



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

«Απομόνωση και Βιολογική δράση Ενεργών Συστατικών Φυσικών Προϊόντων»

Σταυρούλα Αναστασοπούλου

Γεωπόνος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

2018



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

«Απομόνωση και Βιολογική δράση Ενεργών Συστατικών Φυσικών Προϊόντων»

Σταυρούλα Αναστασοπούλου
Γεωπόνος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
2018

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Χημείας της Σχολής Θετικών
Επιστημών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του
συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2»

Ορισμός Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 779Α^Α/ 19-02-2010

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων:

Δήμητρα Κόβαλα – Δεμερτζή, Ομοτ. Καθ. Του Τμημ. Χημείας ΠΙ

Μέλη:

Ιωάννη Πλακατούρα, Καθηγητή του τμήματος Χημείας του ΠΙ

Κωνσταντίνο Σταλικά, Καθηγητή του τμήματος Χημείας του ΠΙ

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 19-03-2010

Θέμα: **«Απομόνωση και Βιολογική δράση Ενεργών Συστατικών Φυσικών Προϊόντων»**

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 957.Α²⁰-10-17

1. Δήμητρα Κόβαλα – Δεμερτζή, Ομοτ. Καθ. Του Τμημ. Χημείας ΠΙ
2. Ιωάννη Πλακατούρα, Καθηγητή του τμήματος Χημείας του ΠΙ
3. Κωνσταντίνο Σταλικά, Καθηγητή του τμήματος Χημείας του ΠΙ
4. Θεμιστοκλή Καμπανό, Καθηγητή του τμήματος Χημείας του ΠΙ
5. Αθανάσιο Βλεσσίδη, Καθηγητή του τμήματος Χημείας του ΠΙ
6. Εμμανουήλ Μάνο, Επίκ. Καθηγητή του τμήματος Χημείας του ΠΙ
7. Νικόλαο Κουρκουμέλη, Επίκ. Καθηγητή της Ιατρικής σχολή του ΠΙ

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 06-02-2018

Η Πρόεδρος του Τμήματος Χημείας
Λέκκα Μαρία - Ελένη, Καθηγήτρια

Η Γραμματέας του Τμήματος
Ελένη Αδαμαντίου

Προς την Γραμματεία του Τμήματος Χημείας
του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ιωάννινα 6 Φεβρουαρίου 2018

**ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΤΗΣ ΥΠΟΨΗΦΙΑΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΟΣ κ.
ΣΤΑΥΡΟΥΛΑ ΑΝΑΣΤΑΣΟΠΟΥΛΟΥ**

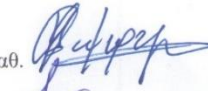


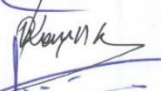

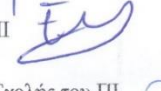

Η κ. Σταυρούλα Αναστασοπούλου έχει ολοκληρώσει τη συγγραφή της διδακτορικής της διατριβής με θέμα: "Απομόνωση και Βιολογική δράση Ενεργών Συστατικών Φυσικών Προϊόντων". Σήμερα στις 6 Φεβρουαρίου 2018 και ώρα 11.0 πμ, η επταμελής εξεταστική επιτροπή αποτελούμενη από τους:

1. Δήμητρα Κόβαλα-Δεμερτζή, Ομοτ. Καθ. Επιβλέπουσα Καθ.
2. Γιάννη Πλακατούρα, Καθηγητή του Τμημ. Χημείας ΠΙ
3. Κωνσταντίνο Σταλικά, Καθηγητή του Τμημ. Χημείας ΠΙ
4. Θεμιστοκλή Καμπανό, Καθηγητή του Τμημ. Χημείας ΠΙ
5. Αθανάσιο Βλεσσίδα, Καθηγητή του Τμημ. Χημείας ΠΙ
6. Εμμανουήλ Μάνο, Επικ. Καθηγητή του Τμημ. Χημείας ΠΙ
7. Νικόλαος Κουρκουμέλης, Επικ. Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του ΠΙ

που ορίστηκε με την απόφαση του Τμήματος Χημείας συνήλθε στην αίθουσα Χ2-094, του Τμήματος Χημείας, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και παρακολούθησε τη δημόσια παρουσίαση της διατριβής της υποψήφιας διδάκτορος κ. Σταυρούλα Αναστασοπούλου με θέμα: "Απομόνωση και Βιολογική δράση Ενεργών Συστατικών Φυσικών Προϊόντων".

Η κ. Αναστασοπούλου ανέπτυξε επί μία περίπου ώρα τα κυριότερα αποτελέσματα της διατριβής της, απάντησε σε ερωτήσεις του ακροατηρίου και στη συνέχεια σε ερωτήματα της εξεταστικής επιτροπής. Στη συνέχεια αποχώρησε η κ. Αναστασοπούλου μαζί με το ακροατήριο, ενώ η επταμελής εξεταστική επιτροπή μετά από σύσκεψη και λεπτομερή συζήτηση έκρινε ότι η διατριβή είναι πρωτότυπη και συμβάλλει στην εξέλιξη της επιστήμης κι έτσι αποφάσισε ομόφωνα να προτείνει στη Γενική Συνέλευση την απονομή στην κ. Σταυρούλα Αναστασοπούλου του τίτλου της Διδάκτορος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, με βαθμό "Άριστα" (δέκα-10).

Η Εξεταστική Επιτροπή

1. Δήμητρα Κόβαλα-Δεμερτζή, Ομοτ. Καθ. Επιβλέπουσα Καθ. 
2. Γιάννη Πλακατούρα, Καθηγητή του Τμημ. Χημείας ΠΙ 
3. Κωνσταντίνο Σταλικά, Καθηγητή του Τμημ. Χημείας ΠΙ 
4. Θεμιστοκλή Καμπανό, Καθηγητή του Τμημ. Χημείας ΠΙ 
5. Αθανάσιο Βλεσσίδα, Καθηγητή του Τμημ. Χημείας ΠΙ 
6. Εμμανουήλ Μάνο, Επικ. Καθηγητή του Τμημ. Χημείας ΠΙ 
7. Νικόλαος Κουρκουμέλης, Επικ. Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του ΠΙ 

Ευχαριστίες

Η παρούσα εργασία ξεκίνησε το Φεβρουάριο του 2010 και ολοκληρώθηκε τον Ιανουάριο του 2018. Τα πειράματα αυτής πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Ανόργανης Χημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, με επιβλέπουσα την Καθηγήτρια Δήμητρα Κόβαλα – Δεμερτζή. Για όλη αυτή τη μακρόχρονη πορεία, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω ολόψυχα όλους όσους με βοήθησαν με κάθε τρόπο, αφιερώνοντάς μου από το χρόνο και τη σκέψη τους. Συγκεκριμένα:

Ευχαριστώ θερμά την **Δήμητρα Κόβαλα – Δεμερτζή, Ομότιμη Καθηγήτρια** του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, επιβλέπουσα της παρούσας εργασίας, καταρχήν που με ένταξε στην ερευνητική της ομάδα, με την υπόδειξη του θέματος, αλλά και την επιμέλεια και καθοδήγηση σε όλη τη διάρκεια και σε όλα τα στάδια πραγματοποίησής της (θεωρητικό, πειραματικό, συγγραφή), ιδιαίτερα δε για το άριστο περιβάλλον συνεργασίας που μου παρείχε. Ευχαριστώ, επίσης τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, **Ιωάννη Πλακατούρα**, Καθηγητή του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και **Κωνσταντίνο Σταλίκια**, Καθηγητή του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων που με τίμησαν με την συμμετοχή τους, όπως και με τις υποδείξεις στη συγγραφή και παρουσίαση των αποτελεσμάτων.

Ευχαριστώ τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής,

Θεμιστοκλή Καμπανό, Καθηγητή του τμήματος Χημείας του ΠΙ

Αθανάσιο Βλεσσίδη, Καθηγητή του τμήματος Χημείας του ΠΙ

Εμμανουήλ Μάνο, Επίκ. Καθηγητή του τμήματος Χημείας του ΠΙ

Νικόλαο Κουρκουμέλη, Επίκ. Καθηγητή της Ιατρικής σχολής του ΠΙ

που με τίμησαν ιδιαίτερα με τη συμμετοχή τους σ' αυτή.

Ευχαριστώ τον **Παναγιώτη Τρίγκα**, Επίκουρο Καθηγητή στο Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής του Τμήματος Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την ταυτοποίηση του αυτοφυούς φυτικού υλικού και στη συνέχεια τοποθέτησή του στο Ερμπάριο (Herbarium) του Γ. Π.Α, (Α.Σ.Α.).

Ευχαριστώ τη **Tatjana P Stanojkovic** για την in vitro μελέτη της βιολογικής δράσης φυτικών εκχυλισμάτων εναντίον καρκινικών και φυσιολογικών κυτταρικών σειρών.

Ευχαριστώ τον **Γκιώκα Δημοσθένη**, Επίκουρο Καθηγητή Επικ. Καθηγητή του τμήματος Χημείας του ΠΙ και τους **Dr. Μπότη Βασιλική** και **Dr. Καρκαμπούνα Αθανάσιο** για τη βοήθειά τους κατά τη διάρκεια των πειραμάτων χρωματογραφίας.

Ευχαριστώ απεριόριστα όλους τους συνεργάτες στο εργαστήριο Ανόργανης Χημείας, **Dr Αναστασία Πουρνάρα**, **Dr. Αγγελική Ζαρλαχά**, **Dr. Malgozata Staniska**, **Dr. Αλεξάνδρα Πριμηκύρη**, **Msc. Αναστασία Καραγιώργου**, **Msc. Αντιγόνη Δούβαλη** και **Msc. Σοφία Ράπτη** για κάθε επιμέρους συμβολή τους σ' αυτή την εργασία αλλά και τις πολλές στιγμές που μοιράστηκα μαζί τους.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα την αγαπημένη φίλη **Δήμητρα Λαμπροπούλου**, **Επίκουρη Καθηγήτρια** του τμήματος Χημείας του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, για την ακούραστη, πολύτιμη βοήθειά της.

Ευχαριστώ τους φίλους από την Κοζάνη **Στέργιο** και **Θεοδώρα**, για το φυτικό υλικό της περιοχής τους που απλόχερα μου προμήθευσαν, τους φίλους από την Άρτα **Κώστα**, **Βαλεντίνα**, και **Παύλο** για το αντίστοιχο φυτικό υλικό.

Τέλος, ευχαριστώ πολύ τους πολύ δικούς μου ανθρώπους: το σύζυγό μου Βασίλη, τις θυγατέρες μας Ελευθερία και Ανθή για το ενδιαφέρον τους και τη στήριξή τους γ' αυτή μου την προσπάθεια.

Περίληψη

Η παρούσα διδακτορική διατριβή περιλαμβάνει τη μελέτη της χημικής σύστασης και βιολογικής δράσης πέντε αυτοφυών taxa *Sideritis*: δύο taxa *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* που συλλέχθηκαν στο Συρράκο Ιωαννίνων και το Κελλάρι Μελλισουργών Άρτας, δύο taxa *S. scardica* Griseb που συλλέχθηκαν στο Βούρινο -Ροδιανής Κοζάνης και την Κρυσταλοπηγή Φλώρινας, ένα taxon *S. perfoliata* L. ssp *perfoliata* που συλλέχθηκε στην Κορυφή Τρικάλων. Γίνεται συγκριτική προσέγγιση μεταξύ των taxa *Sideritis*, καθώς και με ένα εμπορικό σκεύασμα πράσινου τσαγιού (*C. sinensis*, γνωστό για το μεγάλο εύρος ερευνών και την πληθώρα δράσεών του), τσάι Κεϋλάνης.

Ειδικότερα, πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις με τρεις διαλύτες διαφορετικής πολικότητας (μεθανόλη, νερό και εξάνιο). Στα ξηρά εκχυλίσματα:

- έγινε έλεγχος ως προς την απόδοση επί τοις εκατό της εκχύλισης σε στερεό για κάθε φυτικό είδος,
- έγινε έλεγχος ως προς την περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή και ολικά φαινολικά, καθώς και ως προς την αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο του DPPH και σύγκριση με την αντιοξειδωτική δράση των πρότυπων ουσιών Quercetin, Vitamin C και Troxol,
- έγινε ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός με τη χρήση πρότυπων ουσιών (οκτώ φαινολικά οξέα, εννέα φλαβονοειδή, το φαινυλεθανοειδή γλυκοζίτη βερμπασκοσίδη, δύο μονοτερπενοειδή και δύο τριτερπενοειδή), με υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας UHPLC/LTQ-Orbitrap XL
- έγινε έλεγχος ως προς την βιολογική δράση σε καρκινικές κυτταρικές σειρές και σύγκριση με φυσιολογικά κύτταρα.

Τα αποτελέσματα βρέθηκαν παρόμοια μεταξύ των taxa *Sideritis*, ενώ παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ αυτών και του *C. Sinensis*. Συγκεκριμένα, τα taxa *Sideritis* παρουσίασαν τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή σε υψηλής πολικότητας διαλύτες (μεθανόλη, νερό). Αντίθετα στο *C. sinensis* η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή βρέθηκε στο διαλύτη εξάνιο. Η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά των εκχυλισμάτων *C. sinensis* είναι 1,5 – 3 φορές υψηλότερη των εκχυλισμάτων των taxa *Sideritis* και για τις τρεις περιπτώσεις διαλυτών. Στο *C. Sinensis* οι τιμές IC₅₀ της αντιοξειδωτικής δράσης βρέθηκαν 1,8 – 2,9 φορές μικρότερες από αυτές των taxa *Sideritis*. Το μεθανολικό εκχύλισμα του *C. Sinensis* εμφάνισε τιμή όμοια με τις πρότυπες ουσίες. Τέλος, συγκρίνοντας τα αποτελέσματα IC₅₀ που βρέθηκαν για τα εκχυλίσματα με αυτά των πρότυπων ουσιών, όλα τα μεθανολικά και υδατικά εκχυλίσματα χαρακτηρίζονται ως μέτριας αντιοξειδωτικής δράσης, με εξαίρεση το μεθανολικό εκχύλισμα του *C. Sinensis* που εμφάνισε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, όλα δε τα εξανικά εκχυλίσματα χαρακτηρίζονται ασθενούς αντιοξειδωτικής δράσης. Επιπλέον, το taxon *S. perfoliata L. ssp perfoliata* (το οποίο είναι περιορισμένης γεωγραφικής εξάπλωσης και έχει μελετηθεί ελάχιστα) παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής δράσης μεταξύ των taxa *Sideritis*.

Κατά τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό, προέκυψαν παρόμοια αποτελέσματα για τα taxa *Sideritis* και διαφορετικά για το *C. Sinensis*. Για τις ουσίες που βρέθηκαν εκατέρωθεν (taxa *Sideritis* & *C. Sinensis*) τα επίπεδα συγκέντρωσης στο *C. Sinensis* είναι πολλαπλάσια των taxa *Sideritis*.

Ειδικότερα, για τα taxa *Sideritis* :

- τα φαινολικά οξέα βρέθηκαν σε όλα σχεδόν τα taxa και σε όλους τους διαλύτες, με τα μεγαλύτερα επίπεδα συγκέντρωσης στη μεθανόλη. Στο *S. perfoliata L. ssp.perfoliata*, έξι φαινολικά οξέα βρέθηκαν για πρώτη φορά.

- τα φλαβονοειδή βρέθηκαν στους κυρίως στους πολικούς διαλύτες, ενώ βρέθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις στο ίδιο taxon, που συλλέχθηκε σε διαφορετική περιοχή, ενισχύοντας την άποψη ότι η χημική σύσταση ενός φυτού εξαρτάται από πολλούς παράγοντες (κλιματικούς, εδαφολογικούς, κ.λ.π.). Η καμφερόλη βρέθηκε για πρώτη φορά στα taxa *Sideritis* που μελετήθηκαν.
- το urcolic acid από τα τριτερπενοειδή βρέθηκε σε ίχνη σε όλα τα εξανικά εκχυλίσματα των taxa *Sideritis*, ανιχνεύεται δε για πρώτη φορά σ' αυτά.
- Το σεσκιτερπένιο 1a-acetoxy-8a-hydroxy-2-oxoeudesman-3,7(11)-dien-8,12-olide, που προσδιορίστηκε στα εκχυλίσματα του *S. perfoliata L. ssp.perfoliata*, βρέθηκε για πρώτη φορά στο γένος *Sideritis*.

Τέλος, ελέγχθηκε η κυτταροτοξικότητα *in vitro*, έναντι τεσσάρων κυτταρικών σειρών και συγκρίθηκε με το cis-Diamminadichloroplatinum (cis-platin). Οι κυτταρικές σειρές είναι: HeLa (ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας), A549 (ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα αδενοκαρκινώματος), LS174 (ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα εντέρου) και η σειρά MRC5 (φυσιολογικά κύτταρα ανθρώπινου ιστού πνεύμονα) και ελήφθησαν από την American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA). Τα αποτελέσματα συγκρινόμενα με cis-DDP υπολείπονται της κυτταροτοξικής δράσης τους. Όμως, θα μπορούσαν να αξιολογηθούν ως ενδιαφέροντα τα αποτελέσματα του εξανικού εκχυλίσματος του *S. perfoliata L. ssp.perfoliata*, το οποίο παρουσίασε τη μεγαλύτερη δραστηριότητα έναντι και των τριών καρκινικών σειρών ακόμα, και από αυτή του *C. Sinensis*, ενώ εμφάνισε επιλεκτική δραστηριότητα για τη φυσιολογική κυτταρική σειρά. Ενδιαφέρον παρουσίασαν τα αποτελέσματα για τη δραστηριότητα των μεθανολικών και υδατικών εκχυλισμάτων των άλλων δυο taxon *Sideritis* στην καρκινική σειρά κυττάρων, HeLa.

ABSTRACT

This thesis focuses on the study of the chemical composition and biological activity of five native taxa *Sideritis*: two taxa *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* were collected in Syrrako of Ioannina and in Kellari of Melissourgí, two taxa *S. scardica* Griseb were collected in Vourino in Rhodian of Kozani and in Krystallopigi of Florina, one taxon *S. perfoliata* L. ssp. *perfoliata* was collected in Koryfi of Trikala. A comparative approach between *Sideritis* taxa and a commercial Ceylon green Tea (*C. sinensis*, known for its use in a wide range of research and its many biological activities) has been performed.

In particular, extractions were performed with three solvents of different polarity (methanol, water, hexane). Dry extracts:

- were tested for their percent yield of solid extraction for each plant species,
- were tested for their content in total flavonoids and total phenolics as well as for their antioxidant activity with the DPPH test and were compared with the antioxidant activity of the standard compounds Quercetin, Vitamin C and Trolox,
- were qualitatively and quantitatively determined with standard compounds (eight phenolic acids, nine flavonoids, phenylethanoid glycoside verbascoside, two monoterpenoids and two triterpenoids) using ultra high pressure liquid chromatography coupled to high resolution and precision mass spectrometry and UHPLC / LTQ-Orbitrap XL,
- were tested for their biological activity.

The results were found to be similar among *Sideritis* taxa, while there were differences between them and *C. Sinensis*. In particular, *Sideritis* taxa exhibited the highest content in total flavonoids in highly polar solvents (methanol, water). In contrast to *C. sinensis* the highest

content of total flavonoids was found in the solvent hexane. The total phenolic content of *C. sinensis* extracts was 1.5 to 3 times higher than the extracts of *Sideritis* taxa for all three solvents. In *C. Sinensis*, the IC₅₀ values of the antioxidant activity were 1.8 to 2.9 times lower than those of *Sideritis* taxa. The methanolic extract of *C. Sinensis* displayed a similar value to the standard compounds. Finally, we compared the results (IC₅₀) of the extracts with those of the standard compounds and all the methanolic and aqueous extracts were characterized by moderate antioxidant activity, except of the *C. sinensis* methanol extract, which had a strong antioxidant effect, and all hexane extracts were characterized by a weak antioxidant activity. In addition, *S. perfoliata* L. *ssp perfoliata* (which is of limited geographic spread and has been less studied) frequently presented the highest values of antioxidant activity among the *Sideritis* taxa.

We obtained similar quantitative and qualitative results for the *Sideritis* taxa while different ones for *C. Sinensis*. The concentration levels of compounds which were found in both species (taxa *Sideritis* & *C. Sinensis*) were higher in *C. Sinensis* than in those of taxa *Sideritis*.

In particular, for *Sideritis* taxa:

- phenolic acids were found in almost all taxa and in all solvents, with the highest concentration levels in methanol. In *S. perfoliata* L. *ssp.perfoliata*, six phenolic acids were found for the first time
- flavonoids were found in polar solvents, but in different concentrations? within the same taxon, which were collected in a different region, reinforcing the view that the chemical composition of a plant depends on many factors (climatic, soil, etc.). Kaempferol was found for the first time in the *Sideritis* taxa that was studied
- urcolic acid by triterpenoids was found in traces in all hexan extracts of the *Sideritis* taxa and was detected for the first time in them

- 1a-acetoxy-8a-hydroxy-2-oxoeudesman-3,7(11)-dien-8,12-olide by sesquiterpenes was found in extracts of *S. perfoliata* L. *spp.perfoliata* was detected for the first time in *Sideritis* sp.

Finally, the biological activity was tested *in vitro* against four cell lines and was compared to cis-Diamminadichloroplatinum (cis-platin). Cell lines were: HeLa (human cervical cancer cells), A549 (human adenocarcinoma cancer cells) and LS174 (human intestinal cancer cells) and the MRC5 series (normal human lung tissue cells) and they were obtained from the American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA). The results were compared to cis-DDP, which showed the highest cytotoxic activity. Interestingly, the *S. perfoliata* L. *spp.perfoliata* extract exhibited the highest activity against the three cancer cell lines among all the extracts, including that of *C. Sinensis*, with a selective activity for the normal cell line. Finally, the results for the activity of the methanolic and aqueous extracts of the other two *Sideritis* taxon in the HeLa cell cancer cell line were also of inte

Πίνακας περιεχομένων

Α' ΜΕΡΟΣ : ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ

1^ο Κεφάλαιο : ΤΣΑΙ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ (*Sideritis ssp.*)

1.1. Ιστορικά στοιχεία	9
1.2. Βοτανική περιγραφή	10
1.2.1. Γεωγραφική Εξάπλωση - Συστηματική Ταξινόμηση	10
1.2.2. Αυτοφυή είδη του γένους <i>Sideritis</i> στην Ελλάδα – Βοτανικά χαρακτηριστικά.....	12
1.2.3. Βοτανικά χαρακτηριστικά και γεωγραφική εξάπλωση των μελετώμενων taxa	14
1.3. Χημική σύσταση	19
1.3.1. Τερπένια του γένους <i>Sideritis</i>	20
1.3.2. Αιθέρια έλαια του γένους <i>Sideritis</i>	25
1.3.3. Φαινολικά συστατικά του γένους <i>Sideritis</i>	28
1.3.4. Αλκαλοειδή.....	34
1.4. Βιολογικές δράσεις – χρήσεις.....	47
1.4.1. Παραδοσιακή (Λαϊκή) Ιατρική.....	47
1.4.2. Αποτελέσματα ερευνών.....	48
1.5. Βιβλιογραφικές Αναφορές.....	54

2^ο Κεφάλαιο : ΠΡΑΣΙΝΟ ΤΣΑΙ (*Camellia sinensis*)

2.1. Ιστορικά στοιχεία.....	66
2.2. Βοτανική περιγραφή - καλλιέργεια	67
2.3. Χημική σύσταση	70
2.4. Βιολογικές δράσεις – χρήσεις.....	72
2.5. Βιβλιογραφικές Αναφορές.....	78

3^ο Κεφάλαιο : ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ - ΕΝΟΡΓΑΝΕΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

3.1. Αντιοξειδωτική δράση	85
3.1.1. Ελεύθερες ρίζες (Free radicals) - Δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive oxygen species, ROS).....	85

3.1.2.	Τι ορίζεται ως «αντιοξειδωτικό»	86
3.1.3.	Δοκιμή δέσμευσης της σταθερής ρίζας DPPH [*] [1,1-διφαινυλο-2-πικρυλυδραζυλ (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical)].....	89
3.1.4.	Άλλες προσεγγίσεις αξιολόγησης του αντιοξειδωτικού δυναμικού.....	92
3.1.5.	Βιβλιογραφική ανασκόπηση για τα φυτά <i>C. Sinensis</i> (green tea) και <i>Sideritis sp.</i> της περιεκτικότητας σε ολικά φαινολικά, ολικά φλαβονοειδή και της αντιοξειδωτικής ικανότητας με δοκιμή DPPH [*] σε IC ₅₀	95
3.2.	Φασματομετρία μάζας (Mass spectrometry).....	105
3.2.1.	Υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης συζευγμένη με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας UHPLC/LTQ-ORBITRAP XL.....	106
3.3.	Βιβλιογραφικές Αναφορές.....	108

Σκοπός της εργασίας

115

Β' ΜΕΡΟΣ : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ

4^ο Κεφάλαιο : ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΟΡΓΑΝΑ - ΓΥΑΛΙΝΑ ΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

4.1.	Διαλύτες	121
4.2.	Όργανα – Συσκευές.....	121
4.3.	Αντιδραστήρια	122
4.4.	Γυάλινα σκεύη και υλικά:	122
4.5.	Πρότυπες ουσίες.....	123

5^ο Κεφάλαιο : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

5.1.	Φυτικό υλικό	127
5.2.	Διαδικασία εκχύλισης.....	132
5.3.	Μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων.....	134
5.3.1.	Προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε ολικά φλαβονοειδή.....	134
5.3.2.	Προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε ολικά φαινολικά	135
5.3.3.	Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης με δοκιμή DPPH [*]	136
5.4.	Προσδιορισμός ουσιών στα εκχυλίσματα των taxa <i>Sideritis</i> & του <i>C. sinensis</i> με χρήση χρωματογραφίας φασματομετρίας υψηλής διακριτικής ικανότητας : Υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης συζευγμένη με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας UHPLC/LTQ-ORBITRAP XL.....	137
5.5.	Έλεγχος της βιολογικής (κυτταροτοξικής) δράσης <i>in vitro</i>	139
5.5.1.	Κυτταρικές Σειρές	139

5.5.2. Προσδιορισμός των επιζώντων κυττάρων με δοκιμή 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT).....	141
5.6. Βιβλιογραφικές Αναφορές.....	142
6ο Κεφάλαιο : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	
6.1. Εκχύλιση	145
6.2. Αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων.....	148
6.2.1. Ολικά φλαβονοειδή.....	148
6.2.2. Ολικά φαινολικά	152
6.2.3. Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη δοκιμή DPPH'.....	155
6.2.4. Συσχέτιση ολικών φαινολικών – αντιοξειδωτικών	165
6.3. Προσδιορισμός ουσιών με χρήση χρωματογραφίας φασματομετρίας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας UHPLC/LTQ-ORBITRAP XL	168
6.3.1. Φαινολικά οξέα	200
6.3.2. Φλαβονοειδή	207
6.3.3. Φαινυλεθανοειδείς γλυκοζίτες.....	212
6.3.4. Φλαβαν 3 όλες	214
6.3.5. Μονοτερπενοειδή	214
6.3.6. Σεσκιτερπένια	214
6.3.7. Τριτερπενοειδή	214
6.4. <i>In vitro</i> κυτταροτοξική δράση.....	215
6.5. Βιβλιογραφικές Αναφορές.....	223
Συμπεράσματα	229
Περιεχόμενοι πίνακες, γραφήματα και εικόνες	235
Παράρτημα	243

Α΄ ΜΕΡΟΣ: ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ

1^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ : ΤΣΑΙ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ
(Sideritis ssp.)

1.1. Ιστορικά στοιχεία

Το φυτό του Σιδερίτη, στην Ελλάδα είναι γνωστό από την αρχαιότητα καθώς υπάρχουν αρκετές αναφορές σ' αυτό. Συγκεκριμένα, αναφέρεται από το Θεόφραστο¹ (370-285 π.Χ.), ενώ η πρώτη περιγραφή των Σιδηρίτιδων δόθηκε από τον Πεδάνιο Διοσκουρίδη² (1^{ος} μ.Χ. αιώνα), στο έργο του «Περί Ύλης Ιατρικής» (*De Materia Medica*) όπου αναφέρονται τρία είδη, «Περί Σιδηρίτιδος, Περί ετέρας Σιδηρίτιδος (*Andere Sideritis*) και Περί απόμακρης Σιδηρίτιδος (*Weitere Sideritis*)». Αργότερα, σε μια μετάφραση του έργου του Διοσκουρίδη, τα είδη αυτά αντιστοιχήθηκαν στο *Stachys recta* (*Lamiaceae*), στο *Poterium polygamum* (*Rosaceae*) και στο *Scrophularia lucida* (*Scrophulariaceae*). Στην αρχαιότητα το όνομα «σιδηρίτις» αναφερόταν σε διάφορα φυτά, τα οποία θεωρούνταν ότι είχαν την ικανότητα να επουλώνουν τις σοβαρές πληγές από σιδερένια αντικείμενα, όπως τα βέλη, τα ξίφη κλπ. Σύμφωνα με άλλη εκδοχή, η ονομασία του φυτού οφείλεται στην υψηλή περιεκτικότητάς σε σίδηρο που χαρακτηρίζουν τα ροφήματά του και κατ' άλλους, στο σχήμα των οδόντων του κάλυκα, που μοιάζουν με αιχμή λόγχης [1] [2] [3].

Η πρώτη ολοκληρωμένη περιγραφή των ειδών του Σιδερίτη έγινε από τον Κάρολο Λινναίο (1707-1778), ο οποίος ήταν ο θεμελιωτής της σύγχρονης ταξινόμησης τόσο των ζώων όσο και των φυτών και αυτός που καθιέρωσε το διωνυμικό σύστημα ονοματολογίας (*binomial system*)³ [4].

¹ Στο έργο του «Περί Φυτών Ιστορίαι» κατατάσσει 480 περίπου ταξινομικές μονάδες, χρησιμοποιώντας κυρίως τους πλέον εμφανείς χαρακτήρες της εξωτερικής μορφολογίας (δέντρα, θάμνοι, φρύγανα, πόες), αλλά προοδευτικά εισήγαγε και άλλα γνωρίσματα (π.χ. υποφυής – επιφυής ωοθήκη).

² Στο έργο του *De Materia Medica* περιέγραψε περίπου 600 ταξινομικές μονάδες και έδωσε λεπτομερώς τις χρήσιμες εφαρμογές του

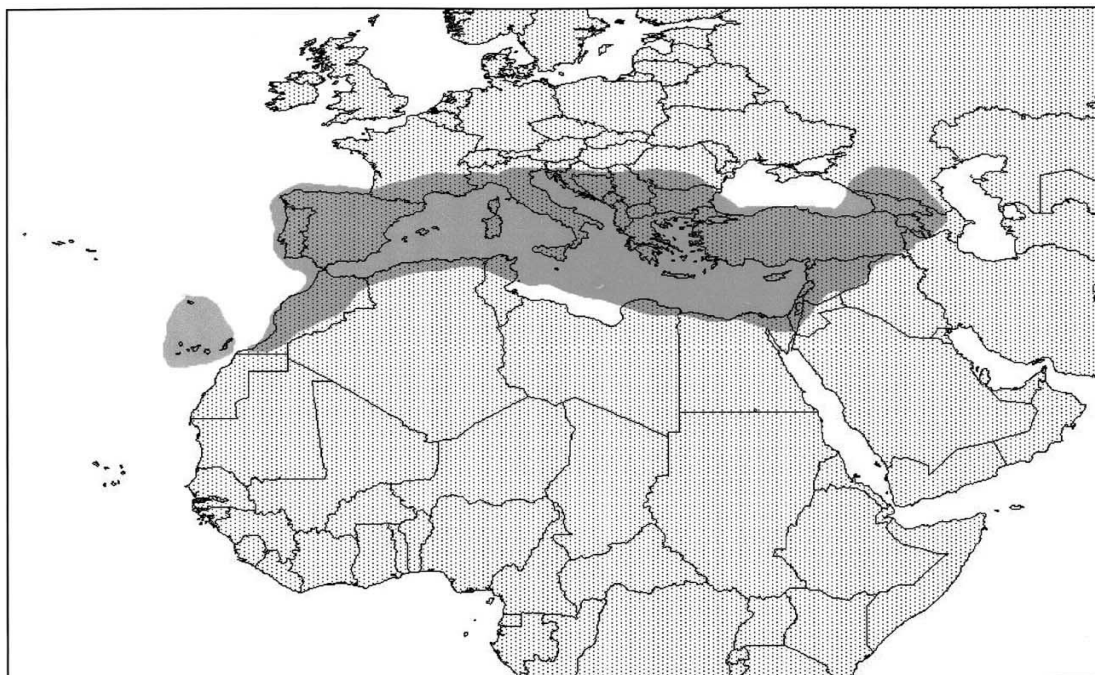
³ Τα επιστημονικά ονόματα των ειδών σχηματίζονται από το συνδυασμό δύο όρων: το όνομα του γένους και το όνομα του είδους, π.χ. *Homo sapiens* (*Άνθρωπος ο σοφός*).

Η κατά Λιναίου κατάταξη, διατηρείται μέχρι που οι Webb και Berthelot το 1836 υποστήριξαν ότι αποτελούσαν ένα ξεχωριστό γένος, το οποίο ονόμασαν *Leucophaea*. Ο Bentham το 1948 κατέταξε τα είδη στο υπογένος *Marrubiastrum*, ενώ ο Bolle επανέφερε την κατά Λιναίου κατάταξη. Σήμερα, όλα τα είδη ανήκουν στο γένος *Sideritis*, η δε ταξινόμησή τους γίνεται κυρίως από τη φυτοχημική τους ανάλυση και δευτερευόντως από τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά [1].

1.2. Βοτανική περιγραφή

1.2.1. Γεωγραφική Εξάπλωση - Συστηματική Ταξινόμηση

Το γένος *Sideritis* περιλαμβάνει πάνω από 150 είδη θαμνωδών, ποωδών, ετήσιων και πολυετών φυτών, τα οποία κατανέμονται από τις Μπαχάμες μέχρι τη δυτική Κίνα και από τη Γερμανία μέχρι το Μαρόκο, αλλά κυρίως συναντώνται στη λεκάνη της Μεσογείου [5]. Περιλαμβάνει δε πολλά ενδημικά είδη, με την Ισπανία και την Τουρκία να κατέχουν το μεγαλύτερο αριθμό διαφορετικών ειδών [6] [7].



Εικόνα 1-1 : Εξάπλωση του γένους *Sideritis* [10]

Το γένος *Sideritis* διαχωρίζεται σε δύο υπογένη (subgenus) το *Marrubiastrum* και *Sideritis*. Στην πλειοψηφία τους τα είδη *Sideritis*, ανήκουν στο υπογένος *Sideritis*, που διαχωρίζεται στους επιμέρους τομείς (sections) *Sideritis* και *Empedoclia* (πολυετή είδη), *Hesiodia* και *Burgsdorfia* (ετήσια είδη). Τα είδη του section *Empedoclia* είναι χαρακτηριστικά στην Ιταλία, τα Βαλκάνια, τα νησιά του Αιγαίου, την Τουρκία και την Εγγύς Ανατολή [8] ενώ το κέντρο καταγωγής του section είναι η Τουρκία, με ένα ποσοστό ενδημικών ειδών 80% [5]. Το δε section *Sideritis* περιλαμβάνει είδη που ενδημούν στη Δυτική Μεσόγειο και που φτάνουν μέχρι τη Β. Ιταλία και τη Β. Τυνησία [9].

Πίνακας 1-1 : Ταξινομική Ιεράρχηση πάνω από το επίπεδο του είδους (species)

Βασίλειο (kingdom)	Plantae (Φυτά)
Άθροισμα (division)	Magnoliophyta (Αγγειόσπερμα)
Κλάση (class)	Magnoliatae (Δικότυλα)
Υποκλάση (subclass)	Asteridae (Αστερίδες)
Υπερτάξη (superorder)	Lamianae
Τάξη (order)	Lamiales
Οικογένεια (Family)	Lamiaceae (Χειλανθή)
Υποοικογένεια (subfamily)	Lamioideae (Λαμιώδη)
Γένος (genus)	<i>Sideritis</i>
Υπογένος (subgenus)	<i>Sideritis</i> & <i>Marrubiastrum</i>
Τομέας (section) <i>Sideritis</i>	<i>Sideritis</i> & <i>Empedoclia</i> (πολυετή είδη), <i>Hesiodia</i> & <i>Burgsdorfia</i> (ετήσια είδη).
Τομέας (section) <i>Marrubiastrum</i>	<i>Marrubiastrum</i>, <i>Empedocleopsis</i> & <i>Creticae</i>

Το άλλο υπογένος *Marrubiastrum* αντιπροσωπεύει ενδημικά πολυετή είδη του αρχιπελάγους της Μαδέρας και των Καναρίων Νήσων και υποδιαιρείται στα sections *Marrubiastrum*, *Empedocleopsis* και *Creticae* [10].

1.2.2. Αυτοφύη είδη του γένους *Sideritis* στην Ελλάδα – Βοτανικά χαρακτηριστικά

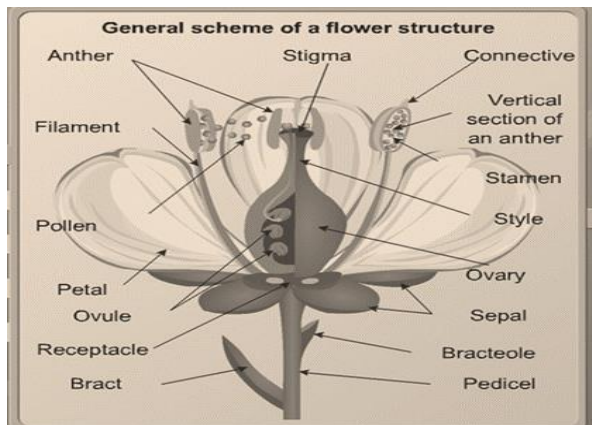
Στην Ελλάδα βρίσκονται αρκετά ενδημικά είδη του γένους *Sideritis*, τα οποία ποικίλουν ανάλογα με το γεωγραφικό διαμέρισμα και το υψόμετρο (που κυμαίνεται από 500 έως 2.000 μέτρα) όπου φύονται. Υπολογίζονται περίπου στα 183 καλλιεργούμενα είδη και 74 άγριας συγκομιδής, εκ των οποίων τα 17 αποτελούν ενδημικά είδη. Τα φυτά ευδοκιμούν σε ασβεστολιθικά, ξηρά πετρώδη και γενικά υποβαθμισμένα εδάφη. Στην χώρα μας, αυτοφύεται σχεδόν αποκλειστικά στις ορεινές περιοχές και κυρίως στην Ήπειρο, τη Μακεδονία, την Κρήτη, τα Ιόνια νησιά, το Πήλιο και την Εύβοια. Στα κυριότερα ενδημικά είδη της Ελλάδας περιλαμβάνονται τα παρακάτω είδη:

1. *S. sipylea* Boiss. Είναι είδος της Δυτικής και Κεντρικής Ανατολίας, που εξαπλώνεται στα νησιά του Ανατολικού Αιγαίου (Λέσβος, Χίος, Σάμος, Ικαρία) όπου φύεται σε ανοικτά, βραχώδη μέρη πάνω από 1.400 μ. Συγγενεύει με τα είδη της Ανατολίας *Sideritis brevidens* P.H. Davis και *Sideritis erythrantha* Boiss & Heldr. Ex Benth.
2. *S. athoa*, Papan. & Kokkini. Γνωστό με τα κοινά ονόματα ως **τσάϊ Βλάχικο** και στο Άγιο Όρος ως **Μπεττόνικα**. Αυτοφύεται στον Αθω, στην Πίνδο και στα ορεινά της νήσου Σαμοθράκης. Συνώνυμο με αυτό είναι το *Sideritis perfoliata* L.
3. *S. clandestina* Chaub. & Bory: Γνωστό ως **τσάϊ του Μαλεβού** ή **τσάϊ του Ταύγετου**. Αυτοφύεται πάνω στους βράχους στις υπαλπικές περιοχές του Μαλεβού, του Ταύγετου και της Κυλήνης. Συνώνυμα με αυτό είναι τα: *Sideritis theezans* Boiss & Heldr., *S. cretica* Sibth & Sm., *S. syriaca* Bory et Chaub., *S. peloponnesiaca* Boiss & Heldr., *Phlomis clandestina* Ch. & B.
4. *S. scardica* Griseb. Είναι γνωστό ως **τσάϊ του Ολύμπου**. Αυτοφύεται σε βραχώδη εδάφη της υπαλπικής ζώνης του Ολύμπου, Κισσάβου, Πηλίου και Σκάρδου. Συνώνυμο με αυτό είναι το *Sideritis florida* Boiss & Heldr. Στο είδος αυτό υπάγονται τα υποείδη:

- α) *S. scardica* Griseb. ssp. *scardica* που αυτοφύεται στο Βέρμιο και
- β) *S. scardica* Griseb. ssp. *longibracteata*.
5. *S. raeseri* Boiss & Heldr. Γνωστό ως **τσάι του Παρνασσού** ή **τσάϊ του Βελουχιού**. Αυτοφύεται στον Παρνασσό, Τυμφρηστό (Βελούχι) και σε άλλα βουνά της Αιτωλίας, Δωρίδας και Φθιώτιδας. Στο είδος αυτό υπάγονται τα υποείδη:
- α) *S. raeseri* Boiss & Heldr. ssp. *raeseri*
- β) *S. raeseri* Boiss & Heldr. ssp. *attica* (Heldr.), που αυτοφύεται στην Πάρνηθα και στο όρος Πατέρα της Αττικής.
- γ) *S. raeseri* Boiss & Heldr. ssp. *florida* Boiss & Heldr.
6. *S. syriaca* L. Είναι γνωστό ως **τσάι της Κρήτης**, ως **Μαλοτήρας** και ως **Καλοκοιμηθιά**. Αυτοφύεται στα ψηλά βουνά της Κρήτης και κυρίως στα Λευκά όρη και στον Ψηλορείτη, σε υψόμετρο από 1.300 έως 2.000 μέτρα. Συνώνυμο με αυτό είναι το *S. cretica* Boiss.
7. *S. euboica* Heldr. Γνωστό ως **τσάϊ της Εύβοιας** ή **τσάϊ από το Δέλφι**. Αυτοφύεται άφθονο στο βουνό Δίρφου σε υψόμετρο 1.000-1.500μ. και στις περιοχές Διάσελο Δίρφους, Σκοτεινή, Σέτα, Στρόπωνες Μετόχι κλπ. Επίσης υπάρχει στο Ξεροβούνι Εύβοιας σε υψόμετρο 1.400 μ.

Πρόκειται για πολυετείς πόες με ελαφρά ξυλώδη στέλεχος, συχνά χνουδωτό. Φέρουν φύλλα ακέραια ή οδοντωτά. Τα άνθη αναπτύσσονται κατά σπονδύλους, σε πυκνή ή αραιή διάταξη. Φέρουν βράκτια ολόκληρα, συνήθως όχι παρόμοια με φύλλα. Τα βρακτίδια απουσιάζουν. Ο κάλυκας αποτελείται από 10 νευρώσεις και 5 οδόντες. Η στεφάνη (πέταλα) του άνθους είναι

κίτρινη, σωληνοειδής μικρότερη από τον κάλυκα, με δυο χείλη, από τα οποία το επάνω αποτελείται από δυο συμφυή πέταλα και είναι δισχιδές, και το κάτω καταλήγει σε τρεις λοβούς



Εικόνα 1-2 : Γενικό σχήμα άνθους (Ανθήρας (anther), Στίγμα (stigma), Στήμονας (stamen), Στύλος (style), Ωοθήκη (ovary), Σέπαλο (sepal), Βρακτίδια (bracteole), Μίσχος (pedicel), Βράκτια (bracts), Ανθοδόχη (receptacle), Σπερματοβλάστης (ovule), Πέταλο (petal), Γύρη (pollen), Νήμα (filament))

με το μεσαίο μεγαλύτερο. Φέρει 4 στήμονες.

Ο καρπός είναι σχιζοκάρπιο⁴ και αποτελείται από 4 μονόσπερμα κάρυα⁵ με στρογγυλή κορυφή. Πενήντα είδη εμφανίζονται κυρίως στο Μεσογειακό χώρο και την Τουρκία, ευρέως γνωστά ως τσάι του βουνού [11] [12].

1.2.3. Βοτανικά χαρακτηριστικά και γεωγραφική εξάπλωση των μελετώμενων taxa

Τα βοτανικά χαρακτηριστικά των taxa⁶ που μελετώνται στην παρούσα εργασία περιγράφονται αμέσως κάτω:

- 1) ***S. raeseri* Boiss & Heldr. in Boiss.** Η περιγραφή του είδους έγινε σε είδος του Παρνασσού (Aug. 1856), από το γερμανό βοτανολόγο *Theodor Heinrich Hermann von Heldreich*, γι' αυτό λέγεται και τσάι Παρνασσού. Οι βλαστοί έχουν ύψος 10 - 50 εκ., είναι απλοί, γκριζωποί – εριώδεις. Τα φύλλα βάσης, είναι λογχοειδή προς αντωειδή, έμμισχα με μίσχο 5 - 20 χιλιοστά, έλασμα 12 - 60 X 5 - 8 χιλιοστά επίμηκες, υπόλευκα - χνουδωτά, ακέραια ή οδοντωτά, με αμβλεία κορυφή που στενεύουν προς τη βάση. Τα φύλλα του στελέχους με

⁴ Σχιζοκάρπιο: ανήκει στην κατηγορία των ψευδών καρπών, που για το σχηματισμό τους εκτός από την ωοθήκη λαμβάνουν μέρος και άλλα τμήματα του άνθους, όπου μετά την ωρίμανση διασπάται σε μονόσπερμα καπρίδια τα οποία συγκατοούνται σε κοινό ποδίσκο (καρποφόριο).

⁵ Κάρυα: πρόκειται για τους μεγαλύτερους από τους αδιάρρηκτους ξηρούς καρπούς, δηλαδή κατά την ωρίμανση ο καρπός παραμένει κλειστός.

⁶ taxa (taxon ενικός αριθμός): ταξινομική μονάδα, οποιαδήποτε ταξινομική ομαδοποίηση, π.χ. ένα άθροισμα, μια οικογένεια ή ένα γένος.

έλασμα 10 - 50 X 5 - 8 χιλιοστά, είναι σχεδόν άμισχα, στενά ελλειπτικά ως επιμήκη, οξεία. Η ταξιανθία κατά σπονδύλους αναπτύσσεται πυκνότερα στην κορυφή και πιο αραιά στη βάση, φτάνοντας σε ύψος 3 – 15 εκατοστά. Φέρουν μεσαία βράκτια διαστάσεων 5 – 20 X 8 – 19 χιλιοστά, μικρότερα ή μεγαλύτερα από τα άνθη ωοειδή προς στρογγυλά ή νεφροειδή, αδενώδη χνουδωτά, λογχοειδή με την αιχμηρή κατάληξη να κυμαίνεται μεταξύ 0.5 - 5 χιλιοστά. Ο κάλυκας είναι διαστάσεων 6 - 13 χιλιοστά, αδενώδης χνουδωτός, με οδόντες 2 - 4 χιλιοστά. Η στεφάνη είναι 8 - 15 χιλιοστά ανοιχτόχρωμη κίτρινη, το ανώτερο χείλος χωρίς καστανές ραβδώσεις. Ποικιλία ειδών εμφανίζεται στα Νότια & Ανατολικά της Βαλκανικής Χερσονήσου. Στην Ελλάδα μπορούν να αναγνωριστούν δύο υποείδη:

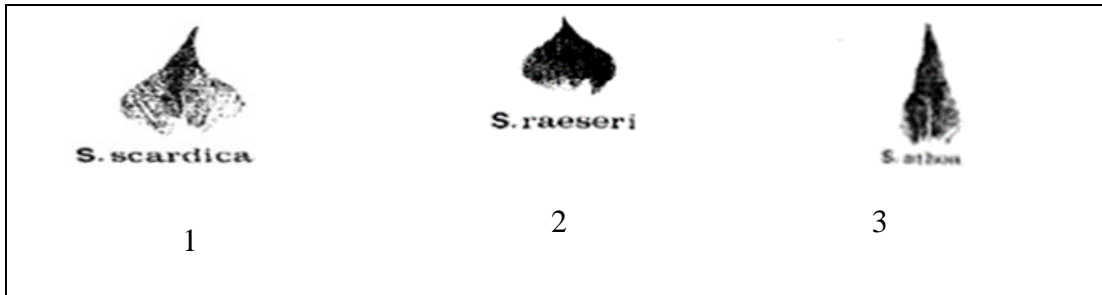
- *ssp. raeseri*. Φυτά 10 - 50 εκ.. Βράκτια 11 - 20 X 11 - 19 χιλιοστά, ισομήκη ή μεγαλύτερα των ανθέων, ωοειδή ή ωοειδή – στρογγυλά, με αιχμηρή κατάληξη 2 - 4 χιλιοστά. Φύεται σε απόκρημνες βραχώδεις περιοχές με υψόμετρο 1.800-2.400 μέτρα, ιδιαίτερα σε σχισμές βράχων, όπου ελάχιστα είδη φυτών θα μπορούσαν να επιβιώσουν. Ανθίζει από Ιούνιο μέχρι μέσα Αυγούστου. Συναντάται στη Στερεά Ελλάδα, στη Ν. & Β. Πίνδο, στον Όρθο, στο Πήλιο και στο Μπούτσι. Στο Δυτικό τμήμα της Βαλκανικής Χερσονήσου, φύεται ποικιλία του υποείδους.
- *ssp. attica*. Φυτά 10.-.20 εκ.. Βράκτια 5.-.12 X 8.-.12 χιλιοστά, μικρότερα από τα άνθη, νεφροειδή, κορυφή ακιδόληκτη (κατάληξη μικρότερη από 1 χιλιοστό). Είναι ενδημικό είδος και συναντάται στη Στερεά Ελλάδα αρκετά διακριτό στην Αττική, ενώ στο Παρνασσό και τη Γκιώνα προσεγγίζει το *ssp. raeseri*. Φύεται σε σχισμές βράχων, σε πετρώδη και βραχώδη μέρη στα 1.000-1.400μ. και ανθίζει Ιούνιο και Ιούλιο[11].

- 2) ***S. scardica* Griseb.** Περιγράφηκε από είδος του Šar Planina στη Ν.Δ. Γιουγκοσλαβία, από τη συλλογή Grisebach⁷. Συνώνυμα: *S. florida* Boiss & Heldr. in Boiss, *S. raeseri* Boiss. & heldr. ssp. *florida*, *S. scardica* ssp. *Longibracteata*. Οι βλαστοί έχουν ύψος 10.-30 εκ., είναι απλοί ή ελάχιστα διακλαδισμένοι, υπόλευκοι χνοώδη. Φέρουν φύλλα βάσης έμμισχα, με μίσχο 10.-30 χιλιοστά, έλασμα 20.-60 X 7.-10 χιλιοστά, επιμήκη προς ελλειπτικά, γκριζωπά προς λευκά εριώδη, τα οποία στενεύουν στη βάση, οδοντωτά με αμβλεία κορυφή. Τα φύλλα του στελέχους είναι άμισχα, 30.-60 X 6.-8 χιλιοστά, στενά, επιμήκη ελλειπτικά, χνουδωτά, συνήθως πρασινωπά, με οξεία κορυφή. Η ταξιανθία κατά σπονδύλους αναπτύσσεται σε πυκνά διαστήματα σχηματίζοντας κορυφή σαν ακίδα, ύψους 3.-15 εκατοστά. Τα μεσαία βράκτια 15.-40 X 8.-20 χιλιοστά, ευκρινώς μακρύτερα από τα άνθη, ωοειδή, οξύλικτα (με οξεία κατάληξη 4.-20 χιλιοστά), εριώδη αδενώδη, κιτρινοπράσινα. Ο κάλυκας είναι διαστάσεων 8.-11 χιλιοστά, χνοώδης, μερικές φορές με αδενώδεις τρίχες στη βάση, με οδόντες 3.-5 χιλιοστά. Η στεφάνη είναι 12.-15 χιλιοστά, με χρώμα ομοιόμορφα ανοικτό κίτρινο. Φύεται σε ξηρές πετρώδεις και βραχώδεις περιοχές, σε υψόμετρο 1.600 – 2.300 μέτρα, περιστασιακά περί τα 500 μέτρα σε ασβεστολιθικούς σχηματισμούς. Ανθίζει από Ιούνιο μέχρι Σεπτέμβρη. Συναντάται στα Κεντρικά Ανατολικά (Πήλιον, Όσσα), στα Βόρεια Κεντρικά (Όλυμπος, Βέρμιο, Πιπερίτσα, Καϊμάκτσαλαν, Πίνοβο, Τζένα, Κοζούφ, Πάϊκον), στα Βόρεια Ανατολικά (Παγκαίον, Μενοίκιο, Βροντού, Όρβηλος, Φαλακρόν) και στη Θάσο και στη Νότια Γιουγκοσλαβία [11].
- 3) ***S. Perfoliata* L, sp.** Οι βλαστοί έχουν ύψος 20 - 40 εκ., είναι απλοί χωρίς διακλαδώσεις, εριώδεις και έντονα αδενώδεις – χνοώδεις. Τα φύλλα βάσης είναι έμμισχα, με έλασμα διαστάσεων 30 - 50 X 10 - 18 χιλιοστά, ελλειπτικά ως επιμήκη, εριώδη ή λεία, αδενώδη –

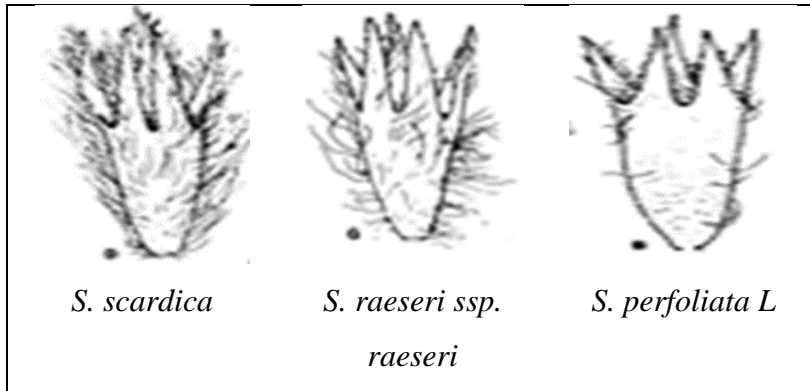
⁷ Heinrich August Rudolf Grisebach: Γερμανός βοτανολόγος (1814-1879)

τριχωτά. Τα φύλλα βλαστού 30 - 50 X 10 - 15 χιλιοστά, είναι επιμέρους άμισχα, ωοειδή ως ελλειπτικά, οδοντωτά προς την κορυφή, χνουδωτά ή λεία, αδενώδη, με βάση καρδιοειδή προς στρογγυλή, σπάνια εξασθενούν με τα ανώτερα φύλλα βλαστού και τα κατώτερα βράκτια να είναι προσκολλημένα στο στέλεχος. Οι ταξιανθίες κατά σπονδύλους είναι πυκνές, με τους σπονδύλους που υπενθυμίζουν στάχυ. Τα μεσαία βράκτια διαστάσεων 18 - 25 X 11 - 15 χιλιοστά, είναι ωοειδή – καρδιόσχημα, χνοώδη με αδενώδη τριχώματα. Ο κάλυκας είναι διαστάσεων 9 - 11 χιλιοστά, εριώδης και αδενώδης – χνοώδης, με οδόντες περίπου 4 χιλιοστά. Η στεφάνη είναι διαστάσεων 11 -13 χιλιοστά, ανοικτή κίτρινη, με το ανώτερο χείλος να φέρει δυο καστανές ραβδώσεις. Συναντάται στην Ελλάδα, Τουρκία, Κύπρο και Συρία, όπου διαφορετικά, αλλά αρκετά σαφή είδη διακρίνονται από αδενώδη στελέχη και φύλλα. Στην Ελλάδα μπορούν να αναγνωριστούν δύο υποείδη:

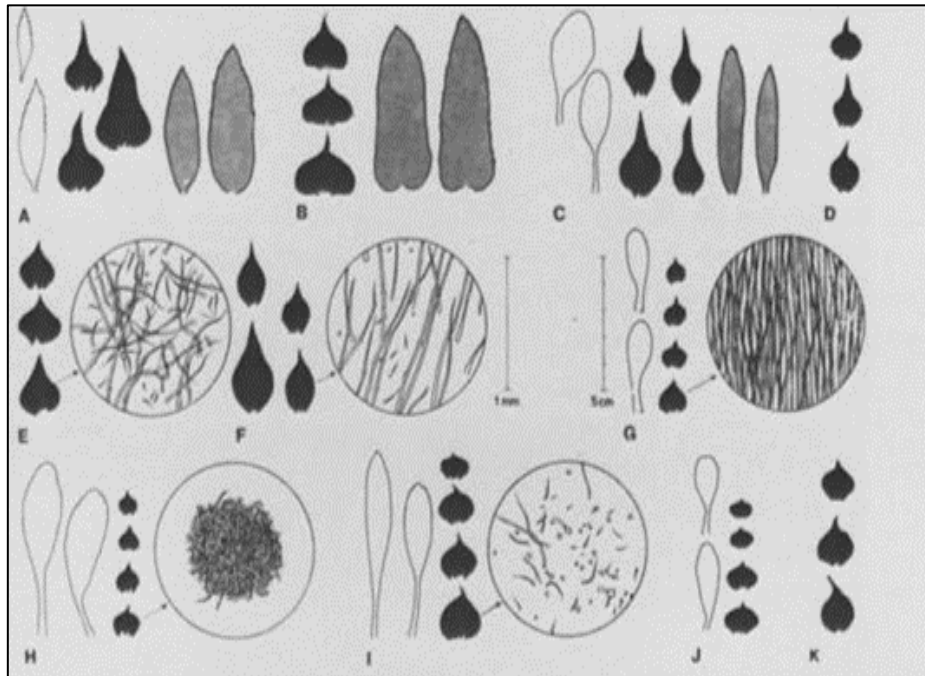
- *ssp. perfoliata* : Οι βλαστοί είναι έντονα αδενώδεις – χνοώδεις. Τα φύλλα βάσης είναι διαστάσεων 40 - 60 X 15 - 20 χιλιοστά, αραιά πριονωτά πάνω από το μέσο, χωρίς τρίχες, ελάχιστα αδενώδη, πρασινωπά. Τα βράκτια επίσης, δε φέρουν τρίχες, είναι ελάχιστα αδενώδη, πρασινωπά. Ο κάλυκας είναι εριώδης και αδενώδη – τριχωτός. Φύεται σε βραχώδεις ασβεστολιθικές περιοχές σε υψόμετρο 1.900 – 1.950 μέτρα. Ανθίζει Ιούλιο και Αύγουστο. Συναντάται στη Ν Πίνδο (Άγραφα, Νεράιδα, Παχτούριο), στη ΒΑ Ανατολία μέσω της Α & Ν Ανατολίας προς τη Συρία, καθώς και με λίγους αποσπασμένους πληθυσμούς στην Κ. Ελλάδα.
- *ssp. athoa* : Συνώνυμο *S. perfoliata* L.var. *lanata* (Turrill). Βλαστοί εριώδεις και αδενώδεις – χνοώδεις. Φύλλα γκριζωπά – εριώδη. Φύεται σε βραχώδη και πετρώδη μέρη στα 1.200 – 1.500μ, ανθίζει Ιούλιο και Αύγουστο. Συναντάται στον Άθω και τη Σαμοθράκη [11].



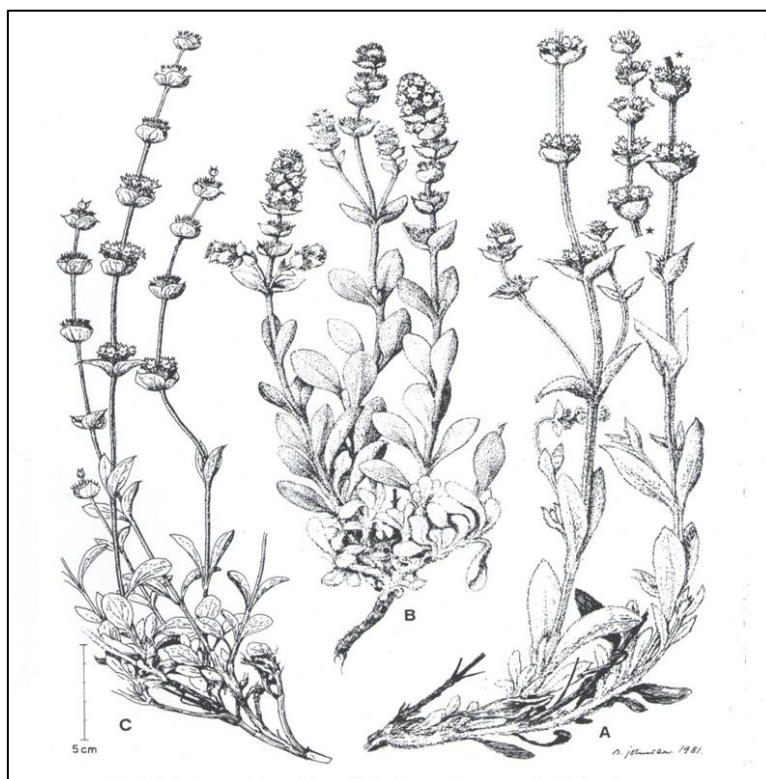
Εικόνα 1-3 : Βράκτια φύλλα (bracts) των ειδών 1: *S. scardica*, 2: *S. raeseri*, 3: *S. Athoa* [13]



Εικόνα 1-4 : Κάλυκος (calyx) [14]



Εικόνα 1-5 : Φύλλα βάσης, φύλλα βλαστού και βράκτια ειδών : A : *Sideritis athoa*, B : *S. perfoliata* L, C : *S. clandestina* ssp. *clandestina*, D : *S. clandestina* ssp. *cyllenea*, E : *S. scardica* ssp. *scardica*, F : *S. scardica* ssp. *longibracteata*, G : *S. syriaca*, H : *S. Euboea*, I : *S. raeseri* ssp. *raeseri*, J : *S. raeseri* ssp. *attica*, K : *S. raeseri* ssp. *florida* [14]



Εικόνα 1-6: *Sideritis* spp. ("mountain tea"). A: *S. raeseri* ssp. *raeseri* - B: *S. Euboica*. C: *S. syriaca* [11]

1.3. Χημική σύσταση

Τα τελευταία χρόνια γίνεται προσπάθεια για απομόνωση, ταυτοποίηση και μελέτη των συστατικών από διάφορα είδη του γένους *Sideritis*. Έχουν ανιχνευτεί πολλά χημικά συστατικά, όπως **τερπένια, φλαβονοειδή, αιθέρια έλαια, ιριδοειδή, κουμαρίνες, λιγνάνες και στερόλες**. Τα διτερπένια, οι φλαβόνες και τα αιθέρια έλαια εμφανίζονται στα περισσότερα είδη, και είναι τα κύρια υπεύθυνα για τη φαρμακευτική δράση αυτών [7].

Η μελέτη των συστατικών ως προς τη δομή και τη δράση των παρουσιάζει εκτός από φαρμακολογικό και βοτανικό ενδιαφέρον. Τα είδη του γένους *Sideritis* παρουσιάζουν έντονη φυσική διασταύρωση (υβριδισμό) [15] [16], και η μελέτη των συστατικών αυτών σε συνδυασμό με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους συμβάλλει για την χημειοταξινόμηση και αναγνώρισή τους.

1.3.1. Τερπένια του γένους *Sideritis*

Τερπένια (συνώνυμα: τερπενοειδή, ισοπρενοειδή)

Τα τερπένια είναι μικρά οργανικά μόρια που εμφανίζουν τεράστια ποικιλομορφία ως προς τη δομή τους, μερικά από αυτά είναι υδρογονάνθρακες, άλλα περιέχουν άτομα οξυγόνου, άλλα είναι μόρια ανοιχτής αλυσίδας και άλλα περιέχουν δακτυλίους.

Τα τερπένια ταξινομούνται ανάλογα με τον αριθμό των ισοπρενικών μονάδων που περιέχουν (πίνακας 1-2). Είναι ενώσεις αδιάλυτες στο νερό, ενώ έχουν σημαντικούς αμυντικούς ρόλους στο φυτικό βασίλειο, καθώς αποτρέπουν ένα μεγάλο αριθμό φυτοφάγων θηλαστικών και εντόμων.

Πίνακας 1-2 : Ταξινόμηση των τερπενίων [19]

Αριθμός ατόμων άνθρακα	Τύπος βασικού ανθρακικού σκελετού	Ταξινόμηση
5	C ₅ H ₈	Ισοπρένιο (ημιτερπένια)
10	C ₁₀ H ₁₆	Μονοτερπένιο
15	C ₁₅ H ₂₄	Σεσκιτερπένιο
20	C ₂₀ H ₃₂	Διτερπένιο
30	C ₃₀ H ₄₈	Τριτερπένιο
40	C ₄₀ H ₆₄	Τετρατερπένιο
n	(C ₅ H ₈) _n	Πολυτερπένια

Μονοτερπένια (Μονοτερπενοειδή)

Τα μονοτερπένια έχουν 10 άτομα άνθρακα και σχηματίζουν άκυκλη, μονοκυκλική ή δικυκλική αλυσίδα και σπάνια τρικυκλική. Γενικά μπορούν να καταταγούν σε τέσσερες κατηγορίες: ομαλά άκυκλα, κυκλοπεντανοειδή, κυκλοεξανοειδή και ανώμαλα μονοτερπένια. Ο μεγαλύτερος αριθμός μονοτερπενίων ανήκει στην κατηγορία των κυκλοεξανοειδών. Μερικοί

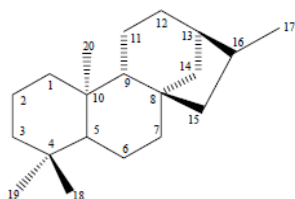
από τους πιο συνηθισμένους τύπους μονοτερπενικών αλυσίδων που εμφανίζονται, συχνά στα αιθέρια έλαια διάφορων φυτών και ειδικά στο γένος *Sideritis* [17][18]. Στη φύση συναντώνται τόσο ελεύθερα όσο και ενωμένα με άλλα μόρια. Οι υδρογονάνθρακες απαντούν ελεύθεροι, οι αλκοόλες απαντούν τόσο σε ελεύθερη κατάσταση όσο και σαν εστέρες με απλά αλειφατικά οξέα, αλλά μια με μορφή γλυκοζιτών.

Σεσκιτερπένια

Τα σεσκιτερπένια έχουν 15 άτομα άνθρακα και τα περισσότερα δε βρίσκονται σε κάποια κατ'ευθείαν σχέση με τα μονοτερπένια. Υπάρχουν όμως σεσκιτερπένια που μπορούν να θεωρηθούν ότι προέρχονται από μονοτερπένια. Τα σεσκιτερπένια εμφανίζουν άκυκλη ή κυκλική δομή που μπορεί να είναι μονοκυκλική ή δικυκλική όπως του β-καρυοφυλλένιου ((β-caryophyllene), αλλά και μια άλλη δομή, τα μακροκυκλικά σεσκιτερπένια.

Διτερπένια (Διτερπενοειδή)

Τα δετερπένια έχουν 20 άτομα άνθρακα, υποδιαιρούνται σε άκυκλα (phytanes), δίκυκλα (labdanes, cle-rodanes), τρίκυκλα (pimaranes, abietanes, cassanes, ro-sanes, vouacapanes, podocarpanes), τετράκυκλα (trachy-lobanes, **kauran**es, aphidicolanes, stemodanes, stema-



Εικόνα 1-7 : ent-καουρένιο

ranes, beyeranes, atisan macrocy-cliditerpern). Τα καουρένια συναντώνται σε πολύπλοκους συνδυασμούς (οξέα, εστέρες, εποξειδία, γλυκοσίδες κ.λ.π., η δε ονοματολογία τους συχνότερα περιγράφεται με τη στερεοχημική τους δομή και το όνομα παρουσιάζεται με το

πρόθεμα “ent-” [2]:

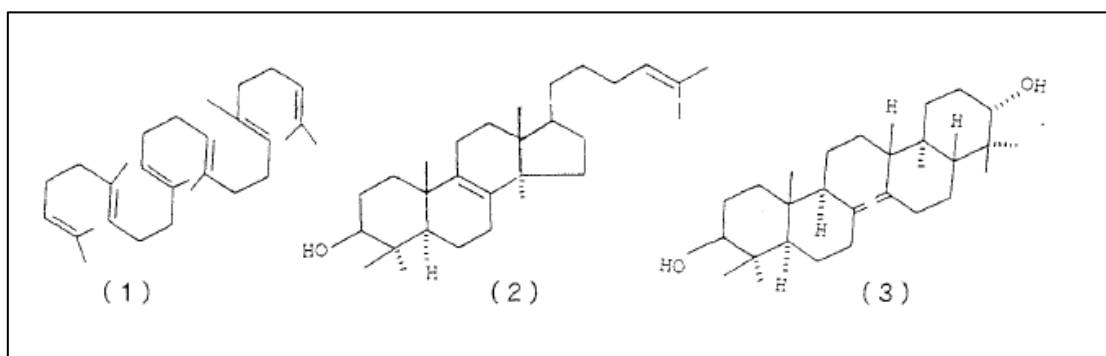
- Υπάρχουν προϊόντα ent-καουρενίων όπου δεν εμφανίζεται καμμία υποκατάσταση στη θέση 3.
- Σε άλλα πάλι ο δεσμός μεταξύ των θέσεων 16-17 μπορεί να είναι και διπλός.
- Ανάλογα με το αν πρόκειται για εποξειδίο ή όχι, ο δεσμός μεταξύ των θέσεων 15-16 μπορεί να είναι και διπλός.
- Υπάρχουν γλυκοζίτες των ent-καουρενίων όπου η θέση του σακχάρου είναι η 1.

Τριτερπένια (Τριτερπενοειδή)

Τα τριτερπένια έχουν 30 άτομα άνθρακα και αποτελούνται από πολύπλοκους σκελετούς.

Ανάλογα με την μορφή του σκελετού τους μπορούν να χωριστούν σε τρεις βασικές κατηγορίες:

α) του σκουαλένιου (1) και των παραγώγων του β) τριτερπενο-ειδή με στεροειδή δομή δακτυλίων (2) και γ) μη στεροειδή πολυκυκλικά τριτερπένια (3).



Εικόνα 1-8 : Κατηγορίες τριτερπενοειδών [18]

Για τα τερπένια του γένους *Sideritis*

Τα τερπένια του γένους *Sideritis* μελετήθηκαν σε μεγαλύτερο βαθμό από τα άλλα συστατικά, και υπάρχουν αρκετά στοιχεία από τη βιβλιογραφία για τις δομές και την περιεκτικότητα στα εκχυλίσματα των φυτών.

Τα μεσογειακά είδη του γένους *Sideritis* ταξινομούνται σε τέσσερις κατηγορίες με βάση το χημειότυπό τους [21]:

- i. είδη που περιέχουν τριτερπένια, αλλά όχι διτερπένια
- ii. είδη που περιέχουν δικυκλικά διτερπένια του τύπου του λαβδανίου και όχι άλλα διτερπένια
- iii. είδη που χαρακτηρίζονται από την παρουσία τετρακυκλικών διτερπενίων του τύπου του *ent* - καουρενίου
- iv. είδη που περιέχουν τετρακυκλικά διτερπένια του τύπου του *ent*-beyer-15-ενίου ή και του *ent*-atis-13-ενίου

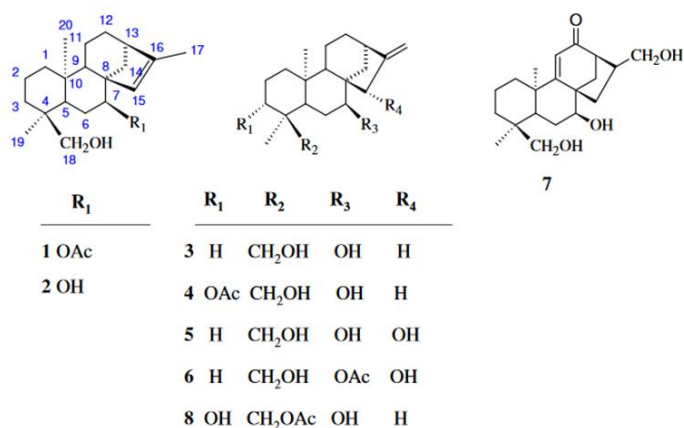
Ολόκληρο το section *Empedoclea* (με εξαίρεση ένα είδος, το *S. perfoliata* από την Τουρκία που ανήκει στη δεύτερη κατηγορία) ανήκει στην τρίτη ομάδα, ενώ το section *Sideritis* αποτελείται κυρίως από είδη της τρίτης ομάδας, περιλαμβάνει όμως και είδη της δεύτερης και τέταρτης κατηγορίας, λιγότερο ή περισσότερο εξελιγμένα αντίστοιχα, σε σχέση με το section *Empedoclea* [16].

