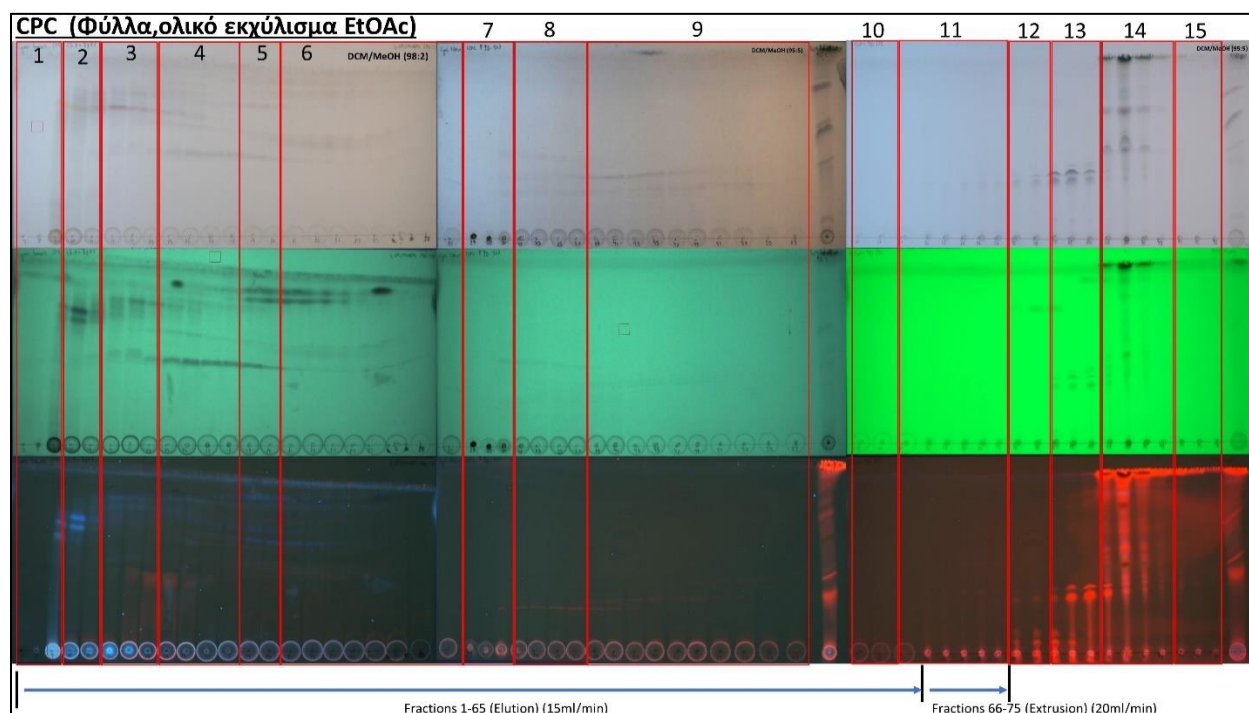
Για το διφασικό σύστημα λαμβάνοντας υπόψιν την φύση του εκχυλίσματος και μια προηγούμενη μελέτη ([Kim, 2020](#)) χρησιμοποιήθηκε το παρακάτω σύστημα

Πίνακας 5.18. Διφασικό σύστημα για τον διαχωρισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc φύλλων ορχιδέας *Cymbidium* sp.

Σύστημα	n-Hex	EtOAc	MeOH	H ₂ O
HEMWat 0	5	5	5	5

Σε διαχωριστική χοάνη πραγματοποιήθηκε ανάμιξη και εξισορρόπηση των 2 φάσεων. Στην άνω φάση (upper) θα έχουμε το μίγμα n-Hex / EtOAc και στην κάτω φάση (lower) το μίγμα (H₂O / MeOH) αντίστοιχα. Το δείγμα, 4.5g ολικού εκχυλίσματος EtOAc *Cymbidium* sp., διαλύεται σε ίσους όγκους άνω και κάτω φάσης (20ml η καθεμία). Το πείραμα CPC πραγματοποιήθηκε σε descending mode (στατική φάση είναι η πάνω φάση) σε ροή με ταχύτητα 20mL/min και ταχύτητα περιστροφής 2500rpm και το οποίο οδήγησε στην απαλλαγή του εκχυλίσματος από τις χλωροφύλλες και από άλλες ουσίες χαμηλής πολικότητας.

Κεφάλαιο 5: Φυτοχημική Ανάλυση και Βιολογική Αξιολόγηση των Υποπροϊόντων καλλιέργειας της Ορχιδέας *Cymbidium* sp. από την νήσο Σάμο.



Εικόνα 5.54. Συνολική TLC του CPC για την αποδέσμευση των χλωροφυλλών από το ολικό εκχύλισμα EtOAc των φύλλων του *Cymbidium* sp.

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε συνένωση των κλασμάτων με παρόμοιο προφίλ με βάση την TLC και σε συνολικά 14 τελικά κλάσματα (**Πίνακας 5.19**).

Πίνακας 5.19. Συνολικός πίνακας κλασμάτων, συνενώσεων με τα σχετικά βάρη έπειτα από τον διαχωρισμό με CPC του ολικού εκχυλίσματος EtOAc φύλλων *Cymbidium* sp. και την τελική αποδέσμευση της χλωροφύλλης.

	Κλάσμα	Συνενώσεις	Βάρος (mg)	
CLFF1	1	7to9	239.7	Elution
CLFF2	2	10to11	98.4	
CLFF3	3	12to14	57	
CLFA	4	15to18	42.2	
	5	19to20	10.8	
	6	21to28	28.4	
CLFB	7	29to31	45.4	
	8	32to37	19.6	
	9	38to57	37.4	
CLFC	10	58to63	4.5	
	11	64to74	25.7	Extrusion
	12	75to79	38.9	Χλωροφύλλες
	13	80to84	72.7	
	14	85to93	1900	
Συνολικό			2679.7	
Αρχικό Βάρος Εκχυλίσματος			4000	
Απόδοση % (w/w)			66.9925	

Στην συνέχεια τα κλάσματα 4,5 και 6 συνενώθηκαν στο κλάσμα (CLFA), τα κλάσματα 7-9 στο κλάσμα (CLFB) και τα 10-13 στο CLFC. Στο κλάσμα 14 παρουσιάστηκαν οι χλωροφύλλες, όπως φαίνεται και από την συνολική TLC.

Τα κλάσματα CLF1-4 ταυτοποιήθηκαν με GC-MS ενώ στα CLFA, B και C πραγματοποιήθηκαν χρωματογραφικές στήλες.

Στο CLFA προχωρήσαμε σε χρωματογραφική στήλη silica με 75mg ολικού εκχυλίσματος με συστήματα διαλυτών DCM / n-Hex των οποίων οι αναλογίες παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.20.

Πίνακας 5.20. Συστήματα διαλυτών και τα κλάσματα που παρελήφθησαν από την στήλη του CLFA.

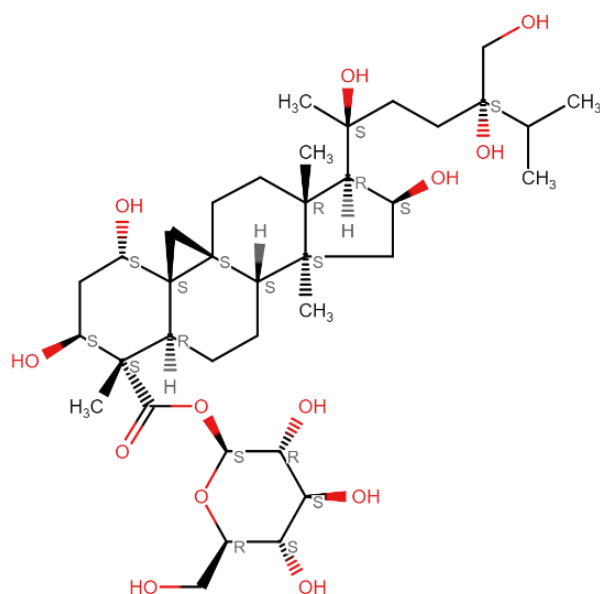
Σύστημα έκλουσης	Αναλογίες (%)	Κλάσματα
DCM / n-Hex	55:45	1 έως 15
	60:40	16 έως 26
	65:35	27 έως 39
	70:30	40 έως 45
	75:25	46 έως 51
	80:20	52 έως 58
	85:15	59 έως 64
	90:10	65 έως 70
	95:5	71 έως 76
DCM	100	76 έως 100

Με βάση το προφίλ TLC πραγματοποιήθηκε περαιτέρω συνένωση των κλασμάτων 1 έως 39 στο FA1, των κλασμάτων 40 έως 89 στο FA2 και 90 έως 100 στο FA3. Στα 3 αυτά συνενωμένα κλάσματα πραγματοποιήθηκε ανάλυση με GC-MS.

Στα κλάσματα **CLFA1** και **CLFA2**, το οποίο έχει υφή παχύρευστου, άχρωμου υγρού, ταυτοποιήθηκαν με GC-MS οι υδρογονάνθρακες squalane ($C_{30}H_{62}$, MW = 422.81, KI = 2663), hexadecane ($C_{16}H_{34}$, MW = 226.4, KI = 1600), heneicosane ($C_{21}H_{44}$, MW = 296.6, KI = 2100), octacosane ($C_{28}H_{58}$, MW = 394.7, KI = 2800), tetracosane ($C_{24}H_{50}$, MW = 338.65, KI = 2407) και eicosane ($C_{20}H_{42}$, MW = 282.54, KI = 2009).

Το squalane είναι ένας υδρογονάνθρακας ο οποίος προέρχεται από την υδρογόνωση του squalene. Σε αντίθεση όμως με το squalene, λόγω του πλήρους κορεσμού του, δεν υπόκειται σε αυτοοξειδωση. Χάρη σε αυτή την ιδιότητα καθώς επίσης και στην χαμηλή του τοξικότητα, το καθιστούν επιθυμητό στην κατασκευή καλλυντικών ως ενυδατικό και μαλακτικό ([Rosenthal, 2002](#)).

Στο κλάσμα **CLFAB** ταυτοποιήθηκε με LC-MS η cyclopasifloside VII και το octadecenoic acid. Η cyclopasifloside VII ($C_{37}H_{62}O_{13}$, MW = 714.9, [M-H]⁻ = 713.4), (**Εικόνα 5.55**). Ανήκει στην κατηγορία των cycloartane triterpenes και έχει απομονωθεί για πρώτη φορά από την *Passiflora edulis* από τα φύλλα και στελέχη ([Yoshikawa, 2000](#)).



Εικόνα 5.55. Cyclopasifloside VII

Στο κλάσμα **CLFA3**, ταυτοποιήθηκε η vanillin (**C₈H₈O₃**, **MW = 152.14**, **KI = 1361**). Πρόκειται για μία φαινολική αλδεϋδη, η οποία χρησιμοποιείται ευρέως στην βιομηχανία τροφίμων.

Συμπεράσματα

Τα υποπροϊόντα καλλιεργούμενης ορχιδέας *Cymbidium* sp. (εκχυλίσματα και απομονωμένες ουσίες) διερευνήθηκαν για τις δερμοκαλλυντικές τους ιδιότητες. Αρχικά, τα μη πολικά, μεσαίας πολικότητας και πολικά εκχυλίσματα κάθε τμήματος (ρίζες, βολβοί, φύλλα και άνθη) αξιολογήθηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση καθώς και για την αναστολή τους έναντι των ενζύμων τυροσινάσης, ελαστάσης και κολλαγενάσης. Το εκχύλισμα μεσαίας πολικότητας ψευδοβολβών και ριζών παρουσίασε σημαντική αντιοξειδωτική δράση καθώς επίσης και αναστολή της δραστηριότητας των ενζύμων τυροσινάση, κολλαγενάση και ελαστάση.

Στη συνέχεια τα ολικά εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα (EtOAc) των ριζών και των ψευδοβολβών αναλύθηκαν με Υγρή Χρωματογραφία συζευγμένη με Φασματομετρία Μάζας (LC-MS) που οδήγησε στην ταυτοποίηση **48** συνολικά δευτερογενών μεταβολιτών. Έπειτα υποβλήθηκαν σε χρωματογραφικό διαχωρισμό που οδήγησε στην απομόνωση των **16** από αυτούς, εκ των οποίων τέσσερα φαινανθρένια, τρεις ανθρακινόνες, τρία στυλβένια, δύο παράγωγα φαινολικού οξέος, δύο στερόλες, ένα παράγωγο αφυδροδικονιφερυλικής αλκοόλης και μία απλή φαινολική ένωση. Από τα παραπάνω η φαινανθοκινόνη **cymbisamoquinone**, αποτελεί νέο φυσικό προϊόν. Οι μεταβολίτες dihydroresveratrol, 9,9'-diacetyl-dihydrodiconiferyl alcohol, dodecyl ferulate, dodecyl coumarate και (24R)-6β-hydroxy-24-ethyl-colest-4-en-3-on δεν έχουν ξανααναφερθεί στην οικογένεια Orchidaceae.

Οι απομονωμένες ενώσεις αξιολογήθηκαν για την ανασταλτική τους δράση στα ένζυμα που αναφέρθηκαν. Τα παράγωγα διβενζυλίου (gigantol, tristin), παρουσίασαν δράση κατά της τυροσινάσης, ενώ τα φαινανθρένια και οι ανθρακινόνες (5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone, ephemeroanthoquinone) παρουσίασαν δράση κατά της κολλαγενάσης. Κανένα από τα παραπάνω δεν εμφάνισε σημαντική δράση στην ελαστάση.

Συνοπτικά ενώ οι απομονωμένοι μεταβολίτες από τις ρίζες και τους ψευδοβολβούς, δρουν επιλεκτικά στα ένζυμα, ο συνδυασμός τους (ολικά εκχυλίσματα) δείχνει δραστηριότητα και στα 3 ένζυμα, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το συνολικό εκχύλισμα είναι προτιμότερο να χρησιμοποιηθεί για δερμοκαλλυντική χρήση αντί για τις απομονωμένες ενώσεις.

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε φυτοχημική ανάλυση των ανθέων της ορχιδέας *Cymbidium* sp. και αξιολόγηση της βιολογικής τους δραστηριότητας με τα ένζυμα που χρησιμοποιήθηκαν και για τους ψευδοβολβούς / ρίζες. Χρησιμοποιήσαμε την τεχνική διαχωρισμού με CPC (descending mode) για το ολικό εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα ανθέων και στην συνέχεια προχωρήσαμε στην απομόνωση των ουσιών με Flash Column Chromatography. Συνολικά απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν **11** μεταβολίτες, οι οποίοι ανήκουν κυρίως στα τριτερπένια στα φαινολικά οξέα και στα κορεσμένα λιπαρά οξέα.

Κεφάλαιο 5: Φυτοχημική Ανάλυση και Βιολογική Αξιολόγηση των Υποπροϊόντων καλλιέργειας της Ορχιδέας *Cymbidium* sp. από την νήσο Σάμο.

Τέλος στο ολικό εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα των φύλλων *Cymbidium*, με GC-MS πραγματοποιήθηκε η ταυτοποίηση **6** υδρογονανθράκων (squalane, hexadecane, heneicosane, octacosane, tetracosane και eicosane).

5.11. Βιβλιογραφικές Αναφορές

- Ahn, E.-K.;** Jeon, H.-J.; Lim, E.-J.; Jung, H.-J.; & Park, E.-H. Anti-inflammatory and anti-angiogenic activities of *Gastrodia elata* Blume. *J. Ethnopharmacol.*, 2007, 110(3), 476–82.
- Angelis, A.;** Mavros, P.; Nikolaou, P.E.; Mitakou, S.; Halabalaki, M.; Skaltsounis, L. Phytochemical analysis of olive flowers' hydroalcoholic extract and in vitro evaluation of tyrosinase, elastase, and collagenase inhibition activity. *Fitoterapia*, 2020, 143.
- Anuradha, V.;** Prakasa Rao, N. S; Aeridin: a phenanthropyran from *Aerides crispum*. *Phytochemistry*, 1998, 48, 185-186.
- Axiotis, E.;** Petrakis, E.A; Halabalaki, M.; Mitakou, S. Phytochemical Profile and Biological Activity of Endemic *Sideritis sipylea* Boiss. in North Aegean Islands. *Molecules*, 2020, 25, 9:2022.
- Bai, L.;** Yamaki, M.; Takagi, S. Lignans and bichroman from *Pleione bulbocodioides*. *Phytochemistry*, 1997, 44, 341-343.
- Baller, A.;** Corrodi, H.; Gaumann, E.; Hardegger, E.; Kern, H.; Winterhalter-Wild, N. Induced defensive substances in the Orchidaceae. *Helv. Chim. Acta*, 1957, 40, 1062-1066.
- Behr, D.;** Leander, K. Three steroid glucosides of the stigmastane type from *Dendrobium ochreatum*. *Phytochemistry*, 1976, 15, 1403-1406.
- Bernard, P.;** Berthon, JY. Resveratrol: an original mechanism on tyrosinase inhibition. *Int. J. Cosmetic Sci.*, 2000, 22, 219-226.
- Berthod, A.;** Ruiz-Angel. M.J.; Carda-Broch, S. Elution-extrusion countercurrent chromatography. Use of the liquid nature of the stationary phase to extend the hydrophobicity window. *Anal. Chem.*, 2003, 75, 5886–5894.
- Bi, Z.-M.;** Wang, Z.-T.; Xu, L.-S.; Xu, G.-J. Study on phenolic constituents of *Pholidota yunnanensis*. *J. Chin. Pharm. Sci.*, 2005, 40(4), 255-258.
- Bruneton, J.** Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales. Editions EC&DOC, edition 2009.
- Čáková, V.** Contribution à l'étude phytochimique d'orchidées tropicales : identification des constituants d'*Aerides rosea* et d'*Acampe rigida* : techniques analytiques et préparatives appliquées à *Vanda coerulea* et *Vanda teres*. Biologie végétale. Université de Strasbourg, 2013. Français. fñNNT : 2013STRAF035 (PhD Thesis).
- Cai, Y.;** Hao, Y.; Xu, H.; Chen, K.; Ren, B. Gigantol inhibits cell proliferation and induces apoptosis by regulating DEK in non-small cell lung cancer. *Exp. Ther. Med.*, 2021, 22, 1317.
- Chen, C.-C.;** Ho, C.-K. Moscatilin from the orchid *Dendrobium loddigesii* is a potential anticancer agent. *Cancer Inv.* 2003, 21(5), 729-36.
- Chen, H.;** Huang, Y.; Huang, D.; Wu, Z.; Li, Y.; Zhou, C.; Wei, G. Protective effect of gigantol against hydrogen peroxide-induced apoptosis in rat bone marrow mesenchymal stem cells through the PI3K/Akt pathway. *Mol. Med. Rep.*, 2018, 17, 3267-3273.
- Chen, Y.;** Liu, Y.; Jiang, J.; Zhang, Y.; & Yin, B. Dendronone, a new phenanthrenequinone from *Dendrobium cariniferum*. *Food Chem.*, 2008, 111(1), 11–12.
- Chen, X.-J.;** Mei, W.-L.; Cai, C.-H.; Dai, H.-F. Four new bibenzyl derivatives from *Dendrobium sinense*. *Phytochem. Lett.*, 2014, 9, 107-112.
- Chen, W.;** Lu, J.; Zhang, J.; Wu, J.; Yu, L.; Qin, L.; Zhu, B. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and quality control of *Dendrobium officinale* Kimura et . Migo. *Front. Pharmacol.*, 2021, 6, 12: 726528.
- Dressler, R. L.** The orchids: Natural history and classification. Harvard University Press, 1990.

- Dumontet, V.;** Lozach, O.; Meijer, L.; Guéritte, F.; & Litaudon, M. Phenanthrene derivatives from *Appendicula reflexa* as new CDK1/cyclin B inhibitors. *Phytochem. Lett.*, 2012, 5.
- Elshaer, M.;** Chen, Y.; Wang, X.J.; Tang, X. Resveratrol, An overview of its anti-cancer mechanisms. *Life Sci.*, 2018, 15, 340-349.
- Fan, C.;** Wang, W.; Wang, Y.; Qin, G.; Zhao, W. Chemical constituents from *Dendrobium densiflorum*. *Phytochemistry*, 2001, 57, 1255-1258.
- Ferrer, A.;** Altabella, T.; Arró, M.; Boronat, A. Emerging roles for conjugated sterols in plants. *Progr. Lipid Res.*, 2017, 67, 27–37.
- Fidrianny, I.;** Anggraeni, NAS.; Insanu, M.; Antioxidant properties of peels extracts from three varieties of banana (*Musa* sp.) grown in West Java-Indonesia. *Int. Food Res. J.*, 2018, 25, 57-64.
- Fisch, M. H.;** Flick, B. H.; Arditti J. Structure and antifungal activity of hircinol, loroglossol and orchinol. *Phytochemistry*, 1973, 12, 437-441.
- Flach, A.;** Dondon, R. C.; Singer, R. B.; Koehler, S.; Amaral, M.C.; Marsaioli, A. J. The chemistry of pollination in selected Brazilian *Maxillariinae* orchids: floral rewards and fragrance. *J. Chem. Ecol.*, 2004, 30, 1045-1056.
- Gambini, J.;** Inglés, M.; Olasso, G.; Lopez-Grueso, R.; Bonet-Costa, V.; Gimeno-Mallench, L.; Mas-Bargues, C.; Abdelaziz, K.M.; Gomez, Carbera, M.C.; Vina, J.; Borras, C. Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo studies about metabolism, bioavailability, and biological effects in animal models and humans. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2015, 837042.
- Gong, Y.;** Fan, Y.; Liu, L.; Wu, D.; Chang, Z.; Wang, Z. Erianin induces a JNK/SAPK-dependent metabolic inhibition in human umbilical vein endothelial cells. *In Vivo*, 2004, 18(2), 223-8.
- Guo, X.-Y.;** Wang, J.; Wang, N.-L.; Kitanaka, S.; Liu, H.-W.; & Yao, X.-S. New stilbenoids from *Pholidota yunnanensis* and their inhibitory effects on nitric oxide production. *Chem. Pharm. Bull.*, 2006, 54(1), 21–5.
- Guo, X.-Y.;** Wang, N.-L.; Kitanaka, S.; & Yao, X.-S. 9, 10-Dihydrophenanthrene derivatives from *Pholidota yunnanensis* and scavenging activity on DPPH free radical. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 2007, 9(2), 165–174.
- Gutiérrez, R.M.P.** Orchids: A review of uses in traditional medicine, its phytochemistry and pharmacology. *J. Med. Plants Res.*, 2010, 4, 592–638.
- He, C.;** Wang, C.-L.; Guo, S.-X.; Yang, J.-S. A novel flavonoid glucoside from *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. *J.Integr. Plant. Biol.*, 2006, 48(3), 359-363.
- Hernández-Romero, Y.;** Acevedo, L.; de Los Ángeles Sánchez, M.; Shier, W. T.; Abbas, H. K.; & Mata, R. Phytotoxic Activity of Bibenzyl Derivatives from the Orchid *Epidendrum rigidum*. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53(16), 6276–6280.
- Hossain, M. M.** Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances – An overview. *Fitoterapia*, 2011, 82, 102-140.
- Ikeda, Y.;** Nonaka, H.; Furumai, T.; Igarashi, Y. Cremastrine, a pyrrolizidine alkaloid from *Cremastra appendiculata*. *J.Nat. Prod.*, 2005, 68(4), 572-3.
- Ito, Y.;** Bowman, R.L. Countercurrent Chromatography: Liquid-Liquid Partition Chromatography without Solid Support. *Science*, 1970, 167, 281.
- Ito, Y.;** Toroidal Coil Planet Centrifuge, 1977, US Patent No. 4228009.
- Ito, Y.** in: Mandava, M. B; Ito, Y. (Eds.), Countercurrent Chromatography: Theory and Practice, Marcel Dekker, New York, 1988, 79–442.