Σε αυτοφυή είδη *Sideritis* από την Ισπανία (*S. perfoliata*, *S. almeriensis*, *S. biflora*, *S. cillensis*, *S. luteola*), η περιεκτικότητά τους σε διτερπένια βρέθηκε υψηλότερη στα εκχυλίσματα με εξάνιο σε σχέση με τα εκχυλίσματα με μεθανόλη [22] [23].

Το πρώτο είδος που ερευνήθηκε για διτερπένια συλλέχθηκε στα βουνά της Ν. Ιταλίας και Σικελίας και ταυτοποιήθηκε ως *S. sicula ucra*. Από τα εναέρια τμήματα αυτού απομονώθηκαν το 1965 δύο νέα διτερπένια, οι δομές των οποίων ταυτοποιήθηκαν το 1968 ως sideridiol και siderol [20]. Από τα ίδια είδη απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν τα διτερπένια: sideroxol, sideritriol, epoxysiderol, sideripol, epoxysideritriol, siderol. Και τα οκτώ διτερπένια έχουν *ent*-kaurane σκελετό. Στα ελληνικά είδη που μελετήθηκαν βρέθηκαν μόνο γνωστά *ent*-kauranes. Συγκεκριμένα στο είδος *S. euboica* βρέθηκαν sideridiol, siderol, sideroxol, epoxy-siderol,

isolinearol, στο είδος *S. raeseri* βρέθηκαν sideridiol, siderol, sideroxol, epoxy-siderol, epoxy-isolinearol, στα είδη *S. distans* & *S. syriaca* βρέθηκαν sideridiol, siderol, sideroxol, epoxy-siderol.

Σε μεταγενέστερη έρευνα στο είδος *S. euboica* απομονώθηκαν δυο νέα ent-kauranes τα eubol και eubotriol. [24] . Τα διτερπένια που έχουν απομονωθεί από την περιοχή Ανατολία της Τουρκίας είναι καουρένια σε ποσοστό (5%, σε αντίθεση με τα είδη από την Ισπανία και την Ιταλία που είναι λαβδανικά (labdane) και πιμαρανικά (pimarane) διτερπένια [25].



Εικόνα 1-9 : Δομές διτερπενίων [(1) siderol, (2) sideridiol, (3) 7-epicandiciol, (4) sidol, (5) eubotriol, (6) eubol, (7) athonolone, (8) linearol] [25]

Πίνακας 1-3: Διτερπένια του γένους *Sideritis*

Εμπειρική Ονομασία	Μοριακός τύπος	Ονομασία κατά IUPAC
Foliol	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	3α,7β,18-trihydroxy(-)-kaur-16-ene
Sidol	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	7β,18-dihydroxy-3α-acetoxy(-)- kaur-16-ene
Linearol	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	3α, 7β- dihydroxy-18- acetoxy(-)- kaur-16-ene
Isofoliol	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	3α,7β,18- trihydroxy(-)-kaur-15-ene
Isosidol	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	7β,18-dihydroxy-3α-acetoxy(-) -kaur-15-ene
Isolinearol	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	3α, 7β- dihydroxy-18- acetoxy(-) -kaur-15-ene
Sideripol	C ₂₂ H ₃₄ O ₃	<i>ent</i> -18-acetoxy-7-hydroxy(-) -kaur-15-ene
Epoxyisideritriol	C ₂₀ H ₃₂ O ₄	<i>ent</i> -15β,16β-epoxy(-) –kaur-7α,17,18-triol
Eubol	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	<i>ent</i> -7α-acetoxy(-) –kaur-16-en-15β,18-diol
Eubotriol	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	<i>ent</i> -kaur-16-ene-7α, 15β, 18-triol
Epoxyisiderol	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	<i>ent</i> -15β, 16β- epoxy(-) –kaur-18-ol
Siderol	C ₂₂ H ₃₄ O ₃	<i>ent</i> -7α-acetoxy(-) –kaur-15-en-18-ol
Sideroxol	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	<i>ent</i> -15β, 16β- epoxy(-) –kaur-7α, 18-diol
Sideridiol	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	<i>ent</i> -kaur-15-en-7α, 17, 18-triol
Epoxyisolinearol	C ₂₂ H ₃₄ O ₅	<i>ent</i> -3 β,7 α -dihydroxy,18-acetoxy-15b,16b-epoxykaurane
Siderone	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	<i>ent</i> -7-oxo-15-en-18-ol
Distanol	C ₂₀ H ₃₄ O ₃	<i>ent</i> -kaur-7a,16β,18-triol
7-epicandicandiol	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	<i>ent</i> -7α-,18-dihydroxykaur-16-ene
athonolone	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	<i>ent</i> -7α,17,18-trihydroxy-9,(11)-en-12-one

1.3.2. Αιθέρια έλαια του γένους *Sideritis*

Αιθέρια έλαια

Ως αιθέρια έλαια ορίζονται μίγματα πτητικών ουσιών που προσδίδουν στο φυτό που τα παράγει τη χαρακτηριστική του οσμή. Τα αιθέρια έλαια είναι υγρά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και δεν έχουν καμία σχέση με τα «λίπη και έλαια». Τα συστατικά τους διακρίνονται σε **τερπενικούς** και **μη τερπενικούς** υδρογονάνθρακες. Τα τερπένια των αιθέριων ελαίων μπορεί να είναι μονο-, σεσκι-, ή δι- τερπένια, ευθείας αλυσίδας ή κυκλικής

δομής. Στους μη τερπενικούς υδρογονάνθρακες ανήκουν αλκάνια και αλκένια με μικρό αριθμό ατόμων άνθρακα, ή αλκοόλες και αλδεΐδες που έχουν προκύψει ως προϊόντα μεταβολισμού ή αποικοδόμησης των φωσφολιπιδίων και των λιπαρών οξέων. Μόρια με τρία άτομα άνθρακα συνδέονται μόνο σε ευθεία αλυσίδα. Τέσσερα άτομα άνθρακα και περισσότερα μπορεί να συνδέονται σε ευθεία αλυσίδα ή σε διακλάδωση. Τα αιθέρια έλαια λαμβάνονται από τα φυτά συνήθως με απόσταξη, αλλά και άλλες μεθόδους (εκχύλιση με διαλύτες, υπερκρίσιμη εκχύλιση (SFE), μηχανική παραλαβή, εκχύλιση με μικροκύματα (ΜΑΕ). Το χαρακτηριστικό άρωμα κάθε αιθέριου ελαίου είναι συνισταμένη όλων των συστατικών του, αλλά πολλές φορές η παρουσία ενός μόνο συστατικού σε αναλογία 1% ή και μικρότερη, έχει σαν αποτέλεσμα την αλλαγή του αρώματος.

Τα αιθέρια έλαια του γένους Sideritis

Αρκετές έρευνες έχουν γίνει για τη χημική σύσταση του αιθέριου ελαίου διάφορων ειδών του γένους *Sideritis*. Από αυτές έχει προκύψει ότι τα φυτά του γένους είναι φτωχά σε αιθέρια έλαια, εν αντιθέσει με την υπόλοιπη οικογένεια των *Lamiaceae* που είναι πλούσια. Οι αποδόσεις για το είδος *S. clandestina ssp. clandestina* ανέρχονται σε 0,09%, για το *S. raeseri ssp. raeseri* σε 0,12%, για το *S. condensate* σε 0,3%, για το *S. perfoliata* σε 0,1%, για το *S. conoesta* σε 0,5%, και το *S. aroyrea* σε 0,8% επί ξηρής δρόγης [26] [27]. Για πενήντα είδη από την Τουρκία οι αποδόσεις κυμαίνονται μεταξύ 0,01 - 0,85% [28]. Για το είδος *S. hirsuta L.* η απόδοση βρέθηκε 0,44%. Η σύσταση των αιθέριων ελαίων πολλών ειδών *Sideritis* έχουν αναλυθεί με αέρια χρωματογραφία και αέρια χρωματογραφία μάζας (GC-MS, GC). Πολλά είδη (57% των τουρκικών ειδών, τα ελληνικά και κάποια ισπανικά) είναι πλούσια σε **μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες** κυρίως σε α -pinene, β -pinene, sabinene, myrcene, limonene. Άλλα είδη (το 27% των τουρκικών ειδών) είναι πλούσια σε **σεσκιτερπενικούς υδρογονάνθρακες** και κυρίως

σε δ-cadinene και β-caryophyllene. Οξυγονωμένα σεσκιτερπένια όπως α-cadinol, bisabolol, muurol-5-en-4β-ol αποτελούν τα κύρια συστατικά ορισμένων ειδών. Σύμφωνα με τον Baser 2002, στο είδος *S. romana ssp. romana* συναντώνται οξυγονωμένα μονοτερπένια και κυρίως thymol (25%), ενώ πλούσια είδη σε διτερπένια είναι *S. perfoliata* and *S. dichotoma*. Διτερπένια συναντώνται επίσης σε διάφορα είδη του γένους [7] [29].

Στο αιθέριο έλαιο των ειδών *S. clandestina ssp. clandestine* (συλλογή στο όρος Ταύγετος) και *S. raeseri ssp. raeseri* (συλλογή στο όρος Οίτη) εντοπίστηκαν επίσης β-copaene, α-pinene, β-pinene, δ-cadinene, limonene και β-caryophyllene σε μεγάλες συγκεντρώσεις [26].

Η σύσταση του αιθέριου ελαίου διαφορετικών δειγμάτων του *S. scardica* βρέθηκε με σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ δειγμάτων που συλλέχθηκαν στη Βουλγαρία και δειγμάτων που συλλέχθηκαν στην ΠΓΔΜ. Τα δείγματα που συλλέχθηκαν στη Βουλγαρία χαρακτηρίζονται από χαμηλότερες συγκεντρώσεις των μονοτερπενίων και σεσκιτερπενίων και με υψηλότερη συγκέντρωση σε διτερπένια, συγκρινόμενα με τα δείγματα από την ΠΓΔΜ. Στο αιθέριο έλαιο από το *S. scardica* από την ΠΓΔΜ κυριαρχούσε η α-cadinol με ποσοστό 20% ενώ στην περίπτωση του δείγματος από την Βουλγαρία κύρια συστατικά ήταν διτερπενικές ενώσεις. Επίσης, για το είδος *S. raeseri* στη σύσταση του αιθέριου ελαίου του βρέθηκε υψηλή συγκέντρωση σε σεσκιτερπένια με κύρια συστατικά germacrone (25%) and elemol acetate (15,9%) [30]. Ανάλογα υψηλή συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου του *S. raeseri ssp. raeseri*, σε σεσκιτερπένια εκπροσωπώντας ποσοστό 58,2 - 67,8% του ελαίου με σημαντικότερο το bicylogermacrene. Αλλα σεσκιτερπένια που βρέθηκαν σε σημαντικές ποσότητες ήταν το spathulenol και το *trans*-caryophyllene, ενώ ως κυρίαρχο μονοτερπένιο αναφέρεται η *cis*-b-ocimene [31].

Τα αποτελέσματα των Kostadinova et al. (2007) έρχονται σε πλήρη αντίθεση με αυτά των Kokkalou (1987) και Komaitis et al. (1992) όπου τα είδη *S. scardica* που αυτοφύονται στην Ελλάδα βρέθηκαν πλούσια σε μονοτερπένια, όπως επίσης και με των Tabanca et al. (2001) και Tsakou (2002) οι οποίοι χαρακτήρισαν τα είδη *S. raeseri* πλούσια σε μονοτερπένια [16].

Από τη βιβλιογραφία, οι διαφορές στη διαφορετική σύσταση του αιθέριου ελαίου για το ίδιο είδος οφείλονται σε πολλούς παράγοντες, όπως περιβαλλοντικούς, γεωγραφικούς, βοτανικούς εξαιτίας του έντονου υβριδισμού που παρουσιάζουν τα είδη του γένους *Sideritis* αλλά και της μεθόδου εκχύλισης των [7] [26] [31] [32].

1.3.3. Φαινολικά συστατικά του γένους *Sideritis*

Τα συστατικά αυτά είναι τα πιο άφθονα από όλες τις φυτικές χημικές ουσίες που περιλαμβάνονται στην κατηγορία των δευτερογενών μεταβολιτών. Όλα τα φαινολικά συστατικά, έχουν έναν αρωματικό δακτύλιο (C₆), με ένα ή περισσότερα υδροξύλια. Μέσω αντιδράσεων συμπύκνωσης, προσθήκης ή πολυμερισμού του βασικού αρωματικού δακτυλίου, προκύπτει ένας μεγάλος αριθμός παραγώγων (πίνακας 1 4). Το όνομά τους το οφείλουν στο απλούστερο μόριο της σειράς, τη φαινόλη. Η βιοσύνθεση των πρώτων φαινολικών ενώσεων φαίνεται ότι αποτέλεσε ένα κρίσιμο εξελεκτικό βήμα για τον εποικισμό της χέρσου του πλανήτη από τους φυτικούς οργανισμούς. Υπολογίζεται ότι οι φαινολικές ενώσεις απαρτίζουν το 40% του οργανικού άνθρακα ο οποίος ανακυκλώνεται στη βιόσφαιρα (κύκλος του άνθρακα) [13].

Οι φυτικές φαινόλες βιοσυντίθενται με διαφορετικές πορείες και συνεπώς συνιστούν μια ετερογενή ομάδα από άποψη μεταβολικής διαδικασίας. Συνήθως, συμμετέχουν δυο μονοπάτια : το μονοπάτι του σικιμικού οξέος και το μονοπάτι του μαλονικού οξέος.

Το μονοπάτι του σικιμικού οξέος συμμετέχει στη βιοσύνθεση των περισσότερων φυτικών φαινολών. Έχει βρεθεί στους μικροοργανισμούς, στους μύκητες και τα ανώτερα φυτά. Αντίθετα, το μονοπάτι του μαλονικού οξέος αποτελεί σημαντική πηγή των φαινολών στους μύκητες και τα βακτήρια, αλλά μικρότερης σημασίας στα ανώτερα φυτά [33].

Από τα αμινοξέα τυροσίνη και φαινυλανίνη, προέρχονται πολλές ομάδες των δευτερογενών φυτικών φαινολικών προϊόντων, όπως τα **οξέα**: κινναμωμικό, π-κουμαρικό, καφεϊκό, φερουλικό, χλωρογενικό, πρωτοκατεχικό και γαλλικό. Θεωρούνται σπουδαία όχι μόνο γιατί υπάρχουν άφθονα σε ελεύθερη μορφή, αλλά γιατί μετατρέπονται σε διάφορα παράγωγα (φυτοαλεξίνες, κουμαρίνες, λιγνίνη, φλαβονοειδή).

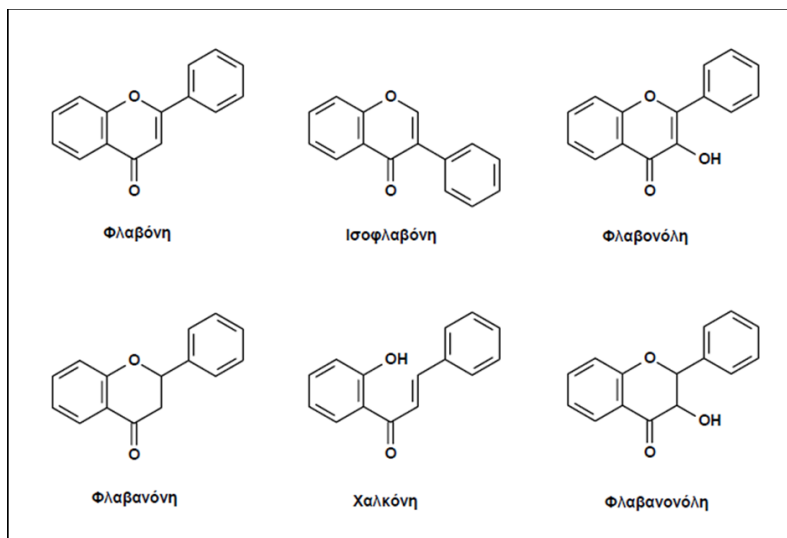
Οι φυτικές φαινόλες παρουσιάζουν μια ετερογένεια ως προς τη διαλυτότητά τους, καθώς μερικές είναι διαλυτές μόνο σε οργανικούς διαλύτες, μερικές είναι υδατοδιαλυτές (κυρίως καρβοξυλικά οξέα και γλυκοζίτες), ενώ άλλες είναι ισχυρά αδιάλυτα ισομερή. Οι ιδιότητες αυτές προσδιορίζουν ξεχωριστούς χαρακτήρες στις φαινόλες και ταυτόχρονα τις ξεχωρίζουν από τα άλλα χημικά συστατικά.

Ο ρόλος τους στα φυτά είναι ποικίλος, ανάλογα τη χημική ποικιλότητα. Κάποιες έχουν αμυντικό ρόλο κατά των φυτοφάγων ζώων και παθογόνων οργανισμών. Άλλες λειτουργούν για μηχανική υποστήριξη, άλλες για προσέλκυση επικοντιστών και άλλες για τη μείωση της αύξησης των γειτονικών ανταγωνιστικών φυτών.

Φλαβονοειδή

Πρόκειται για μια από τις μεγαλύτερες κλάσεις των φυτικών φαινολικών παραγώγων. Ο βασικός ανθρακικός σκελετός ενός φλαβονοειδούς περιέχει 15 άτομα άνθρακα σε μια διάταξη

με δυο αρωματικούς δακτύλιους, οι οποίοι συνδέονται με μια γέφυρα τριών ατόμων άνθρακα (κεντρικός ετεροδακτύλιος).



Εικόνα 1-10 : Μερικές υποκατηγορίες φλαβονοειδών

Η ονομασία τους προέρχεται από το κίτρινο χρώμα (flavus=κίτρινος) μερικών ενώσεων της ομάδας. Τα φλαβονοειδή ταξινομούνται σε διαφορετικές ομάδες ανάλογα με το βαθμό οξείδωσης των ατόμων του άνθρακα της γέφυρας. Ο βασικός ανθρακικός σκελετός των φλαβονοειδών μπορεί να έχει πολυάριθμους υποκαταστάτες. Τα περισσότερα φλαβονοειδή που υπάρχουν στη φύση συναντώνται κυρίως με τη μορφή των γλυκοζιτών.

Ανάλογα, με το είδος του σακχάρου που συμμετέχει διαφοροποιούνται και οι ιδιότητες τους. Πολλά από τα φλαβονοειδή είναι υπεύθυνα για το χρώμα των καρπών και των ανθέων, είναι πολύ διαδεδομένες στα φυτά και συνιστούν σημαντικό κομμάτι της διατροφής, καθώς υπολογίζεται ότι ο άνθρωπος παίρνει με την τροφή του 1 gr /ημερησίως.

Πίνακας 1-4 : Κυριότερες υποομάδες των φαινολικών ουσιών [34]

Αριθμός ατόμων άνθρακα	Τύπος βασικού ανθρακικού σκελετού	Κατηγορία ενώσεων	Χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι
6	C ₆	Απλές φαινόλες	Υδροκινόνη, κατεχόλη
7	C ₆ -C ₁	Παράγωγα υδροξυβενζοϊκού	4-Υδροξυβενζοϊκό
8	C ₆ -C ₂	Ακετοφαινόλες Παράγωγα οξικού φαινυλίου	4-Υδροξυακετοφαινόνη 4-Υδροξυφαινυλοξικό
9	C ₆ -C ₃	Παράγωγα υδροξυκιναμικού φαινυλοπροπανίου Κουμαρίνες	Καφεϊκό Ευγενόλη Εσκουλετίνη
10	C ₆ -C ₄	Ναφθοκινόνες	Γιουγκλόνη
13	C ₆ -C ₁ - C ₆	Ξανθόνες	Μαντζιφερίνη
14	C ₆ -C ₂ - C ₆	Στιλβένια, Ανθρακινόνες	Εμοντίνη, Ρεσβερατρόλη
15	C ₆ -C ₃ - C ₆	Φλαβονοειδή	Κερκετίνη
18	(C ₆ -C ₃) ₂	Λιγνάνες	Πινορεσινόλη
30	(C ₆ -C ₃ - C ₆) ₂	Διφλαβονοειδή	Αμεντοφλαβόνη
n	(C ₆) _n	Μελανίνες της κατεχόλης	Πολυμερή του ναφθαλινίου
n	(C ₆ -C ₁) _n :Glc	Υδρολυόμενες ταννίνες	Γαλλοτανίνες
n	(C ₆ -C ₃) _n	Αιγνίνες	Πολυμερή της γουαϊακόλης (γυμνόσπερμα) Πολυμερή της γουαϊακόλης και της συρινγκόλης (αγγειόσπερμα)
n	(C ₆ -C ₃ - C ₆) _n	Συμπυκνωμένες ταννίνες	Πολυμερή της κατεχίνης

Γλυκοζίτες

Οι γλυκοζίτες, αποτελούνται από ένα σάκχαρο ομοιοπολικά συνδεδεμένο με μια διαφορετική δομή, ένα άγλυκο τμήμα. Υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί τύποι άγλυκων τμημάτων. Το σάκχαρο βρίσκεται στην κυκλική μορφή του και το σημείο συνδέσεως είναι η ημιακεταλική υδροξυλομάδα. Το σάκχαρο μπορεί να συνδέεται με το άγλυκο τμήμα με διαφορετικούς

τρόπους. Το συνηθέστερο άτομο γεφυρώσεως είναι οξυγόνο (Ο-γλυκοζίτης), μπορεί να είναι όμως και θείο (S-γλυκοζίτης), άζωτο (N-γλυκοζίτης) ή άνθρακας (C-γλυκοζίτης). Οι α-γλυκοζίτες και οι β-γλυκοζίτες διακρίνονται από τη διαμόρφωση της ημιακεταλικής υδροξυλομάδας. Η πλειονότητα των φυσικά απαντώμενων γλυκοζιτών είναι β-γλυκοζίτες.

Φαινολικά συστατικά του γένους *Sideritis*

Το γένος *Sideritis* είναι πλούσιο σε φαινολικές ενώσεις και κυρίως φλαβονοειδή (άγλυκα και γλυκοζίτες). Μεταξύ των τύπων φλαβονοειδών και της γεωγραφικής διασποράς των ειδών *Sideritis* έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει μια συσχέτιση. Στα ισπανικά είδη *Sideritis* έχουν ταυτοποιηθεί άγλυκα φλαβονοειδή κυρίως φλαβόνες και συχνά μεθοξύ-φλαβόνες (όπως desmethylnobiletine, sideritoflavone, xanthomicrol). Επιπλέον, μελέτες έδειξαν την παρουσία μεθυλιωμένων φλαβονών και φλαβονονών σε μερικά είδη από τα Κανάρια Νησιά. Οι 5,6,7 τρι-οξυγονωμένες φλαβόνες (cirsimaritin, salvigenin, nepetin) είναι επικρατέστερες στα είδη των περιοχών της Μακαρονησίας. Αντίθετα, η παρουσία των 5,6,7,8 τετρα-οξυγονωμένων φλαβονών (sideritoflavone, xanthomicrol, gardenin-B) είναι συχνότερη στα Μεσογειακά είδη [7].

Στο είδος *S. scardica* ταυτοποιήθηκαν η απιγενίνη, η ισοσκουτελλαρίνη και η 3'-Ο-μεθυλοπολαιτίνη και η χρυσοεριοόλη [35]. Εντοπίστηκαν επίσης, μυρικετίνη, απιγενίνη και επικατεχίνη γαλλικού εστέρα [36].

Στα εναέρια τμήματα του είδους *S. raeseri* Boiss et Heldr. subsp. *raeseri* ταυτοποιήθηκαν εννέα 7-Ο-(β-D-αλλοπυρανοσουλ-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανόσουλ- παράγωγα των 5,8-διϋδροξυφλαβονών από κλάσμα μεθανολικού εκχυλίσματος [37]. Επίσης, στο *S. raeseri*

εντοπίστηκαν οι γλυκοζίτες των φλαβονών της 4'-Ο-μεθυλ-υπολαετίνης και της 4'-Ο-μεθυλ-ισοσκουτελλαρίνης [31].

Η έρευνα στα είδη *S. scardica*, *S. raeseri* έδειξε την παρουσία φαινυλεθανοειδών γλυκοζιτών (βερμπασκοσίδη, λευκοσεπτοσίδη Α, φορσουθοσίδη Α, αλυσσονοσίδη και εχινakoσίδη), ακετυλιωμένα και μη ακετυλιωμένα φλαβονοειδή 7-Ο-γλυκοζίτες [38].

Τα δύο αυτά είδη, εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία σε 8-ΟΗ φλαβόνες στο *S. raeseri* βρέθηκαν υπολαετίνη, 3'-Ο-μεθυλ-υπολαετίνη, ισοσκουτελλαρίνη, 4'-Ο-μεθυλ-ισοσκουτελλαρίνη, ενώ στο *S. scardica* μόνο υπολαετίνη και 4'-Ο-μεθυλ-ισοσκουτελλαρίνη. Επιπρόσθετα, η χρυσεριόλη βρέθηκε μόνο στο *S. scardica* [35].

Από το είδος *S. perfoliata ssp. perfoliata* έχουν απομονωθεί τα φλαβονοειδή γκενκβανίνη (7-μεθοξυ-απιγενίνη), σιρσιμαριτίνη (= 5,4'-διυδροξυ-6,7-διμεθοξυ-φλαβόνη) πεκτολιναριγενίνη (= 5,7-διυδροξυ-6,4'-διμεθοξυ-φλαβόνη = 6,4'-διμεθυλαιθέρας της 6-υδροξυ-απιγενίνης, σαντίνη (= 5,7-διυδροξυ-3,6,4'-τριμεθοξυ-φλαβόνη = 3,6,4'-τριμεθυλαιθέρας της 6-υδροξυ-καιμφερόλης = 3-μεθυλαιθέρας της μπετουλετόλης) [3].

Από το *S. perfoliata* έχουν απομονωθεί φλαβονοειδή υπό μορφή γλυκοζιτών, φαινυλοπροπανοειδή (βερμπασκοσίδη = ακτεοσίδη), λευκοσεπτοσίδη Α, μαρτυνοσίδη και καφεϊκό οξύ [27] [39].

Η ύπαρξη των φλαβονοειδών στην φυτική επιφάνεια προφυλάσσει τους φυτικούς ιστούς από τη βλαβερή επίδραση UV ακτινοβολίας και βοηθά τα διάφορα είδη του γένους *Sideritis* να προσαρμόζονται στις συνθήκες μεγάλου υψομέτρου. Τα διάφορα είδη της Βορείου Αφρικής διαφέρουν και από το γεγονός ότι για να επιβιώνουν στις ερημικές περιοχές αντί για φλαβονοειδή προστατεύονται από ουσίες τερπενικής φύσεως. Ακόμη, έχει παρατηρηθεί ότι τα

είδη με περισσότερες λευκές τρίχες στην επιφάνεια των φύλλων, έχουν μικρότερη περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή. Στις περιπτώσεις αυτές οι τρίχες προστατεύουν τα φυτά από την UV ακτινοβολία [40] [41] [42].

Τα φαινολικά οξέα συναντώνται ελεύθερα στο φυτό, αλλά και πολύ συχνά βρίσκονται ενωμένα υπό μορφή εστέρων, αλάτων, γλυκοζιτών. Η παρουσία φαινολικών οξέων στα είδη του γένους *Sideritis* έχει προκύψει από αρκετές μελέτες. Το chlorogenic acid, έχουν αναγνωριστεί ως συστατικά του *S. syriaca*, που συλλέχθηκε στην Κρήτη [43]. Τα παράγωγα 3-caffeoylquinic acid, 5-caffeoylquinic acid, feruloylquinic acid και το p-coumaric acid 4-O-glucoside ανιχνεύτηκαν σε διάφορα είδη *Sideritis* [38] [44] [45]. Στο είδος *S. Scardica* έχουν ανιχνευτεί βενζοϊκά και κινναμικά οξέα [46]. Επιπλέον, στο ίδιο είδος έχουν ανιχνευτεί τα οξέα γαλλικό, καφεϊκό και φερούλικό [47]. Στο *S. syriaca*, από την Κρήτη καθώς και στο *S. syriaca* από την Τουρκία βρέθηκαν φαινολικά οξέα [48] [49].

1.3.4. Αλκαλοειδή

Είναι οι αζωτούχες οργανικές ενώσεις, φυτικής προέλευσης, που παρουσιάζουν βασική (αλκαλική) αντίδραση και σ' αυτήν οφείλουν το όνομά τους (αλκαλοειδές = σαν άλκαλι) και αποτελούν την τρίτη μεγάλη ομάδα των δευτερογενών προϊόντων που βρίσκονται κατεξοχήν στα αγγειόσπερμα. Τα αλκαλοειδή βρίσκονται στα μέρη με τη μεγαλύτερη κυτταρική δραστηριότητα (φύλλα, φλοιός, ρίζες, σπέρματα), ενώ τα περισσότερα συντίθενται μόνο στους βλαστούς των φυτών. Κάποια αλκαλοειδή επηρεάζουν το κεντρικό νευρικό σύστημα με αποτέλεσμα να το διεγείρουν ή να το παραλύουν. Άλλα, αυξάνουν την πίεση του αίματος, ενώ άλλα την ελαττώνουν. Ορισμένα αλκαλοειδή δρουν ως παυσίπονα, άλλα ως διεγερτικά και ορισμένα εναντίων επιβλαβών μικροοργανισμών. Γενικά, τα περισσότερα αλκαλοειδή όταν λαμβάνονται σε μεγάλες ποσότητες είναι τοξικά τόσο για τα ζώα όσο για τον άνθρωπο. Σε

μικρότερες όμως δόσεις πολλά από τα αλκαλοειδή είναι χρήσιμα από φαρμακολογική άποψη, για αυτό και βρίσκουν ευρύτατη φαρμακολογική χρήση .[19] [33].

Από τη βιβλιογραφία, δεν υπάρχουν σημαντικές αναφορές για την περιεκτικότητα σε αλκαλοειδή στο γένος *Sideritis*.

Πίνακας 1-5 : Σύνοψη της βιβλιογραφίας για τα συστατικά του γένους *Sideritis* και των μεθόδων ανίχνευσης αυτών

ΦΥΤΟ	ΟΥΣΙΕΣ	ΕΚΧΥΛΙΣΗ	ΑΝΑΛΥΣΗ	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ
	ΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΗ			
	Διτερπενοειδή (diterpenoids)			
<i>S. leucantha</i> <i>Cav</i>	foliol, sidol, linearol, isofoliol, isosidol, isolinearol	Petroleum ether	IR, NMR	[73]
<i>S. linearifolia</i> <i>Lam.</i>	foliol, sidol, linearol			
<i>S. scardica</i> <i>Griseb</i>	epoxysiderol, siderol, isolinearol, eubol, sideroxol, 18-acetyl- leucanthol	petrol (Soxhlet)	ΧΡΩΜΑΤΟ ΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ IR, NMR	[74]
<i>S. raeseri</i> <i>Boiss.</i> <i>et Heldr.</i>	sideroxol, epoxysiderol, siderol, sideridiol, epoxyisolinearol			
<i>S. euboaea</i>	eubotriol, eubol	petrol (Soxhlet)	ΧΡΩΜΑΤΟ ΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ IR, NMR	[75]
<i>S. sicula</i>	sideripol, epoxysideritriol, eubol	petrol (Soxhlet)	ΧΡΩΜΑΤΟ ΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ IR, NMR	[76]
<i>S. syriaca</i>	siderone	petrol (Soxhlet)	ΧΡΩΜΑΤΟ ΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ TLC, IR, ¹³ C NMR, ¹ H NMR, M/S	[77]

<i>S. distans</i>	distanol	petrol (Soxhlet)	ΧΡΩΜΑΤΟ ΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ TLC, IR, ¹ H NMR, M/S	[78]
<i>S. almeriensis</i>	linearol, conchitriol, isofoliol, lagascatriol	n-hexane methanol (R.T.) ⁸	HPLC	[22], [23]
<i>S. biflora</i>	serradiol, linearol, conchitriol, foliol, Isofoliol, andalusol, lagascatriol, sidol			
<i>S. cillensis</i>	serradiol, foliol, andalusol, siderol			
<i>S. luteola</i>	serradiol, isofoliol, andalusol, lagascatriol			
<i>S. libanotica</i> <i>subsp.</i> <i>libanotica</i>	siderol, sideridiol	acetone (R.T.)	ΧΡΩΜΑΤΟ ΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ IR, ¹ H NMR, EIMS	[79]
<i>S. erythrantha</i> <i>var. erythrantha</i>	derivative sideridiol			
<i>S. perfoliata</i>	siderol, sideridiol, sideritriol			
<i>S. tmolea</i> P. H. Davis	siderol, 7-acetoxysideroxol, <i>ent</i> - 7 α ,15 β ,18-trihydroxykaur-16-ene, <i>ent</i> -7 α -acetoxy-15 β ,18- dihydroxykaur-16-ene	acetone (R.T.)	ΧΡΩΜΑΤΟ ΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ Prep. TLC IR, ¹³ C NMR	[80]
<i>S. arguta</i> Boiss. <i>and Heldr.</i>	diacetyl-distanol, 15-epi-eubol, eubol, sideroxol, 7-epicandicandiol, epoxysiderol, siderol, eubotriol	Petroleum ether, acetone	Prep. TLC, IR, ¹³ C NMR , ¹ H NMR, M/S	[81]
<i>S. caesarea</i>	eubol, eubotriol, <i>ent</i> 3 β ,7 α - dihydroxykaur-16-ene	acetone (R.T.)	¹³ C NMR, ¹ H NMR	[82]
<i>S. arguta</i> , <i>S.</i> <i>stricta</i>	eubol, eubotriol			
<i>S. Leptoclada</i> , <i>S.</i> <i>dichotoma</i>	eubol, eubotriol, epoxysiderol			

⁸ R.T. : Θερμοκρασία Δωματίου

<i>S. congesta</i>	epoxysiderol			
<i>S. athoa</i>	ent3β,7α-dihydroxykaur-16-ene			
<i>S. congesta</i>	acetyldistanol, epoxyisolinearol, sideroxol, sideridiol, siderol, 7-epi-candicandiol, foliol, linearol, sidol	Petroleum ether, acetone	Prep. TLC, IR, ¹³ C NMR, ¹ H NMR, M/S	[72]
<i>S. niveotomentosa</i> Huber – <i>Morathii</i>	siderol, sideridiol, 7-epi-candicantiol, sidol, eubotriol, eubol, athonolone	Acetone, methanol	ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ, TLC, NMR, LC-MS/MS (ESI, APCI)	[25]
<i>S. brevidens</i> P.H.	siderol, sidol, linearol			
ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ				
<i>S. foetens</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, gardenin D, desmetilnobiletine	n-hexane Ethanol	HPLC	[83]
<i>S. luteola</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline			
<i>S. almeriensis</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, chrysoeriol, sideritoflavone			
<i>S. hirsuta</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, chrysoeriol, sideritoflavone, xantomicro, 8-methoxy-cirsilineol			
<i>S. leucuntha</i> var <i>serratifolia</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, hypolaetin-8-0-β- D-glucoside, chrysoeriol, sideritoflavone, xantomicro, gardenin D			
<i>S. biflora</i>	Chrysoeriol, sideritoflavone, xantomicro, gardenin D, 8-methoxy-cirsilineol			
<i>S. leucuntha</i> spp <i>incana</i> var <i>meridionalis</i>	hypolaetin-8-0-β- D-glucoside, chrysoeriol, sideritoflavone, gardenin D, 8-methoxy-cirsilineol			
<i>S. bourgeana</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, hypolaetin-8-0-			

	β- D-glucoside, chrysoeriol, xantomicrol, gardenin D			
<i>S. pusilla</i> ssp <i>almeriensis</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, chrysoeriol			
<i>S. ibanyezii</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, chrysoeriol, sideritoflavone, xantomicrol, gardenin D, desmetilnobiletine			
<i>S. pusilla</i> ssp <i>pusilla</i> var <i>granatensis</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, hypolaetin-8-0-β- D-glucoside			
<i>S. leucantha</i> var <i>incana</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, chrysoeriol			
<i>S. cillensis</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, hypolaetin-8-0-β- D-glucoside, chrysoeriol, sideritoflavone, gardenin D, 8-methoxy-cirsilineol			
<i>S. pusilla</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, hypolaetin-8-0-β- D-glucoside, chrysoeriol, gardenin D			
<i>S. glauca</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, chrysoeriol			
<i>S. incana</i> ssp <i>incana</i>	Isoscutelarein-7-0-[allosyl (1→2) glucoside], luteoline, chrysoeriol, xantomicrol			
<i>S. raeseri</i> Boiss. et Helder. subsp. <i>raeseri</i>	Hypolaetin7-O-[β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside], Isoscutellarein 7-O-[β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside], 3-O-Methylhypolaetin7-O-[β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside], Isoscutellarein 7-O-[6''-o-acetyl-β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside],	Petroleum ether(bp 50–70°), benzene, chloroform , methanol (Soxhlet)	ΧΡΩΜΑΤΟ ΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ TLC HPLC LC–DAD–MS (ESI+) ¹ H NMR	[37]

	<p>3-O-Methylhypolaetin 7-O-[6'''-o-acetyl-β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside,</p> <p>4'-O-Methylhypolaetin 7-O-[6'''-o-acetyl-β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside],</p> <p>4'-O-Methylisoscuteallarein 7-O-[β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside],</p> <p>4'-O-Methylisoscuteallarein 7-O-[β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-6'''-o-acetyl-glucopyranoside,</p> <p>4'-O-Methylisoscuteallarein 7-O-[6'''-o-acetyl-β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside</p>			
<i>S. raeseri</i>	Hypolaetin, Isoscuteallarein, 3'-OCH ₃ hypolaetin, Apigenin, 4'-OCH ₃ isoscuteallarein	acetone & πυκνό HCl (Erlenmeyer flask /reflux 60 °C)	HPLC-UV DAD	[35]
<i>S. scardica</i>	Isoscuteallarein, 3'-OCH ₃ hypolaetin, Apigenin, Chryseriol			
<i>S. syriaca ssp. syriaca</i>	<p>1-rhamnosyl, 1-coumaroyl, dihydrocaffeoyl, protocatechuic tetraester of quinic acid</p> <p>chlorogenic acid</p> <p>apigenin 7-O-glucoside, apigenin,</p> <p>4'-methylisoscuteallarein 7-O-[6'''-O-acetyl-β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside],</p> <p>isoscuteallarein 7-O-[6'''-O-acetyl-β-D-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside],</p> <p>4'-methylisoscuteallarein 7-O-[β-D-allopyranosyl (1→2)-β-D-glucopyranoside],</p>	petroleum ether (bp 50–70 °C), dichloromethane, methanol (Soxhlet)	<p>ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ</p> <p>HPLC</p> <p>UV</p> <p>LC-DAD-MS (ESI+)</p> <p>NMR</p>	[43]

	isoscuteallarein 7-O-[β-D-allopyranosyl-(1→2)-6-O-acetyl-β-D-glucopyranoside]			
<i>Sideritis perfoliata</i> subsp. <i>perfoliata</i>	Acteoside, Leucoseptoside A, Martynoside, Lavandulifolioside, Isoscuteallarein 7-O-[6'''-O-acetyl-β-D-allopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyranoside, 4'-O-methylisoscuteallarein 7-O-[6'''-O-acetyl-β-D-allopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyranoside caffeic acid	petroleum ether (40°–60°), chloroform and methanol (Soxhlet)	VLC ¹³ C NMR , ¹ H NMR	[39]
<i>Καλλιεργούμενο υβρίδιο</i> <i>Sideritis scardica</i> × <i>Sideritis syriaca</i>	chlorogenic acid <u>(phenylephenyletanoid glycosides:</u> lavandulifolioside, verbascoside, leucosepleucoseptoside A) <u>flavonoid glycosides:</u> 7-O-[allopyranosyl-(1-2)-glucopyranosyl] –isoscuteallarein, 7-O-[(6''' -O-acetyl)-allopyranosyl-(1-2)-glucopyranosyl] – isoscuteallarein, 7-O-[(6''' -O-acetyl)-allopyranosyl-(1-2)-(6'' -O-acetyl)-glucopyranosyl] -Isoscuteallarein, 7-O-[(6''' -O-acetyl)-allopyranosyl-(1-2)-glucopyranosyl] – isoscuteallarein-4' -methyl ether, 7-O-[(6''' -O-acetyl)-allopyranosyl-(1-2)-(6'' -O-acetyl)-glucopyranosyl] –isoscuteallarein-4' methyl ether, 7-O-[(6''' -O-acetyl)- allopyranosyl (1-2)-glucopyranosyl] hypolaetin, 7-O-[(6''' -O-acetyl)- allopyranosyl (1-2)-glucopyranosyl] hypolaetin-4' -methyl ether,	ethanol, water, water–ethanol (R.T.)	LC UV-DAD/ESI-MS	[84]

	7-O-[4''-O-p-coumaroylglucopyranosyl]-apigenin			
<i>S. scardica</i> , <i>S. raeseri</i>	<p><u>Hydroxycinnamic derivatives</u></p> <p>3-Caffeoylquinic acid, 5-Caffeoylquinic acid, Feruloylquinic acid⁹,</p> <p><u>Phenylethanoid glycosides</u></p> <p>Echinacoside, Forsythoside A, Verbascoside, Alyssonoside, Leucoseptoside A,</p> <p><u>Flavonoid-7-O-diglycosides</u>¹⁰</p> <p>Isoscutellarein 7-O-allosyl(1→2)glucoside¹¹, Hypolaetin 7-O-allosyl(1→2)glucoside¹², Luteolin 7-O-allosyl(1→2)glucoside¹³, 3'-O-Methylhypolaetin 7-O-allosyl(1→2)glucoside, 4'-O-Methylisoscuteallarein 7-O-allosyl(1→2)glucoside</p> <p><u>Flavonoid acetylglycosides</u></p> <p>Hypolaetin 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl(1→2)glucoside, Apigenin 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl(1→2)glucoside,</p>	70% methanol (R.T. X 24h) boiling water (1 h)	LC/DAD/ESI-MS ⁿ	[44]

⁹ Ανιχνεύτηκε μόνο στο μεθανολικό εκχύλισμα του *S. raeseri*

¹⁰ Δεν ανιχνεύτηκαν στα μεθανολικά εκχυλίσματα του *S. scardica*

¹¹ Δεν ανιχνεύτηκε στο *S. scardica*

¹² Δεν ανιχνεύτηκε στο *S. scardica*

¹³ Δεν ανιχνεύτηκε στο *S. scardica*

	<p>Isoscutellarein 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl(1→2)glucoside,</p> <p>3'-O-Methylhypolaetin 7-O-[6'''-O-acetyl]- allosyl(1→2)glucoside,</p> <p>Isoscutellarein 7-O-[2''' ,6'''-di-O-acetyl]- allosyl(1→2)glucoside,</p> <p>3'-O-Methylhypolaetin 7-O-[6'''-O-acetyl]- allosyl(1→2)glucoside,</p> <p>Hypolaetin 7-O-[2''' ,6'''-di-O-acetyl]- allosyl(1→2)glucoside,</p> <p>4'-O-Methylisoscutellarein 7-O-[6'''-O-acetyl] allosyl(1→2)glucoside,</p> <p>Isoscutellarein 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl (1→2)-[6'''-O-acetyl]-glycoside,</p> <p>3'-O-Methylhypolaetin 7-O-[2''' ,6'''-di-O-acetyl]-allosyl(1→2)glucoside,</p> <p>4'-O-Methylisoscutellarein 7-O-[6'''-O-acetyl]- allosyl(1→2)-[6''-O-acetyl]-glucoside</p>			
<p><i>S. niveotomentosa</i></p> <p><i>S. brevidens</i></p>	<p>p-Hydroxybenzoic acid, Vanillin, p-Coumaric acid, Gallic acid, Caffeic acid, Ferulic acid, Ellagic acid, Syringic acid, Quercetin, Apigenin, Kaempferol 3-O-glucoside, Luteolin 7-O-glucoside</p>	<p>acetone</p>	<p>ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ</p> <p>TLC</p> <p>IR</p> <p>1D- & 2D-NMR M/S</p>	<p>[25]</p> <p>]</p>
<p><i>S. scardica</i></p> <p><i>Griseb</i></p>	<p>Protocatechuic acid, Chlorogenic acid, Vanillic acid, Caffeic acid, p-Coumaric acid, Ferulic acid, Luteolin-7-O-β-glucoside, Apigenin-7-O-β-glucoside, Luteolin, Apigenin</p>	<p>diethyl ether ,</p>	<p>HPLC</p>	<p>[46]</p>

	Protocatechuic acid, Chlorogenic acid, Syringic acid, Ferulic acid, Luteolin-7-O-β-glucoside, Apigenin-7-O-β-glucoside	ethyl acetate ,		
	Chlorogenic acid, Caffeic acid, p-Coumaric acid, Ferulic acid, Luteolin-7-O-β-glucoside, Apigenin-7-O-β-glucoside, Chrysoeriol	n-butanol		
<i>S. clandestina</i> subsp. <i>clandestina</i>	Quinic acid derivative, Melittoside derivative, β-Hydroxyverbascoside or β-hydroxyisoverbascoside, Apigenin 7-O-allosyl(1 →2) glucoside, Isoscutellarein 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl(1 →2)glucoside, Apigenin 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl(1→2)glucoside, Martynoside, Isoscutellarein 7-O-[2''', 6'''-O-diacetyl]-allosyl(1 → 2) glucoside, Apigenin 7-O-[2''', 6'''-O-diacetyl]-allosyl(1 → 2) glucoside, Apigenin 7-O-acetyl-coumaroyl-allosyl(1 → 2)glucoside, Apigenin 7-O-(coumaroyl) glucopyranoside	boiling water	LC/DAD/ESI-MS ¹⁴ NMR	[85]
<i>S. raeseri</i> subsp. <i>raeseri</i> , <i>S. scardica</i>	Chlorogenic acid, Lavandulofolioside, Verbascoside, Leucosceptoside A, Apigenin 7-O-glucoside, AcO ¹⁴ -All ¹⁵ -Glc ¹⁶ -ISC ¹⁷ , AcO-All-Glc-HYP ¹⁸ -Me, Martynoside,		LC/MS	[86]

¹⁴ AcO : O-acetyl

¹⁵ All : D-allopyranosyl

¹⁶ Glc : D-glucopyranoside

¹⁷ ISC : isoscutellarein

¹⁸ HYP : hypolaetin

	AcO-All-Glc-HYP-Me isomer, (AcO) ₂ -All-Glc-HYP, (AcO) ₂ -All-Glc-HYP-Me, AcO-All-Glc-ISC-Me, (AcO) ₂ -All-Glc-ISC, (AcO) ₂ -All-Glc-HYP-Me, Echinacin isomer, Echinacin isomer, (AcO) ₂ -All-Glc-ISC-Me	Ethanol (Soxhlet)	HPLC	
<i>S. syriaca</i>	vannilic acid, protocatechuic acid, syringic acid, cinnamic acid, o- coumaric acid, p-coumaric acid, ferulic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, chrysin, epicatechin, naringenin, catechin, quercetine, carvacrol	boiling water	LC-DAD- MS GC/MS	[87]
<i>S. scardica</i>	gallic acid, caffeic acid, ferulic acid, quercetin, rutin, (-)-epicatechin	62,5% aqueous methanol & BHT, HCL	HPLC	[47]
	ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ			
<i>S. granatensis</i>	α-pinene (20%), fenchol (18%), fenchone (9%), fenchyl acetate (8%), 1,s-cineole (5%) and limonene (5%)	Hydrodistil lation	GC-MS	[88]
<i>S. sipylea Boiss.</i>	carvacrol, thymol, terpinen-4-ol, verbenone, α-terpineol, trans-perillyl alcohol, thujanol i, cryptone	Likens- Nickerson distillation/ solvent extraction	Prep. TLC GC-MS	[32]
<i>S. clandestina ssp. clandestina</i>	α-pinene, β-pinene, limonene, β – copaene, β -caryophyllene, δ- cadinene (>7%)	Hydrodistil lation	GC-MS	[26], [89]
<i>S. raeseri ssp. raeseri</i>	α-pinene, β-pinene, limonene, β – caryophyllene, α –humulene, germacrene-d (>5%)			
<i>S. congesta</i>	α-pinene (19,5%), β- pinene (28,8%)	Hydrodistil lation	GC GC-MS	
<i>S. condensata</i>	β -caryophyllene (15,9 %), β -pinene (12,1%), α-pinene (7,1%), β - caryophyllene oxyde (6,2%),			

	limonene (6,1 %), germacrene d (5,4%), spathulenol (4,1%,)			[27]
<i>S. argyrea</i>	limonene (18,1%), α -pinene (16,5%), β - pinene (23,9%)			
<i>S. perfoliata</i>	limonene (22,4%), cis-ocimene (12,3%), α -pinene (12,1%), β -pinene (8,7 %), β – caryophyllene			
<i>S. hirsuta</i> L.	β -phellandrene (23,8%), α - phellandrene (9,2%), α -pinene (8,2%), sesquiterpene (z)- β -guaiene (8,1%)	Steam distillation	GC GC-MS	[90]

1.4. Βιολογικές δράσεις – χρήσεις

1.4.1. Παραδοσιακή (Λαϊκή) Ιατρική

Τα εναέρια τμήματα του φυτού του γένους *Sideritis* είναι γνωστά στην Ελλάδα ως «τσάι του βουνού» χρησιμοποιούνται ευρέως ως αρωματικό θερμαντικό αφέψημα. Στη Μεσογειακή παραδοσιακή θεραπευτική, είναι γνωστό για τις αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιελκώδεις δράσεις του [37]. Στην Κρήτη ονομάζεται μαλοτήρας, η λέξη προέρχεται από τις ιταλικές λέξεις male (αρρώστια) και tigare (σύρω) επειδή στην Βενετοκρατούμενη Κρήτη το θεωρούσαν πανάκεια (θεραπεία, φάρμακο) για τα κρυολογήματα και τις παθήσεις του αναπνευστικού [2].

Πιστεύεται ότι είναι ευεργετικό για τα αιμοφόρα αγγεία της καρδιάς και ότι έχει αντιυπερτασική δράση. Το αφέψημα από τα υπέργεια τμήματα χρησιμοποιείται επίσης για τις παθήσεις του αναπνευστικού και του ουροποιητικού, αφού είναι καλό διουρητικό. Το αφέψημα με φλοιό κανέλλας και μέλι είναι μαλακτικό και αντισηπτικό για το βήχα. Διάφορα είδη *Sideritis*, συγκεκριμένα τα *S. congesta*, *S. libanotica* και *S. pisidica* είναι ιδιαίτερα δημοφιλή στην Τουρκία. Στην Ισπανία, χρησιμοποιούνται διάφορα αυτοφυή είδη στη λαϊκή θεραπευτική, κυρίως για μακροχρόνια θεραπεία φλεγμονωδών καταστάσεων, αλλά και ως απλά ροφήματα ή χωνευτικά λικέρ. Μεγάλη εξάπλωση παρουσιάζει το είδος *S. angustifolia Lagasca* (κν. ουρά του γάτου “rabo de gato”), που χρησιμοποιείται ως φάρμακο, καθώς και για τις πολύ σοβαρές πληγές των ζώων, κυρίως στην περιοχή της Καταλονίας. Με ανάλογη χρήση, χρησιμοποιούνται παραδοσιακά στην Ισπανία και τα είδη *S. mugronensis* και *S. javalambrensis* [3].

1.4.2. Αποτελέσματα ερευνών

Αντιφλεγμονώδη δράση

Αιθανολικά εκχυλίσματα και χλωροφορμικά και υδατικά κλάσματα αυτών, των ειδών *S. canariensis* L. var. *pannosa*, *Sideritis lotsyi* var. *Mascaensis* βρέθηκε να έχουν αναλγητική και αντιφλεγμονώδη δράση [50] [51] [52]. Εκχύλισμα πετρελαϊκού αιθέρα του είδους *S. taurica* παρουσίασε σημαντική αναλγητική δράση [67]. Τα λιπιδικά κλάσματα του εξανικού εκχυλίσματος *S. javalambrensis* εμφανίζουν ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση [53]. Το διτερπένιο andalusol το οποίο απομονώθηκε από το *S. foetens*, εμφάνισε αντιφλεγμονώδη δράση σε *in vivo* εφαρμογή [54]. Το φλαβονοειδές hypolaetin-8-glucoside παρουσίασε αντιφλεγμονώδη δράση κυρίως κατά την οξεία φάση της φλεγμονής καθώς και γαστροπροστατευτικές δράσεις *in vivo* [91]. Οι φαινόλες verbascoside, isoscutellarein 7-O-[6'''-O-acetyl-β-D-allopyranosyl(1→2)]-β-D-glucopyranoside, isoscutellarein 7-O-[6'''-O-acetyl-β-D-allopyranosyl(1→2)]-6'''-O-acetyl-β-D-glucopyranoside που απομονώθηκαν από κλάσματα ακετονικού εκχυλίσματος *S. stricta* Boiss. & Heldr., εμφάνισαν αξιοσημείωτη αντιφλεγμονώδη δράση σε *in vivo* δοκιμές, ιδιαίτερα μείγμα των δυο τελευταίων [55].

Αντιοξειδωτική δράση

Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης των διάφορων ειδών του γένους *Sideritis* έχουν χρησιμοποιηθεί οι μέθοδοι DPPH, Co(II) EDTA, FRAP, BHT, κ.α..

Εναέρια τμήματα *S. syriaca ssp. syriaca*, ερευνήθηκαν για την αντιοξειδωτική δράση διαφορετικών κλασμάτων (οξικού αιθυλεστέρα, βουτανόλης, διχλωρομεθανίου, διαιθυλεστέρα και νερού) με τη μέθοδο DPPH και Co(II) EDTA- induced luminol. Το κλάσμα οξικού αιθυλεστέρα, παρουσίασε τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση, η οποία συνδέθηκε με την

παρουσία φαινολικών ουσιών όπως οι γλυκοζίτες των arigenin και isoscutellarein [43]. Συσχέτιση μεταξύ της αντιοξειδωτικής δράσης και της περιεκτικότητας σε φαινόλες έχει βρεθεί για τα μεθανολικά εκχυλίσματα του *S. ozturkii* και *S. caesarea*, στα οποία η αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο DPPH βρέθηκε $41,68 \pm 1,96\%$ και $72,47 \pm 0,73\%$ στα 100 ppm αντίστοιχα [56]. Από εναέρια τμήματα *S. raeseri ssp. raeseri* απομονώθηκαν εννέα 7-O-allosyl glucosides παράγωγα των 5,8- διυδροξυ υποκατεστημένων φλαβονοειδών με διαφορετική θέση στο δακτύλιο B, τα οποία διερευνήθηκαν για τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες με DPPH, Co(II) EDTA και έδωσαν τιμές EC_{50} : $1,63 \pm 0,01$ (mg / mg) και IC_{50} : $(8,3 \pm 0,09) \times 10^{-3}$ (mg/mL) αντίστοιχα, μέτριας αντιοξειδωτικής δράσης συγκρινόμενα με ισχυρά αντιοξειδωτικά (Quercetin, Trolox) [37]. Καλλιεργούμενο είδος του είδους *S. raeseri Boiss. & Heldr. subsp. raeseri* ερευνήθηκε για την αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο DPPH, κατά τα στάδια του μπουμπουκιού, έναρξης ανθοφορίας, πλήρης ανθοφορίας και τέλος ανθοφορίας και βρέθηκαν οι ακόλουθες τιμές IC_{50} (μg/mL): $33,2 \pm 0,87$ / $45,1 \pm 1,57$ / $42,2 \pm 1,99$ / $17,9 \pm 0,91$. Η αντιοξειδωτική δράση για τα τρία πρώτα στάδια συσχετίστηκε με την περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, δε συσχετίστηκε όμως για το τέταρτο στάδιο, όπου παρουσίασε την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση και τη χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά [31]. Για το *S. raeseri ssp. raeseri* μετρήθηκε η αντιοξειδωτική δράση του μεθανολικού και υδατικού εκχυλίσματος και βρέθηκε με τη μέθοδο DPPH IC_{50} (μg/mL) $31 \pm 0,6$ και με τη μέθοδο ABTS $38 \pm 1,5$ και $90 \pm 0,6$ αντίστοιχα. Για το είδος *S. raeseri ssp. attica* βρέθηκαν αντίστοιχα $43 \pm 0,6$ / $71 \pm 0,6$ και $65 \pm 0,8$ / $95 \pm 2,3$. Οι πολυφαινόλες που βρέθηκαν στα εκχυλίσματα θεωρήθηκαν οι κύριες αντιοξειδωτικές ουσίες [57]. Οι Linardaki et al, το 2008, σε μια *in vivo* ανάλυση έδειξαν την αντιοξειδωτική δράση του *S. clandestina*, όταν σε άρρωστα ενήλικα ποντίκια δόθηκαν εγχύσεις εκχυλίσματος για 6 εβδομάδες

και παρατηρήθηκε αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα στον μεσεγκέφαλο, ειδική περιοχή του εγκεφάλου. Η μέτρηση έγινε με εφαρμογή της τεχνικής Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) [7].

Αντιμικροβιακή δράση

Αρκετά είδη *Sideritis* έχουν ερευνηθεί για την αντιμικροβιακή και μυκητοκτόνο δράση των αιθέριων ελαίων τους. Πολλά ισπανικά είδη, εμφάνισαν ανασταλτική δράση έναντι ορισμένων Gram – θετικών βακτηρίων και του μύκητα *Candida albicans*. Πιο 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*, τα οποία αναστέλλονται και από το αιθέριο έλαιο του *S. Tragoriganum*. Μικρότερη δραστικότητα εμφάνισε το αιθέριο έλαιο του *S. javalambrensis* [58] [59]. Κλάσματα αιθέριου ελαίου του *S. sipylea* παρουσίασαν αντιμικροβιακή δράση έναντι σε Gram-θετικά, Gram-αρνητικά βακτήρια και μύκητες. Τα περισσότερο δραστικά κλάσματα ήταν δύο, από τα οποία το ένα συνίστατο σε μίγμα διαφόρων αλκοολών ενώ στο άλλο κλάσμα η καρβακρόλη ήταν η κύρια ένωση [32]. 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 [60].

Αιθέριο έλαιο του είδους *S. italica* δοκιμάστηκε για την αντιμικροβιακή του δράση σε δύο Gram - θετικά βακτήρια (*Staphylococcus aureus* και *Enterococcus faecalis*) και επτά Gram-αρνητικά βακτήρια (*Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* και *Klebsiella pneumoniae*). Η αντιβακτηριακή

δράση ήταν υψηλότερη στα Gram-αρνητικά από τα Gram -θετικά βακτήρια, ειδικά κατά της *Pseudomonas aeruginosa* [61].

Τα αιθέρια έλαια του *S. perfoliata* και *S. trojana* ελέγχθηκαν στα *Escherichia coli*, *Methicillin-resistant*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis* και *Candida albicans*. Το έλαιο του *S. perfoliata* ήταν λιγότερο δραστικό στους μικροοργανισμούς δοκιμής, ενώ το αιθέριο έλαιο του *S. trojana* παρουσίασε καλύτερη αντιμικροβιακή δραστηριότητα η οποία αποδόθηκε στην υψηλότερη περιεκτικότητα οξυγονωμένων παραγώγων μονο- και σεσκιτερπενίων (20%) [62] [63].

Εκτός από τα αιθέρια έλαια, διάφορα εκχυλίσματα ειδών *Sideritis* παρουσίασαν αντιμικροβιακή δράση. Μεθανολικά εκχυλίσματα από εναέρια τμήματα τουρκικών ενδημικών ειδών, εμφάνισαν μυκητοκτόνο δράση έναντι στελέχους *Candida albicans* ανθεκτικού στην κλοτριμαζόλη (clotrimazole)¹⁹ [64]. Επίσης, μεθανολικά εκχυλίσματα του *S. ozturkii* και *S. caesarea* εμφάνισαν ισχυρή αντιμικροβιακή δράση [56]. Εκχυλίσματα με χρήση υπερκρίσιμου διοξειδίου του άνθρακα του είδους *S. scardica* δοκιμάστηκαν ως προς την αντιμικροβιακή τους δράση σε Gram θετικά και αρνητικά βακτήρια και στο μύκητα *Candida albicans*, όπου εμφάνισαν ισχυρή ως μέτρια δραστικότητα [65].

Αντιελκώδης δράση

Τα φυτά του γένους *Sideritis* έχουν χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή ιατρική για τις γαστροπροστατευτικές τους ιδιότητες.

¹⁹ Δραστική ουσία φαρμάκων κατά των μυκήτων (www.galinos.gr)

Από το είδος *S. leucantha* απομονώθηκε το φλαβονοειδές hypolaetin-8-O-β-D-glucoside, το οποίο βρίσκεται και σε άλλα είδη του γένους, και μελετήθηκε ως προς την αντιελκώδη δράση του σε ποντίκια. Παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των γαστρικών αλλοιώσεων που συνδέονται με την αύξηση της παραγωγής βλέννας [66].

Το αιθέριο έλαιο του είδους *S. italica* εμφάνισε αντιελκώδη δράση κατά του Ελικοβακτηρίου του πυλωρού (*Helicobacter pylori*), σε συγκεντρώσεις μεταξύ 5 και 25 µg/mL [61].

Αναλγητική δράση

Αιθανολικό εκχύλισμα του *S. latsyi var. Mascaensis*, καθώς και τα κλάσματα ύδατος και χλωροφορμίου εμφάνισαν αναλγητική δράση σε συσπάσεις που προκλήθηκαν από οξικό οξύ σε ποντικούς [51].

Εκχύλισμα πετρελαϊκού αιθέρα 400 mg/kg, που λαμβάνεται από εναέρια μέρη του φυτού *S. taurica*, παρουσίασε αναλγητική δράση παρόμοια με εκείνη που παράγεται από ένα επίπεδο δόσης 400 mg/kg ακετυλοσαλικυλικού οξέος (acetylsalicylic acid, ASA) σε 45 και 60 λεπτά [67].

Κυτταροτοξική δράση

Μεθανολικό εκχύλισμα από τα εναέρια μέρη του *S. libanotica ssp. Linearis* παρουσίασε μια σημαντική κυτταροτοξική δράση έναντι τριών κυτταρικών σειρών, κύτταρα Vero (νεφρού Αφρικανικού πράσινου πιθήκου), C6 κύτταρα (κύτταρα αρουραίου όγκου στον εγκέφαλο) και κύτταρα HeLa (καρκίνωμα μήτρας) [68].

Ενδιαφέρον, επίσης παρουσίασε η κυτταροτοξική δράση του αιθέριου ελαίου του είδους *S. perfoliata* έναντι καρκινικών σειρών κυττάρων ACHN (αδενοκαρκίνωμα νεφρικών κυττάρων) και C32 (αμελανωτικό μελάνωμα) [69].

Άλλες δράσεις

Τα εκχυλίσματα του είδους *S. taurica*, βρέθηκε να εμφανίζουν σημαντική αντι-υπεργλυκαιμική δράση [67].

Διάφορα είδη του γένους *Sideritis* βρέθηκε ότι εμφανίζουν δράση έναντι του ιού του AIDS, η οποία οφείλεται στα διτερπένια τύπου λινεαρόλης [70].

Υδατικά εκχυλίσματα των ειδών *S. euboica*, *S. Clandestina*, μπορούν να αποτελέσουν τη βάση για το σχεδιασμό "λειτουργικών τροφίμων", πέραν των παραδοσιακά θεραπευτικών παραγόντων (εκλεκτικοί ρυθμιστές των υποδοχέων οιστρογόνων ή SERMs) για την πρόληψη της οστεοπόρωσης [71].

Διτερπένια που απομονώθηκαν από εκχυλίσματα πετρελαϊκού αιθέρα και ακετόνης του είδους *S. congesta* P.H. Davis & Hub.-Mor., παρουσίασαν ασθενής ανασταλτική δράση του ενζύμου της ακετυλ-χολινεστεράσης [72].

1.5. Βιβλιογραφικές Αναφορές

Ενόργανες Βιβλιογραφικές Αναφορές

- [5] Güvenc, A.& Duman H. (2010). Morphological and anatomical studies of annual taxa of *Sideritis* L. (Lamiaceae), with notes on chorology in Turkey, *Turk J Bot*, 34, 83-104.
- [6] Güvenc, A., Houghton P.J., Duman H., M. Coskun, and P. Sahin (2005). Antioxidant Activity Studies on Selected *Sideritis* Species Native to Turkey, *Pharmaceutical Biology*, 43 (2), 173–177.
- [7] González-Burgos E., M. E. Carretero, M.P. Gómez-Serranillos (2011). *Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities—A review *Journal of Ethnopharmacology*, 135 (2), 209–225.
- [8] Duman, H., N. Kırimer, F. Ünal, and A. Güvenç (2005). Ğahin P. Türkiye *Sideritis* L. Türlerinin Revizyonu, Proje no: TBAG-1853 (199T090), Tübgök.
- [9] Rivera Nuñez D., Obon de Castro C., Tomas-Lorente F., Ferreres F. & Tomas-Barberan F. A. (1990). Infrasectional systematics of the genus *Sideritis* L. section *Sideritis* (Lamiaceae), *Botanical Journal of the Linnean Society*, 103 (4), 325–349.
- [10] Barber J. C., Francisco-Ortega J., Santos-Guerra A., Turner K. G., Jansene R. K. (2002). Origin of Macaronesian *Sideritis* L. (Lamioideae: Lamiaceae) inferred from nuclear and chloroplast sequence datasets *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23, 293–306.
- [11] Baden, C. (1991). *Mountain Flora of Greece Vol. 2* Edinburgh: Edinburg University Press , 84-91.
- [14] Margaris, M S; Koedam, A.; Vokou D. (1982). *Aromatic Plants Basic and Applied Aspects*, Martinus Nijhoff Publishers the Hague / Boston /London, 1st ed.
- [15] Tomás-Lorente F., Ferreres F., Tomás-Barberán F. A. , Rivera D., Obón C.. (1989). Verification of *Sideritis incana* X *S. angustifolza* hybrids by flavonoid analysis *Phytochemistry*, 28 (8), 2141–2143.
- [20] Piozzi F., Venturella P., Bellino A., Mondelli R. (1968), Diterpenes from *Sideritis sicula* Ucria, *Tetrahedron* 24, 4073–4081.
- [21] Fraga B.(2012), *Phytochemistry and chemotaxonomy of Sideritis species from the Mediterranean region*, *Phytochemistry Volume 76*, April 2012, Pages 7–24

- [22] Gomez-Serranillos P., Carretero E., Slowing K., Palomino O. M., Villarrubia A. I., Villar A. (1998) HPLC Quantitative Analysis of Diterpenoids in Sideritis (Labiatae) Species Phytotherapy Research, 12, S101–S103.
- [23] Gomez-Serranillos P., Palomino O. M., Vdlarrubla A. I., Cases M. A., Carretero E., & Villar A. (1997) Analysis of diterpenoids from Sideritis species by reversed-phase high-performance liquid chromatography Journal of Chromatography A, 778, 421-425.
- [24] Piozzi F., Bruno M., Rosselli S., Maggio A. (2006) The diterpenoids from the genus Sideritis Studies in Natural Products Chemistry, 33, 493-540.
- [25] Çarıkçı S., Kılıç T., Azizoglu A., Topçu G. (2012). Chemical Constituents of Two Endemic Sideritis Species from Turkey with Antioxidant Activity Records of Natural Products, 6(2), 101-109.
- [26] Koedam A. (1986) Volatile Oil Composition of Greek Mountain Tea (Sideritis spp.) Sci. Food Agric., 37 (7), 681-684.
- [27] Ezer N., Vila R., Canigueral S., Adzet T. (1996) Essential oil composition of four turkish species of sideritis Phytochemistry, 41(1), 203-205.
- [28] Kirimer N., Baser K. H. C., Demirci B., Duman H. (2004) Essential oils of Sideritis species of turkey belonging to the section Empedoclia. Chemistry of Natural Compounds, 40(1), 19-23.
- [29] Bojovic D., Jankovic S., Potpara Z., Tadic V. (2011) Summary of the phytochemical research performed to date on Sideritis species Ser. J. Exp. Clin. Res., 12 (3), 109-122.
- [30] Kostadinova, E., Alipieva K., Stefova M., Antonova D., Evstatieva L., Stefkov G., Tsvetkova I., Naydenski H., Bankova V. (2008), Influence of cultivation on the chemical composition and antimicrobial activity of Sideritis spp. Pharmacognosy Magazine 4(14):102.
- [31] Pljevljakusic D., Savikin K., Jankovic T., Zdunic G., Ristic M., Godjevac D., Konic-Ristic A. (2011) Chemical properties of the cultivated Sideritis raeseri Boiss. & Heldr. subsp. raeseri Food Chemistry, 124 (1), 226-233.
- [32] Gergis V., Spiliotis V., Argyriadou N., Poulos C. (1991) Relation between the Antimicrobial Activity and the Chemical Composition of the Essential Oil of Sideritis sipylea Boiss (Labiatae) Flavour and fragrance journal, 6, 93-95.
- [35] Janeska B., Stefova M., Alipieva K. (2007) Assay of flavonoid aglycones from the species of genus Sideritis (Lamiaceae) from Macedonia with HPLC-UV DAD. Acta Pharmaceutica, ;57(3), 371–377.

- [36] Samanidou V., Tsagiannidis A., Sarakatsianos I. (2012), Simultaneous determination of polyphenols and major purine alkaloids in Greek *Sideritis* species, herbal extracts, green tea, black tea, and coffee by high-performance liquid chromatography-diode array detection, *J. Sep. Sci.* 35, 608–615.
- [37] Gabrieli C. N., Kefalas P. G., Kokkalou E. L. (2005). Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*. *J. Ethnopharmacol*, 96(3), 423-428.
- [38] Petreska J., Stefkov G., Kulevanova S., Alipieva K., Bankova V., Stefova M. (2011). Phenolic Compounds of Mountain Tea from the Balkans: LC/DAD/ESI/MSn Profile and Content Natural Product Communications, 6(1), 21-30.
- [39] Charami M. T., Lazari D., Karioti A., Skaltsa H., Hadjipavlou-Litina D., Souleles C. (2008) Antioxidant and Antiinflammatory Activities of *Sideritis perfoliata* subsp. *perfoliata* (Lamiaceae) *Phytotherapy Research*, 22, 450–454
- [40] Tomás-Barberána F. A. Ferreres F., Tomás-Lorente F., Rivera-nÚñez D., Obón-De Castro C. (1990) A Chemotaxonomical Study of Some Portuguese *Sideritis* species *Biochemical Systematics and Ecology*, 18(4), 245-247, 249.
- [41] Tomás-Lorente F., Ferreres F., Tomás-Barberán F. A. , Rivera D., Obón C.. (1988) Some Flavonoids and the Diterpene Borjatriol from some Spanish *Sideritis* Species *Biochemical Systematics and Ecology*, 16 (1), 33-42.
- [42] Tomás-Lorente F., Ferreres F., Tomás-Barberán F. A. , Rivera D., Obón C.. (1989) Verification of *Sideritis incana* X *S. angustifolza* hybrids by flavonoid analysis *Phytochemistry*, 28 (8), 2141–2143.
- [43] Armata M., Gabrieli C., Termentzi A., Zervou M., Kokkalou E. (2008). Constituents of *Sideritis syriaca*. ssp. *syriaca* (Lamiaceae) and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 111, 179–186.
- [44] Petreska J., Stefova M., Ferreres F., Moreno D. A., Tomás-Barberán F. A., Stefkov G., S.Kulevanovac, A. Gil-Izquierdo (2011b) Potential bioactive phenolics of Macedonian *Sideritis* species used for medicinal “Mountain Tea” *Food Chemistry*, 125 (1), 13–20.
- [45] Petreska J.S and Stefova M. (2013). 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.