- Johnson, M.K.;** Alexander, K.E.; Lindquist, N.; Loo, G. A phenolic antioxidant from the freshwater orchid, *Hebenaria repens*. *Comp. bioche. physiol., Part C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, 1999, 122(2), 211-4.
- Kalaivasan, A.;** Kumar P.; John SA. Antimicrobial activity of *Bulbophyllum kaitense* Rechib Stem of eastern peninsular flora in India. *Nature and Science*, 2012, 10(2), 41-44.
- Kametani, T.;** Furuyama, H. Synthesis of vitamin D3 and related compounds. *Med. Res. Rev.*, 1987, 7 (2), 147–71.
- Kanlayavattanakul, M.;** Lourith, N.; Chaikul, P. Biological activity and phytochemical profiles of *Dendrobium*: A new source for specialty cosmetic materials. *Ind. Crops Prod.*, 2018, 120, 61-70.
- Kang, Y.-F.;** Liu, C.-M.; Kao, C.-L.; Chen, C.-Y. Antioxidant and anticancer constituents from the leaves of *Liriodendron tulipifera*. *Molecules*, 2014, 19, 4234-4245.
- Kim, S. B.;** Bisson, J.; Friesen, J. B.; Pauli, G. F.; Simmler, C. Selective Chlorophyll Removal Method to “Degreen” Botanical Extracts. *J.Nat.Prod.*, 2020.
- Kuehnle, A.R.;** Lewis, D.H.; Markham, K.R.; Mitchell, K.A.; Davies, K.M.; Jordan, B.R. Floral flavonoids and pH in *Dendrobium* orchid species and hybrids. *Euphytica*, 1997, 95, 187-194.
- Lecoufle, M.** Le traité des Orchidées. Artemis Editions, 2004.
- Lertnitikul, N.;** Pattamadilok, C.; Chansrinoyom, C.; Suttisri, R. A new dihydrophenanthrene from *Cymbidium finlaysonianum* and structure revision of Cymbinodin-A. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 2018, 1-8.
- Li, Y.;** Gong, Q.; Wu, Q.; Shi, J. Inhibitory effects of *Dendrobium* alkaloids on memory impairment induced by lipopolysaccharide in rats. *Planta med.*, 2010, 77, 117-121.
- Li, X.;** Wang, X.; Chen, D.; Chen, S. Antioxidant Activity and Mechanism of Protocatechuic Acid in vitro. *Funct. Foods Health Dis.*, 2017, 1(7), 232.
- Lin, Y.-L.;** Wang, W.-Y.; Kuo, Y.-H.; Liu, Y.-H. Homocyclotirucallane and two dihydrophenanthrenes from *Spiranthes sinensis*. *Chem. Pharm. Bull.*, 2001, 49(9), 1098-1101.
- Liu, J.;** Yu, Z.-B.; Ye, Y.-H.; Zhou, Ya-W. Chemical constituents from the tuber of *Cremastra appendiculata*. *Yao Xue Xue Bao*, 2008, 43(2), 181-4.
- Liu, X.-Q.;** Guo, Y.-Q.; Gao, W.-Y.; Zhang, T.-J.; & Yan, L.-L. Two new phenanthrofurans from *Pleione bulbocodioides*. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 2008, 10(5), 453–457.
- Liu, X.-Q.,** Yuan, Q.-Y., & Guo, Y.-Q. Two new stilbenoids from *Pleione bulbocodioides*. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 2009, 11(2), 116–21.
- Lo, S. F.;** Mulabagal, V.; Chen, C. L.; Kuo, C. L.; & Tsay, H. S. Bioguided fractionation and isolation of free radical scavenging components from in vitro propagated Chinese medicinal plants *Dendrobium tosaense* Makino and *Dendrobium moniliforme* SW. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, 52(23), 6916–6919.
- Majumder, P. L.;** & Kar, A. Confusarin and confusarinidin two phenanthrene derivatives of the orchid *Eria confusa*. *Phytochemistry*, 1987, 26(4), 1127–1129.
- Majumder, P. L.;** & Maiti, D. C. Flaccidin, a 9,10- dihydrophenanthropyran derivative from the orchid *Coelogyne flaccida*. *Phytochemistry*, 1988, 27(3), 899–901.
- Majumder, P. L.,** & Kar, A. Erianol, a 4 α - methylsterol from the orchid *Eria convallarioides*. *Phytochemistry*, 1989, 28(5), 1487–1490.
- Majumder, P.L.;** Basak, M. Cirrhoptalin, a phenanthrenes derivative from *Cirrhoptalum andersonii*. *Phytochemistry*, 1991, 29, 1002-1004.
- Majumder, P. L.;** & Pal (née Ray), S. Cumulatin and tristin, two bibenzyl derivatives from the orchids *Dendrobium cumulatum* and *Bulbophyllum triste*. *Phytochemistry*, 1993, 32(6), 1561–1565.
- Majumder, P.L.;** Banerjee, S.; Sen, S. Three stilbenoids from the orchid *Agrostophyllum callosum*. *Phytochemistry*, 1996a, 42, 847-852.

- Majumder, P.L.;** Lahiri, S.; Mukhoti, N. Four stilbenoids from the orchid *Agrostophyllum khasiyanum*. *Phytochemistry*, 1996b, 42(4), 1157–1161.
- Majumder, P.L.;** Roychowdhury, M.; Chakraborty, S. Thunalbene, a stilbene derivative from the orchid *Thunia alba*. *Phytochemistry*, 1998, 49(8), 2375–2378.
- Majumder, P. L.;** Sen, S.; & Majumder, S. Phenanthrene derivatives from the orchid *Coelogyne cristata*. *Phytochemistry*, 2001, 58(4), 581–6.
- McKenzie Black, P.** Orchid growing, 15–46, 1982.
- Micera, M.;** Botto, A.; Geddo, F.; Antoniotti, S.; Susanna, B.; Cinzia, M.; Levi, R.; Gallo, MP.; Querio, G. Squalene: More than a step toward sterols. *Antioxidants*, 2020, 9(8), 688.
- Minh, TN.;** Khang, do T.; Tuyen, P.T.; Minh, L.T.; Anh, L.H.; Quan, N.V.; Ha, P.T.; Quan, N.T.; Toan, N.P.; Elzaawely, A.A.; Xuan, T.D. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Phalaenopsis* Orchid Hybrids. *Antioxidants*, 2016, 5(3), 31.
- Motomizu, S.;** Oshima, M; & Ikegami, T. Sensitivity enhancement in the spectrophotometric determination of silicate by a flotation-exchange extraction method using an ion associate. *Analyst*, 1990, 115, 1627.
- Murayama, W.;** Kobayashi, T.; Kosuge, Y.; Yano, H.; Nunogaki, Y.; Nunogaki, K. A new centrifugal counter-current chromatograph and its application. *J. Chromatogr.*, 1982, 239, 643–649.
- Musharof Hossain, M.** Therapeutic orchids: Traditional uses and recent advances - An overview, *Fitoterapia*, 2011, 82, 102–140.
- Ng, C.K.;** Hew, C.S. Orchid pseudobulbs – 'false' bulbs with a genuine importance in orchid growth and survival. *Scientia Horticulturae*, 2000, 83, 3–4, 165–172.
- Ng, T. B.;** Liu, J.; Wong, J. H.; Ye, X., Wing Sze, S. C., Tong, Y.; Zhang, K. Y. Review of research on *Dendrobium*, a prized folk medicine. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, 93(5), 1795–1803.
- Nonthalert, L.;** Pattamadilok, C.; Chansriniyom, C. and Suttisri, R. A new dihydrophenanthrene from *Cymbidium finlaysonianum* and structure revision of Cymbinodin-A. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 2020, 22, 83–90.
- Palama, T. L.;** Fock, I.; Choi, Y. H.; Verpoorte, R.; & Kodja, H. Biological variation of *Vanilla planifolia* leaf metabolome. *Phytochemistry*, 2010, 71(5), 567–573.
- Pant, B.** Medicinal orchids and their uses: Tissue culture a potential alternative for conservation. *Afr. J. Plant Sci.*, 2013, 7, 448–467.
- Pen, J-Y.;** Han, X.; Xu, L-N.; Qi, Y.; Xu, Y-W.; Xu, Q-W. Two new prenylated coumarins from *Spiranthes sinensis* (Pers.) Ames. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 2008, 10, 256–259.
- Qin, X-Y.;** Cui, J.; Zhang Y. *Coeloglossum viride* var. *bracteatum* extract protects against amyloid toxicity in rat prefrontal cortex neurons. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 2010, 20, 88–94.
- Rao, A.N.** Medicinal orchid wealth of Arunachal Pradesh. Newsletter of *Envis Node on Indian Medicinal Plants*, 2004, 1(2), 1–5.
- Rong, N.;** Ausman, L.M.; Nicolosi, R.J. Oryzanol decreases cholesterol absorption and aortic fatty streaks in hamsters. *Lipids*, 1997, 32, 303–309.
- Rosenthal, M.L.** (2002). *Squalene: the natural moisturizer*. In Schlossman, Mitchell L. (ed.). *Chemistry and Manufacture of Cosmetics*. 3 (Bk.2), 869–875.
- Saito, N.;** Kenjiro, T.; Uesato, K.; Shingihara, A.; Honda, T. An acetylated cyanidin glycoside from the red-purple flowers of *Dendrobium*. *Phytochemistry*, 1994, 37, 245–248.
- Saito, N.;** Ku, M.; Tatsuzawa, F.; Lu, T.S.; Yokoi, M.; Shigihara, A.; Honda, T. Acylated cyanidin glycosides in the purple-red flowers of *Bletilla striata*. *Phytochemistry*, 1995, 40, 1523–1529.

- Sánchez-Duffhues, G.;** Calzado, M. A.; de Vinuesa, A. G.; Caballero, F. J.; Ech-Chahad, A.; Appendino, G.; Muñoz, E. (2008). Denbinobin, a naturally occurring 1,4-phenanthrenequinone, inhibits HIV-1 replication through an *NF-κB*-dependent pathway. *Biochem. Pharmacol.*, 2008, 76(10), 1240–1250.
- Simmler, C.;** Antheaume, C.; Lobstein, A. Antioxidant biomarkers from *Vanda coerulea* stems reduce irradiated HaCaT PGE-2 production as a result of COX-2 inhibition. *Plos One*, 2010, 5(10), e13713.
- Sundararaman, P.;** Djerassi, C. A convenient synthesis of progesterone from stigmasterol. *J.Org. Chem.*, 1977, 42 (22), 3633–4.
- Sut, S.;** Maggi, F.; Dall'Acqua, S. Bioactive Secondary Metabolites from Orchids (Orchidaceae). *Chem. Biodivers.*, 2017, 14.
- Tanimura, T.;** Pisano, J.J; Ito, Y; Bowman, R.L. Droplet countercurrent chromatography. *Science*, 1970, 169, 54.
- Tatsuzawa, F.;** Saito, N.; Yokoi, M.; Shigihara, A.; Honda, T. An acylated cyanidin glycoside in the red-purple flowers of × *Laeliocattleya* cv Mini Purple. *Phytochemistry*, 1994, 37, 1179-1183.
- Tatsuzawa, F.;** Saito, N.; Yokoi, M.; Shigihara, A.; Honda, T. Acylated cyanidin 3,7,3'-triglucosides in flowers of × *Laeliocattleya* cv Mini Purple and its relatives. *Phytochemistry*, 1995, 41, 635-642.
- Tatsuzawa, F.;** Saito, N.; Seki, H.; Hara, R.; Yokoi, M.; Honda, T. Acylated cyanidin glycosides in the red-purple flowers of *Phalaenopsis*. *Phytochemistry*, 1997, 45, 173-177.
- The Plant List.** <http://www.theplantlist.org/>, 2020.
- Tsai, A.-C.;** Pan, S.-L.; Liao, C.-H.; Guh, J.-H.; Wang, S.- W.; Sun, H.-L.; Teng, C.-M. Moscatilin, a bibenzyl derivative from the India orchid *Dendrobium loddigesii*, suppresses tumour angiogenesis and growth in vitro and in vivo. *Cancer Lett.*, 2010, 292(2), 163–170.
- Valencia-Islas, N.** Phytotoxicity and ultrastructural effects of gymnopusin from the orchid *Maxillaria densa* on duckweed (*Lemna paucicostata*) frond and root tissues. *Phytochemistry*, 2002, 61(2), 141–148.
- Venkateswarlu, S.Raju, M.;** Subbaraju, G.V. Synthesis and biological activity of isoamoenyline, a metabolite of *Dendrobium amoenum*. *Biosci. Biotechnol.*, 2002, 66 (10), 2236-2238.
- Vestergaard, M.;** Ingmer, H. Antibacterial and antifungal properties of resveratrol. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2019, 53, 716-723.
- Wan, A. S. C.;** Aixel, R. T.; & Nicholas, H. J. Non saponifiable constituents of orchids: *Arundina* and *Cattleya*. *Phytochemistry*, 1971, 10(9), 2267–2269.
- Wang, Y.;** Guan, S.-H.; Meng, Y.-H.; Zhang, Y.-B.; Cheng, C.-R.; Shi, Y.-Y; Guo, D.-A. Phenanthrenes, 9,10- dihydrophenanthrenes, bibenzyls with their derivatives, and malate or tartrate benzyl ester glucosides from tubers of *Cremastra appendiculata*. *Phytochemistry*, 2013, 94, 268–276.
- Wang, J.;** Wang, L.; & Kitanaka, S. Stilbene and dihydrophenanthrene derivatives from *Pholidota chinensis* and their nitric oxide inhibitory and radical-scavenging activities. *J. Nat. Med.*, 2007, 61(4), 381–386.
- Whelan, J.;** Fritsche, K. Linoleic acid. *Adv. Nutr.*, 2013, 4(3), 311-2.
- Williams, C. A.** The leaf flavonoids of the Orchidaceae. *Phytochemistry*, 1979, 18, 803-813.
- Wilt, T.;** Ishani, A.; MacDonald, R.; Stark, G.; Mulrow, C.; Lau, J. "Beta-sitosterols for benign prostatic hyperplasia". *The Cochrane Database of Syst. Rev.*, 2011, (2), CD001043.
- Won, J.H.;** Kim, J.Y.; Yun, K.J.; Lee, J.H.; Back, N.I.; Chung, H.G.; Chung, S.A.; Jeong, T.S.; Choi, M.S.; Lee, K.T., Gigantol isolated from the whole plants of *Cymbidium goeringii* inhibits the LPS-induced iNOS and COX-2 expression via NF-κB inactivation in RAW 264.7 macrophages cells. *Planta Med.*, 2006, 72, 1181-1187.

- Wu, P.-L.;** Hsu, Y.-L.; Jao, C.-W. Indole Alkaloids from *Cephalanceropsis gracillis*. *J. Nat. Prod.*, 2006, 69(10), 1467-1470.
- Yamaki, M.;** Kato, T.; Bai, L.; Inoue, K.; Takagi, S. Methylated stilbenoids from *Bletilla striata*. *Phytochemistry*, 1991, 30, 2759-2760.
- Yamaki, M.;** Bai, L.; Kato, T.; Inoue, K.; Takagi, S.; Yamagata, Y.; & Tomita, K. I. Blespirol, a phenanthrene with a spirolactone ring from *Bletilla striata*. *Phytochemistry*, 1993, 33(6), 1497-1498.
- Yamaki, M.,** & Honda, C. The stilbenoids from *Dendrobium plicatile*. *Phytochemistry*, 1996, 43(1), 207-208.
- Yang, D.K.;** Kang, H.S. Anti-diabetic effect of cotreatment with quercetin and resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomol. Ther.*, 2018, 26(2), 130-138.
- Yang, L.;** Han, H.; Nakamura, N.; Hattori, M.; Wang, Z.; Xu, L. Bio-guided isolation of antioxidants from the stems of *Dendrobium auranticum* var. *denneanum*. *Phyt. res.*, 2007, 7, 696-698.
- Ye, Q-H.;** Zhao, W-M.; Qin, G-W. New fluorenone and phenanthrene derivatives from *Dendrobium chrysanthum*. *Nat. Prod. Res.*, 2003, 17, 201-205.
- Yoshikawa, K.;** Katsuta, S.; Mizumari, J.; Arihara, S. New Cycloartane Triterpenoids from *Passiflora edulis*. *J. Nat. Prod.*, 2000, 63,10, 1377-1380.
- Yoshikawa, K.;** Ito, T.; Iseki, K.; Baba, C.; Imagawa, H.; Yagi, Y.; Hashimoto, T. Phenanthrene Derivatives from *Cymbidium* Great Flower Marie Laurencin and Their Biological Activities. *J. Nat. Prod.*, 2012, 75(4), 605-609.
- Yue, Z.;** Zhu, C.; Lin, S.; Yang, Y.; Shi, J. Constituents of *Gymnadenia conopsea*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2010, 35, 2852-2861.
- Xue, Z.;** Li, S.; Wang, S.; Wang, Y.; Yang, Y.; Shi, J.; & He, L. Mono-, Bi-, and Triphenanthrenes from the Tubers of *Cremastra appendiculata*. *J. Nat. Prod.*, 2006, 69(6), 907-913.
- Zhan, H.-D.;** Zhou, H.-Y.; Sui, Y.-P.; Du, X.-L.; Wang, W.; Dai, L.; Jiang, T.-L. The rhizome of *Gastrodia elata* Blume – An ethnopharmacological review. *J. Ethnopharmacol.*, 2016, 189, 361-385.
- Zhang, G. N.;** Zhong, L. Y.; Bligh, S. W. A.; Guo, Y. L.; Zhang, C. F.; Zhang, M.; Xu, L. S. Bi-bicyclic and bi-tricyclic compounds from *Dendrobium thyrsiflorum*. *Phytochemistry*, 2005, 66(10), 1113-1120.
- Zhao, N.;** Yang, G.; Zhang, Y.; Chen, L.; & Chen, Y. A new 9,10-dihydrophenanthrene from *Dendrobium moniliforme*. *Nat. Prod. Res.*, 2016, 30(2), 174-17.

Γενικό Συμπέρασμα - Προοπτικές

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, στο **Κεφάλαιο 1** αρχικά πραγματοποιήθηκε μία εισαγωγική αναλυτική περιγραφή της φυσιογεωγραφίας των νήσων της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου, αναδείχθηκαν οι παράγοντες (γεωμορφολογία και κλίμα) που ευθύνονται για την πλούσια φυτική βιοποικιλότητα και το υψηλό ποσοστό ενδημισμού, καθώς και το ενδιαφέρον πεδίο έρευνας που παρουσιάζει η χλωρίδα κλειστών και «εύθραυστων» νησιωτικών οικοσυστημάτων.

Στο **Κεφάλαιο 2** καταγράφηκαν και αξιολογήθηκαν 109 αυτοφυή αρωματικά / φαρμακευτικά φυτά από 52 οικογένειες, μέσω τυποποιημένων ημιδομημένων συνεντεύξεων με εθνοφαρμακολογικούς δείκτες και κατηγοριοποιήθηκαν τα φυτικά είδη με βάση την θεραπευτική τους χρήση.

Στο **Κεφάλαιο 3**, δεδομένου ότι η αναζήτηση εθνοφαρμακολογικών αναφορών είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη και χρονοβόρα διαδικασία, αποδείχθηκε ότι η χρήση της Τεχνητής Νοημοσύνης με αλγορίθμους Μηχανικής Μάθησης μπορεί να ενισχύσει σημαντικά την αποτελεσματικότητα και την αποδοτικότητα της αναζήτησης. Ο αλγόριθμος που αναπτύχθηκε για πρώτη φορά βελτίωσε τόσο την αποδοτικότητα όσο και την αποτελεσματικότητα της αναζήτησης εγγράφων.

Στο **Κεφάλαιο 4** πραγματοποιήθηκε η φυτοχημική μελέτη και η βιολογική αξιολόγηση των εκχυλισμάτων και του αιθερίου ελαίου του ενδημικού σιδερίτη (*Sideritis sipylea* Boiss) από την νήσο Λέσβο. Ταυτοποιήθηκαν συνολικά 112 γνωστοί δευτερογενείς μεταβολίτες και αξιολογήθηκε η ανασταλτική δράση των υδατικών και υδατοαιθανολικών εκχυλισμάτων στα ένζυμα τυροσινάση και ελαστάση για πιθανή μελλοντική αξιοποίησή τους στην κοσμητολογία. Επίσης, διερευνήθηκε η πιθανή δράση του φυτού στο ΚΝΣ και σε νευροεκφυλιστικές νόσους και πραγματοποιήθηκε η μελέτη εκχυλισμάτων (HA, SFE και DCM) σε πρωτογενείς καλλιέργειες ντοπαμινεργικών νευρώνων, με ενθαρρυντικά πειραματικά αποτελέσματα.

Στη συνέχεια, στο πλαίσιο εφαρμογής της κυκλικής οικονομίας στην Περιφέρεια Βορείου Αιγαίου, μελετήθηκε η δυνατότητα αξιοποίησης των υποπροϊόντων καλλιέργειας ορχιδέας *Cymbidium* sp. από την νήσο Σάμο. Στο **Κεφάλαιο 5** η φυτοχημική μελέτη των εκχυλισμάτων ριζών και ψευδοβολβών οδήγησε στην ταυτοποίηση 48 μεταβολιτών κυρίως από τις κατηγορίες φαινολικών οξέων, στερολών, φαινανθρενίων και στιλβενίων, από τους οποίους απομονώθηκαν και μελετήθηκαν φασματοσκοπικά οι 16. Η φαινανθροκινόνη **cymbisamoquinone** αποτελεί νέο φυσικό προϊόν, ενώ οι μεταβολίτες dihydroresveratrol, 9,9'-diacetyl-dihydrodiconiferyl alcohol, dodecyl ferulate, dodecyl coumarate και (24R)-6β-hydroxy-24-ethyl-colest-4-en-3-on αναφέρονται για πρώτη φορά στην οικογένεια Orchidaceae. Η φυτοχημική ανάλυση των ανθέων της ορχιδέας με τεχνική διαχωρισμού CPC οδήγησε στην απομόνωση και ταυτοποίηση 11 μεταβολιτών (τριτερπένια, φαινολικά οξέα και κορεσμένα λιπαρά οξέα), ενώ από το ολικό εκχύλισμα των φύλλων ταυτοποιήθηκαν 6 μεταβολίτες. Εκχυλίσματα και απομονωμένες ουσίες από

τα υποπροϊόντα καλλιεργούμενης ορχιδέας *Cymbidium* sp. διερευνήθηκαν για τις πιθανές δερμοκαλλυντικές τους ιδιότητες (αντιοξειδωτική δράση καθώς και αναστολή έναντι των ενζύμων τυροσινάσης, ελαστάσης και κολλαγενάσης).

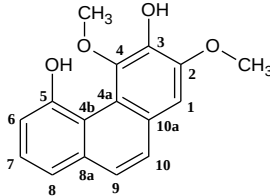
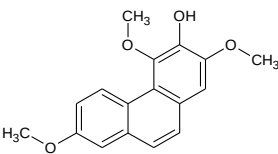
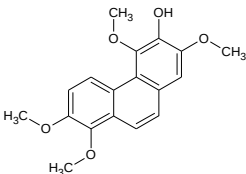
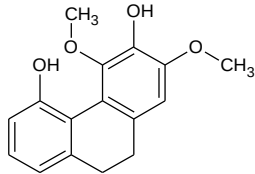
Στις μελλοντικές προοπτικές περιλαμβάνονται:

- Αξιολόγηση εθνοφαρμακολογικών αναφορών για άλλα φυτικά είδη από νησιά της Περιφέρειας Βορείου Αιγαίου και περαιτέρω φυτοχημική μελέτη και φαρμακολογική αξιολόγηση εκχυλισμάτων και καθαρών συστατικών σε άλλους φαρμακολογικούς στόχους (αντικαρκινική δράση, αντιϊική δράση, μελέτη σε βιοχημικά μονοπάτια της ανθρώπινης ανοσίας).
- Ανάπτυξη εξορθολογισμένου συστήματος λογισμικού ανοικτού κώδικα, με στόχο την χρήση της τεχνητής νοημοσύνης και της μηχανικής μάθησης στην εθνοφαρμακολογία.
- *In silico* αξιολόγηση απομονωμένων μεταβολιτών με την βοήθεια της τεχνητής νοημοσύνης.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Φασματοσκοπικά δεδομένα μεταβολιτών από ψευδοβόλβους και ρίζες *Cymbidium* sp.

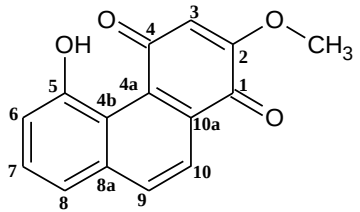
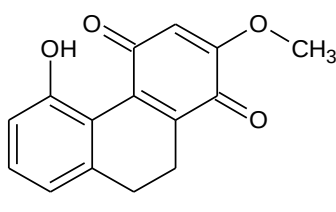
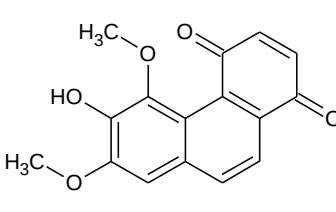
Πίνακας 5.11.1. NMR δεδομένα των ενώσεων **1**, **2**, **3** και **4** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

	Bulbophylanthrin (1)		3-hydroxy-2,4,7-trimethoxy-phenanthrene (2)		3-hydroxy-2,4,7,8-tetramethoxy-phenanthrene (3)		Marylaurencinol (4)	
								
	¹ H (J in Hz)	¹³ C	¹ H (J in Hz)	¹³ C	¹ H (J in Hz)	¹³ C	¹ H (J in Hz)	¹³ C
1	7.17 s	106.0	7.08 s	104.2	7.03 s	104.7	6.71 s	107.8
2		146.9		146.1		146.7		145.6
3		138.9		138.7		138.9		136.6
4		140.8		143.5		144.0		141.9
4a		117.1		118.6		118.6		118.9
4b		117.7		123.0		124.8		117.3
5		154.3	9.33 d (9.3)	128.1	9.13 d (9.5)	117.8		153.0
6	7.22 dd (7.8/1.4)	115.7	7.25 m	116.6	7.28 d (9.5)	116.7	6.96 dd (7.8/1.2)	118.0
7	7.49 t (7.8)	127.1		156.9		148.7	7.16 t (7.8)	128.3
8	7.41 dd (7.8/1.4)	120.3	7.23 m	108.2		143.1	6.85 dd (7.8/1.2)	119.7
8a		134.6		132.9		127.6	2.72 m (2H)	140.4
9	7.58 d (8.8)	126.9	7.53 d (8.9)	125.1	7.93 d (9.3)	125.5	2.66 m (2H)	31.0
10	7.50 d (8.8)	126.1	7.58 d (8.9)	127.0	7.54 d (9.3)	126.8		30.6
10a		127.4		125.5		126.1		132.1
(2)-OCH ₃	4.08 s	56.2	4.05 s	55.9	4.00 s	56.1	3.95 s	56.2
(4)-OCH ₃	3.84 s	62.1	3.95 s	59.5	3.89 s	60.2	3.76 s	61.7
(6)-OCH ₃								
(7)-OCH ₃			3.95 s	55.1	3.97 s	55.9		
(8)-OCH ₃					3.94 s	61.4		

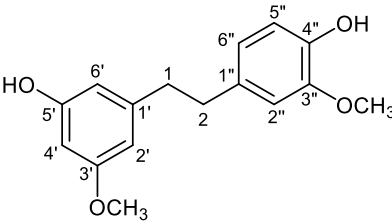
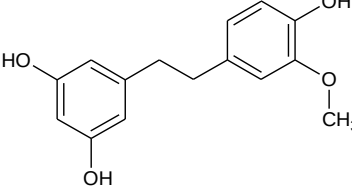
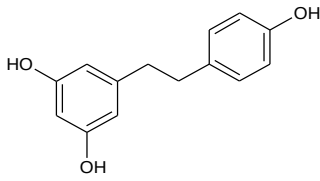
Παράρτημα

(3)-OH	5.95 s		5.97 s				5.52 s	
(5)-OH	10.27 s						8.55 s	

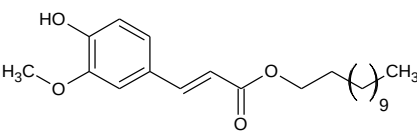
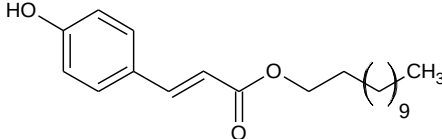
Πίνακας 5.11.2. NMR δεδομένα των ενώσεων **5**, **6** και **7** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

	5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone (5)		Ephemeranthoquinone B (6)		Cymbisamoquinone (7)	
						
	¹ H (J in Hz)	¹³ C	¹ H (J in Hz)	¹³ C	¹ H (J in Hz)	¹³ C
1	-	180.0	-	180.3	-	185.0
2	-	158.9	-	158.1	6.84 d (10.2)	135.2
3	6.29 s	111.4	6.04 s	107.9	7.07 d (10.2)	140.3
4	-	191.6	-	191.1	-	186.1
4a	-	129.9	-	138.5	-	131.7
4b	-	121.4	-	116.9	-	119.6
5	-	155.7	-	154.8	-	142.0
6	7.25 dd (7.8/1.4)	117.4	6.91 dd (7.6/1.2)	118.7	-	140.4
7	7.59 t (7.8)	130.9	7.22 t (7.6)	131.8	-	150.5
8	7.43 dd (7.8/1.4)	120.8	6.78 dd (7.6/1.2)	119.7	6.99 s	102.3
8a	-	138.9	-	140.0	-	131.8
9	8.16 d (8.7)	137.2	2.70 (2H) m	27.8	7.89 d (8.4)	132.2
10	8.19 d (8.7)	121.8	2.65 (2H) m	20.7	7.95 d (8.4)	120.2
10a	-	132.4	-	142.6	-	131.3
(2)-OCH ₃	3.98 s	56.4	3.90 s	55.9	-	-
(5)-OH	12.22 s	-	9.81 s	-	-	-
(6)-OH		-	-	-	6.21 brs	-
(5)-OCH ₃		-	-	-	3.93 s	60.2
(7)-OCH ₃		-	-	-	4.07 s	56.1

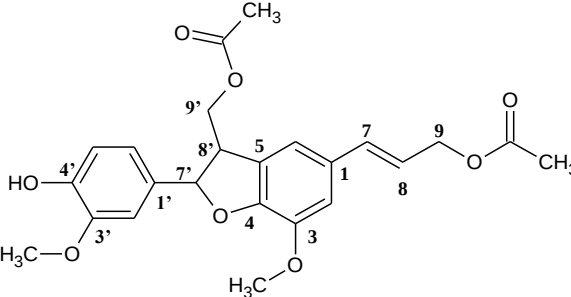
Πίνακας 5.11.3. NMR δεδομένα των ενώσεων **8**, **9** και **10** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

	Gigantol (8)		Tristin (9)		Dihydroresveratrol (10)	
						
	¹ H (J in Hz)	¹³ C	¹ H (J in Hz)	¹³ C	¹ H (J in Hz)	¹³ C
1	2.81 m	37.4	2.79 m	37.0	2.77 m	36.4
2	2.83 m	38.4	2.82 m	37.6	2.82 m	37.5
1'	-	144.7	-	144.9	-	144.8
2'	6.25 brds	108.2	6.22	108.1	6.23 d (2.2)	107.8
3'	-	161.0	-	156.5	-	155.2
4'	6.25 brds	99.2	6.19 t (2.2)	100.3	6.18 t (2.2)	100.2
5'	-	156.8	-	156.5	-	155.2
6'	6.32 t (1.7)	107.0	6.22 m	108.1	6.23 d (2.2)	107.8
1''	-	133.8	-	133.4	-	133.6
2''	6.62 d (2.0)	111.4	6.61 d (2.0)	111.2	7.03 d (8.5)	129.1
3''	-	146.5	-	146.4	6.74 d (8.5)	114.9
4''	-	143.9	-	143.8	-	154.1
5''	6.83 d (8.3)	114.4	6.82 d (7.9)	114.3	6.74 d (8.5)	114.9
6''	6.68 dd (8.3/2.0)	121.2	6.67 dd (7.9/2.0)	121.2	7.03 d (8.5)	129.1
(3')-OCH ₃	3.75 s	55.4	-	-		
(3'')-OCH ₃	3.84 s	56.0	3.84 s	55.6		
(3')-OH	-		4.75 brds			
(5')-OH	4.63 s		4.75 brds			
(4'')-OH	5.46 s		5.45 s			

Πίνακας 5.11.4. NMR δεδομένα των ενώσεων **11** και **12** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

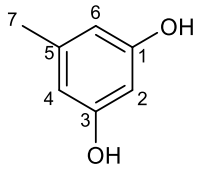
	Dodecyl ferulate (11)		Dodecyl cumarate (12)	
				
	¹ H (J in Hz)	¹³ C	¹ H (J in Hz)	¹³ C
1	-	127.2	-	127.7
2	7.04 d (1.9)	108.9	7.43 d (8.7)	129.9
3	-	146.7	6.83 d (8.7)	115.9
4	-	147.9	-	157.6
5	6.92 d (8.1)	114.2	6.83 d (8.7)	115.9
6	7.07 dd (8.1/1.9)	122.6	7.43 d (8.7)	129.9
7	7.61 d (15.8)	144.1	7.62 d (15.8)	144.3
8	6.29 d (15.8)	115.4	6.30 d (15.8)	116.1
9	-	167.6	-	167.5
1'	4.19 t (6.8) 2H	64.1	4.18 t (6.8) 2H	64.6
2'	1.69 m 2H	28.0	1.69 m 2H	28.3
3'	1.39 m 2H	25.6	1.39 m 2H	25.9
4'-11'	1.25-1.27 m	22.1-31.2	1.25-1.27 m	22.1-31.2
12'	0.88 t (6.9)	13.4	0.88 t (6.9)	14.1
-OCH ₃	3.93 s	55.3	-	

Πίνακας 5.11.5. NMR δεδομένα της ένωσης **13** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

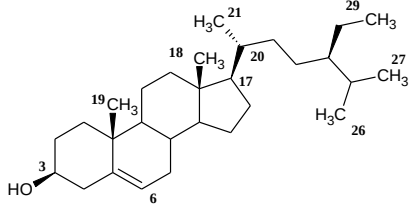
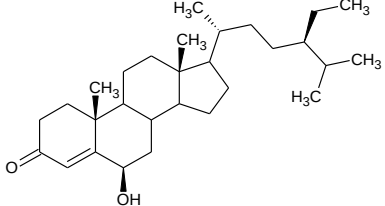
9,9'-diacetyl-dehydrodiconiferyl alcohol (13)		
		
	¹ H (J in Hz)	¹³ C
1	-	130.2
2	6.88 m	110.2
3	-	144.0
4	-	147.8
5	-	127.2
6	6.88 m	114.8
7	6.60 d (15.9)	133.9
8	6.15 dt (15.9/6.5)	120.7
9	4.71 d (6.5)	64.6
1'	-	131.8
2'	6.88 m	108.2
3'	-	146.2
4'	-	145.7
5'	6.88 m	113.8
6'	6.88 m	119.0
7'	5.47 d (7.3)	88.2
8'	3.77 m	49.8
9'	4.43 dd (11.0/5.6) 4.31 dd (11.0/7.3)	64.7
(3)-OCH ₃	3.90 s	55.4

(3')-OCH ₃	3.86 s	55.4
(9)-COCH ₃	2.02 s	170.2
(9')-COCH ₃	2.10 s	170.4
(4')-OH	5.61 s	

Πίνακας 5.11.6. NMR δεδομένα της ένωσης **14** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

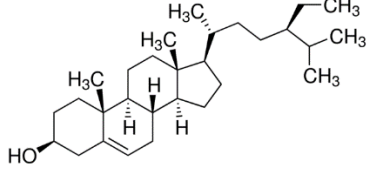
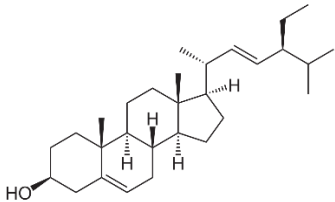
	Orcinol (14)	
		
	¹ H (<i>J</i> in Hz)	¹³ C
1	-	156.9
2	6.17 t (<i>J</i> = 2.3 Hz)	100.1
3	-	156.9
4	6.24 d (<i>J</i> = 2.2 Hz)	108.9
5	-	141.1
6	6.24 d (<i>J</i> = 2.2 Hz)	108.9
7	2.24 s (3H)	21.5

Πίνακας 5.11.7. NMR δεδομένα των ενώσεων-**15** and **16** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

	<i>β</i> -sitosterol (15)		(24R)-6β-hydroxy-24-ethyl-cholest-4-en-3-on (16)	
				
	¹ H (J in Hz)	¹³ C	¹ H (J in Hz)	¹³ C
1	1.89 (m, 1.15 m)	37.2	2.03 m 1.71 ddd (15.0/14.2/4.2)	37.25
2	1.85 m 1.56 m	31.6	2.52 ddd (17.1/15.0/5.0) 2.37 ddd (17.1/4.2/1.0)	34.2
3	3.53 (m)	71.8	-	200.3
4	2.28 (m)	42.3	5.82 s	126.6
5	-	140.7	-	168.4
6	5.35 (m)	121.7	4.34 brds	73.4
7	1.53 m	31.9	2.00 m / 1.24 m	38.6
8	1.93 m	31.9	1.95 m	30.1
9	0.98 m	50.1	0.90 m	53.6
10	-	36.5	-	37.9
11	1.51 m	21.1	1.49 m (2H)	21.0
12	2.03 m / 1.19 m	39.7	2.03 m / 1.15 m	39.7
13	-	42.3	-	42.4
14	1.00 m	56.7	1.01 m	55.9
15	1.61 m / 1.13 m	24.3	1.61 m / 1.13 m	24.5
16	1.86 m / 1.35 m	28.2	1.86 m / 1.30 m	28.3
17	1.10 m	56.0	1.12 m	56.2
18	0.68 s	11.8	0.74 s	11.6
19	1.00 s	19.4	1.38 s	19.6
20	1.37 m	36.1	1.35 m	36.3
21	0.92 (d, 6.5)	18.8	0.92 d (6.6)	18.7
22	1.35 m / 1.04 m	33.9	1.31 m / 1.01 m	34.1
23	1.20 m	26.0	1.16 m	26.3
24	1.97 m	45.8	0.93 m	45.9
25	1.70 m	29.1	1.66 m	29.4

26	0.84 (d, 6.5)	19.8	0.81 d (6.8)	19.6
27	0.81 (d, 6.5)	19.0	0.84 d (6.9)	19.1
28	1.27 m / 1.21 m	23.0	1.27 m / 1.21 m	23.2
29	0.85 (t, 7.5)	12.0	0.85 t (7.5)	11.9

Πίνακας 5.11.8. NMR δεδομένα των ενώσεων-**15** and **17** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

	<i>β</i> -sitosterol (15)		Stigmasterol (17)	
				
	¹ H (J in Hz)	¹³ C	¹ H (J in Hz)	¹³ C
1	1.85 <i>dd</i> (8.7, 5.4) 1.13 <i>dd</i> (5.1, 3.5)	36.8	1.85 <i>dd</i> (8.7, 5.4) 1.13 <i>dd</i> (5.1, 3.5)	36.8
2	1.83 <i>dd</i> (5.1, 3.5) 1.50	31.3	1.83 <i>dd</i> (5.1, 3.5) 1.50	31.3
3	3.57 <i>m</i>	71.2	3.57 <i>m</i>	71.2
4	2.32 <i>dd</i> (10.4, 1.9) 2.26 <i>dd</i> (11.1, 1.9)	41.9	2.32 <i>dd</i> (10.4, 1.9) 2.26 <i>dd</i> (11.1, 1.9)	41.9
5	-	-	-	-
6	5.59 <i>dd</i> (3.6, 1.8)	123.4	5.59 <i>dd</i> (3.6, 1.8)	123.4
7	-	31.4	-	31.4
8	-	32.4	-	32.4
9	1.45	49.3	1.45	49.3
10	-	36.8	-	36.8
11	1.51	20.8	1.51	20.8
12	1.98 <i>m</i>	39.0	1.98 <i>m</i>	39.0
13	-	-	-	-
14	-	56.0	-	56.0
15	1.31 1.14	25.7	1.31 1.14	25.7
16	1.64	28.7	1.64	28.7

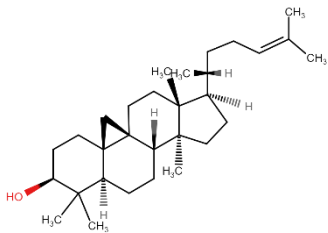
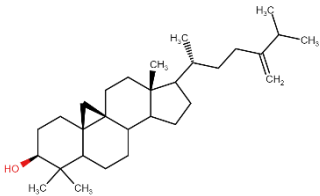
	1.30		1.30	
17	1.17	55.5	1.17	55.5
18	0.67 <i>s</i>	11.1	0.67 <i>s</i>	11.1
19	0.98 <i>s</i>	18.3	0.98 <i>s</i>	18.3
20	1.36 <i>m</i>	35.7	1.36 <i>m</i>	35.7
21	0.92 <i>d</i> (6.6)	18.8	1.01 <i>d</i> (6.7)	21.1
22	1.31 1.02	33.6	5.15 <i>dd</i> (15.9, 8.6)	138.1
23	1.65 1.24 <i>m</i>	29.2	5.01 <i>dd</i> (15.9, 8.6)	128.9
24	0.85 <i>m</i>	43.7	0.91 <i>d</i> (6.6)	45.5
25	-	38.9	-	38.9
26	0.83 <i>d</i> (6.8)	20.1	0.83 <i>d</i> (6.8)	20.1
27	0.80 <i>d</i> (6.4)	19.0	0.80 <i>d</i> (6.4)	19.0
28	1.24 br <i>s</i>	22.8	1.24 br <i>s</i>	22.8
29	0.82 <i>t</i> (7.0)	11.9	0.82 <i>t</i> (7.0)	11.9

Πίνακας 5.11.9. NMR δεδομένα της ένωσης **18** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

	Cycloeucalenol (18)	
	¹ H (J in Hz)	¹³ C
1	-	30.87
2	-	34.88
3	3.22 <i>m</i>	76.68
4	-	44.66
5	-	43.40
6	-	24.76
7	-	25.26
8	-	46.99
9	-	23.64
10	-	29.58
11	-	27.03
12	-	32.94
13	-	45.41
14	-	48.98
15	-	35.42
16	-	28.21
17	-	52.28
18	0.97 <i>s</i>	17.91
19α	0.14 <i>d</i> (3.6)	27.37
19β	0.38 <i>d</i> (3.6)	
20	-	36.21
21	0.89 <i>d</i> (6.6)	18.42
22	-	35.05
23	-	31.39
24	-	157.04
25	-	33.88

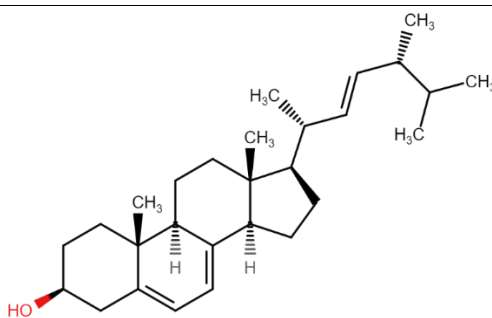
26	1.02 <i>d</i> (6.6)	22.09
27	1.03 <i>d</i> (6.6)	21.96
28	4.66 <i>brs</i> 4.71 <i>brs</i>	105.98
29	-	-
30	0.98 <i>d</i> (6.0)	14.50
31	-	-
32	0.88 <i>s</i>	19.22

Πίνακας 5.11.10. NMR δεδομένα των ενώσεων **19** και **20** σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

	Cycloartenol (19)		24-methylenecycloartanol (20)	
				
	¹ H (<i>J</i> in Hz)	¹³ C	¹ H (<i>J</i> in Hz)	¹³ C
1	1.25 β , 1.55 α	32.2	1.25 β , 1.55 α	32.2
2	1.57 β , 1.75 α	30.6	1.25 β , 1.55 α	30.6
3	3.29 <i>dd</i> (4.6/11.5)	79.1	3.29 <i>dd</i> (4.6/11.5)	79.1
4	-	40.7	-	40.7
5	1.29 <i>dd</i> (12.7/4.4)	47.3	1.29 <i>dd</i> (12.7/4.4)	47.3
6	0.79 β , 1.59 α	21.3	0.79 β , 1.59 α	21.3
7	1.08 α , 1.32 β	26.2	1.08 α , 1.32 β	26.2
8	1.51 <i>dd</i> (12.5/4.9)	48.2	1.51 <i>dd</i> (12.5/4.9)	48.2
9	-	20.2	-	20.2
10	-	26.3	-	26.3
11	1.11 β , 1.99 α	26.7	1.11 β , 1.99 α	26.7
12	1.62 $\alpha+\beta$	33.1	1.62 $\alpha+\beta$	33.1
13	-	45.5	-	45.5
14	-	49.0	-	49.0
15	1.28 $\alpha+\beta$	35.8	1.28 $\alpha+\beta$	35.8
16	1.28 β , 1.90 α	28.4	1.28 β , 1.90 α	28.4

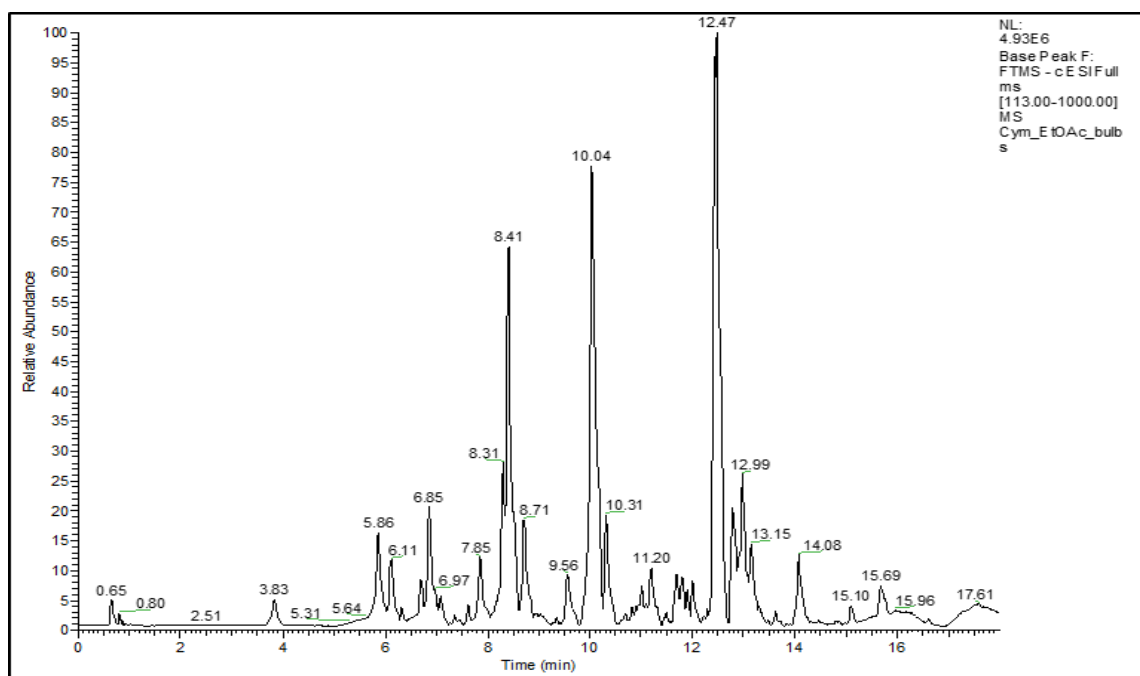
17	-	52.5	-	52.5
18	0.97 s	18.2	0.97 s	18.2
19a	0.33 <i>d</i> (exo 4.0)	30.1	0.33 <i>d</i> (exo 4.0)	30.1
19b	0.56 (endo 4.0)		0.56 (endo 4.0)	
20	1.38	36.3	1.38	36.3
21	0.90 <i>d</i> (6.2)	18.5	0.90 <i>d</i> (6.2)	18.5
22	1.05, 1.44	35.2	1.05, 1.44	35.2
23	1.86, 2.04	-	-	31.5
24	5.20m	-	-	157.1
25	-	-	-	34.0
26	1.68 <i>d</i> (1.0)	-	-	22.2
27	1.61 <i>d</i> s	-	-	22.1
28	-	-	0.90 s	25.6
29	-	-	0.97 s	14.2
30	0.97 s	25.46	0.81 s	19.6
31	0.81 s	14.02	-	106.1
32	0.89 s	19.33	-	

Πίνακας 5.11.11. NMR δεδομένα της ένωσης-25 σε CDCl₃ (600 MHz, δ ppm).