- [46] Tadić V. M., Jeremic I., Dobric, S., Isakovic, A., Markovic, I., Trajkovic, V., Bojovic D., Arsic, I. (2012). Anti-inflammatory, Gastroprotective, and Cytotoxic Effects of *Sideritis scardica* Extracts. *Journal of Medicinal Plant and Natural Product Research*, 78(5), 415-427.
- [47] Proestos C. & Komaitis M. (2013), Analysis of Naturally Occurring Phenolic Compounds in Aromatic Plants by RP-HPLC Coupled to Diode Array Detector (DAD) and GC-MS after Silylation, *Foods*, 2, 90-99.
- [48] Kogiannou D.A., Kalogeropoulos N., Kefalas P., Polissiou M.G., Kaliora A.C.(2013). Herbal infusions; their phenolic profile, antioxidant and anti-inflammatory effects in HT29 and PC3 cells. *Food Food and Chemical Toxicology* 61 152–159.
- [49] Yumrutas O., Oztuzcu S., Pehlivan M., Ozturk N., Poyraz I.E., Iğci Y.Z., Cevik M.O., Bozgeyik I., Aksoy A.F., Bagis H, Arslan A. (2015), Cell viability, anti-proliferation and antioxidant activities of *Sideritis syriaca*, *Tanacetum argenteum* sub sp. *argenteum* and *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri* on human breast cancer cell line (MCF-7), *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 5 (03), pp. 001-005.
- [50] Hernández-Pérez M., Rabanal Gallego R.M. (2002) Analgesic and Antiinflammatory Properties of *Sideritis lotsyi* var. *Mascaensis*. *Phytotherapy Research*, 16(3), 264–266.
- [51] Hernández-Pérez M., Rabanal R.M.. (2002). Evaluation of the antinflammatory and analgesic activity of *Sideritis canariensis* var. *pannosa* in mice. *J. Ethnopharmacol*, 81(1), 43-47.
- [52] Hernández-Pérez M., Sánchez-Mateo C. C., Montalbetti-Moreno Y., Rabanal R. M. (2004) Studies on the analgesic and anti-inflammatory effects of *Sideritis candicans* Ait. var. *eriocephala* Webb aerial part *J. Ethnopharmacol*, 93 (2-3), 279-284.
- [53] Godoy A., Heras B., Vivas J. M., Villar A. (2000) Anti-inflammatory properties of a lipid fraction obtained from *Sideritis javalambrensis*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 23, 1193-1197.
- [54] Heras B., Navarro A., Díaz-Guerra M. J., Bermejo P., Castrillo A., Boscá L., Villar A. (1999) Inhibition of NOS-2 expression in macrophages through the inactivation of NF-kB by andalusol *British Journal of Pharmacology*, 128(3), 605 - 612.
- [55] Küpeli E., Sahin F.P., Yeşilada E., Caliş I., Ezer N. (2007) In vivo Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activity Evaluation of Phenolic Compounds from *Sideritis stricta* Z. *Naturforsch. C.*, 62(7-8), 519 - 525.

- [56] Sagdic O., Aksoy A., Ozkan G., Ekici L., Albayrak S. (2008) Biological activities of the extracts of two endemic *Sideritis* species in Turkey Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9 (1), 80–84.
- [57] Stagos D., Portesis N., Spanou C., Mossialos D., Aligiannis N., Chaita E., Panagoulis C., Reri E., Skaltsounis L., Tsatsakis A. M., Kouretas D.(2012) Total phenolic content, antioxidant capacity, protective activity against hydroxyl (OH) and peroxy (ROO) radical-induced DNA damage, and antibacterial activity Food and Chemical Toxicology, 50, 4115–4124.
- [58] Villar A., Jiménez M. J., Alcaraz M. J. (1986) The anti-inflammatory activity of the genus *Sideritis*: a new insight *Plantes médicinales et phytothérapie*, 20, 31–36.
- [59] Villar A., Recio M. C., Rios J. L., Zafra-Polo M. C. (1986) Antimicrobial Activity of Essential Oils from *Sideritis* species *Pharmazie*, 41, 198-199 .
- [60] Uğur A., Varola Ö., Ceylan Ö. (2005) Antibacterial activity of *Sideritis curvidens*. and *Sideritis lanata*. from Turkey *Pharmaceutical Biology*, 43 (1), 47–52.
- [61] Basile A., Senatore F., Gargano R., Sorbo S., Del Pezzo M., Lavitola A., Vuotto M. L. (2006). Antibacterial and antioxidant activities in *Sideritis italica* (Miller) Greuter et Burdet essential oils *J Ethnopharmacol*, 107(2) , 240–248.
- [62] Kirimer N., Baser K. H. C., Demirci B., Duman H. (2004) Essential oils of *Sideritis* species of turkey belonging to the section *Empedoclia*. *Chemistry of Natural Compounds*, 40(1), 19-23.
- [63] Kirimer N., Demirci B., Iscan G., Baser K. H. C., Duman H. (2008) Composition of the essential oils of two *Sideritis* species from Turkey and antimicrobial activity *Chem.of Nat. Comp.*, 44(1), 121-123.
- [64] Dulger B., Gonuz A., Aysel V. (2006) Inhibition of clotrimazole-resistant *Candida albicans* by some endemic *Sideritis* species from Turkey *Fitoterapia*, 77, 404–405.
- [65] Tadić V. M, Bojović D., Arsić I., Đorđević S., Aksentijević K., Stamenić M., Janković S. (2012) Chemical and antimicrobial evaluation of supercritical and conventional *Sideritis scardica* Griseb., *Lamiaceae* extracts *Molecules*, 17 (3), 2683–2703.
- [66] Alcaraz M. J., Tordera M. (1988) Studies on the gastric antiulcer activity of hypolaetin-8-glucoside *Phytotherapy Research*, 2, 85–88.
- [67] Aboutabl E. A., Nassar M. I., Elsakhawy F. M., Maklad Y. A., Osman A. F., El-Khrisy E. A. (2002) Phytochemical and pharmacological studies on *Sideritis taurica* Stephan ex Wild *J Ethnopharmacol*, 82(2-3), 177-184.

- [68] Demirtas I., Sahin A., Ayhan B., Tekin S., Telci I. (2009) Antiproliferative effects of the methanolic extracts of *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *Linearis* Rec. Nat. Prod., 3, 104-109.
- [69] Loizzo M. R., Tundis R., Menichini F., Saab A. M., Statti G. A., Menichini F. (2007) Cytotoxic activity of essential oils from labiatae and lauraceae families against in vitro human tumor models *Anticancer Research*, 27 , (5A) 3293-3300.
- [70] Bruno M., Rosselli S., Pibiri I., Kilgore N., Lee, K.-H. (2002) Anti-VIH agents derived from the ent-kaurene diterpenoid linearol *Natural Products*, 65, 1594–1597.
- [71] Kassi E., Papoutsis Z., Fokialakis N., Messari I., Mitakou S., Moutsatsou, P. (2004) Greek plant extracts exhibit selective estrogen receptor modulator (SERM)-like properties. *J Agric Food Chem.*, 52(23), 6956-6961.
- [72] Topçu G., Ertuş A., Öztürk M. , Dinçela D., Kılıç T., Halfon B. (2011). Ent-kaurane diterpenoids isolated from *Sideritis congesta*. *Phytochemistry Letters*, 4 (4), 436–439.
- [73] Quesada T., Rodriguez B., Valverde S. (1972) Six new diterpenes from *Sideritis leucantha* Cav. and *Sideritis linearipolia* Lam. *Tetrahedron Letters*, 13 (22), 2187–2190.
- [74] Venturella P.& Bellino A. (1977). Diterpenes from some greek *Sideritis* species. *Fitoterapia*, 48, 3-4.
- [75] Venturella P.& Bellino A. (1977). Eubotriol and eubol, new diterpenes from *Sideritis euboica* *Experientia*, 33 (10), 1270-1271.
- [76] Venturella, P., Bellino, A., Marino, M.L. (1978). New diterpenes from *Sideritis sicula*. *Phytochemistry* 17, 811–812.
- [77] Venturella P., Bellino A., Marino M. L. (1983) Siderone, a diterpene from *Syderitis syriaca* *Phyrochemistry*, 22, 2537-2538.
- [78] Venturella P., Bellino A., Marino M. L. (1988) A diterpene, distanol, from *Sideritis distans* *Phytochemistry*, 28 (7), 1976-1977.
- [79] Bruno M., Piozzi F., Arnold N. A., Baser K. H. C., Tabanca N., Kirimer N. (2005). Kaurane Diterpenoids from Three *Sideritis* Species. *Turk J Chem* 29, 61 - 64.
- [80] Çarıkçı S., Çöl Ç., Kılıç T., Azizoğlu A. (2007). Diterpenoids from *Sideritis tmolea* P. H. *Davis Records of Natural Products*, 1 (4), 44-50.

- [81] Ertas A., Öztürk M., Boga M., Topcu G. (2009) Antioxidant and anticholinesterase activity evaluation of ent-kaurane diterpenoids from *Sideritis arguta* Journal of Natural Products, 72, 500–502.
- [82] Halfon B, Gören AC, Ertaş A, Topçu G. (2011). Complete ¹³CNMR assignments for ent-kaurane diterpenoids from *Sideritis* species Magn Reson Chem., 49(5):291-294.
- [83] Palomino O. M., Gomez-Serranillos P., Carretero E., Villar A. (1996) High-performance liquid chromatography of flavonoids from *Sideritis* species. Journal of Chromatography A, 731 (1-2), 103-108
- [84] Tsibranska I., Tylkowski B., Kochanov R. Alipieva (2011) K Extraction of biologically active compounds from *Sideritis ssp. L.*, Food and Bioproducts Processing, 89, 273–280.
- [85] Vasilopoulou C., Kontogianni V., Linardaki Z., Iatrou G., Lamar, F., Nerantzaki A., Gerothanassis I. P. Tzakos A. G. Margarity M. (2013) Phytochemical composition of “mountain tea” from *Sideritis clandestina* subsp. *clandestina* and evaluation of its behavioral and oxidant/antioxidant effects on adult mice. European Journal of Nutrition, 52 (1), 107-116.
- [86] Menković N., Gođevac D., Šavikin K., Zdunić G., Milosavljević S., Bojadži A., Avramoski O. (2013) Bioactive Compounds of Endemic Species *Sideritis raeseri* subsp. *raeseri* Grown in National Park Galičica Records Natural Products, 7(3), 161-168.
- [87] Kogiannou D.A., Kalogeropoulos N., Kefalas P., Polissiou M.G., Kaliora A.C.(2013). Herbal infusions; their phenolic profile, antioxidant and anti-inflammatory effects in HT29 and PC3 cells. Food Food and Chemical Toxicology 61 152–159.
- [88] Adzet T., Canigual S., Ibáñez C. (1989). Essential Oil of *Sideritis granatensis* (Pau) Rivas-Goday (Lamiaceae) Flavour and fragrance journal, 4, 129-132
- [89] Koedam A., Scheffer J. J. C., & Baerheim Svendsen, A. J. (1980). Monoterpenes in the volatile leaf oil of *Abies X arnoldiana*. Agric. Food Chem., 28 (4), 862-866.
- [90] Palá-Paúl J., Pérez-Alonso M. J., Velasco-Negueruela A., Ballesteros M. T., Sanz, J. (2006) Essential oil composition of *Sideritis hirsuta* L. from Guadalajara Province, Spain. Flavour and fragrance journal 21 (3), 410–415.
- [91] Moroney M. A., Alcaraz M. J., Forder R. A., Carey F., Hoult R. S. (1988). Selectivity of neutrophil 5-lypoxygenase and cyclooxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids. Pharmacy and Pharmacology, 40 (11), 787–792.

Ελληνικές Βιβλιογραφικές Αναφορές

- [1] Αρμάτα Μ. (2006). : Φυτοχημική ανάλυση και αντιοξειδωτική ιξκανότητα του εκχυλίσματος του οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Sideritis syriaca* (Μαλοτήρας) Μεταπτυχιακή Διατριβή, Θεσσαλονίκη.
- [2] Παληογιάννη Α. Π. (2007). Μελέτη Πτητικών Συστατικών Ελληνικών Οίνων & Αποσταγμάτων - Παραγωγή Βιολειτουργικών Οίνων με Βάση Φυτά του Γένους *Sideritis*, Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα.
- [3] Συλλιγνάκη Γ. (2010). Εκτίμηση αντιερπητικής δράσης *in vitro* φυτών της ελληνικής χλωρίδας. Βιοκατευθυνόμενη απομόνωση των δευτερογενών μεταβολιτών του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος του φυτού *Sideritis perfoliata* L. subsp. *perfoliata* της οικογενειας *Lamiaceae*, Διπλωματική Εργασία, Θεσσαλονίκη.
- [12] Ανάσης Ε. Σ. (1976). Τα Φαρμακευτικά βότανα της Ελλάδος : ονομασία, ιστορία, βοτανικοί χαρακτήρες, χρησιμότης, φαρμακευτικές ιδιότητες, καλλιέργεια, Μακρής 3η έκδ.
- [13] Γκόλιαρης Α. (1995). Γενετική μελέτη στο ελληνικό τσάι του βουνού (*Sideritis* L), Διδακτορική Διατριβή, Θεσσαλονίκη.
- [16] Πατέλου Ε. (2014). Εκτίμηση της Γενετικής Ποικιλότητας Αυτοφυών Πληθυσμών Τσάι του Βουνού (*Sideritis raeseri*) με τη Χρήση Μοριακών Δεικτών, Μεταπτυχιακή Διατριβή, Θεσσαλονίκη.
- [17] John McMurry, μετάφραση: Βάρβογλης Α., Ορφανόπουλος Μ., Σμόνου Ι., Στρατάκης Μ. (2005). Οργανική χημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- [18] Γκέργκης Β. (1990). Μελέτη της χημικής σύστασης του αιθέριου ελαίου Ελληνικών ποικιλιών του φυτού *Sideritis Labiatae*, Διδακτορική Διατριβή, Πάτρα.
- [19] Καραμπουρνιώτης Γ.Α. (2003). Φυσιολογία Καταπονήσεων των Φυτών. Εκδόσεις Εμβρο.
- [33] Καρατάγλης, Σ. (1999), Φυσιολογία Φυτών, Art of Text.3η έκδοση, Θεσσαλονίκη.
- [34] Γαλάτης, Β.; Δ. Γανωτάκης ; Κ. Γκανή - Σπυροπούλου; Γ. Καραμπουρνιώτης; Κ. Κοτζαμπάσης; Ε.-Ι. Κωνσταντινίδου; Ι. Μανέτας; Κ.Α. Ρουμπελάκη -Αγγελάκη. (2003), Φυσιολογία Φυτών από το μόριο στο περιβάλλον, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις. Κρήτης, 1η έκδοση.

Διαδικτυακές Αναζητήσεις

[4] <http://gbt.aua.gr/el/content/node/CD1590>

2° ΚΕΦΑΛΑΙΟ : ΠΡΑΣΙΝΟ ΤΣΑΙ
(Camellia sinensis)

Το πράσινο τσάι παρασκευάζεται από τα φρέσκα φύλλα του φυτού *Camellia sinensis*. Από το ίδιο φυτό, ανάλογα με τον τρόπο επεξεργασίας των φρέσκων φύλλων του, την έκταση δηλαδή της ζύμωσης που υφίστανται, προκύπτουν έξι τύποι τσαγιού: πράσινο τσάι, κίτρινο τσάι, σκούρο τσάι (puer - post-fermented), λευκό τσάι, τσάι oolong και το μαύρο τσάι, οι οποίοι διαφέρουν και ως προς τη γεύση τους και ως προς τη χημική τους σύσταση. Η χημική σύσταση, επηρεάζεται σε λιγότερο βαθμό και από άλλους παράγοντες όπως περιβαλλοντικοί, ο χρόνος συγκομιδής καθώς και ποια φύλλα συγκομίζονται, οι γεωργικές πρακτικές καθώς και οι εχθροί και οι ασθένειες.



Εικόνα 2--1 : Έξι τύποι τσαγιού από το φυτό *Camellia sinensis*, Παρασκευασμένα τσάγια και τα αντίστοιχα φύλλα του (λευκό (white), κίτρινο (yellow), πράσινο (green), Oolong, μαύρο (black), σκούρο (post-fermented) [1]

Τα πράσινο, άσπρο και κίτρινο τσάι, υφίστανται πολύ μικρή οξείδωση, καθώς ξηραίνονται αμέσως μετά τη συγκομιδή τους. Για το λόγο αυτό η περιεκτικότητα των πολυφαινολών αυτών των τσαγιών προσεγγίζει αυτή των φρέσκων φύλλων. Το ρόφημα από αυτά τα τσάγια έχει ανοικτό κίτρινο ή κιτρινοπράσινο χρώμα και ήπια γεύση.

Αντιθέτως, στο μαύρο τσάι τα φύλλα μαραίνονται ή κόβονται και μαυρίζουν έτσι ώστε να υπόκεινται σε πλήρη οξείδωση, με αποτέλεσμα την πολύ μικρή περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες καθώς με την οξείδωση μετατρέπονται σε θειοφλαβίνες και θειορουβικίνες. Οι θειορουβικίνες προσδίδουν στο μαύρο τσάι το διακριτό κοκινόμαυρο χρώμα και την έντονη γεύση.

Το oolong τσάι προκύπτει από ημι – οξείδωση καθώς τα φύλλα του φυτού υφίστανται μια μέτρια ζύμωση πριν τη ξήρανση, η δε περιεκτικότητά σε πολυφαινόλες είναι υψηλότερη του μαύρου τσαγιού. Έχει πιο γεμάτη γεύση από το άσπρο και πράσινο τσάι και λιγότερο έντονη γεύση από αυτή του μαύρου.

Τέλος, το σκούρο (post-fermented) τσάι υπόκειται σε μια περίοδο ωρίμανσης από μερικούς μήνες έως πολλά χρόνια, όπου αφήνεται να οξειδωθεί αργά υπό την επίδραση μικροοργανισμών και ελεγχόμενης υγρασίας και θερμοκρασίας. Η διαδικασία ζύμωσης λαμβάνει χώρα σε σωρούς. Ένα έγχυμα από ένα καλό σκούρο τσάι έχει αρκετά σκούρο χρώμα, η δε γεύση του είναι απαλή κι ελάχιστα στυφή. Πωλείται συμπιεσμένο με συνήθη σχήματα σφαίρας και τούβλου [2].

2.1. Ιστορικά στοιχεία

Σύμφωνα με το θρύλο, το τσάι ανακαλύφθηκε τυχαία από τον κινέζο αυτοκράτορα Σεν Νουνγκ, το 2737 π.Χ. Μία καλοκαιρινή ημέρα αποφάσισε να επισκεφθεί μια μακρινή γωνιά της αυτοκρατορίας του. Κάποια στιγμή διέταξε την ακολουθία του να σταματήσει, και οι υπηρέτες ξεκίνησαν να βράζουν νερό για να πιούν. Ο αυτοκράτορας θεωρούσε ότι το νερό χρειαζόταν βρασμό πριν από την πόση, για λόγους υγιεινής. Καθώς έβραζε το νερό, ένα ρεύμα αέρα παρέσυρε φύλλα από κάποιο γειτονικό θάμνο και αυτά κατέληξαν στο ξεσκεπαστο τσουκάλι. Πριν προλάβει

κανείς να αντιδράσει, τα φύλλα άρχισαν να βράζουν και να χρωματίζουν το νερό. Ο Σεν Νουνγκ μύρισε το γλυκό άρωμα του «μείγματος», και τη στιγμή που το δοκίμασε ανακάλυψε τις αναζωογονητικές του ιδιότητες. Για χιλιετίες το τσάι χρησιμοποιούνταν περισσότερο ως φάρμακο. Καθημερινό ρόφημα έγινε γύρω στον 3ο αιώνα μ.Χ. οπότε άρχισε η καλλιέργεια και η παραγωγή του [3].

Στην Ευρώπη, το τσάι εισήχθη στη Βενετία κατά το 1550 μ.χ.. Αργότερα, βρισκόταν σε φαρμακεία της Γερμανίας ως φάρμακο με πολύ υψηλές τιμές. Σε μεγάλες ποσότητες άρχισε να εισάγεται στην Ευρώπη από τους Άγγλους και Ολλανδούς από το 1660 μ.χ.. Κατά τον 19^ο αιώνα, η καλλιέργειά του εισήχθη στην Ινδία, η οποία ήταν αγγλική αποικία τότε και το παραγόμενο τσάι μεταφερόταν στην αγορά του Λονδίνου [4].

2.2. Βοτανική περιγραφή - καλλιέργεια

Τα φυτά του τσαγιού *Camellia sinensis* είναι αειθαλή, δικοτυλήδονα, δενδρύλλια, αυτοφυή στο Θιβέτ και στο Ασσάμ. Φτάνουν ύψος 10 μέτρα, φέρουν φύλλα επαλλάσσοντα, σκουροπράσινα γυαλιστερά, έμμισχα, επιμήκη, ωοειδή, μήκους 5 - 10 εκ. και πλάτους 2 - 4 εκ., οδοντωτά. Τα άνθη είναι μασχαλιαία κρεμάμενα, λευκά ή λευκορόδινα με 5 ωοειδή σέπαλα, 5 πέταλα κυρτά, σαρκώδη, διατεταγμένα σε δυο σπονδύλους και πολυάριθμους κίτρινους στήμονες που έχουν στη βάση ενωμένα νήματα. Ο καρπός τους είναι κάψα²⁰, τρίλοβη κρεμάμενη με 3-4 σπέρματα [4].

Υπάρχουν δύο κύριες ποικιλίες φυτών τσαγιού. Η ποικιλία με μικρά φύλλα, γνωστή ως *Camellia sinensis var sinensis* που αναπτύσσεται σε δροσερές, υψηλές ορεινές περιοχές της κεντρικής Κίνας

²⁰ Κάψα: διαρρηκτός καρπός, που ανοίγει με πολλούς τρόπους κατά την ωρίμανση

και της Ιαπωνίας και η ποικιλία με τα μεγάλα φύλλα, γνωστή ως *Camellia sinensis var assamica*, που ευδοκίμει περισσότερο στα υγρά, τροπικά κλίματα της βορειοανατολικής Ινδίας [5].

Πίνακας 2.2-1 : Ταξινόμηση Ιεράρχηση πάνω από το επίπεδο του είδους

Βασίλειο (kingdom)	Plantae (Φυτά)
Άθροισμα (division)	Magnoliophytina (Αγγειόσπερμα)
Κλάση (class)	Magnoliatae (Δικότυλα)
Υποκλάση (subclass)	Dilleniidae (Διλληνιίδες)
Τάξη (order)	Theales (Θειώδη)
Οικογένεια (Family)	Theaceae (Θειϊδες)
Γένος (genus)	<i>Camellia</i> (Καμέλια)(
Είδος (Species)	<i>C. sinensis</i> (Κ. η σινική)

Το είδος *Camellia sinensis* έχει πολλά υβρίδια που καλλιεργούνται για το αρωματικό φύλλωμά τους “Folia Thea”. Καλλιεργείται συστηματικά σε χώρες όπως είναι η Ινδία, Κίνα, Μπαγκλαντές, Τουρκία, Βιετνάμ, Ζιμπάμπουε , Εκουαδόρ, Περού, Αργεντινή και Ουγκάντα. Η ετήσια παγκόσμια παραγωγή εστιάζεται κυρίως στις χώρες Κίνα, Ινδία και Τουρκία. Τα νεαρά φύλλα του τειόδεντρου περιέχουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις των ουσιών που προσδίδουν τη γεύση στο τσάι. Η συγκέντρωση είναι υψηλότερη στον οφθαλμό περίπου κατά την έκπτυξη του και πέφτει καθώς ενηλικιώνονται τα φύλλα. Είναι δε μικρότερη στον βλαστό. Η μεγαλύτερη παραγωγή και η καλύτερη ποιότητα προϊόντος, συνδέεται με τον αριθμό των φύλλων που θα συγκομιστούν και το μήκος του βλαστού που τα περιλαμβάνει. Έχει αποδειχθεί ότι τα δύο φύλλα με τον οφθαλμό δίνουν την καλύτερη ποιότητα ενώ τα 3 φύλλα με τον οφθαλμό δίνουν προϊόν αποδεκτό. Ο σκοπός

της συγκομιδής είναι να συλλέγονται όλοι οι βλαστοί που παράγουν είτε δύο φύλλα και έναν οφθαλμό είτε τρία φύλλα και έναν οφθαλμό. Η συγκομιδή γίνεται κυρίως από εργάτες που τοποθετούν το προϊόν σε ειδικό δοχείο που φέρουν στην πλάτη, τελευταία η συγκομιδή γίνεται και μηχανικά. Τα συγκομισθέντα φύλλα υπόκεινται σε επεξεργασία ανάλογη με τον τύπο του τσαγιού που θα παραχθεί. Τα δέντρα μπαίνουν σε πλήρη παραγωγή από το 2ο έτος ηλικίας τους η δε παραγωγική ζωή τους διαρκεί μέχρι 50 έτη, εφόσον δέχονται τις κατάλληλες καλλιεργητικές φροντίδες. Με κατάλληλο κλάδεμα τα φυτά διατηρούνται στο ύψος των 1,5 μέτρων, ώστε να γίνεται πιο εύκολα η συγκομιδή των φύλλων, που επαναλαμβάνεται 2-3 φορές το χρόνο ανάλογα με την ταχύτητα αναπτύξεως των νεαρών κλάδων. Η παραγωγή ανά στρέμμα ανέρχεται σε 340 – 1.150 κιλά ξερά φύλλα ή 1.700 – 4.500 κιλά νωπά φύλλα [6].



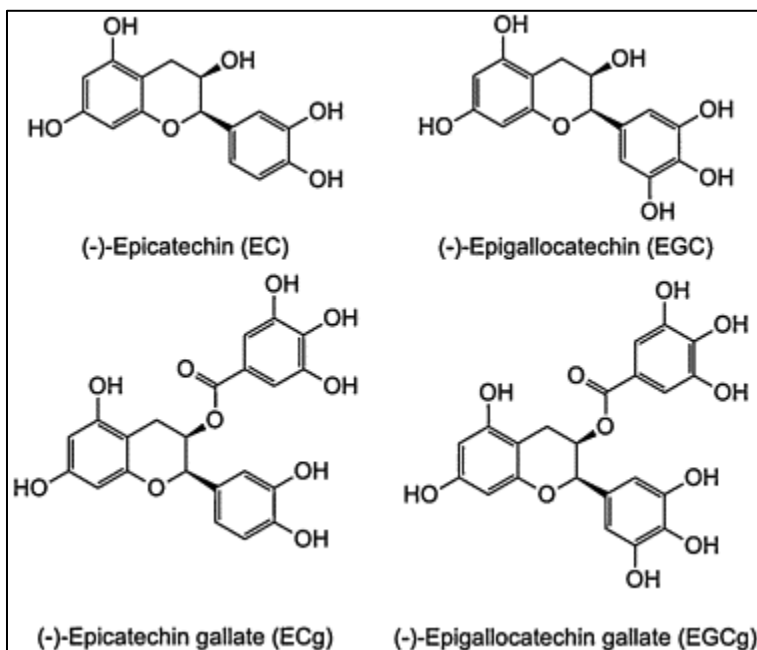
Εικόνα 2-2 : *Camellia sinensis* [4]

2.3. Χημική σύσταση

Τα φρέσκα φύλλα του τσαγιού περιέχουν 36% πολυφαινόλες, με επικρατέστερες τις κατεχίνες [13]. Περιέχουν, επίσης, υδατάνθρακες σε ποσοστό 5-7% όπως κυτταρίνη, πηκτίνες, γλυκόζη, φρουκτόζη και σακχαρόζη. Είναι πλούσια σε αμινοξέα, περίπου 1-4%, με κύρια θεανίνη, γλουταμινικό οξύ, τρυπτοφάνη, γλυκίνη, σερίνη, ασπαρτικό οξύ, τυροσίνη, βαλίνη, λευκίνη, θρεονίνη, αργινίνη και λυσίνη. Μέταλλα και ιχνοστοιχεία σε ποσοστό 5% όπως ασβέστιο, μαγνήσιο, χρώμιο, μαγγάνιο, σίδηρο, χαλκό, ψευδάργυρο, μολυβδαίνιο, σελήνιο, νάτριο, φώσφορο, κοβάλτιο, στρόντιο, το νικέλιο, κάλιο, φθόριο, και αλουμίνιο. Περιέχουν 3-4% αλκαλοειδή, γνωστά ως μεθυλοξανθίνες, όπως η καφεΐνη, η θεοβρωμίνη και η θεοφυλλίνη. Σε ίχνη συναντώνται λιπίδια (linoleic & α-linolenic acids), στερόλες (stigmasterol), βιταμίνες (B,C,E), χρωστικές (χλωροφύλλη, καροτενοειδή) και πτητικές ενώσεις (αλδεΐδες, αλκοόλες, εστέρες, λακτόνες, υδρογονάνθρακες). Τα φρέσκα φύλλα τσαγιού είναι πλούσια σε φαινολικές ενώσεις σε ποσοστό 30%, με κυριότερες ομάδες τα φλαβονοειδή και τα φαινολικά οξέα. Από τα φαινολικά οξέα τα κυριότερα που συναντώνται είναι, το γαλλικό οξύ, το χλωρογενικό οξύ και η θειογαλλίνη. Τα φλαβονοειδή που συναντώνται στο πράσινο τσάι είναι οι κατεχίνες (12 -24% ξ.β.), οι φλαβονόλες (3-4% ξ.β.) και οι ανθοκυανιδίνες (2-3% ξ.β.). Από τις ανθοκυανιδίνες συναντώνται κυρίως η pelargonidin, η cyanidin, η delphinidin. Από τις φλαβονόλες απαντώνται κυρίως η quercetin, η kaempferol, η myricetin και η rutin [7] [8].

Οι κυριότερες κατεχίνες είναι οι εξής επτά: η (-) epicatechin (EC), η (-)-epigallocatechin (EGC), η (-)-epicatechingallate (ECG), η (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), η (+)-catechin (C) και η (-)-gallocatechin (GC) [9], [10], [11], [12]. Η (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), δηλαδή ο εστέρας της (-)-epigallocatechin (EGC) με το galic acid, είναι η πιο άφθονη κατεχίνη στο τσάι (8-

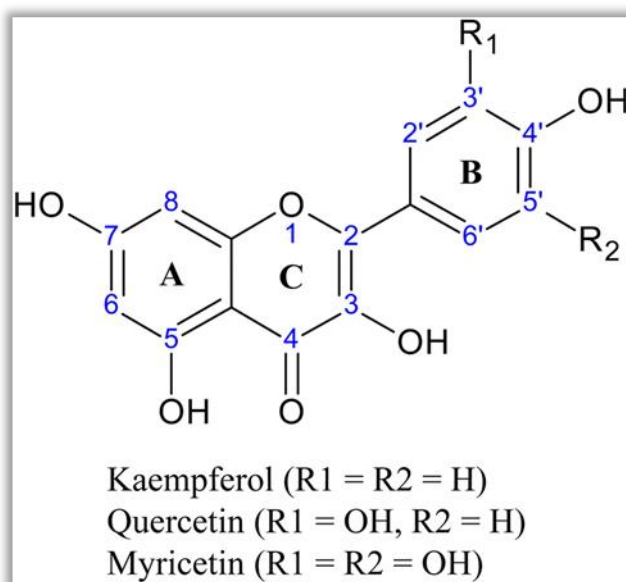
12%) και ακολουθούν (-)-epigallocatechin (EGC) (3-6%) και η (-)-epicatechingallate (ECG) (3-6%).



Εικόνα 2.2-3: Δομή των κυριότερων κατεχινών

Κατά την παρασκευή του πράσινου τσαγιού, οι κατεχίνες και οι άλλες φαινόλες διατηρούνται εξαιτίας της αδρανοποίησης των ενδογενών ενζύμων από την ξηρή θέρμανση ή θέρμανση με υδρατμούς στο αρχικό στάδιο. Η ποιότητα του πράσινου τσαγιού συσχετίζεται θετικά με τη συγκέντρωση φαινολών. Όμως, η υψηλή συγκέντρωση κατεχινών προσδίδει στο τσάι πικρή, στυφή και δυνατή γεύση, η οποία δεν απαιτείται απαραίτητα για την υψηλή ποιότητα του πράσινου τσαγιού. Υψηλής ποιότητας πράσινο τσάι χαρακτηρίζεται αυτό που έχει υψηλή περιεκτικότητα ελεύθερων αμινοξέων και κατάλληλη συγκέντρωση κατεχινών και καφεΐνης [2]. Για την παρασκευή του μαύρου τσαγιού, με τη διαδικασία της ζύμωσης στα φύλλα λαμβάνουν χώρα οξειδώσεις και άλλες χημικές αντιδράσεις, όπου το 75% περίπου των κατεχινών μετασχηματίζεται. Οι κατεχίνες οξειδώνονται κυρίως στην ο-διϋδροξυ-φαινυλομάδα, παρουσία

φαινολοξειδασών και μετάλλων, σε περιβάλλον με pH=6. Έτσι, παράγονται προϊόντα οξειδωσης και πολυμερισμού, όπως οι κινόνες, οι θειοφλαβίνες (theaflavins) και οι θειορουβικίνες (thearubignins). Οι θειοφλαβίνες και οι θειορουβικίνες, ως αγλυκόνες ή ως εστέρες του γαλλικού οξέος προσδίδουν το άρωμα και το χρώμα στο μαύρο τσάι [2]. Σύμφωνα με τους Leung A. Y. & Foster S. (1996) η σύσταση του τσαγιού ποικίλει από το κλίμα, την εποχή, την ποικιλία και την ηλικία των φύλλων [13].



Εικόνα 2.2-4: Δομή των κύριων φλαβονολών (καμπερόλη, κερσετίνη, μυρεσιτίνη)

2.4. Βιολογικές δράσεις – χρήσεις

Το τσάι έχει χρησιμοποιηθεί για χιλιάδες χρόνια στην κινεζική ιατρική ως τονωτικό, διουρητικό, στομαχικό, αποχρεμπτικό. Στην Ινδία ο χυμός των φύλλων χρησιμοποιείται ως τοπικό αιμοστατικό.

Σήμερα, η κύρια χρήση τσαγιού είναι ως αφέψημα, κυρίως σε σακουλάκια τσαγιού. Εκχύλισμα τσαγιού χρησιμοποιείται ως αρωματικό διάφορων παράγωγων τροφών (αλκοολούχων ποτών,

γαλακτοκομικά επιδόρπια, καραμέλες, κ.α.). Συναντάται σε συμπληρώματα διατροφής, τα οποία περιέχουν εκχυλίσματα πράσινου τσαγιού λόγω της αντιοξειδωτικής δράσης του. Τα σακουλάκια τσαγιού χρησιμοποιούνται στα ηλιακά εγκαύματα, ως κομπρέσα για τα κουρασμένα μάτια, τον πονοκέφαλο, καθώς και για να σταματήσει την αιμορραγία στην υποδοχή δοντιού (φατνίο). Επίσης, κυρίως χαμηλής ποιότητας τσάι χρησιμοποιείται για χρώση τροφίμων (πράσινο, κίτρινο, πορτοκαλί, μαύρο, κ.λπ.) [14].

Αντί Αλτσχάιμερ δράση

Αρκετές μελέτες των τελευταίων ετών περιγράφουν την επίδραση της EGCG ενάντια στη νόσο του Alzheimer. Η EGCG προστατεύει τους νευρώνες του ιππόκαμπου (ο ιππόκαμπος είναι ένα πεδίο του εγκεφάλου που είναι υπεύθυνο για τη συγκίνηση και τη μνήμη), ένα αποτέλεσμα που αποδίδεται στις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες [15]. Σε εργαστηριακές μελέτες *in vitro* σε καλλιέργειες κυττάρων και *in vivo* σε πειραματόζωα έχει βρεθεί ότι η EGCG ανακόπτει τη συσσώρευση της πρωτεΐνης βήτα αμυλοειδής (Ab) και της φλεγμονής που προκαλείται από αυτή στον εγκέφαλο [16]. Επίσης, έχει βρεθεί ότι η EGCG και άλλες κατεχίνες του πράσινου τσαγιού, επιδρούν στη β-σεκρετάσης, η οποία είναι ένα κρίσιμο ένζυμο για τη δημιουργία του βήτα αμυλοειδούς (Ab) [17].

Αντί Πάρκινσον δράση

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι το πράσινο τσάι και η EGCG επιδρούν ανασταλτικά στη νόσο του Πάρκινσον. Σε πειραματόζωα ποντίκια, η χορήγηση από το στόμα εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού (0,5 και 1 mg/kg) ή EGCG (2 και 10 mg/kg), παρουσίασε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση στα ένζυμα υπεροξειδίου της δισμουτάσης (240%) και καταλάση (165%). Η αντιοξειδωτική αυτή δράση είχε ως αποτέλεσμα νευροπροστατευτική δράση εμποδίζοντας τη διάσπαση των

νευροδιαβιβαστών στον εγκέφαλο [18]. Επίσης, η χορήγηση EGCG από το στόμα σε δόσεις 25 mg/kg, απέτρεψε την καταστροφή των ντοπαμινεργικών νευρώνων στη μέλαινα ουσία και στο ραβδωτό σώμα του εγκεφάλου διατηρώντας τα επίπεδα ντοπαμίνης (νευροδιαβιβαστής του εγκεφάλου) [15]. Επιδημιολογικές μελέτες σχετικά με την εμφάνιση της νόσου του Πάρκινσον και της συχνότητας κατανάλωσης πράσινου τσαγιού εμφανίζουν 5- έως 10-πλάσια χαμηλότερες επιπτώσεις της νόσου σε ασιατικούς πληθυσμούς [19] [20].

Δράση κατά των Καρδιαγγειακών Νοσημάτων

Τα διαθέσιμα στοιχεία δείχνουν ότι η τακτική κατανάλωση τσαγιού μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου. Τα καρδιαγγειακά οφέλη για την υγεία από την κατανάλωση τσαγιού αποδίδεται σε μεγάλο βαθμό στα φλαβονοειδή. Η προστατευτική δράση του πράσινου τσαγιού σε καρδιαγγειακές παθήσεις, αποδίδεται στην αντιοξειδωτική του δράση. Η καθημερινή κατανάλωση επτά έως οκτώ κούπες (περίπου 100 mL κάθε κούπα) πράσινου τσαγιού μπορεί να αυξήσει την αντίσταση της LDL στην οξείδωση *in vivo*, οδηγώντας στη μείωση του κινδύνου καρδιαγγειακών παθήσεων, πιθανόν μέσω της ισχυρής αντιοξειδωτικής δράσης του τσαγιού [21] [22]. Οι περισσότερες επιδημιολογικές μελέτες υποστηρίζουν τον προστατευτικό ρόλο του τσαγιού στη μείωση του κινδύνου της στεφανιαίας νόσου, ενώ ένας αριθμός πιθανών οδών και μηχανισμών έχει διερευνηθεί. Υπάρχουν για παράδειγμα, συνεπή δεδομένα που δείχνουν ότι το τσάι μέσω των φλαβονοειδών του μπορεί να αυξήσει το νιτρικό οξύ στον οργανισμό και να βελτιώσει την ενδοθηλιακή λειτουργία του, τα οποία συνεπάγονται οφέλη στην καρδιαγγειακή υγεία. Υπάρχουν επίσης στοιχεία, αν και περιορισμένα, για τα οφέλη του πράσινου τσαγιού (φλαβονοειδή) στο σωματικό βάρος και στο σωματικό λίπος. Ανεπαρκή είναι τα δεδομένα που υποστηρίζουν

μειωμένη οξειδωτική βλάβη, φλεγμονή, ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, αρτηριακή πίεση και τον κίνδυνο για διαβήτη τύπου 2 [23] [24].

Αντικαρκινική δράση

Αρκετές δοκιμές (*in vitro*, *in vivo* και επιδημιολογικές) έχουν δείξει ότι η κατανάλωση πράσινου τσαγιού, μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου. Η κυριότερη κατεχίνη, η EGCG αναστέλει την καρκινογέννηση και τις μεταστάσεις. Η σύνθεση ενός τριμεθοξύ – παραγώγου της EGCG και η *in vivo* δοκιμή του σε πειραματόζωα ποντίκια έδειξε υψηλή αντι-πολλαπλασιαστική και προ-αποπτωτική δράση (φυσικός κυτταρικός θάνατος) έναντι του καρκίνου του δέρματος (μελάνωμα) παρουσιάζοντας μία δυνατότητα για κλινική χρήση στη θεραπεία του μελανώματος [25]. *In vitro* μελέτη έδειξε ότι η δράση ενός θρεπτικού εμπλουτισμένου και με εκχύλισμα πράσινου τσαγιού ανέστειλε την ανάπτυξη των κυττάρων μελανώματος [26]. Οι πολυφαινόλες του πράσινου τσαγιού (GTPs) εμφανίζουν αντικαρκινική δράση καθώς προστατεύουν από την ηλιακή υπεριώδη ακτινοβολία που προκαλεί καρκίνο του δέρματος [27].

Αντίστοιχα, το πράσινο τσάι εμφανίζει δράση έναντι του καρκίνου του προστάτη και των μεταστάσεων του [28]. Η EGCG εμφανίζει αποπτωτική δράση (φυσικός κυτταρικός θάνατος) [29].

Ανασταλτικές επιδράσεις ολικού εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού, καθώς και της EGCG στον καρκίνο του μαστού. Η αυξημένη κατανάλωση πράσινου τσαγιού σε 472 χειρουργημένους ασθενείς σταδίου I, II και III καρκίνου του μαστού συσχετίστηκε με μειωμένη επανεμφάνιση του καρκίνου για το στάδιο I, II, όχι όμως για τα στάδιο III [30]. Η EGCG και η EGC αναστέλλουν τη μετάσταση MCF-7 ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του μαστού [31].

Δοκιμές *in vitro*, *in vivo* για την επίδραση ενός θρεπτικού μίγματος που περιέχει λυσίνη, προλίνη, αργινίνη, ασκορβικό οξύ, και εκχύλισμα πράσινου τσαγιού έδειξε καταστολή της ανάπτυξης της ανθρώπινης καρκινικής σειράς του πνεύμονα A-549 και παράλληλα αναστολή των μεταλλοπρωτεϊνών μήτρας (MMPs), οι οποίες εμπλέκονται σε νεοπλασματική εισβολή και μετάσταση [32]. Η αναστολή στην ογκογένεση του καρκίνου του πνεύμονα συνδέεται με την αντιοξειδωτική δράση του πράσινου τσαγιού και της EGCG [33].

Αρκετές έρευνες έχουν γίνει για την αντικαρκινική δράση του πράσινου τσαγιού και της κύριας κατεχίνης που περιέχει της EGCG και σε άλλες μορφές καρκίνων (καρκίνο του παχέος εντέρου, καρκίνο του παγκρέατος, κ.α.) [34].

Ο ρόλος του τσαγιού στην προστασία κατά του καρκίνου έχει υποστηριχθεί με πληθώρα στοιχείων από μελέτες σε κυτταρικές σειρές και πειραματικά ζωικά μοντέλα. Ωστόσο, επιδημιολογικές μελέτες έχουν αποφέρει αντιφατικά αποτελέσματα, μερικά από τα οποία συνδέουν την κατανάλωση τσαγιού με μειωμένο κίνδυνο καρκίνου, ενώ άλλα δείχνουν ότι το τσάι δεν έχει προστατευτική δράση έναντι ορισμένων ανθρώπινων καρκίνων [33].

Αντιδιαβητική δράση

Από επιδημιολογικές μελέτες στις ασιατικές χώρες όπου καταναλώνεται ευρέως το πράσινο τσάι, προκύπτει ότι η κατανάλωσή του αποτρέπει το διαβήτη τύπου 2. Η χορήγηση πράσινου τσαγιού σε διαβητικά ποντίκια, μείωσε τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα χωρίς να επηρεαστούν τα επίπεδα της ινσουλίνης [35]. Η χορήγηση εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού σε φυσιολογικούς αρουραίους αύξησε την ευαισθησία στην ινσουλίνη [36].

Δράση κατά της τερηδόνας

Εκχύλισμα πράσινου τσαγιού έχει προστατευτική δράση στην πρόληψη της οδοντικής τερηδόνας εξαιτίας της αντιβακτηριακής δράσης των αρωματικών ενώσεων του αλλά και των πολυφαινόλων οι οποίες δρουν κατά της πλάκας [37].

Δράση κατά των διαταραχών του δέρματος

Πολλές μελέτες έχουν δείξει τις αντι-φλεγμονώδεις και αντι-καρκινογόνες ιδιότητες του πράσινου τσαγιού στο δέρμα. Κύριο συστατικό για τη δράση αυτή είναι η EGCG, η οποία κατά την εφαρμογή της σε δέρμα ποντικού παρουσίασε πρόληψη της επαγόμενης από UVB ανοσοκαταστολής, και οξειδωτικού στρες. Οι μοριακοί μηχανισμοί και τα βιοχημικά μονοπάτια με τα οποία λειτουργεί προστατευτικά η δράση του πράσινου τσαγιού στη θεραπεία στο ανθρώπινο δέρμα είτε με τοπική εφαρμογή είτε μέσω κατανάλωσης έναντι της υπερϊόδους ακτινοβολίας δεν είναι καλά κατανοητοί και αποτελούν αντικείμενο περαιτέρω διερεύνησης σε πολλά εργαστήρια. Όμως, με βάση τις τεκμηριωμένες εκτεταμένες ευεργετικές επιδράσεις του πράσινου τσαγιού σε μοντέλα δέρματος ποντικών και πολύ λίγο στο ανθρώπινο δέρμα, πολλές φαρμακευτικές και εταιρείες καλλυντικών συμπληρώνουν τα προϊόντα φροντίδας του δέρματος τους με εκχυλίσματα πράσινου τσαγιού [38].

Δράση κατά της παχυσαρκίας και της απώλειας βάρους

Εκχύλισμα πράσινου τσαγιού με περιεκτικότητα 8,35% σε καφεΐνη και 24,7% σε κατεχίνες, αποδείχθηκε ότι διεγείρει τον καφέ λιπώδη ιστό *in vivo*, με υψηλή θερμογένεση η οποία σταμάτησε τη συσσώρευση του λίπους του σώματος σε ποντικούς με παχυντική διατροφή. Η δράση αυτή οφείλεται στη συνεργιστική αλληλεπίδραση μεταξύ κατεχινών και καφεΐνης [39]. Ανάλογη δράση βρέθηκε επίσης σε μη παχύσαρκους αρουραίους [40].

2.5. Βιβλιογραφικές Αναφορές

Ξενόγλωσσες Βιβλιογραφικές Αναφορές

- [2] Ho C. T., Lin J. K., Shahidi F. (2009) *Tea and Tea Products Chemistry and Health-Promoting Properties*: CRC Press.
- [7] Graham H. (1992). Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev Med*, 21, 334-350.
- [8] Lin L. Z., Chen P., Harnly J. M. (2008) New Phenolic Components and Chromatographic Profiles of Green and Fermented Teas *J Agric Food Chem.*, 56(17), 8130–8140.
- [9] Fernández P. L., Martín M. J., González A. G., Pablos F. (2000) HPLC determination of catechins and caffeine in tea Differentiation of green, black and instant teas *Analyst*, 125, 421–425.
- [10] Pelillo M., Biguzzi B., Bendini A., Gallina Toschi T., Vanzini M., Lercker G. (2002) Preliminary investigation into development of HPLC with UV and MS-electrospray detection for the analysis of tea catechins *Food Chemistry*, 78, 369–374.
- [11] Pelillo M., Bonoli M., Biguzzi B., Bendini A., Gallina Toschi T., Lercker G. (2004) An investigation in the use of HPLC with UV and MS-electrospray detection for the quantification of tea catechins *Food Chemistry*, 87, 465–470.
- [12] Wang H., Helliwell K., You X. (2000) Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC *Food Chemistry* , 68 (1), 115-121.
- [13] Perva-Uzunalic´ A., Škerget M., Knez Ž., Weinreich B., Otto F., Grüner S. (2006) Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*, 96 (4), 597–605.
- [14] Khan I. A. & Abourashed E. A. (2010) *Leung’s encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics* New Jersey, John Wiley & Sons Inc. Hoboken.
- [15] Choi Y. T., Jung C. H., Lee S. R., Bae J. H., Baik W. K., Suh M. H., Park J., Park C.W., Suh S. I. (2001) The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate attenuates beta-amyloid-induced neurotoxicity in cultured hippocampal neurons. *Life Sci.*, 70(5), 603-614.

- [16] Levites Y., Amit T., Mandel S., Youdim M. B. (2003) Neuroprotection and neurorescue against Abeta toxicity and PKC-dependent release of nonamyloidogenic soluble precursor protein by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate *FASEB J.*, 17(8), 952-954.
- [17] Jeon S. Y., Bae K., Seong Y. H., Song, K. S. (2003) Green tea catechins as a BACE1 (beta-secretase) inhibitor *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 13(22), 3905-3908.
- [18] Levites Y., Weinreb O., Maor G., Youdim M. B., Mandel S. (2001) Green tea polyphenol (±)-epigallocatechin-3-gallate prevents N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced dopaminergic neurodegeneration *Journal of Neurochemistry*, 78, 1073-1082.
- [19] Pan T., Jankovic J., Le W. (2003) Potential therapeutic properties of green tea polyphenols in Parkinson's disease *Drugs Aging*, 20(10), 711-721.
- [20] Zhang Z. & Román G. C. (1993) Worldwide Occurrence of Parkinson's Disease: An Updated Review *Neuroepidemiology*, 12 (4), 195–208.
- [21] Miura Y., Chiba T., Miura S., Tomita I., Umegaki K., Ikeda M., Tomita T. (2000) Green tea polyphenols (flavan 3-ols) prevent oxidative modification of low density lipoproteins: an ex vivo study in humans *J Nutr Biochem.*, 11(4), 216-222.
- [22] Miura Y., Chiba T., Tomita I., Koizumi H., Miura S., Umegaki K., Hara, Y., Ikeda, M., Tomita, T. (2001) Tea Catechins Prevent the Development of Atherosclerosis in Apoprotein E-Deficient Mice *J. Nutr.*, 131(1), 27-32.
- [23] Hodgson J. M., & Croft K. D. (2010) Tea flavonoids and cardiovascular health *Phytochemicals and Cardiovascular Protection*, 31(6), 495–502.
- [24] Riemersma R. A., Rice-Evans C. A., Tyrrell R. M., Clifford M. N., Lean M. E. J. (2001) Tea flavonoids and cardiovascular health. *Q. J. Med.*, 94 (5), 277-282.
- [25] Sánchez-del-Campo L., Tárraga A., Montenegro M. F., Cabezas-Herrera J., Neptuno Rodríguez-López J. (2009) Melanoma Activation of 3-O-(3,4,5-Trimethoxybenzoyl)-(-)-Epicatechin to a Potent Irreversible Inhibitor of Dihydrofolate Reductase. *Mol. Pharmaceutics*, 6(3), 883–894.
- [26] Roomi M. W., Ivanov V., Netke S., Kalinovsky T., Niedzwiecki A., Rath M. (2006) In vivo and in vitro antitumor effect of ascorbic acid, lysine, proline and green tea extract on human melanoma cell line A2058 *In Vivo*, 20(1), 25-32.

- [27] Mantena S. K., Meeran S. M., Elmets C. A., Katiyar S. K. (2005) Orally Administered Green Tea Polyphenols Prevent Ultraviolet Radiation-Induced Skin Cancer in Mice through Activation of Cytotoxic T Cells and Inhibition of Angiogenesis in Tumors. *J Nutr.*, 135(12), 2871-2877.
- [28] Gupta S., Hastak K., Ahmad N., Lewin S. J., Mukhtar H. (2001) Inhibition of prostate carcinogenesis in TRAMP mice by oral infusion of green tea polyphenols. *PNAS* 98(18), 10350–10355
- [29] Siddiqui I. A., Malik A., Adhami V. M., Asim M., Hafeez B. B., Sarfaraz S., Mukhtar H. (2008) Green tea polyphenol EGCG sensitizes human prostate carcinoma LNCaP cells to TRAIL-mediated apoptosis and synergistically inhibits biomarkers associated with angiogenesis and metastasis *Oncogene*, 27(14), 2055-2063.
- [30] Nakachi K., Suemasu K., Suga K., Takeo T., Imai K., Higashi Y. (1998) Influence of Drinking Green Tea on Breast Cancer Malignancy among Japanese Patients *Jpn. J. Cancer Res.*, 89, 254–261.
- [31] Kushima Y, Iida K, Nagaoka Y, Kawaratani Y, Shirahama T, Sakaguchi M, Baba K, Hara Y, Uesato S (2009) Inhibitory Effect of (-)-Epigallocatechin and (-)-Epigallocatechin Gallate against Heregulin b1-Induced Migration/Invasion of the MCF-7 Breast Carcinoma Cell Line *Biol. Pharm. Bull.*, 32(5), 899—904.
- [32] Waheed Roomi M., Ivanov V., Kalinovsky T., Niedzwiecki A., Rath M. (2006) In vivo and in vitro antitumor effect of a unique nutrient mixture on lung cancer cell line A-549 *Exp. Lung Res.*, 32(9), 441-453.
- [33] Chung F.-L., Schwartz J., Herzog C. R., Yang Y.-M. (2003) Tea and Cancer Prevention: Studies in Animals and Humans *J. Nutr.*, 133(10), 3268S-3274S.
- [34] Khan N. & Mukhtar H. (2010) Cancer and metastasis: prevention and treatment by green tea. *Cancer Metastasis Rev.*, 29(3), 435–445.
- [35] Tsuneki T., Ishizuka M., Terasawa M., Wu J.-B., Sasaoka T., Kimura I. (2004) Effect of green tea on blood glucose levels and serum proteomic patterns in diabetic (db/db) mice and on glucose metabolism in healthy humans. *BMC Pharmacology*, 4: 18.
- [36] Wu L. Y., Juan C. C., Ho L. T., Hsu Y. P., Hwang L. S. (2004) Effect of Green Tea Supplementation on Insulin Sensitivity in Sprague–Dawley Rats *J. Agric. Food Chem.*, 52(3), 643–648.
- [37] Duke, J. A. (2002). *Handbook of Medicinal Herbs* (C. Press Ed. 2nd ed.).

- [38] Katiyar S. K., & Elmets C. A. (2001) Green tea polyphenolic antioxidants and skin photoprotection (Review) *Int J Oncol.*, 18(6), 1307-1313.
- [39] Dulloo A. G., Seydoux J., Girardier L., Chantre P., Vandermander J. (2000) Green tea and thermogenesis: interactions between catechin-polyphenols, caffeine and sympathetic activity *International Journal of Obesity*, 24(2), 252-258.
- [40] Ito Y., Ichikawa T., Morohoshi Y., Nakamura T., Saegusa Y., Ishihara, K. (2008) Effect of tea catechins on body fat accumulation in rats fed a normal diet. *Biomedical Research*, 29, 27-32.

Ελληνικές Βιβλιογραφικές Αναφορές

- [4] Φωκά, Γ. (1979) Ειδική Φαρμακογνωσία, Θεσσαλονίκη.
- [5] Στεφανάκη - Νικηφοράκη Μ.(1999, Συστηματική Βοτανική - Αγγειόσπερμα Τόμος Α', εκδ. Σταμούλης.
- [6] Ποντίκης Κ. (2001), Ειδική δένδροκομία Τ. Ε'-Τροπικά φυτά, Σταμούλη Α.Ε. , Αθήνα.

Διαδικτυακές Αναζητήσεις

- [1] <http://sciencelearn.org.nz/Innovation/Innovation-Stories/Zealong-Tea/Articles/The-science-of-tea>
- [3] <http://www.sansimera.gr/articles/49>
- [4]http://68.media.tumblr.com/3af687221ca5100f3084b68c9a754fec/tumblr_mjupm9eWuV1r04kdao1_r2_500.jpg

*3^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ : ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ
ΔΡΑΣΗ - ΕΝΟΡΓΑΝΕΣ
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ
ΑΝΑΛΥΣΗΣ*

3.1. Αντιοξειδωτική δράση

Ολοένα και μεγαλύτερος αριθμός επιστημονικών ευρημάτων επιβεβαιώνει τη συσχέτιση της εμφάνισης διαφόρων ασθενειών με τις δράσεις ελευθέρων ριζών και δραστικών μορφών οξυγόνου και αζώτου, τα οποία είναι τα κύρια προϊόντα των αντιδράσεων οξειδωσης βιολογικών μορίων (DNA, λιποπρωτεϊνών κ.ά). Επίσης, η οξειδωση των τροφίμων οδηγεί στην εμφάνιση χημικών αλλοιώσεων, στην υποβάθμιση της ποιότητας και της ασφαλούς χρήσης τους από τους καταναλωτές. Από την άλλη πλευρά, τα «αντιοξειδωτικά», τα οποία καθιστούν δυνατή την επιβράδυνση της οξειδωσης υποστρωμάτων με διάφορους μηχανισμούς, έχουν κερδίσει τόσο το επιστημονικό, όσο και το βιομηχανικό ενδιαφέρον. Τα αντιοξειδωτικά απέκτησαν ενδιαφέρον αρχικά για τη συντήρηση των τροφίμων, αλλά σταδιακά, τις τελευταίες δεκαετίες, απέσπασαν το έντονο ενδιαφέρον και των επιστημών της βιολογίας, της φαρμακευτικής και της ιατρικής [1].

3.1.1. Ελεύθερες ρίζες (Free radicals) - Δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive oxygen species, ROS)

Ελεύθερη ρίζα, είναι άτομο ή ομάδα ατόμων (ανόργανα ή οργανικά μόρια) που φέρει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Υπάρχουν και οι διρίζες όπου τα δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια βρίσκονται σε κάποια απόσταση μεταξύ τους αλλά στο ίδιο μόριο.

Στα βιολογικά συστήματα, το μεγαλύτερο ενδιαφέρον από το πλήθος των ελευθέρων ριζών παρουσιάζουν οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (Oxygen Free Radicals, OFRs) και γενικότερα οι δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive oxygen species, ROS). Ο όρος δραστικές μορφές

οξυγόνου ή δραστικοί μεταβολίτες του οξυγόνου (Reactive Oxygen Metabolites, ROM) αναφέρεται στις ενώσεις που παράγονται από το μοριακό οξυγόνο με αναγωγή ενός, δύο ή τριών ηλεκτρονίων, καθώς και σε ρίζες οξυγόνου ή οργανικές ρίζες και υπεροξείδια, που παράγονται από ενώσεις που έχουν αντιδράσει με ρίζες οξυγόνου [3].

Κύρια πηγή *in vivo* δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) αποτελεί η αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων, στα κύτταρα των αερόβιων οργανισμών. Η κυτταρική παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου μπορεί να αυξηθεί από τη δράση ορμονών, κυτταροκινών και άλλων φυσιολογικών ερεθισμάτων, αλλά και από εξωτερικούς παράγοντες, όπως κατά τον ξενοβιοτικό μεταβολισμό ή με την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας. Σε υψηλές συγκεντρώσεις οι ROS είναι τοξικές για τα κύτταρα, προκαλώντας βλάβες στην κυτταρική μεμβράνη και μη αναστρέψιμες τροποποιήσεις στο DNA. Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, οι ROS δρουν ως ειδικά σηματοδοτικά μόρια που συμμετέχουν στον έλεγχο των ανοσολογικών διαδικασιών, της κυκλοφορίας του αίματος και της ρύθμισης του ενδοκρινικού και άλλων συστημάτων [5].

3.1.2. Τι ορίζεται ως «αντιοξειδωτικό»

Η λέξη «αντιοξειδωτικό» είναι ευρέως διαδομένη, όμως με διαφορετική σημασία κάθε φορά. Κατά συνέπεια, ανάλογα με τη φύση τους, το πεδίο εφαρμογής τους και τη φύση του υποστρώματος που οξειδώνεται, ο ορισμός του αντιοξειδωτικού αποκτά διαφορετικό περιεχόμενο. Στην επιστήμη των τροφίμων αντιοξειδωτικά θεωρούνται εκείνα τα συστατικά που σε μικρές ποσότητες παρεμβαίνουν στις αντιδράσεις οξείδωσης των λιπών και ελαίων με αποτέλεσμα την καθυστέρηση ή παρεμπόδιση των ανεπιθύμητων συνεπειών της οξείδωσης (τάγγιση, υποβάθμιση οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, ελάττωση της διάρκειας ζωής, μείωση

της διατροφικής αξίας του τροφίμου) .Στα βιολογικά συστήματα και στις επιστήμες τις σχετιζόμενες με την υγεία ως αντιοξειδωτικά ορίζονται τα συστατικά που σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε σχέση με εκείνη του υποστρώματος (λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, DNA ή άλλα βιομόρια) επιβραδύνουν σημαντικά την οξειδωσή του [1] [6].

Τα αντιοξειδωτικά στο πέρασμα των χρόνων διακρίθηκαν βάσει της προέλευσής τους σε συνθετικά και φυσικά, αλλά και βάσει του μηχανισμού δράσης τους, αρχικά σε πρωτοταγή και δευτεροταγή και στη συνέχεια σε παρεμποδιστές αντιδράσεων έναρξης ή διάδοσης.

Διάκριση βάσει της προέλευσής τους:

Φυσικά αντιοξειδωτικά: Η πλειοψηφία των φυσικών αντιοξειδωτικών είναι φαινολικές ενώσεις και οι πιο σημαντικές ομάδες των φυσικών αντιοξειδωτικών είναι οι τοκοφερόλες, τα φλαβονοειδή και τα φαινολικά οξέα [7].

Συνθετικά αντιοξειδωτικά: Τα αντιοξειδωτικά αυτά συντίθενται βιομηχανικά. Πολλά από αυτά, αν και παρουσιάζουν ακόμη και έντονη αντιοξειδωτική δράση, δεν χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα τροφίμων, λόγω των αρνητικών επιπτώσεών τους στον ανθρώπινο οργανισμό. Συνθετικά αντιοξειδωτικά, που επιτρέπονται ως πρόσθετα τροφίμων είναι το butylated hydroxytoluene (**BHT**) η butylated hydroxyanisole (**BHA**), ο propyl gallate (**PG**). κ.ά. [7].

Διάκριση βάσει του μηχανισμού δράσης τους:

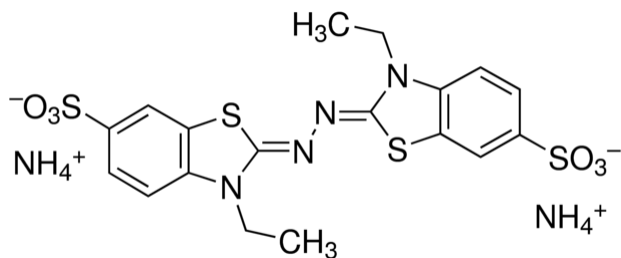
Τα **πρωτοταγή** αντιοξειδωτικά δρουν δεσμεύοντας ελεύθερες ρίζες, ενώ τα ίδια καταναλώνονται καθώς μετατρέπονται σε σταθερά προϊόντα. Σε αυτήν την κατηγορία των αντιοξειδωτικών ανήκουν οι φαινολικές ενώσεις όπως caffeic acid, carnosol καρνοσόλη, rosmarinic acid, οι φυσικές και συνθετικές τοκοφερόλες, η BHA, το BHT, ο PG κ.α. [7].

Τα **δευτεροταγή** αντιοξειδωτικά προκαλούν μείωση του ρυθμού έναρξης της αλυσιδωτής αντίδρασης των ελευθέρων ριζών με μηχανισμούς διαφορετικούς από αυτόν της άμεσης δέσμευσης των ελευθέρων ριζών και της μετατροπής τους σε σταθερά προϊόντα. Οι μηχανισμοί δράσης τους περιλαμβάνουν: ανενεργοποίηση ενεργών ειδών οξυγόνου, αζώτου και χλωρίου, συμπλοκοποίηση ιόντων μεταβατικών μετάλλων, δέσμευση οξυγόνου, απόσβεση οξυγόνου απλής διεγερμένης, αναγωγή υδροϋπεροξειδίων προς αλκοόλες, αναγέννηση πρωτοταγών αντιοξειδωτικών, απορρόφηση υπεριώδους ακτινοβολίας. Παραδείγματα αποτελούν το κιτρικό οξύ, τα αμινοξέα, το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA), το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), β-καροτένιο, ένζυμα, κ.α. [8].

Στους **παρεμποδιστές έναρξης** κατατάσσονται αντιοξειδωτικά που παρεμβαίνουν στα αρχικά στάδια (έναρξη) των αντιδράσεων οξείδωσης, ενώ στους **παρεμποδιστές διάδοσης** κατατάσσονται αντιοξειδωτικά που παρεμβαίνουν σε επόμενα από τα αρχικά στάδια των αντιδράσεων οξείδωσης, τα λεγόμενα στάδια διάδοσης [9].

Το έντονο ενδιαφέρον για τα φυσικά αντιοξειδωτικά και αξιολόγησης του δυναμικού ενώσεων, μιγμάτων και φυτικών εκχυλισμάτων οδήγησε στην ανάγκη ανάπτυξης ποικίλων δοκιμών και την ευρεία εφαρμογή διαφορετικών αναλυτικών πρωτοκόλλων. Μεταξύ αυτών οι δοκιμές εκτίμησης της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών βρίσκουν ευρεία εφαρμογή τόσο σε τρόφιμα όσο και σε βιολογικά συστήματα. Η ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών μπορεί να αξιολογηθεί μέσω διάφορων απλών, οικονομικών και γρήγορων πειραματικών δοκιμών. Μεταξύ των πολυάριθμων δοκιμών εκτίμησης της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών δημοφιλέστερη στις επιστήμες τροφίμων και υγείας αποτελεί η γρήγορη και απλή δοκιμή δέσμευσης της συνθετικής ρίζας 1,1-

διφαινυλο-2-πικρυλδραζυλίου (DPPH[·]). Άλλη αξιόπιστη, γρήγορη και απλή τεχνική που βρίσκεται συχνή εφαρμογή στα παραπάνω πεδία είναι η δοκιμή δέσμευσης της κατιοντικής ρίζας του δις-αμμωνιακού άλατος του 2,2'-αζινο-δις-(3-αιθυλοβενζοθειαζολινο-6-σουλφονικού οξέος) ή ABTS (εικόνα 0-1).



Εικόνα 3-1 : ABTS [10]

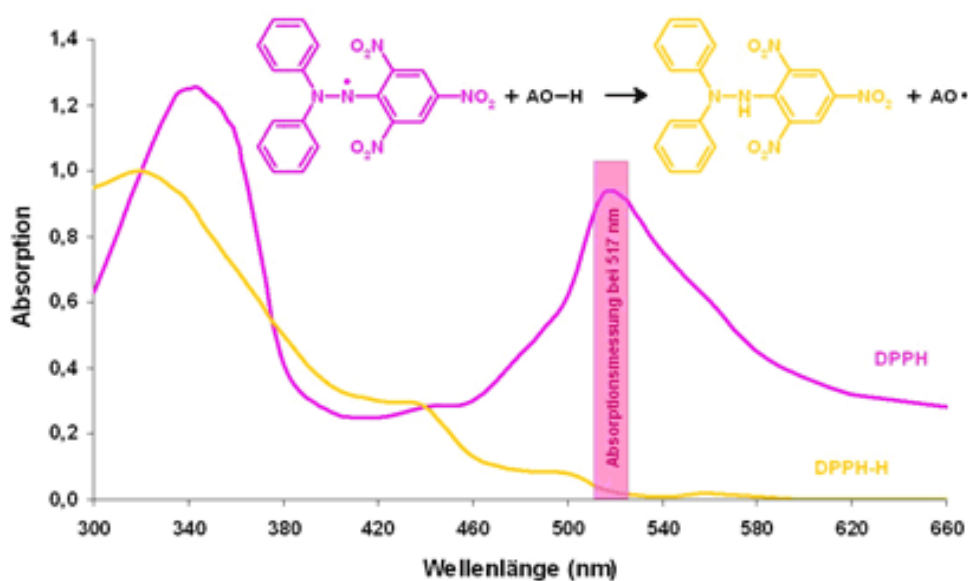
Στην περίπτωση που επιθυμείται η αποφυγή της χρήσης συνθετικών ριζών και προτιμάται μία ρεαλιστικότερη προσέγγιση των συνθηκών που πραγματοποιούνται *in vivo*, έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι που παρακολουθούν την ικανότητα των αντιοξειδωτικών να δεσμεύουν ρίζες (RO[•] ή ROO[•]) που ανήκουν στην κατηγορία εκείνων που σχηματίζονται *in vivo* σε βιολογικά συστήματα. Μεταξύ των διαθέσιμων δοκιμών που στηρίζονται στη δέσμευση τέτοιου τύπου ριζών, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν η δοκιμή ORAC (oxygen radical absorbance capacity) και η δοκιμή αποχρωματισμού της κροκίνης (crocin bleaching assay ή CBA) [9].

3.1.3. Δοκιμή δέσμευσης της σταθερής ρίζας DPPH[·] [1,1-διφαινυλο-2-πικρυλδραζυλ (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical)]

Η εφαρμογή της συνίσταται στη χρησιμοποίηση της σταθερής ρίζας DPPH[·] (1,1 diphenyl -2 -picrylhydrazyl) σε διάλυμα αλκοόλης. Η ρίζα DPPH[·] χαρακτηρίζεται ως σταθερή ελεύθερη ρίζα, καθώς κατά τη μετατόπιση του ελεύθερου ηλεκτρονίου πάνω από το μόριο, το μόριο δε

διμερίζεται όπως στην περίπτωση άλλων ελεύθερων ριζών. Η μετατόπιση δημιουργεί το βαθύ ιώδες χρώμα, και χαρακτηρίζεται από απορρόφηση στην ορατή περιοχή στα 517 nm για ακλοολικό (αιθανολικό ή μεθανολικό) διάλυμα. Η απορρόφηση μειώνεται σταδιακά, συνήθως μετράται η μείωση μέσα σε 30 λεπτά (min), με την προσθήκη μικρών συγκεντρώσεων αντιοξειδωτικών ουσιών (π.χ. ταννίνες τσαγιού, πολυφαινόλες ερυθρού οίνου, βιταμίνες ελαιολάδου κ.λπ) και από τη μείωση σε 50% εξάγεται ένα μέτρο της αντιοξειδωτικής δράσης και συγκρίνεται με άλλες γνωστές αντιοξειδωτικές ουσίες, όπως η κερκετίνη, οι βιταμίνες C, E ή το συνθετικό παράγωγο της βιταμίνης E (Trolox) [2]. Η μέθοδος αναπτύχθηκε για πρώτη φορά από τον Marsden Blois στο Stanford University το 1958 για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του αμινοξέος κυστεΐνη [10].

Η σταθερή ρίζα DPPH· αλληλεπιδρά με τα αντιοξειδωτικά μόρια και αδρανοποιείται (ανάγεται) είτε μέσω προσθήκης ενός ηλεκτρονίου (single electron transfer, SET), είτε μέσω της προσθήκης ενός ατόμου υδρογόνου (hydrogen atom transfer, HAT) [14].



Εικόνα 3-2 : Αλλαγή του χρώματος της σταθερής ρίζας DPPH από μώβ σε κίτρινο μετά την έκθεση σε αντιοξειδωτικές ουσίες [11]

Μία παράμετρος που έχει εισαχθεί για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της δοκιμής με DPPH[•] είναι ο δείκτης EC₅₀ (Efficient Concentration 50%) ή IC₅₀ (Inhibition Concentration), όρος που πιθανότατα εισήχθηκε αναλογικά με «βιολογικούς» παραμέτρους όπως το LD₅₀. Ο δείκτης IC₅₀ (μg/mL, mg/mL, mg/L, ή gr/L) ορίζεται ως η συγκέντρωση του δείγματος που προκαλεί 50% απώλεια της δράσης του DPPH[•]. Επίσης, σημειώνεται ότι όσο χαμηλότερη είναι η τιμή του IC₅₀ τόσο υψηλότερη είναι η αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος, γεγονός που αποτελεί μειονέκτημα στις περιπτώσεις παρουσίασης των αποτελεσμάτων με γραφήματα. Η μέθοδος DPPH[•] έχει χαμηλό κόστος, είναι απλή και η δέσμευση της ρίζας DPPH[•] από τα φαινολικά συστατικά του δείγματος γίνεται γρήγορα. Όμως, μονοσθενείς (απλές) φαινόλες (π.χ. tyrosine), απλά σάκχαρα (π.χ. glycose), πουρίνες (purines) και πυραμιδίνες (pyrimidines) δεν αντιδρούν με τη ρίζα DPPH[•], ενώ οι πρωτεΐνες καθιζάνουν [10].

Μια συχνή εφαρμογή της μεθόδου είναι η παρουσίαση των αποτελεσμάτων με την % αναστολή σχηματισμού (δηλαδή η εξουδετέρωση) της ρίζας DPPH[•], RSC% (Radical Scavenging Capacity), η οποία προκύπτει από την ακόλουθη εξίσωση:

$$\text{RSC \% (Radical Scavenging Capacity \%)} = 100 \times (\text{A}_{\text{CONTROL}} - \text{A}_{\text{SAMPLE}}) / \text{A}_{\text{CONTROL}} \quad [11]$$

Όπου A_{CONTROL} και A_{SAMPLE} είναι οι τιμές της απορρόφησης του τυφλού και του υπό εξέταση δείγματος αντίστοιχα, στα 517 nm.

Στη συνέχεια, από την καμπύλη δόσης – απόκρισης των ποσοστών μείωσης της απορρόφησης (RSC %) με τις συγκεντρώσεις του δείγματος, προκύπτει η συγκέντρωση του δείγματος που

μειώνει την αρχική απορρόφηση του τυφλού δείγματος κατά 50%, IC₅₀ ή EC₅₀ (μg/mL, mg/mL, mg/L ή gr/L ή μM).

Επιπρόσθετα, τα αποτελέσματα μπορούν να παρουσιαστούν με την αντιοξειδωτική ικανότητα ΑΕ (Antiradical Efficiency) η οποία υπολογίζεται με την εξίσωση: $AE=1/IC_{50}$ [12]; ή Antiradical Power (ARP) [13].

3.1.4. Άλλες προσεγγίσεις αξιολόγησης του αντιοξειδωτικού δυναμικού

3.1.4.1. Ολικά φαινολικά - Η μέθοδος Folin – Ciocalteu

Η μέθοδος Folin – Ciocalteu προσδιορισμού των ολικών φαινολικών συστατικών αναπτύχθηκε στην Ιατρική σχολή του Πανεπιστημίου του Χάρβαρντ από το Folin και τους συνεργάτες του το 1912, για τη μελέτη του μεταβολισμού των πρωτεϊνών στον άνθρωπο. Το 1927 τροποποιήθηκε από τους Folin και Ciocalteu, ενώ οι Singleton και Rossi ανέπτυξαν τη μέθοδο και χρησιμοποιείται μέχρι σήμερα για τον ποσοτικό προσδιορισμό φαινολικών συστατικών [14] [15].

Ο προσδιορισμός των ολικών φαινολών γίνεται μετά από εκχύλιση των φαινολικών συστατικών και αντίδραση με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Το αντιδραστήριο αυτό είναι διάλυμα συμπλόκων ιόντων που σχηματίζονται από φωσφομολυβδαινικό ($H_3PMo_{12}O_{40}$) και φωσφοβολφραμικό οξύ ($H_3PW_{12}O_{40}$), το οποίο κατά την οξείδωση του από τις φαινόλες, ανάγεται σε ένα μίγμα μπλε οξειδίων του βολφραμίου (W_8O_{23}), και του μολυβδαινίου (Mo_8O_{23}). Η απορρόφηση μετράται συνήθως στα 765nm, ο προσδιορισμός γίνεται με σύγκριση με πρότυπα διαλύματα αντιοξειδωτικών (galic acid, catechin, chlorogenic acid, cafeic acid, protocatechuic acid, vanillic acid, ferulic acid) και τα αποτελέσματα εκφράζονται σε τιμές ισοδύναμες μάζας πρότυπης ουσίας, ανά μάζα φυτικού υλικού ή δείγματος (mg / gr ή Kg). Έτσι, εξασφαλίζεται η

γραμμικότητα με βάση το νόμο Beer-Lambert και υπάρχει ένα μέτρο σύγκρισης των αποτελεσμάτων μεταξύ διαφορετικών μετρήσεων.

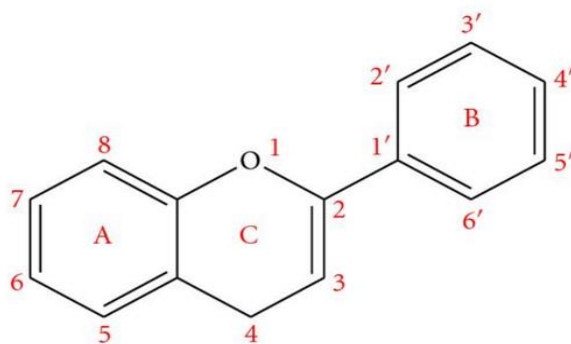
Η μέθοδος Folin – Ciocalteu είναι μια απλή, ευαίσθητη και ακριβής στον προσδιορισμό των ολικών φαινολών. Μειονεκτεί στο ότι δεν προσδιορίζει μόνο τα εκχυλιζόμενα φαινολικά συστατικά, αλλά και μεγαλομοριακές ενώσεις που περιέχουν στο μόριό τους φαινολική υδροξυλομάδα. Επίσης, πάσχει από μια σειρά παρεμποδιστικές ουσίες κυρίως σάκχαρα, αρωματικές αμίνες, διοξείδιο του θείου, ασκορβικό οξύ, οργανικά οξέα και Fe(II). Επιπλέον, μερικές μη φαινολικές ενώσεις μπορεί να αντιδράσουν με το αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu, όπως η βενζαλδεΰδη, το αμινοβενζοϊκό οξύ και η γλυκίνη. Με τη μέθοδο αυτή δίνεται μόνο μια γενική εικόνα για το ολικό ποσό των φαινολικών συστατικών σε ένα εκχύλισμα και όχι για επιμέρους φαινολικά συστατικά [14].

3.1.4.2. Ολικά φλαβονοειδή

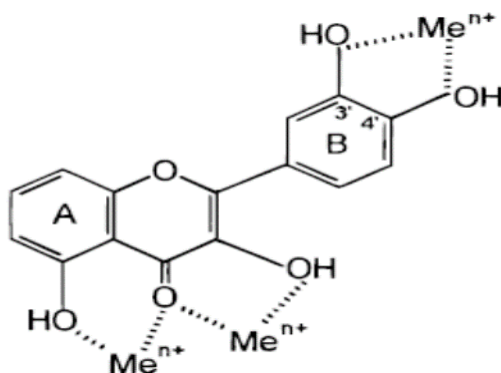
Η ανάπτυξη απλών χρωματομετρικών δοκιμών προσδιορισμού των ολικών φλαβονοειδών συστατικών των φυτικών εκχυλισμάτων προέκυψαν από τη βελτιστοποίηση πρωτοκόλλων που στηρίζονται σε αντιδράσεις συμπλοκοποίησης μεταξύ μετάλλων και φλαβονοειδών. Τα φλαβονοειδή λόγω της χημικής δομής τους δημιουργούν εύκολα σύμπλοκα με τα μέταλλα. Σε ένα φλαβονοειδές τα πιθανά κέντρα συμπλοκοποίησης είναι οι κατεχολικές ομάδες του δακτυλίου B και οι 3- ή 5-υδροξυ 4-καρβονυλο ομάδες των δακτυλίων A και C. Τα σύμπλοκα μεταλλων-φλαβονοειδών είναι χηλικά και έγχρωμα. Με την παρουσία μεταλλικών ιόντων παρατηρείται μια βαθυχρωμική (ερυθρή) μετατόπιση στα φάσματα απορρόφησης των φλαβονοειδών. Η αντίδραση συμπλοκοποίησης των φλαβονοειδών με AlCl₃, περιγράφεται για πρώτη φορά στα 1962.

Πρόκειται για την πρώτη αντίδραση συμπλοκοποίησης των φλαβονοειδών - μετάλλων, με το ιόν αλουμίνιο ως κεντρικό άτομο του συμπλόκου και το φλαβονοειδές ως υποκατάστατο. Επίσης, τότε παρατηρήθηκε ότι ο σχηματισμός συμπλόκου προκαλεί μια βαθυχρωμική (ερυθρή) μετατόπιση και στις δυο ζώνες απορρόφησης (absorption bands) I και II, και ότι η μετατόπιση αντιστρέφεται με αύξηση της οξύτητας του μέσου. Μια παρόμοια συμπεριφορά παρατηρήθηκε για όλες τις υποκατηγορίες φλαβονοειδών που διαθέτουν 5-υδροξυ-4-κετο, 3-υδροξυ-4-κετο και ο-διϋδροξυ ομάδες, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτές οι χαρακτηριστικές ομάδες είναι σημαντικές στη δημιουργία συμπλόκου. Η ερυθρή μετατόπιση προκαλείται από την αυξημένη διέγερση που προκαλείται όταν τα σύμπλοκα συνδέονται για να δώσουν ένα νέο δακτύλιο [16].

Στη βιβλιογραφία ο προσδιορισμός των ολικών φλαβονοειδών πραγματοποιείται κυρίως με αλκοολικό διάλυμα $AlCl_3$, η απορρόφηση μετράται συνήθως στα 420nm και τα αποτελέσματα εκφράζονται σε τιμές ισοδύναμες με κάποια πρότυπη ουσία (κερκετίνη, ρουτίνη), mg πρότυπης ανά gr ή Kg φυτικού υλικού ή δείγματος. Παρά το γεγονός ότι συνιστώνται τέτοιου τύπου χρωματομετρικές δοκιμές, η εκλεκτικότητά τους θεωρείται συχνά αμφισβητήσιμη στην περίπτωση σύνθετων υποστρωμάτων όπως είναι τα φυτικά εκχυλίσματα. Στην περίπτωση υποστρωμάτων με ταυτόχρονη παρουσία φλαβονοειδών και άλλων ενώσεων που έχουν συγγενή δομικά και χημικά χαρακτηριστικά με αυτά των φλαβονοειδών (π.χ. κατεχολικές ομάδες) εμπεριέχεται κίνδυνος εσφαλμένων εκτιμήσεων (συμπροσδιορισμός) [16].



Εικόνα 3-3 : Βασική δομή φλαβονοειδούς [17])



Εικόνα 3-4: Κέντρα συμπλοκοποίησης φλαβονοειδών μετάλλων [18]

3.1.5. Βιβλιογραφική ανασκόπηση για τα φυτά *C. Sinensis* (green tea) και *Sideritis sp.* της περιεκτικότητας σε ολικά φαινολικά, ολικά φλαβονοειδή και της αντιοξειδωτικής ικανότητας με δοκιμή DPPH• σε IC₅₀.

Από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ολικά φλαβονοειδή και η αντιοξειδωτική ικανότητα με δοκιμή DPPH• σε IC₅₀ τόσο στα είδη *C. Sinensis* (green tea) όσο και στα είδη *Sideritis sp.* διαφέρουν και μεταξύ των ειδών αλλά και στο ίδιο είδος για τον ίδιο διαλύτη. Διακυμάνσεις επίσης διαπιστώνονται και για διαφορετικής πολικότητας διαλύτες.

Στο είδος *C. Sinensis* (green tea) παρουσιάστηκαν διαφορετικές τιμές για φυτά που συλλέχθηκαν σε διαφορετικά μέρη συγκρινόμενα με τον ίδιο διαλύτη, αλλά και για το ίδιο φυτό συγκρινόμενο με διαφορετικό διαλύτη [19] [20] [21], όπως επίσης παρατηρήθηκε εποχιακή διαφοροποίηση για τα ολικά φαινολικά συστατικά και την αντιοξειδωτική δράση [22].

Ανάλογη διαφοροποίηση τιμών παρατηρείται και στο είδος *Sideritis sp* [23] [24] [25] [26] [27] [28]. Επίσης, παρατηρείται διαφοροποίηση των τιμών στα διάφορα ανθικά στάδια (μπουμπούκι / έναρξη ανθοφορίας / πλήρη ανθοφορία / τέλος ανθοφορίας) [29].

Από όλη τη βιβλιογραφία (όπως παρουσιάζεται στον πίνακα 3-1) προκύπτει ότι η μεγαλύτερη περιεκτικότητα φαινολικών συστατικών προκύπτει από την εκχύλιση με πολικούς διαλύτες όπως και η υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση.

Σύμφωνα με τους Metivier et al (2008), Labarbe et al (1999), Prior et al. (2001), Guyot et al (2001) η μεθανόλη είναι πιο αποτελεσματική στην εκχύλιση μικρού μοριακού βάρους πολυφαινολών ενώ οι μεγάλοι μοριακού βάρους φλαβονόλες εκχυλίζονται καλύτερα με υδατικό διάλυμα ακετόνης [21].

Η διαφοροποίηση των τιμών οφείλεται στη διαφορετική γεωγραφική θέση, στις διαφορετικές κλιματολογικές και εδαφολογικές συνθήκες και τη μέθοδο εκχύλισης [3] [20]. Πολλές ακόμη μελέτες έχουν δείξει ότι η βιοσύνθεση των φαινολών (δευτερογενείς μεταβολίτες) επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως το φως, η θερμοκρασία, η παρουσία φυτικών ορμονών και η διαθεσιμότητα νερού στο έδαφος, ωστόσο απαιτούνται πολλές ακόμη μελέτες για να ερμηνευτεί ο τρόπος επίδρασης των παραπάνω παραγόντων στη διαδικασία της βιοσύνθεσης. Η σύνθεση σε

φαινόλες των βλαστών τσαγιού (*C. Sinensis*) διαφέρει σημαντικά εξαιτίας εποχιακών, γενετικών και αγρονομικών παραγόντων αλλά και μηχανισμών που προκαλούν εποχιακές διακυμάνσεις στη συνολική φαινολική περιεκτικότητα σε βλαστούς τσαγιού μπορεί να περιλαμβάνουν μια ή και τρεις από τις ακόλουθες συνθήκες περιβάλλοντος: μήκος της ημέρας²¹, η έκθεση στο ηλιακό φως σε σχέση με το Δείκτη UV²², θερμοκρασία [22].

Στον πίνακα 3-1, που ακολουθεί, παρουσιάζεται σύνοψη της βιβλιογραφία για την περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ολικά φλαβονοειδή και της αντιοξειδωτικής ικανότητας με δοκιμή DPPH• σε IC₅₀ για τα *C. Sinensis* (green tea) και *Sideritis sp*.

²¹ μήκος της ημέρας: η διάρκεια της ημέρας σε ώρες

²² Δείκτης UV : διεθνές μέγεθος έκφρασης της επικινδυνότητας της ηλιακής υπεριώδους ακτινοβολίας

3^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ : ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ - ΕΝΟΡΓΑΝΕΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Πίνακας 3-1 : Σύνοψη της βιβλιογραφίας για την περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ολικά φλαβονοειδή και αντιοξειδωτική ικανότητα με δοκιμή DPPH• σε IC₅₀ για τα είδη *Sideritis ssp.* και *C. Sinensis* (green tea). GAE:[galic acid equivalents (ισοδύναμα γαλλικού οξέος), CAE: caffeic acid equivalents (ισοδύναμα καφεϊκού οξέος), QE: quercetin equivalents (ισοδύναμα κερκετίνης), RUE: rutin equivalents (ισοδύναμα ρουτίνης), DW: dry weight (ξηρή ουσία)]

Είδος / Διαλύτης εκχύλισης	Περιεκτικότητα σε Ολικά Φαινολικά	Περιεκτικότητα σε Ολικά Φλαβονοειδή	Αντιοξειδωτική δράση με δοκιμή DPPH• σε IC ₅₀	Βιβλιογραφία
<i>C. sinensis</i> (Green tea)				
<i>C. sinensis</i> (boiling water)	1216 ± 32,00 mg GAE/cup (1 cup:240 mL)	-	0,15 ± 0,00 mg quercetin / mg DPPH	[13]
<i>C.sinensis</i> Linn. (methanol)	-	-	6,7 ± 0,17 µg / mL	[30]
<i>C. sinensis</i> (50% methanol)	0,09 ± 0,01 – 0,20 ± 0,01 g.GAE / g DW (sample)	2,90 ± 0,41 – 31,15 ± 1,91 mg CE /g DW (sample)		[19]
<i>C. sinensis</i> (80% methanol)	367,95 ± 5,84 mg.GAE /g DW (extract)	-		[31]
<i>C. sinensis var sinensis</i> (methanol)	33,00 – 291,18 mg GAE / g DW (basis)	50,00 mg RUE / g DW (plant material)	14,50 ± 1,69 µg / mL	[22]

<i>C. sinensis</i> (water)	140,00 mg GAE / g DW (plant material)	190,00 mg RUE / g DW (plant material)	20,62 ± 1,06 µg / mL	[32] ²³
<i>C. sinensis</i> (acetone)	149,00 mg GAE / g DW (plant material)	330,00 mg RUE / g DW (plant material) mg RUE / g DW (plant material)	28,59 ± 1,12 µg / mL	
<i>C. sinensis</i> (petroleum ether)	16,02 mg GAE / g DW (plant material)	30,00 mg RUE / g DW (plant material)	238,25 ± 2,01 µg / mL	
<i>C. sinensis</i> (methanolic)	230,00 mg GAE / g DW (plant material)	50,00 mg RUE / g DW (plant material)	14,50 ± 1,69 µg / mL	
<i>C. sinensis</i> (ethyl acetate)	60,00 mg GAE / g DW (plant material)	240,00 mg RUE / g DW (plant material)	61,43 ± 1,16 µg / mL	
<i>C. sinensis</i> (hot water)	205,00 ± 9,90 / 260,00 ± 1.00 / 363,00 ± 25,00 mg GAE /g DW (extract)	-	-	[33]
<i>C. sinensis</i> ,	-	30,25 ± 4,02 –	55,47 – 209,13 µg / mL	[20]

²³ Οι τιμές για την περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά και ολικά φλαβονοειδή είναι κατά προσέγγιση καθώς υπολογίστηκαν από τα αντίστοιχα γραφήματα

<i>C. sinensis</i> var <i>assamica</i> (methanol, 50% methanol, 70% acetone)		192,19 ± 1,41 mg QE /g DW (extract)		
<i>C. sinensis</i> Linn. (boiling water)	-	-	19,00 ± 3,00 mg tea / mL	[34]
<i>C. sinensis</i> (50% ethanolic)	80,27 ± 0,61 – 63,87 ± 1,36 mg GAE / g DW (sample)	35,17 ± 0,91 – 20,90 ± 0,36 mg QE / g DW (sample)	0,03 ± 0,03 mg / mL	[35])
<i>C. sinensis</i> (methanol)	18,32 ± 0,357 - 2,81 ± 0,14 mg GAE / g DW (sample)	17,40 ± 0,01 – 8,50 ± 0,01 mg CE / g DW (sample)		[21]
<i>C. sinensis</i> (acetone)	2,86 ± 0,07 - 0,79 ± 0,02 mg GAE / g DW (sample)	29,25 ± 0,02 - 14,35 ± 0,02 mg CE / g DW (sample)		
<i>C. sinensis</i> (water) (8,41 ± 0,21 - 1,68 ± 0,05 mg GAE / g DW (sample)	26,0 ± 0,08 - 17,05 ± 0,08 mg CE / g DW (sample)		
Fresh <i>C. sinensis</i> (Egyptian green tea) (70% ethanol)	74,51 ± 0,90 mg.GAE /g DW	35,09 ± 0,56 mg QE / g DW	-	[36]
<i>Sideritis</i> ssp.				

<i>S. scardica</i> Griseb. ssp. <i>scardica</i> (methanol)	402,50 ± 2,50 mg GAE / g DW (extract)	-	4,50 mg / mL ²⁴	[37]
<i>S. syriaca</i>	88,00 + 0,42 mg GAE / cup (1 cup:240 mL)	-	0,77 ± 0,01 mg quercetin / mg DPPH	[13]
<i>S.perfoliata</i> (boiling water)	88,74 ± 2,44 mg GAE / g DW (extract)	42,49 ± 0,52 mg QE /g DW (extract)	16,19 ± 0,85 / 33,28 ± 1,20 / 43,39 ± 1,68 ²⁵ μg / mL	[38]
<i>S. raeseri</i> Boiss. & Heldr. subsp. <i>raeseri</i> (ethanol)	34,10 ± 0,81 15,30 ± 0,09 mg GAE / g DW (plant extract)		17,90 ± 0,91 – 45,10 ± 1,57 μg / mL	[29]
Καλλιεργούμενο υβρίδιο <i>S. scardica</i> × <i>S. syriaca</i> (ethanol)	17,55 mg CAE / g solid (plant material)	5,7 mg QE / g solid (plant material)	-	[39]
<i>S. scardica</i> Griseb. (ethanol)	188,50 ± 12,90 mg GAE / g DW		31,50 ± 0,40 μg / mL	[40]

²⁴ κατά προσέγγιση η τιμή από το γράφημα²⁵ οι τιμές αντιστοιχούν στις ακόλουθες συγκεντρώσεις DPPH :0,25 / 0,50 / 1,0 mg ml⁻¹

	(plant extract)			
<i>S. scardica</i> <i>Griseb.</i> (diethyl ether)	84,20 ± 7,30 mg GAE / g DW (plant extract)		147,30 ± 1,80 µg / mL	
<i>S. scardica</i> <i>Griseb.</i> (ethyl acetate)	345,60± 21,70 mg GAE / g DW (plant extract)		20,10 ± 0,40 µg / mL	
<i>S. scardica</i> <i>Griseb.</i> (n-butanol)	300,30 ± 13,40 mg GAE / g DW (plant extract)		5,70 ± 0,40 µg/mL	
<i>S. raeseri ssp.</i> <i>raeseri</i> (methanol)	430,00 mg GAE / gr DW (extract)		31,00 ± 0,60 µg / mL	[24]
<i>S. raeseri ssp.</i> <i>raeseri</i> (water)	273,00 mg GAE / gr DW (extract)		94,00 ± 1,00µg / mL	
<i>S. raeseri ssp.</i> <i>attica</i> (ethanolic)	170,00 mg GAE / gr DW (extract)		43,00 ± 0,60 µg / mL	
<i>S. raeseri ssp.</i> <i>attica</i> (water)	90,00 mg GAE / gr DW (extract)		71,00 ± 0,60 µg / mL	

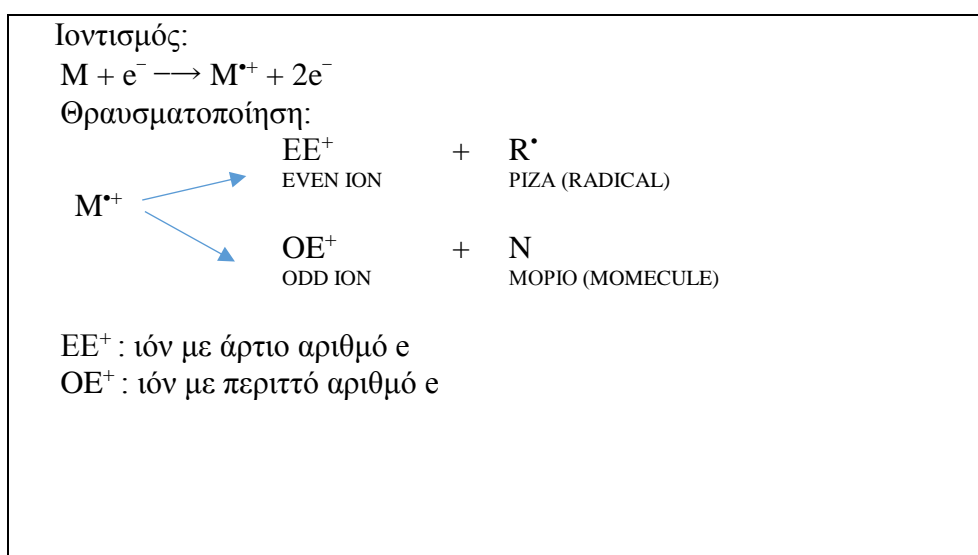
<i>S. montana L</i> (methanol)	97,85 ± 0,98 mg GAE / g DW (extract)	159,54 ± 1,63 mg RUE / g DW (extract)	31,37 ± 2,56 µg / mL	[25]
<i>S. montana L</i> (acetone)	84,55 ± 1,29 mg GAE / g DW (extract)	206,43 ± 1,78 mg RUE / g DW (extract)	64,55 ± 3,61 µg / mL	
<i>S. montana L</i> (ethyl acetate)	49,05 ± 0,81 mg GAE / g DW (extract)	106,62 ± 1,49 mg RUE / g DW (extract)	527,96 ± 4,31 µg / mL	
<i>S. scardica</i> (ethanol 70%)	47,50 – 50,80 mg GAE / g DW (herbal mass)		3,20 -8,90 mg / mL	[26]
<i>S. raeseri</i> (ethanol 70%)	47,70 – 48,90 mg GAE /g DW (herbal mass)		7,60 – 8,50 mg / mL	
<i>S.raeseri subsp.</i> <i>raeseri</i> (ethanol)	18,25 – 20,28 mg GAE / g DW (plant extract)	-	-	[27]
<i>S. scardica</i> (ethanol)	18,42 – 20,07 mg GAE / g DW (plant extract)	-	-	
<i>S. raeseri subsp.</i> <i>raeseri</i> (70% ethanol)	18,90 ± 0,50 – 23,40 ± 2,00 mg CAE / g DW (plant material)	6,80 ± 0,60 – 13,90 ± 0,70 mg RUE / g DW (plant material)	-	[28]

<i>S. scardica</i> (70% ethanol)	14,70 ± 0,30 – 21,90 ± 0,20 mg CAE /g DW (plant material)	6,90 ± 0,30 - 9,20 ± 0,27 mg RUE / g DW(plant material)	-	
-------------------------------------	---	--	---	--

3.2. Φασματομετρία μάζας (Mass spectrometry)

Η φασματομετρία μάζας είναι η τεχνική με τη μεγαλύτερη ποικιλία εφαρμογών, σε σχέση με τις άλλες αναλυτικές τεχνικές καθώς παρέχει πληροφορίες (1) για τη στοιχειακή σύσταση του εξεταζόμενου δείγματος, (2) τις δομές ανόργανων, οργανικών και βιολογικών μορίων, (3) την ποιοτική και ποσοτική σύσταση σύνθετων μιγμάτων, (4) τη δομή και τη σύσταση στερεών επιφανειών και (5) την αναλογία ισοτόπων ατόμων σε δείγματα [40].

Στηρίζεται στον ιοντισμό ατόμων ή μορίων ή στην παραγωγή ιοντικών θραυσμάτων και την καταγραφή της σχετικής έντασης του ιοντικού ρεύματος που αντιστοιχεί στο λόγο μάζα προς φορτίο (m/z).



Σχήμα 4-1 : Πρώτο βήμα φασματομετρίας μαζών [4]

Τα όργανα που χρησιμοποιούνται για τις φασματομετρικές μετρήσεις μοριακών μαζών είναι ποικίλα. Τα κύρια όμως τμήματα ενός φασματομέτρου μαζών είναι τα ακόλουθα [40] [41] [43]:

- *Σύστημα εισαγωγής δείγματος*: Το δείγμα εισάγεται στην αέρια ή στην υγρή μορφή.
- *Πηγή ιόντων*: Τα εισερχόμενα συστατικά μετατρέπονται σε ιόντα με διάφορες τεχνικές ιονισμού.

- *Αναλυτής μαζών*: Τα ιόντα διαχωρίζονται ανάλογα με το λόγο μάζας / φορτίο τους (m/z).
- *Ανιχνευτής*: Ο ανιχνευτής συλλαμβάνει τα ιόντα και τα μετατρέπει σε ηλεκτρικό σήμα.
- *Σύστημα κενού* : Όλο το σύστημα του φασματογράφου βρίσκεται υπό κενό πλην του τμήματος επεξεργασίας δεδομένων.

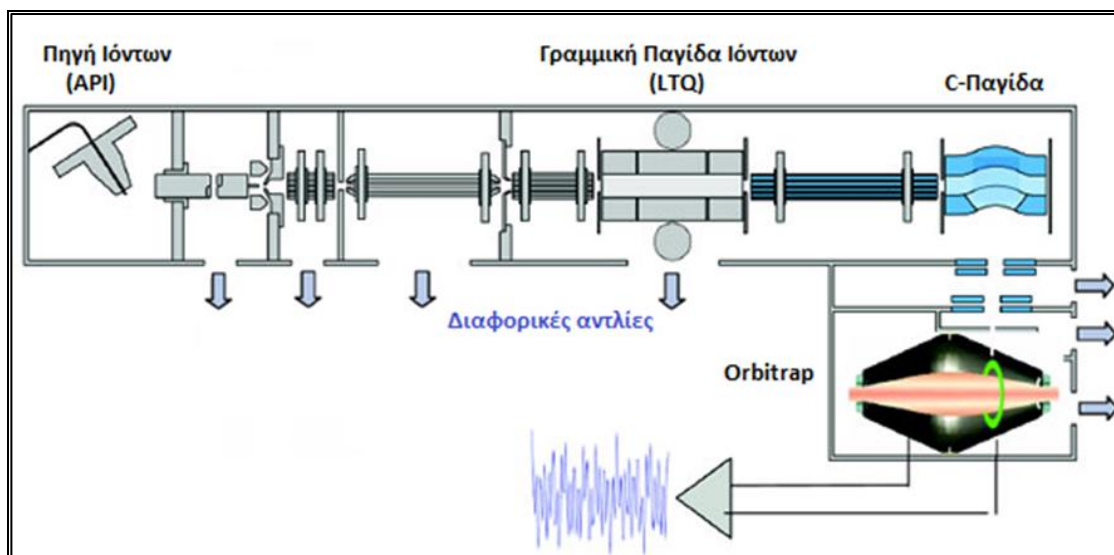
Η φασματομετρία μάζας μπορεί να συνδυασθεί με την αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC) ή με την υγρή χρωματογραφία (Liquid Chromatography, LC) παρέχοντας τις τεχνικές GC-MS ή LC-MS αντίστοιχα.

3.2.1. Υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης συζευγμένη με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας UHPLC/LTQ-ORBITRAP XL

Στην υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης συζευγμένη με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας (UHPLC/LTQ-Orbitrap), χρησιμοποιείται υβριδικός αναλυτής Orbitrap, με τον οποίο εξασφαλίζεται υψηλή αξιοπιστία στην ταυτοποίηση καθώς μπορεί να γίνει ανίχνευση μαζών μεγάλου εύρους (μέχρι 2000 Da), με υψηλή διακριτική ικανότητα (έως και 150.000 FWHM), με ακρίβεια μάζας (τέσσερα δεκαδικά ψηφία) και δυναμικό εύρος (> 4.000 σε μία σάρωση) και δυνατότητα για σχετικό σφάλμα μάζας <5 ppm. Ο υβριδικός αναλυτής Orbitrap συνδυάζει τη γραμμική παγίδα ιόντων LTQ και τον αναλυτή μαζών Orbitrap. Τα παραγόμενα ιόντα στην πηγή ιοντισμού με ηλεκτρο-ψεκασμό (electrospray ionization / ESI) παγιδεύονται στο LTQ και μπορούν να αναλυθούν με τη χρήση μεθόδων σαρώσεως MS και MS_n (n=1-10). Στη συνέχεια, τα ιόντα επιταχύνονται ευθύγραμμα και συλλέγονται στην παγίδα ιόντων σχήματος C (C-Trap), από την οποία στη συνέχεια εισάγονται στο Orbitrap και αιχμαλωτίζονται με απότομη άνοδο του δυναμικού στο κεντρικό ηλεκτρόδιο του Orbitrap. Τα παγιδευμένα ιόντα κινούνται σε κυκλική τροχιά γύρω από το

κεντρικό ηλεκτρόδιο και ανιχνεύονται οι αξονικές ταλαντώσεις τους κατά μήκος του κεντρικού ηλεκτροδίου [42] [43].

Τα αξονικά ταλαντευόμενα ιόντα παράγουν ένα περιοδικό σήμα στα εξωτερικά ηλεκτρόδια, το οποίο ανιχνεύεται ως αποτυπωμένο ρεύμα (image current). Μετά από την ενίσχυσή του, τα σήματα του αποτυπωμένου ρεύματος μετατρέπονται σε φάσμα συχνοτήτων με χρήση του αλγορίθμου μετατροπής Fourier (Fourier Transformation, FT algorithm). Επειδή η συχνότητα ταλάντωσης σχετίζεται ευθέως με το λόγο μάζας / φορτίου (m/z), το φάσμα συχνοτήτων μετατρέπεται εύκολα σε φάσμα μαζών [42].



Εικόνα 4-2 : Σχηματική απεικόνιση του ανάλυτή LTQ Orbitrap [45]

3.3. Βιβλιογραφικές Αναφορές

Ξενόγλωσσες Βιβλιογραφικές Αναφορές

- [4] Jadhav S.J., Nimbalkar S.S., Kulkarni A.D., Madhavi D.L. (1996), Lipid oxidation in biological and food systems. Food Antioxidants, Technological, Toxicological and Health Perspectives, Marcel Dekker, New York.
- [5] Turpaev K. T. (2002), Reactive Oxygen Species and Regulation of Gene Expression, Biochemistry (Moscow) 67 (3), 281-292.
- [6] Huang D, Ou B, Prior RL. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal Agricultural Food Chemistry. 53, 1841-1856.
- [7] Yanishlieva-Maslarova, N. V., Heinonen, I. M. (2001) Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas. In: Antioxidants in food. Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (Eds), Woodhead Pbs. Ltd., Cambridge, UK.
- [8] Pokorny, J. (2001) Introduction In: Antioxidants in food. Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (Eds), Woodhead Pbs. Ltd., Cambridge, UK.
- [9] Frankel, N. E. (2007), In: Antioxidants in food and biology, facts and fiction. Frankel, N. E. (Ed), The Oily Press, , England.
- [10] Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, Songklanakarin J. Sci. Technol. 26(2), 211-219.
- [11] Adedapo A. A., Jimoh F. O., Afolayan A. J., & Masika P. J. (2009). Antioxidant Properties of the Methanol Extracts of the Leaves and Stems of Celtis africana., Rec. Nat. Prod., 3(1), 23-31.
- [12] Fattahi J., Hamidoghli Y., Fotouhi R., Ghasemnejad M., Bakhshi D (2011). Assessment of fruit quality and antioxidant activity of three citrus species during ripening, South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment Vol.2 , No.2, 113 -128.
- [13] Atoui A. K., Mansouri A., Boskou G., Kefalas P. (2005), Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile, Food Chemistry 89, 27–36.
- [14] Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, J. Agric. Food Chem., 53, 4290-4302.
- [15] Vermerris, W., & Nicholson, R. (2008). Phenolic compound biochemistry, Springer Science & Business U.S.A.

- [16] Malešev, D., & Kunti, V. (2007). Investigation of metal–flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal–flavonoid complexing reactions. *J. Serb. Chem. Soc.*, 72(10), 921–939.
- [18] Pietta, P. G. (2000). Reviews. Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.*, 63, 1035-1042.
- [19] Hajimahmoodi M., Hanifeh M, Oveisi M. R., Sadeghi N., Jannat B. (2008), Determination of total antioxidant capacity of green teas by the ferric reducing/antioxidant power assay, *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng.*, 5 (3), 167-172.
- [20] Acharya P. P. , Genwali G. R., Rajbhandari M. (2013), Isolation of catechin from *Acacia catechu* Willdenow estimation of total flavonoid content in *Camellia sinensis* kuntze and *Camellia sinensis* kuntze var. *assamica* collected from different geographical region and their antioxidant activities, *Scientic World*, Vol. 11, No. 11.
- [21] Anand J., Upadhyaya B., Rawat P., Rai N. (2015), Biochemical characterization and pharmacognostic evaluation of purified catechins in green tea (*Camellia sinensis*) cultivars of India, *3 Biotech*, 5, 285–294.
- [22] Erturk, Y., Ercisli, S., Sengul, M., Eser, Z., Haznedar, A., & Turan, M. (2010). Seasonal variation of total phenolic, antioxidant activity and minerals in fresh tea shoots (*Camellia sinensis* var. *sinensis*). *Pak. J. Pharm. Sci.*, 23(1), 69-74.
- [23] Tadić V. M., Jeremic I., Dobric, S., Isakovic, A., Markovic, I., Trajkovic, V., Bojovic D., Arsic, I. (2012). Anti-inflammatory, Gastroprotective, and Cytotoxic Effects of *Sideritis scardica* Extracts. *Journal of Medicinal Plant and Natural Product Research*, 78(5), 415-427.
- [24] Stagos D., Portesis N., Spanou C., Mossialos D., Aligiannis N., Chaita E., Panagoulis C., Reri E., Skaltsounis L., Tsatsakis A. M., Kouretas D.(2012) Total phenolic content, antioxidant capacity, protective activity against hydroxyl (OH) and peroxy (ROO) radical-induced DNA damage, and antibacterial activity, *Food and Chemical Toxicology*, 50, 4115–4124.
- [25] Radojević, I. D., Stanković, M. S., Stefanović, O. D., Topuzović, M. D., & Čomić, L. R. (2012). Antioxidative and antimicrobial properties of different extracts from *Sideritis montana* L., *Romanian Biotechnological Letters*, 17(2).
- [26] Karapandzova M., Qazimi B., Stefkov G., Bačevac K., Stafilov T., Panovska T. K., Kulevanova S., (2013), Chemical Characterization, Mineral Content and Radical Scavenging Activity of *Sideritis scardica* and *S. raeseri* from R. Macedonia and R. Albania. *Natural Product Communications*, 8(5), 639 - 644.
- [27] Menković N., Gođevac D., Šavikin K., Zdunić G., Milosavljević S., Bojadži A., Avramoski O. (2013) Bioactive Compounds of Endemic Species *Sideritis raeseri* subsp. *raeseri* Grown in National Park Galičica Records *Natural Products*, 7(3), 161-168.

- [28] Ibraliu A., Trendafilova A. B., Anđelković B. D., Qazimi B., Gođevac D. M., Shengjergji D., Bebeci E., Stefkov G., Zdunic G., Aneva I. I., Pasho I., Petreska-Stanoeva J., Alipieva K. I., Savikin K., Evstatieva L. N., Menkovic N., Stefova M. I., Popova M., Jadranin M. B., Todorova M. N., Denev P., Kulevanova S., Bankova V. S., Gurazi V., Papajani-Toska V. (2015), *European Journal of Medicinal Plants*, 5(4), 328-340.
- [29] Pljevljakusic D., Savikin K., Jankovic T., Zdunic G., Ristic M., Godjevac D., Konic-Ristic A. (2011) Chemical properties of the cultivated *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. subsp. *raeseri* *Food Chemistry*, 124 (1), 226-233.
- [30] Khalaf N. A., Shakya A. K, Al-Othman A., El-Agbar Z., Farah H.(2008). Antioxidant Activity of Some Common Plants, *Turk J Biol* 32, 51-55.
- [31] Turkmen Erol N., Sari F., Calikoğlu E., Velioglu Y. S. (2009). Green and roasted mate: phenolic profile and antioxidant activity, *Turk J Agric For* 33 ,353-362.
- [32] Stankovic M. S., Niciforovic N., Topuzovic M., Solujic S. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity, of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium montanum* l. var. *montanum*, f. *supinum* (l.) Reichenb., *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.*, 25(1), 2222-2227.
- [33] Chan E. W. C., Soh E. Y., Tie P. P., & Law Y. P. (2011). Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Pharmacognosy Res.*, 3(4), 266–272.
- [34] Dutta A. K., Siddiquee M. A., Hossain S., Kabir Y. (2013). Finlay green tea possesses the highest in vitro antioxidant activity among the 20 commercially available tea brands of Bangladesh, *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences* Vol. 11, No. 2, 11–20.
- [35] Nor Qhairul Izzreen M. N. and Mohd Fadzelly A. B. (2013). Phytochemicals and antioxidant properties of different parts of *Camellia sinensis* leaves from Sabah Tea Plantation in Sabah, Malaysia, *International Food Research Journal* 20(1), 307-312.
- [36] Gouda A.A., El Sheikh R., Amin A.A., Abdullah A.A., Atwa M.A.(2015). Determination of phenolic components and antioxidant activity of some Egyptian tea samples, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7 (4), 198-202.
- [37] Tunalier, Z., Kosar, M., Ozturk, N., Baser, K. H. C., Duman, H., & Kirimer, N. (2004). Antioxidant properties and phenolic composition of *Sideritis* species. *Chemistry of Natural Compounds*, 40(3), 206-210.
- [38] Erdogan-Orhan I., Baki E., Şenol S., Yilmaz G. (2010). Sage-called plant species sold in Turkey and their antioxidant activities. *J. Serb. Chem. Soc.*, 75(11), 1491–1501.

- [39] Tsibranska I., Tylkowski B., Kochanov R. Alipieva (2011) K Extraction of biologically active compounds from *Sideritis* ssp. L., Food and Bioproducts Processing, 89, 273–280.
- [40] Tadić V. M, Bojović D., Arsić I., Đorđević S., Aksentijević K., Stamenić M., Janković S. (2012) Chemical and antimicrobial evaluation of supercritical and conventional *Sideritis scardica* Griseb., Lamiaceae extracts *Molecules*, 17 (3), 2683–2703.
- [43] Hoffmann. E. & Stroobant V., Mass Spectrometry: Principles and Applications, 2007, John Wiley & Sons Ltd, 3rd ed.

Ελληνικές Βιβλιογραφικές Αναφορές

- [1] Κουτελιδάκης Α.Ε. (2010), Μελέτη της επίδρασης του λίπους και του σιδήρου στη βιοδραστικότητα αφεψημάτων τσαγιού, Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα.
- [2] Βαλαβανίδης Α. (2006). Ελεύθερες Ρίζες στην Οργανική Χημεία: Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- [3] Παπαγεωργίου Γ.Ε. (2005), Βιοχημεία ελεύθερων ριζών. Αντιοξειδωτικά και λιπιδική υπεροξειδωση, University Studio Press.
- [40] Skoog D.A., Holler F. J., Nieman T.A., μετάφραση Καραγιάννης Μ. Ι., Ευσταθίου Κ. Η., Χανιωτάκης Ν (2002). Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης (μετάφραση 5ης έκδοσης), Εκδόσεις Κωσταράκη, Αθήνα.
- [41] Ταραντίλης Π. (2004). Τεχνικές εκχύλισης και απόσταξης, χρωματογραφικές τεχνικές ενόργανης ανάλυσης – Παραλαβή, διαχωρισμός, απομόνωση, καθαρισμός και ταυτοποίηση φυσικών προϊόντων, Πανεπιστημιακές Σημειώσεις, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- [42] Κοσμά Χριστίνα (2013), Ανίχνευση, μεταφορά και φωτολυτική διάσπαση φαρμακευτικών ενώσεων στο περιβάλλον, Διδακτορική Διατριβή, Ιωάννινα.

Διαδικτυακές Αναζητήσεις

- [10] <http://www.sigmaaldrich.com>
- [11] <https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=4fa8c145e4f076554e000000&assetKey=AS%3A271757804539906%401441803517869>
- [17] <http://www.hindawi.com/journals/abi/2011/506583/fig1/>
- [45] <http://departments.agri.huji.ac.il/zabam/orbitrap.html>

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή πραγματεύεται τη μελέτη ενεργών συστατικών πέντε αυτοφυών taxa του γένους *Sideritis* (τσάι του βουνού) και της βιολογικής δράσης των. Για την επιλογή του συγκεκριμένου γένους συνεκτιμήθηκαν οι ακόλουθοι παράγοντες:

- Το αυξημένο ενδιαφέρον για την κατανάλωση του τσαγιού του βουνού, αλλά και για τη χρήση του στη φαρμακολογία, κοσμετολογία, ζαχαροπλαστική κ.λ.π. τα τελευταία χρόνια, με συνέπεια την αλόγιστη υπερβάλλουσα συγκομιδή αυτοφυών ειδών πολύ συχνά.
- Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας έδειξε ότι τα είδη του γένους *Sideritis* που έχουν μελετηθεί κατά κύριο λόγο συναντώνται στις περιοχές της Ισπανίας, της Τουρκίας, Π.Γ.Δ.Μ., Αλβανίας, Βουλγαρίας, ενώ τα ελληνικά είδη έχουν μελετηθεί αρκετά λιγότερο με μεγαλύτερο ίσως ενδιαφέρον των αιθέριων ελαίων τους.
- Η έντονη φυσική διασταύρωση (υβριδισμός) των ειδών που συνεπάγεται και τη μεγάλη μορφολογική και χημική ποικιλότητα στην Ελλάδα, γεγονός που οδήγησε στην αναγνώριση των πέντε υποειδών που μελετώνται. Σ' αυτά συμπεριλαμβάνεται το είδος *S. perfoliata* L. ssp *perfoliata*, περιορισμένης γεωγραφικής εξάπλωσης.

Επιδιώκεται να μελετηθούν τα taxa του *Sideritis* ως προς τα συστατικά τους, να μελετηθούν ως προς τη βιολογική δράση τους, να συγκριθούν μεταξύ τους ως προς τα συστατικά τους & ως προς τη βιολογική δράση τους. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται διαφορετικής πολικότητας διαλύτες για την εκχύλισή τους και :

- ✓ Ελέγχεται η συμπεριφορά ως προς την απόδοση επί τοις εκατό της εκχύλισης σε στερεό για κάθε φυτικό είδος
- ✓ Ελέγχεται η συμπεριφορά ως προς περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή και ολικά φαινολικά με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu, καθώς και η αντιοξειδωτική δράση με δοκιμή DPPH.

- ✓ Πραγματοποιείται ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός με τη χρήση πρότυπων ουσιών με την υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης συζευγμένη με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας UHPLC/Ltq-Orbitrap XL, η χρήση της οποίας δε βρέθηκε κατά την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. Συνηθέστερα έχουν χρησιμοποιηθεί η φασματομετρία μάζας (Mass Spectrometry, MS) με την υγρή χρωματογραφία (Liquid Chromatography, LC) / LC-MS, ή με την αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC) / GC-MS κυρίως για τα αιθέρια έλαια, ο πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (NMR).
- ✓ Ελέγχεται η βιολογική (κυτταροτοξική) δράση των.

Επιπλέον, γίνεται σύγκριση σε όλα τα αποτελέσματα με τα αντίστοιχα από το πράσινο τσάι (*Camelia sinensis*), καθώς έχει μελετηθεί σε μεγάλο εύρος, ενώ η μεγάλη ανά τον κόσμο κατανάλωσή του έχει συνδεθεί με την πλούσια αντιοξειδωτική συμπεριφορά του.

Β΄ ΜΕΡΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ

*4^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ : ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΟΡΓΑΝΑ
- ΓΥΑΛΙΝΑ ΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ*

4.1. Διαλύτες

Χρησιμοποιήθηκαν από την εταιρεία Merck KGaA, (Darmstadt, Germany) οι παρακάτω διαλύτες:

- Εξάνιο για υγρή χρωματογραφία n – υψηλής καθαρότητας ($\geq 98,0\%$),
- Μεθανόλη για υγρή χρωματογραφία υψηλής καθαρότητας ($\geq 99,9\%$),
- Νερό χρωματογραφίας.

4.2. Όργανα – Συσκευές

- Ζυγός, electronic balance Mark 150A, Bel engineering (0,001 g -100 g), τεσσάρων δεκαδικών
- Πυριαντήριο, W.T. – Binder
- Λυοφιλιωτής Alpha 1-2, με αντλία υψηλού κενού και drummer
- Περιστροφικός εξατμιστήρας (rotary evaporator), Buchi B480 waterbath
- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης HPLC Agilent 1200 με ανιχνευτή υπεριώδους ορατού υν –vis μεταβαλλόμενου νήκους κύματος (Agilent U.S.A.).
- Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπερυψηλής απόδοσης συζευγμένο με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας UHPLC/LTQ-ORBITRAP XL της Thermo Fischer Scientific (Bremen, Germany).
- Αναλυτικός ζυγός ακρίβειας 6 δεκαδικών ψηφίων ABT 120 – 5DNM, KERN & SOHN GmbH (Balingen, - Germany)
- Vortex σωληναρίου Velp scientifica (40 Hertz)

- Λουτρό υπέρηχων χρόνου & θερμοκρασίας Elmasonic S 30 (H) (Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Germany)
- Στήλη χρωματογραφίας C18 Hypersil Gold, Dim. (mm) 100 x 2.1 με 1.9 μm μέγεθος πόρων (Bremen, Germany).

4.3. Αντιδραστήρια

- Folin – Ciocalteu's phenol reagent, της εταιρείας Merck KGaA, (Darmstadt, Germany)
- 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, συνώνυμο 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, της εταιρείας Sigma-Aldrich της Merck KGaA, (Darmstadt, Germany), D9132.
- Άνυδρο ανθρακικό νάτριο (καθαρότητας $\geq 99,5\%$), της εταιρείας Carlo Erba Reagents S.A.S.
- Αργίλιο χλωριούχο εξαϋδρικό (καθαρότητας $\geq 99,0\%$) της εταιρείας Sigma-Aldrich της Merck KGaA, (Darmstadt, Germany), 06232
- Φορμικό οξύ (καθαρότητας, 98-100 %), της εταιρείας Merck KGaA (Darmstadt, Germany).

4.4. Γυάλινα σκεύη και υλικά:

- Σκουρόχρωμα βάζα με καπάκι
- Σφαιρικές φιάλες
- Επιθέματα
- Ποτήρια ζέσεως
- Κωνική φιάλη κενού

- Μαγνητάκια
- Ογκομετρικός κύλινδρος
- Γυάλινα φιαλίδια με πώμα
- Χωνί Büchner από πορσελάνη
- Γουδί πορσελάνης
- Σπάτουλες
- Χαρτί διήθησης (grade 34/N, 60 g / m, 390 x 390 mm)
- Υγρό άζωτο
- Διηθητικά φίλτρα από ίνες υαλοβάμβακα 1 μm (glass fiber filters) GF/B του οίκου Whatman (Maidstone, UK).
- Σύριγγες όγκου 1 mL.
- MS Analyzed vial, vial kits

4.5. Πρότυπες ουσίες

Χρησιμοποιήθηκαν από την εταιρεία Sigma-Aldrich της Merck KGaA, (Darmstadt, Germany)

οι εξής πρότυπες ουσίες:

Kaempferol \geq 90% (HPLC) K-0133, Apigenin 95% A-3145, Chrysin 97% 64751, Thymol \geq 99% T-0501, Ferulic acid F-3500, Ursolic acid \geq 90% 079H1042, Carvacrol 98% 282197, Erythrodiol \geq 97% (HPLC) 09258-10MG-F, Quercetin \geq 95% Q-0125, (+)-Catechin hydrate \geq 98% (HPLC) C1251, (-)-Epigallocatechin gallate \geq 95%, D-(-)-Quinic acid purum, \geq 98% (T) 52707171, *p*-Coumaric acid \geq 98% (HPLC) C-9008, *o*-Coumaric acid (*trans*-2-Hydroxycinnamic acid) 97% C-4400, Protocatechuic acid P-5630, Caffeic acid \geq 98% (HPLC) C-0625, Vanillic acid V-2250, Gallic acid monohydrate \geq 98% 398225

Από την εταιρεία Extrasynthese (Genay Cedex France) οι πρότυπες ουσίες:

Luteolin (HPLC) $\geq 99\%$ 12091818, Verbascoside (HPLC) $\geq 99\%$ 4994 S, Luteolin-7-O-glucoside (HPLC) $\geq 98\%$ 0701914, Genkwanin (HPLC) $\geq 95\%$ 08032014.

Troxol της εταιρείας Sigma-Aldrich της Merck KGaA, (Darmstadt, Germany)

Vitamin C της εταιρείας Sigma-Aldrich της Merck KGaA, (Darmstadt, Germany)

Όλες οι ουσίες ήταν σε στερεή μορφή, πλην της Carvacrol, η οποία ήταν σε υγρή μορφή.

*5^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ*

5.1. Φυτικό υλικό

Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, συνίσταται σ' ένα εμπορικό σκεύασμα πράσινου τσαγιού Κεϋλάνης και σε πέντε φυτά τσάι του βουνού, τα οποία συλλέχθηκαν από αυτοφυείς πληθυσμούς σε πέντε διαφορετικές ορεινές περιοχές: Κελλάρι Μελλισουργών Άρτας, Συρράκο Ιωαννίνων, Ροδιανή Κοζάνης, Κρυσταλοπηγή Φλώρινας, Κορυφή Τρικάλων.

Το εμπορικό σκεύασμα πράσινου τσαγιού (*Camelia sinensis*) είναι τσάι Κεϋλάνης (Σρι Λάνκα) από την εταιρεία MLensa, (αποκλειστικός αντιπρόσωπος – εισαγωγέας Ο.Κ. Παπαθεοδώρου –MLensa Hellas Ομήρου 35 Κολωνάκι) σε συσκευασία χάρτινου κουτιού 200 γραμμαρίων.



Εικόνα 5-1 : Πράσινο τσάι, Sri Lanka by MLensa (200 grams) [1]

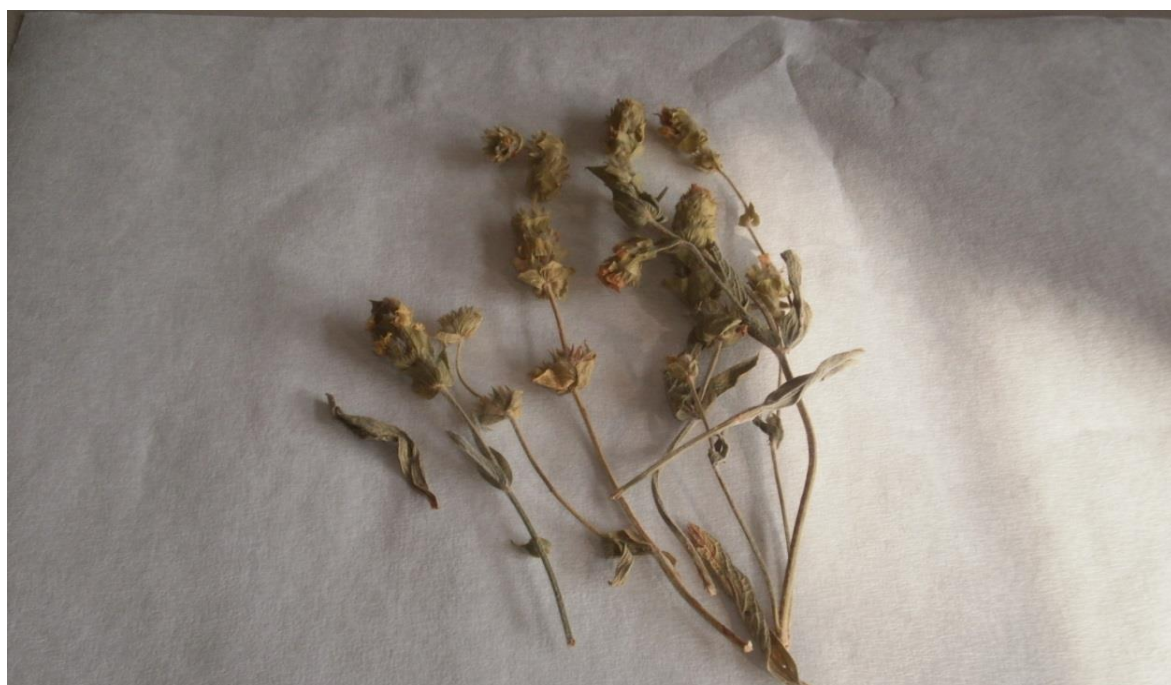
Τα πέντε συλλεγόμενα είδη ξηράθηκαν σε σκιερό μέρος. Η ταυτοποίησή τους έγινε στο εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΓΠΑ), από τον Επίκουρο Καθηγητή Παναγιώτη Τρίγκα και τοποθετήθηκαν στο *Ερμπάριο* (Herbarium) του *Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών* (ACA). Παρουσιάζονται αμέσως στον πίνακα που ακολουθεί.

Πίνακας 5-1 : Περιχές συλλογής και βοτανική ταξινόμηση φυτικού υλικού

a/a	Περιοχή συλλογής	Συγκομιδή	Υψόμετρο (μέτρα)	Ταυτοποίηση	Κωδικός Ερμάριου (ACA)
1	Κελλάρι Μελισουργών Άρτας	15/7/2011	1758	<i>S. raeseri boiss & heldr ssp. raeseri</i>	R.A._1 (ACA)
2	Συρράκο Ιωαννίνων	20/7/2011	1215	<i>S. raeseri boiss & heldr ssp. raeseri</i>	R.A._2 (ACA)
3	Βούρινος -Ροδιανή Κοζάνης	2/7/2011	900	<i>S. scardica griseb</i>	R.A._3 (ACA)
4	Κρυσταλοπηγή Φλώρινας	29/6/2011	1419	<i>S. scardica griseb</i>	R.A._4 (ACA)
5	Κορυφή Τρικάλων	12/7/2012	1550	<i>S.perfoliata L. ssp perfoliata</i>	R.A._5 (ACA)



Εικόνα 5-2 : *S. raeseri* boiss & heldr ssp. *raeseri*. Συλλογή Τζουμέρκα Κελλάρι Μελλισουργοί Άρτας (πηγή: η συγγραφέας)



Εικόνα 5-3 : *S. raeseri* boiss & heldr ssp. *raeseri*. Συλλογή Συρράκο Ιωαννίνων (πηγή: η συγγραφέας)



Εικόνα 5-4 : *S. scardica* Griseb Συλλογή Βούρινος ή Μπούρινος - Ροδιανή Κοζάνης (πηγή: η συγγραφέας)



Εικόνα 5-5 : *S. scardica*. Griseb Συλλογή Κρυσταλοπηγή Φλώρινας (πηγή: η συγγραφέας)



Εικόνα 5-6 : *S. perfoliata* L. ssp *perfoliata* Συλλογή Κορυφή Τρικάλων (πηγή: η συγγραφέας)

5.2. Διαδικασία εκχύλισης

Το φυτικό υλικό τοποθετήθηκε στο πυριαντήριο στους 50°C για μια ώρα ώστε να στεγνώσει από τυχόν υπόλοιπο υγρασίας από το περιβάλλον. Στη συνέχεια με ένα μύλο οικιακής χρήσης (blender), συνθλίφθηκε σε σκόνη. Η διαδικασία ακολουθήθηκε ξεχωριστά για κάθε περίπτωση διαφορετικού φυτικού υλικού. Στη συνέχεια, τα έξι διαφορετικά είδη εκχυλίστηκαν με τρεις διαφορετικούς διαλύτες (μεθανόλη, νερό, εξάνιο), ώστε να προκύψουν δεκαοκτώ διαφορετικά εκχυλίσματα (έξι μεθανολικά, έξι υδατικά και έξι εξανικά).

Για τις εκχυλίσεις με μεθανόλη και εξάνιο ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία: 8 gr από κάθε είδος φυτικού υλικού, τοποθετήθηκαν σε σκουρόχρωμο βάζο με καπάκι όπου προστέθηκαν 120 mL διαλύτη (μεθανόλη, εξάνιο) και ακολούθησε μηχανική ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα για δυο εικοσιτετράωρα σε θερμοκρασία δωματίου. Η εκχύλιση σε νερό για τα έξι είδη, έγινε με προσομοίωση των συνθηκών κατανάλωσης του τσαγιού, 120 mL νερό τοποθετείται σε ποτήρι ζέσεως και θερμαίνεται μέχρι να φτάνει στο σημείο βρασμού, αμέσως ρίχνονται σ' αυτό 8 gr φυτικού υλικού για κάθε ένα από τα μελετώμενα είδη κάθε φορά, όπου παρέμειναν για πέντε λεπτά.

Για κάθε ένα από αυτά, ακολούθησε διήθηση υπό κενό (χωνί Büchner από πορσελάνη με διηθητικό χαρτί). Από τα μεθανολικά διηθημένα εκχυλίσματα αφαιρέθηκε η μεθανόλη με περιστροφικό εξατμιστήρα (40°C, 30min.). Τα υδατικά εκχυλίσματα τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια με χοντρό τοίχωμα (κατάλληλα για λυοφιλίωση), ψύχτηκαν σε υγρό άζωτο και τοποθετήθηκαν στο θάλαμο κενού (drum drying) του λυοφιλιωτή για δυο εικοσιτετράωρα. Τέλος, τα εξανικά εκχυλίσματα αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου σε ποτήρια ζέσεως μεγάλης επιφάνειας καλυμμένα ολόκληρα με αλουμινόχαρτο το οποίο τρυπήθηκε με βελόνα

σύριγγας σε όλη την επάνω επιφάνεια για να εξατμιστεί ο διαλύτης Πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις πειραμάτων (n=3).

Στο εξής τα δείγματα παρουσιάζονται με την ακόλουθη ονοματολογία:

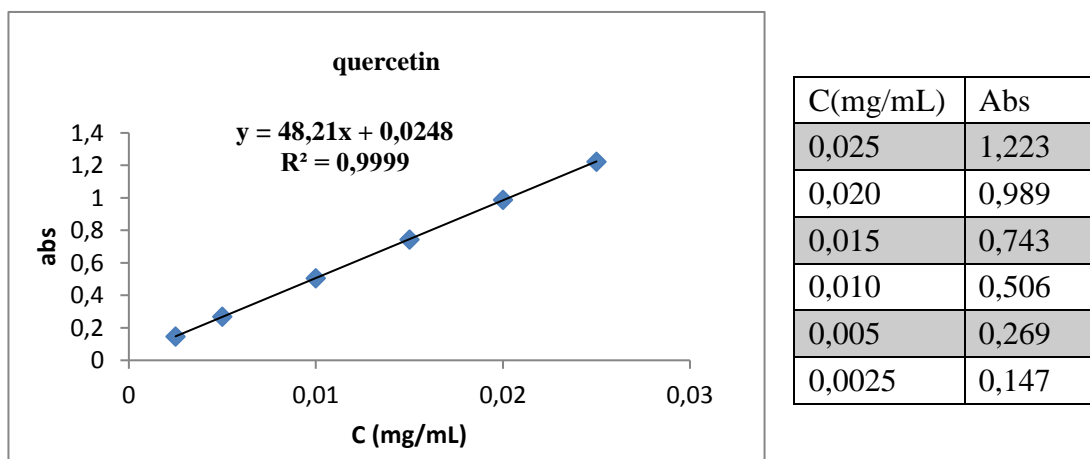
Πίνακας 5.2 : Ονοματολογία δειγμάτων

ΦΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ	ΔΕΙΓΜΑΤΑ
<i>S. perfoliata</i> L. <i>ssp perfoliata</i> _Κορυφή	SP
<i>S. scardica</i> Griseb_Ροδιανή	SSc1
<i>S. scardica</i> Griseb_Κρυσταλοπηγή	SSc2
<i>S. raeseri</i> Boiss & Heldr <i>ssp. raeseri</i> _Συρράκο	SR1
<i>S. raeseri</i> Boiss & Heldr <i>ssp. raeseri</i> _Μελλισουργοί	SR2
<i>C. sinensis</i> (green tea)	CS

5.3. Μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων

5.3.1. Προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε ολικά φλαβονοειδή

Για τη μέτρηση των ολικών φλαβονοειδών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Adedapo et al., 2009 & Ordoñez et al., 2006 [1] [2]. Για την έκφραση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε η πρότυπη ουσία quercetin. Αρχικά υπολογίστηκε η καμπύλη αναφοράς της quercetin και στη συνέχεια μετρήθηκαν οι απορροφήσεις των δειγμάτων σε τελικές συγκεντρώσεις 0,3 mg / mL για τα υδατικά και μεθανολικά εκχυλίσματα, 0,6 mg / mL για τα εξανικά εκχυλίσματα των taxa *Sideritis* και 0,15 mg / mL για τα εκχυλίσματα *CS*. Πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις πειραμάτων (n=3).



Γράφημα 5-1 : Καμπύλη αναφοράς της quercetin, RSD% : 3,04

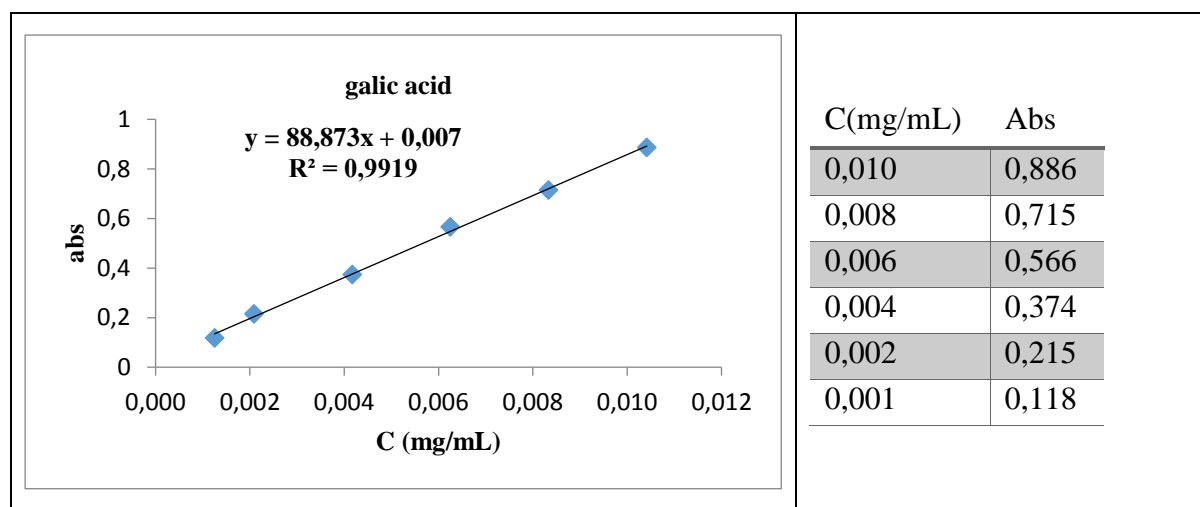
Για τις αντίστοιχες μετρήσεις των απορροφήσεων ακολουθήθηκε κάθε φορά η παρακάτω διαδικασία:

Σε 0,5 mL μεθανολικού δείγματος προστέθηκε 0,5 mL μεθανολικό διάλυμα $AlCl_3$ 2%. Ακολούθησε ανάδευση σε vortex. Τα προκύψαντα διαλύματα αποκτούν κίτρινο χρώμα, μένουν για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου και σκοτεινό ντουλάπι και στη συνέχεια μετρείται η απορροφήσή τους στα 420nm. Το τυφλό δείγμα για μηδενισμό του οργάνου περιείχε 0,5 mL

μεθανόλη και 0,5 mL μεθανολικό διάλυμα AlCl_3 2%. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο (UV - Visible Spectrophotometer Shimadzu, UV-1601).

5.3.2. Προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε ολικά φαινολικά

Η μέτρηση των ολικών φαινολικών έγινε με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu και ως πρότυπη για την έκφραση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το galic acid [3]. Αρχικά υπολογίστηκε η καμπύλη αναφοράς του galic acid και στη συνέχεια μετρήθηκαν οι απορροφήσεις των δειγμάτων σε τελικές συγκεντρώσεις 0,025 mg / mL για τα υδατικά και μεθανολικά εκχυλίσματα και 0,05 mg / mL για τα εξανικά εκχυλίσματα των taxa *Sideritis*, ενώ για όλα τα εκχυλίσματα του CS 0,0125 mg / mL. Πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις πειραμάτων (n=3).



Γράφημα 5-2 : Καμπύλη αναφοράς του galic acid, RSD% : 4,89

Για τις αντίστοιχες μετρήσεις των απορροφήσεων ακολουθήθηκε κάθε φορά η παρακάτω διαδικασία:

- Σε 0,5 mL απεσταγμένο νερό προστίθεται 0,125 mL μεθανολικού διαλύματος των δειγμάτων στις συγκεντρώσεις που αναφέρονται πιο πάνω, 0,125 mL αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu's και αφήνονται να αντιδράσουν για 6 λεπτά. Στη συνέχεια, προστίθεται 1,25 mL υδατικό διάλυμα Na_2CO_3 (7%) και συμπληρώνεται με

απεσταγμένο νερό μέχρι τα 3 mL. Ακολούθησε ανάδευση σε vortex. Τα διαλύματα που προέκυψαν μένουν για 2 ώρες σε σκοτεινό ντουλάπι όπου αναπτύσσεται το χρώμα και στη συνέχεια γίνεται μέτρηση της απορρόφησής τους στα 765nm. Το τυφλό δείγμα, για μηδενισμό του οργάνου προέκυψε σύμφωνα με την πιο πάνω διαδικασία όπου αντί του δείγματος περιείχε 0,125 mL methanol [3]. Οι μετρήσεις έγιναν σε φασματοφωτόμετρο (UV - Visible Spectrophotometer Shimadzu, UV-1601).

5.3.3. Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης με δοκιμή DPPH^{*}

Μετρήθηκε η αντιοξειδωτική δράση όλων των εκχυλισμάτων καθώς και των πρότυπων αντιοξειδωτικών Quercetin, Troxol και Vitamin C, για σύγκριση της δραστηρότητάς τους με αυτή των εξεταζόμενων εκχυλισμάτων [4] [5] [6].

Από stock διαλύματα συγκέντρωσης 3 mg / mL (DW. εκχυλίσματος / MeOH), παρασκευάστηκαν διαλύματα εργασίας συγκεντρώσεων 10 – 3000 µg / mL (DW εκχυλίσματος MeOH). Παρασκευάστηκε, επίσης διάλυμα DPPH^{*} σε MeOH συγκέντρωσης 0,4 mM. Το διάλυμα DPPH^{*}, χρησιμοποιούνταν φρέσκο κάθε φορά (διάλυμα ημέρας). Σε γυάλινα φιαλίδια προστέθηκαν 1 mL διάλυμα εργασίας (στη μετρούμενη συγκέντρωση κάθε φορά) και 0,4 mL διάλυμα DPPH^{*} 0,4 mM, ακολούθησε ανάδευση σε vortex και παραμονή για 30 min. σε σκοτεινό ντουλάπι. Η μέτρηση της απορρόφησης έγινε στα 517 nm σε φασμαφωτόμετρο (UV – VISIBLE SPECTROPHOTOMETER SHIMADZU, UV – 1601) με γυάλινες κυψελίδες (ορατής ακτινοβολίας) όγκου 1mL. Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με MeOH. Το τυφλό δείγμα περιείχε 1 mL MeOH και 0,4 mL μεθανολικό διάλυμα DPPH 0,4 mM. Οι συγκεντρώσεις χρησιμοποιήθηκαν έτσι ώστε να φτάνουν σε 'πλατώ' μέγιστης και ελάχιστης απορρόφησης κάθε φορά. Πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις πειραμάτων (n=3).

5.4. Προσδιορισμός ουσιών στα εκχυλίσματα των taxa *Sideritis* & του *C. sinensis* με χρήση χρωματογραφίας φασματομετρίας υψηλής διακριτικής ικανότητας : Υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης συζευγμένη με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας UHPLC/LTQ-ORBITRAP XL

Η ανίχνευση των συστατικών των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας υπερυψηλής απόδοσης συζευγμένη με φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας (UHPLC/LTQ-Orbitrap).

Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπερυψηλής απόδοσης UHPLC με γραμμική παγίδα ιόντων (LTQ) και υβριδικό αναλυτή Orbitrap της εταιρίας Thermo Fischer Scientific (Bremen, Germany). Το σύστημα υγρής χρωματογραφίας περιλαμβάνει αντλία (Accela Pump Ser. No 750157) και θερμοστατούμενο σύστημα αυτόματου δειγματολήπτη (Accela AS). Η αντλία παραγωγής αζώτου ήταν της εταιρίας Brezza-Claind (NiGen LCMS 40-1). Για τη χρωματογραφική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε στήλη C18 Hypersil Gold, Dim. (mm) 100 x 2,1 με 1,9 μm μέγεθος πόρων (Bremen, Germany). Τα δείγματα αναλύθηκαν με τη μέθοδο του αρνητικού ιοντισμού. Για το διαχωρισμό των ουσιών χρησιμοποιήθηκε σύστημα βαθμωτής έκλουσης (gradient elution) με μίγμα διαλυτών A (νερό LC-MS με 0,1 % φορμικό οξύ) και B (μεθανόλη LC-MS με 0,1 % φορμικό οξύ), πίνακας 5-3.

Στον πίνακα 5-4 δίνονται οι συνθήκες των παραμέτρων που επιλέχθηκαν για τη χρωματογραφική ανάλυση.

Πίνακας5-3: Πρόγραμμα βαθμωτής έκλουσης για τον αρνητικό ιοντισμό στο UHPLC/LTQ-ORBITRAP,
 Διαλύτης A: νερό καθαρότητας LC-MS με 0,1 % φορμικό οξύ,
 Διαλύτης B : μεθανόλη καθαρότητας LC-MS με 0,1 % φορμικό οξύ

Χρόνος (min)	Διαλύτες έκλουσης	
	A%	B%
0	70	30
5	70	30
45	0	100
50	0	100

Ο όγκος έγχυσης του δείγματος (injection volume) ήταν 10 μL , η ταχύτητα ροής ρυθμίστηκε στα 250 $\mu\text{L}/\text{min}$ και η θερμοκρασία του φούρνου ήταν σταθερή στους 40 $^{\circ}\text{C}$. Ο ρυθμός ροής ξήρανσης του αερίου (άζωτο) (drying gas) ήταν 10 L/min στους 200 $^{\circ}\text{C}$. Η πίεση νεφελοποίησης (nebulizing pressure) του δείγματος ήταν 100 psi, το δυναμικό του μεταλλικού τριχοειδούς (capillary voltage) ήταν -3.500 V (αρνητικό ιοντισμό), ενώ το δυναμικό θραυσματοποίησης (fragmentation voltage) ήταν 5 V.