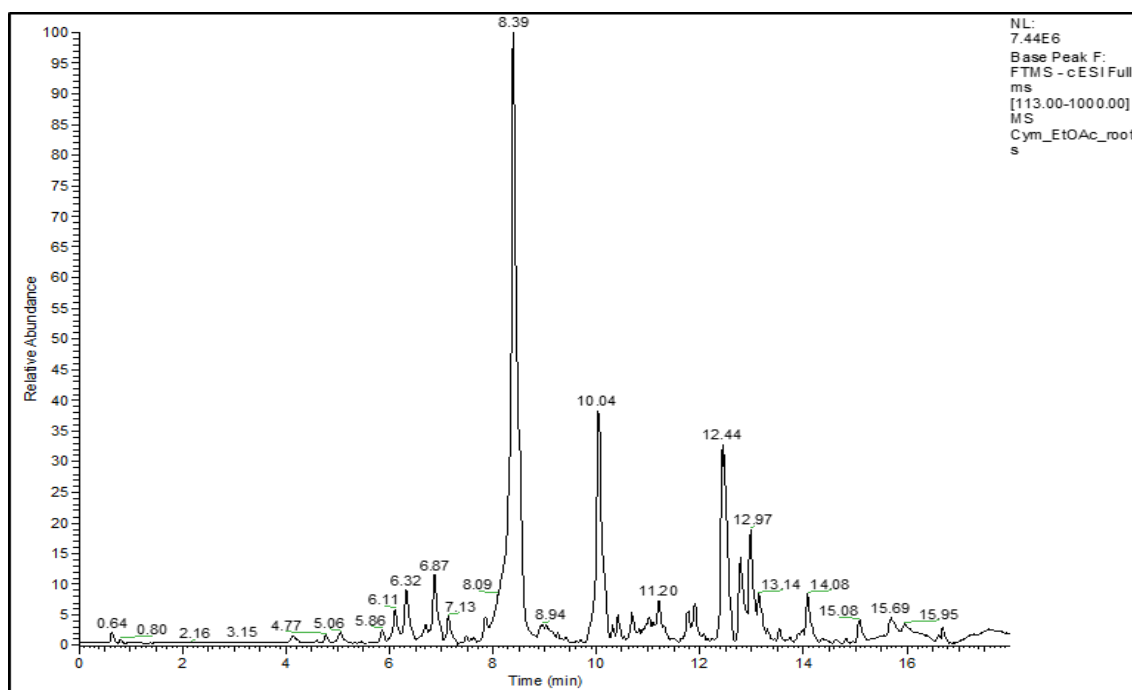
	Ergosterol (25)	
		
	¹ H (J in Hz)	¹³ C
1	-	38.3
2	-	31.9
3	3.64 <i>m</i>	70.4
4	2.30 <i>t</i> (8.5)	40.7
5	-	139.7
6	5.59 <i>dd</i> (5.7/2.6)	119.5
7	5.41 <i>dd</i> (5.7/2.5)	116.2
8	-	141.3
9	-	46.2
10	-	37.0
11	1.67-2.07 <i>m</i> (11H)	22.9
12	-	39.0
13	-	42.8
14	-	54.5
15	-	31.9
16	-	19.6
17	-	55.7
18	2.47 <i>m</i>	40.7
19	5.22 <i>m</i>	135.5
20	5.22 <i>m</i>	131.9
21		42.8
22	-	33.0
23	0.97 <i>s</i>	16.2
24	0.65 <i>s</i>	12.0
25	-	21.1

Παράρτημα

26	0.93 d (5.6)	17.6
27	0.84 d (6.7)	19.6
28	0.85 d (6.7)	19.9

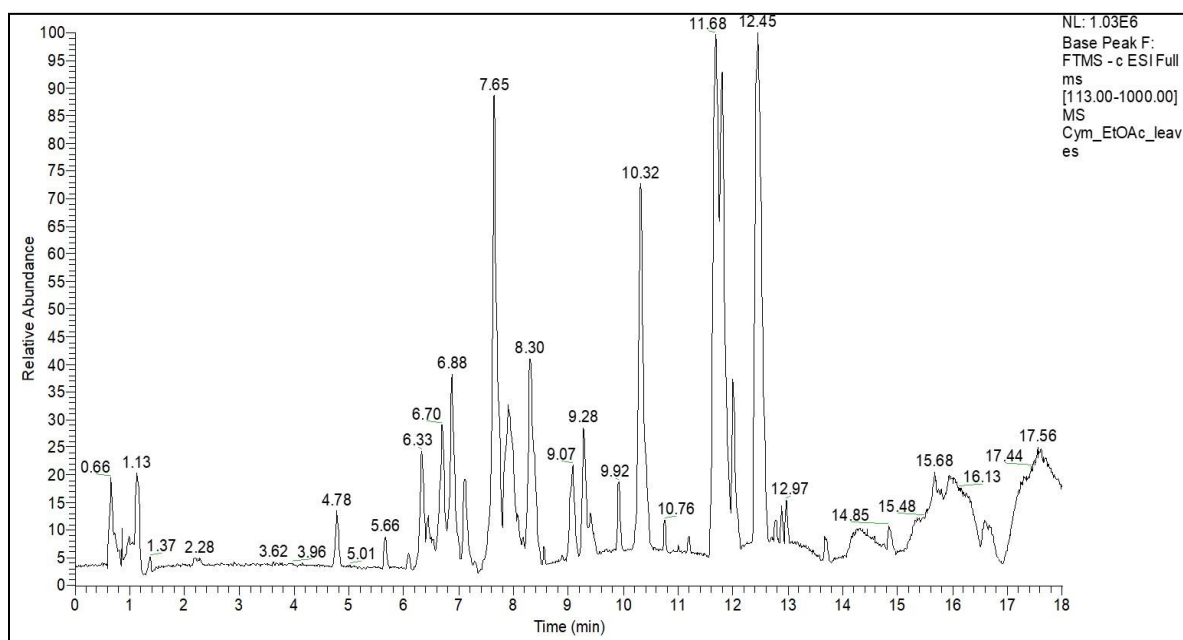


Εικόνα S1. TIC σε αρνητικό ιοντισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc ψευδοβολβών (Ps) της ορχιδέας *Cymbidium*

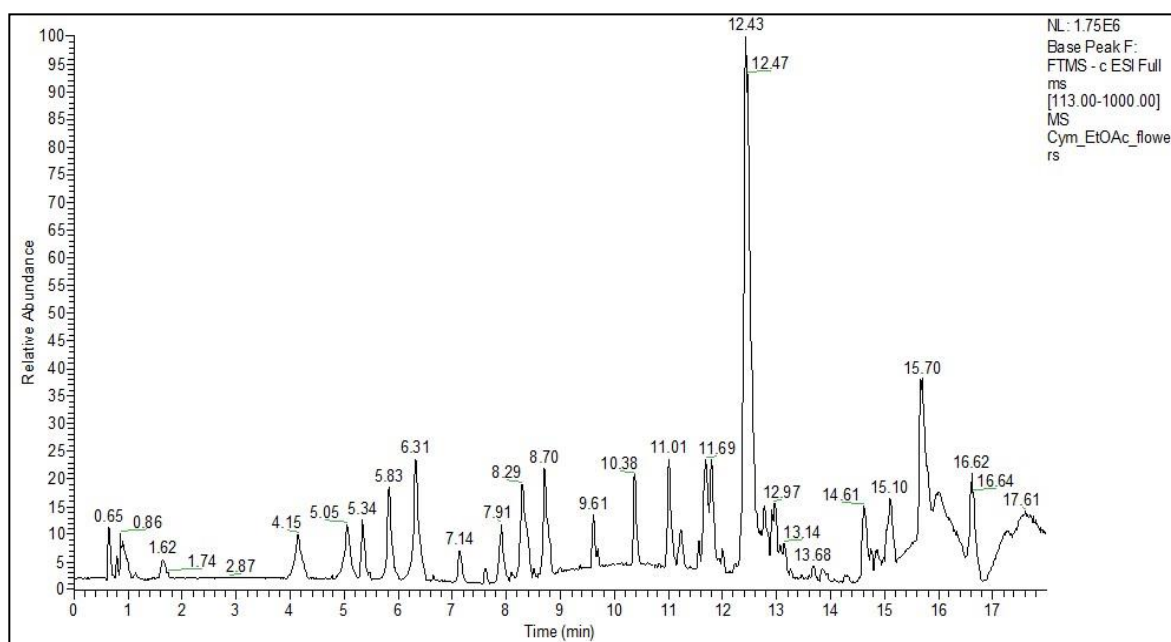


sp.

Εικόνα S2. TIC σε αρνητικό ιοντισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc ριζών (R) της ορχιδέας *Cymbidium* sp.



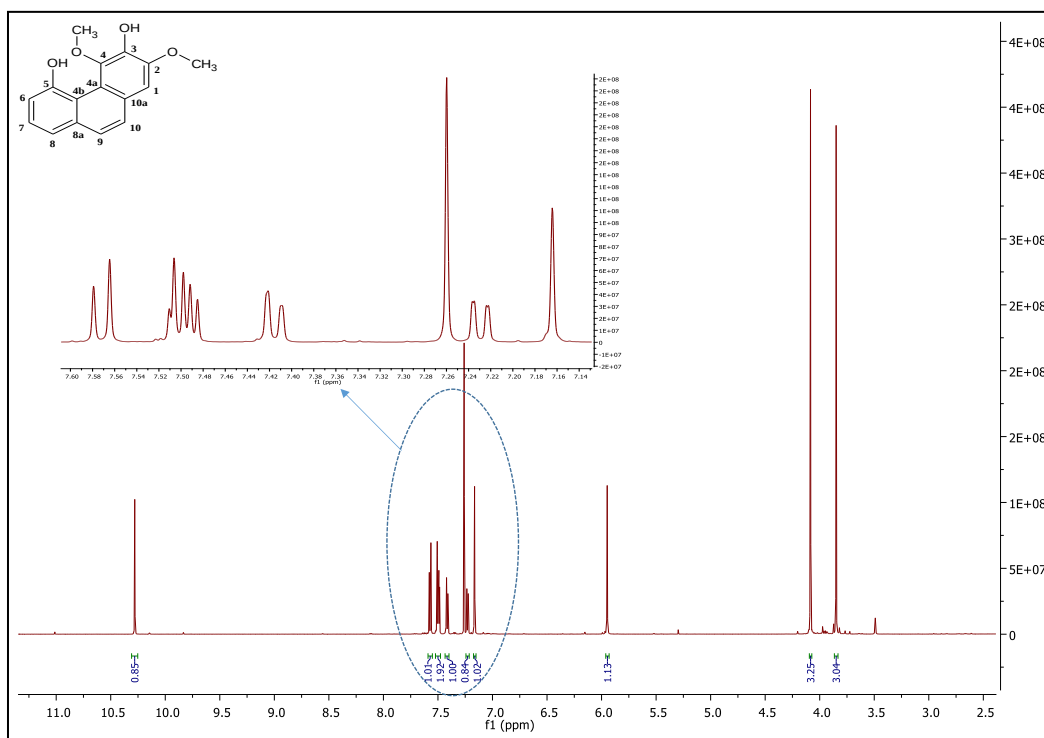
Εικόνα S3. TIC σε αρνητικό ιοντισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc φύλλων (Le) της ορχιδέας *Cymbidium* sp.



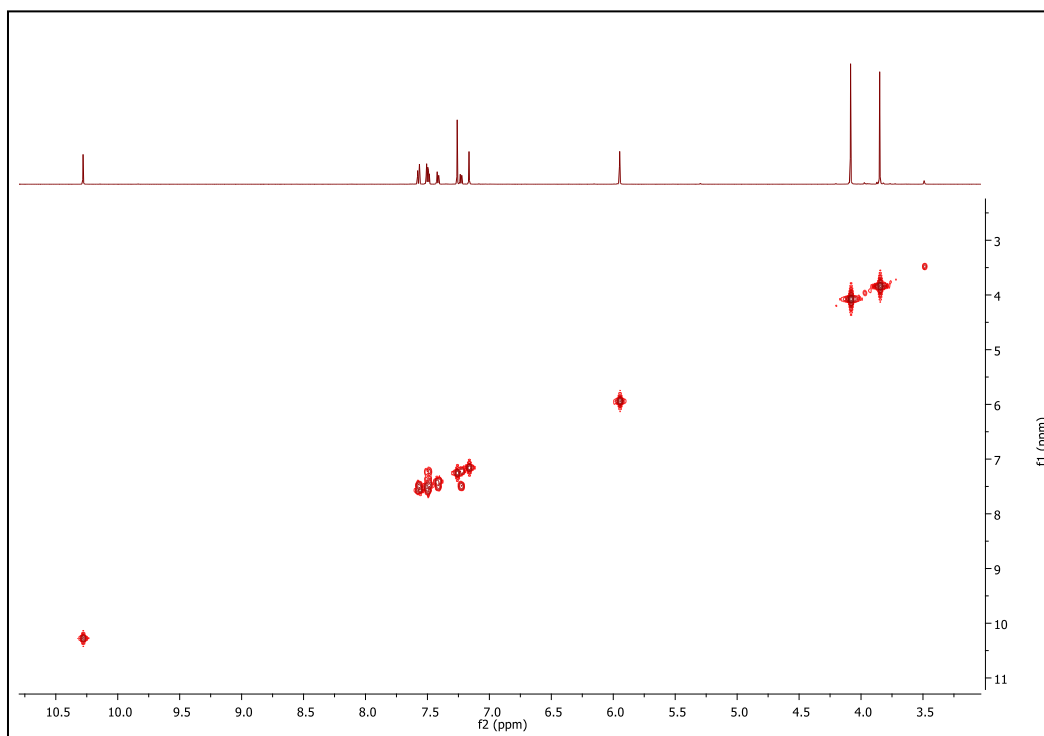
Εικόνα S4. TIC σε αρνητικό ιοντισμό του ολικού εκχυλίσματος EtOAc ανθέων (Fl) της ορχιδέας *Cymbidium* sp.



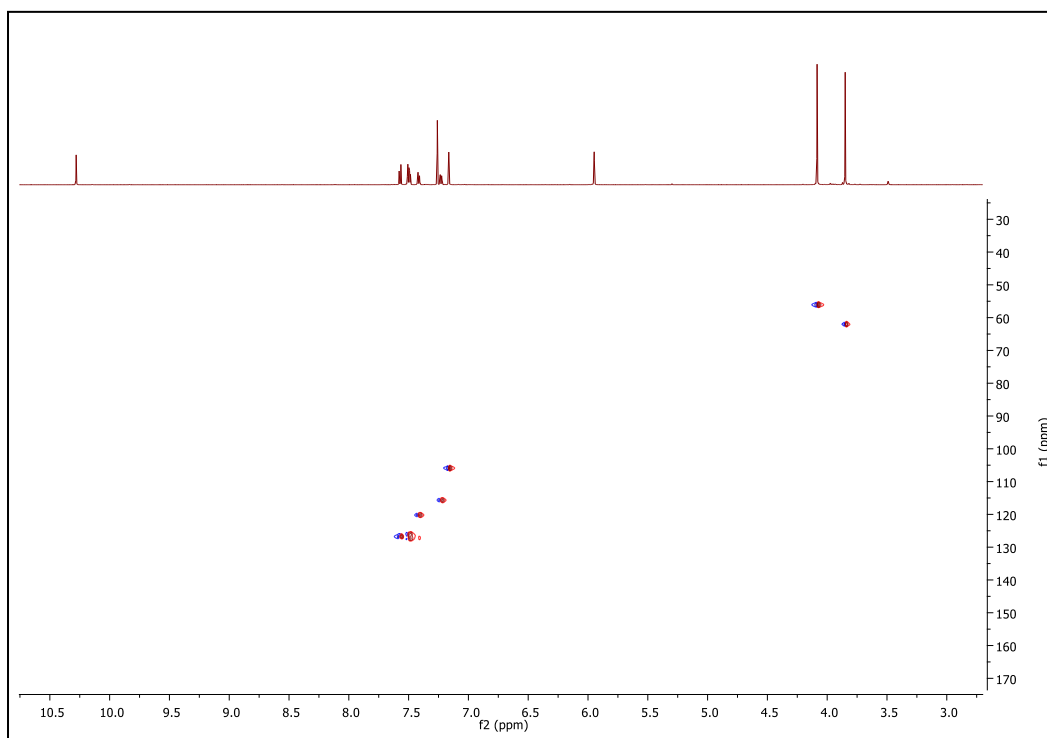
Εικόνα S5. HPLC-DAD των ολικών εκχυλισμάτων EtOAc βολβών, ρίζας, φύλλων και ανθέων της ορχιδέας *Cymbidium* sp. Απορρόφηση στα 280nm.



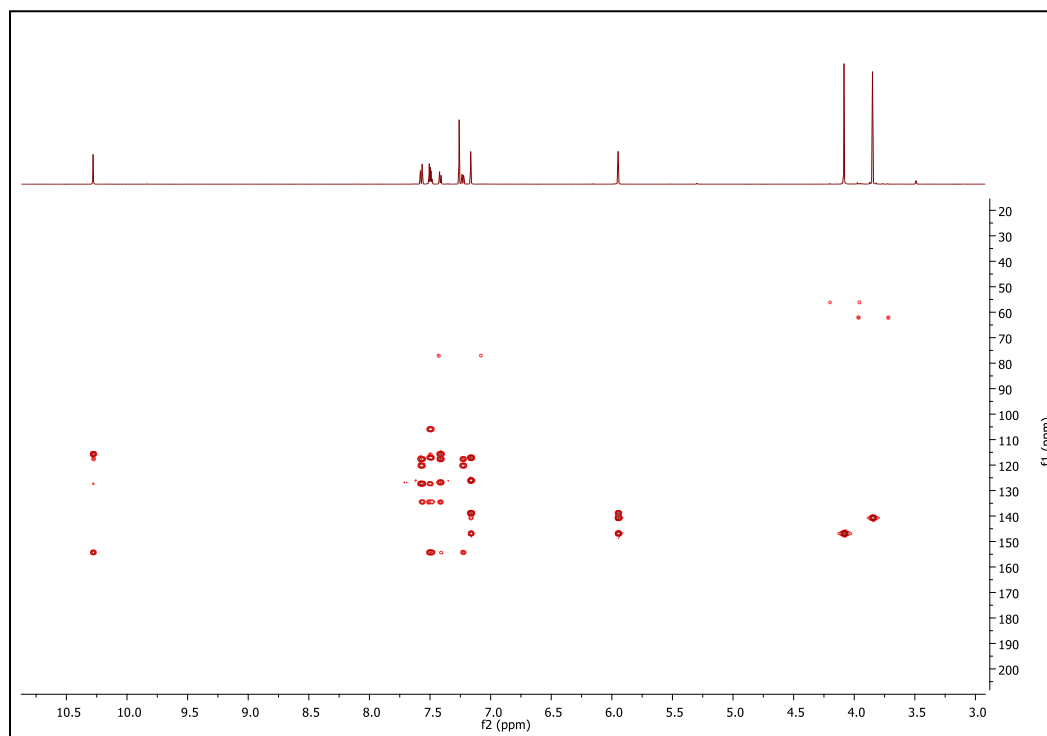
Εικόνα S6a. ¹H-NMR φάσμα της bulbophylanthrin (**1**) σε CDCl₃ στα 600 MHz.



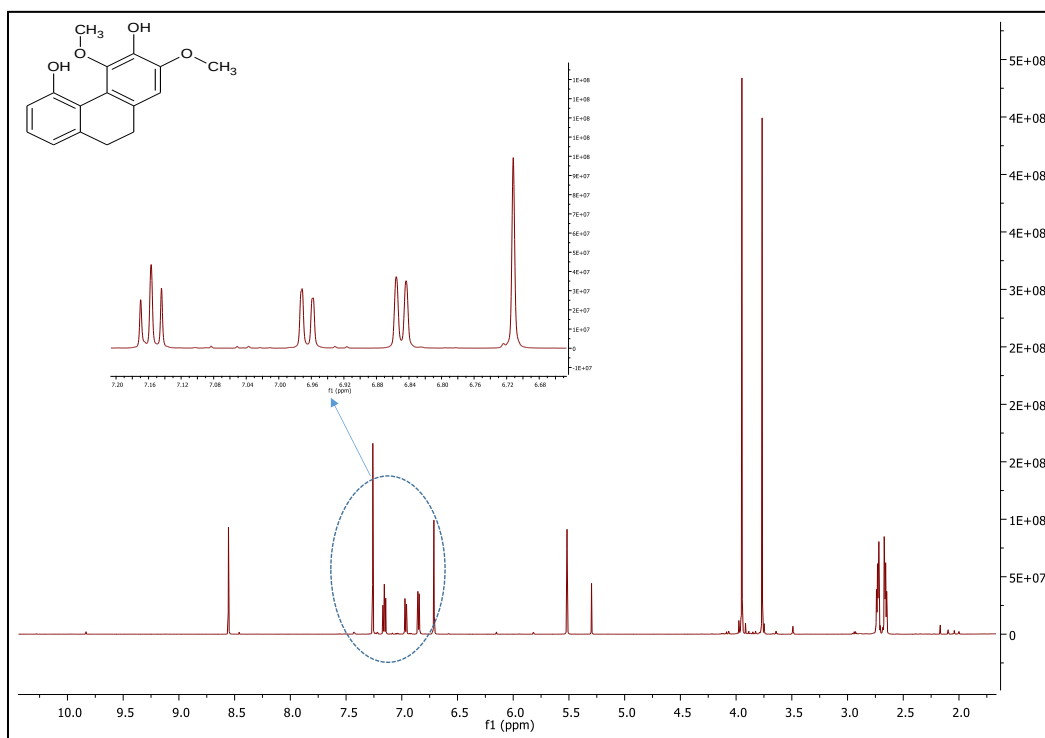
Εικόνα S6b. COSY-NMR φάσμα της bulbophylanthrin (**1**) σε CDCl₃ στα 600 MHz.



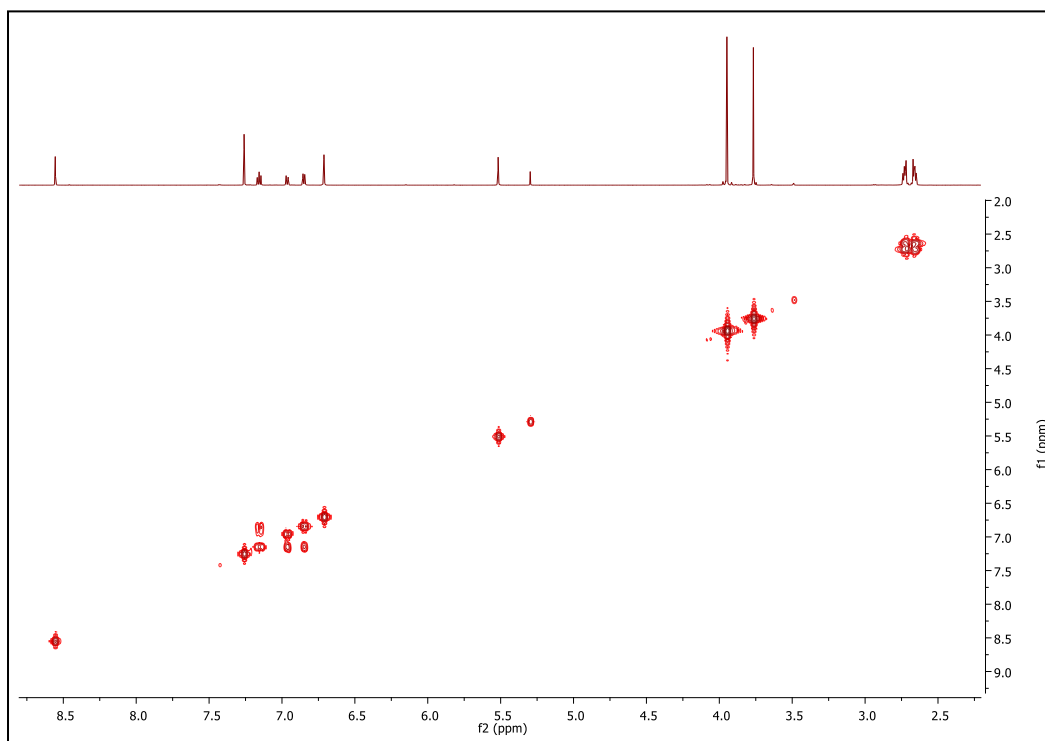
Εικόνα S6c. HSQC/DEPT-NMR φάσμα της bulbophylanthrin (**1**) σε CDCl₃ στα 600 MHz.