Τα πυκνά πρότυπα διαλύματα (stock solutions) παρασκευάστηκαν με διαλύτη μεθανόλη (υψηλής καθαρότητας) Merck, σε συγκέντρωση 0,1 – 0,6 mg/mL και διατηρήθηκαν σε γυάλινες φιάλες των 8 mL στους -20 $^{\circ}\text{C}$. Τα διαλύματα εργασίας παρασκευάστηκαν με αραιώση των πυκνών πρότυπων διαλυμάτων σε διαλύτη υψηλής καθαρότητας μεθανόλη : νερό (50: 50) σε συγκέντρωση 0,001 mg/mL .

Αναλύθηκαν δεκαοκτώ φυτικά εκχυλίσματα. Τα δείγματα παρασκευάστηκαν με την πιο πάνω διαδικασία των πρότυπων ουσιών, με συγκέντρωση προς ανάλυση 0,01 mg/mL .

Πίνακας 5-4 : Παράμετροι λειτουργίας στο UHPLC/LTQ-Orbitrap XL

Παράμετροι	Τιμές
Πλήρης σάρωση (full scan)	Εύρος μαζών 100-1000 Da
Δυναμικό πηγής (spray voltage)	3,2 kV
Διακριτική ικανότητα (resolution)	60000 FWHM
Δυναμικό μεταλλικού τριχοειδούς (capillary voltage)	40 V
Δυναμικό δακτυλιοειδούς φακού (tube lens)	110 V
Ροή αερίου περιβάλλουσας ροής (sheath gas)	60 au
Ροή αερίου αποδιαλύτωσης (auxiliary gas flow)	20 au
Θερμοκρασία μεταλλικού τριχοειδούς (capillary temperature)	350 °C
Δυναμικό πρόσκρουσης (collision energy)	35 eV
Σχετικό σφάλμα μάζας m/z (mass tolerance)	<5 ppm
Λογισμικό πακέτο επεξεργασίας δεδομένων	Thermo Xcalibur 2.1

5.5. Έλεγχος της βιολογικής (κυτταροτοξικής) δράσης *in vitro*

Ελέγχθηκαν ως προς την κυτταροτοξική τους δραστηριότητα *in vitro*, τα *SP*, *SRI*, *SSc1.*, και *CS* και για τους τρεις διαλύτες (μεθανόλη, νερό, εξάνιο), σύνολο δειγμάτων δώδεκα.

5.5.1. Κυτταρικές Σειρές

Οι καρκινικές σειρές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν HeLa (cervix adenocarcinoma), A549 (non-small cell lung carcinoma) και LS174 (human colon carcinoma) και η σειρά MRC-5 (φυσιολογικά κύτταρα ανθρώπινου ιστού πνεύμονα), οι οποίες ελήφθησαν από την American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA).

Ως πρότυπο ελέγχου χρησιμοποιήθηκε το cis-διαμινοδιχλωρολευκόχρυσου (cis-Diamminadichloroplatinum / *cis-platin*), ένα απ' τα πιο συνηθισμένα φάρμακα χημειοθεραπείας

Η καλλιέργεια των καρκινικών σειρών έγινε στο θρεπτικό μέσο RPMI-1640, συμπληρωμένο με 10% θερμο-απενεργοποιημένο (56 °C) ορό εμβρύου μόσχου (Fetal Bovine Serum / FBS), L-γλουταμίνη (3 mmol / L) και στρεπτομυκίνη (100 mg / mL), πενικιλίνη (100 IU / mL), και 25 mmol / L HEPES (2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazinyl] ethanesulfonic acid) σε pH 7.2 το οποίο ρυθμίστηκε με διττανθρακικό διάλυμα. Τα κύτταρα αναπτύχθηκαν σε υγροποιημένη ατμόσφαιρα 95% αέρα και 5% CO₂ στους 37 °C.

Χειρισμός κυτταρικών σειρών:

Για τα στοκ διαλύματα (100 mg / mL) των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε θρεπτικό υλικό RPMI 1640, με το οποίο αραιώθηκε στις απαιτούμενες συγκεντρώσεις των διαλυμάτων εργασίας. Οι κυτταρικές σειρές HeLa (2000 κύτταρα ανά θέση), LS174 (7000 κύτταρα ανά θέση), A549 (5000 κύτταρα ανά θέση) και MRC-5 (5000 κύτταρα ανά θέση) εμβολιάστηκαν σε πλάκες μικρο - τιτλοδότησης 96 θέσεων και 24 ώρες αργότερα, μετά την κυτταρική προσκόλληση, προστέθηκαν πέντε διαφορετικές συγκεντρώσεις των δειγμάτων (φυτικά εκχυλίσματα) που ελέγχθηκαν.

Οι τελικές συγκεντρώσεις των δειγμάτων που εφαρμόστηκαν σε κύτταρα στόχους ήταν 200 / 100 / 50 / 25 / 12,5 μg / mL, εκτός από τις θέσεις (κυψελίδες) ελέγχου (control wells) στις οποίες προστέθηκε μόνο θρεπτικό μέσο. Το θρεπτικό μέσο ήταν RPMI-1640 συμπληρωμένο με L-γλουταμίνη(3 mmol / L), στρεπτομυκίνη (100 mg / mL), πενικιλίνη (100 IU / mL), 10% απενεργοποιημένο με θέρμανση (56 °C) ορό εμβρύου μόσχου (Fetal Bovine Serum / FBS) και 25 mmol / L HEPES (2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazinyl] ethanesulfonic acid) και ρυθμίστηκε σε pH 7,2 με διττανθρακικό διάλυμα. Οι καλλιέργειες επώαστηκαν για 72 ώρες.

5.5.2. Προσδιορισμός των επιζώντων κυττάρων με δοκιμή 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)

Ο προσδιορισμός των επιζώντων κυττάρων με δοκιμή MTT στηρίζεται στη μεταβολική αναγωγή της MTT, υδατοδιαλυτής χρωστική κίτρινου χρώματος, η οποία ανάγεται από τα ζωντανά κύτταρα σε μια μώβ φορμαζάνη, αδιάλυτη σε υδατικά διαλύματα. Η MTT προστίθεται 72 ώρες μετά την έκθεση των κυττάρων στα εκχυλίσματα, τα οποία ελέγχονται ως προς την κυτταροτοξικότητά τους [7] [8] [9].

Σε κάθε κυψελίδα προστέθηκαν 20 μl διαλύματος 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (5 mg / mL phosphate-buffered saline, PBS). Τα δείγματα επώαστηκαν για περισσότερες από 4 ώρες στους 37 °C σε 5% CO₂ και υγροποιημένη ατμόσφαιρα. Στο διάστημα αυτό η MTT ανάγεται από τα επιζώντα κύτταρα σε μία αδιάλυτη μωβ φορμαζάνη. Για τη διαλυτοποίησή της προστίθενται 100 μl από 10% sodium dodecyl sulfate (SDS). Μετά από 24 ώρες μετρήθηκε η οπτική πυκνότητα²⁶ με το μετρητή μικροπλακιδίων ELIZA (Thermo Fisher Scientific Inc., Australia) στα 570 nm.

Για να υπολογιστεί η αναστολή των ζωντανών κυττάρων (%) διαιρέθηκε η οπτική πυκνότητα των δειγμάτων με την οπτική πυκνότητα του control (η ανάπτυξη των κυττάρων έγινε μόνο σε θρεπτικό μέσο) και πολλαπλασιάστηκε επί τοις εκατό.

Ως IC₅₀ ορίστηκε η συγκέντρωση του δείγματος σε μg/mL που επιφέρει αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων κατά 50%. Τα αποτελέσματα συγκρίνονται με τα ανάλογα του cis -διαμινοδιχλωρολευκόχρυσου (cis-platin). Πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις πειραμάτων (n=3).

²⁶ απορρόφηση

5.6. Βιβλιογραφικές Αναφορές

Ξενόγλωσσες Βιβλιογραφικές Αναφορές

- [1] Adedapo A. A., Jimoh F. O., Afolayan A. J., & Masika P. J. (2009). Antioxidant Properties of the Methanol Extracts of the Leaves and Stems of *Celtis africana*. *Rec. Nat. Prod.*, 3(1), 23-31.
- [2] Ordon˜ez, A. A. L., Gomez, J. D., Vattuone, M. A., & Isla, M. I. (2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chemistry*, 97, 452–458.
- [3] Wolfe, K., Wu, X., & Liu, R. H. (2003). Antioxidant Activity of Apple Peels. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 609-614.
- [4] Choi J. Y., Park C. S., Kim D. J., Cho M. H., Jin B. K., Pie J. E., Chung W. G. (2002) Prevention of nitric oxide-mediated 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced Parkinson's disease in mice by tea phenolic epigallocatechin 3-gallate. *Neurotoxicology*, 23(3), 367-374.
- [5] Papageorgiou V., Gardeli C., Mallouchos A., Papaioannou M, Komaitis M. (2008), Variation of the Chemical Profile and Antioxidant Behavior of *Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia fruticosa* Miller Grown in Greece, *J. Agric. Food Chem.*, 56, 7254–7264.
- [6] Kovala-Demertzi D., Hadjipavloy-Litina D. Primikiria A., Staniskkaa M., Kotogloua C. and Demertzis M. (2009). Anti-Inflammatory, Antiproliferative and Radical-Scavenging Activities of Tolfenamic Acid and its Metal Complexes, *Chemistry & Biodiversity*, Vol 6.
- [7] Mosmann T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J Immunol Methods* p.55-63.
- [8] Ohno M and Abe T. (1991). Rapid colorimetric assay for the quantification of leukemia inhibitory factor (LIF) and interleukin-6 (IL-6), *J Immunol Methods* 145(1-2), 199-203.
- [9] Ušjak L, Petrović S, Drobac M, Soković M, Stanojković T, Ćirić A, Niketić M. (2017). Essential oils of three cow parsnips - composition and activity against nosocomial and foodborne pathogens and food contaminants, *Food Funct.* 8(1):278-290.

Διαδικτυακές Αναζητήσεις

- [1] http://www.emusses.gr/index.php?page=shop.product_details&product_id=2509&flypage=flypage.tpl&pop=0&manufacturer_id=79&vmcchk=1&option=com_virtuemart&Itemid=64

*6^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ -
ΣΥΖΗΤΗΣΗ*

6.1. Εκχύλιση

Για όλα τα δείγματα υπολογίστηκε η % απόδοση της εκχύλισης (A%) με το τύπο:

$$A\% (w/w) = (m_{\text{τελική}} / m_{\text{αρχική}}) * 100$$

Όπου $m_{\text{τελική}}$: η μάζα επί ξηρού του εκχυλίσματος, $m_{\text{αρχική}}$: η αρχική μάζα του προς εκχύλιση φυτικού υλικού.

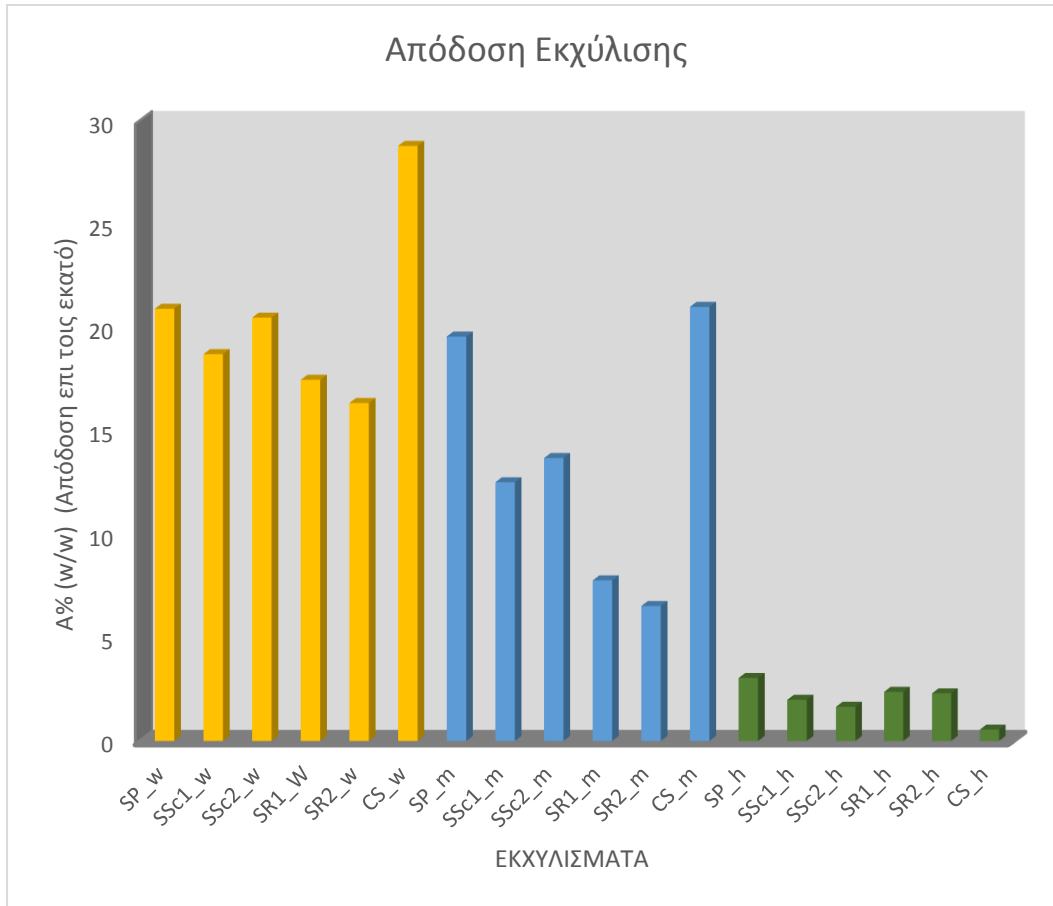
Για όλα τα φυτικά είδη η επί τοις εκατό απόδοση της εκχύλισης, βρέθηκε υψηλότερη στα υδατικά εκχυλίσματα, ακολουθούν τα μεθανολικά και πολύ μικρότερη στα εξανικά. Μεταξύ των φυτικών ειδών, το *CS* παρουσιάζει μεγαλύτερη απόδοση έναντι των taxa *Sideritis* για τα υδατικά και μεθανολικά εκχυλίσματα, ενώ παρουσιάζει τη μικρότερη απόδοση στα εξανικά εκχυλίσματα. Μεταξύ των taxa *Sideritis* τα αποτελέσματα είναι παραπλήσια ανά διαλύτη, το *SP* βρέθηκε να έχει την υψηλότερη επί τοις εκατό απόδοση της εκχύλισης και στους τρεις διαλύτες.

Τα αποτελέσματα ως τάση επιβεβαιώνονται από τη βιβλιογραφία, καθώς προκύπτει ότι από τους πολικούς διαλύτες τα υδατικά εκχυλίσματα δίνουν μεγαλύτερες αποδόσεις έναντι των μεθανολικών, ενώ οι λιγότερο πολικοί διαλύτες δίνουν μικρότερες αποδόσεις.

Το υβριδίο *S. scardica* x *S. syriaca* για μεθανολικό εκχύλισμα έδωσε αποδόσεις 11,7 / 12 / 15% για αναλογία φυτικού υλικού 1:15, 1:30, 1:50 αντίστοιχα, ενώ υδατικό εκχύλισμα έδωσε αποδόσεις 19,8% & 19,7% για έγχυση και βράσιμο αντίστοιχα [1].

Διαφορετικά είδη τσαγιού (*C. Sinensis*) εκχυλίστηκαν με ζεστό νερό, μεθανόλη και οξικό αιθυλεστέρα έδωσαν εμφανώς υψηλότερες αποδόσεις στα υδατικά εκχυλίσματα ($30,56 \pm 5,06\%$) από τα μεθανολικά εκχυλίσματα ($14,53 \pm 8,67\%$) και τέλος τα εκχυλίσματα με οξικό αιθυλεστέρα ($5,17 \pm 4,38\%$) [2].

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο γράφημα και στον πίνακα που ακολουθούν (γραφ. 6-1 & πιν. 6-1):



Γράφημα 6-1: Απόδοση εκχύλισης επί τοις εκατό SP, SSc1, SSc2, SR1, SR2, :CS, (υδατικό w, μεθανόλη :m, εξάνιο: h).

Πίνακας 6-1 : Συνοπτική παρουσίαση των εκχυλίσεων του φυτικού υλικού

a/a	Φυτικό Υλικό	Μέθοδος Εκχύλισης	Απόδοση (A%) (w/w) Εκχυλισμάτων mean ± SD (n = 3)	Χρώμα
Διαλύτης νερό * (120 mL)				
1	SP	Βρασμός για 5 min.	20,88 ± 2,30	κίτρινο, υφή πούδρας
2	SSc1		18,69 ± 1,55	κίτρινο, υφή πούδρας
3	SSc2		20,46 ± 1,48	κίτρινο, υφή πούδρας
4	SR1		17,45 ± 1,34	κίτρινο, υφή πούδρας
5	SR2		16,33 ± 1,35	κίτρινο, υφή πούδρας
6	CS		28,75 ± 0,18	μπεζ άμμου
Διαλύτης μεθανόλη ** (120 mL)				
7	SP	Θερμοκρασία Δωματίου (R.T) 2X24 ώρες ανάδευση	19,54 ± 2,42	σκούρο πράσινο, βελούδινη υφή
8	SSc1		12,50 ± 2,47	ανοικτό πράσινο, βελούδινη υφή
9	SSc2		13,67 ± 1,94	σκούρο πράσινο, κολλώδης ουσία
10	SR1		7,76 ± 1,23	πολύ σκούρο πράσινο, κολλώδης ουσία
11	SR2		6,52 ± 0,80	καφέ, υφή κρυσταλλική
12	CS		20,98 ± 2,16	σκούρο πράσινο - λαδί
Διαλύτης εξάνιο *** (120 mL)				
13	SP	Θερμοκρασία Δωματίου (R.T) 2X24 ώρες ανάδευση	3,05 ± 0,28	ανοικτό πράσινο, βελούδινη υφή, ελάχιστα κολλώδης
14	SSc1		1,99 ± 1,15	σκούρο πράσινο με ελαφρά κίτρινη απόχρωση, κολλώδης ουσία
15	SSc2		1,65 ± 0,21	σκούρο πράσινο, κολλώδης ουσία
16	SR1		2,38 ± 0,60	σκούρο πράσινο, κολλώδης ουσία
17	SR2		2,30 ± 0,85	Ανοικτό μπεζ (το πιο ανοικτό από όλα)
18	CS		0,55 ± 0,20	ανοικτό πράσινο, βελούδινη υφή, ελάχιστα κολλώδης

Για κάθε εκχύλιση χρησιμοποιήθηκε ποσότητα αντίστοιχου φυτικού υλικού 8 γραμμαρίων

* Λυοφιλοποίηση για τη λήψη ξηρού εκχυλίσματος

**Εξάτμιση με περιστροφικό εξατμιστήρα για τη λήψη ξηρού εκχυλίσματος

*** Εξάτμιση σε Θερμοκρασία Δωματίου για τη λήψη ξηρού εκχυλίσματος

6.2. Αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων

6.2.1. Ολικά φλαβονοειδή

Οι τιμές των ολικών φλαβονοειδών για τα taxa *Sideritis* κυμάνθηκαν από 23,11 – 89,35 mg EQ / gr DW εκχυλίσματος. Τα μεθανολικά εκχυλίσματα παρουσίασαν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή με την ακόλουθη σειρά: *SSc1* (89,35 mg EQ / gr DW) > *SSc2* (87,06 mg EQ / gr DW) > *SR1* (80,63 mg EQ / gr DW) > *SP* (63,90 mg EQ/gr DW) > *SR2* (54,15 mg EQ / gr DW). Στα υδατικά εκχυλίσματα η περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή κατά φθίνουσα σειρά έχει ως ακολούθως: *SP* (50,63 mg EQ / gr DW) > *SSc1* (42,88 mg EQ / gr DW) > *SSc2* (33,41 mg EQ / gr DW) > *SR1* (33,13 mg EQ / gr DW) > *SR2* (32,44 mg EQ / gr DW). Τέλος, τα εξανικά εκχυλίσματα εμφάνισαν τις μικρότερες τιμές με την ακόλουθη φθίνουσα σειρά: *SP* (31,81 mg EQ / gr DW) > *SSc1* (28,92 mg EQ / gr DW) > *SSc2* (27,97 mg EQ / gr DW) > *SR1* (25,80 mg EQ / gr DW) > *SR2* (23,11 mg EQ / gr DW). Η περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή για το μεθανολικό εκχύλισμα του *CS* είναι 40,13 mg EQ / gr DW και είναι η χαμηλότερη τιμή συγκρινόμενη με τις τιμές των μεθανολικών εκχυλισμάτων όλων των μελετώμενων taxa *Sideritis*.

Η περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή του υδατικού εκχυλίσματος του *CS* είναι 44,28 mg EQ / gr DW και είναι υψηλότερη όλων των μελετώμενων taxa *Sideritis* πλην του *SP*.

Το εξανικό εκχύλισμα του *CS* υπερέχει σε διπλάσια τουλάχιστον περιεκτικότητα ολικών φλαβονοειδών έναντι όλων των εξανικών εκχυλισμάτων των μελετώμενων taxa *Sideritis*.

Οι τιμές δεν μπορούν να συγκριθούν με τη βιβλιογραφία καθώς δε βρέθηκαν μετρήσεις φλαβονοειδών για τα μελετώμενα είδη, όπως επίσης βρέθηκαν τιμές εκφρασμένες σε ισοδύναμα ρουτίνης.

Για το υδατικό εκχύλισμα του taxon *SP* το αποτέλεσμα είναι παραπλήσιο από τη βιβλιογραφία [3].

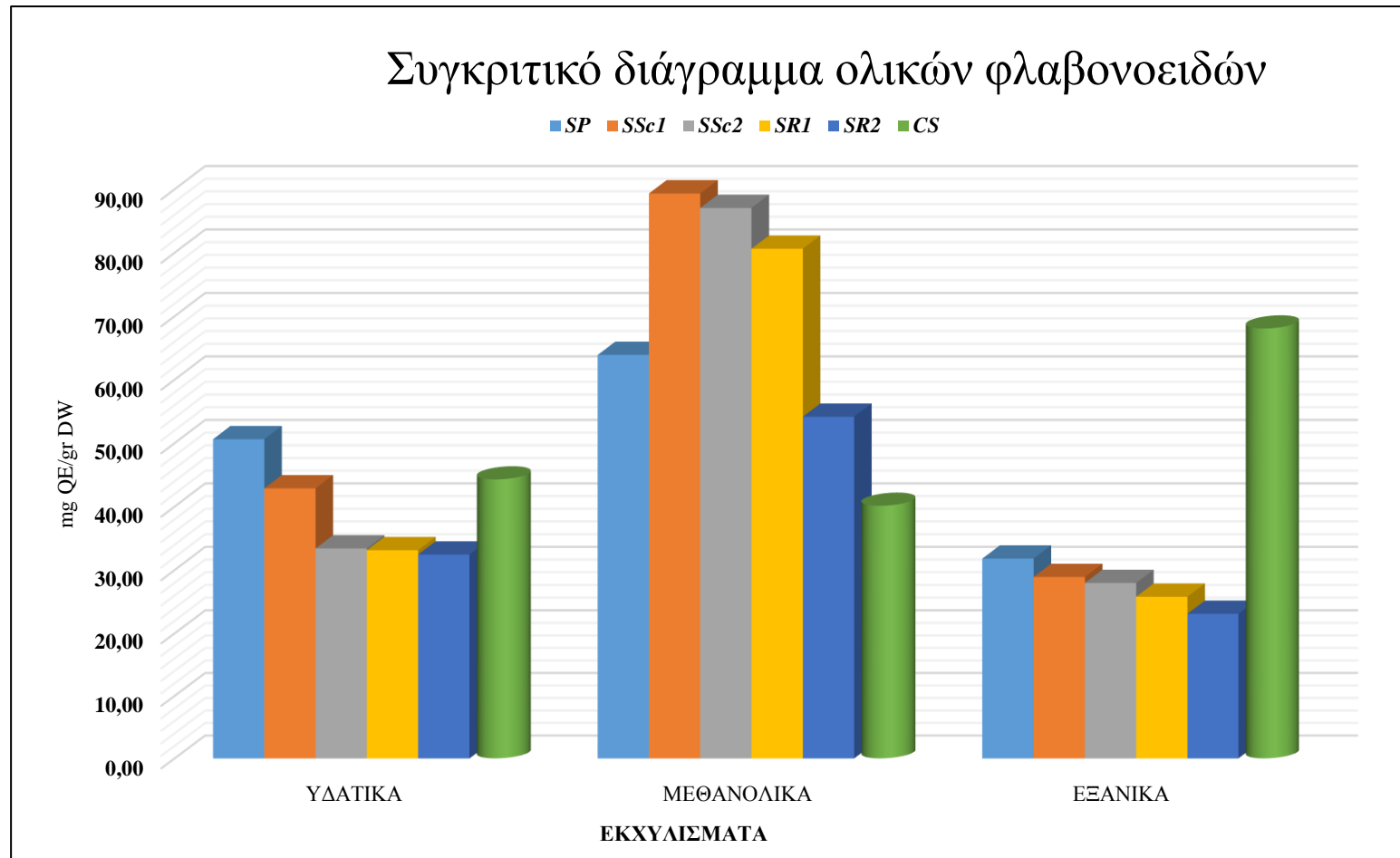
Από τη βιβλιογραφία, επίσης το είδος *Sideritis montana L* εμφανίζει διαφορετική περιεκτικότητα ολικών φλαβονοειδών για διαφορετικής πολικότητας διαλύτες, με τη μικρότερη τιμή να εμφανίζεται στο λιγότερο πολικό διαλύτη [4]. Η τάση αυτή επιβεβαιώνει τα αποτελέσματα, καθώς τα εξανικά εκχυλίσματα των μελετώμενων taxa *Sideritis* εμφανίζουν τις χαμηλότερες τιμές.

Η περιεκτικότητα του πράσινου τσαγιού *C. sinensis (green tea)* σε ολικά φλαβονοειδή έχει μελετηθεί εκτενώς, και οι τιμές που έχουν αποδοθεί ποικίλουν, γεγονός που οφείλεται σε πολλούς παράγοντες. Τόσο η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ολικά φλαβονοειδή αλλά και η αντιοξειδωτική ικανότητα εξαρτάται από τη γεωγραφική περιοχή ανάπτυξης του φυτού, την εποχή συλλογής, τις συνθήκες αποθήκευσης [5]. Πέρα όμως αυτών των παραγόντων, τα αποτελέσματα ποικίλουν και εξαρτώνται από την πολικότητα των διαλυτών που γίνονται οι εκχυλίσεις, καθώς και τα εκχυλιζόμενα μέρη. Υψηλότερη περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή εμφανίζονται σε χαμηλής πολικότητας διαλύτες [5] [6]. Επίσης, από τη βιβλιογραφία επιβεβαιώνονται τα αποτελέσματα όσον αφορά την περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή και διαλύτη εκχύλισης, καθώς παρουσιάζει τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα το εκχύλισμα με λιγότερο πολικό διαλύτη (εξάνιο), ακολουθεί το υδατικό εκχύλισμα και στη συνέχεια το μεθανολικό [6].

Ο διαλύτης είναι καθοριστικός για την κατηγορία των φλαβονοειδών που θα εκχυλιστούν. Τα λιγότερο πολικά φλαβονοειδή (π.χ. ισοφλαβόνες, φλαβανόνες, φλαβόνες μεθυλιωμένες φλαβόνες, και φλαβονόλες) εκχυλίζονται με χλωροφόρμιο, διχλωρομεθάνιο, διαιθυλαιθέρα, ή οξικό αιθυλεστέρα. Οι γλυκοζίτες-φλαβονοειδών και τα πιο πολικά άγλυκα εκχυλίζονται με αλκοόλες ή μίγματα αλκοόλης νερού. Οι γλυκοζίτες έχουν υψηλή υδατοδιαλυτότητα και εκχυλίζονται στο νερό. Ορισμένοι γλυκοζίτες φλαβανονών και χαλκονών είναι δύσκολο να διαλυθούν σε μεθανόλη, αιθανόλη ή μίγματα αλκοόλης-νερού. Η διαλυτότητα των φλαβονών εξαρτάται από το pH του υδατικού διαλύματος. Οι φλαβαν-3-όλες (κατεχίνες, προανθοκυανιδίνες, και συμπυκνωμένες ταννίνες) εκχυλίζονται απευθείας με νερό. Ωστόσο, η σύνθεση του εκχυλίσματος μεταβάλλεται με το διαλύτη - νερό, μεθανόλη, αιθανόλη, ακετόνη ή οξικό αιθυλεστέρα. Για παράδειγμα, έχει υποστηριχθεί ότι η μεθανόλη είναι ο καλύτερος διαλύτης για κατεχίνες και 70% ακετόνη για προκυανιδίνες. Οι ανθοκυανίνες εκχυλίζονται με μεθανόλη παρουσία οξέος, συνήθως με οξικό οξύ (7%) ή τριφθοροοξικό οξύ (TFA) (3%) [7]

Πίνακας 6-2 : Περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή (TFC / Total Flavonoid Content) εκφρασμένη σε mg ισοδύναμης κερκετίνης (QE)/ gr DW(ξηρής ουσίας εκχυλίσματος) \pm SD (n=3)

ΦΥΤΙΚΑ ΕΙΔΗ	ΥΔΑΤΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ	ΜΕΘΑΝΟΛΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ	ΕΞΑΝΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ
SP	50,63 \pm 1,73	63,90 \pm 7,15	31,81 \pm 4,26
SSc1	42,88 \pm 2,46	89,35 \pm 4,50	28,92 \pm 5,36
SSc2	33,41 \pm 3,21	87,06 \pm 4,55	27,97 \pm 4,62
SRI	33,13 \pm 6,66	80,63 \pm 5,94	25,80 \pm 2,20
SR2	32,44 \pm 4,34	54,15 \pm 3,74	23,11 \pm 4,61
CS	44,28 \pm 2,17	40,13 \pm 2,32	68,06 \pm 3,54



Γράφημα 6-2. : Συγκριτικό διάγραμμα περιεκτικότητας των εκχυλισμάτων σε ολικά φλαβονοειδή, εκφρασμένα σε mg ισοδύναμης κερκετίνης (Equivalents Quercetin) ανά gr ξηρής ουσίας εκχυλίσματος (ομαδοποιημένο κατά διαλύτη) (SP, SSc1, SSc2, SR1, SR2, CS)

6.2.2. Ολικά φαινολικά

Οι τιμές των ολικών φαινολικών για τα taxa *Sideritis* κυμάνθηκαν από 26,33 – 280,24 mg GAE / gr DW εκχυλίσματος. Τα μεθανολικά εκχυλίσματα παρουσίασαν τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά με την ακόλουθη κατά φθίνουσα σειρά *SP* (280,24 mg GAE / gr DW) > *SSc2* (278,26 mg GAE / gr DW) > *SSc1* (268,32 mg GAE / gr DW) > *SR2* (249,52 mg GAE / gr DW) > *SR1* (231,59 mg GAE / gr DW).

Η περιεκτικότητα των υδατικών εκχυλισμάτων για τα μελετώμενα taxa *Sideritis* κυμαίνεται από 188,13 – 214,47 mg GAE / gr DW εκχυλίσματος και έχει ως ακολούθως κατά φθίνουσα σειρά : *SSc2* (214,47 mg GAE / gr DW) > *SSc1* (213,63 mg GAE / gr DW) > *SP* (208,39 mg GAE / gr DW) > *SR2* (190,11 mg GAE / gr DW) > *SR1* (188,13 mg GAE / gr DW).

Για τα εξανικά εκχυλίσματα η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά κυμαίνεται από 26,33 – 41,86 mg GAE / gr DW εκχυλίσματος, κατά φθίνουσα σειρά ως εξής: *SSc2* (41,86 mg GAE / gr DW) > *SP* (41,41 mg GAE / gr DW) > *SSc1* (33,98 mg GAE / gr DW) > *SR1* (30,16 mg GAE / gr DW) > *SR2* (26,33 mg GAE / gr DW).

Από τη βιβλιογραφία (Πίνακας 3.1.) οι τιμές ποικίλουν, για παράδειγμα για αλκοολικά εκχυλίσματα (αιθανόλη 70%) του *S. scardica* κυμαίνονται σε 47,5 – 50,8 mg GAE / gr DW [8] και του *S. scardica Griseb* (αιθανόλη) σε 188,5 mg GAE / gr DW [9]. Αναλύσεις στη Σερβία για μετρήσεις στα είδη *S. scardica*, *S. amasiaca* και *S. serratifolia* φέρουν διαφορετικά αποτελέσματα μεταξύ τους όπως διαπιστώνεται σε σχετικές δημοσιεύσεις [10] [11].

Για τα εκχυλίσματα του *CS* η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά είναι για το μεθανολικό εκχύλισμα 438,38 mg GAE / gr DW, για το υδατικό εκχύλισμα 281,75 mg GAE / gr DW και για το εξανικό εκχύλισμα 130,52 mg GAE / gr DW. Οι τιμές από τη βιβλιογραφία, επίσης ποικίλουν για τους λόγους που αναφέρθηκαν και πιο πάνω. Η τιμή του μεθανολικού

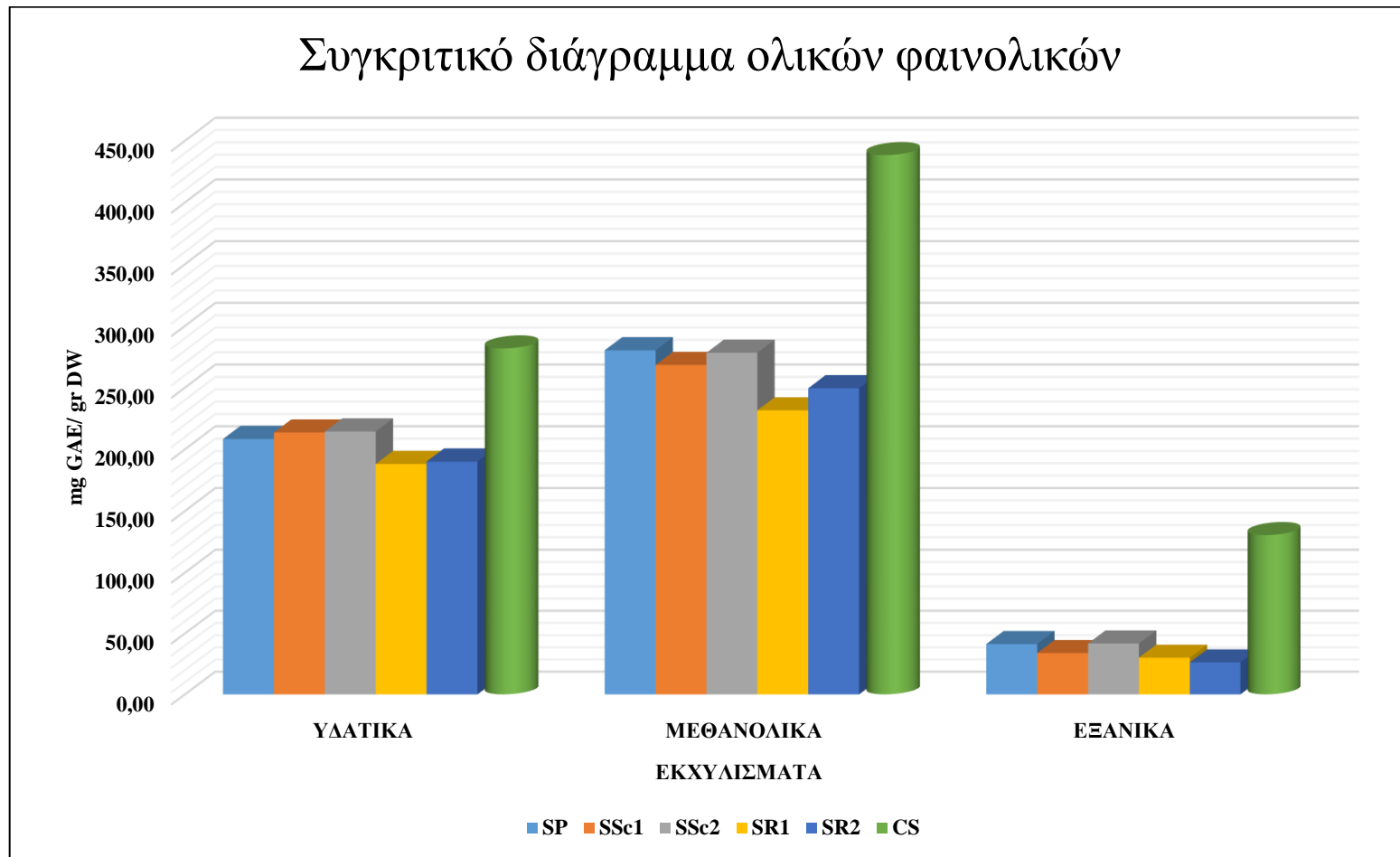
εκχυλίσματος προσεγγίζει ως τάξη μεγέθους την τιμή των Turkmen Erol et al. (2009) για μεθανολικό εκχύλισμα 80%, καθώς και η τιμή του υδατικού εκχυλίσματος αυτή των Chan et al. (2011) [12] [13],[19].

Στο CS η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά βρέθηκε υψηλότερη των taxa *Sideritis* κατά 1,3 & 1,4 φορές στα υδατικά εκχυλίσματα, 1,6 – 1,9 φορές στα μεθανολικά και 3 – 6 φορές στα εξανικά εκχυλίσματα. 1

Από τη βιβλιογραφία οι Atoui et al. (2005) με μετρήσεις τους έδωσαν περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά για μια κούπα τσαγιού (240 mL) σε βραστό νερό από *C. Sinensis* 1216 mg GAE και από *S. syriaca* 88 mg GAE [13].

Πίνακας 6-3 : Περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά (TPC / Total Phenolic Content) εκφρασμένη σε mg ισοδύναμο γαλλικού οξέος (GAE)/ gr DW(ξηρής ουσίας εκχυλίσματος)

ΦΥΤΙΚΑ ΕΙΔΗ	ΥΔΑΤΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ	ΜΕΘΑΝΟΛΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ	ΕΞΑΝΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ
<i>SP</i>	208,39 ± 3,10	280,24 ± 6,17	41,41 ± 4,49
<i>SSc1</i>	213,63 ± 6,15	268,32 ± 3,69	33,98 ± 4,37
<i>SSc2</i>	214,47 ± 3,64	278,26 ± 4,78	41,86 ± 1,96
<i>SRI</i>	188,13 ± 1,40	231,59 ± 4,02	30,16 ± 5,52
<i>SR2</i>	190,11 ± 4,44	249,52 ± 2,38	26,33 ± 2,17
<i>CS</i>	281,75 ± 1,38	438,38 ± 1,20	130,52 ± 3,41



Γράφημα 6-3 : Συγκριτικό διάγραμμα περιεκτικότητας των εκχυλισμάτων σε ολικά φαινολικά εκφρασμένα σε mg ισοδύναμου γαλλικού οξέος (Equivalents Galic Acid) ανά gr ξηρής ουσία εκχυλίματος (ομαδοποιημένο κατά διαλύτη) (SP, SSc1, SSc2, SR1, SR2, CS)

6.2.3. Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη δοκιμή DPPH*

Για τα taxa *Sideritis* που μελετώνται, οι τιμές IC₅₀ (μg / mL) κυμάνθηκαν από 20,04 – 1213,74.

Τα μεθανολικά εκχυλίσματα παρουσίασαν τη χαμηλότερη IC₅₀ όλων με την ακόλουθη φθίνουσα σειρά: *SR1* (24,70 μg / mL) > *SR2* (23,56 μg / mL) > *SSc1* (21,68 μg / mL) > *SSc2* (20,04 μg / mL) > *SP* (17,91 μg / mL).

Ακολουθούν τα υδατικά, κατά φθίνουσα σειρά ως ακολούθως: *SR1* (48,86 μg / mL) > *SR2* (47,27 μg / mL) > *SSc1* (38,38 μg / mL) > *SP* (36,58 μg / mL) > *SSc2* (33,21 μg / mL). Τέλος, τα εξανικά εμφανίζουν πολύ ψηλές τιμές IC₅₀ με επίσης φθίνουσα σειρά ως εξής: *SR1* (1213,74 μg / mL) > *SR2* (1126,89 μg / mL) > *SSc2* (983,10 μg / mL) > *SSc1* (913,96 μg / mL) > *SP* (788,32 μg / mL).

Από τη βιβλιογραφία, επίσης οι τιμές ποικίλουν για τους ίδιους λόγους που αναφέρθηκαν πιο πάνω [3].

Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνονται από τη βιβλιογραφία (Πίνακας 3.1.), ως τάξη μεγέθους κάθε φορά, ανά διαλύτη, καθώς οι μεγαλύτερης πολικότητας διαλύτες εμφανίζουν μικρότερες τιμές IC₅₀, ενώ οι διαλύτες μικρότερης πολικότητας εμφάνισαν πολύ υψηλότερες τιμές IC₅₀.

Οι τιμές IC₅₀ για τις πρότυπες ουσίες είναι οι εξής : Quercetin =7,86 μg / mL, Vitamin C =8,3 μg / mL, Troxol =11,92 μg / mL.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η χαμηλότερη τιμή IC₅₀ αντιστοιχεί στη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση. Συγκρινόμενες με τις τιμές των μετρούμενων πρότυπων ουσιών με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση Vitamin C, Troxol, Quercetin, μπορούμε να χαρακτηρίσουμε τα μεθανολικά και υδατικά εκχυλίσματα μέτριας αντιοξειδωτικής δράσης και τα εξανικά εκχυλίσματα ασθενούς αντιοξειδωτικής δράσης.

Οι μετρούμενες τιμές IC₅₀ του CS για τα εκχυλίσματα μεθανολικό, υδατικό και εξανικό βρέθηκαν να είναι 8,93 μg/mL, 18,24 μg/mL και 414,74 μg/mL αντίστοιχα. Συγκρινόμενες με

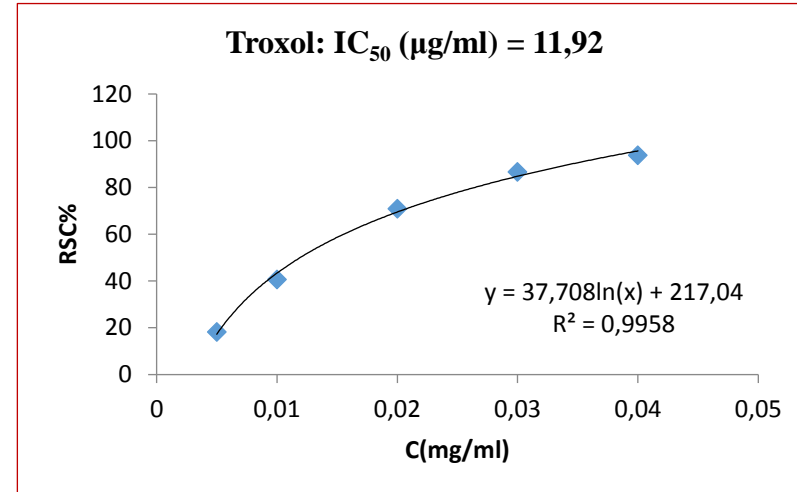
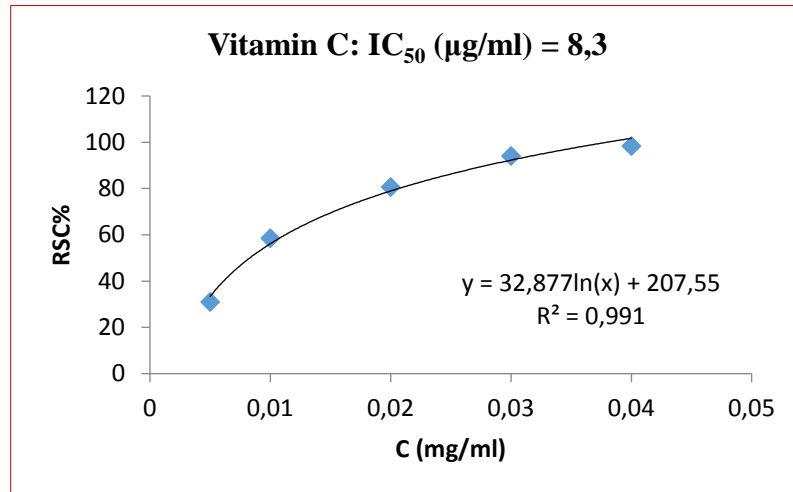
αυτές των πρότυπων, το μεθανολικό εκχύλισμα χαρακτηρίζεται ως υψηλής αντιοξειδωτικής δράσης, καθώς η τιμή IC₅₀ βρέθηκε στα ίδια επίπεδα με τις πρότυπες, το δε υδατικό εκχύλισμα μέτριας αντιοξειδωτικής δράσης και το εξανικό ασθενούς αντιοξειδωτικής δράσης.

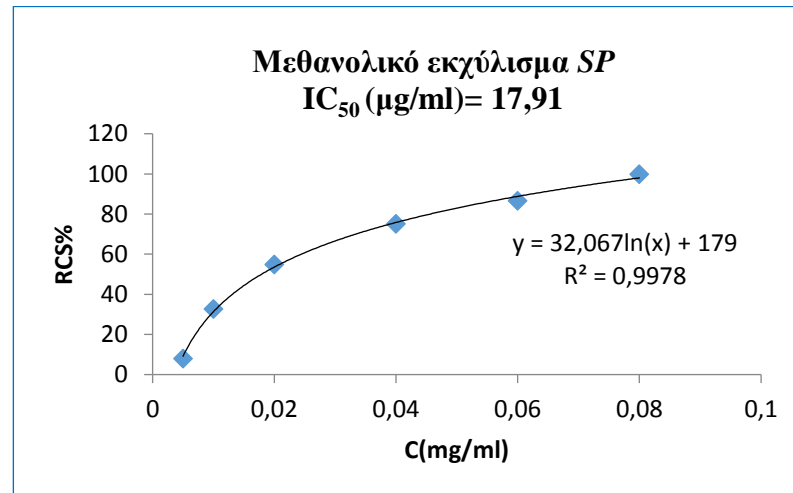
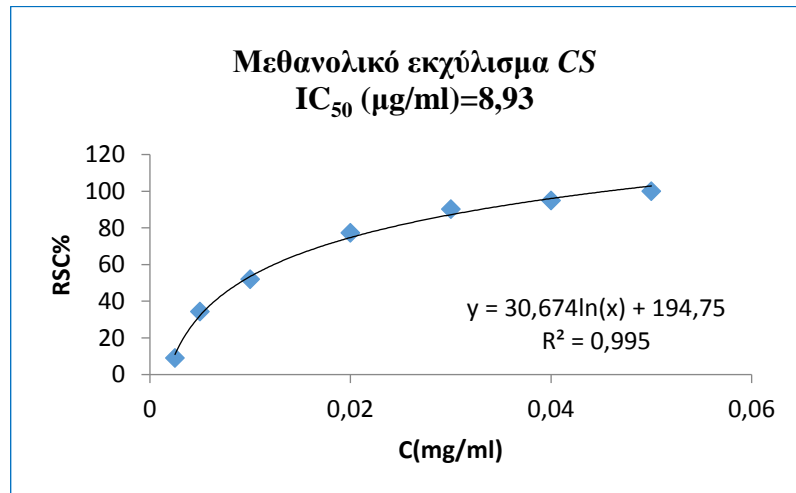
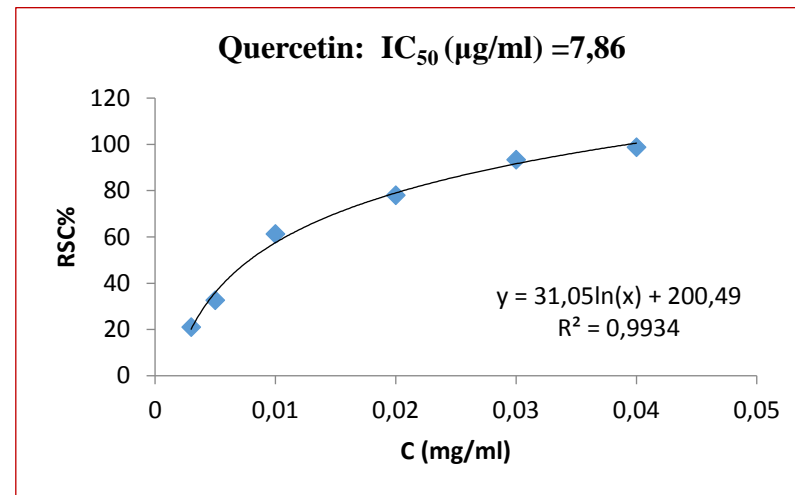
Επιπλέον, συγκρινόμενες οι τιμές IC₅₀ του CS με τις αντίστοιχες τιμές (για τον ίδιο διαλύτη εκχύλισης) των μελετώμενων taxa *Sideritis* είναι μικρότερες κατά δύο, τρεις ακόμη και τέσσερες φορές. Συνεπώς, σε όλους τους διαλύτες και ανά διαλύτη κάθε φορά η αντιοξειδωτική δράση των taxa *Sideritis* είναι μικρότερη της αντιοξειδωτικής δράσης του CS.

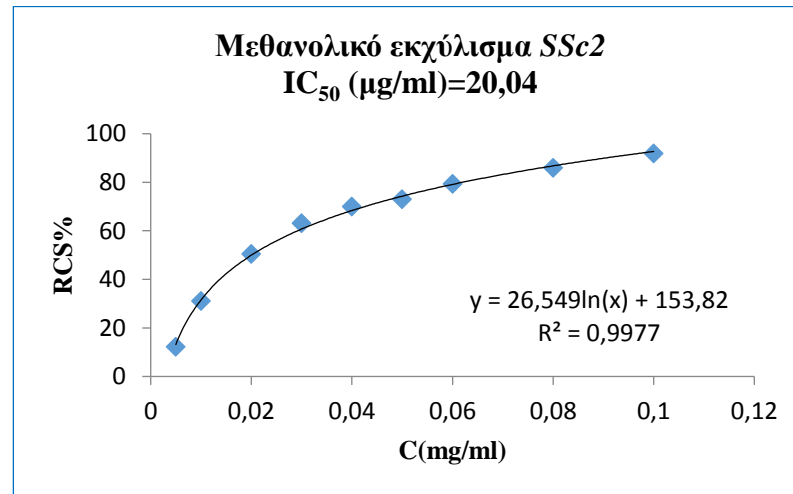
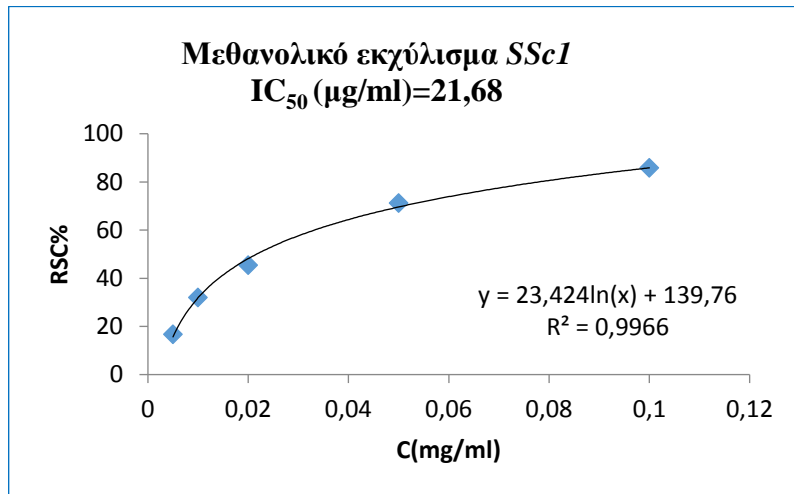
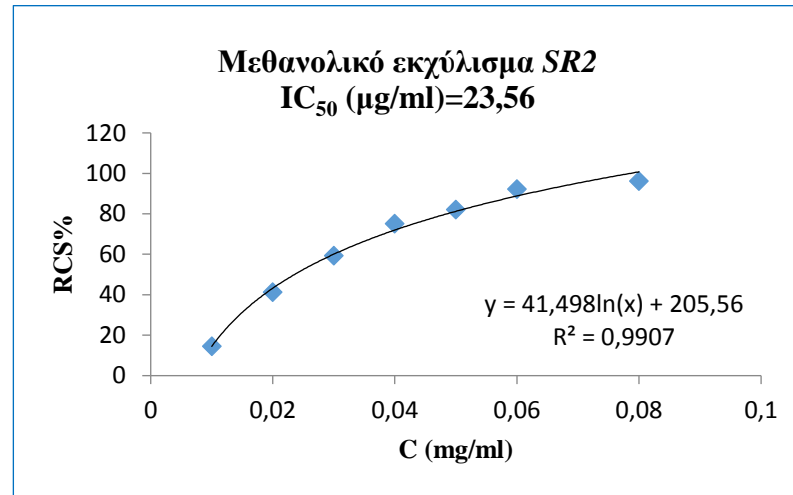
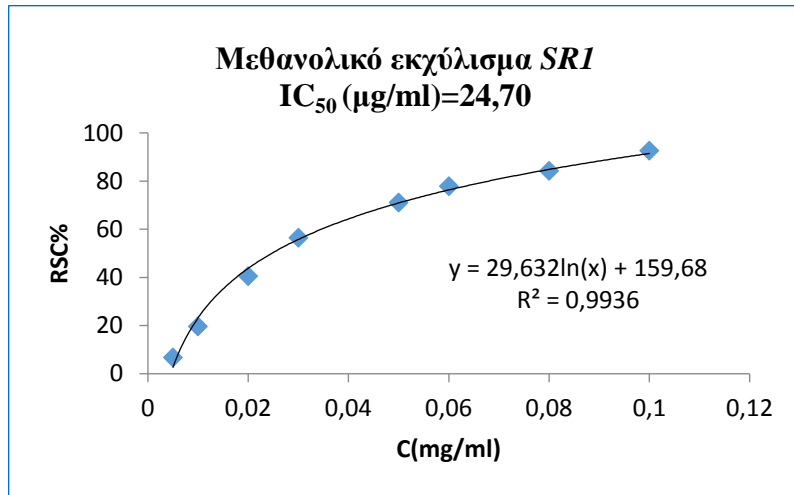
Πίνακας 6-4 : Τιμές IC₅₀ (μg/mL) δοκιμής DPPH, ± SD (n=3)

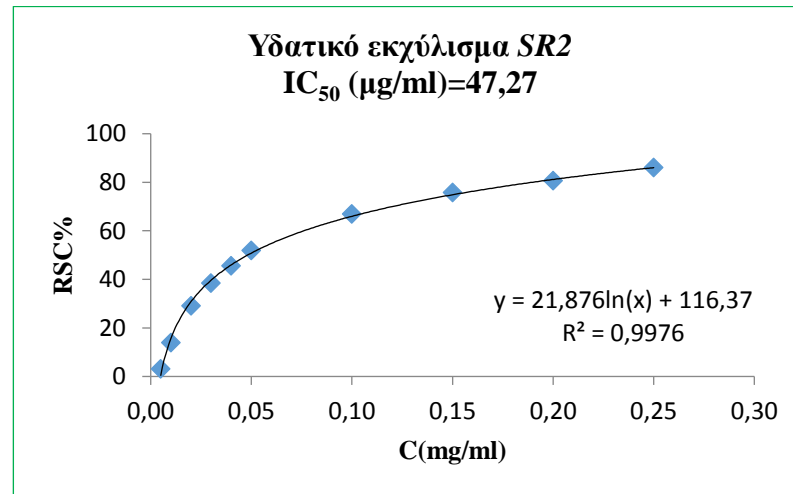
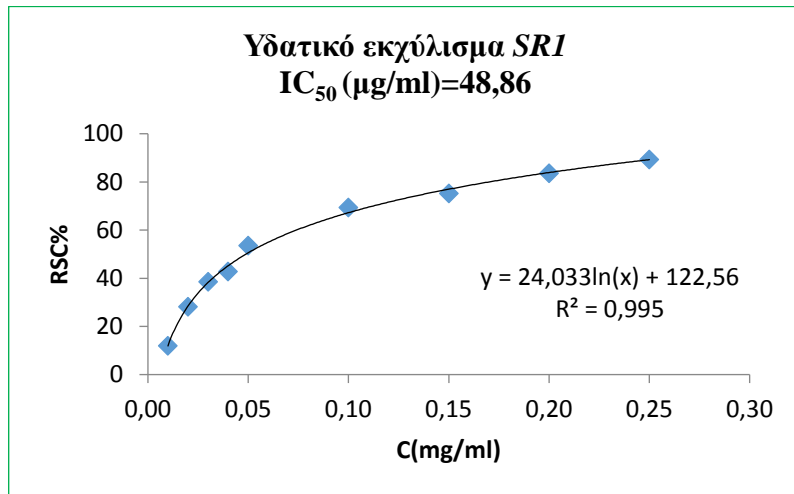
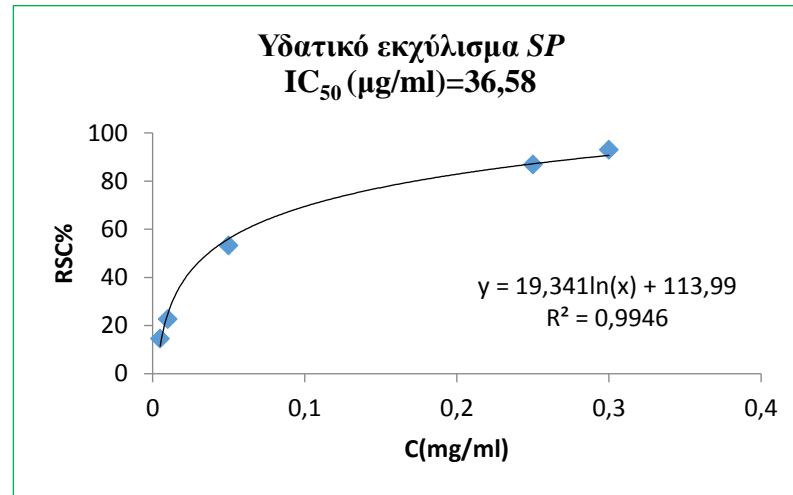
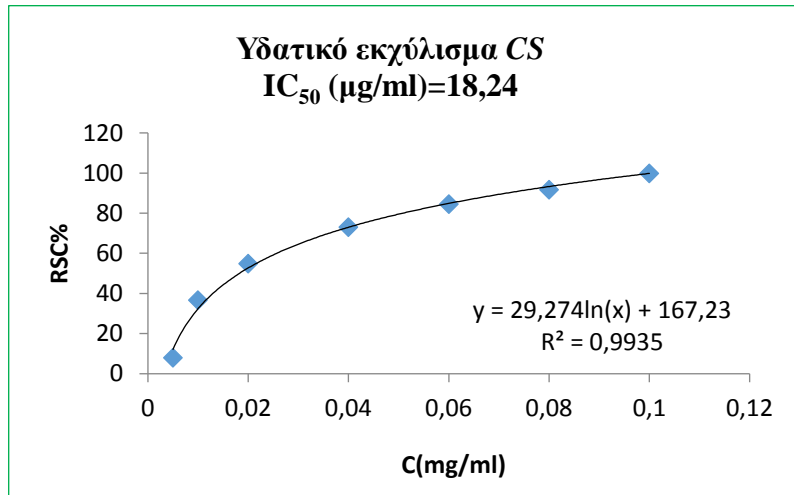
ΦΥΤΙΚΑ ΕΙΔΗ	ΥΔΑΤΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ	ΜΕΘΑΝΟΛΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ	ΕΞΑΝΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ
SP	36,58 ± 4,77	17,91 ± 0,75	788,32 ± 3,47
SSc1	38,38 ± 2,93	21,68 ± 2,38	913,96 ± 2,75
SSc2	33,21 ± 1,99	20,04 ± 0,81	983,10 ± 4,40
SR1	48,86 ± 5,38	24,70 ± 1,24	1213,74 ± 6,80
SR2	47,27 ± 4,57	23,56 ± 1,30	1126,89 ± 2,88
CS	18,24 ± 1,45	8,93 ± 0,45	414,74 ± 1,75
Vitamin C	8,30 ± 0,17		
Troxol	11,92 ± 0,63		
Quercetin	7,86 ± 0,60		

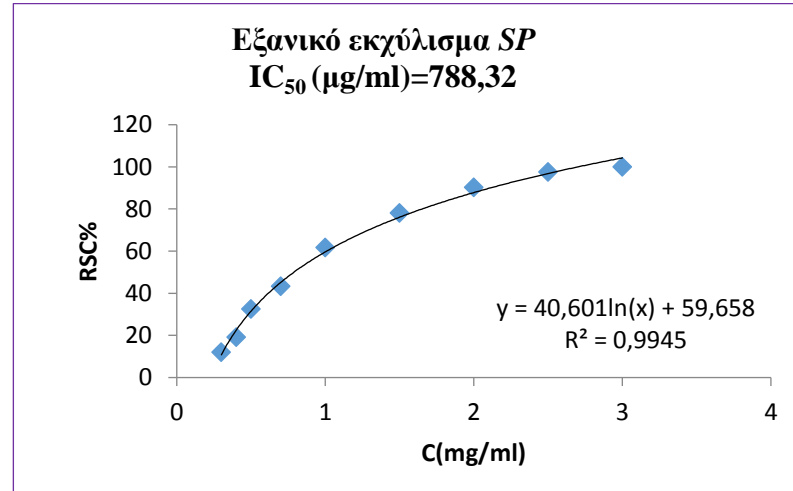
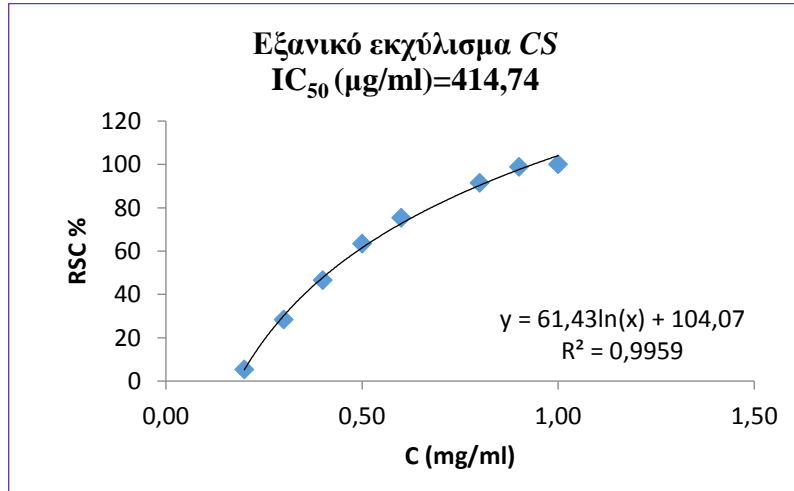
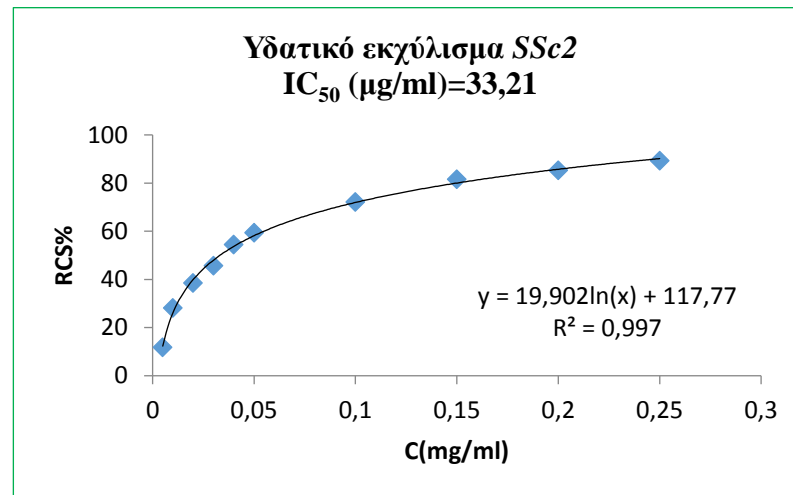
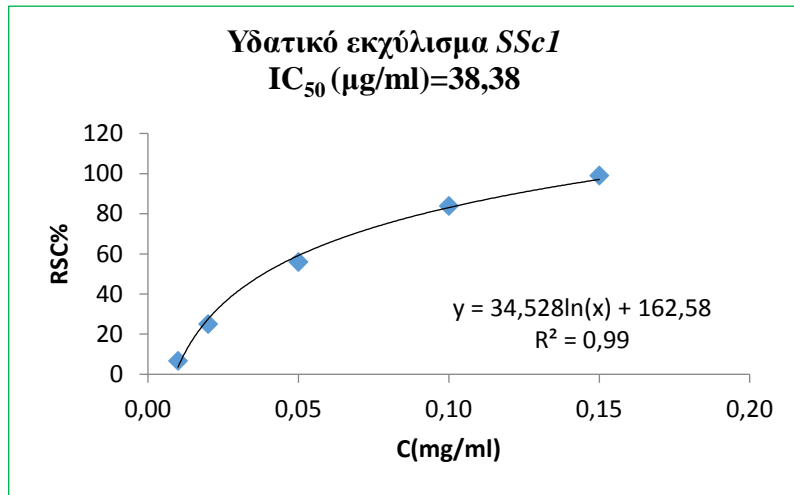
Πίνακας 6-5 : Λογαριθμική Συσχέτιση ποσοστιαίας μείωση της απορρόφησης της DPPH• RSC% (Radical Scavenging Capacity) και της συγκέντρωσης (mg/mL)

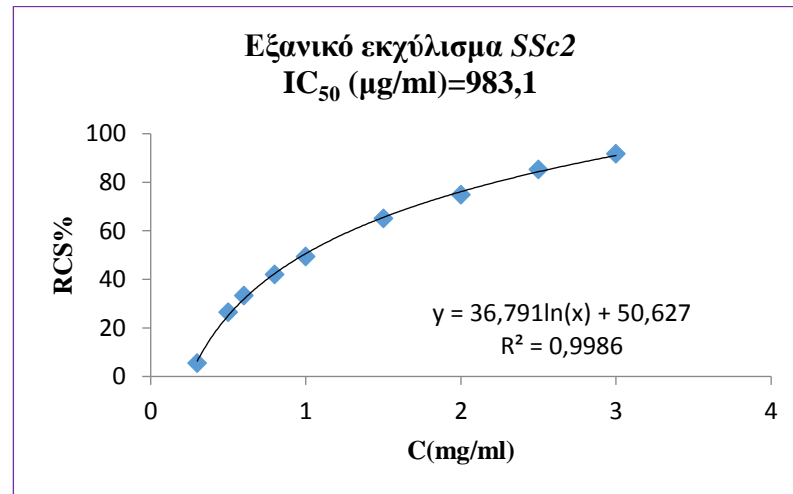
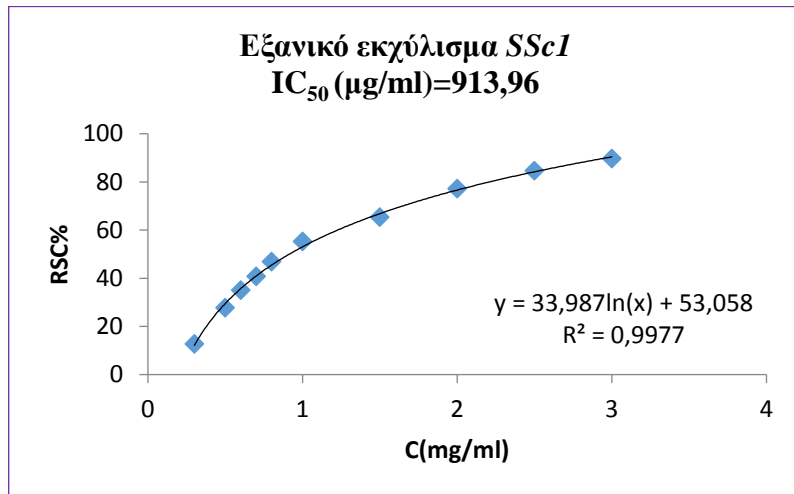
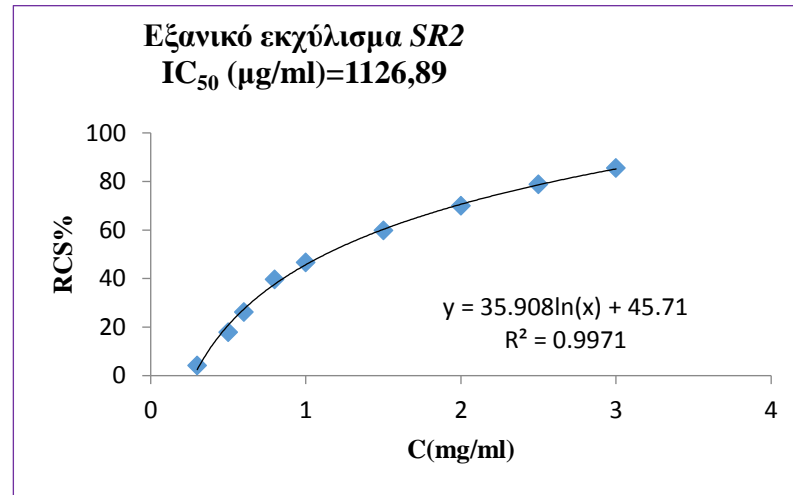
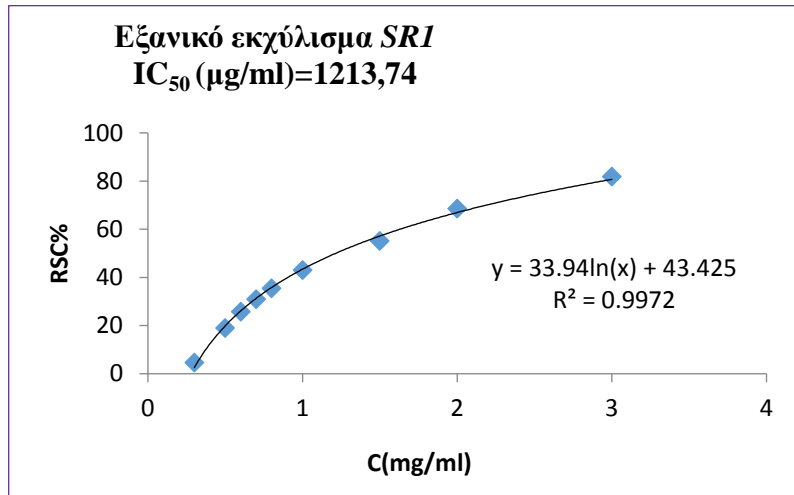


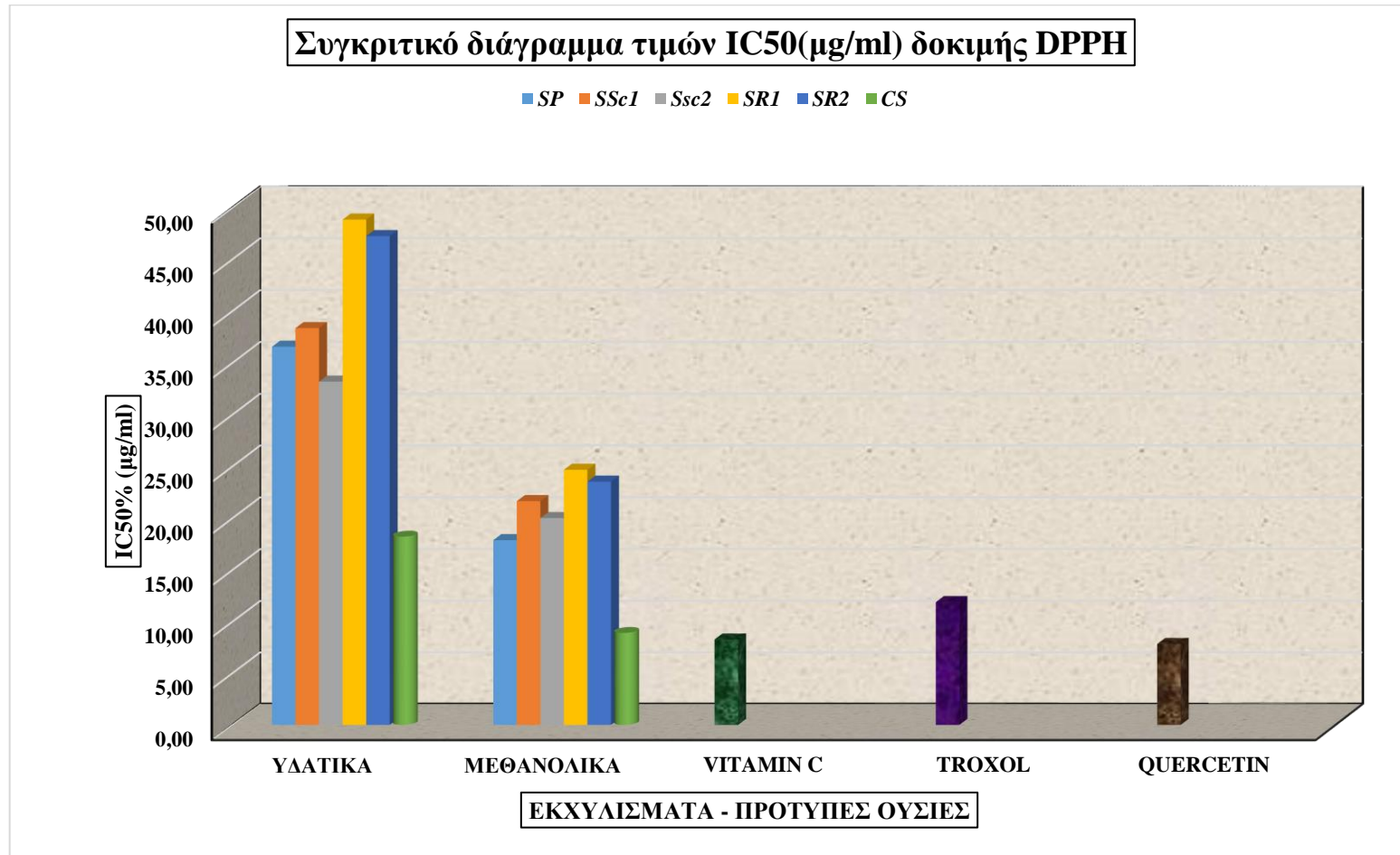












Γράφημα 6-4 : Συγκριτικό διάγραμμα αντιοξειδωτικής δράσης δοκιμής DPPH σε τιμές IC₅₀ (μg/mL) των υδατικών & μεθανολικών εκχυλισμάτων SP, SSc1, SSc2, SRI, SR2, CS (ομαδοποιημένων ανά διαλύτη) και των πρότυπων ουσιών (Vitamin C, Troxol, Quercetin)

Πίνακας 6-6: Συγκεντρωτικός πίνακας περιεκτικότητας ολικών φλαβονοειδών (TFC / Total Flavonoid Content) εκφρασμένη σε mg ισοδύναμης κερκετίνης (QE)/ gr DW(ξηρής ουσίας εκχυλίσματος), ολικών φαινολικών (TPC / Total Phenolic Content) εκφρασμένη σε mg ισοδύναμου γαλλικού οξέος (GAE)/ gr DW(ξηρής ουσίας εκχυλίσματος) και IC₅₀ (μg/mL)δοκιμής DPPH, ± SD (n=3)

ΦΥΤΙΚΑ ΕΙΔΗ - ΠΡΟΤΥΠΕΣ ΟΥΣΙΕΣ	ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ								
	ΥΔΑΤΙΚΑ			ΜΕΘΑΝΟΛΙΚΑ			ΕΞΑΝΙΚΑ		
	TFC ± SD	TPC± SD	IC ₅₀ ± SD	TFC± SD	TPC± SD	IC ₅₀ ± SD	TFC± SD	TPC± SD	IC ₅₀ ± SD
<i>SP</i>	50,63 ± 1,73	208,39 ± 3,10	36,58 ± 4,77	63,90 ± 7,15	280,24 ± 6,17	17,91 ± 0,75	31,81 ± 4,26	41,41 ± 4,49	788,32 ± 3,47
<i>SSc1</i>	42,88 ± 2,46	213,63 ± 6,15	38,38 ± 2,93	89,35 ± 4,50	268,32 ± 3,69	21,68 ± 2,38	28,92 ± 5,36	33,98 ± 4,37	913,96 ± 2,75
<i>SSc2</i>	33,41 ± 3,21	214,47 ± 3,64	33,21 ± 1,99	87,06 ± 4,55	278,26 ± 4,78	20,04 ± 0,81	27,97 ± 4,62	41,86 ± 1,96	983,10 ± 4,40
<i>SRI</i>	33,13 ± 6,66	188,13 ± 1,40	48,86 ± 5,38	80,63 ± 5,94	231,59 ± 4,02	24,70 ± 1,24	25,80 ± 2,20	30,16 ± 5,52	1213,74 ± 6,80
<i>SR2</i>	32,44 ± 4,34	190,11 ± 4,44	47,27 ± 4,57	54,15 ± 3,74	249,52 ± 2,38	23,56 ± 1,30	23,11 ± 4,61	26,33 ± 2,17	1126,89 ± 2,88
<i>CS</i>	44,28 ± 2,17	281,75 ± 1,38	18,24 ± 1,45	40,13 ± 2,32	438,38 ± 1,20	8,93 ± 0,45	68,06 ± 3,54	130,52 ± 3,41	414,74 ± 1,75
Vitamin C	IC ₅₀ = 8,30 ± 0,17								
Troxol	IC ₅₀ = 11,92 ± 0,63								
Quercetin	IC ₅₀ = 7,86 ± 0,60								

6.2.4. Συσχέτιση ολικών φαινολικών – αντιοξειδωτικών

Πολλές έρευνες έχουν αναφερθεί στη γραμμική συσχέτιση μεταξύ των ολικών φαινολικών συστατικών (TPC) και της αντιοξειδωτικής δράσης [15] [16] [17]. Για τα είδη *Sideritis* η αντιοξειδωτική τους δράση συνδέεται με την περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά [18].