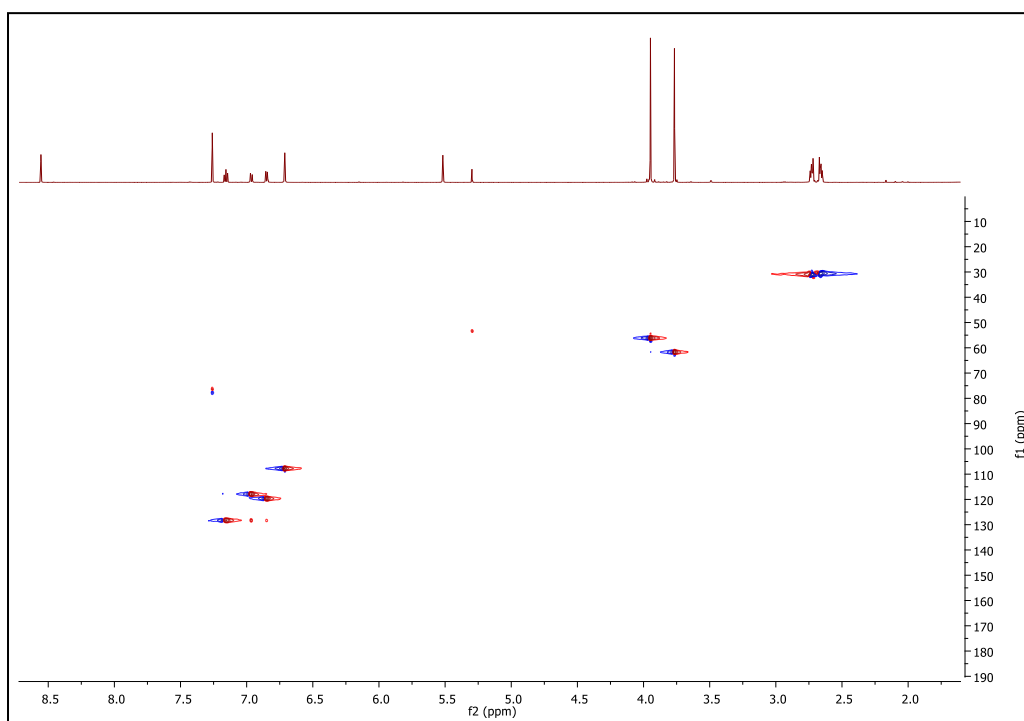
Εικόνα S6d. HMBC-NMR φάσμα της bulbophylanthrin (**1**) σε CDCl₃ στα 600 MHz.



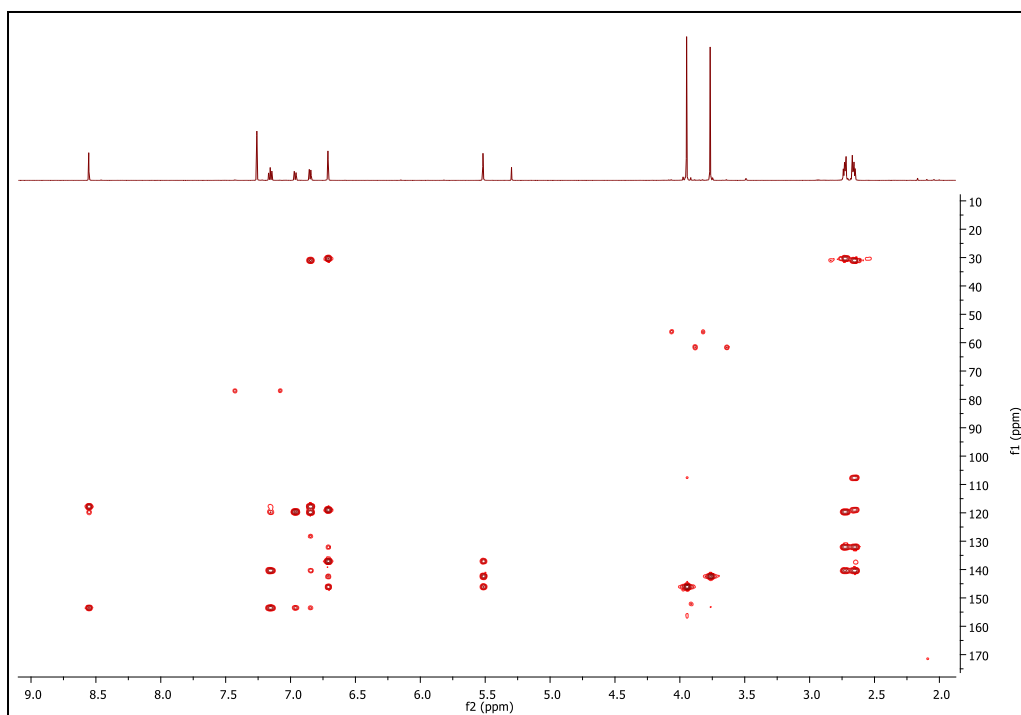
Εικόνα S7a. ^1H -NMR φάσμα της marylaurencinol (**4**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



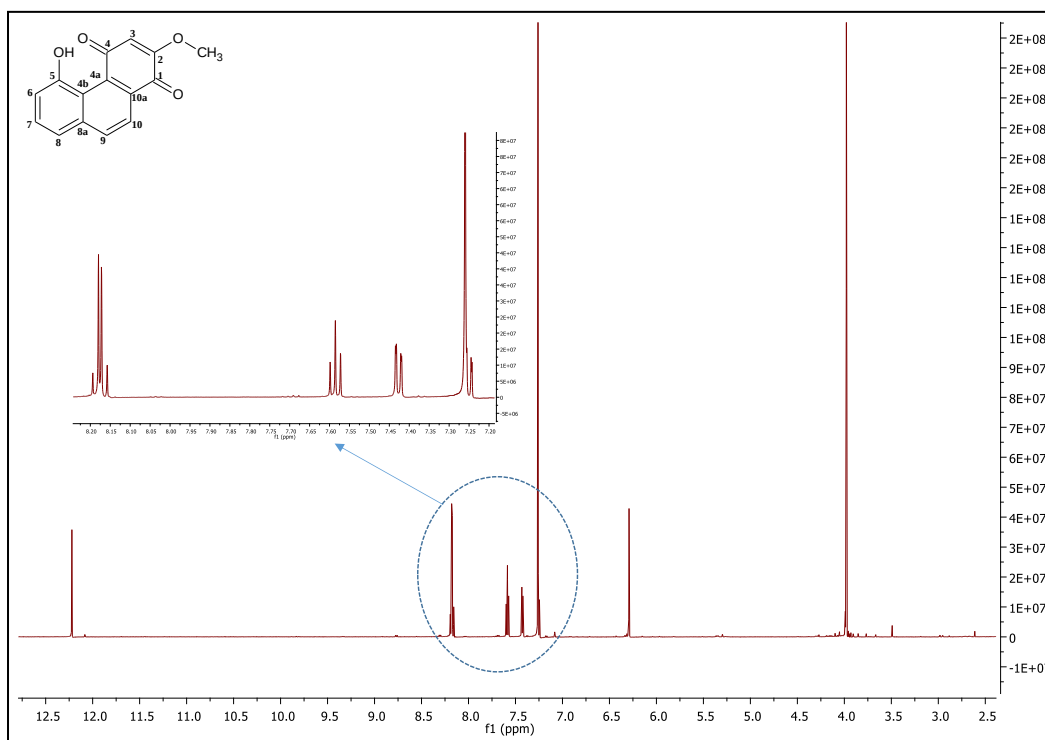
Εικόνα S7b. COSY-NMR φάσμα της marylaurencinol (**4**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



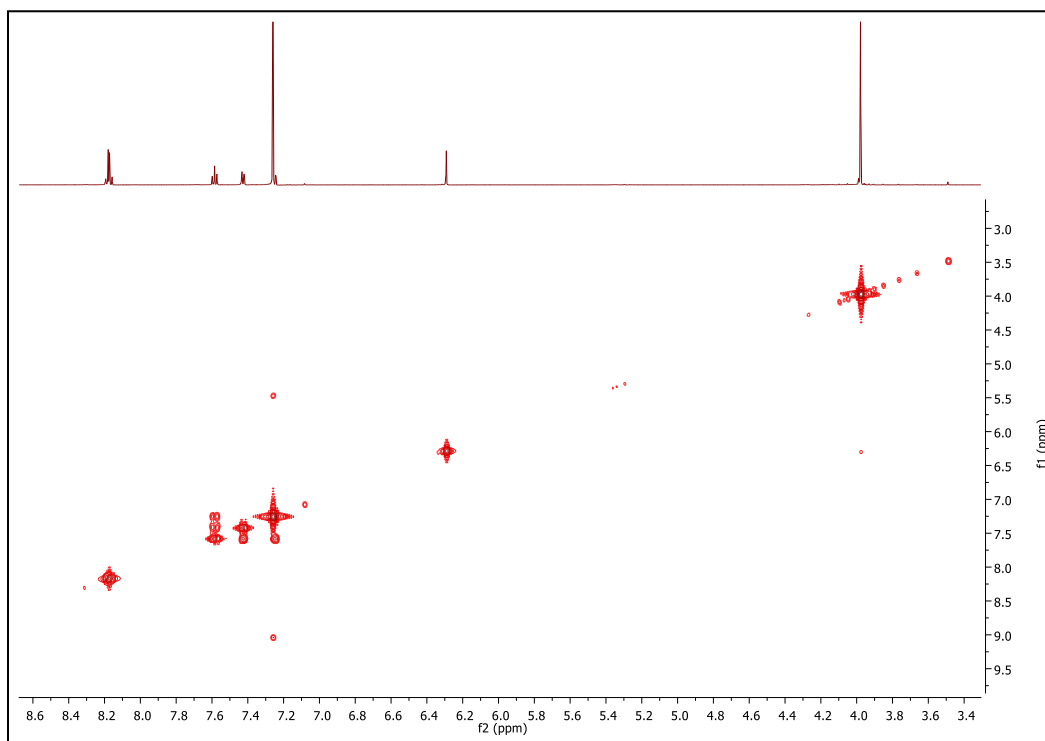
Εικόνα S7c. HSQC/DEPT-NMR φάσμα της marylaurencinol (**4**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



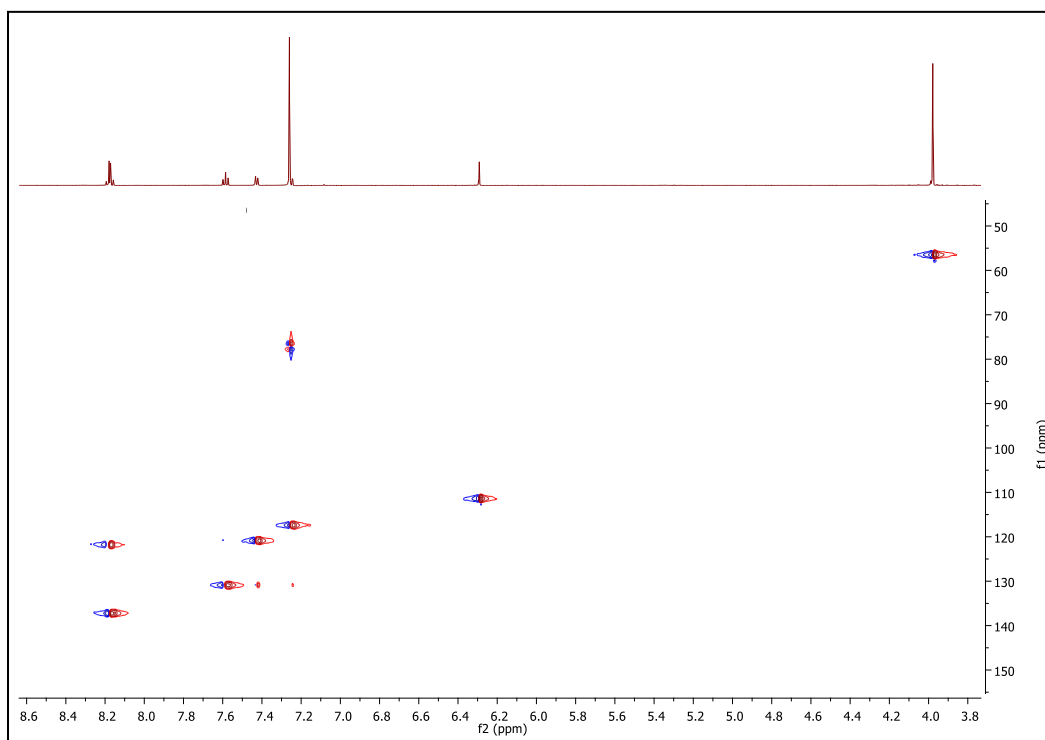
Εικόνα S7d. HMBC-NMR φάσμα της marylaurencinol (**4**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



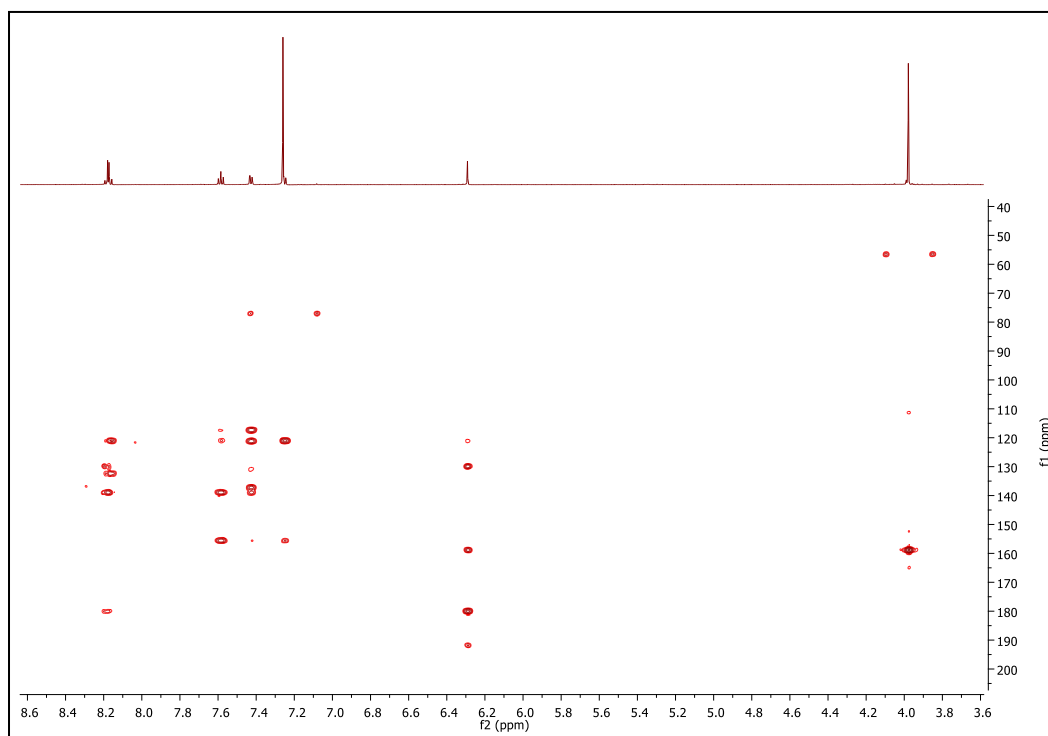
Εικόνα S8a. ^1H -NMR φάσμα της 5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone (**5**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



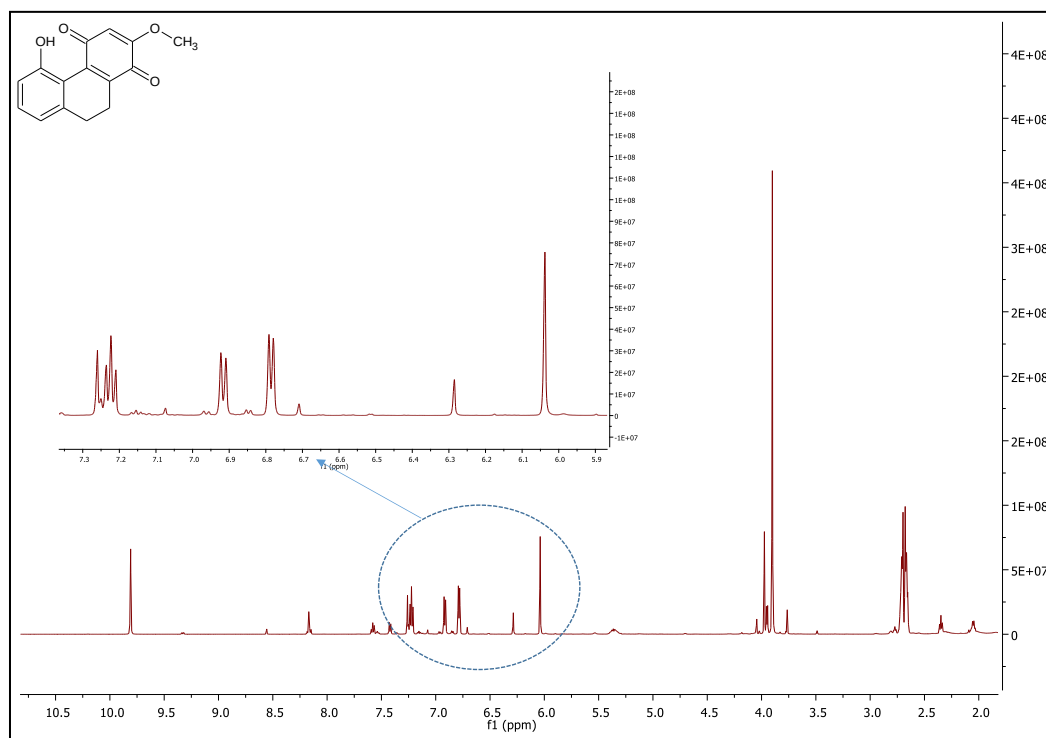
Εικόνα S8b. COSY-NMR φάσμα της 5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone (**5**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



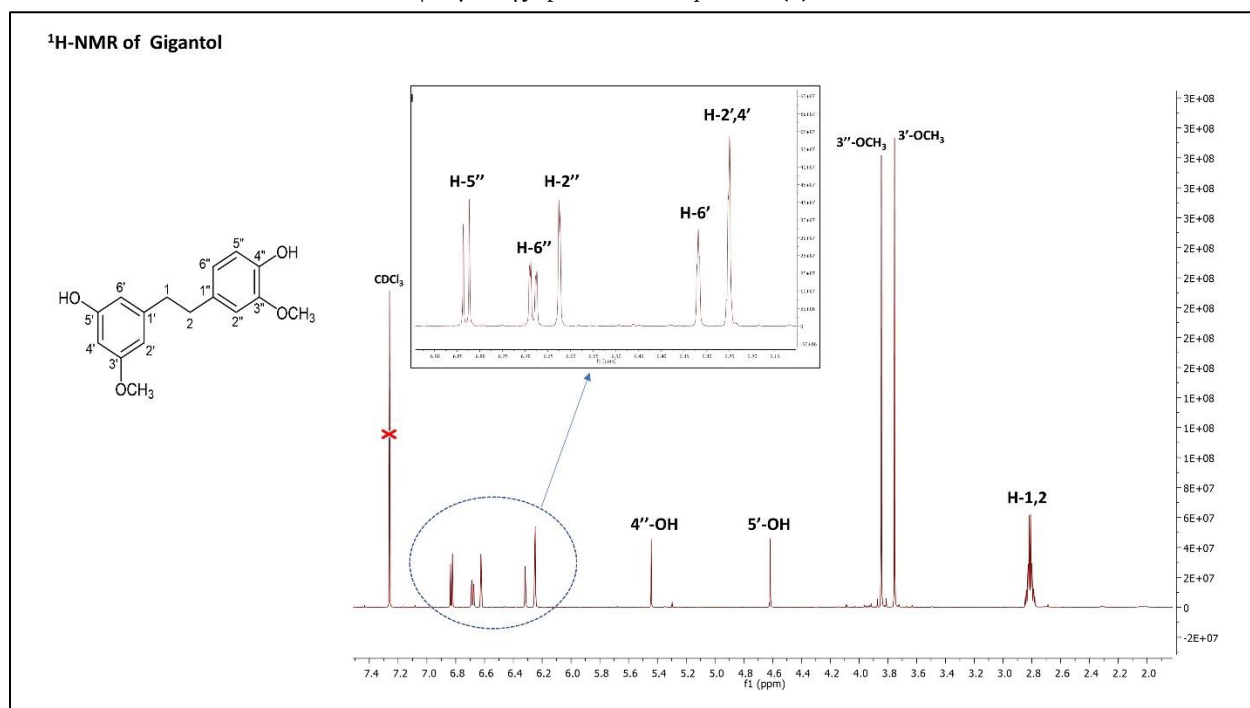
Εικόνα S8c. HSQC/DEPT-NMR φάσμα της 5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone (**5**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



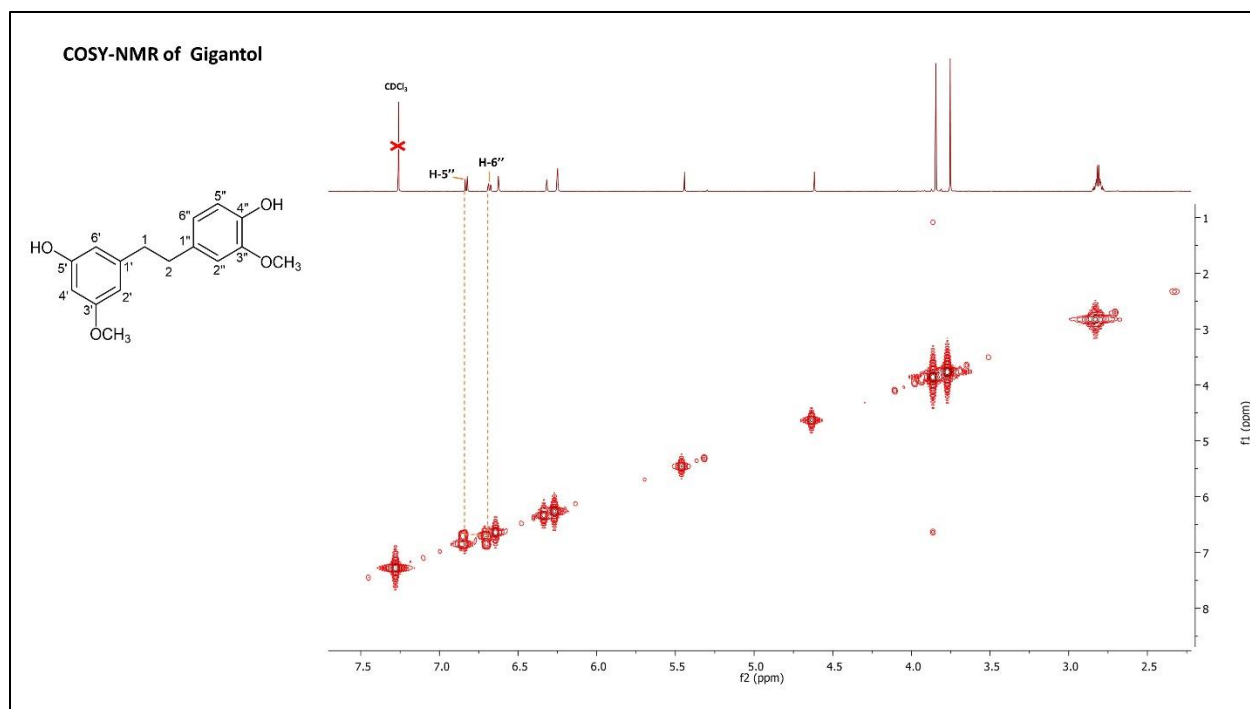
Εικόνα S8d. HMBC-NMR φάσμα της 5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone (**5**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



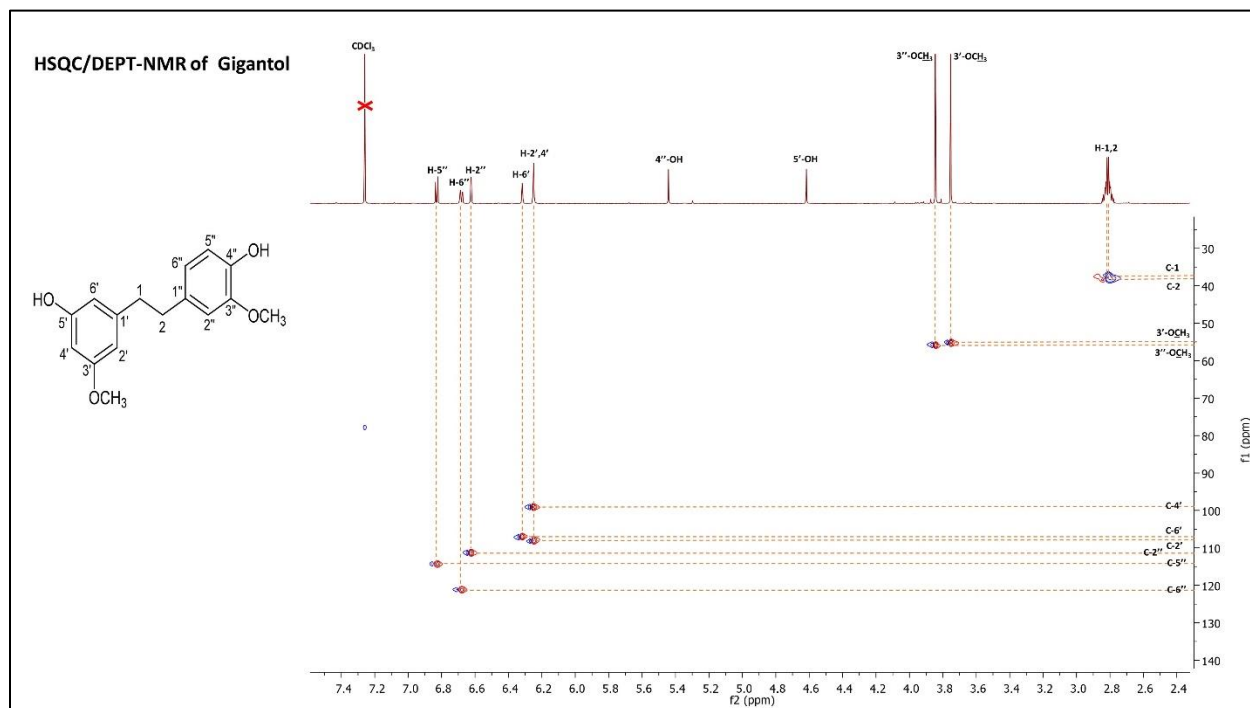
Εικόνα S9. $^1\text{H-NMR}$ φάσμα της ephemeranthoquinone (**6**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



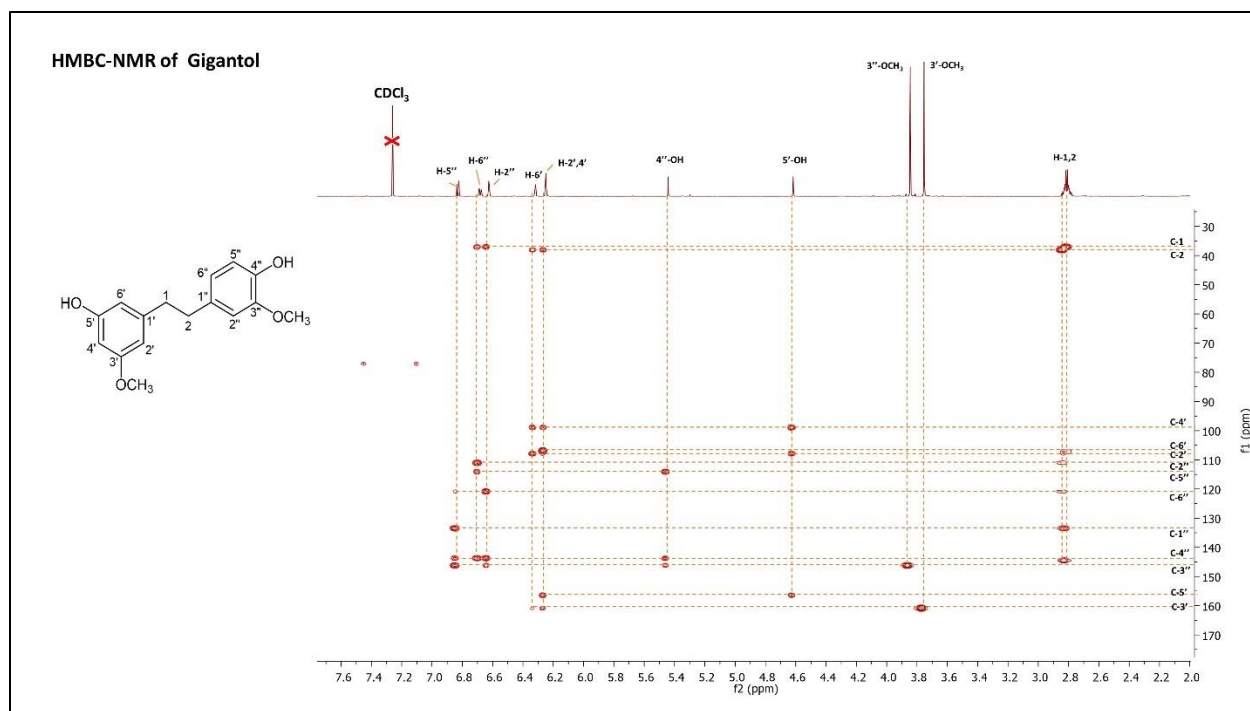
Εικόνα S10a. $^1\text{H-NMR}$ φάσμα της gigantol (**8**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



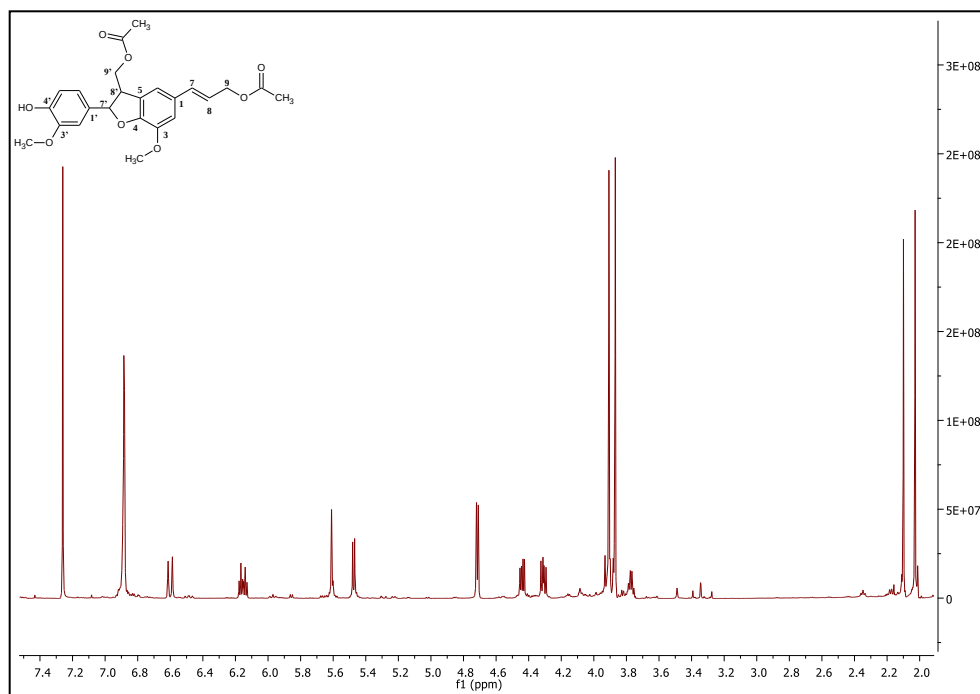
Εικόνα S10b. COSY-NMR φάσμα της gigantol (**8**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



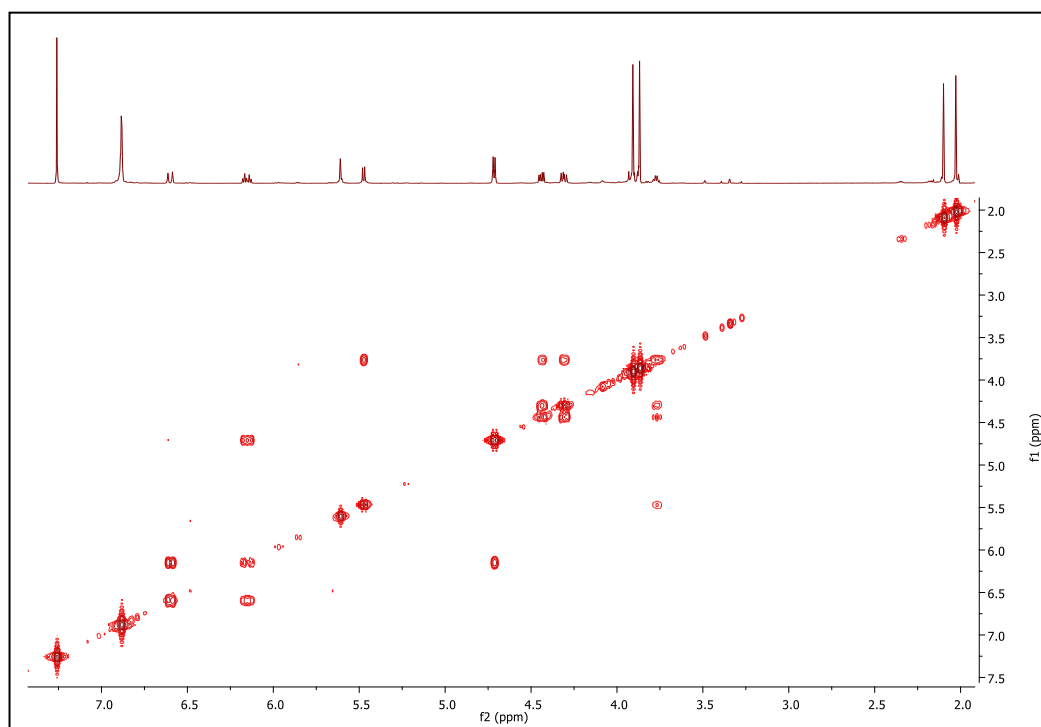
Εικόνα S10c. HSQC/DEPT-NMR φάσμα της gigantol (**8**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



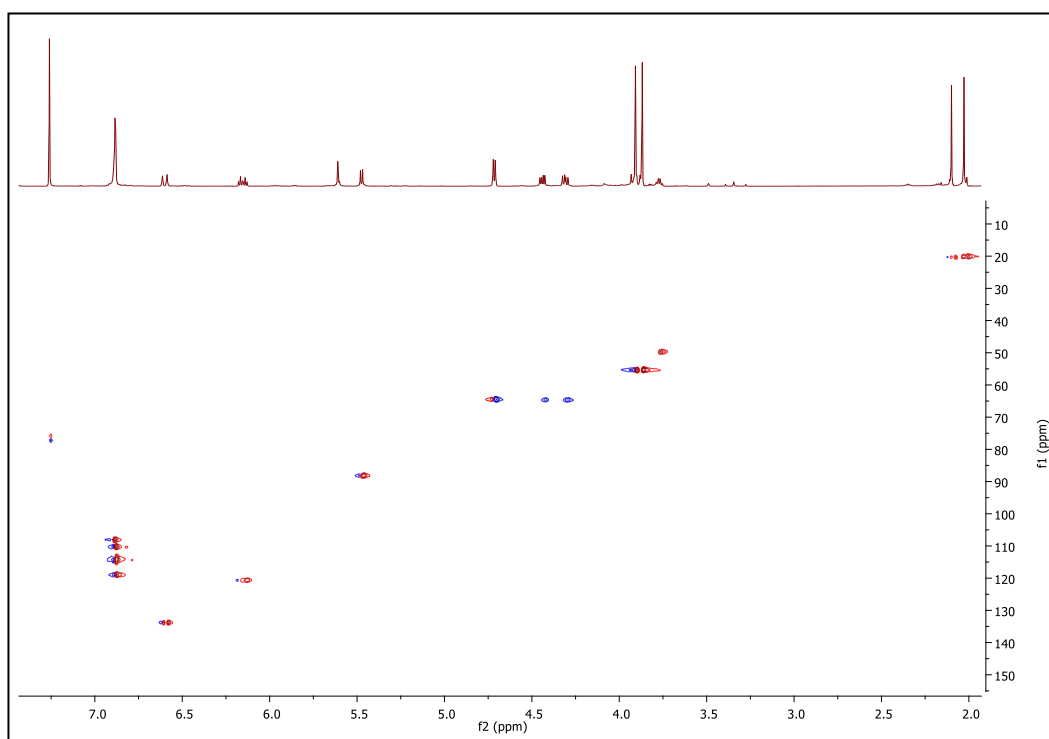
Εικόνα S10d. HMBC-NMR φάσμα της gigantol (**8**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



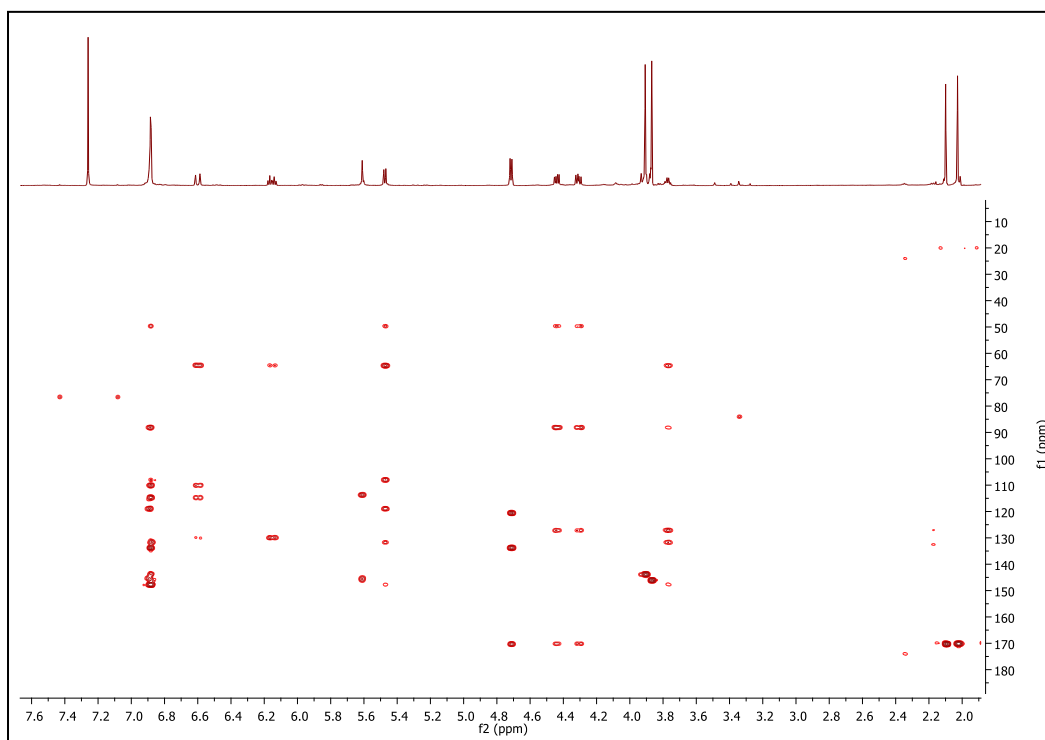
Εικόνα S11a. ^1H -NMR φάσμα της 9,9'-diacetyl-dehydrodiconiferyl alcohol (**13**) σε CDCl_3 στα 600 MHz



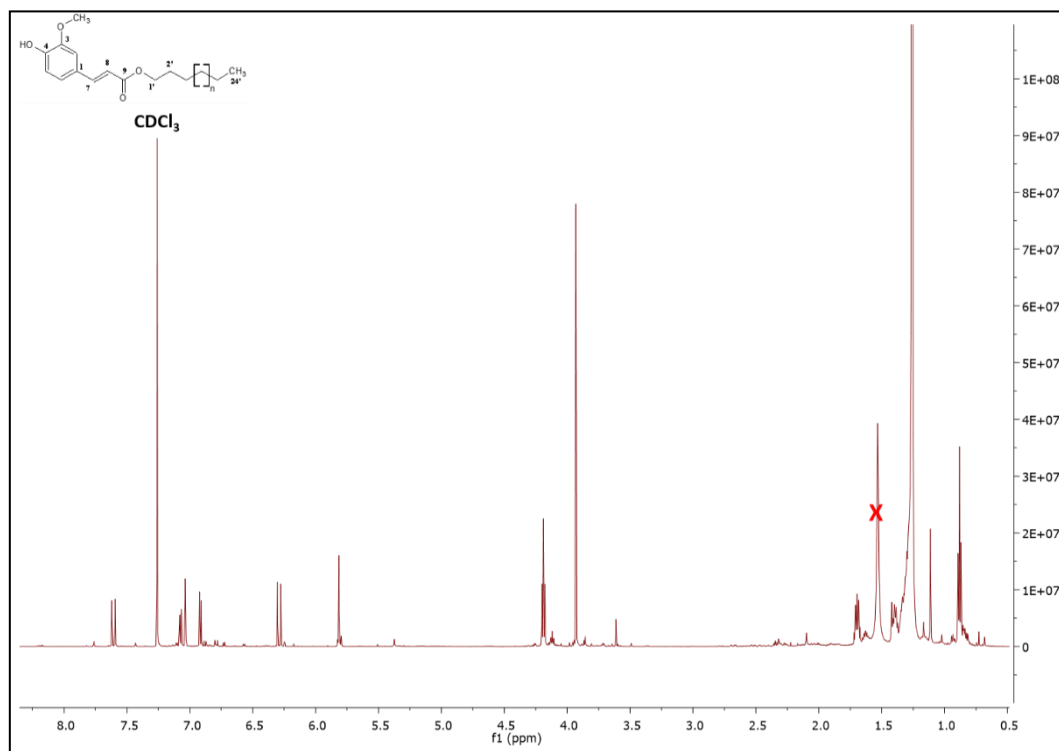
Εικόνα S11b. COSY-NMR φάσμα της 9,9'-diacetyl-dehydrodiconiferyl alcohol (**13**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



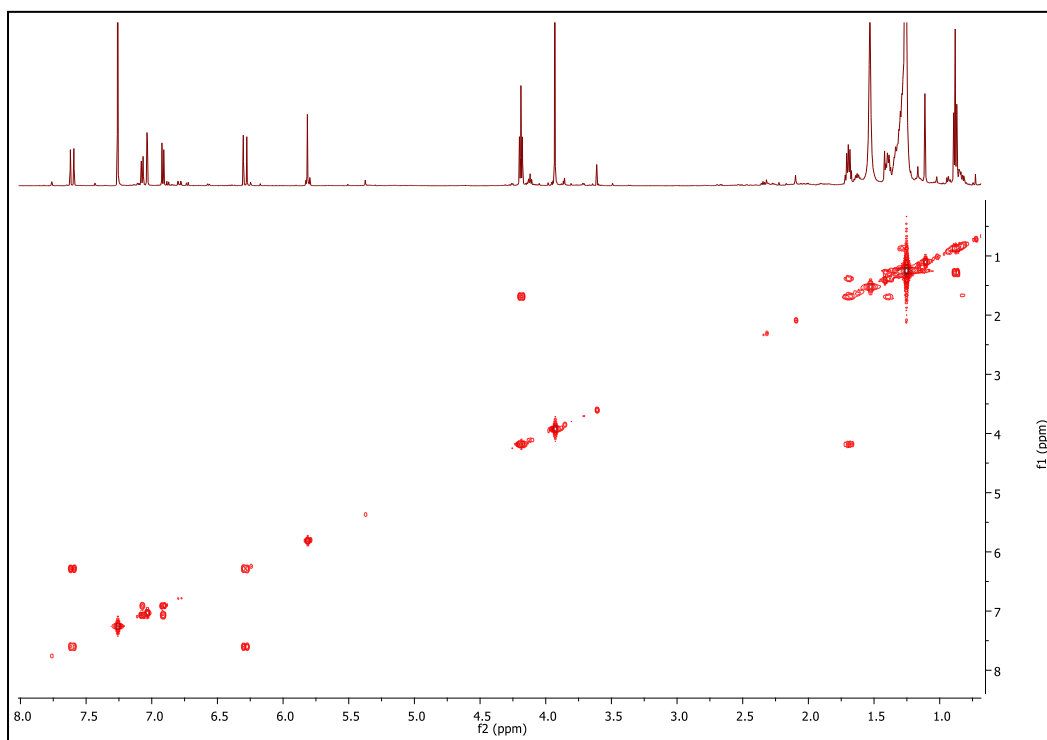
Εικόνα S11c. HSQC/DEPT-NMR φάσμα της 9,9'-diacetyl-dehydrodiconiferyl alcohol (**13**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



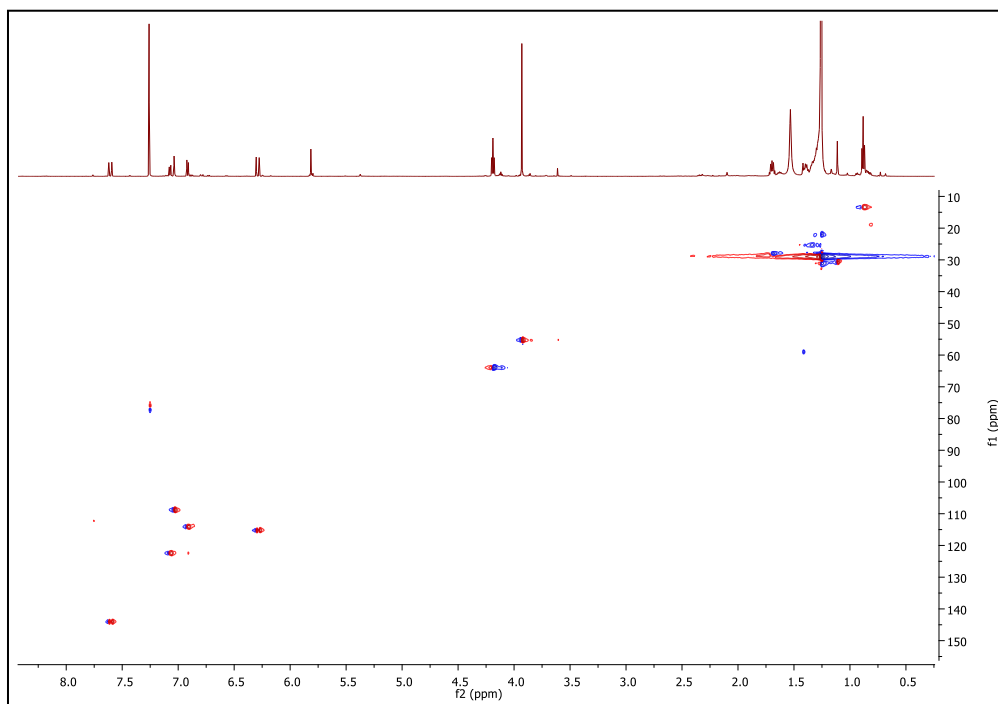
Εικόνα S11d. HMBC-NMR φάσμα της 9,9'-diacetyl-dehydrodiconiferyl alcohol (**13**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