Για τα εκχυλίσματα που προέκυψαν από τα μελετώμενα είδη, η γραμμική συσχέτιση των ολικών φαινολικών συστατικών και της αντιοξειδωτικής δράσης με τη δοκιμή DPPH περιγράφεται με το συντελεστή γραμμικής συσχέτισης του Pearson (Correlation coefficient, r), στον πίνακα 7.1 που ακολουθεί αμέσως :

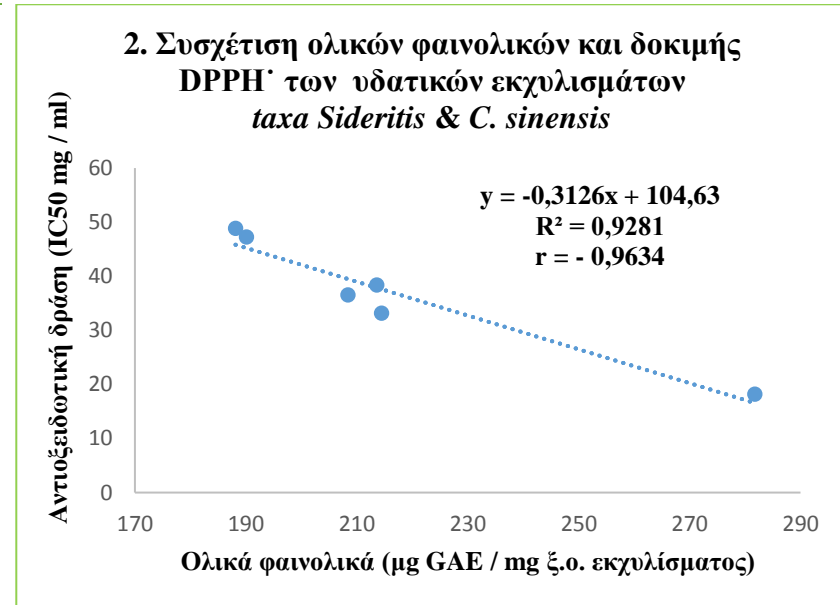
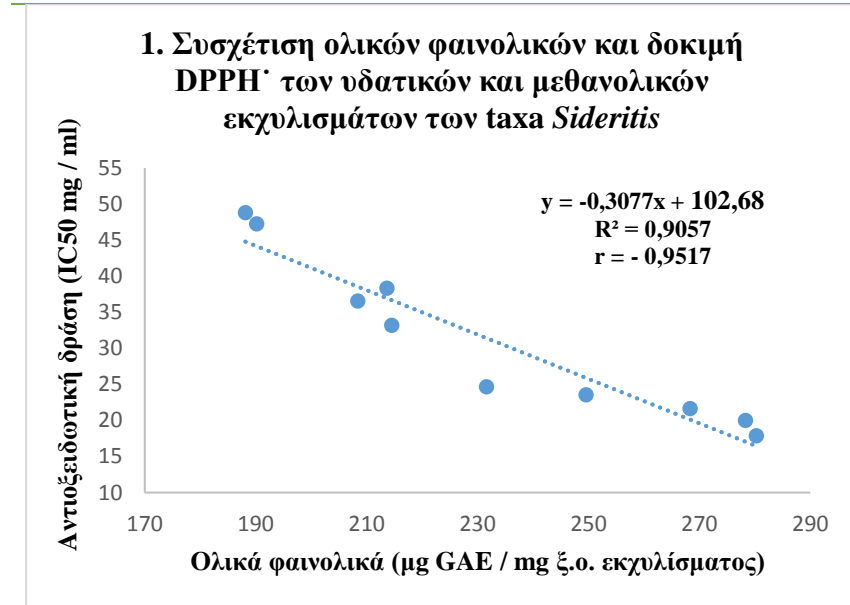
Πίνακας 6-7 : Συσχέτιση περιεκτικότητας σε ολικά φαινολικά και αντιοξειδωτικής δράσης με δοκιμή DPPH

a/a	εκχυλίσματα	n	r (TPC/DPPH)
1	Taxa <i>Sideritis</i> μεθανολικά και υδατικά	10	-0,9517*
2	Taxa <i>Sideritis</i> & <i>C. sinensis</i> υδατικά	6	-0,9634*
3	Taxa <i>Sideritis</i> & <i>C. sinensis</i> μεθανολικά	6	-0,9757*
4	Taxa <i>Sideritis</i> & <i>C. sinensis</i> εξανικά	6	-0,8995**

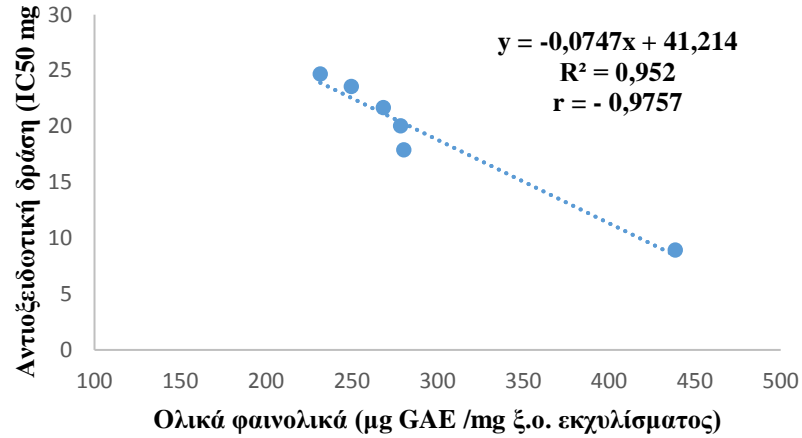
* $p < 0,001$, ** $p < 0,05$

Προκύπτει επομένως υψηλή συσχέτιση μεταξύ των φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων και της αντιοξειδωτικής δράσης με τη δοκιμή DPPH, τόσο για τα εκχυλίσματα των taxa *Sideritis* με πολικούς διαλύτες (μεθανόλη, νερό) αλλά και το σύνολο των εκχυλισμάτων με τους τρεις διαλύτες. Επίσης, υψηλή συσχέτιση προκύπτει και για το σύνολο των εκχυλισμάτων για διαφορετικό διαλύτη.

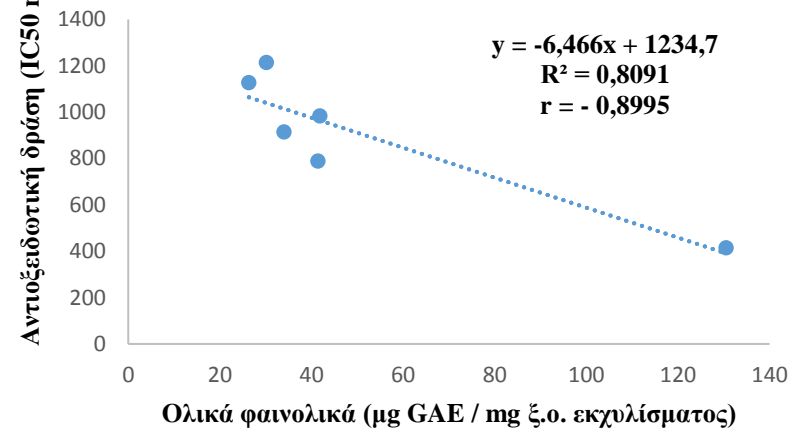
Η αρνητική γραμμική συσχέτιση ερμηνεύεται με το γεγονός ότι η χαμηλότερη τιμή του IC_{50} συνεπάγεται υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Πίνακας 6-8 : Γραμμική απεικόνιση της συσχέτισης ολικών φαινολικών και δοκιμής DPPH εκφρασμένη σε IC₅₀

3. Συσχέτιση ολικών φαινολικών και δοκιμής DPPH[·] των μεθανολικών εκχυλισμάτων *taxa Sideritis* & *C. sinensis*



4. Συσχέτιση ολικών φαινολικών και δοκιμής DPPH[·] των εξανικών εκχυλισμάτων *taxa Sideritis* & *C. sinensis*



6.3. Προσδιορισμός ουσιών με χρήση χρωματογραφίας φασματομετρίας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας UHPLC/LTQ-ORBITRAP XL

Η ταυτοποίηση των πρότυπων ουσιών πραγματοποιήθηκε με βάση την ακριβή μάζα των ψευδο-μοριακών ιόντων $[M-H]^-$ (αρνητικός ιοντισμός), αντιστοιχώντας τη θεωρητική με την πειραματική μάζα (ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών) Πίνακας 6-9:

Πίνακας 6-9. : Χρόνοι κατακράτησης, μοριακή σύσταση, θεωρητικές και πειραματικές μάζες, σχετικό σφάλμα μαζών και συνολικός αριθμός διπλών δεσμών και δακτυλίων (Ring Double Bond, RDB) των ψευδο-μοριακών ιόντων, κατά τον ΘΙ και ΑΙ των πρότυπων ουσιών, στο UHPLC/LTQ-ORBITRAP

A/A	Πρότυπες ουσίες	Μοριακά Ιόντα (Molecular formula) [M-H] ⁻	Χρόνος / min (RT)	Πειραματική μάζα (Detected exact mass)	Θεωρητική μάζα (Theoretical exact mass)	Σφάλμα / ppm	RDB	Φάσμα
Φαινολικά οξέα (Phenolic acids)								
1	protocatechuic acid	C₇H₅O₄	1,45	153,0195	153,0188	1,098	5,5	<p>21 #65 RT: 1.45 AV: 1 NL: 4.84E5 T: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]</p>

2	galic acid	$C_7H_5O_5$	1,47	169,0143	169,0137	-0,275	5,5	<p>14 #66 RT: 1.47 AV: 1 NL: 4.15E5 T: FTMS - p ESI Full ms [100,00-1000,00]</p>
3	d (-) quinic acid	$C_7H_{11}O_6$	1,49	191,0560	191,0556	-0,583	2,5	<p>5 #67 RT: 1.49 AV: 1 NL: 2.99E5 T: FTMS - p ESI Full ms [100,00-1000,00]</p>

4	caffeic acid	$C_9H_7O_4$	1,54	179,0350	179,0345	0,100	6,5	<p>23 #69 RT: 1.54 AV: 1 NL: 1.38E6 T: FTMS - p ESI Full ms [100,00-1000,00]</p> <p>Mass spectrum of caffeic acid. The x-axis represents m/z from 100 to 900, and the y-axis represents relative intensity from 0 to 100. The base peak is at m/z 179.0350. Other labeled peaks include 135.0454, 232.9247, 304.9139, 378.9182, 446.9058, 508.8774, 630.7803, 688.0322, 742.7006, and 826.7041.</p>
5	p-coumaric acid	$C_9H_7O_3$	1,54	163,0401	163,0395	0,200	6,5	<p>20 #69 RT: 1.54 AV: 1 NL: 8.12E5 T: FTMS - p ESI Full ms [100,00-1000,00]</p> <p>Mass spectrum of p-coumaric acid. The x-axis represents m/z from 100 to 900, and the y-axis represents relative intensity from 0 to 100. The base peak is at m/z 163.0401. Other labeled peaks include 186.9735, 242.9434, 304.9136, 372.9009, 440.8888, 508.8763, 620.8563, 688.0342, 749.7719, 803.7092, and 919.6783.</p>

6	vanillic acid	$C_8H_7O_4$	1,54	167,0350	167,0345	0,108	5,5	<p>22 #69 RT: 1.54 AV: 1 NL: 1.37E5 T: FTMS - p ESI Full ms [100,00-1000,00]</p>
7	ferulic acid	$C_{10}H_9O_4$	1,56	193,0505	193,0501	-0,684	6,5	<p>6 #70 RT: 1.56 AV: 1 NL: 7.13E5 T: FTMS - p ESI Full ms [100,00-1000,00]</p>

8	<i>o</i> -coumaric acid	$C_9H_7O_3$	1,64	163,0401	163,0395	0,200	6,5	<p>19 #74 RT: 1.64 AV: 1 NL: 2.96E5 T: FTMS - p ESI Full ms [100,00-1000,00]</p>
Φλαβονοειδή (Flavonoids)								
9	kaempferol	$C_{15}H_{10}O_6$	19,08	285,0402	285,0399	-0,917	11,5	<p>7 #847 RT: 19.08 AV: 1 NL: 3.68E5 T: FTMS - p ESI Full ms [100,00-1000,00]</p>

10	apigenin	$C_{15}H_{10}O_5$	19,45	269,0450	269,0450	-2,032	11,5	<p>8 #868 RT: 19.45 AV: 1 NL: 3.33E6 T: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]</p>
11	chrysin	$C_{15}H_{10}O_4$	23,88	253,0497	253,0501	-3,683	11,5	<p>16 #1061 RT: 23.88 AV: 1 NL: 3.88E6 T: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]</p>

12	quercetin	$C_{15}H_{10}O_7$	25,95	301,0349	301,0349	-1,581	11,5	<p>2 #1158 RT: 25.95 AV: 1 NL: 7.04E4 T: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]</p>
13	genkwanin	$C_{16}H_{11}O$ 5	26,31	283,0609	283,0607	0,800	11,5	<p>17 #1174 RT: 26.31 AV: 1 NL: 1.03E5 T: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]</p>

14	Iuteolin-7-0-glucoside	C₂₁H₁₉O₁₁	31,65	447,0928	447,0928	-1,084	12,5	<p>12 #1412 RT: 31.65 AV: 1 NL: 6.00E4 T: FTMS - p ESI Full ms [100,00-1000,00]</p>
15	Iuteolin	C₁₅H₉O₆	33,57	285,0401	285,0399	-1,267	11,5	<p>9 #1497 RT: 33.57 AV: 1 NL: 1.65E5 T: FTMS - p ESI Full ms [100,00-1000,00]</p>

Φλαβον-3-όλες (κατεχίνες) (Flavan-3-ols (catechins))								
16	(+)-catechin	C₁₅H₁₃O₆	2,00	289,0715	289,0712	-0,904	9,5	<p>3 #90 RT: 2.00 AV: 1 NL: 1.77E5 T: FTMS - p ESI Full ms [100,00-1000,00]</p>
17	(-)-epigallocatechin gallate	C₂₂H₁₇O₁₁	2,61	457,0771	457,0771	-1,169	14,5	<p>1 #117 RT: 2.61 AV: 1 NL: 1.44E4 T: FTMS - p ESI Full ms [100,00-1000,00]</p>

Φαινολεθανοειδών γλυκοζιτών (Phenylethanoid glycosides)								
18	verbascoside	C₂₉H₃₅O₁₅	32,74	623,1976	623,1976	-0,872	12,5	<p>11 #1454 RT: 32.74 AV: 1 NL: 1.04E4 T: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]</p>

<i>Μονοτερπενοειδή (Monoterpenoids)</i>								
19	linalol	C₁₀H₁₃O	34,83	149,0972	149,0967	0,078	4,5	<p>4 #1546 RT: 34.83 AV: 1 NL: 6.36E3 T: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]</p>
20	carvacoI	C₁₀H₁₃O	34,89	149,0972	149,0967	0,078	4,5	<p>10 #1549 RT: 34.89 AV: 1 NL: 4.69E3 T: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]</p>

Τριτερπενοειδή (Triterpenoids)								
21	erythrodioiol	$C_{30}H_{49}O$ 2	11,97	441,3756	441,3733	2,893	6,5	
22	urcolic acid	$C_{30}H_{47}O$ 3	39,40	455,3529	455,3525	-0,370	7,5	

Ο προσδιορισμός των ουσιών στα δείγματα πραγματοποιήθηκε ως εξής:

- Αντιστοιχώντας το χρόνο κατακράτησης (RT) των προτύπων ουσιών, με το χρόνο κατακράτησης (RT) των ουσιών που προσδιορίστηκαν στο εκάστοτε δείγμα (\pm 2,5 %).
- Με βάση την ακριβή μάζα των ψευδο-μοριακών ιόντων, σε σχέση με την πρότυπη ουσία (ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών) και σχετικό σφάλμα μάζας <5ppm.
- Με βάση την ακριβή μάζα των ψευδο-μοριακών ιόντων, (ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών) το σχετικό σφάλμα μάζας <5ppm και βιβλιογραφικές αναφορές.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό, υπολογίστηκαν οι καμπύλες αναφοράς για τις πρότυπες ουσίες σε συγκεντρώσεις μεταξύ 0,0005 – 0,003 mg/mL (Πίνακας 6-9.).

Πίνακας 6-10 Εξισώσεις παλινδρόμησης και αντίστοιχοι συντελεστές προσδιορισμού (r^2) που προέκυψαν από τις καμπύλες αναφοράς για τον υπολογισμό των επιπέδων συγκέντρωσης των εκχυλισμάτων

A/A	Πρότυπες Ουσίες	Εξίσωση Παλινδρόμησης	Συντελεστής Προσδιορισμού (r^2)
Φαινολικά οξέα			
1	protocatechuic acid	$y = 4E+0,8x-6554,6$	0,9989
2	galic acid	$y = 7E+0,8x+268931$	0,9848
3	d (-) quinic acid	$y = 6E+0,8x-84109$	0,9899
4	caffeic acid	$y = 6E+0,8x+12330$	0,9987
5	p-coumaric acid	$y = 3E+0,8x+151070$	0,9883
6	vanillic acid	$y = 1E+0,8x+4316,3$	0,9950
7	ferulic acid	$y = 1E+0,8x+33569$	0,9951
8	o- coumaric acid	$y = 2E+0,8x-9206,6$	0,9968
Φλαβονοειδή			
9	kaempferol	$y = 2E+0,9x-181798$	0,9860
10	apigenin	$y = 6E+0,9x-2E+0,6$	0,9849
11	chrysin	$y = 9E+0,8x-289853$	0,9911
12	quercetin	$y = 2E+0,8x-25693$	0,9971
13	genkwanin	$y = 1E+0,8x+7003,3$	0,9969
14	luteolin-7-0-glucoside	$y = 2E+0,8x+267,2$	0,9959
15	luteolin	$y = 4E+0,8x-30596$	0,9963
Φλανο -3-όλες (Κατεχίνες)			
16	(+)catechin	$y = 1E+0,9x+23260$	0,9982
17	epigallocatechin gallate (EGCG)	$y = 6E+0,7x-30202$	0,9921
Φαινυλεθανοειδείς γλυκοζίτες			
18	verbascoside	$y = 2E+0,8x-3749,1$	0,9908

Πίνακας 6-11 .: Χρόνοι κατακράτησης, μοριακός τύπος, θεωρητικές και πειραματικές μάζες, σχετικό σφάλμα μαζών και συνολικός αριθμός διπλών δεσμών και δακτυλίων (Ring Double Bond, RDB) των ψευδο-μοριακών ιόντων στο UHPLC/LTQ-ORBITRAP

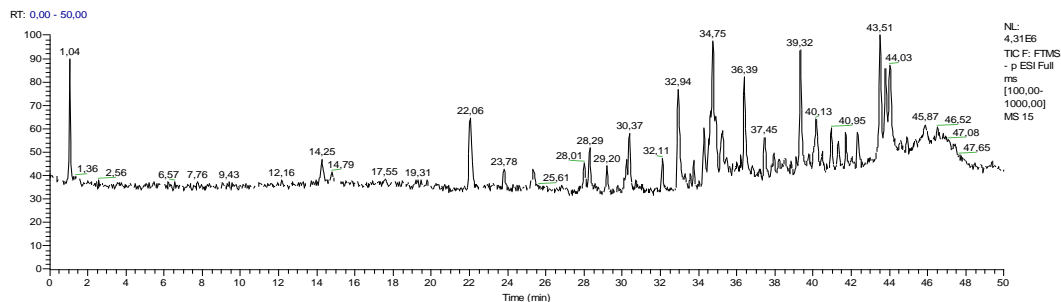
A/A	Ουσίες	Χρόνος (min) RT	Μοριακός τύπος [M-H] ⁻ (Molecular formula)	Θεωρητική ακριβής μάζα (Theoretical exact mass) [M-H] ⁻	Πειραματική ακριβής μάζα (Detected exact mass) [M-H] ⁻	Σφάλμα ppm	RDB
Φαινολικά οξέα							
1	protocatechuic acid	1,00	C ₇ H ₅ O ₄	153,0188	153,0196	1,752	5,5
2	galic acid	1,42	C ₇ H ₅ O ₅	169,0137	169,0137	-3,234	5,5
3	d(-) quinic acid	1,00	C ₇ H ₁₁ O ₆	191,0556	191,0560	-0,583	2,5
4	caffaic acid	1,54	C ₉ H ₇ O ₄	179,0345	179,0350	0,100	6,5
5	p-coumaric acid	1,56	C ₉ H ₇ O ₃	163,0395	163,0402	0,813	6,5
6	vanillic acid	1,56	C ₈ H ₇ O ₄	167,0345	167,0351	0,706	5,5
7	ferulic acid	1,68	C ₁₀ H ₉ O ₄	193,0501	193,0504	-1,202	6,5
8	o- coumaric acid	1,61	C ₉ H ₇ O ₃	163,0395	163,0401	0,200	6,5
Φλαβονοειδή							
9	kaempferol	19,36	C ₁₅ H ₉ O ₆	285,0399	285,0404	-0,215	11,5
10	apigenin	19,92	C ₁₅ H ₉ O ₅	269,0450	269,0452	-1,289	11,5
11	chrysin	23,83	C ₁₅ H ₉ O ₄	253,0501	253,0497	-3,683	11,5
12	quercetin	25,12	C ₁₅ H ₉ O ₇	301,0349	301,0347	-2,245	11,5
13	genkwanin	26,30	C ₁₆ H ₁₁ O ₅	283,0607	283,0609	-1,048	11,5
14	luteolin-7-0-glucoside	31,67	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁	447,0928	447,0943	2,271	12,5
15	luteolin	33,57	C ₁₅ H ₉ O ₆	285,0399	285,0401	-1,267	11,5
Φλαβαν 3 όλες							
16	(+)catechin	2,00	C ₁₅ H ₁₃ O ₆	289,0712	289,071	-2,634	9,5
17	epigallocatechin gallate (egcg)	2,61	C ₂₂ H ₁₇ O ₁₁	457,0771	457,0776	-0,076	14,5
Φαινολεθανοειδείς γλυκοζίτες							
18	verbascoside	32,67	C ₂₉ H ₃₅ O ₁₅	623,1976	623,1972	-1,514	12,5
Μονοτερπενοειδή							
19	thymol	34,83	C ₁₀ H ₁₃ O	149,0967	149,0972	0,078	4,5
20	carvacrol	34,91	C ₁₀ H ₁₃ O	149,0967	149,0972	0,078	4,5
Τριτερπενοειδή							
21	erythrodilol	-	C ₃₀ H ₄₉ O ₂	441,3733	-	-	
22	urcolic acid	39,45	C ₃₀ H ₄₇ O ₃	455,3525	455,3535	0,947	7,5

Πίνακας 6-12 : Ποιοτικά αποτελέσματα των εκχυλισμάτων *S. perfoliata* L. ssp *perfoliata* (SP)

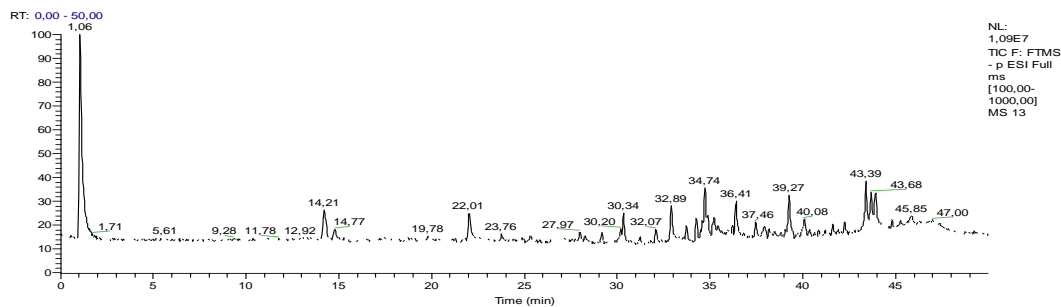
A/A	Ουσίες	RT (min)	[M-H] ⁻ (m/z) (Σφάλμα ppm)	MS2 [M-H] ⁻ (m/z) (%)	RDB	Διαλύτες εκχύλισης
1	protocatechuic acid C ₇ H ₆ O ₄	1,00	153,0196 (1,752)	109,0296 (100,00)	5,5	w, m, h
2	d(-) quinic acid C ₇ H ₁₂ O ₆	1,00	191,0557 (-2,153)	173,0458 (100,00), 127,0404 (68,37)	2,5	w, m, h
3	caffeic acid C ₉ H ₈ O ₄	1,54	179,0350 (0,100)	135,0454 (100,00)	6,5	w, m, h
4	p-coumaric acid C ₉ H ₈ O ₃	1,56	163,0402 (0,813)	119,0505 (100,00)	6,5	w, m, h
5	vanillic acid C ₈ H ₈ O ₄	1,56	167,0351 (0,706)	123,0455 (100,00), 152,0117 (98,65), 108,0220 (11,36)	5,5	w, m, h
6	o- coumaric acid C ₉ H ₈ O ₃	1,61	163,0401 (0,200)	119,0505 (100,00)	6,5	w, m, h
7	ferulic acid C ₁₀ H ₁₀ O ₄	1,68	193,0504 (-1,202)	134,0374 (100,00), 149,0608 (80,65), 178,0271 (59,71)	6,5	w, m, h
8	forsythoside B ή άλλο ισομερές C ₃₄ H ₄₄ O ₁₉	13,24	755,2388 (-0,788)	592,9988 (100,00)	13,5	w, m, h
9	acO-all-glc-isc C ₂₉ H ₃₂ O ₁₇	14,25	651,1558 (-1,873)	285,1161 (100,00), 429,2345 (45,38), 609,2787 (13,40)	14,5	w, m
10	acO-all-glc-hyp- me C ₃₀ H ₃₄ O ₁₈	14,79	681,1656 (-0,306)	639,2031 (100,00), 315,1424 (75,87), 621,1913 (21,74)	14,5	w, m, h
11	apigenin C ₁₅ H ₁₀ O ₅	19,92	269,0452 (-1,289)	269,0455 (100,00), 225,0556 (54,16), 149,0246 (22,59)	11,5	w, m
12	chrysin C ₁₅ H ₁₀ O ₄	23,83	253,0497 (-3,683)	253,0504 (100,00), 209,0607 (16,44)	11,5	m
13	genkwanin C ₁₆ H ₁₂ O ₅	26,30	283,0609 (-1,048)	201,0897 (100,00) (100,00), 214,0998 (83,16)	11,5	m
14	verbascoside C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	32,67	623,1972 (-1,514)	461,1656 (100,00), 340,1068 (9,83)	12,5	w, m, h
15	1a-acetoxy-8a- hydroxy-2- oxoedesman- 3,7(11)-dien- 8,12-olide C ₁₈ H ₂₁ O ₆	32,94	333,1351 (2,216)	265,2167 (100,00)	8,5	w, m, h
16	άγνωστη C ₂₀ H ₂₃ ON ⁻ ή C ₇ H ₂₂ O ₃ N ₁₀ ⁻	36,39	293,1791 (1,321) ή (-4,972)	275,0844 (100,00), 236,1668 (36,91), 224,8115 (21,78)	10 ή 2,5	w, m, h
17	urcolic acid C ₃₀ H ₄₈ O ₃	39,45	455,3535 (0,947)	158,9786 (100,00)	7,5	h

18	άγνωστη $C_{29}H_{43}O_6^-$	39,76	487,3057 (-1,667)	451,5450 (100,00), 487,2151 (66,90)	8,5	w, m, h
19	άγνωστη $C_{25}H_{44}O_6^-$	40,13	440,3130 (-3,037)	394,1974 (100,00), 337,43,02 (23,99), 181,2314 (6,12)	4,0	w, m, h

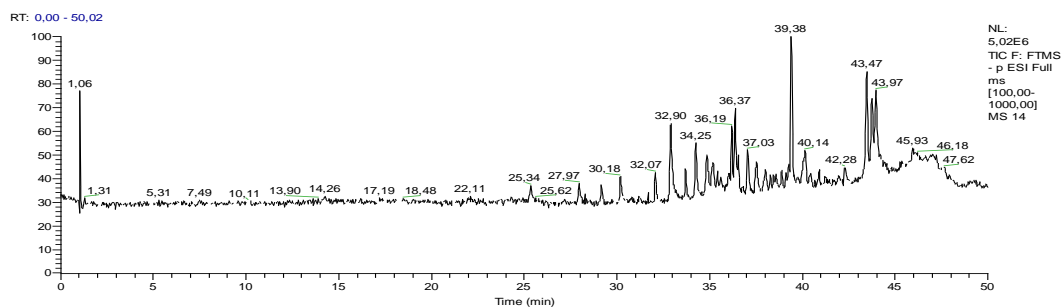
all : allosyl, glc : glucoside, isc : isoscutellarein, hyp: hypolaetin, me : methyl



Γράφημα 6-5 : Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) υδατικού εκχυλίσματος *S. perfoliata* L. ssp *perfoliata*



Γράφημα 6-6: Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) μεθανολικού εκχυλίσματος *S. perfoliata* L. ssp *perfoliata*



Γράφημα 6-7 : Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) εθανικού εκχυλίσματος *S. perfoliata* L. ssp *perfoliata*

Πίνακας 6-13 : Επίπεδα συγκεντρώσεων (μg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος) των εκχυλισμάτων *S. perfoliata* L. ssp *perfoliata* (SP)(w : υδατικό, m : μεθανολικό, h : εξανικό) *protocatechuic acid equivalents (PrAE), LOQ : limit of quantification

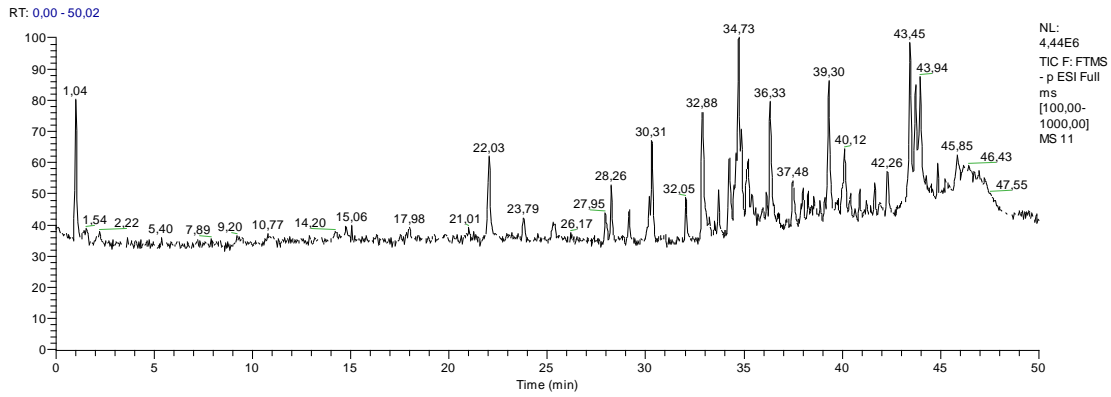
A/A	Ουσίες	SP_w	SP_m	SP_h
1	protocatechuic acid	0,17	0,16	0,05
2	d(-) quinic acid	1,38	1,18	0,35
3	caffeic acid	0,40	0,67	0,21
4	p-coumaric acid	0,87	1,71	0,57
5	vanillic acid	0,29	0,25	0,07
6	o- coumaric acid	0,39	1,33	0,11
7	ferulic acid	0,78	1,28	0,36
8	forsythoside B ή άλλο ισομερές*	1,37	2,01	0,38
9	acO-all-glc-isc*	0,06	0,08	0,01
10	acO-all-glc-hyp-me*	10,03	28,92	1,19
11	apigenin	0,11	0,23	-
12	chrysin	-	0,17	-
13	genkwanin	-	0,11	-
14	verbascoside	1,64	1,56	0,11
15	1a-acetoxy-8a-hydroxy-2-oxoeudesman-3,7(11)-dien-8,12-olide*	2,16	7,44	0,15
16	άγνωστη* C ₂₀ H ₂₃ ON ⁻ ή C ₇ H ₂₂ O ₃ N ₁₀ ⁻	4,95	5,37	4,31
17	urcolic acid	-	-	<LOQ
18	άγνωστη* C ₂₉ H ₄₃ O ₆ ⁻	4,89	3,84	6,95
19	άγνωστη* C ₂₅ H ₄₄ O ₆ ⁻	1,38	1,21**	1,36

Πίνακας 6-14 : Ποιοτικά αποτελέσματα των εκχυλισμάτων *S. scardica* Griseb (SSc1 & SSc2)

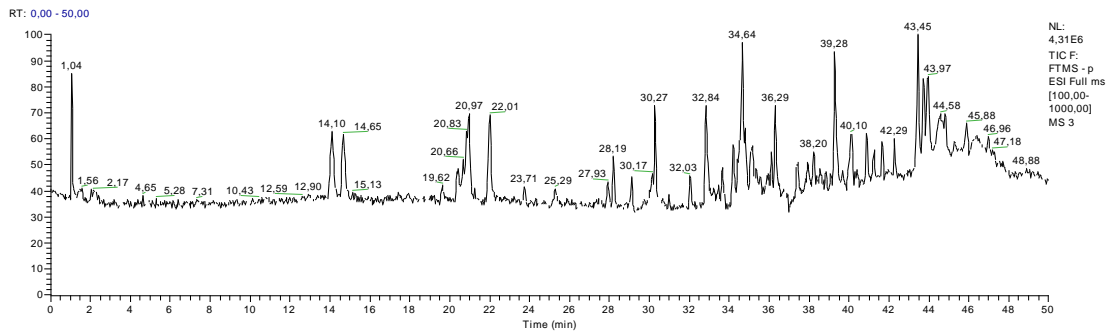
A/A	Ουσίες	RT (min)	[M-H] ⁻ (m/z) (Σφάλμα ppm)	MS2 [M-H] ⁻ (m/z) (%)	RDB	Διαλύτες εκχύλισης
1	protocatechuic acid C ₇ H ₆ O ₄	1,00	153,0196 (1,752)	109,0296 (100,00)	5,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
2	d(-) quinic acid C ₇ H ₁₂ O ₆	1,00	191,0557 (-2,153)	173,0458 (100,00), 127,0404 (68,37)	2,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
3	galic acid C ₇ H ₆ O ₅	1,42	169,0137 (-3,234)	154,9472 (100,00), 125,4154 (43,77)	5,5	SSc1 (w, m), SSc2 (w, m)
4	caffeic acid C ₉ H ₈ O ₄	1,54	179,0350 (0,100)	135,0454 (100,00)	6,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
5	p-coumaric acid C ₉ H ₈ O ₃	1,56	163,0402 (0,813)	119,0505 (100,00)	6,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
6	vanillic acid C ₈ H ₈ O ₄	1,56	167,0351 (0,706)	123,0455 (100,00), 152,0117 (98,65), 108,0220 (11,36)	5,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
7	o- coumaric acid C ₉ H ₈ O ₃	1,61	163,0401 (0,200)	119,0505 (100,00)	6,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
8	ferulic acid C ₁₀ H ₁₀ O ₄	1,68	193,0504 (-1,202)	134,0374 (100,00), 149,0608 (80,65), 178,0271 (59,71)	6,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
9	isoscutellarein-7-O-(allosyl(1-2)glucoside) C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	9,33	609,1455 (0,819)	241,3950 (100,00), 213,1583 (78,37)	11,5	SSc1 (w, m), SSc2 (w, m)
10	forsythoside B ή άλλο ισομερές C ₃₄ H ₄₄ O ₁₉	13,20	755,2399 (-0,342)	592,9988 (100,00)	13,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
11	acO-all-glc-isc C ₂₉ H ₃₂ O ₁₇	14,04	651,1558 (-1,873)	285,1161 (100,00), 429,2345 (45,38), 609,2787 (13,40)	14,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
12	acO-all-glc-hyp-me C ₃₀ H ₃₄ O ₁₈	14,65	681,1656 (-0,306)	639,2031 (100,00), 315,1424 (75,87), 621,1913 (21,74)	14,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
13	verbascoside isomer C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	15,13	623,1972 (-1,514)	461,1656 (100,00), 340,1068 (9,83)	12,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
14	kaempferol C ₁₅ H ₁₀ O ₆	19,36	285,0404 (-0,215)	285,0404 (100,00), 257,0037 (81,59)	11,5	SSc1 (w, m), SSc2 (w, m)

15	apigenin C ₁₅ H ₁₀ O ₅	19,92	269,0452 (-1,289)	269,0455 (100,00), 225,0556 (54,16), 149,0246 (22,59)	11,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
16	echinacin isomer C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	20,40	577,1347 (-0,779)	425,0873 (100,000)	18,5	SSc1 (w, m) SSc2 (w, m)
17	echinacin isomer C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	20,66	577,1345 (-1,125)	425,0873 (100,000)	18,5	SSc1 (w, m) SSc2 (w, m)
18	chrysin C ₁₅ H ₁₀ O ₄	23,83	253,0497 (-3,683)	253,0504 (100,00), 209,0607 (16,44)	11,5	SSc1 (m), SSc2 (m)
19	genkwanin C ₁₆ H ₁₂ O ₅	26,30	283,0609 (-1,048)	201,0897 (100,00) (100,00), 214,0998 (83,16)	11,5	SSc1 (m)
20	luteolin-7-0- glucoside C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	31,67	447,0943 (2,271)	285,0404 (100,00), 378,9185 (3,36)	12,5	SSc1 (m)
21	luteolin C ₁₅ H ₁₀ O ₆	33,57	285,0401 (-1,267)	241,0509 (100,00), 217,0507 (80,54), 199,0403 (98,36), 175,0400 (96,90)	11,5	SSc1 (m)
22	verbascoside C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	32,67	623,1972 (-1,514)	461,1656 (100,00), 340,1068 (9,83)	12,5	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)
23	thymol C ₁₀ H ₁₄ O	34,83	149,0972 (0,078)	148,0010 (100), 147,9642 (50,76)	4,5	SSc1 (h)
24	carvacrol C ₁₀ H ₁₃ O	34,91	149,0972 (0,078)	148,0010 (100), 147,9642 (50,76)	4,5	SSc2 (h)
25	urcolic acid C ₃₀ H ₄₈ O ₃	39,45	455,3535 (0,947)	158,98 (100,00)	7,5	SSc1 (h), SSc2 (h)
26	άγνωστη C ₂₅ H ₄₄ O ₆ ⁻	40,10	440,3130 (-3,037)	394,1974 (100,00), 337,43,02 (23,99), 181,2314 (6,12)	4,0	SSc1 (w, m, h), SSc2 (w, m, h)

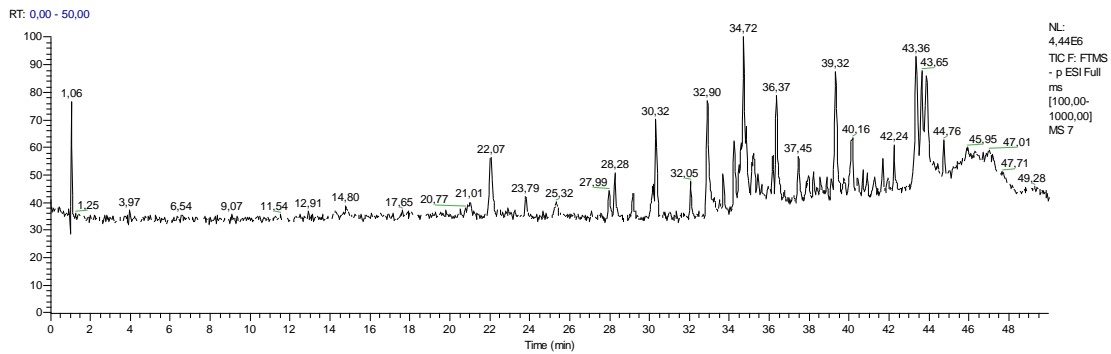
all : allosyl, glc : glucoside, isc : isoscutellarein, hyp: hypolaetin, me : methyl



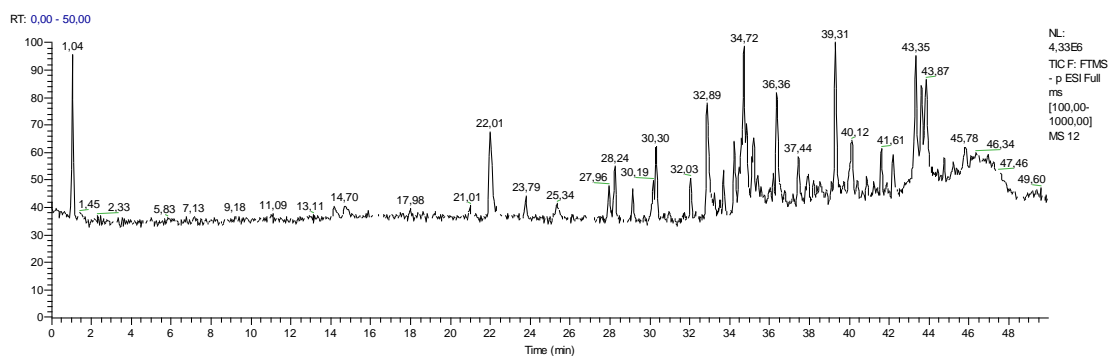
Γράφημα 6-8 : Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) υδατικού εκχυλίσματος *S. scardica* Griseb (SSc1)



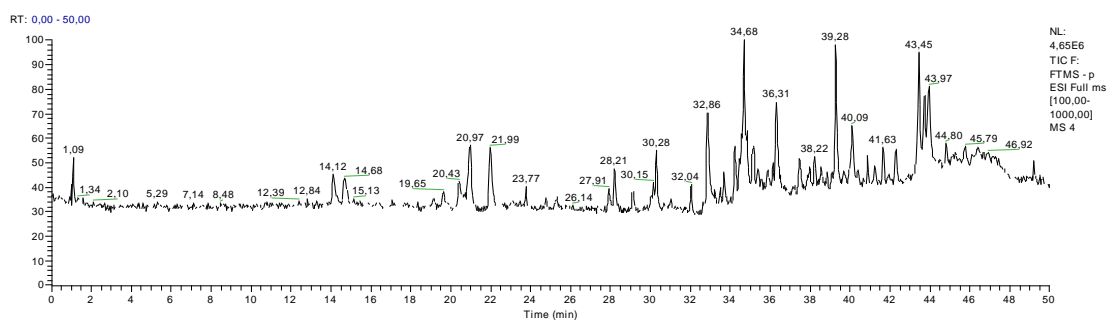
Γράφημα 6-9 : : Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) μεθανολικού εκχυλίσματος *S. scardica* Griseb (SSc1)



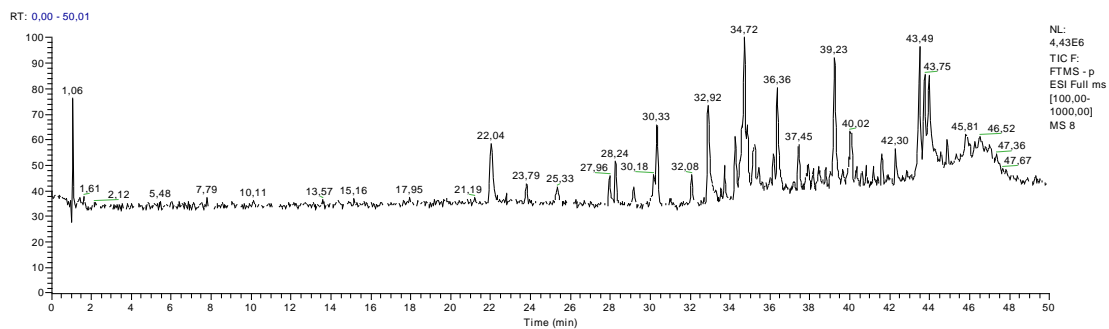
Γράφημα 6-10 : Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) εζανικού εκχυλίσματος *S. scardica* Griseb (SSc1)



Γράφημα 6-11: Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) υδατικού εκχυλίσματος *S. scardica* Griseb (SSc2)



Γράφημα 6-12 : Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) μεθανολικού εκχυλίσματος *S. scardica* Griseb (SSc2)



Γράφημα 6-13 : Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) εζανικού εκχυλίσματος *S. scardica* Griseb (SSc2)

Πίνακας 6-15 : Επίπεδα συγκεντρώσεων (μg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος) των εκχυλισμάτων *S. scardica* Griseb (SSc1 & SSc2), (w : υδατικό, m : μεθανολικό, h : εξάνικό) * *protocatechuic acid equivalents* (PrAE), LOQ : limit of quantification

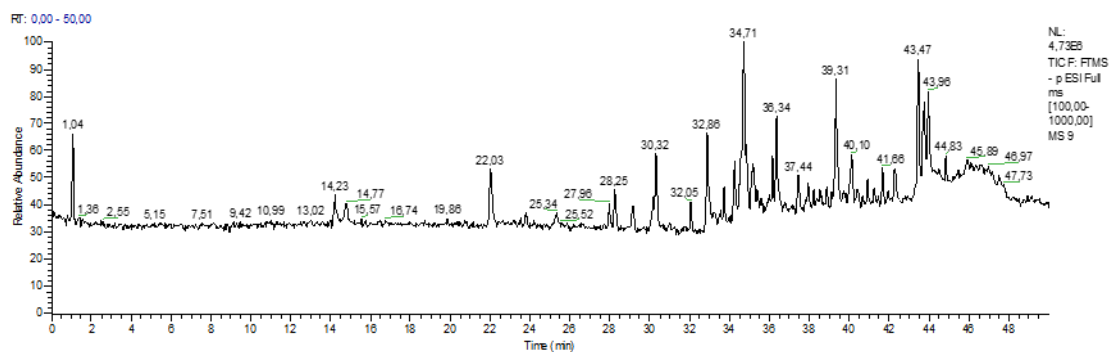
A/A	Ουσίες	SSc1_w	SSc1_m	SSc1_h	SSc2_w	SSc2_m	SSc2_h
1	protocatechuic acid	0,20	0,19	0,06	0,29	0,21	0,05
2	d(-) quinic acid	0,24	0,31	0,04	0,43	0,49	0,24
3	galic acid	0,36	0,25	-	0,18	0,14	-
4	caffeic acid	0,35	0,48	0,20	0,38	0,51	0,24
5	p-coumaric acid	0,68	0,69	0,35	0,56	0,71	0,55
6	vanillic acid	0,08	0,08	0,05	0,03	0,02	0,02
7	o- coumaric acid	0,23	0,42	0,10	0,10	0,13	0,08
8	ferulic acid	0,83	0,87	0,29	0,59	0,63	0,38
9	isoscutellarein-7-O-(allosyl(1-2) glucoside)*	4,08	1,21	-	0,77	0,32	-
10	forsythoside B ή άλλο ισομερές*	0,96	1,30	0,42	0,78	0,89	0,24
11	acO-all-glc-isc*	3,86	24,45	2,81	4,23	11,60	0,55
12	acO-all-glc-hyp-me*	3,49	18,88	2,69	4,27	10,46	0,52
13	verbascoside isomer*	2,71	3,89	2,37	3,52	4,64	2,42
14	kaempferol	0,02	0,52	-	0,01	0,05	-
15	apigenin	0,22	1,40	-	0,34	1,08	-
16	echinacin isomer*	0,35	9,67	1,06	0,10	9,15	0,35
17	echinacin isomer*	1,10	10,15	2,03	0,44	5,11	0,88
18	chrysin	-	0,60	-	-	0,11	-
19	genkwanin	-	<LOQ	-	-	-	-
20	luteolin-7-0-glucoside	-	<LOQ	-	-	-	-
21	luteolin	-	0,72	-	-	-	-
22	verbascoside	1,03	4,78	0,47	0,99	0,80	0,05
23	thymol	-	-	<LOQ	-	-	-
24	carvacrol	-	-	-	-	-	<LOQ
25	urcolic acid	-	-	<LOQ	-	-	<LOQ
26	άγνωστη* C ₂₅ H ₄₄ O ₆	4,40	3,01	3,78	4,98	4,19	3,60

Πίνακας 6-16 : : Ποιοτικά αποτελέσματα των εκχυλισμάτων *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* (SR1 & SR2)

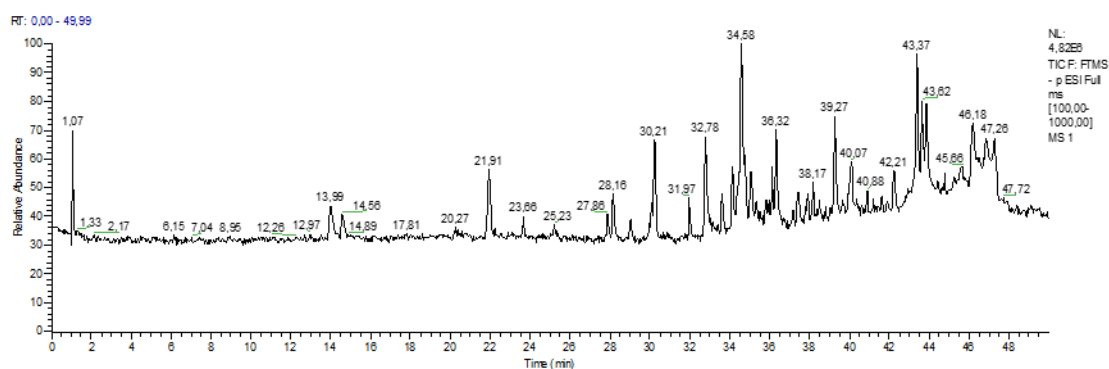
A/A	Ουσίες	RT (min)	[M-H] ⁻ (m/z) (Σφάλμα ppm)	MS2 [M-H] ⁻ (m/z) (%)	RDB	Διαλύτες εκχύλισης
1	protocatechuic acid C ₇ H ₆ O ₄	1,00	153,0196 (1,752)	109,0296 (100,00)	5,5	SR1 (w, m), SR2 (w, m, h)
2	galic acid C ₇ H ₆ O ₅	1,42	169,0137 (-3,234)	154,9472 (100,00), 125,4154 (43,77)	5,5	SR1 (w, m)
3	d(-) quinic acid C ₇ H ₁₂ O ₆	1,00	191,0557 (-2,153)	173,0458 (100,00), 127,0404 (68,37)	2,5	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m, h)
4	caffeic acid C ₉ H ₈ O ₄	1,54	179,0350 (0,100)	135,0454 (100,00)	6,5	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m, h)
5	p-coumaric acid C ₉ H ₈ O ₃	1,56	163,0402 (0,813)	119,0505 (100,00)	6,5	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m, h)
6	vanillic acid C ₈ H ₈ O ₄	1,56	167,0351 (0,706)	123,0455 (100,00), 152,0117 (98,65), 108,0220 (11,36)	5,5	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m, h)
7	ferulic acid C ₁₀ H ₁₀ O ₄	1,68	193,0504 (-1,202)	134,0374 (100,00), 149,0608 (80,65), 178,0271 (59,71)	6,5	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m, h)
8	o- coumaric acid C ₉ H ₈ O ₃	1,61	163,0401 (0,200)	119,0505 (100,00)	6,5	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m, h)
9	isoscutellarein -7-O- (allosyl(1- 2)glucoside) C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	9,02	609,1455 (0,819)	285,0491 (100,00), 429,0665 (55,48)	12,5	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m)
10	forsythoside B ή άλλο ισομερές C ₃₄ H ₄₄ O ₁₉	13,06	755,2388 (-0,788)	592,9988 (100,00)	13,5	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m, h)
11	acO-all-glc-isc C ₂₉ H ₃₂ O ₁₇	14,00	651,1558 (-1,873)	285,1161 (100,00), 429,2345 (45,38), 609,2787 (13,40)	14,5	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m, h)
12	acO-all-glc- hyp-me C ₃₀ H ₃₄ O ₁₈	14,56	681,1656 (-0,306)	639,2031 (100,00), 315,1424 (75,87), 621,1913 (21,74)	14,5	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m, h)
13	kaempferol C ₁₅ H ₈ O ₆	19,36	285,0404 (-0,215)	285,0404 (100,00), 257,0037 (81,59), 151,0037	11,5	SR1 (m) SR2 (m)

14	apigenin C ₁₅ H ₁₀ O ₅	19,92	269,0452 (-1,289)	269,0455 (100,00), 225,0556 (54,16), 149,0246 (22,59)	11,5	SR1 (w, m) SR2 (w, m)
15	echinacin isomer C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	20,35	577,1351 (-0,086)	425,0873 (100,000)	18,5	SR1 (w, m) SR2 (w, m)
16	echinacin isomer C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	20,54	577,1350 (-0,259)	425,0873 (100,000)	18,5	SR1 (w, m) SR2 (w, m)
17	quercetin C ₁₅ H ₁₀ O ₇	25,12	301,0347 (-2,245)	178,9986 (100,00), 151,0038 (76,76)	11,5	SR1 (w, m)
18	genkwanin C ₁₆ H ₁₂ O ₅	26,30	283,0609 (-1,048)	201,0897 (100,00) (100,00), 214,0998 (83,16)	11,5	SR1 (m) SR2 (m)
19	luteolin-7-0- glucoside C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	31,67	447,0943 (2,271)	285,0404 (100,00), 378,9185 (3,36)	12,5	SR1 (m)
20	verbascoside C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	32,67	623,1972 (-1,514)	461,1656 (100,00), 340,1068 (9,83)	12,5	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m, h)
21	luteolin C ₁₅ H ₁₀ O ₆	33,57	285,0401 (-1,267)	241,0509 (100,00), 217,0507 (80,54), 199,0403 (98,36), 175,0400 (96,90)	11,5	SR1 (m) SR2 (m)
22	carvacrol C ₁₀ H ₁₃ O	34,91	149,0972 (0,078)	148,0010 (100), 147,9642 (50,76)	4,5	SR1 (h)
23	urcolic acid C ₃₀ H ₄₇ O ₃	39,45	455,3535 (0,947)	158,98 (100,00)	7,5	SR1 (h) SR2 (h)
24	άγνωστη C ₂₉ H ₄₃ O ₆ ⁻	39,76	487,3057 (-1,667)	451,5450 (100,00), 487,2151 (66,90)	8,5	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m, h)
25	άγνωστη C ₂₅ H ₄₄ O ₆ ⁻	40,08	440,3132 (-2,583)	394,1974 (100,00), 337,43,02 (23,99), 181,2314 (6,12)	4,0	SR1 (w, m, h) SR2 (w, m, h)

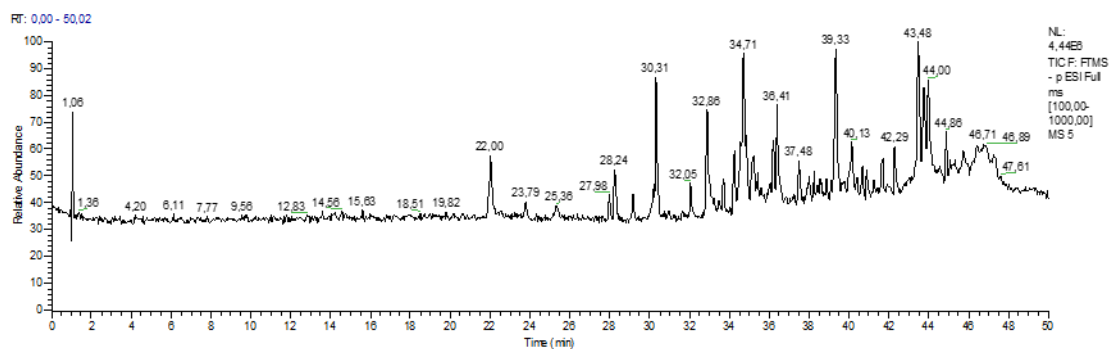
all : allosyl, glc : glucoside, isc : isoscutellarein, hyp: hypolaetin, me : methyl



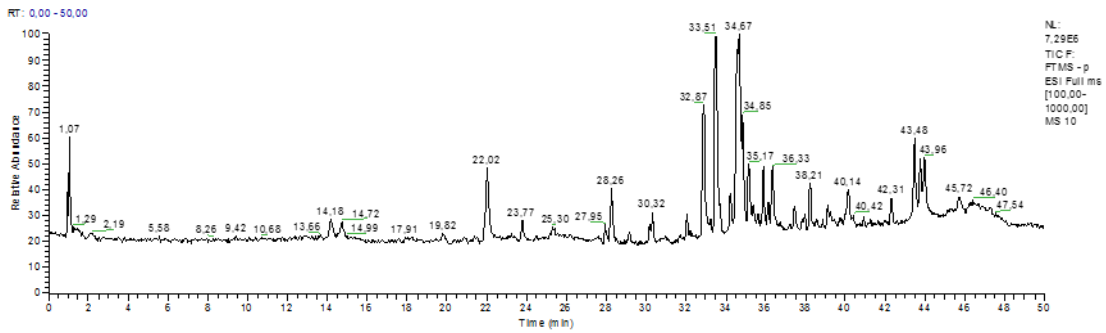
Γράφημα 6-14: Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) υδατικού εκχυλίσματος *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* (SRI)



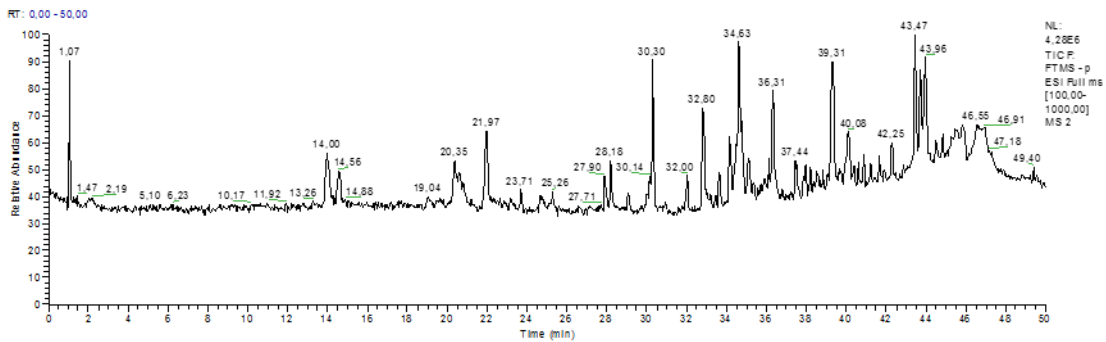
Γράφημα 6-15 : Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) μεθανολικού εκχυλίσματος *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* (SRI)



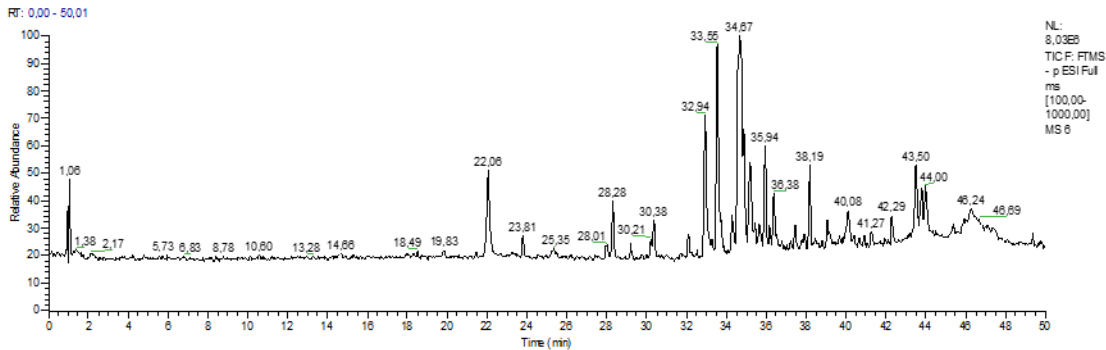
Γράφημα 6-16 : Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) εζανικού εκχυλίσματος *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* (SRI)



Γράφημα 6-17 : Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) υδατικού εκχυλίσματος *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* (SR2)



Γράφημα 6-18 : Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) μεθανολικού εκχυλίσματος *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* (SR2)



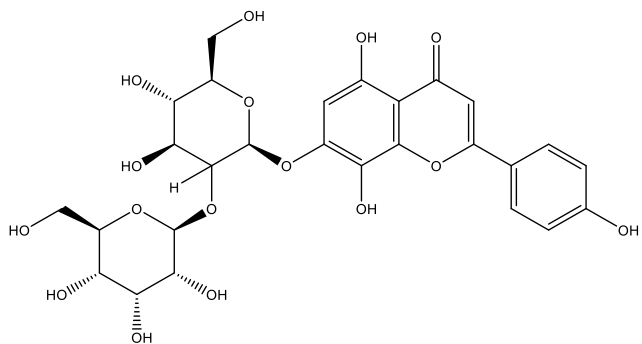
Γράφημα 6-19 : Ολικό χρωματογράφημα (Total Ion Chromatogram, TIC) εζανικού εκχυλίσματος *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* (SR2)

Πίνακας 6-17 : Επίπεδα συγκεντρώσεων (μg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος) των εκχυλισμάτων *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* (SR1 & SR2, (w : υδατικό, m : μεθανολικό, h : εξάνικό) *protocatechuic acid equivalents (PrAE,) LOQ : limit of quantification

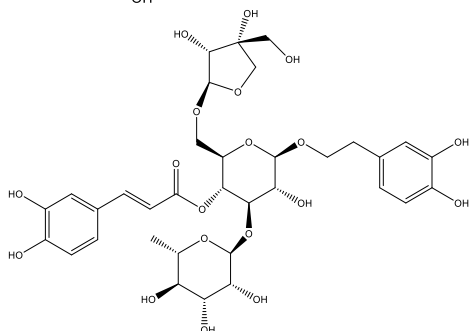
A/A	Ουσίες	SR1_w	SR1_m	SR1_h	SR2_w	SR2_m	SR2_h
1	protocatechuic acid	0,41	0,35	-	0,14	0,09	0,05
2	galic acid	0,36	0,19	-	-	-	-
3	d(-) quinic acid	1,09	1,50	0,25	1,09	1,23	0,11
4	caffaic acid	0,35	0,40	0,16	0,34	0,37	0,19
5	p-coumaric acid	0,73	1,26	0,42	0,66	1,07	0,51
6	vanillic acid	0,13	0,09	0,07	0,05	0,04	0,03
7	ferulic acid	0,11	0,07	0,03	0,09	0,08	0,05
8	o- coumaric acid	0,86	0,80	0,39	0,64	0,91	0,31
9	isoscuteallarein-7-O-(allosyl(1-2)glucoside)*	1,30	0,49	0,09	0,65	0,53	-
10	forsythoside B ή άλλο ισομερές*	0,06	0,21	0,03	0,04	0,25	0,02
11	acO-all-glc-isc*	9,48	12,20	2,04	11,41	20,95	1,41
12	acO-all-glc-hyp-me*	6,35	7,87	1,10	8,66	11,14	0,75
13	kaempferol	-	0,02	-	-	0,06	-
14	apigenin	0,55	1,58	-	0,36	1,37	-
15	echinacin isomer*	0,28	2,08	-	7,43	12,36	-
16	echinacin isomer*	0,52	2,13	-	5,67	10,28	-
17	quercetin	<LOQ	0,03	-	-	-	-
18	genkwanin	-	0,23	-	<LOQ	-	-
19	luteolin-7-0-glucoside	-	<LOQ	-	-	-	-
20	verbascoside	0,91	2,26	0,36	0,88	1,15	0,18
21	luteolin	-	<LOQ	-	-	<LOQ	-
22	carvacrol	-	-	<LOQ	-	-	-
23	urcolic acid	-	-	<LOQ	-	-	<LOQ
24	άγνωστη* C ₂₉ H ₄₃ O ₆ ⁻	2,85	3,12	2,78	5,72	1,93	0,08
25	άγνωστη* C ₂₅ H ₄₄ O ₆ ⁻	6,91	8,78	1,67	4,49	2,84	0,15

Πίνακας 6-18 : Επίπεδα συγκεντρώσεων (μg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος) των εκχυλισμάτων *C. Sinensis* (CS), (w : υδατικό, m : μεθανολικό, h : εξάνικό,) LOQ : limit of quantification

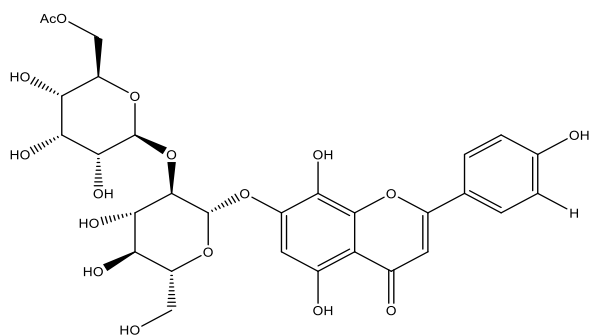
A/A	Ουσίες	CS_w	CS_m	CS_h
Φαινολικά οξέα				
1	protocatechuic acid	0,04	0,04	0,02
2	galic acid	2,06	2,60	0,42
3	d(-) quinic acid	1,90	1,05	0,40
4	caffeic acid	1,15	2,30	0,74
5	p-coumaric acid	0,55	0,99	0,44
7	ferulic acid	0,72	0,93	0,36
8	o- coumaric acid	1,84	1,92	0,23
Φλαβονοειδή				
9	kaempferol	1,19	1,38	-
12	quercetin	0,71	1,69	<LOQ
15	luteolin	0,1	1,13	-
Φλαβαν 3 όλες				
16	(+)catechin	3,40	5,89	<LOQ
17	epigallocatechin gallate (egcg)	29,60	41,56	9,28

Πίνακας 6-19 : Δομή ταυτοποιημένων συστατικών των μελετώμενων φυτών *Sideritis* ssp.**isoscutellarein-7-O-(allosyl(1-2)glucoside) C₂₇H₃₀O₁₆**

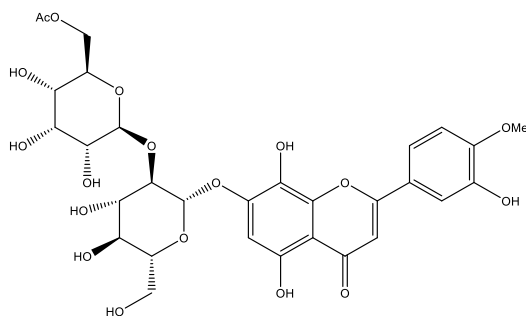
Είναι φλαβονοειδές, γλυκοζίτης. Συναντάται σε είδη της οικ. *Laminaceae*, έχει απομονωθεί σε είδη του γένους *Sideritis* [32] [38].

**forsythoside B C₃₄H₄₄O₁₉ (φορσυδοζίτης B)**

Είναι φαινυλοπροπανοειδές, συναντάται σε πολλά φυτικά είδη της οικογένειας *Lamiaceae*, έχει δε απομονωθεί από το είδος *Sideritis* [24].

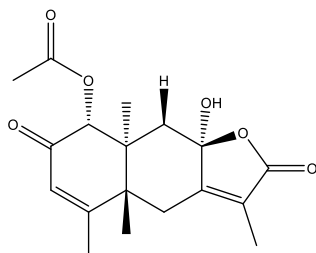
**acO-all-glc-isc C₂₉H₃₂O₁₇**

Είναι φλαβονοειδές, γλυκοζίτης. Συναντάται σε είδη της οικ. *Laminaceae*, έχει απομονωθεί σε είδη του γένους *Sideritis* [32].



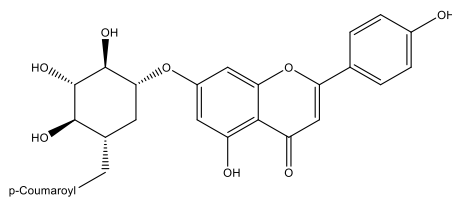
acO-all-glc-hyp-me* C₃₀H₃₄O₁₈

Είναι φλαβονοειδές, γλυκοζίτης. Συναντάται σε είδη της οικ. *Laminaceae*, έχει απομονωθεί σε είδη του γένους *Sideritis* [32].