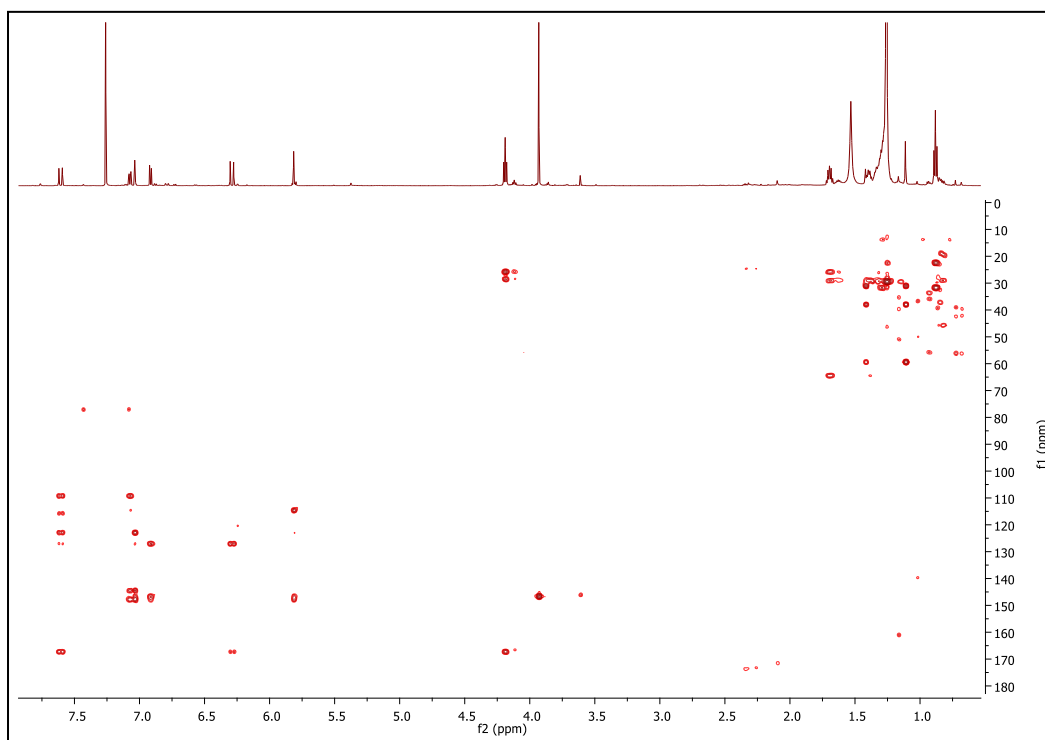
Εικόνα S12a.
 ^1H -NMR φάσμα της dodecyl ferulate (**11**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



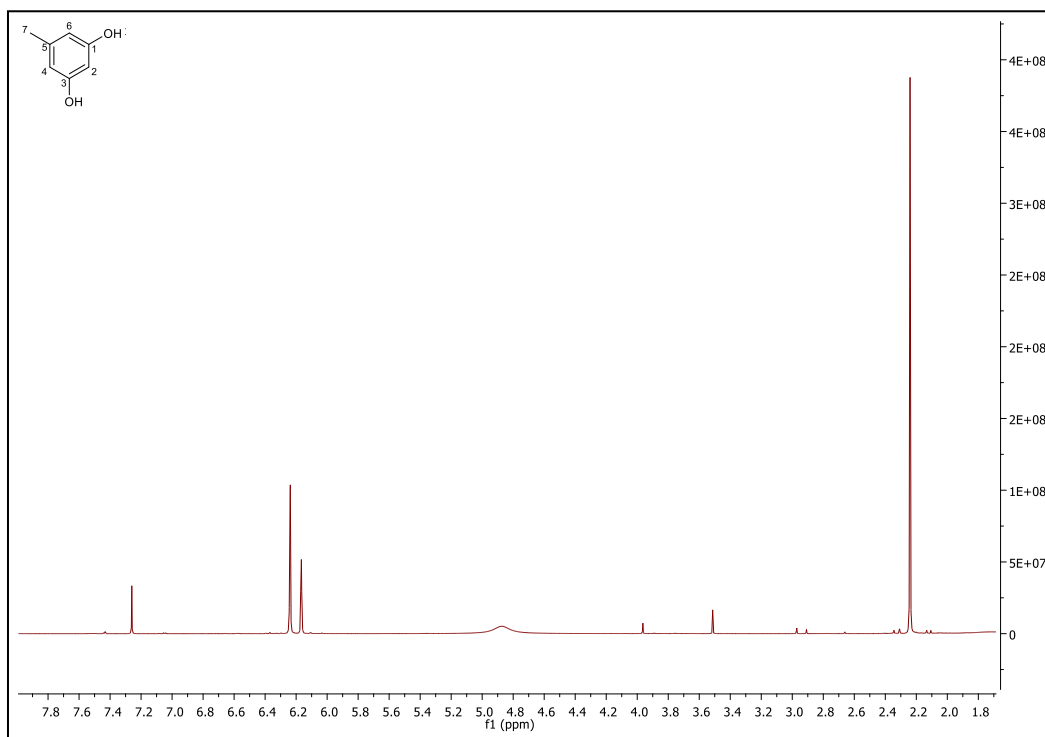
Εικόνα S12b. COSY-NMR φάσμα dodecyl ferulate (**11**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



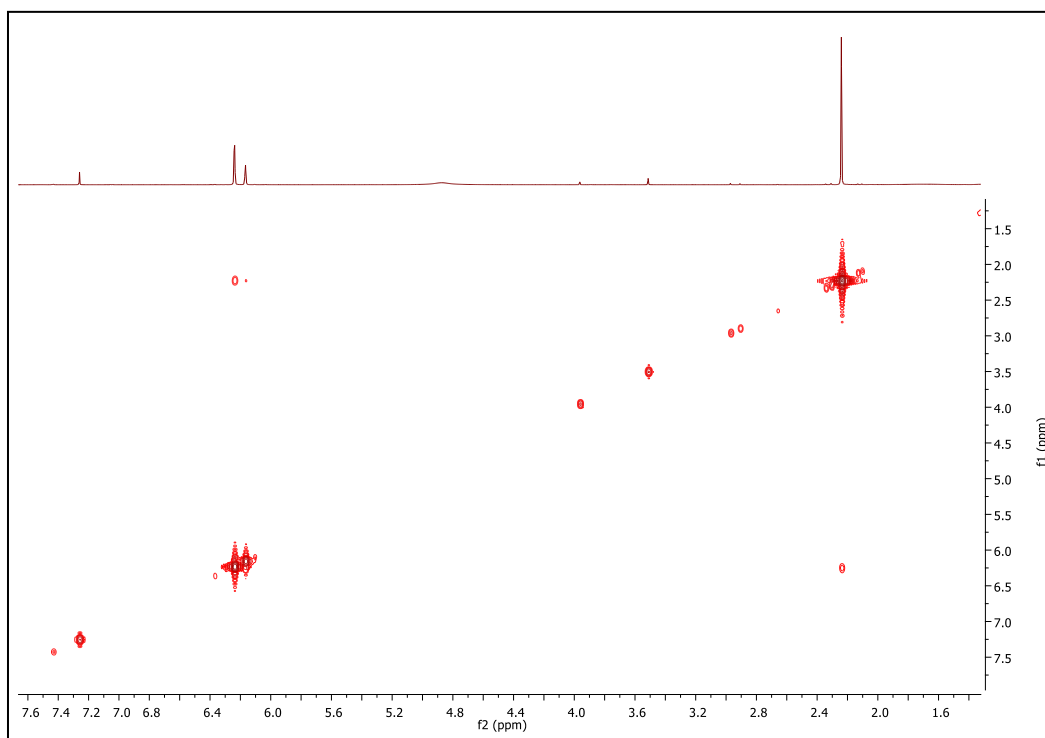
Εικόνα S12c. HSQC/DEPT-NMR φάσμα της dodecyl ferulate (**11**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



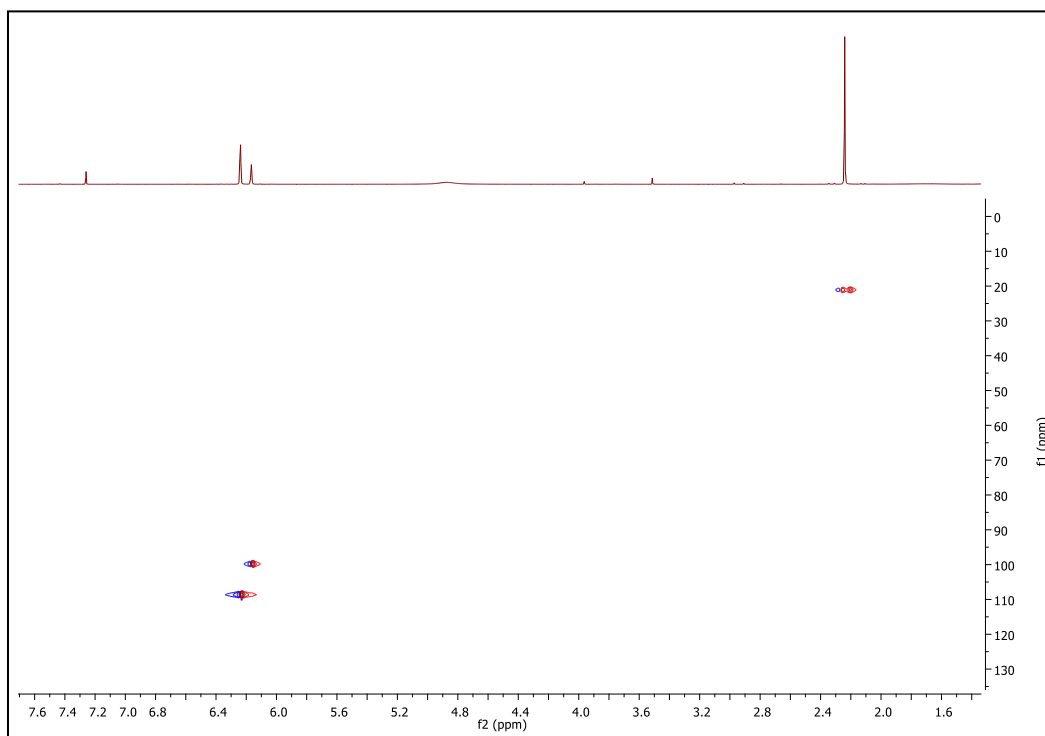
Εικόνα S12d. HSQC/DEPT-NMR φάσμα της dodecyl ferulate (**11**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



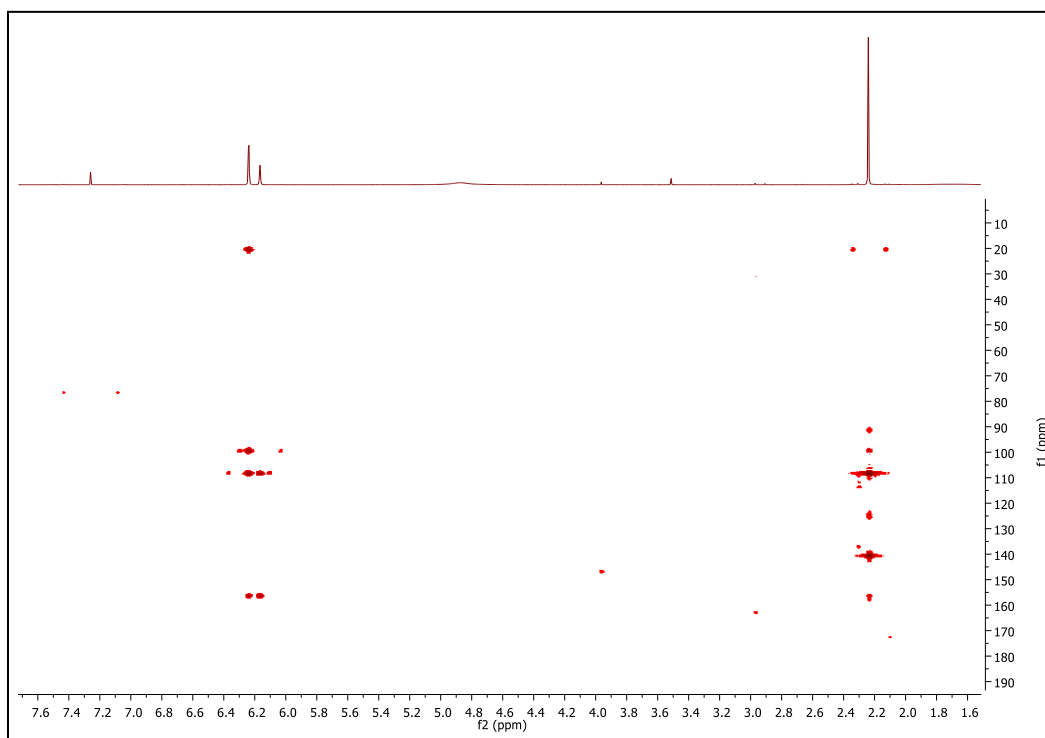
Εικόνα S13a.
 ^1H -NMR φάσμα της orcinol (**14**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



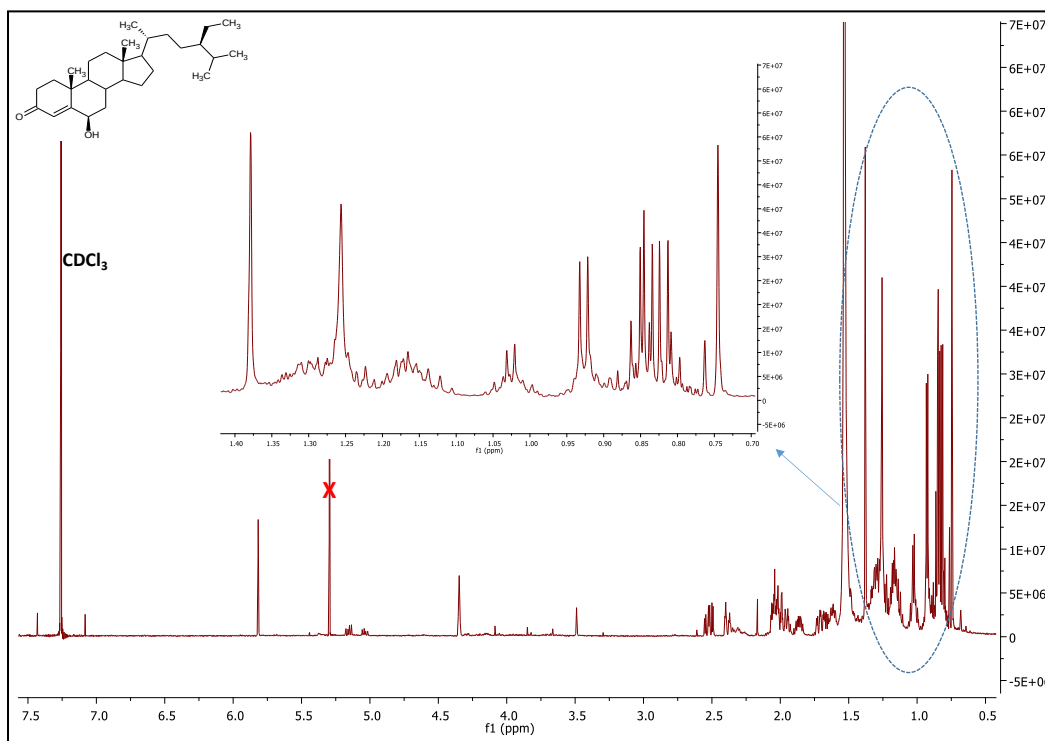
Εικόνα S13b. COSY-NMR φάσμα της orcinol (**14**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



Εικόνα S13c. HSQC/DEPT-NMR φάσμα της orcinol (**14**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.

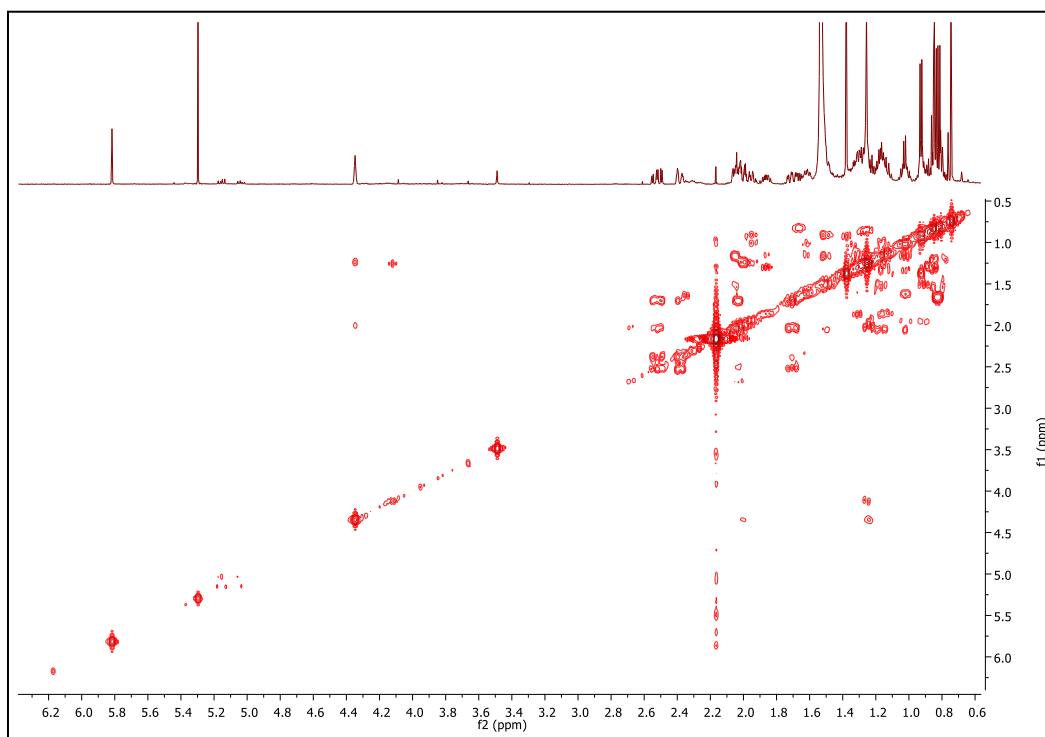


Εικόνα S13d. HMBC-NMR φάσμα της orcinol (**14**) σε CDCl_3 στα 600 MHz

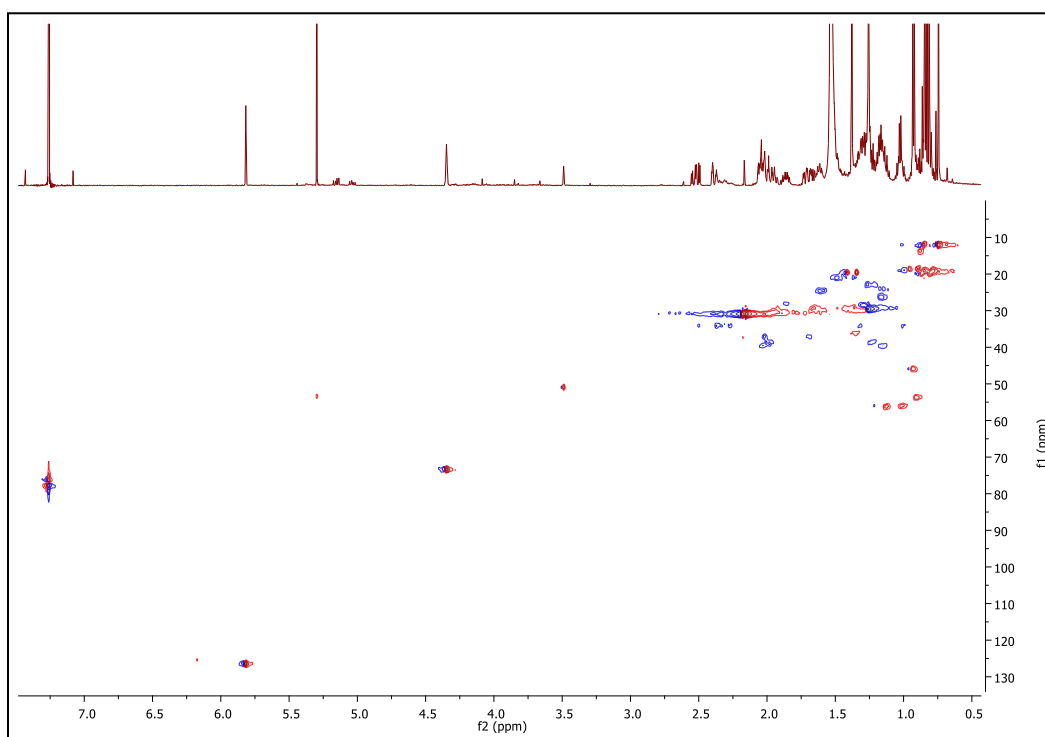


Εικόνα S14a.

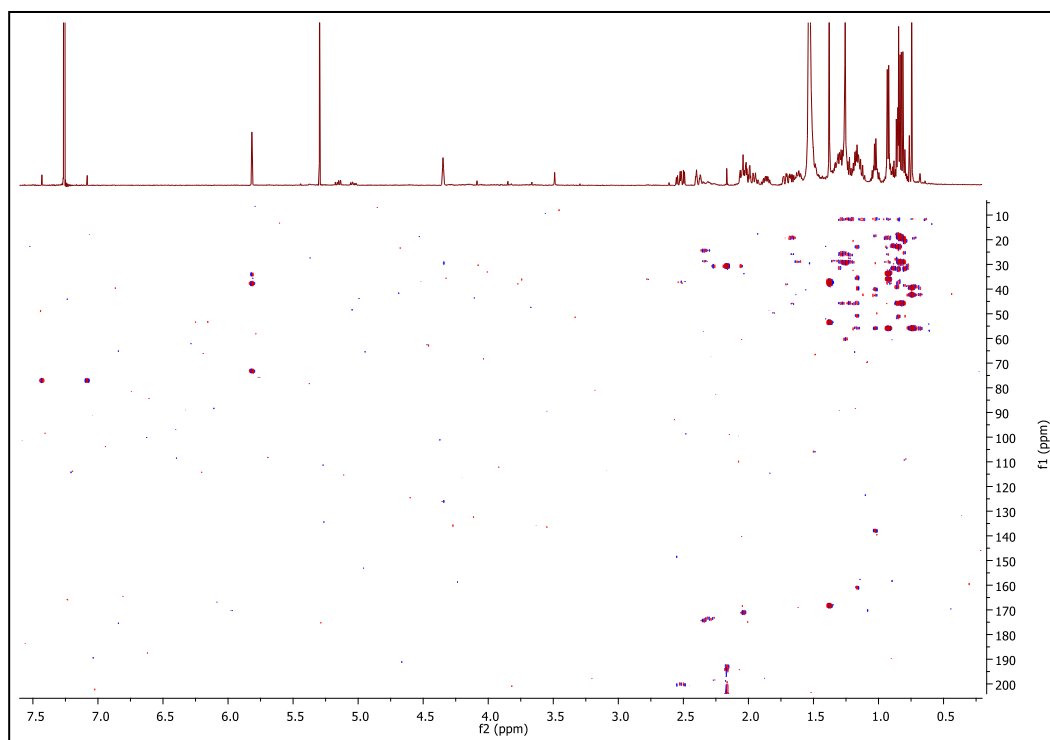
^1H -NMR φάσμα της (24R)-6β-hydroxy-24-ethyl-cholest-4-en-3-on (**16**) σε CDCl_3 στα 600 MHz.