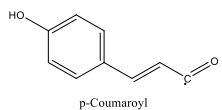
1a-acetoxy-8a-hydroxy-2-oxoeudesman-3,7(11)-dien-8,12-olide C₁₈H₂₁O₆

Είναι σεσκιτερπένιο, ειδικότερα στην κατηγορία των eudesmanolides. Απομονώθηκε από το φυτό *Salvia plebeia* R. Brown (*Lamiaceae*) [37]. Για πρώτη φορά βρίσκεται στο γένος *Sideritis*.



echinacin C₃₀H₂₆O₁₂

Είναι φλαβονοειδές, γλυκοζίτης, έχει απομονωθεί σε είδη του γένους *Sideritis* [32].



6.3.1. Φαινολικά οξέα

Τα φαινολικά οξέα εμφανίζονται σχεδόν σε όλα τα φυτικά εκχυλίσματα που μελετήθηκαν (πίνακας 6-11). Σε όλα τα δείγματα ανιχνεύτηκαν τα : caffeic acid σε επίπεδα συγκέντρωσης που κυμάνθησαν μεταξύ 0,2 – 2,3 µg / mg ξ.ο. εκχυλίσματος, D(-) quinic acid μεταξύ 0,04 – 1,9 µg / mg ξ.ο. εκχυλίσματος, ferulic acid μεταξύ 0,03 – 1,33 µg / mg ξ.ο. εκχυλίσματος, o-coumaric acid μεταξύ 0,23 – 1,92 µg / mg ξ.ο. εκχυλίσματος, p-coumaric acid μεταξύ 0,35 – 1,71 µg / mg ξ.ο. εκχυλίσματος. Το protocatechuic acid δεν ανιχνεύτηκε στο εξανικό εκχύλισμα του *SR2*, στα υπόλοιπα εκχυλίσματα σε επίπεδα συγκέντρωσης βρέθηκαν μεταξύ 0,04 – 0,41 µg / mg ξ.ο. εκχυλίσματος. Το vanillic acid δεν ανιχνεύτηκε στα εκχυλίσματα του *CS*, ενώ στα υπόλοιπα σε επίπεδα συγκέντρωσης μεταξύ 0,02 – 0,29 µg / mg ξ.ο. εκχυλίσματος. Το galic acid ανιχνεύτηκε σε όλα τα εκχυλίσματα του *CS* και στα υδατικά και μεθανολικά εκχυλίσματα των *SSc1* & *SSc2*, και *Sr1* όπου τα επίπεδα συγκέντρωσης κυμάνθησαν μεταξύ 0,14 – 2,6 µg / mg ξ.ο. εκχυλίσματος.

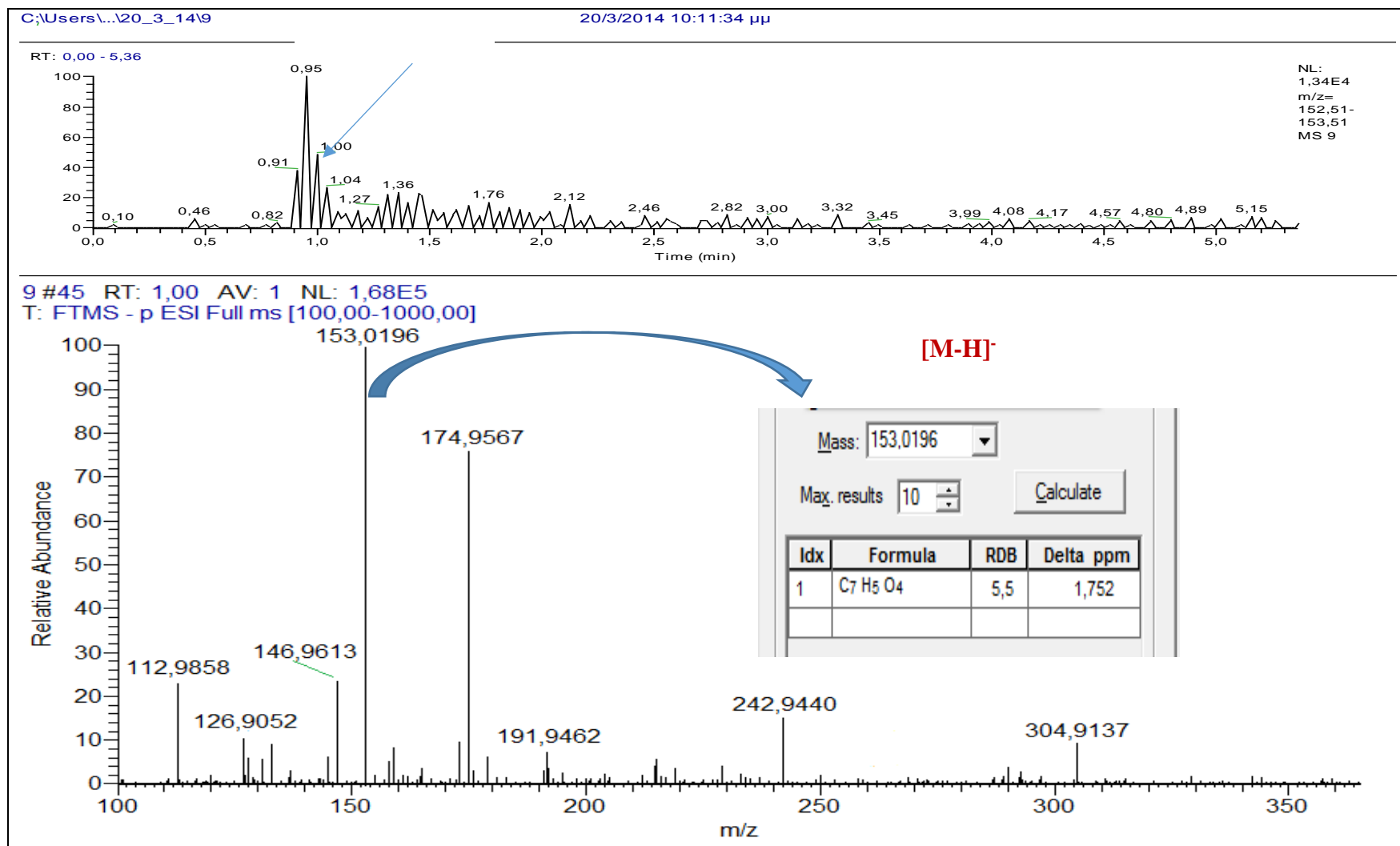
Από τις ποσοτικές μετρήσεις προκύπτει ότι στα μεθανολικά εκχυλίσματα παρουσιάζονται τα μεγαλύτερα επίπεδα συγκέντρωσης, ακολουθούν τα υδατικά, ενώ τα εξανικά εμφανίζουν τα μικρότερα επίπεδα συγκέντρωσης. Επίσης, το *CS* υπερτερεί ποσοτικά των μελετώμενων taxa *Sideritis* για τα φαινολικά οξέα που βρέθηκαν εκατέρωθεν. Συγκεκριμένα, βρέθηκαν υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης έναντι όλων των taxa *Sideritis* στα υδατικά εκχυλίσματα για τα caffeic acid, d(-) quinic acid, ferulic acid, galic acid, o-coumaric acid, στα μεθανολικά εκχυλίσματα για τα caffeic acid, galic acid, o-coumaric acid και στα εξανικά για τα caffeic acid, d(-) quinic acid, ferulic acid, galic acid. Μεταξύ των taxa *Sideritis*, το *SP* παρουσιάζει την υψηλότερη περιεκτικότητα, ακόμα και έναντι του *CS* στα μεθανολικά εκχυλίσματα για τα d(-) quinic acid, ferulic acid, p-coumaric acid.

Ειδικότερα:

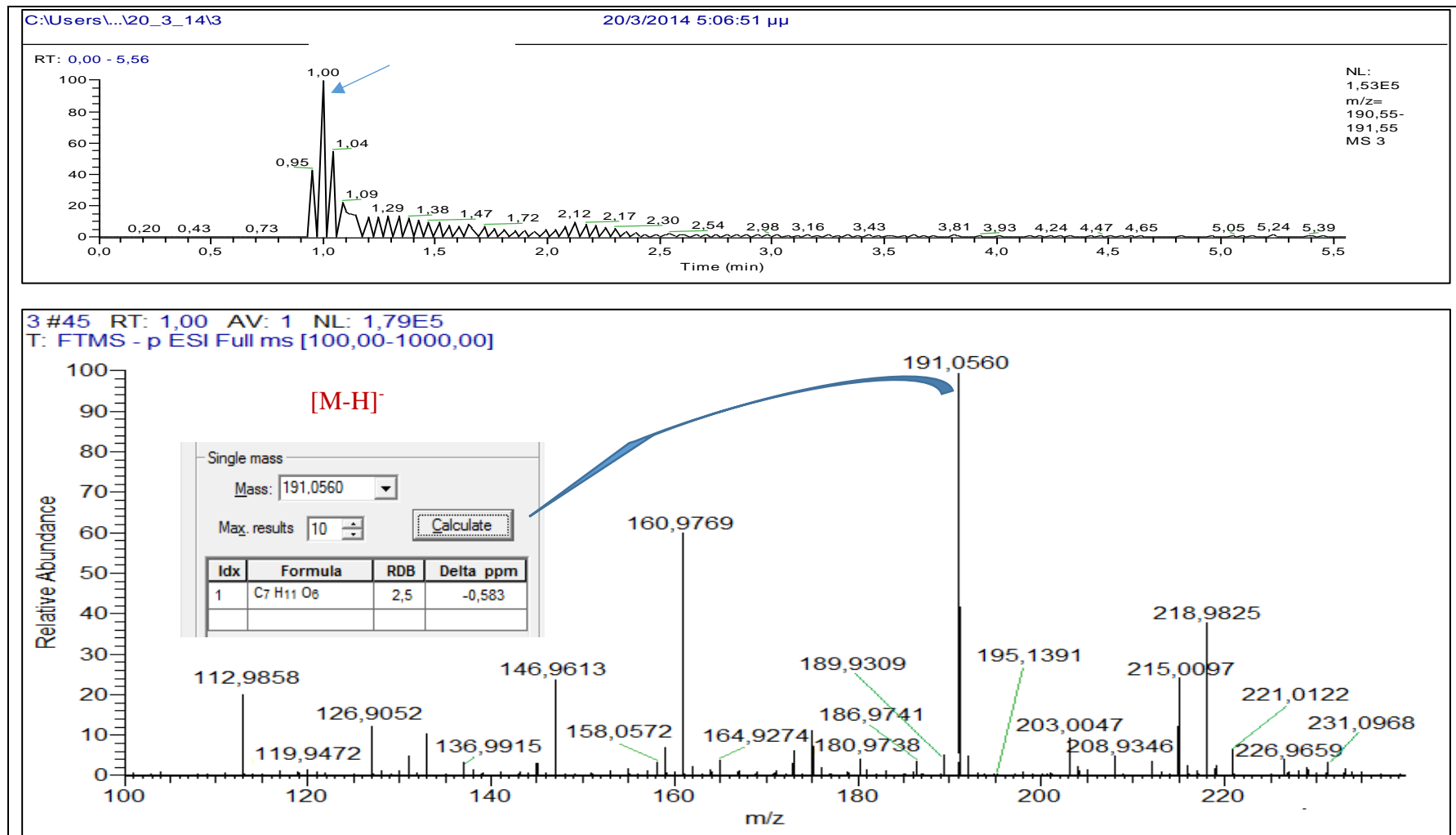
Στο taxon *Sideritis perfoliata L. ssp perfoliata*, βρέθηκαν επτά φαινολικά οξέα (caffeic acid, d(-) quinic acid, ferulic acid, o- coumaric acid, p-coumaric acid, protocatechuic acid, vanillic acid), τα οποία για πρώτη φορά βρέθηκαν σ' αυτό το taxon, καθώς από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, έχει βρεθεί μόνο caffeic acid [20]. Επιπλέον, τα ferulic acid, p-coumaric acid & vanillic acid να έχουν βρεθεί στα υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης όλων.

Στο taxon *S. scardica Griseb_Pοδιανή*, βρέθηκαν και τα οκτώ φαινολικά οξέα, και στο taxon *S. scardica Griseb_Κρυσταλοπηγή* επτά από τα οκτώ φαινολικά οξέα (πλην το galic acid). Τα D(-) quinic acid, O- coumaric acid & protocatechuic acid έχουν βρεθεί για πρώτη φορά, καθώς από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας έχουν βρεθεί caffeic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, vanillic acid, 3-caffeoylquinic acid, 5-caffeoylquinic acid, p-coumaric acid 4-O-glucoside, feruloylquinic acid, chlorogenic acid [10] [21] [22] [23] [24].

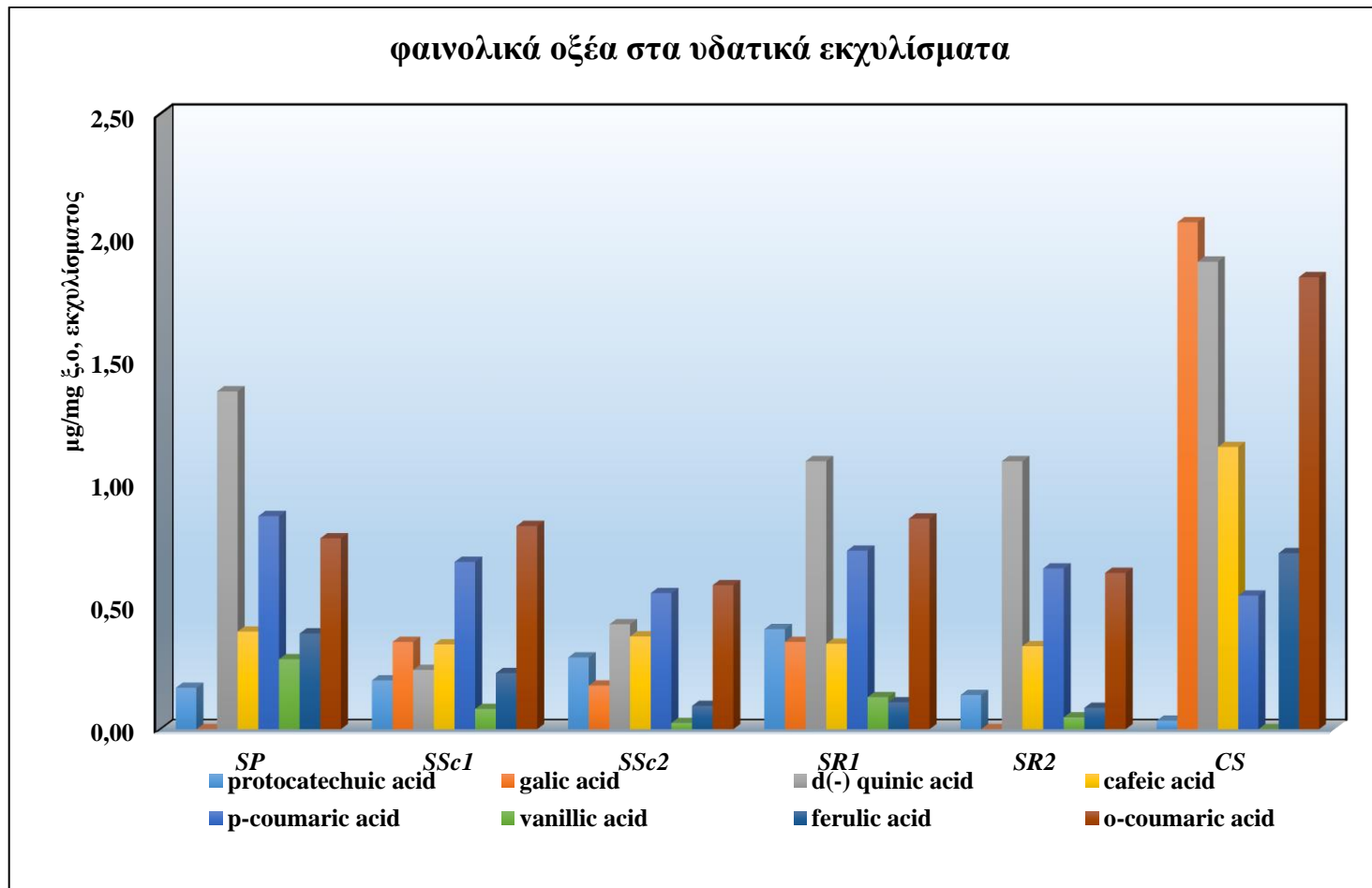
Στο taxon *S. raeseri Boiss & Heldr ssp. raeseri_Συρράκο* βρέθηκαν και τα οκτώ φαινολικά οξέα, από τα οποία το protocatechuic acid βρέθηκε στα υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης όλων, ενώ στο *S. raeseri Boiss & Heldr ssp. raeseri_Μελισσουργοί* δε βρέθηκε το galic acid. Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας έχουν βρεθεί chlorogenic acid, galic acid [10] [22].



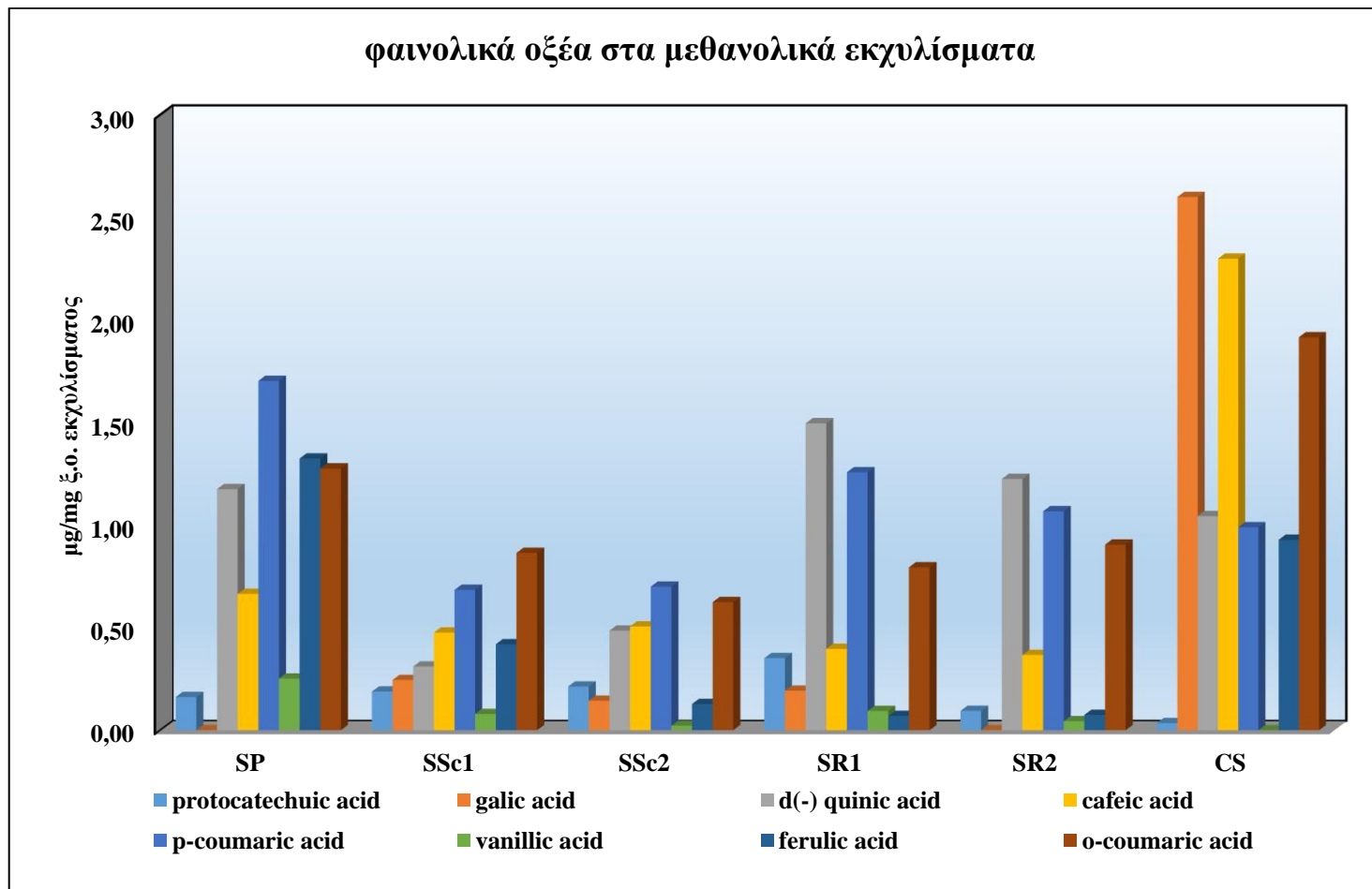
Γράφημα 6-20 : Χρωματογράφημα ιόντος, φάσμα ακριβούς μάζας, μοριακός τύπος στο UHPLC/LTQ-ORBITRAP (αρνητικό ιοντισμό) για την ουσία protocatechuic acid στο υδατικό εκχύλισμα SR2



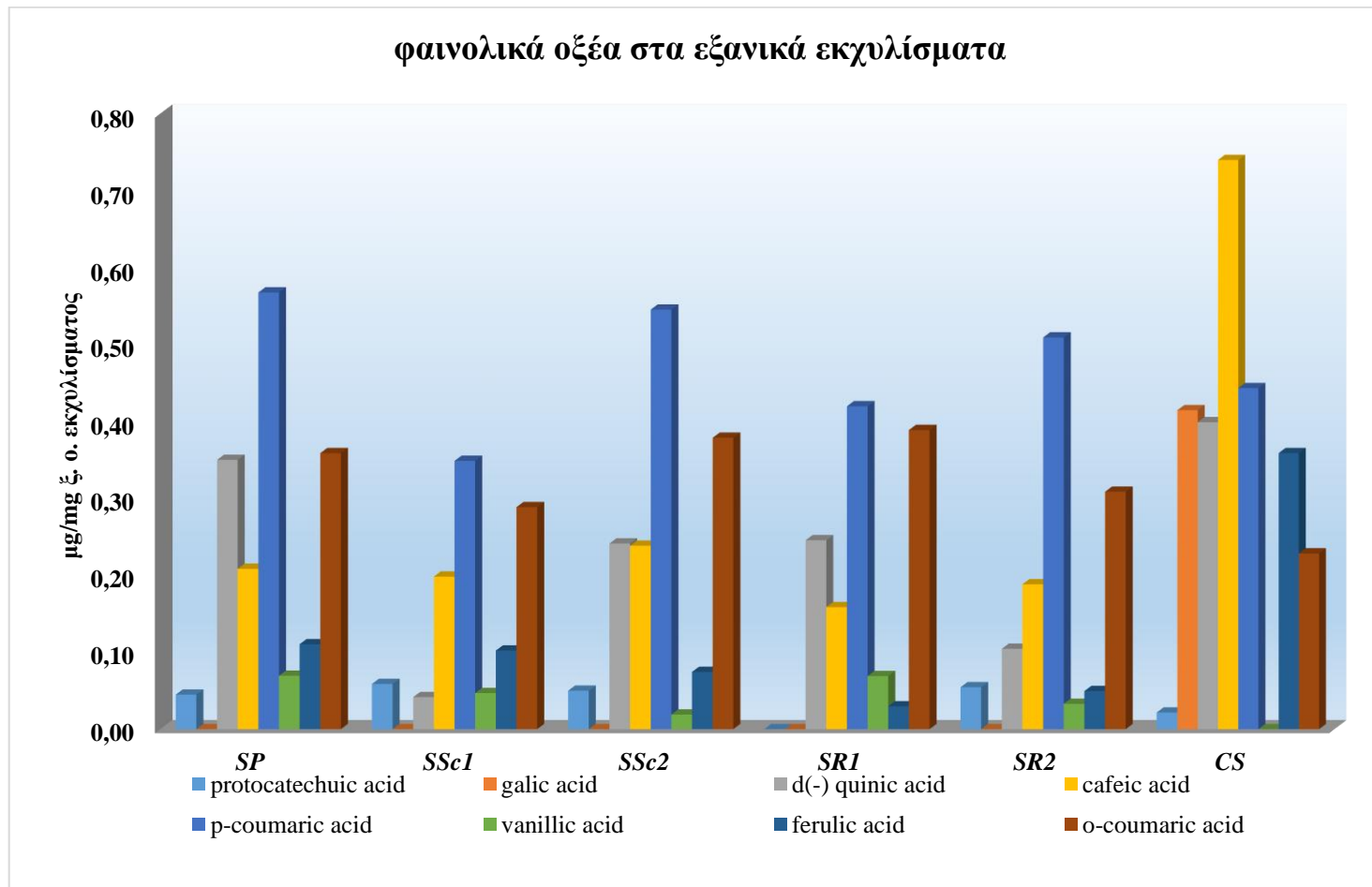
Γράφημα 6-21 : Χρωματογράφημα ιόντος, φάσμα ακριβούς μάζας, μοριακός τύπος στο UHPLC/LTQ-ORBITRAP (αρνητικό ιοντισμό) για την ουσία d(-) quinic acid στο μεθανολικό εκχύλισμα SSc1



Γράφημα 6-22: Επίπεδα συγκέντρωσης φαινολικών οξέων στα υδατικά εκχυλίσματα SP, SS1, SS2, SR1, SR2, CS



Γράφημα 6-23 : Επίπεδα συγκέντρωσης φαινολικών οξέων στα μεθανολικά εκχυλίσματα SP, SSc1, SSc2, SR1, SR2, CS



Γράφημα 6-24 : Επίπεδα συγκέντρωσης φαινολικών οξέων στα εξανικά εκχυλίσματα SP, SSc1, SSc2, SRI, SR2, CS

6.3.2. Φλαβονοειδή

Από τα φλαβονοειδή, τα υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης παρουσίασαν τα aco-all-glc-isc, aco-all-glc-hyp-me και τα δύο echinacin isomer. Ειδικότερα, σε όλα τα εκχυλίσματα των taxa *Sideritis* βρέθηκαν η aco-all-glc-isc με επίπεδα συγκέντρωσης 0,01 – 24,45 µg/mg ξ.ο εκχυλίσματος (PrAE). με την υψηλότερη τιμή να αντιστοιχεί στο μεθανολικό εκχύλισμα του *SSc1* και η aco-all-glc-hyp-me με επίπεδα συγκέντρωσης 0,52 – 28,92 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος (PrAE) με την υψηλότερη τιμή να αντιστοιχεί στο μεθανολικό εκχύλισμα του *SP*. Επίσης, σε υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης προσδιορίστηκαν τα δύο ισομερή της echinacin η οποία δε βρέθηκε σε κανένα εκχύλισμα του *SP*, με τιμές μεταξύ 0,10 – 10,28 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος (PrAE). με την υψηλότερη τιμή να αντιστοιχεί στο μεθανολικό εκχύλισμα του *SSc2*. Η isoscutellarein-7-O-(allosyl(1-2)glucoside) δε βρέθηκε επίσης σε κανένα εκχύλισμα του *SP*, τα δε επίπεδα συγκέντρωσης για τα υπόλοιπα εκχυλίσματα προσδιορίστηκε σε επίπεδα μεταξύ 0,32 – 4,08 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος (PrAE). με την υψηλότερη τιμή να αντιστοιχεί στο υδατικό εκχύλισμα του *SSc1*. Όλα τα προαναφερόμενα φλαβονοειδή έχουν βρεθεί στο γένος *Sideritis* [25] [30] [39] [40], όμως από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας δεν έχουν βρεθεί μετρήσεις των αντίστοιχων επιπέδων συγκέντρωσης. Κανένα δε, από αυτά δε βρέθηκε στα εκχυλίσματα του. *CS*.

Η arigenin βρέθηκε σε όλα τα μεθανολικά και υδατικά εκχυλίσματα των taxa *Sideritis* σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,11-1,58 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος, με τα μεγαλύτερα επίπεδα συγκέντρωσης να εμφανίζονται στο *SR1*, ακολουθούν σε σχετικά όμοια επίπεδα τα *SSc1*, *SR2*, *SSc2*, ενώ στο *SP* βρέθηκε σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης. Η arigenin βρέθηκε στο *S. raeseri* από τους Gabrieli & Kokkalou, 1990 και στο *S. syriaca* [25], στα *S. raeseri*. και *S. scardica* 2007 [26], *S. scardica* Griseb [4].

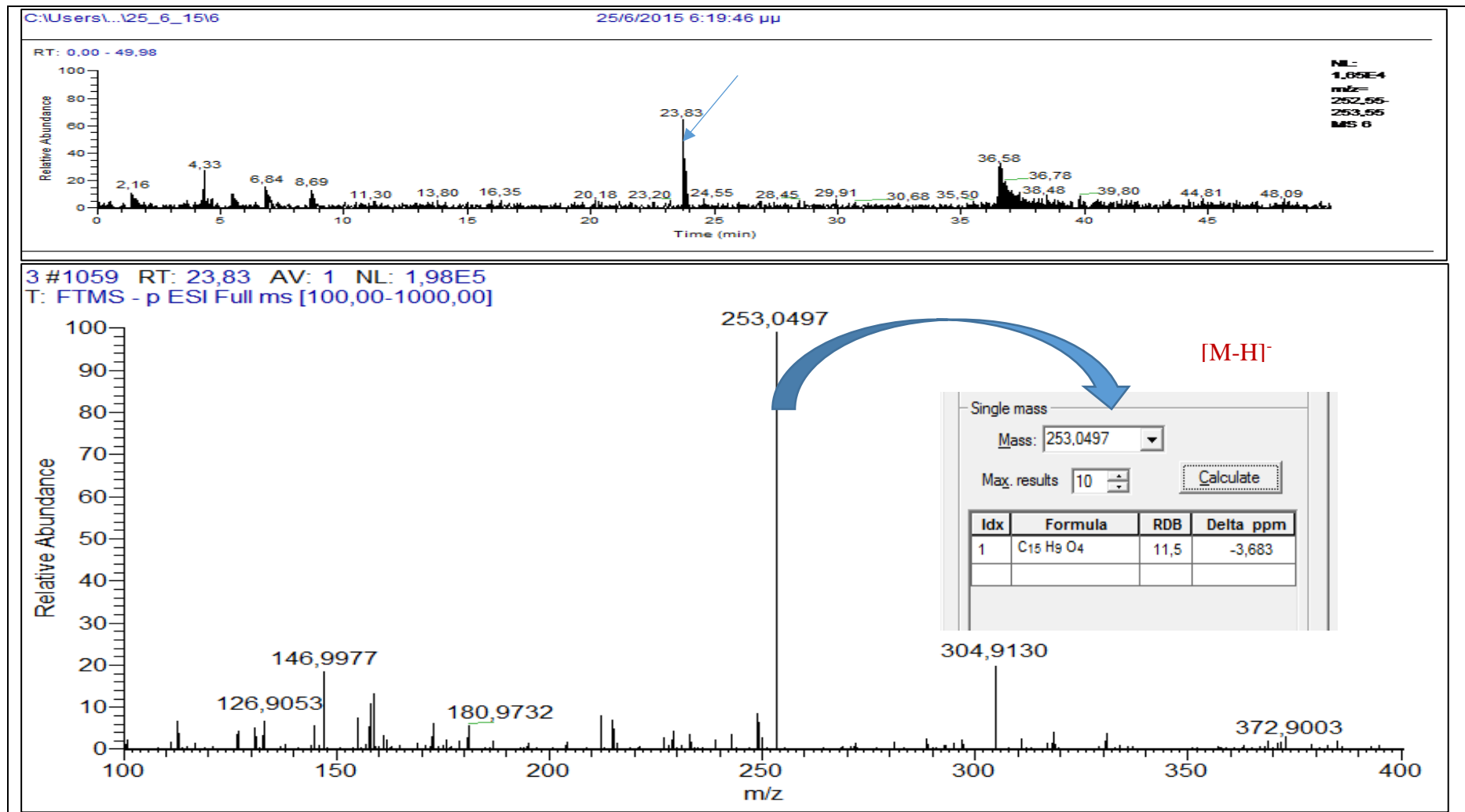
Η chrysin βρέθηκε στα μεθανολικά εκχυλίσματα των *SSc1*, *SSc2* και *SP*, σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,11-0,6 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος με την υψηλότερη συγκέντρωση στο *SSc1*. Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, έχει βρεθεί στο *S. syriaca* [27]. Η quercetin βρέθηκε στο υδατικό και μεθανολικό εκχύλισμα του *CS* σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,71 και 1.69 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος αντίστοιχα και σε ίχνη στο εξανικό εκχύλισμα αυτού. Ανιχνεύτηκε επίσης, στο μεθανολικό εκχύλισμα *SRI* σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,03 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος καθώς και σε ίχνη στο υδατικό του εκχύλισμα. Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, έχει βρεθεί στο *S. syriaca* [27].

Η luteolin βρέθηκε στο υδατικό και μεθανολικό εκχύλισμα του *CS* σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,1 & 1,13 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος, στο μεθανολικό εκχύλισμα του *SSc1* σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,71 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος, καθώς και σε ίχνη στα μεθανολικά εκχυλίσματα των ειδών *SRI* και *SR2*. Από τη βιβλιογραφία, έχει βρεθεί στο *S. scardica Griseb* [21].

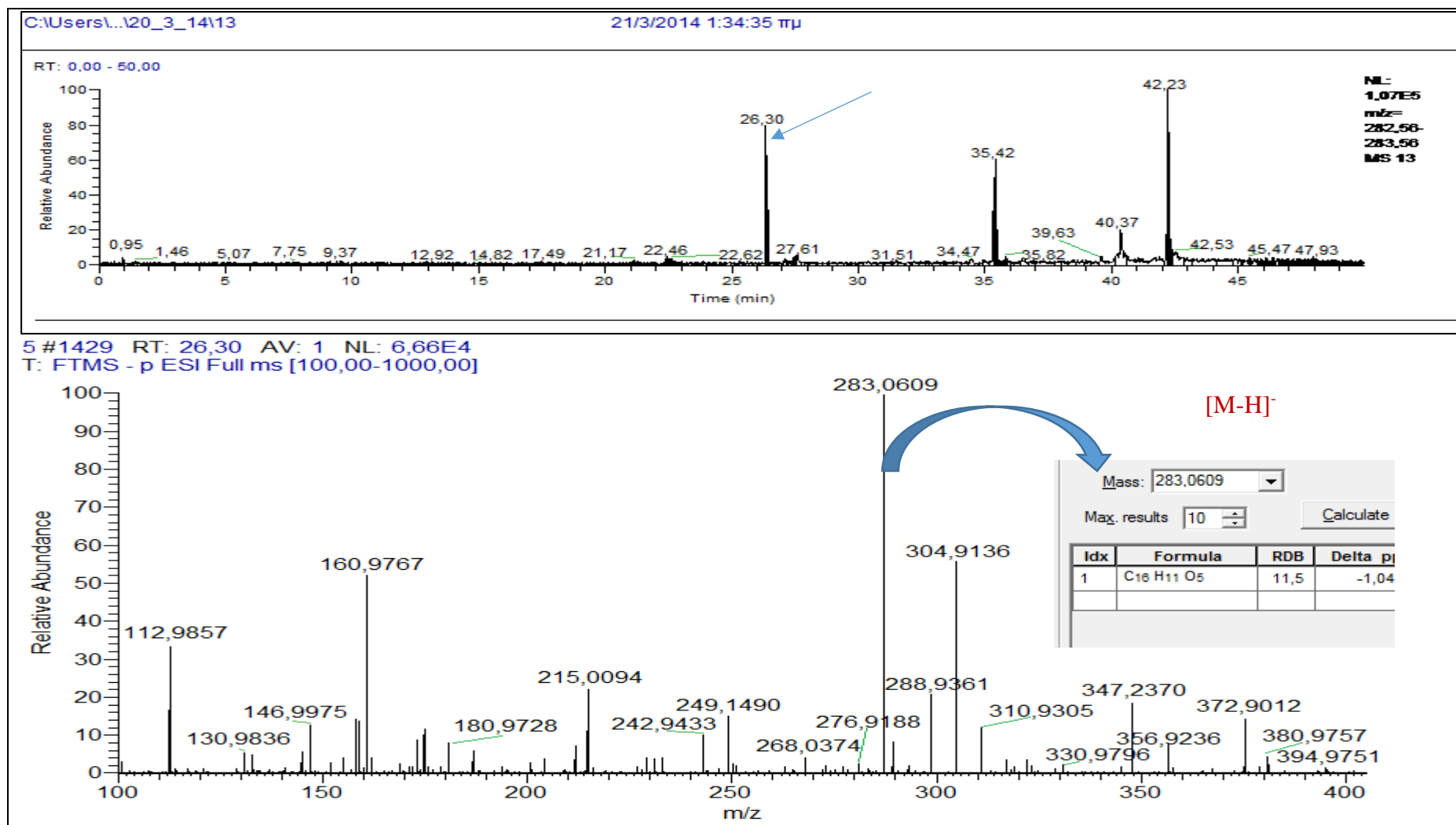
Η luteolin βρέθηκε στο υδατικό και μεθανολικό εκχύλισμα του *CS* σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,1 & 1,13 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος, στο μεθανολικό εκχύλισμα του *SSc1* σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,71 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος, καθώς και σε ίχνη στα μεθανολικά εκχυλίσματα των ειδών *SRI* και *SR2*. Από τη βιβλιογραφία, έχει βρεθεί στο *S. scardica Griseb* [21].

Η luteolin-7-0-glucoside βρέθηκε σε ίχνη στα μεθανολικά εκχυλίσματα των *SSc1* και *SR2*. Από τη βιβλιογραφία, έχει βρεθεί στο *S. scardica Griseb* [21].

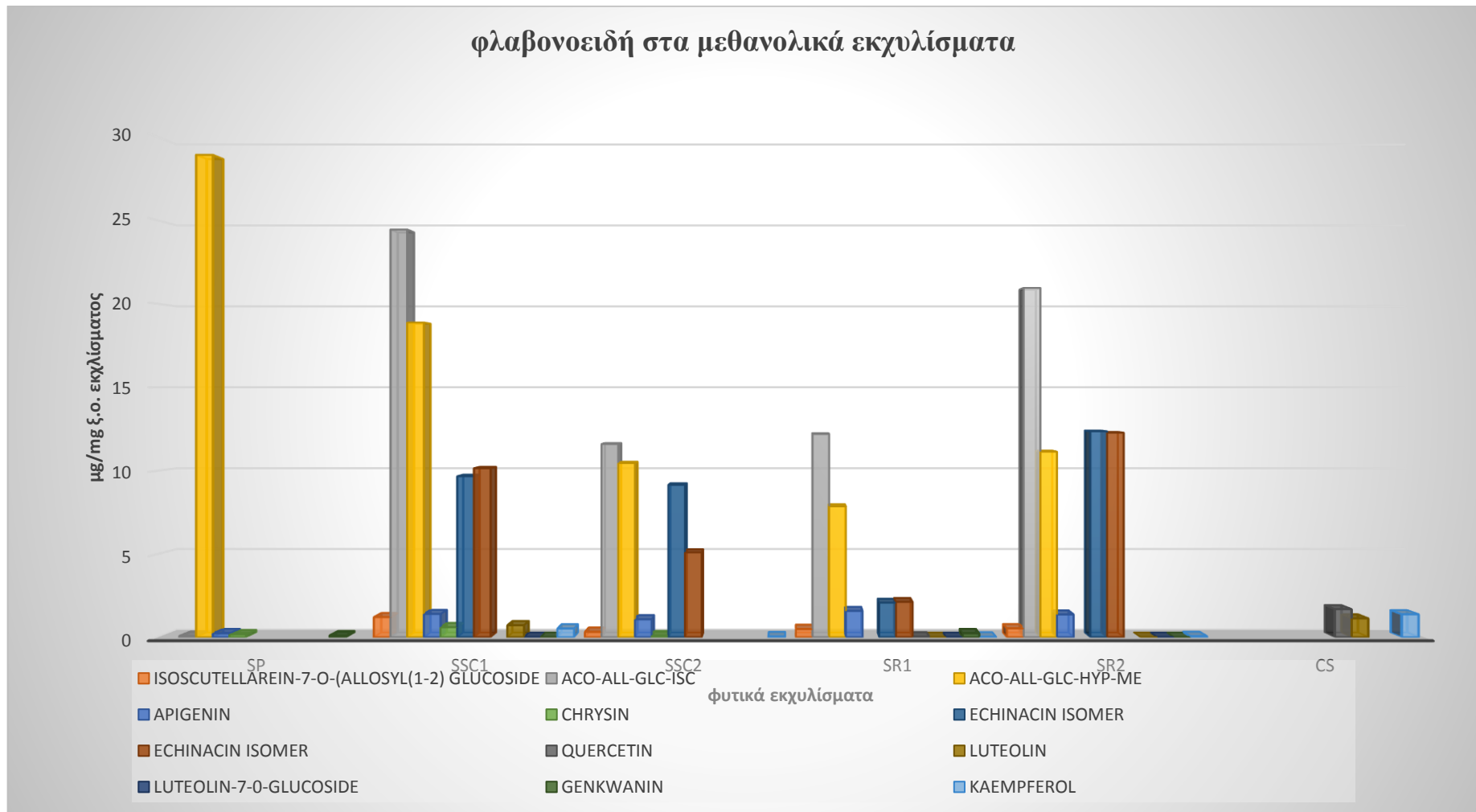
Η genkwanin βρέθηκε στα μεθανολικά εκχυλίσματα των *SP* και *SRI* σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,11 και 0,23 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος, και σε ίχνη των *SSc1* και *SR2*. Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας έχει βρεθεί στο *S. perfoliata ssp.perfoliata* [34].



Γράφημα 6-25 : Χρωματογράφημα ιόντος, φάσμα ακριβούς μάζας, μοριακός τύπος στο UHPLC/LTQ-ORBITRAP (αρνητικό ιοντισμό) για την ουσία chrysin στο μεθανολικό εκχύλισμα SSc1



Γράφημα 6-26 : Χρωματογράφημα ιόντος, φάσμα ακριβούς μάζας, μοριακός τύπος στο UHPLC/LTQ-ORBITRAP (αρνητικό ιοντισμό) για την ουσία genkwanin στο μεθανολικό εκχύλισμα SP



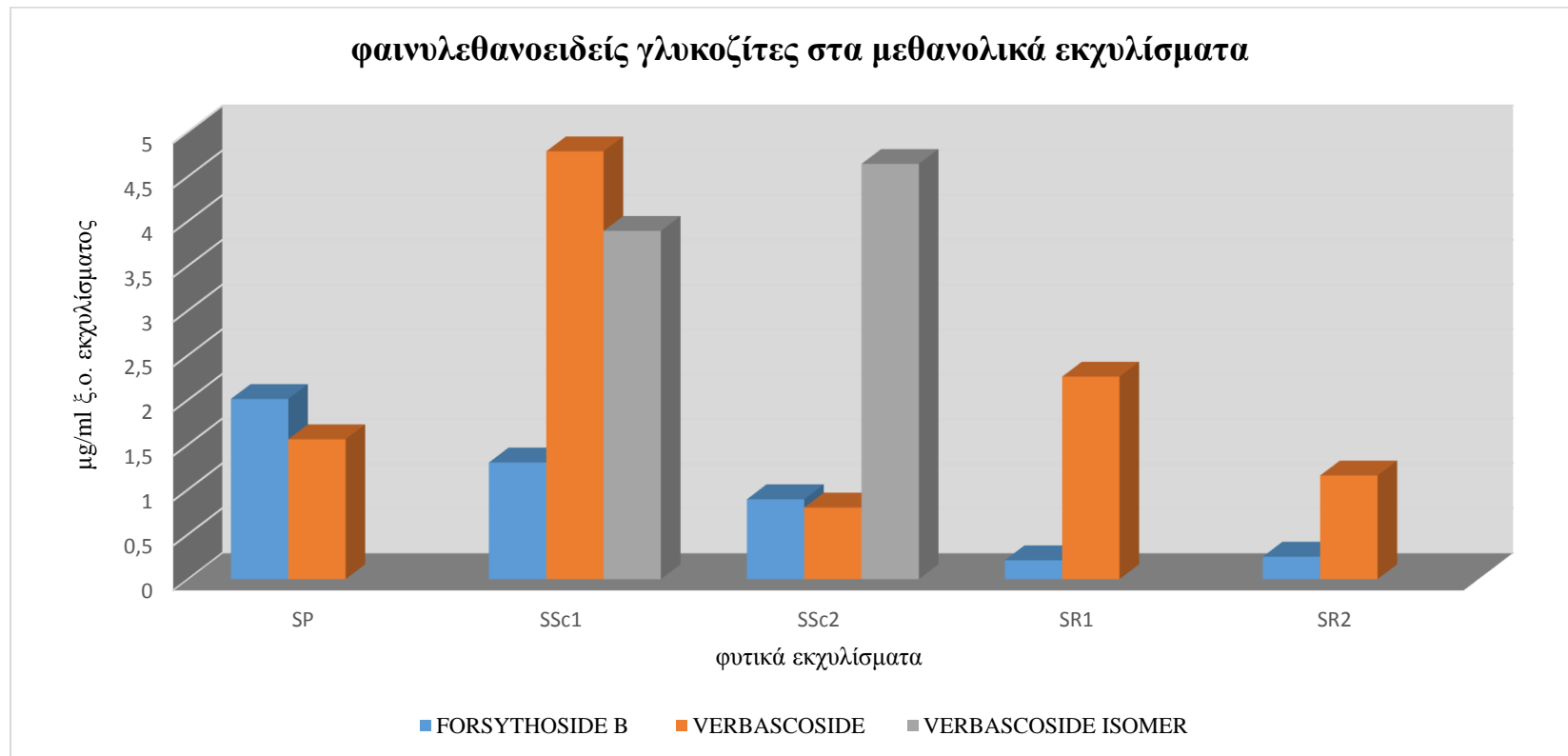
Γράφημα 6-27 : Επίπεδα συγκέντρωσης φλαβονοειδών στα μεθανολικά εκχυλίσματα SP, SSC1, SSC2, SR1, SR2, CS

Η kaempferol βρέθηκε σε επίπεδα συγκέντρωσης σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,01-1,39 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος στα υδατικά και μεθανολικά εκχυλίσματα του CS και των SSc1, SSc2, καθώς και στα μεθανολικά εκχυλίσματα των SR1, SR2. Τα επίπεδα συγκέντρωσης στο CS είναι πολλαπλάσια υψηλότερα των μελετώμενων taxa *Sideritis*. Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας βρέθηκε στο *S. euboica Helder* από τους Tsaknis & Lalas, 2005 [28].

Από τον προσδιορισμό των φλαβονοειδών, προκύπτει ότι βρέθηκαν συχνότερα στους πολικούς διαλύτες, ενώ τα υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης παρουσιάζονται κυρίως στο διαλύτη μεθανόλη.

6.3.3. Φαινυλεθανοειδείς γλυκοζίτες

Η verbascoside βρέθηκε σε όλα τα εκχυλίσματα των taxa *Sideritis*, σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,05 – 4,78 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος, με τα υψηλότερα επίπεδα (πολλαπλάσια των άλλων) να αντιστοιχούν στο μεθανολικό εκχύλισμα του SSc1. Οι φαινυλεθανοειδείς γλυκοσίδες έχουν απομονωθεί από τα αέρια μέρη αρκετών ειδών *Sideritis*, η δε verbascoside είναι γνωστή για τις αντιπολλαπλασιαστικές, κυτταροτοξικές, αντιοξειδωτικές και αντιμεταστατικές ιδιότητές της [29]. Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, έχει βρεθεί στα *S. scardica*, *S. raeseri* [30], σε καλλιεργούμενο υβρίδιο *S. scardica*×*S. syriaca* [31], στο *S. perfoliata ssp.perfoliata* ως Acteoside (= Verbascoside) [20]. Το ισομερές της verbascoside βρέθηκε μόνο σε όλα τα εκχυλίσματα των SSc1, SSc2 σε επίπεδα συγκέντρωσης 4,64 – 2,77 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος PrAE, ενώ η forsythoside B σε όλα τα εκχυλίσματα των taxa *Sideritis* σε επίπεδα συγκέντρωσης 0,25 – 1,36 / 4,64 – 2,77 µg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος PrAE. Τα υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης βρέθηκαν στα μεθανολικά εκχυλίσματα. Δε βρέθηκε καμία από τις πιο πάνω φαινυλεθανοειδείς γλυκοσίδες στο CS.



Γράφημα 6-28: Επίπεδα συγκέντρωσης για τα φυτικά εκχυλίσματα SP, SSc1, SSc2, SR1, SR2, verbascoside μg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος, forsythoside B & isomer verbascoside μg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος PrAE

6.3.4. Φλαβαν 3 όλες

Η (-)-epigallocatechin gallate / EGCG και η (+) - Catechin / C ανιχνεύτηκαν σε όλα τα εκχυλίσματα του *CS*. Αποτελούν εξάλλου, τα χαρακτηριστικά συστατικά του *C. sinensis* (*green tea*). Στα μελετώμενα εκχυλίσματα των taxa *Sideritis* δεν βρέθηκαν. Από τη βιβλιογραφία, η (+) - Catechin / C, έχει βρεθεί σε ίχνη στο υδατικό εκχύλισμα του *S. raeseri* [10], καθώς και σε μετρήσιμη ποσότητα σε υδατικό εκχύλισμα του *S. syriaca* [27], ενώ δεν ανιχνεύτηκε στο *S. scardica* Griseb [23].

6.3.5. Μονοτερπενοειδή

Η carvacrol ανιχνεύτηκε σε ίχνη στα εξανικά εκχυλίσματα των *SSc2* και *SRI*. Η thymol ανιχνεύτηκε στο *SSc1*. Και τα δυο μονοτερπεδοειδή έχουν βρεθεί σε σημαντικές ποσότητες στα αιθέρια έλαια των *S. scardica*, *S. raeseri*, *S. syriaca* [21] [27][32].

6.3.6. Σεσκιτερπένια

Το σεσκιτερπένιο 1a-acetoxy-8a-hydroxy-2-oxoeudesman-3,7(11)-dien-8,12-olide προσδιορίστηκε σε όλα τα εκχυλίσματα του SP, ενώ βρέθηκε για πρώτη φορά στο γένος *Sideritis*.

6.3.7. Τριτερπενοειδή

Η erythrodiol, από τις βιβλιογραφικές αναφορές έχει βρεθεί στο *S. discolor* [29], δεν ανιχνεύτηκε όμως πουθενά στα μελετώμενα taxa, ενώ το urcolic acid ανιχνεύτηκε σε όλα τα εξανικά εκχυλίσματα των taxa *Sideritis*.

Από τη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν δημοσιευμένα στοιχεία για την erythrodiol και το urcolic acid που να αφορούν την αντίχνευσή της σε είδη του *Sideritis* που σχετίζονται με τα μελετώμενα. Το urcolic acid αφθονεί στην οικογένεια Lamiaceae και έχει απομονωθεί από

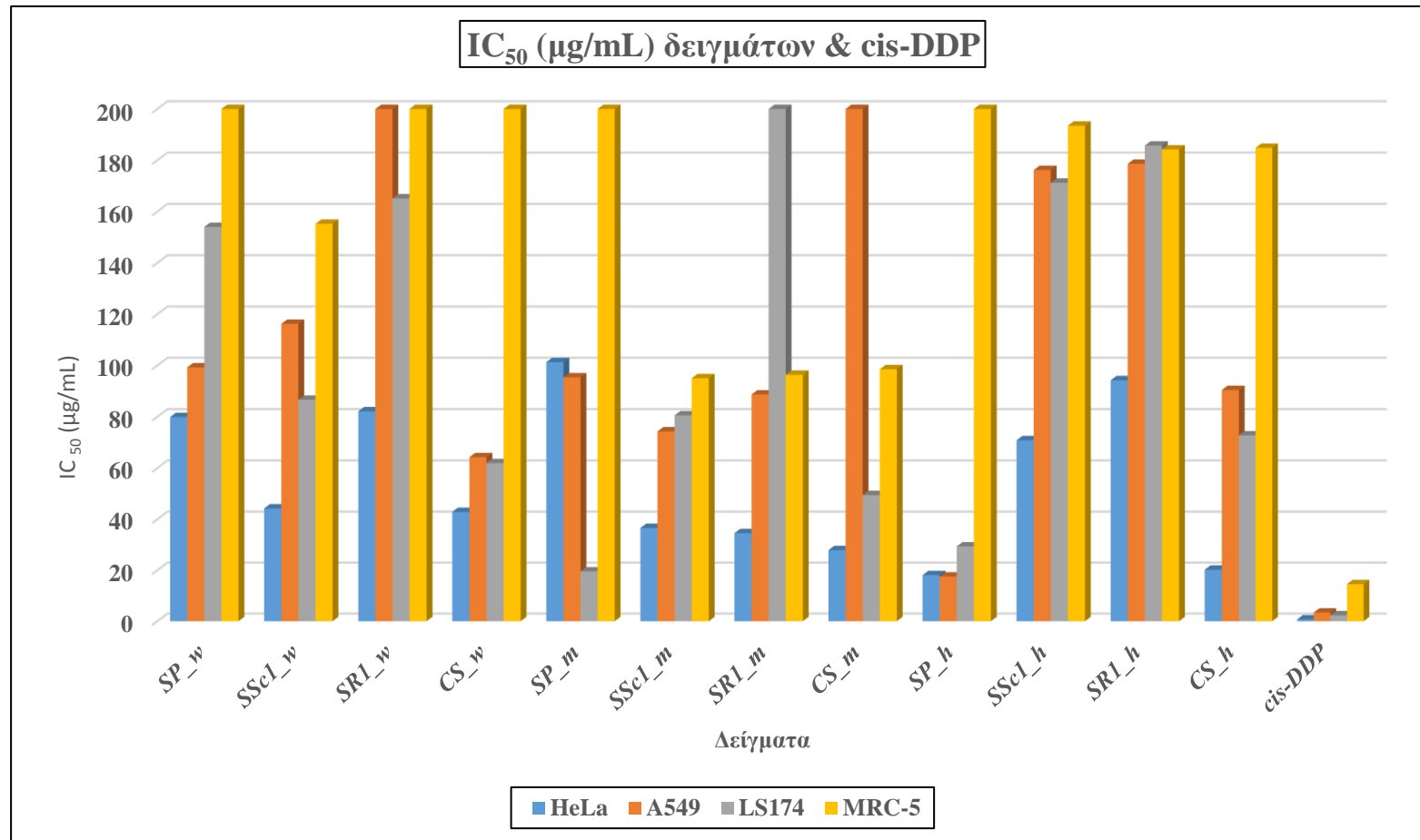
μερικά είδη της Τουρκίας. Η erythrodiol έχει ανιχνευτεί στο είδος *Sideritis discolor* ενώ το urcolic acid έχει ανιχνευτεί στα είδη *S. discolor*, *S. candicans* var. *eriocephala*, *S. lotsyi* var. *mascaensis* and *S. soluta* από τα Κανάρια νησιά [33].

6.4. *In vitro* κυτταροτοξική δράση

Η κυτταροτοξικότητα ελέγχθηκε *in vitro* έναντι τριών κυτταρικών σειρών και συγκρίθηκε με το cis-Diamminadichloroplatinum (*cis-platin*) για τα *SP*, *SRI*, *SSc1.*, και *CS* και για τους τρεις διαλύτες (μεθανόλη, νερό, εξάνιο). Η σειρά με τα φυσιολογικά κύτταρα ανθρώπινου ιστού πνεύμονα, χρησιμοποιήθηκε για να διαπιστωθεί τυχόν επιλεκτική δράση. Η κυτταροτοξικότητα *in vitro* εκφράζεται με το δείκτη IC_{50} (μg/mL). Τα αποτελέσματα, από τον έλεγχο της κυτταροτοξικής δράσης *in vitro* των δειγμάτων, παρουσιάζονται αμέσως κάτω, στους πίνακες 6.21, 6.22. και με γραφική απεικόνιση στο γράφημα 6.29.

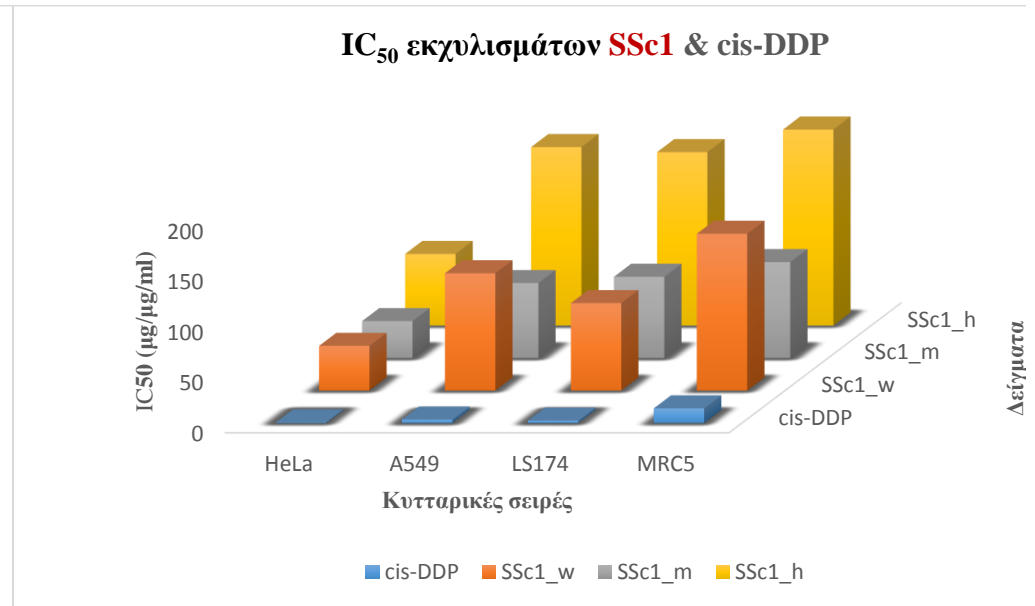
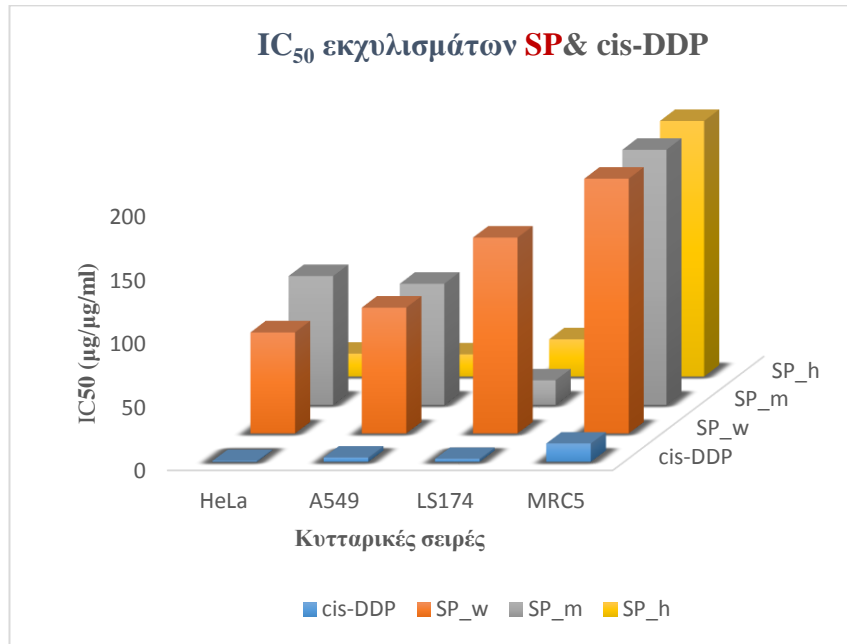
Πίνακας 6-21: Συγκεντρώσεις (μg/mL) των εκχυλισμάτων και της σύμπλοκης ένωσης του λευκόχρυσου cisplatin, που προκάλεσαν νέκρωση 50% σε κακοήγη κύτταρά των σειρών HeLa, A549, LS174 και σε φυσιολογικά κύτταρα της σειράς MRC5. Η επώαση των κυττάρων στα εκχυλίσματα διήρκησε 72ώρες, ± SD (n=3).

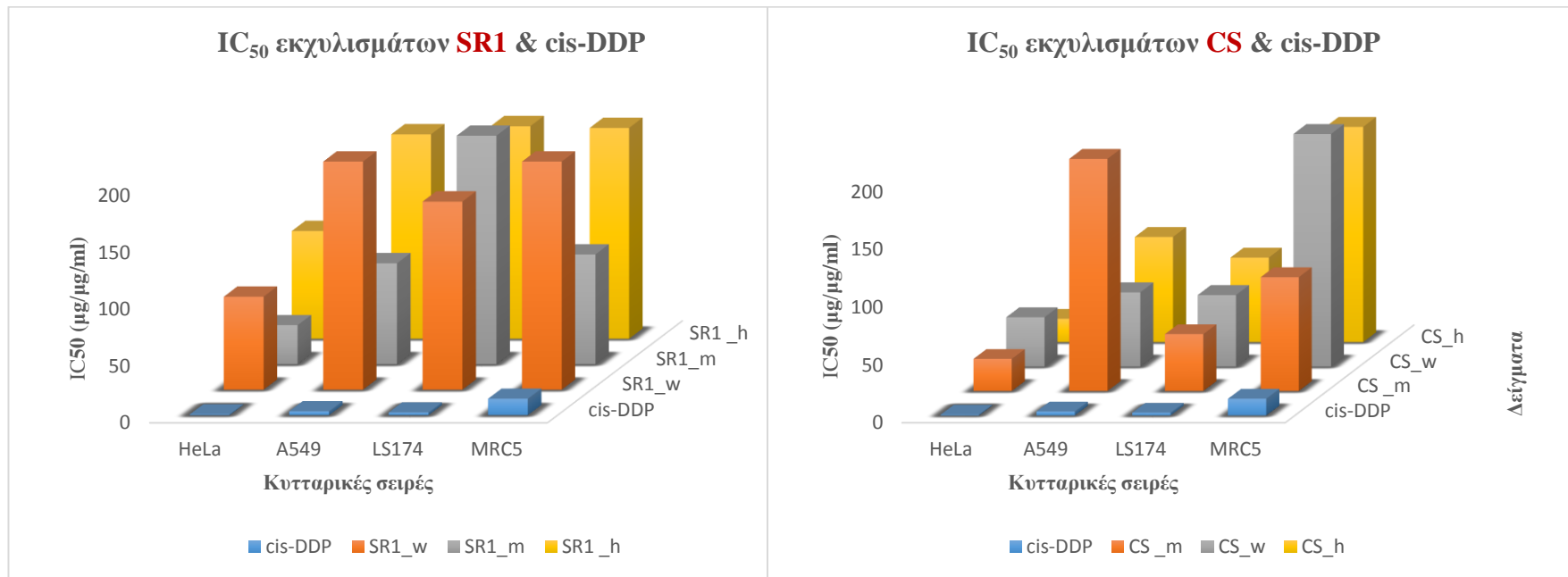
Δείγματα		IC ₅₀ (μg/mL)			
		HeLa	A549	LS174	MRC-5
1	SP _w	79,91 ± 3,85	99,27 ± 2,24	154,02 ± 3,56	>200
2	SScI _w	44,26 ± 1,09	116,24 ± 3,12	86,65 ± 2,57	155,24 ± 1,59
3	SRI _w	82,13 ± 2,44	>200	165,13 ± 3,48	>200
4	CS _w	42,89 ± 0,26	64,26 ± 1,53	61,95 ± 0,67	>200
5	SP _m	101,32 ± 1,41	95,37 ± 2,28	19,55 ± 1,84	>200
6	SScI _m	36,61 ± 1,89	74,31 ± 1,53	80,56 ± 1,73	95,04 ± 2,38
7	SRI _m	34,56 ± 2,48	88,71 ± 0,59	>200	96,374 ± 1,52
8	CS _m	27,91 ± 2,65	>200	49,48 ± 2,32	98,54 ± 2,16
9	SP _h	18,08 ± 0,33	17,53 ± 1,06	29,35 ± 1,15	>200
10	SScI _h	70,87 ± 1,23	176,21 ± 1,59	171,25 ± 3,43	193,49 ± 2,43
11	SRI _h	94,25 ± 3,57	178,63 ± 2,11	185,74 ± 1,69	184,20 ± 1,82
12	CS _h	20,21 ± 0,68	90,44 ± 2,47	72,76 ± 1,09	184,83 ± 2,37
13	cis-DDP	0,71 ± 0,19	3,42 ± 0,23	2,33 ± 0,16	14,54 ± 0,31



Γράφημα 6-29 : Γραφική απεικόνιση των συγκεντρώσεων (μg/mL) των εκχυλισμάτων και της cis-DDP, που προκάλεσαν νέκρωση 50% σε κακοήθη κύτταρά των σειρών HeLa, A549, LS174 και σε φυσιολογικά κύτταρα της σειράς MRC5. υδατικό w, μεθανόλη :m, εξάνιο: h.

Πίνακας 6-22 : Συγκριτική παρουσίαση των συγκεντρώσεων που προκάλεσαν νέκρωση κατά 50% στις κυτταρικές σειρές των *Sideritis raeseri* Boiss & Heldr ssp *raeseri*, *Sideritis scardica* Griseb, *Sideritis perfoliata* ssp. *perfoliata* και *C. sinensis* (green tea) και στους τρεις διαλύτες (μεθανόλη, νερό, εξάνιο), με το *cis-Diamminadichloroplatinum* (*cis-platin*), υδατικό w, μεθανόλη :m, εξάνιο: h.





Στο taxon *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp *raeseri*_Συρράκο (SR1), η συγκριτική αξιολόγηση της κυτταροτοξικότητας για τα εκχυλίσματα αυτού στους τρεις διαλύτες, έδειξε ότι τη μεγαλύτερη δράση εμφάνισε το μεθανολικό εκχύλισμα στην καρκινική σειρά κυττάρων HeLa, καθώς η συγκέντρωση για την νέκρωση του 50% αυτών (IC₅₀) βρέθηκε 34.56 (± 2.48) µg/mL. Για την ίδια καρκινική σειρά κυττάρων, στο υδατικό εκχύλισμα και στο εξανικό εκχύλισμα, οι τιμές IC₅₀ βρέθηκαν 82,13 (± 2,44) µg/mL και 94,25 (± 3,57) µg/mL αντίστοιχα. Για τις υπόλοιπες καρκινικές σειρές, βρέθηκαν μεταξύ 165,13 (± 3,48) μέχρι > 200 µg/mL, εκτός από την περίπτωση του μεθανολικού εκχυλίσματος για την καρκινική σειρά A549 όπου η τιμή IC₅₀ βρέθηκε 88,71 (± 0,59) µg/mL. Για τη φυσιολογική σειρά κυττάρων MRC-5 οι τιμές IC₅₀ κυμάνθηκαν από 96,374 (± 1,52) µg/mL μέχρι >200 µg/mL, οι οποίες συγκρινόμενες με τα αποτελέσματα στην καρκινική σειρά HeLa εμφανίζουν μια επιλεκτική δράση καθώς είναι δύο και τρεις φορές μεγαλύτερες. Δεν ισχύει το ίδιο για τις άλλες καρκινικές σειρές.

Στο taxon *S. scardica* Griseb_Ροδιανή (SSc1), τη μεγαλύτερη δράση έδειξε το μεθανολικό και υδατικό εκχύλισμα για την καρκινική σειρά κυττάρων HeLa, καθώς η συγκέντρωση για την νέκρωση του 50% αυτών (IC₅₀) βρέθηκε 36,61 (± 1,89) µg/mL και 44,26 (± 1,09) µg/mL αντίστοιχα. Το εξανικό εκχύλισμα εμφάνισε μικρότερη δραστηριότητα, καθώς βρέθηκε τιμή IC₅₀ 70,87 (± 1,23) µg/mL, στην ίδια καρκινική σειρά. Ενδιαφέρον, παρουσιάζει η δραστηριότητα του μεθανολικού εκχυλίσματος για τις καρκινικές σειρές A549 και LS174 με τιμές IC₅₀ 74,31 (± 1,53) µg/mL και 80,56 (± 1,73) µg/mL αντίστοιχα, όπως και του υδατικού εκχυλίσματος για την καρκινική σειρά LS174 με τιμή IC₅₀ 86,65 (± 2,57) µg/mL. Όλα τα εκχυλίσματα εμφάνισαν, κάποια επιλεκτική συμπεριφορά ως προς τη φυσιολογική σειρά κυττάρων MRC-5, καθώς οι τιμές IC₅₀, οι οποίες κυμάνθηκαν από 95,04 (± 2,38) µg/mL μέχρι 193,49 (± 2,43) µg/mL, βρέθηκαν υψηλότερες από αυτές των καρκινικών σειρών σε όλες τις περιπτώσεις.

Το taxon *S. perfoliata* L. ssp *perfoliata* , παρουσίασε τη μεγαλύτερη κυτταροτοξική δράση για όλες τις καρκινικές σειρές. Ειδικότερα, το εξανικό εκχύλισμα παρουσίασε τη μεγαλύτερη κυτταροτοξική δράση και στις τρεις καρκινικές σειρές (HeLa, A549, LS174 οι τιμές IC₅₀ είναι 18,08 (± 0,33) µg/mL, 17,53 (±1,06) µg/mL, 29,35 (± 1,15) µg/mL αντίστοιχα). Ανάλογη τιμή IC₅₀, 19,55 (± 1,84) µg/mL, βρέθηκε για το μεθανολικό εκχύλισμα και για την καρκινική σειρά LS174. Στο μεθανολικό εκχύλισμα, για τις σειρές HeLa, A549 οι τιμές IC₅₀ βρέθηκαν 101,32 (± 1,41) µg/mL και 95,37 (± 2,28) µg/mL αντίστοιχα. Το δε υδατικό διάλυμα έδειξε τιμές IC₅₀ 79,91 (± 3,85) µg/mL, 99,27 (± 2,24) µg/mL, 154,02 (± 3,56) µg/mL για τις σειρές HeLa, A549, LS174 αντίστοιχα. Όλα τα εκχυλίσματα εμφάνισαν επιλεκτική συμπεριφορά ως προς τη φυσιολογική σειρά κυττάρων MRC-5, καθώς οι τιμές IC₅₀ βρέθηκαν υψηλότερες αυτών των καρκινικών και όλες >200 µg/mL.

Από τον έλεγχο της κυτταροτοξικής δράσης, μεταξύ των taxa *Sideritis* το taxon *S. perfoliata* L. ssp *perfoliata*, παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον και για τις τρεις καρκινικές σειρές. Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον συγκεντρώνει το εξανικό του εκχύλισμα, για την κυτταροτοξική του δράση και στις τρεις καρκινικές κυτταρικές σειρές, σε συνάρτηση με την επιλεκτική δράση του απέναντι στη σειρά φυσιολογικών κυττάρων. Συγκρινόμενο με τα αποτελέσματα του εξανικού εκχυλίσματος του *C. sinensis* (*green tea*), οι τιμές IC₅₀ βρέθηκαν κατά 1,1 / 5,2 / 2,5 φορές μικρότερες για τις σειρές HeLa, A549 και LS174 αντίστοιχα. Ενδιαφέρον, επίσης στο ίδιο taxon συγκεντρώνει και το μεθανολικό του εκχύλισμα για τη σειρά LS174, με την τιμή IC₅₀ να είναι 2,5 φορές μικρότερη από το μεθανολικό εκχύλισμα του *C. sinensis* (*green tea*).

Από τη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, τα αποτελέσματα για την *in vitro* κυτταροτοξική δράση μεθανολικών εκχυλισμάτων *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis* (σε συγκεντρώσεις 25 µg/mL - 250 µg/mL) ενάντια στις καρκινικές σειρές Vero, HeLa and C6 cells έδειξαν δραστηριότητα, από τις τιμές IC₅₀ [35]. Επίσης, από την ανασκόπηση της

βιβλιογραφίας, εκχυλίσματα *Sideritis scardica* Griseb με διαλύτες αιθανόλη, διαιθυλαιθέρα, οξικό αιθυλεστέρα, βουτανόλη ελέγχθηκαν ως προς την κυταροτοξικότητα στις καρκινικές σειρές PBMC, B16, και HL-60, και εμφάνισαν ενδιαφέρον [36].

Επίσης, από τη βιβλιογραφία, το αιθέριο έλαιο του είδους *Sideritis perfoliata* παρουσίασε ενδιαφέρουσα κυταροτοξική δράση για τις καρκινικές σειρές του αμελανωτικού μελανώματος C32 και του αδενοκαρκινώματος του νεφρού ACHN [7].

6.5. Βιβλιογραφικές Αναφορές

Ξενόγλωσσες Βιβλιογραφικές Αναφορές

- [1] Alipieva K., Petreska J., Gil-Izquierdo. Á., Stefova M., Evstatieva L., Bankova V. (2010), Influence of the Extraction Method on the Yield of Flavonoids and Phenolics from *Sideritis* spp. (Pirin Mountain tea), *Natural Product Communications* Vol. 5 (1), 51-54.
- [2] Farhoosh R.; Golmovahhed, G. A. Khodaparast, M. H.H. (2007) Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis* L.), *Food Chemistry* 100, 231–236.
- [3] Erdogan-Orhan I., Baki E., Şenol S., Yilmaz G. (2010). Sage-called plant species sold in Turkey and their antioxidant activities. *J. Serb. Chem. Soc.*, 75(11), 1491–1501.
- [4] Radojević, I. D., Stanković, M. S., Stefanović, O. D., Topuzović, M. D., & Čomić, L. R. (2012). Antioxidative and antimicrobial properties of different extracts from *Sideritis montana* L., *Romanian Biotechnological Letters*, 17 (2).
- [5] Acharya P. P. , Genwali G. R., Rajbhandari M. (2013). Isolation of catechin from *Acacia catechu* Willdenow estimation of total flavonoid content in *Camellia sinensis* kuntze and *Camellia sinensis* kuntze var. *assamica* collected from different geographical region and their antioxidant activities, *Scientific World*, Vol. 11 (11).
- [6] Stankovic M. S., Niciforovic N., Topuzovic M., Solujic S. (2011), Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity, of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium montanum* l. var. *montanum*, f. *supinum* (L.) Reichenb., *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.*, 25(1), 2222-2227.
- [7] Marston A. and Hostettmann K. (2006) In: *Flavonoids-Chemistry, Biochemistry and Applications* (M. Andersen, K.R. Markham, Eds.), Taylor & Francis Group, London, 2-3.
- [8] Karapandzova M., Qazimi B., Stefkov G., Bačevac K., Stafilov T., Panovska T. K., Kulevanova S., (2013), Chemical Characterization, Mineral Content and Radical Scavenging Activity of *Sideritis scardica* and *S. raeseri* from R. Macedonia and R. Albania. *Natural Product Communications*, 8 (5), 639 - 644.
- [9] Tadić V. M., Bojović D., Arsić I., Đorđević S., Aksentijević K., Stamenić M., Janković S. (2012a) Chemical and antimicrobial evaluation of supercritical and conventional *Sideritis scardica* Griseb., *Lamiaceae* extracts *Molecules*, 17 (3), 2683–2703.
- [10] Menković N., Gođevac D., Šavikin K., Zdunić G., Milosavljević S., Bojadži A., Avramoski O. (2013) Bioactive Compounds of Endemic Species *Sideritis raeseri* subsp. *raeseri* Grown in National Park Galičica *Records Natural Products*, 7 (3), 161-168.

- [11] Tunalier, Z., Kosar, M., Ozturk, N., Baser, K. H. C., Duman, H., & Kirimer, N. (2004). Antioxidant properties and phenolic composition of *Sideritis* species. *Chemistry of Natural Compounds*, 40 (3), 206-2010.
- [12] Turkmen Erol N., Sari F., Calikoğlu E., Velioglu Y. S. (2009), Green and roasted mate: phenolic profile and antioxidant activity, *Turk J Agric For* 33, 353-362.
- [13] Chan E. W. C., Soh E. Y., Tie P. P., & Law Y. P. (2011). Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Pharmacognosy Res.*, 3 (4), 266–272.
- [14] Atoui A. K., Mansouri A., Boskou G., Kefalas P. (2005), Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile, *Food Chemistry* 89, 27–36.
- [15] Anagnostopoulou M. A., Kefalas P., Papageorgiou V.P., Assimopoulou A. N., Boskou D. (2006), Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*), *Food Chemistry* 94 19–25.
- [16] Li X. , Wu X., Huang L. (2009), Correlation between Antioxidant Activities and Phenolic Contents of *Radix Angelicae Sinensis* (Danggui), *Molecules* 2009, 14, 5349-5361.
- [17] Stagos D., Portesis N., Spanou C., Mossialos D., Aligiannis N., Chaita E., Panagoulis C., Reri E., Skaltsounis L., Tsatsakis A. M., Kouretas D.(2012) Total phenolic content, antioxidant capacity, protective activity against hydroxyl (OH) and peroxy (ROO) radical-induced DNA damage, and antibacterial activity *Food and Chemical Toxicology*, 50, 4115–4124.
- [18] González-Burgos E., M. E. Carretero, M.P. Gómez-Serranillos (2011) *Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities—A review *Journal of Ethnopharmacology*, 135 (2), 209–225.
- [19] Chan E. W. C., Soh E. Y., Tie P. P., & Law Y. P. (2011). Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Pharmacognosy Res.*, 3 (4), 266–272.
- [20] Charami M. T., Lazari D., Karioti A., Skaltsa H., Hadjipavlou-Litina D., Souleles C. (2008) Antioxidant and Antiinflammatory Activities of *Sideritis perfoliata* subsp. *perfoliata* (Lamiaceae) *Phytotherapy Research*, 22, 450–454.
- [21] Tadić V. M., Jeremic I., Dobric, S., Isakovic, A., Markovic, I., Trajkovic, V., Bojovic D., Arsic, I. (2012). Anti-inflammatory, Gastroprotective, and Cytotoxic Effects of *Sideritis scardica* Extracts. *Journal of Medicinal Plant and Natural Product Research*, 78 (5), 415-427.
- [22] Samanidou V., Tsagiannidis A., Sarakatsianos I. (2012). Simultaneous determination of polyphenols and major purine alkaloids in Greek *Sideritis* species, herbal extracts, green tea, black tea, and coffee by high-performance liquid chromatography-diode array detection, *J. Sep. Sci.* 35, 608–615.

- [23] Proestos C. & Komaitis M. (2013), Analysis of Naturally Occurring Phenolic Compounds in Aromatic Plants by RP-HPLC Coupled to Diode Array Detector (DAD) and GC-MS after Silylation, *Foods*, 2, 90-99.
- [24] Stanoeva J. P., Bagashovska D., M. Stefova M. (2012). Characterization of urinary bioactive phenolic metabolites excreted after consumption of a cup of mountain tea, *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 31 (2), 229–243.
- [25] Armata M., Gabrieli C., Termentzi A., Zervou M., Kokkalou E. (2008). Constituents of *Sideritis syriaca* ssp. *syriaca* (Lamiaceae) and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 111, 179–186.
- [26] Janeska B., Stefova M., Alipieva K. (2007) Assay of flavonoid aglycones from the species of genus *Sideritis* (Lamiaceae) from Macedonia with HPLC-UV DAD. *Acta Pharmaceutica*, ;57 (3), 371–377.
- [27] Kogiannou D.A.A., Kalogeropoulos N., Kefalas P., Polissiou M.G., Kaliora A.C.(2013). Herbal infusions; their phenolic profile, antioxidant and anti-inflammatory effects in HT29 and PC3 cells. *Food Food and Chemical Toxicology* 61 152–159.
- [28] Fraga B.(2012), Phytochemistry and chemotaxonomy of *Sideritis* species from the Mediterranean region, *Phytochemistry Volume* 76, April 2012, 7–24.
- [29] Bojovic D., Jankovic S., Potpara Z., Tadic V. (2011). Summary of the phytochemical research performed to date on *Sideritis* species *Ser. J. Exp. Clin. Res.*, 12 (3), 109-122.
- [30] Petreska J., Stefkov G., Kulevanova S., Alipieva K., Bankova V., Stefova M. (2011). Phenolic Compounds of Mountain Tea from the Balkans: LC/DAD/ESI/MSⁿ Profile and Content *Natural Product Communications*, 6 (1), 21-30.
- [31] Tsibranska I., Tylkowski B., Kochanov R. Alipieva (2011) K Extraction of biologically active compounds from *Sideritis* ssp. L., *Food and Bioproducts Processing*, 89, 273–280.
- [32] Pljevljakusic D., Savikin K., Jankovic T., Zdunic G., Ristic M., Godjevac D., Konic-Ristic A. (2011). Chemical properties of the cultivated *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. subsp. *raeseri* *Food Chemistry*, 124 (1), 226-233.
- [33] Fraga BM, Hernández MG, Fernández C, Santana JM., (2009). A chemotaxonomic study of nine Canarian *Sideritis* species, *Phytochemistry*,;70 (8):1038-48.
- [35] Demirtas I., Sahin A., Ayhan B., Tekin S., Telci I. (2009). Antiproliferative effects of the methanolic extracts of *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *Linearis* *Rec. Nat. Prod.*, 3, 104-109.
- [36] Tadić V. M., Jeremic I., Dobric, S., Isakovic, A., Markovic, I., Trajkovic, V., Bojovic D., Arsic, I. (2012). Anti-inflammatory, Gastroprotective, and Cytotoxic Effects of *Sideritis scardica* Extracts. *Journal of Medicinal Plant and Natural Product Research*, 78(5), 415-427.

- [37] Ma Q., Su X., Yang J., Zhang L., Liu C., Wei R. (2014), Chemistry and pharmacology of *Salvia plebeia* R. Brown (Lamiaceae), Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 6 (10), 777-783.
- [38] Barberan FA, Tomas F, Ferreres F. (1985) Isoscutellarein-7-O-[allosyl (1-2) glucoside] from *Sideritis leucantha* J Nat Prod. Jan-Feb;48(1):28-32.
- [39] Gabrieli C. N., Kefalas P. G., Kokkalou E. L. (2005). Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*. J. Ethnopharmacol, 96(3), 423-428.
- [40] Palomino O. M., Gomez-Serranillos P., Carretero E., Villar A. (1996) High-performance liquid chromatography of flavonoids from *Sideritis* species. Journal of Chromatography A, 731 (1-2), 103-108.

Ελληνικές Βιβλιογραφικές Αναφορές

- [34] Συλλιγνάκη Γ. (2010). Εκτίμηση αντιερπητικής δράσης in vitro φυτών της ελληνικής χλωρίδας. Βιοκατευθυνόμενη απομόνωση των δευτερογενών μεταβολιτών του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος του φυτού *Sideritis perfoliata* L. subsp. *perfoliata* της οικογένειας Lamiaceae, Διπλωματική Εργασία, Θεσσαλονίκη.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Για την υλοποίηση των στόχων της παρούσας διατριβής, μελετήθηκαν πέντε αυτοφυή taxa *Sideritis*, τα οποία συλλέχθηκαν σε διαφορετικές περιοχές, ταυτοποιήθηκαν δύο ως *S.raeseri Boiss & Heldr ssp. raeseri*, δύο ως *S. scardica Griseb* και ένα ως *S. perfoliata L. ssp perfoliata*, καθώς και ένα εμπορικό σκεύασμα πράσινου τσαγιού (*Camelia sinensis*). Τα συνολικά έξι φυτικά είδη εκχυλίστηκαν με τρεις διαφορετικούς διαλύτες (νερό, μεθανόλη, εξάνιο).

Από τον έλεγχο ως προς την απόδοση επί τοις εκατό της εκχύλισης σε στερεό, στα υδατικά εκχυλίσματα βρέθηκαν οι μεγαλύτερες τιμές (17,45 – 28,75 % w/w), ακολουθούν τα μεθανολικά (7,76 – 20,98 % w/w) και μετά τα εξανικά (0,55 – 3,05 % w/w) με μικρότερες δηλαδή αποδόσεις κατά 7 - 12 φορές από τα υδατικά, μεθανολικά. Ειδικότερα, στο *C.sinensis _green tea* η επί τοις εκατό απόδοση εκχύλισης σε στερεό, βρέθηκε υψηλότερη όλων των άλλων εκχυλισμάτων στους διαλύτες νερό και μεθανόλη (28,75 % \pm 0,18 & 20,98% \pm 2,16) αντίστοιχα. Μεταξύ των taxa *Sideritis*, στο *S. perfoliata L. ssp.perfoliata* βρέθηκε η υψηλότερη απόδοση σε όλους τους διαλύτες, και ακολουθεί το *C.sinensis _green tea* (20,88 % \pm 2,30 & 19,54 % \pm 2,42 στο νερό και μεθανόλη αντίστοιχα). Στο διαλύτη εξάνιο την υψηλότερη απόδοση επί τοις εκατό της εκχύλισης σε στερεό είχε το *S. perfoliata L. ssp.perfoliata* (3,05 % \pm 0,28).

Από τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε ολικά φλαβονοειδή, ολικά φαινολικά και της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων προέκυψε ότι μεταξύ των διαλυτών, τα καλύτερα αποτελέσματα βρέθηκαν στο διαλύτη μεθανόλη, και ακολουθούν στο διαλύτη νερό. Στο διαλύτη εξάνιο, η περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή και ολικά φαινολικά βρέθηκε μικρότερη από ότι στους άλλους διαλύτες, καθώς επίσης και η αντιοξειδωτική δράση βρέθηκε πολύ ασθενής. Εξάιρεση, παρουσιάζεται στην περίπτωση του *C.sinensis _green tea* για την περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή, όπου αυτή βρέθηκε υψηλότερη στο διαλύτη εξάνιο

(68.06 ± 3.54 mg ισοδύναμης κερκετίνης / gr ξηρής ουσίας εκχυλίσματος) από ότι στους άλλους διαλύτες. Τα taxa Sideritis δεν παρουσιάζουν μεγάλες αποκλίσεις μεταξύ τους ως προς τα αποτελέσματα. Ειδικότερα, το taxon *S. perfoliata* L. ssp. *perfoliata* εμφανίζει υψηλότερες τιμές για την περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή & φαινολικά και τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση από τα άλλα taxa. Συγκρίνοντας τα taxa Sideritis με το *C.sinensis* _green tea:

- Ως προς την περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή, σε όλα τα υδατικά βρέθηκαν παρόμοια αποτελέσματα, στα μεθανολικά το *C.sinensis* _green tea με μικρότερη περιεκτικότητα κατά 1,5 – 2 φορές, ενώ αντίθετα στα εξανικά βρέθηκε μεγαλύτερη περιεκτικότητα κατά 2-3 φορές από τα taxa Sideritis. Ειδικότερα, η περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή βρέθηκε μεταξύ 23,11 ± 4,61 – 89,35 ± 4,50 εκφρασμένη σε mg ισοδύναμης κερκετίνης (QE) / gr DW (ξηρής ουσίας εκχυλίσματος).
- Ως προς την περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, το *C.sinensis* _green tea , βρέθηκε με μεγαλύτερη περιεκτικότητα από τα taxa Sideritis για όλους τους διαλύτες, συγκεκριμένα κατά 1,5-2 φορές για τα υδατικά, μεθανολικά και 3-5 φορές για τα εξανικά. Ειδικότερα, η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά βρέθηκε μεταξύ 26,33 ± 2,17 – 438,38 ± 1,20 mg ισοδύναμου γαλλικού οξέος (GAE)/ gr DW(ξηρής ουσίας εκχυλίσματος).
- Ως προς την αντιοξειδωτική δράση, επίσης το *C.sinensis* _green tea , έδειξε υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από τα taxa Sideritis. Ειδικότερα, η τιμή του IC₅₀ (μg/mL) δοκιμής DPPH για το μεθανολικό εκχύλισμα του *C.sinensis* _green tea, βρέθηκε 8,93 ± 0,45, ισοδύναμη με αυτή των προτύπων ουσιών (Vitamin C, Troxol, Quercetin), ενώ για τα υδατικά εκχυλίσματα στο *C.sinensis* _green tea βρέθηκε μικρότερη κατά 1,8-2,7 φορές για τα υδατικά, 2-2,8 φορές για τα μεθανολικά και 1,9-2,9 φορές για τα εξανικά από τα taxa Sideritis. Η μικρότερη τιμή IC₅₀ αντιστοιχεί σε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση.

Ειδικότερα, οι τιμές IC₅₀ δοκιμής DPPH βρέθηκαν μεταξύ $8,93 \pm 0,45 - 1213,74 \pm 6,80$ (μg/mL).

Προέκυψε γραμμική συσχέτιση μεταξύ των φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων και της αντιοξειδωτικής δράσης με τη δοκιμή DPPH· κυρίως για τα υδρόφιλα συστατικά

Από τον προσδιορισμό ουσιών στα εκχυλίσματα των *Sideritis* και *Camelia sinensis* με χρήση χρωματογραφίας φασματομετρίας υψηλής διακριτικής ικανότητας προέκυψαν τα ακόλουθα αποτελέσματα:

- Τα φαινολικά οξέα βρέθηκαν σχεδόν σε όλα τα εκχυλίσματα σε επίπεδα συγκεντρώσεων μεταξύ 0,02 – 1,92 (μg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος). Τα μεγαλύτερα επίπεδα συγκέντρωσης βρέθηκαν στους πολικούς διαλύτες, κυρίως στη μεθανόλη. Το *S. perfoliata* *L. ssp.perfoliata*, έδειξε υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης, συμπεριλαμβανομένου του *C.sinensis* *_green tea*, για τα στα d(-) quinic acid, ferulic acid, p-coumaric acid.
- Τα φλαβονοειδή βρέθηκαν, κυρίως στους πολικούς διαλύτες. Στα taxa *Sideritis*, τα υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης παρουσίασαν τα aco-all-glc-hyp-me, aco-all-glc-isc και τα δύο echinacin isomer, τα οποία δε βρέθηκαν στο *C.sinensis* *_green tea*, στο οποίο βρέθηκαν υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης για την quercetin και την kaempferol από τα taxa *Sideritis* για τις περιπτώσεις όπου βρέθηκαν επίσης σ' αυτά.
- Οι φαινυλεθανοειδείς γλυκοσίδες, verbascoside και forsythoside B βρέθηκαν σε όλα τα εκχυλίσματα των taxa *Sideritis*, ενώ το ισομερές της verbascoside βρέθηκε σε όλα τα εκχυλίσματα των *Sideritis scardica* *Griseb.*

- Τα μονοτερπενοειδή carvacrol και thymol προσδιορίστηκαν σε ίχνη στα *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* _Συρράκο, και *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* _Μελισσουργοί, το πρώτο, το δε δεύτερο στο *S. scardica* Griseb_Κρυσταλοπηγή.
- Από τα τριτερπενοειδή, το erythrodiol δεν ανιχνεύτηκε πουθενά, ενώ το urcolic acid σε ίχνη σε όλα τα εξανικά εκχύλισματά των taxa *Sideritis*, ανιχνεύεται δε για πρώτη φορά σ' αυτά..
- Το σεσκιτερπένιο 1a-acetoxy-8a-hydroxy-2-oxoeudesman-3,7(11)-dien-8,12-olide προσδιορίστηκε σε όλα τα εκχύλισματά του *S. perfoliata* *L. ssp.perfoliata*, ενώ βρέθηκε για πρώτη φορά στο γένος *Sideritis*.

Από τον έλεγχο της βιολογικής (κυτταροτοξικής) δράσης *in vitro*, τα καλύτερα αποτελέσματα όλων βρέθηκαν στο εξανικό εκχύλισμα του *S. perfoliata* *L. ssp.perfoliata* για όλες τις καρκινικές σειρές (HeLa, A549, LS174) και επιλεκτική δραστηριότητα έναντι των φυσιολογικών κυττάρων της σειράς MRC-5. Επίσης, καλά αποτελέσματα έδωσε το μεθανολικό εκχύλισμα του SP για την καρκινική σειρά LS174. Για το *S. scardica* Griseb_Ροδιανή, τα καλύτερα αποτελέσματα έδωσαν το μεθανολικό & υδατικό εκχύλισμα στην καρκινική σειρά HeLa, όπως επίσης για την ίδια καρκινική σειρά το μεθανολικό εκχύλισμα *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* _Συρράκο.

Τέλος, το *C.sinensis* _green tea εμφάνισε μικρότερη κυτταροτοξική δράση από το εξανικό *S. perfoliata* *L. ssp.perfoliata* και για τις τρεις καρκινικές σειρές, αλλά και από το μεθανολικό εκχύλισμα αυτού για την καρκινική σειρά LS174. Επίσης, μικρότερη κυτταροτοξική δράση από το μεθανολικό εκχύλισμα του *S. scardica* Griseb_Ροδιανή.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ
ΠΙΝΑΚΩΝ, ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ
ΕΙΚΟΝΩΝ & ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Περιεχόμενα πινάκων, γραφημάτων, εικόνων και σχημάτων

Πίνακες

Πίνακας 1 1 : Ταξινομική Ιεράρχηση πάνω από το επίπεδο του είδους (<i>species</i>)	11
Πίνακας 1-2 : Ταξινόμηση των τερπενίων	20
Πίνακας 1 3: Διτερπένια του γένους <i>Sideritis</i>	25
Πίνακας 1 4 : Κυριότερες υποομάδες των φαινολικών ουσιών	31
Πίνακας 1 5 : Σύνοψη της βιβλιογραφίας για τα συστατικά του γένους <i>Sideritis</i> και των μεθόδων ανίχνευσης αυτών	36
Πίνακας 2 1 : Ταξινομική Ιεράρχηση πάνω από το επίπεδο του είδους	68
Πίνακας 3-1 : Σύνοψη της βιβλιογραφίας για την περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά, ολικά φλαβονοειδή και αντιοξειδωτική ικανότητα με δοκιμή DPPH• σε IC50 για τα είδη <i>Sideritis ssp.</i> και <i>C. Sinensis</i> (<i>green tea</i>). GAE:[galic acid equivalents (ισοδύναμα γαλλικού οξέος), CAE: caffeic acid equivalents (ισοδύναμα καφεϊκού οξέος), QE: quercetin equivalents (ισοδύναμα κερκετίνης), RUE: rutin equivalents (ισοδύναμα ρουτίνης), DW: dry weight (ξηρή ουσία)]	98
Πίνακας 5-1 : Περιοχές συλλογής και βοτανική ταξινόμηση φυτικού υλικού	128
Πίνακας 5.2 : Ονοματολογία δειγμάτων	133
Πίνακας 5-3: Πρόγραμμα βαθμωτής έκλουσης για τον αρνητικό ιοντισμό στο UHPLC/LTQ-ORBITRAP	137
Πίνακας 5-4 : Παράμετροι λειτουργίας στο UHPLC/LTQ-Orbitrap XL	139
Πίνακας 6-1 : Συνοπτική παρουσίαση των εκχυλίσεων του φυτικού υλικού	147
Πίνακας 6-2 : Περιεκτικότητα σε ολικά φλαβονοειδή	150
Πίνακας 6-3 : Περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά	153
Πίνακας 6-4 : Τιμές IC ₅₀ δοκιμής DPPH	156
Πίνακας 6-5 : Λογαριθμική Συσχέτιση ποσοστιαίας μείωση της απορρόφησης της DPPH• RSC% (Radical Scavenging Capacity) και της συγκέντρωσης (mg/mL)	157
Πίνακας 6-6: Συγκεντρωτικός πίνακας περιεκτικότητας ολικών φλαβονοειδών (TFC / Total Flavonoid Content) εκφρασμένη σε mg ισοδύναμης κερκετίνης (QE)/ gr DW(ξηρής ουσίας εκχυλίσματος), ολικών φαινολικών (TPC / Total Phenolic Content) εκφρασμένη σε mg ισοδύναμου γαλλικού οξέος (GAE)/ gr DW(ξηρής ουσίας εκχυλίσματος) και IC ₅₀ (μg/mL)δοκιμής DPPH	164
Πίνακας 6-7 : Συσχέτιση περιεκτικότητας σε ολικά φαινολικά και αντιοξειδωτικής δράσης με δοκιμή DPPH	165
Πίνακας 6-8 : Γραμμική απεικόνιση της συσχέτισης ολικών φαινολικών και δοκιμής DPPH εκφρασμένη σε IC 50	166
Πίνακας 6-9. : Χρόνοι κατακράτησης, μοριακή σύσταση, θεωρητικές και πειραματικές μάζες, σχετικό σφάλμα μαζών και συνολικός αριθμός διπλών δεσμών και δακτυλίων (Ring Double Bond, RDB) των ψευδο-	169

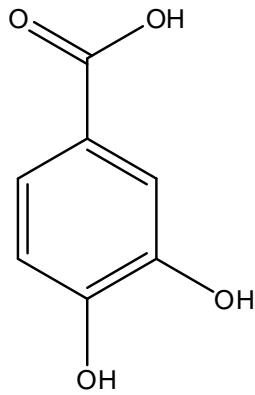
μοριακών ιόντων, κατά τον ΘΙ και ΑΙ των πρότυπων ουσιών, στο UHPLC/LTQ-ORBITRAP	
Πίνακας 6-10 Εξισώσεις παλινδρόμησης και αντίστοιχοι συντελεστές προσδιορισμού (r^2) που προέκυψαν από τις καμπύλες αναφοράς για τον υπολογισμό των επιπέδων συγκέντρωσης των εκχυλισμάτων	182
Πίνακας 6-11.: Χρόνοι κατακράτησης, μοριακός τύπος, θεωρητικές και πειραματικές μάζες, σχετικό σφάλμα μαζών και συνολικός αριθμός διπλών δεσμών και δακτυλίων (Ring Double Bond, RDB) των ψευδο-μοριακών ιόντων στο UHPLC/LTQ-ORBITRAP	183
Πίνακας 6-12 : Ποιοτικά αποτελέσματα των εκχυλισμάτων <i>S. perfoliata</i> L. ssp <i>perfoliata</i> (SP)	184
Πίνακας 6-13.: Επίπεδα συγκεντρώσεων (μg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος) SP, SSc1, SSc2, SR1, SR2, CS, υδατικό: w, μεθανολικό : m, εξανικό: h	186
Πίνακας 6-14 : Ποιοτικά αποτελέσματα των εκχυλισμάτων <i>S. scardica</i> Griseb (SSc1 & SSc2)	187
Πίνακας 6-15 : Επίπεδα συγκεντρώσεων (μg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος) των εκχυλισμάτων <i>S. scardica</i> Griseb (SSc1 & SSc2)	191
Πίνακας 6-16 : : Ποιοτικά αποτελέσματα των εκχυλισμάτων <i>S. raeseri</i> Boiss & Heldr ssp. <i>raeseri</i> (SR1 & SR2)	192
Πίνακας 6-17 : Επίπεδα συγκεντρώσεων (μg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος) των εκχυλισμάτων <i>S. raeseri</i> Boiss & Heldr ssp. <i>raeseri</i> (SR1 & SR2)	196
Πίνακας 6-18 : Επίπεδα συγκεντρώσεων (μg/mg ξ.ο. εκχυλίσματος) των εκχυλισμάτων <i>C. Sinensis</i> (CS)	197
Πίνακας 6-19 : Δομή ταυτοποιημένων συστατικών των μελετώμενων φυτών <i>Sideritis</i> ssp.	198
Πίνακας 6-21 : Συγκεντρώσεις (μg/mL) των εκχυλισμάτων και της σύμπλοκης ένωσης του λευκόχρυσου <i>cisplatin</i> , που προκάλεσαν νέκρωση 50% σε κακοήγη κύτταρα των σειρών HeLa, A549, LS174 και σε φυσιολογικά κύτταρα της σειράς MRC5.	216
Πίνακας 6-22 : Συγκριτική παρουσίαση των συγκεντρώσεων που προκάλεσαν νέκρωση κατά 50% στις κυτταρικές σειρές των <i>Sideritis raeseri</i> Boiss & Heldr ssp <i>raeseri</i> , <i>Sideritis scardica</i> Griseb, <i>Sideritis perfoliata</i> ssp. <i>perfoliata</i> και <i>C. sinensis</i> (green tea) και στους τρεις διαλύτες (μεθανόλη, νερό, εξάνιο), με το <i>cis-Diamminadichloroplatinum</i> (<i>cis-platin</i>). υδατικό w, μεθανόλη :m, εξάνιο: h.	218
Γραφήματα	
Γράφημα 5-1 : Καμπύλη αναφοράς της <i>quercetin</i>	134
Γράφημα 5-2 : Καμπύλη αναφοράς του <i>galic acid</i>	135
Γράφημα 6-1: Απόδοση εκχύλισης επί τοις εκατό	146
Γράφημα 6-2. : Συγκριτικό διάγραμμα περιεκτικότητας των εκχυλισμάτων σε ολικά φλαβονοειδή	151
Γράφημα 6-3 : Συγκριτικό διάγραμμα περιεκτικότητας των εκχυλισμάτων σε ολικά φαινολικά	154
Γράφημα 6-4: Συγκριτικό διάγραμμα αντιοξειδωτικής δράσης δοκιμής DPPH σε τιμές IC50 (μg/mL) των υδατικών & εξανικών	163

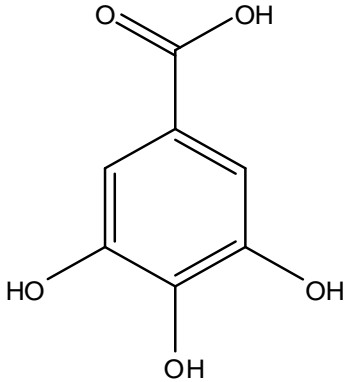
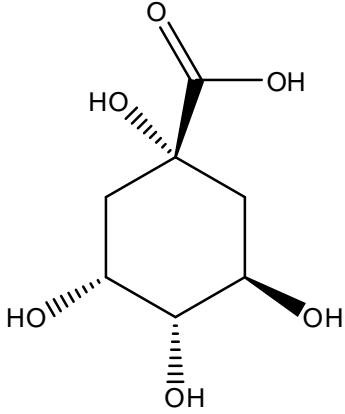
εκχυλισμάτων <i>SP</i> , <i>SSc1</i> , <i>SSc2</i> , <i>SR1</i> , <i>SR2</i> , <i>CS</i> (ομαδοποιημένων ανά διαλύτη) και των πρότυπων ουσιών (<i>Vitamin C</i> , <i>Troxol</i> , <i>Quercetin</i>)	
Γράφημα 6-5 : Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) υδατικού εκχυλίσματος <i>S. perfoliata L. ssp perfoliata</i>	185
Γράφημα 6-6: Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) μεθανολικού εκχυλίσματος <i>S. perfoliata L. ssp perfoliata</i>	185
Γράφημα 6-7 : Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) εξανικού εκχυλίσματος <i>S. perfoliata L. ssp perfoliata</i>	185
Γράφημα 6-8 : Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) υδατικού εκχυλίσματος <i>S. scardica Griseb (SSc1)</i>	189
Γράφημα 6-9 : : Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) μεθανολικού εκχυλίσματος <i>S. scardica Griseb (SSc1)</i>	189
Γράφημα 6-10 : Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) εξανικού εκχυλίσματος <i>S. scardica Griseb (SSc1)</i>	189
Γράφημα 6-11: Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) υδατικού εκχυλίσματος <i>S. scardica Griseb (SSc2)</i>	190
Γράφημα 6-12 : Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) μεθανολικού εκχυλίσματος <i>S. scardica Griseb (SSc2)</i>	190
Γράφημα 6-13 : Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) εξανικού εκχυλίσματος <i>S. scardica Griseb (SSc2)</i>	190
Γράφημα 6-14: Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) υδατικού εκχυλίσματος <i>S. raeseri Boiss & Heldr ssp. raeseri (SR1)</i>	194
Γράφημα 6-15 : Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) μεθανολικού εκχυλίσματος <i>S. raeseri Boiss & Heldr ssp. raeseri (SR1)</i>	194
Γράφημα 6-16 : Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) εξανικού εκχυλίσματος <i>S. raeseri Boiss & Heldr ssp. raeseri (SR1)</i>	194
Γράφημα 6-17 : Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) υδατικού εκχυλίσματος <i>S. raeseri Boiss & Heldr ssp. raeseri (SR2)</i>	195
Γράφημα 6-18 : Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) μεθανολικού εκχυλίσματος <i>S. raeseri Boiss & Heldr ssp. raeseri (SR2)</i>	195
Γράφημα 6-19 : Ολικό χρωματογράφημα (<i>Total Ion Chromatogram</i> , <i>TIC</i>) εξανικού εκχυλίσματος <i>S. raeseri Boiss & Heldr ssp. raeseri (SR2)</i>	195
Γράφημα 6-20 : Χρωματογράφημα ιόντος, φάσμα ακριβούς μάζας, μοριακός τύπος στο <i>UHPLC/LTQ-ORBITRAP</i> (αρνητικό ιοντισμό) για την ουσία <i>protocatechuic acid</i> στο υδατικό εκχύλισμα <i>SR2</i>	202
Γράφημα 6-21 : Χρωματογράφημα ιόντος, φάσμα ακριβούς μάζας, μοριακός τύπος στο <i>UHPLC/LTQ-ORBITRAP</i> (αρνητικό ιοντισμό) για την ουσία <i>d(-) quinic acid</i> στο μεθανολικό εκχύλισμα <i>SSc1</i>	203
Γράφημα 6-22: Επίπεδα συγκέντρωσης φαινολικών οξέων στα υδατικά εκχυλίσματα <i>SP</i> , <i>SSc1</i> , <i>SSc2</i> , <i>SR1</i> , <i>SR2</i> , <i>CS</i>	204

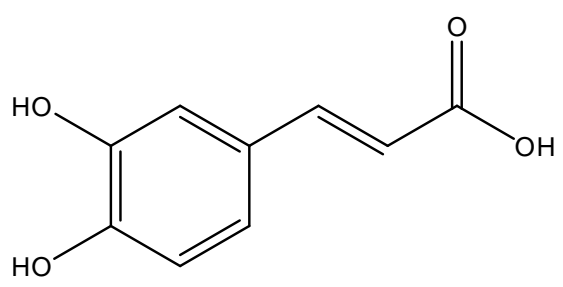
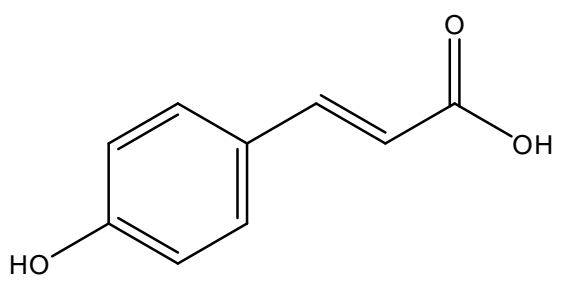
Γράφημα 6-23 : Επίπεδα συγκέντρωσης φαινολικών οξέων στα μεθανολικά εκχυλίσματα SP, SSc1, SSc2, SR1, SR2, CS	205
Γράφημα 6-24 : Επίπεδα συγκέντρωσης φαινολικών οξέων στα εξανικά εκχυλίσματα SP, SSc1, SSc2, SR1, SR2, CS	206
Γράφημα 6-25 : Χρωματογράφημα ιόντος, φάσμα ακριβούς μάζας, μοριακός τύπος στο UHPLC/LTQ-ORBITRAP (αρνητικό ιοντισμό) για την ουσία <i>chrysin</i> στο μεθανολικό εκχύλισμα SSc1	209
Γράφημα 6-26 : Χρωματογράφημα ιόντος, φάσμα ακριβούς μάζας, μοριακός τύπος στο UHPLC/LTQ-ORBITRAP (αρνητικό ιοντισμό) για την ουσία <i>genkwanin</i> στο μεθανολικό εκχύλισμα SP	210
Γράφημα 6-27 : Επίπεδα συγκέντρωσης φλαβονοειδών στα μεθανολικά εκχυλίσματα SP, SSc1, SSc2, SR1, SR2, CS	211
Γράφημα 6-28: Επίπεδα συγκέντρωσης <i>verbascoside</i> για το σύνολο των φυτικών εκχυλισμάτων SP, SSc1, SSc2, SR1, SR2, CS	213
Γράφημα 6-29 : Γραφική απεικόνιση των συγκεντρώσεις (μg/mL) των εκχυλισμάτων και της <i>cis-DDP</i> , που προκάλεσαν νέκρωση 50% σε κακοήγη κύτταρά των σειρών <i>HeLa</i> , <i>A549</i> , <i>LS174</i> και σε φυσιολογικά κύτταρα της σειράς <i>MRC5</i> .	217
Εικόνες	
Εικόνα 1 1 : Εξάπλωση του γένους <i>Sideritis</i>	10
Εικόνα 1-2 : Γενικό σχήμα άνθους	14
Εικόνα 1-3 : Βράκτια φύλλα (<i>bracts</i>) των ειδών 1: <i>S. scardica</i> , 2: <i>S. raeseri</i> , 3: <i>S. Athoa</i>	18
Εικόνα 1-4 : Κάλυκας (<i>calyx</i>)	18
Εικόνα 1-5 : Φύλλα βάσης, φύλλα βλαστού και βράκτια ειδών : A : <i>Sideritis athoa</i> , B : <i>S. perfoliata</i> L, C : <i>S. clandestina</i> ssp. <i>clandestina</i> , D : <i>S. clandestine</i> ssp. <i>cyllenea</i> , E : <i>S scardica</i> ssp. <i>scardica</i> , F : <i>S. scardica</i> ssp. <i>longibracteata</i> , G : <i>S. syriaca</i> , H : <i>S Euboea</i> , I : <i>S raeseri</i> ssp. <i>raeseri</i> , J : <i>S raeseri</i> ssp. <i>attica</i> , K : <i>S. raeseri</i> ssp. <i>florida</i>	18
Εικόνα 1-6: <i>Sideritis</i> spp. (“mountain tea”). A: <i>S. raeseri</i> ssp. <i>raeseri</i> - B: <i>S. Euboea</i> . C: <i>S. syriaca</i>	19
Εικόνα 1-7 : <i>ent</i> -καουρένιο	21
Εικόνα 1-8 : Κατηγορίες τριτερπενοειδών	22
Εικόνα 1-9 : Δομές διτερπενίων [(1) <i>siderol</i> , (2) <i>sideridiol</i> , (3) 7- <i>epicandicandiol</i> , (4) <i>sidol</i> , (5) <i>eubotriol</i> , (6) <i>eubol</i> , (7) <i>athonolone</i> , (8) <i>linearol</i>]	24
Εικόνα 1-10 : Μερικές υποκατηγορίες φλαβονοειδών	30
Εικόνα 2--1 : Έξι τύποι τσαγιού από το φυτό <i>Camellia sinensis</i> , Παρασκευασμένα τσάγια και τα αντίστοιχα φύλλα του (λευκό (<i>white</i>), κίτρινο (<i>yellow</i>), πράσινο (<i>green</i>), <i>Oolong</i> , μαύρο (<i>black</i>), σκούρο (<i>post-fermented</i>))	65
Εικόνα 2-2 : <i>Camellia sinensis</i>	69
Εικόνα 2 -3: Δομή των κυριότερων κατεχινών	71
Εικόνα 2-4: Δομή των κύριων φλαβονολών (<i>καμφερόλη</i> , <i>κερσετίνη</i> <i>μυρεσιτίνη</i>)	72
Εικόνα 3-1 : <i>ABTS</i>	89

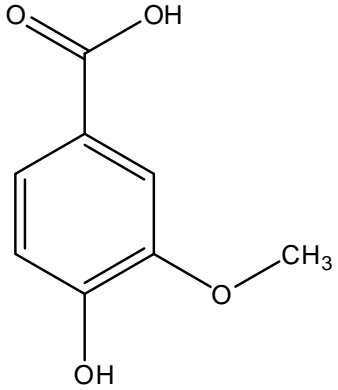
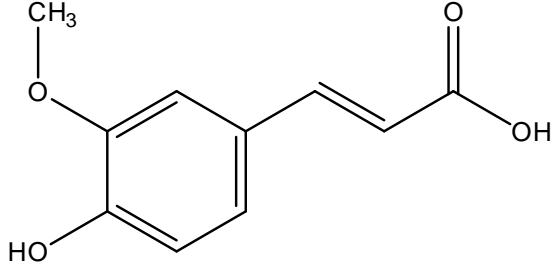
<i>Εικόνα 3-2 : Αλλαγή του χρώματος της σταθερής ρίζας DPPH από μώβ σε κίτρινο μετά την έκθεση σε αντιοξειδωτικές ουσίες</i>	90
<i>Εικόνα 3-3 : Βασική δομή φλαβονοειδούς</i>	95
<i>Εικόνα 3-4: Κέντρα συμπλοκοποίησης φλαβονοειδών μετάλλων</i>	95
<i>Εικόνα 4-2 : Σχηματική απεικόνιση του αναλυτή LTQ Orbitrap</i>	107
<i>Εικόνα 5-1 : Πράσινο τσάι, Sri Lanka by MLensa</i>	127
<i>Εικόνα 5-2 : S. raeseri boiss & heldr ssp. raeseri. Συλλογή Τζουμέρκα Κελλάρι Μελλισουργοί Άρτας</i>	129
<i>Εικόνα 5-3 : S. raeseri boiss & heldr ssp. raeseri. Συλλογή Συρράκο Ιωαννίνων</i>	129
<i>Εικόνα 5-4 : S. scardica Griseb Συλλογή Βούρινος ή Μπούρινος - Ροδιανή Κοζάνης</i>	130
<i>Εικόνα 5-5 : S. scardica. Griseb Συλλογή Κρυσταλοπηγή Φλώρινας</i>	130
<i>Εικόνα 5-6 : S. perfoliata L. ssp perfoliata Συλλογή Κορυφή Τρικάλων</i>	131
Σχήματα	
<i>Σχήμα 4-1 : Πρώτο βήμα φασματομετρίας μαζών</i>	105

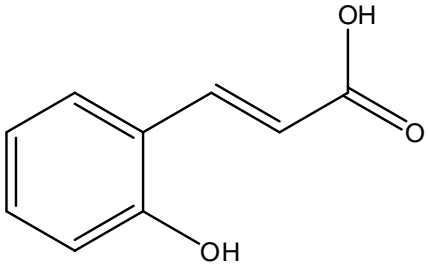
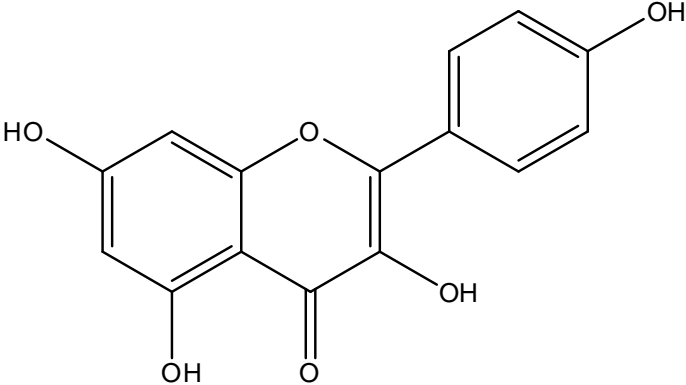
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

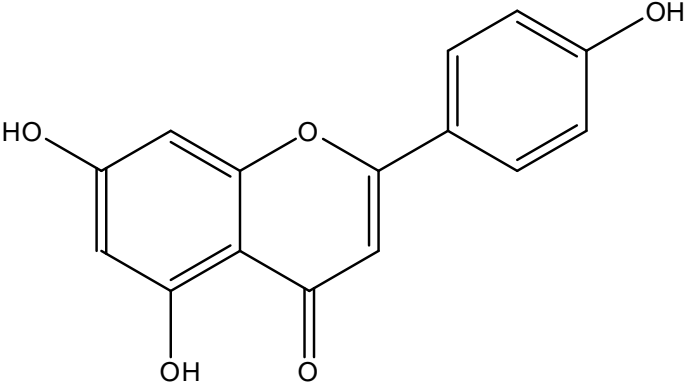
Πρότυπες ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν (μοριακός τύπος, ακριβής μάζα (exact mass), δομή)			
A/A	Πρότυπες ουσίες	Μοριακός Τύπος (exact mass)	Δομή
Φαινολικά οξέα (Phenolic acids)			
1	protocatechuic acid	C ₇ H ₆ O ₄ (154,0266)	

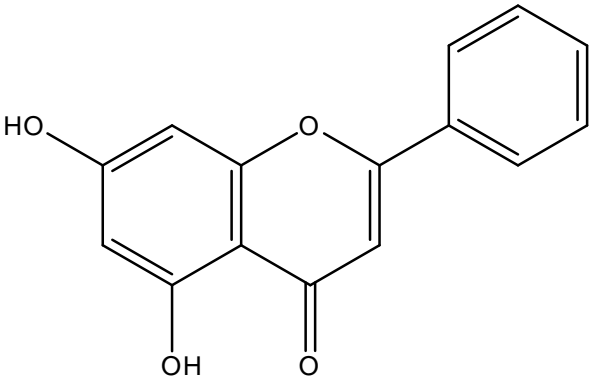
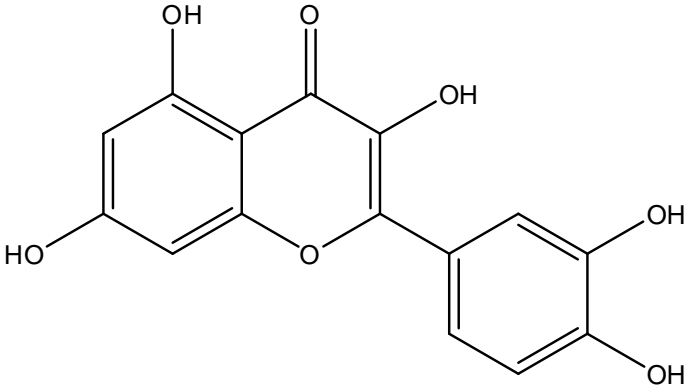
2	galic acid	$C_7H_6O_5$ (170,1195)	
3	d (-) quinic acid	$C_7H_{12}O_6$ (192,0634)	

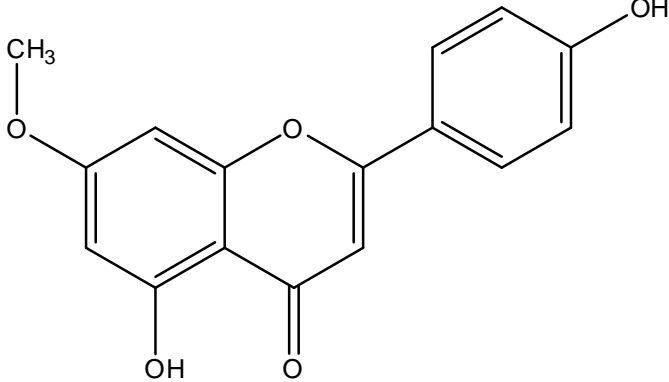
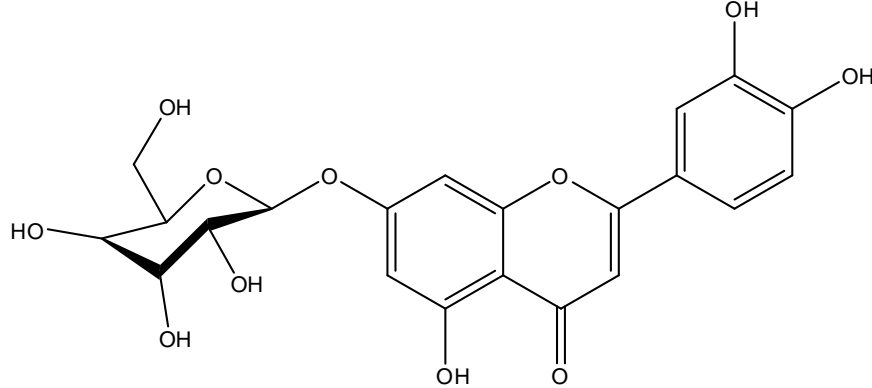
4	caffeic acid	$C_9H_8O_4$ (290,0790)	
5	p-coumaric acid	$C_9H_8O_3$ (164,0473)	

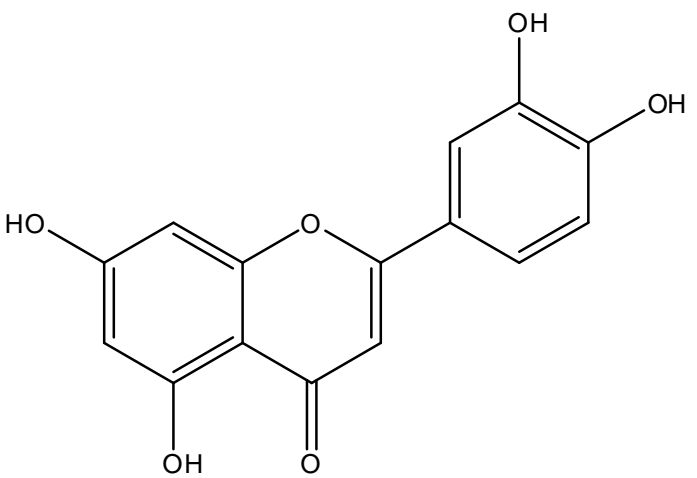
6	vanillic acid	$C_8H_8O_4$ (168,0423)	
7	ferulic acid	$C_{10}H_{10}O_4$ (194,0579)	

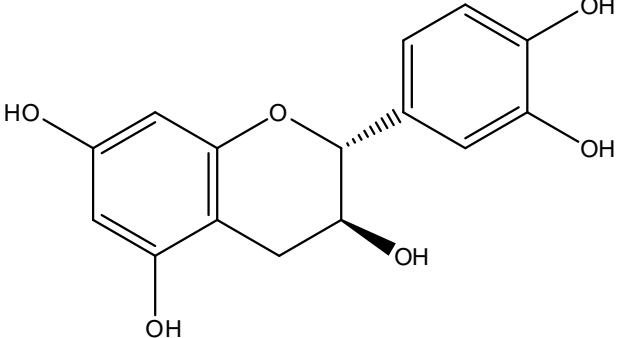
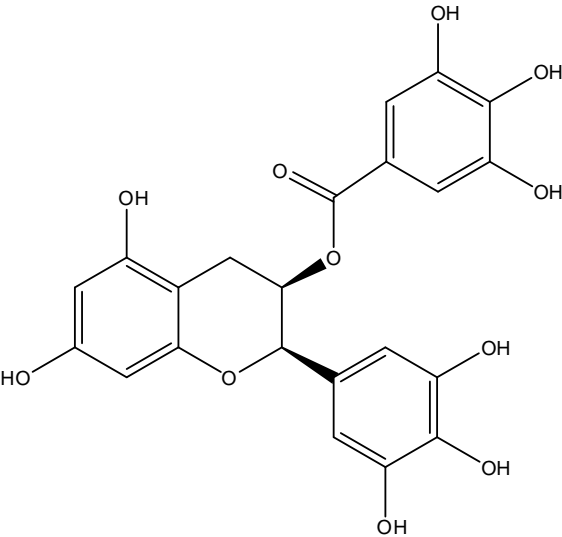
8	o- coumaric acid	$C_9H_8O_3$ (164,0473)	
<i>Φλαβονοειδή (Flavonoids)</i>			
9	kaempferol	$C_{15}H_{10}O_6$ (286,0477)	

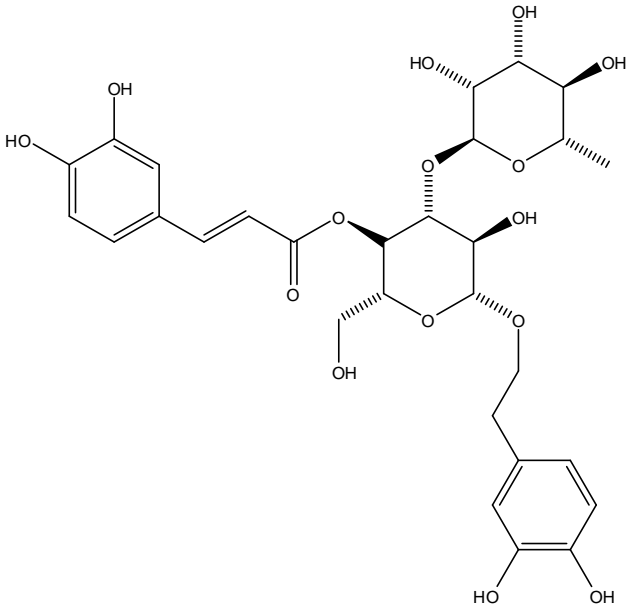
10	apigenin	$C_{15}H_{10}O_5$ (270,0528)	 <p>The chemical structure of apigenin is a flavone. It consists of a central pyrone ring fused to a benzene ring. The benzene ring has two hydroxyl groups (OH) at the 5 and 7 positions. The pyrone ring has a carbonyl group (C=O) at the 4 position and is substituted at the 3 position with a 4-hydroxyphenyl group (a benzene ring with an OH group at the para position).</p>

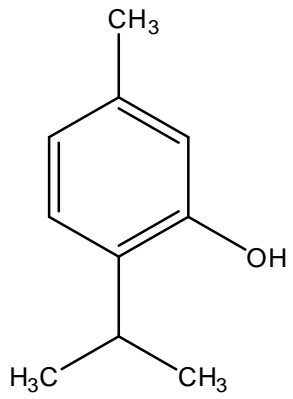
11	chrysin	$C_{15}H_9O_4$ (254,0579)	 <p>The chemical structure of chrysin is a flavone. It consists of a central pyrone ring fused to a benzene ring. The benzene ring has two hydroxyl groups at the 5 and 7 positions. The pyrone ring has a carbonyl group at the 4 position and a phenyl ring at the 2 position.</p>
12	quercetin	$C_{15}H_{10}O_7$ (302,0427)	 <p>The chemical structure of quercetin is a flavonol. It consists of a central pyrone ring fused to a benzene ring. The benzene ring has two hydroxyl groups at the 5 and 7 positions. The pyrone ring has a carbonyl group at the 4 position and a hydroxyl group at the 3 position. The pyrone ring is also substituted at the 2 position with a 3,4,5-trihydroxyphenyl ring.</p>

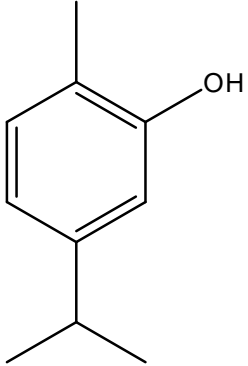
13	gernkwanin	$C_{16}H_{12}O_5$ (284,0685)	 <p>The structure of gernkwanin is a flavone. It features a central chromone ring system. At the 6-position, there is a methoxy group (-OCH₃). At the 7-position, there is a hydroxyl group (-OH). At the 3-position, there is a p-coumaroyl group, which consists of a phenyl ring with a hydroxyl group (-OH) at the para position relative to the attachment point.</p>
14	luteolin-7-O-glucoside	$C_{21}H_{20}O_{11}$ (448,1006)	 <p>The structure of luteolin-7-O-glucoside shows the luteolin aglycone (a flavone with hydroxyl groups at positions 5, 7, and 3', and a methoxy group at position 6) linked to a glucose molecule at the 7-position. The glucose is shown in its cyclic chair conformation, with the glycosidic bond at the C-7 position.</p>

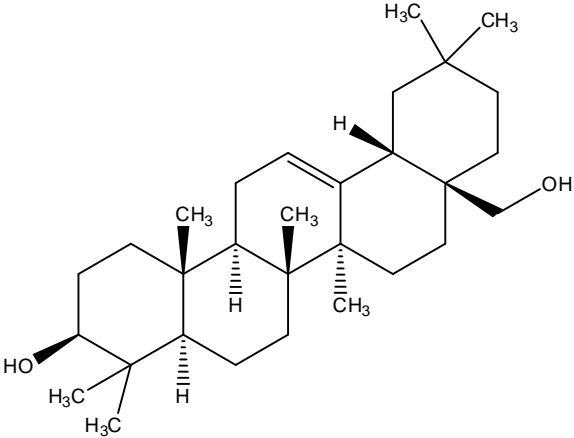
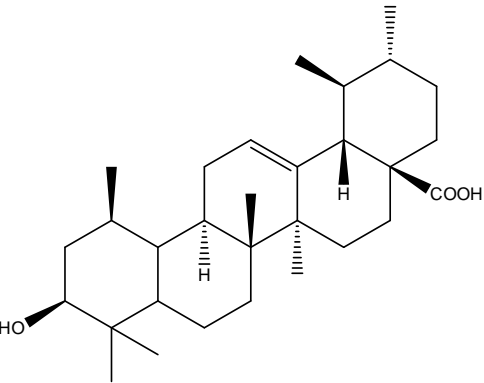
15	Luteolin	$C_{15}H_{10}O_6$ (286,0477)	
<i>Φλαβον-3-όλες (κατεχίνες) (Flavan-3-ols (catechins))</i>			

16	(+) -catechin	$C_{15}H_{14}O_6$ (290,0790)	 <p>The structure of (+)-catechin is a flavan-3-ol. It consists of a chromane ring system. The A-ring is a benzene ring with hydroxyl groups at the 2 and 6 positions. The B-ring is a benzene ring with hydroxyl groups at the 2 and 6 positions. The C-ring is a five-membered ring containing an oxygen atom at the 1-position, a hydroxyl group at the 3-position (wedge), and a 3,4,5-trihydroxyphenyl group at the 4-position (dash).</p>
17	(-)-epigallocatechin gallate	$C_{22}H_{18}O_{11}$ (458,0849)	 <p>The structure of (-)-epigallocatechin gallate is a polyphenolic compound. It consists of a chromane ring system. The A-ring is a benzene ring with hydroxyl groups at the 2 and 6 positions. The B-ring is a benzene ring with hydroxyl groups at the 2 and 6 positions. The C-ring is a five-membered ring containing an oxygen atom at the 1-position, a hydroxyl group at the 3-position (wedge), and a 3,4,5-trihydroxyphenyl group at the 4-position (dash). The 3-position of the C-ring is also esterified with a gallic acid moiety (3,4,5-trihydroxybenzoic acid).</p>

<i>Φαινυλεθανοειδών γλυκοζιτών (Phenylethanoid glycosides)</i>			
18	verbascoside	$C_{29}H_{36}O_{15}$ (624,2054)	

<i>Μονοτερπενοειδή (Monoterpenoids)</i>			
19	thymol	$C_{10}H_{14}O$ (150,1045)	

20	carvacrol	$C_{10}H_{14}O$ (150,1045)	
<i>Τριτερπενοειδή (Triterpenoids)</i>			

21	erythrodiol	$C_{30}H_{50}O_2$ (442,3811)	 <p>The structure of erythrodiol is a complex triterpene consisting of five fused six-membered rings. It features a double bond in the second ring from the left. The molecule is substituted with several methyl groups (CH₃) and a hydroxyl group (OH). The stereochemistry is indicated with wedges and dashes: the hydroxyl group is on a wedge, while several methyl groups and hydrogens are on dashes. A hydroxymethyl group (-CH₂OH) is attached to the rightmost ring.</p>
22	urcolic acid	$C_{30}H_{48}O_3$ (456,3603)	 <p>The structure of urcolic acid is a complex triterpene consisting of five fused six-membered rings. It features a double bond in the second ring from the left. The molecule is substituted with several methyl groups (CH₃) and a carboxylic acid group (COOH). The stereochemistry is indicated with wedges and dashes: the carboxylic acid group is on a wedge, while several methyl groups and hydrogens are on dashes.</p>

Παράρτημα 1 : Ορολογία Αγγλική, Ελληνική

apigenin : απιγενίνη	myricetin : μυρεσιτίνη
bicyclogermacrene : δικυκλο- γερμακρένιο	p-coumaric acid 4-O-glucoside : p – κουμαρικό οξύ 4-O γλυκοζίτη
bisabolol : βισαμπολόλη	pelargonidin : πελαργονιδίνη
butylated hydroxyanisole : βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη	propyl gallate : προπυλικός εστέρας του γαλλικού οξέος
butylated hydroxytoluene : βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο	protocatechuic acid : πρωτοκατεχικό οξύ
cafeic acid : καφεϊκό οξύ	quercetin : κερσετίνη
carnosol : καρνοσόλη	rosmarinic acid : ροσμαρινικό οξύ
carvacrol : καρβακρόλη	rutin : ρουτίνη
chlorogenic acid : χλωρογενικό οξύ	sabinene : σαμπινένιο
chrysin : χρυσίνη	sideridiol : σιδεριδιόλη
cis-b-ocimene : cis-β-οσιμένη	siderol : σιδερόλη
cyanidin : κυανιδίνη	spathulenol : σπαθουλένιο
delphinidin : δελφινιδίνη	thymol : θυμόλη
erythrodiol : ερυθροδιόλη	trans-caryophyllene : trans- καρυοφυλλένιο
ferulic acid : φερουλικό οξύ	urcolic acid : ουρσολικό οξύ
feruloylquinic acid : φερουροκουνικό οξύ	vanillic acid : βανιλλικό οξύ
genkwanin : γκενκβανίνη	verbascoside : βερμπασκοσίδη
germacrone : γερμακρόνη	α-cadinol : α-καδινόλη
isoscutellarein : ισοσκουτελαρεΐνη	α-pinene : α-πινένιο
kaempferol : καμπερόλη	β-caryophyllene : β-καρυοφελλένιο
kaempferol : καμπερόλη	β-copaene : β-κοπαένιο
limonene : λιμονένιο	β-pinene : β-πινένιο
luteolin : λουτεολίνη	δ-cadinene : δ-καδινένιο
luteolin-7-O-glucoside : λουτεολίνη-7-O- γλυκοσίδη	(-) epicatechin : επικατεχίνη
	(-)-epicatechingallate : γαλλική επικατεχίνη

myrcene : μυρκένιο

(-)-epigallocatechin : επιγαλλοκατεχίνη

(-)-epigallocatechin-3-gallate : γαλλική
επιγαλλοκατεχίνη

(-)-gallocatechin : γαλλοκατεχίνη

(+)-catechin : κατεχίνη

3-caffeoylquinic acid : 3-
καφεουλοκουϊνικό οξύ

5-caffeoylquinic acid : 5-
καφεουλοκουϊνικό οξύ

cervix adenocarcinoma :

αδενοκαρκίνωμα του τραχήλου της
μήτρας

non-small cell lung carcinoma (NSCLC)

: μη μικροκυτταρικό καρκίνο του
πνεύμονα

human colon carcinoma : ανθρώπινο
καρκίνωμα του παχέος εντέρου

plant extract : φυτικό εκχύλισμα

plant material : φυτικό υλικό

Παράρτημα 2: Συνοτομογραφίες - Επεξηγήσεις

DAD : ανίχνευση συστοιχίας διοδίων

DW (dry weight) : ξηρή ουσία

EC₅₀ (median effective concentration) : μέση αποτελεσματική συγκέντρωση

GAE (caffeic acid equivalents) : ισοδύναμα καφεϊκού οξέος

GAE (galic acid equivalents) : ισοδύναμα γαλλικού οξέος

GC : αέρια χρωματογραφία

HPLC : υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης

IC₅₀ (half maximal inhibitory concentration) : συγκέντρωση που αναστέλλει κατά 50% μια δεδομένη παράμετρο

LC : υγρή χρωματογραφία

LD₅₀ (median lethal dose) : μέση θανατηφόρος δόση

LOQ (limit of quantification) : όριο ποσοτικοποίησης

m/z : λόγος μάζας/φορτίου

MS : φασματομετρία μάζας

QE (quercetin equivalents) : ισοδύναμα κερκετίνης

RSD (relative standard deviation) : σχετική τυπική απόκλιση, εκφράζεται επί τοις εκατό και λαμβάνεται από τον πολλαπλασιαζόντας την τυπική απόκλιση (SD) επί 100 και διαιρώντας με το μέσο όρο.

RUE (rutin equivalents) : ισοδύναμα ρουτίνης

SD (standard deviation) : τυπική αποκλιση, εκφράζει το πόσο ακριβής είναι ο μέσος όρος

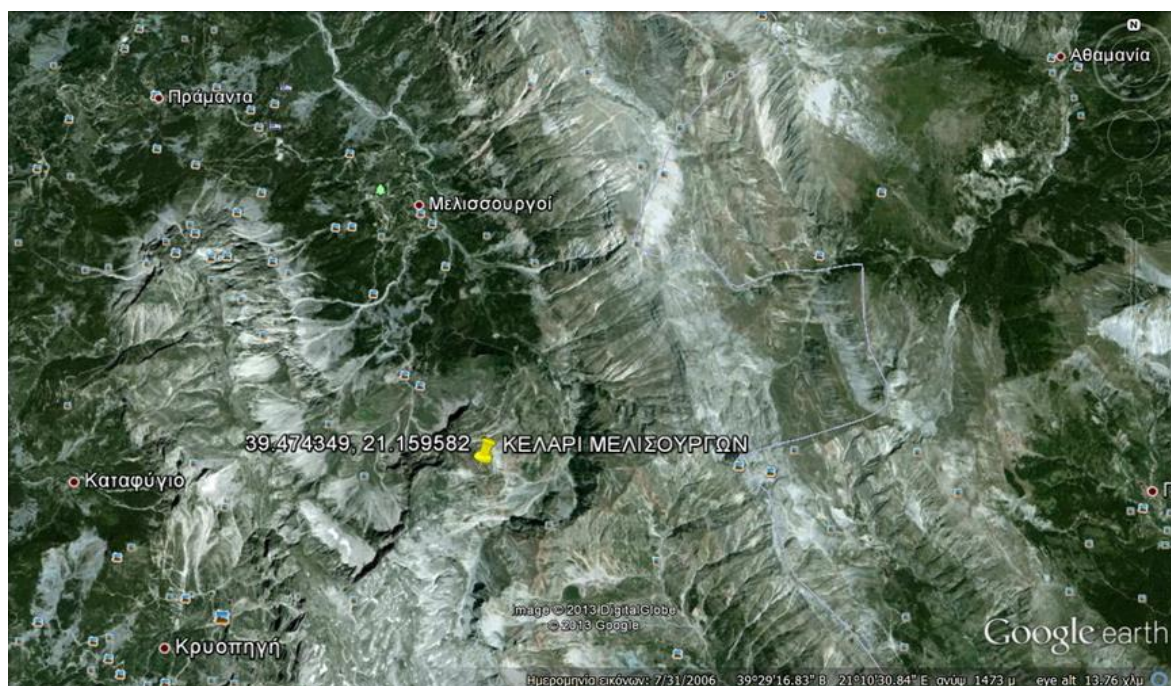
TLC : χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

UV : υπεριώδες φως

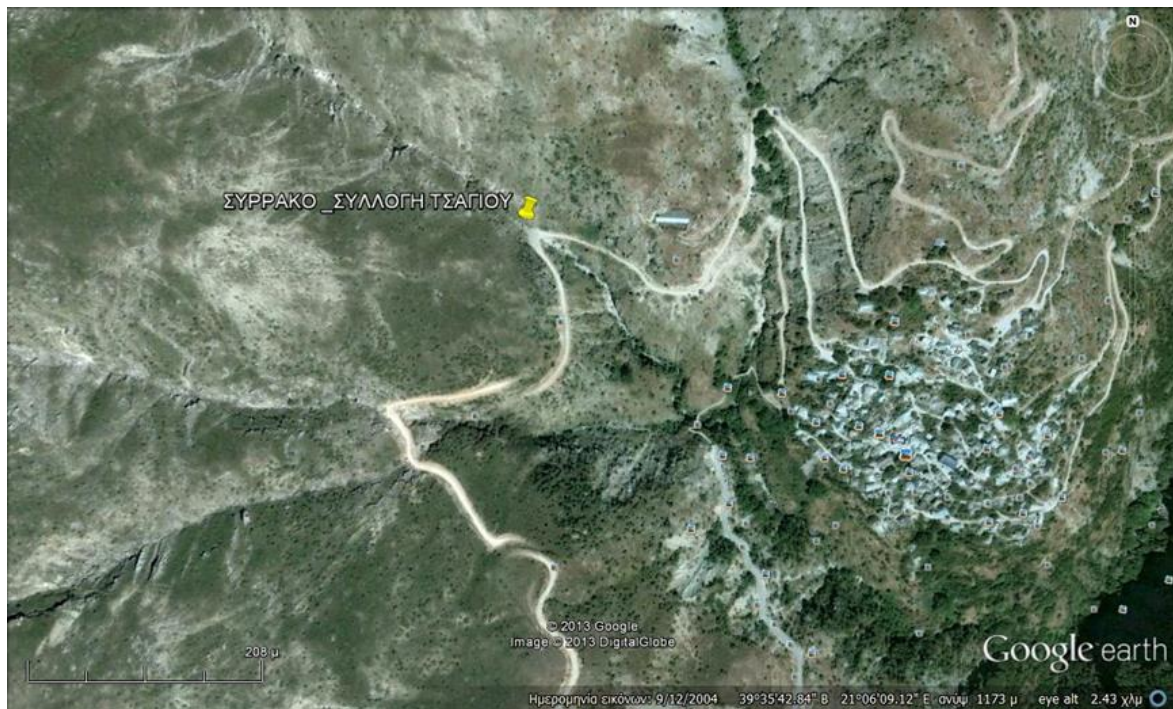
VIS : ορατό φως

1UI πενικιλίνης ισοδυναμεί με 0,0006 mg πενικιλίνης

PrAE (protocatechuic acid equivalents) : ισοδύναμα πρωτοκατεχικού οξέος



Εικόνα 1 : Voucher: R.A._1 (ACA). Συγκομιδή: 15/7/2011, 39° 28' 24.15" Β 21° 09' 34.23" Ε, ανύψωση 1758m (Κελλάρι Μελισουργών Άρτας) (πηγή: η συγγραφέας)



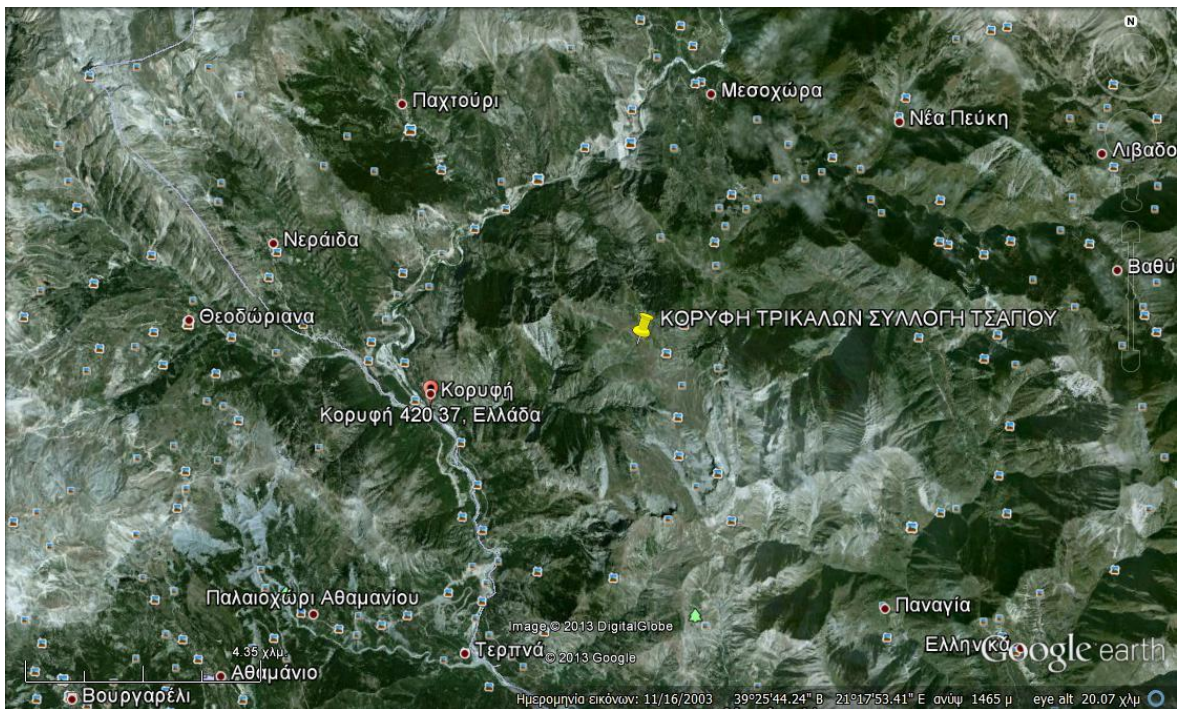
Εικόνα 2 : Voucher: R.A._2 (ACA). Συγκομιδή: 20/7/2011, 39°35'47.93\"B 21° 6'5.59\"A , ανυψ. 1215m (Συρράκο Ιωαννίνων) (πηγή: η συγγραφέας)



Εικόνα 3 : Voucher: R.A._3 (ACA). Συγκομιδή: 2/7/2011 40° 11'52.17\" B 21° 0' 44'28.29\" , ανυψ. 900m (Βούρινο - Ροδιανή Κοζάνης) (πηγή: η συγγραφέας)



Εικόνα 4 : Voucher: R.A._4 (ACA). Συγκομιδή: 29/6/2011, 40O 38'40.60'' Β 21O 05'02.65'' Ε, ανψ. 1419m (Κρυσταλλοπηγή Φλώρινας) (πηγή: η συγγραφέας)



Εικόνα 5 : Voucher: R.A._5 (ACA). Συγκομιδή: 12/7/2012 39° 25' 50.12" Β 21° 18' 27.20" Ε Ανύψωση 1550m (Κορυφή Τρικάλων) (πηγή: η συγγραφέας)



Εικόνα 6 : *Sideritis raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* (πηγή: η συγγραφέας)



Εικόνα 7 : *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* (πηγή: η συγγραφέας)



Εικόνα 8 : Περιοχή συγκομιδής *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* Κελλάρι Μελλισουργών Άρτας (πηγή: η συγγραφέας)



Εικόνα 9 : Περιοχή συγκομιδής *S. raeseri* Boiss & Heldr ssp. *raeseri* Κελλάρι Μελλισουργών Άρτας (πηγή: η συγγραφέας)