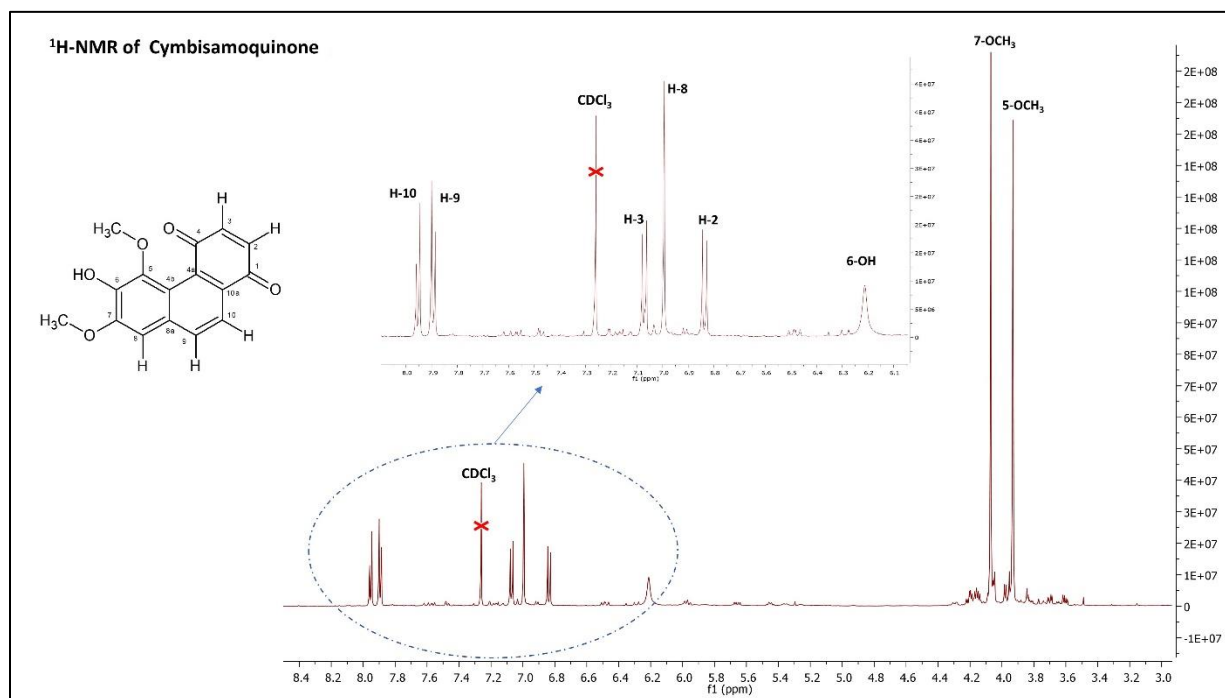
Εικόνα S14b. COSY-NMR φάσμα της (24R)-6β-hydroxy-24-ethyl-cholest-4-en-3-on (**16**) σε CDCl₃ στα 600 MHz.



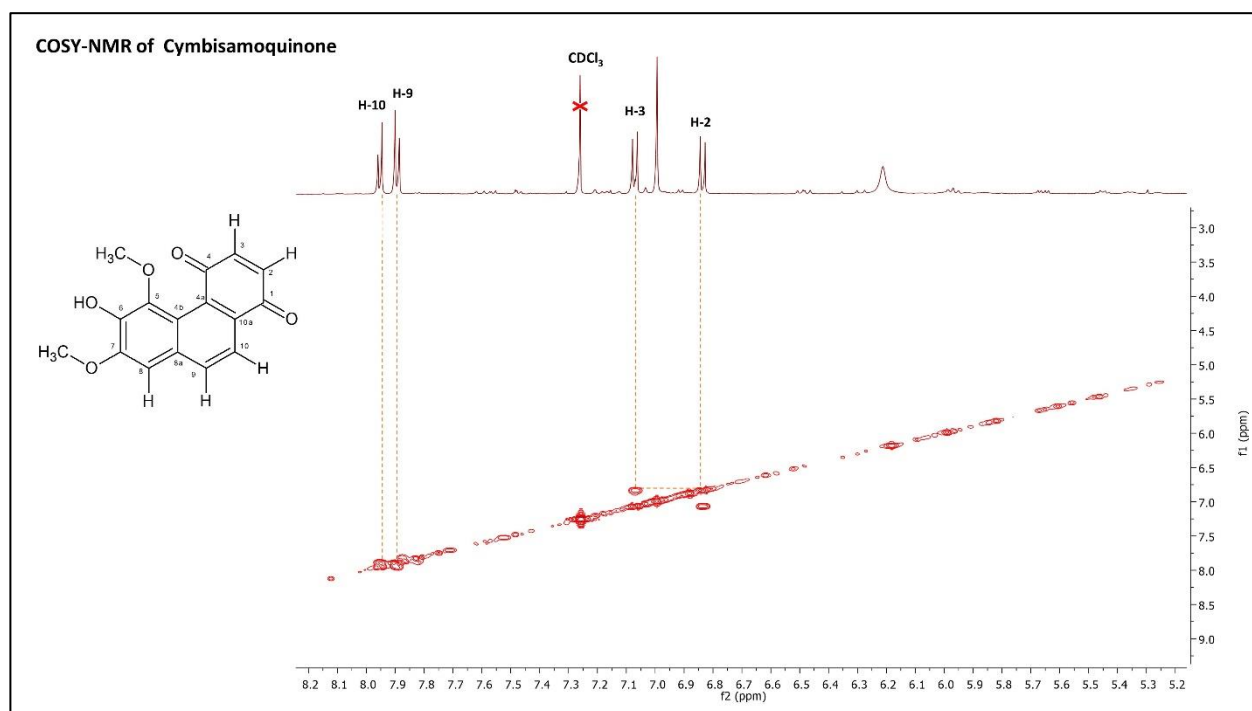
Εικόνα S14c: HSQC/DEPT-NMR φάσμα της (24R)-6β-hydroxy-24-ethyl-cholest-4-en-3-on (**16**) σε CDCl₃ στα 600 MHz.



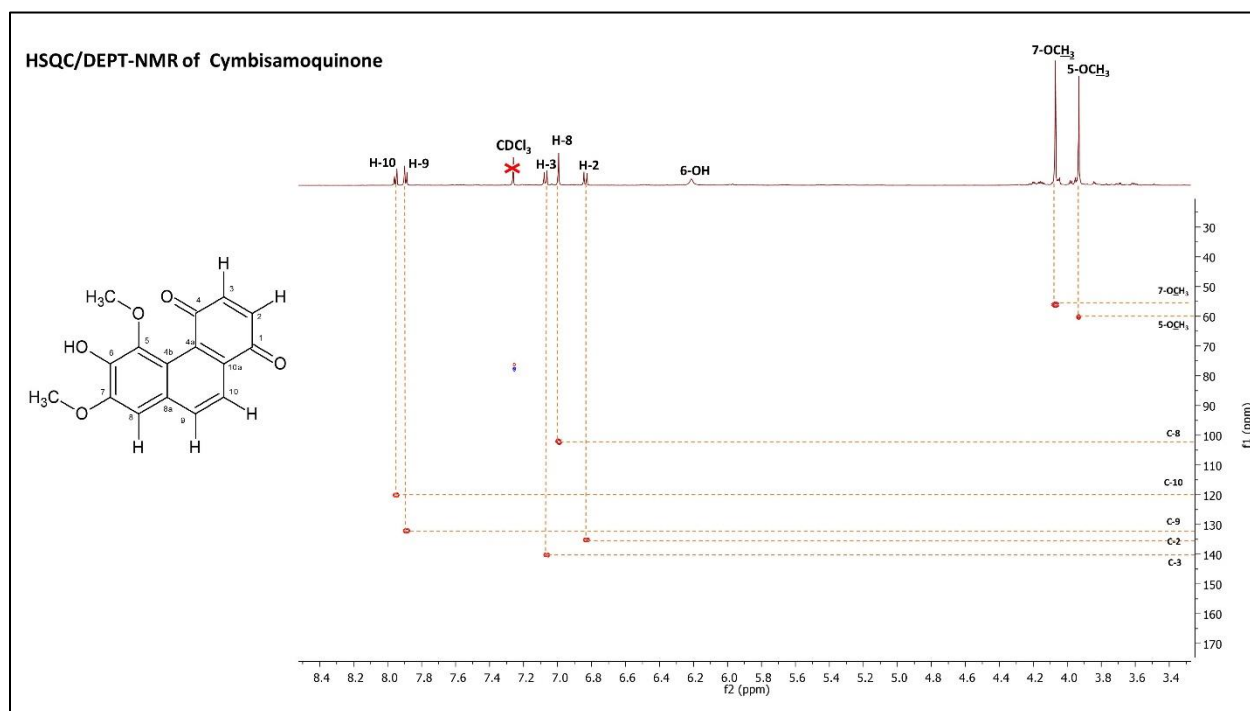
Εικόνα S14d. HMBC-NMR φάσμα της (24R)-6β-hydroxy-24-ethyl-cholest-4-en-3-on (**16**) σε CDCl₃ στα 600 MHz



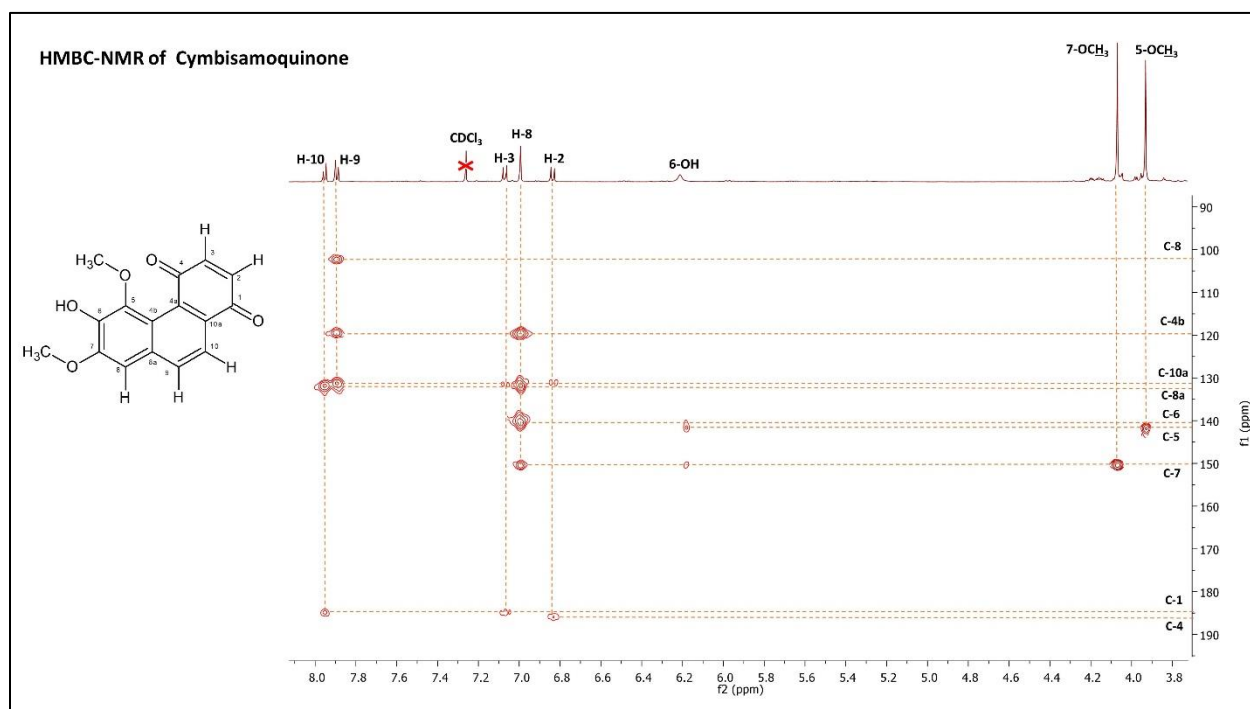
Εικόνα S15a. ¹H-NMR φάσμα της cymbisamoquinone (**7**) σε CDCl₃ στα 600 MHz.



Εικόνα S15b. COSY-NMR φάσμα της cymbisamoquinone (**7**) σε CDCl₃ στα 600 MHz.



Εικόνα S15c: HSQC/DEPT-NMR φάσμα της cymbisamoquinone (**7**) σε CDCl₃ στα 600 MHz.



Εικόνα S15d. HMBC-NMR φάσμα της cymbisamoquinone (**7**) σε CDCl₃ στα 600 MHz

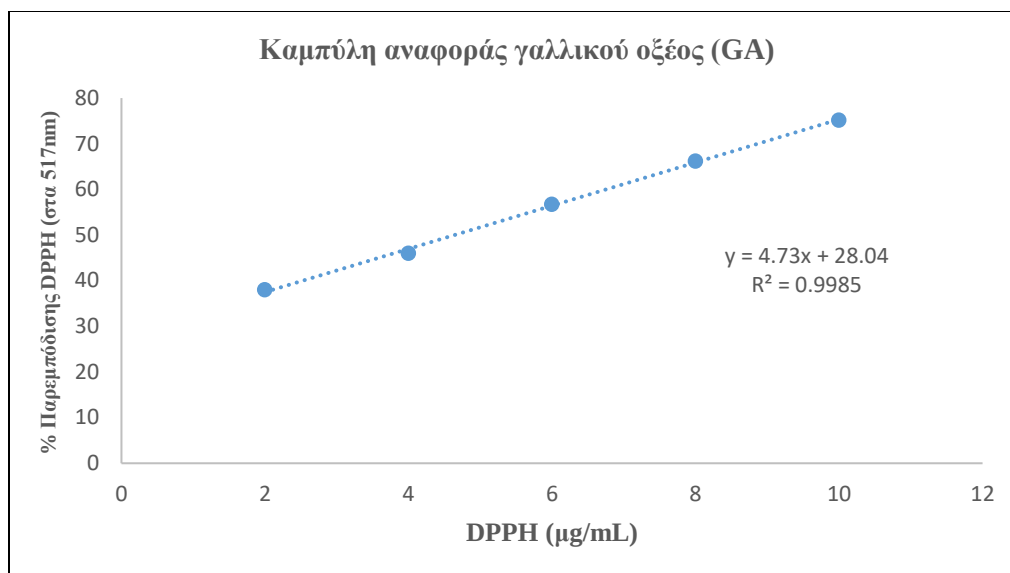
Πίνακας 5.11.12. Μεταβολίτες που έχουν ταυτοποιηθεί με UPLC-HRMS από τα ολικά εκχυλίσματα EtOAc ψευδοβολβών (Ps) και ριζών (R) του *Cymbidium* sp. (tr = trace; Isol. = isolated)

No	Rt (min)	Experimental [M-H] ⁻	Suggested EC	Delta (ppm)	RDB eq.	Compound	EtOAc extract		Ref.
							Ps	R	
	Phenols, Phenolic acids and derivatives								
1	3.74	123.0453	C ₇ H ₇ O ₂	1.44	4.5	Orcinol (14)	+	-	Isol.
2	4.12	137.0245	C ₇ H ₅ O ₃	0.97	5.5	Salicylic acid	+	+	Gutiérrez, 2010
3	4.14	137.0245	C ₇ H ₅ O ₃	0.9	5.5	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	+	+	Gutiérrez, 2010
4	4.17	353.0883	C ₁₆ H ₁₇ O ₉	1.46	8.5	Chlorogenic acid	tr	tr	Axiotis, 2020
5	5.18	193.0508	C ₁₀ H ₉ O ₄	0.77	6.5	Ferulic acid	-	tr	Gutiérrez, 2010
6	5.37	163.0401	C ₉ H ₇ O ₃	0.75	6.5	<i>p</i> -coumaric acid	tr	tr	[Gutiérrez, 2010 ; Zhao, 2015]
7	5.55	151.0403	C ₈ H ₇ O ₃	1.54	5.5	Vanillin	tr	tr	[Gutiérrez, 2010 ; Angelis, 2020]
8	5.58	167.0352	C ₈ H ₇ O ₄	1.49	5.5	Vanillic acid	tr	tr	Guo, 2006
9	7.85	153.0152	C ₇ H ₅ O ₄	1.23	5.5	Protocatechuic acid	+	+	Guo, 2006
10	13.9	441.2648	C ₂₇ H ₃₇ O ₅	0.821	9.5	9,9'-diacetyl- dehydrodiconiferyl alcohol (13)	tr	+	Isol.
11	14.06	361.2388	C ₂₂ H ₃₃ O ₄	1.02	6.5	Dodecyl ferulate (11)	+	+	Isol.

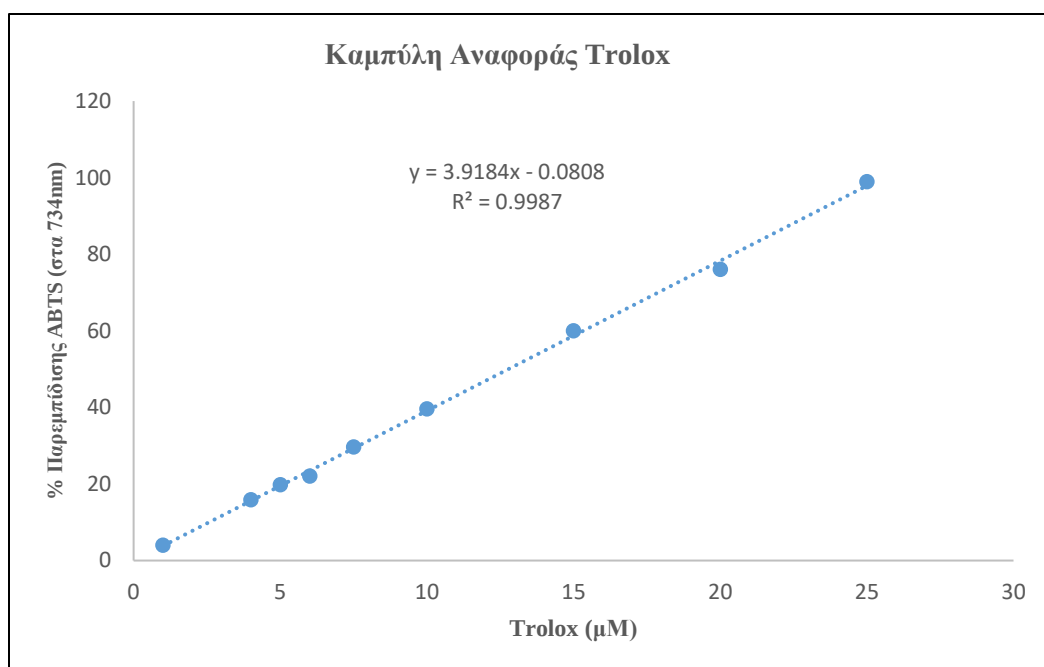
12	14.86	331.2283	C ₂₁ H ₃₁ O ₃	1.21	6.5	Dodecyl coumarate (12)	+	+	Isol.
Dibenzyls and Stilbens									
13	6.99	259.0976	C ₁₅ H ₁₅ O ₄	0.07	8.5	Tristin (9)	+	+	Isol.
14	7.11	229.0872	C ₁₄ H ₁₃ O ₃	0.67	8.5	Dehydroxyresveratrol (10)	+	tr	Isol.
15	7.4	259.0976	C ₁₅ H ₁₅ O ₄	0.3	8.5	Dendrosinen C	+	+	Chen, 2014
16	8.66	273.1135	C ₁₆ H ₁₇ O ₄	1.09	8.5	Gigantol (8)	+	+	Isol.
17	8.7	289.1082	C ₁₆ H ₁₇ O ₅	0.357	8.5	Dendrosinen A	+	+	Chen, 2014
18	8.72	243.1028	C ₁₅ H ₁₅ O ₃	0.67	8.5	Batatasin III	+	+	Sut, 2017
19	8.85	227.0714	C ₁₄ H ₁₁ O ₃	0.54	9.5	Resveratrol	+	+	Sut, 2017
20	9.77	301.1083	C ₁₇ H ₁₇ O ₅	0.11	9.5	Phoyunbene A or Phoyunbene B	+	+	Guo, 2006
21	10.0	241.0871	C ₁₅ H ₁₃ O ₃	-0.24	9.5	Thunalbene, Pholidotol D, Lusianthridin	tr	tr	Sut, 2017
Phenanthrenes and 1,4-phenanthrenquinones									
22	5.85	243.0662	C ₁₄ H ₁₁ O ₄	0.115	9.5	Tetrahydroxy-9,10- dehydrophenanthrene	tr	+	Nonthalert, 2020
23	7.43	283.0615	C ₁₆ H ₁₁ O ₅	0.93	11.5	Denbinobin, Isoxoflaccidin	+	+	Sánchez-Duffhues, 2008

24	7.58	287.0925	C ₁₆ H ₁₅ O ₅	1.26	9.5	Coeloginanthridin, or 1,3,5-trihydroxy-2,4-dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene	tr	+	Musharof Hossain, 2011
25	7.77	253.0508	C ₁₅ H ₉ O ₄	1.06	11.5	5-hydroxy-2-methoxy-1,4-phenanthrenequinone (5)	+	+	Isol.
26	8.16	283.0615	C ₁₆ H ₁₁ O ₅	0.93	11.5	Cymbisamoquinone (7)	+	+	Isol.
27	8.39	257.0817	C ₁₅ H ₁₃ O ₄	-0.90	9.5	Trihydroxy-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene	tr	+	Nonthalert, 2020
28	9.55	283.0977	C ₁₇ H ₁₅ O ₄	0.38	10.5	3-hydroxy-2,4,7-trimethoxy-phenanthrene (2)	tr	+	Isol.
29	9.89	269.0821	C ₁₆ H ₁₃ O ₄	0.81	10.5	Bulbophyllanthrin (1)	tr	+	Isol.
30	10.01	271.0987	C ₁₆ H ₁₅ O ₄	0.84	9.5	Marylaurincinol A (4)	tr	+	Isol.
31	10.04	241.0871	C ₁₅ H ₁₃ O ₃	0.25	9.5	Hircinol or Coelonin	tr	+	Sut, 2017
32	10.06	479.1506	C ₃₀ H ₂₃ O ₆	1.228	19.5	Blestriarene B	+	+	Musharof Hossain
33	10.4	255.0665	C ₁₅ H ₁₁ O ₄	0.62	10.5	Ephemeranthroquinone B (6)	+	+	Isol.
34	10.45	313.1084	C ₁₇ H ₁₅ O ₄	0.71	10.5	3-hydroxy-2,4,7,8-tetramethoxy-phenanthrene (3)	tr	+	Isol.
35	11.41	461.1608	C ₂₇ H ₂₅ O ₇	0.875	15.5	Pleionesins C	+	+	Chen, 2014

	Flavonoids								
36	7.10	285.0407	C ₁₅ H ₉ O ₆	0.87	11.5	Kaempherol	+	tr	Musharof Hossain,2011
37	7.10	285.0407	C ₁₅ H ₉ O ₆	0.87	11.5	Luteolin	+	tr	Angelis, 2020
38	7.18	301.0357	C ₁₅ H ₉ O ₇	0.88	11.5	Quercetin	+	tr	Musharof Hossain,2011
39	7.29	269.0456	C ₁₅ H ₉ O ₅	0.38	11.5	Apigenin	+	tr	Axiotis, 2020
40	7.39	299.0563	C ₁₆ H ₁₁ O ₆	0.76	11.5	Diosmetin	+	tr	Angelis, 2020
41	8.03	303.0513	C ₁₅ H ₁₁ O ₇	1.49	10.5	Taxifolin	+	tr	Angelis, 2020
	Other compounds								
42	0.79	195.0512	C ₆ H ₁₁ O ₇	0.9	1.5	Gluconic acid or galactonic acid	+	+	Angelis, 2020
43	0.88	133.0143	C ₄ H ₅ O ₅	0.85	2.5	Malic acid	+	+	Angelis, 2020
44	1.10	191.0199	C ₆ H ₇ O ₇	1.28	3.5	Citric acid	tr	tr	Angelis, 2020
45	6.67	312.1243	C ₁₈ H ₁₈ O ₄ N	0.636	10.5	Moupinamide	+	+	Gutiérrez, 2010
46	6.67	282.1138	C ₁₇ H ₁₆ O ₃ N	1.04	10.5	Paprazine	+	+	Gutiérrez, 2010
47	7.03	342.1349	C ₁₉ H ₂₀ O ₅ N	0.655	10.5	n-trans-feruloy 4' O methyl dopamine	+	+	Gutiérrez, 2010
48	15.18	455.3532	C ₃₀ H ₄₇ O ₃	0.44	7.5	Oleanolic acid	+	tr	Angelis, 2020



Εικόνα S16. % παρεμπόδισης γαλλικού οξέος (GA) από DPPH. Απορρόφηση στα 517nm.



Εικόνα S17. % παρεμπόδισης ABTS από Trolox. Απορρόφηση στα 734nm.