



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΕΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ,
ΣΕΙΡΑΣ ΒΟΤΑΝΩΝ**

ΚΑΣΟΥΝΗ ΑΘΑΝΑΣΙΑ

ΒΙΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2019

Η παρούσα διδακτορική διατριβή υλοποιήθηκε με υποτροφία της Γενικής Γραμματείας
Έρευνας και Τεχνολογίας και του Ελληνικού Ιδρύματος Έρευνας και Καινοτομίας



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΕΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

**ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ,
ΣΕΙΡΑΣ ΒΟΤΑΝΩΝ**

ΚΑΣΟΥΝΗ ΑΘΑΝΑΣΙΑ

ΒΙΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2019

Η παρούσα διδακτορική διατριβή υλοποιήθηκε με υποτροφία της Γενικής Γραμματείας
Έρευνας και Τεχνολογίας και του Ελληνικού Ιδρύματος Έρευνας και Καινοτομίας

Μέλη τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής:

1. Αναστάσιος Τρογκάνης, καθηγητής
2. Θεώνη Τράγκα, ομότιμη καθηγήτρια
3. Κωνσταντίνος Σταλίκας, καθηγητής

Μέλη εξεταστικής επιτροπής:

1. Αναστάσιος Τρογκάνης, καθηγητής
2. Θεώνη Τράγκα, ομότιμη καθηγήτρια
3. Κωνσταντίνος Σταλίκας, καθηγητής
4. Χαράλαμπος Σταμάτης, καθηγητής
5. Πέτρος Καταπόδης, επίκουρος καθηγητής
6. Μιχαέλα Φίλιου, επίκουρη καθηγήτρια
7. Δημήτρης Αλίβερτης, επίκουρος καθηγητής

Ιωάννινα, 11 Δεκεμβρίου 2019

ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ ΤΡΟΓΚΑΝΗΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΤΗΛΕΦΩΝΟ: (26510) 09019
e-mail: atrogani@uoi.gr

Προς
τη Γενική Συνέλευση του Τμήματος
Βιολογικών Εφαρμογών και
Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων

**ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΤΗΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**
της Υποψήφιας Διδάκτορος κ. Αθανασίας Κασούνη
του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Η επταμελής Εξεταστική Επιτροπή που ορίστηκε σύμφωνα με την υπ' αριθμό 271/11-10-2019 απόφαση της Γενικής Συνέλευσης του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών της Σχολής Επιστημών και Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για την κρίση της διδακτορικής διατριβής της κ. Αθανασίας Κασούνη, συνήλθε σε συνεδρίαση σήμερα Τετάρτη 11^η Δεκεμβρίου 2019 και ώρα 17:00 στην αίθουσα Α του Κτιρίου του ΒΕ&Τ στη Δουρούτη, και παρακολούθησε τη δημόσια παρουσίαση της διατριβής της υποψηφίας με τίτλο:

«Μελέτη της Χημικής Σύστασης και της Βιολογικής Δράσης Εκχυλισμάτων, Σειράς Βοτάνων».

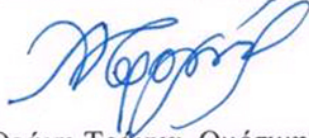
Μετά την προφορική παρουσίαση της διατριβής, τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής έθεσαν ερωτήσεις στην υποψήφια σχετικές με το θέμα της διδακτορικής διατριβής. Στη συνέχεια και μετά από τη αποχώρηση του ακροατηρίου και του υποψηφίου ακολούθησε συζήτηση μεταξύ των μελών της Επιτροπής.

Τα μέλη της Επιτροπής δήλωσαν ότι η παρούσα διατριβή είναι πρωτότυπη, προάγει την επιστήμη και ότι η προφορική παρουσίαση ήταν άρτια και υψηλού επιπέδου.

Η επιτροπή μετά από ψηφοφορία έκρινε ομόφωνα ότι η διατριβή της κ. Αθανασίας Κασούνη παρουσιάζει πρωτοτυπία, η δε υποψήφια απέκτησε όλες τις απαραίτητες γνώσεις και την επιστημονική κατάρτιση ώστε να προσεγγίζει με ωριμότητα σύγχρονα ερευνητικά προβλήματα του επιστημονικού πεδίου.

Στη συνέχεια η επιτροπή αποφάσισε ομόφωνα να απονεμίσει το βαθμό 10 (Άριστα).

1. Αναστάσιος Τρογκάνης, Καθηγητής
(Επιβλέπων Καθηγητής)



2. Θεώνη Τράγκα, Ομότιμη Καθηγήτρια
(μέλος συμβουλευτικής Επιτροπής)



3. Κωνσταντίνος Σταλίκας, Καθηγητής
(μέλος συμβουλευτικής Επιτροπής)



4. Χαράλαμπος Σταμάτης, Καθηγητής



5. Πέτρος Καταπόδης, Επίκουρος Καθηγητής



6. Μιχαέλα Φίλιου, Επίκουρη Καθηγήτρια



7. Δημήτριος Αλίβερτης, Επίκουρος Καθηγητής



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Φυσικοχημικών Μελετών του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων υπό την επίβλεψη του καθηγητή Αναστάσιου Τρογκάνη.

Η ολοκλήρωση και συγγραφή της παρούσας διατριβής αποτέλεσε για εμένα ένα σημαντικό προσωπικό στοίχημα, με πολλά προσωπικά κέρδη και απώλειες. Φτάνοντας στο τέλος της συγγραφής, θα ήθελα να απευθύνω ένα βαθύ και ολόψυχο ευχαριστώ σε όσους στάθηκαν δίπλα μου και με βοήθησαν να ολοκληρώσω αυτή την επίπονη προσπάθεια. Η υλοποίηση αυτής της διατριβής περιελάβανε πλήθος συνεργασιών και ατόμων από τους οποίους θα ήθελα να ξεχωρίσω τον επιβλέποντα καθηγητή Αναστάσιο Τρογκάνη, τον καθηγητή Κωνσταντίνο Σταλικά και την ομότιμη καθηγήτρια Θεώνη Τράγκα.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Τρογκάνη για την ανάθεση της παρούσας διατριβής, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθ' όλη τη διάρκεια της διδακτορικής μου διατριβής, την ελευθερία που μου έδωσε, καθώς και για τις συνθήκες που δημιούργησε ώστε να ακολουθήσω τα δικά μου ερευνητικά ενδιαφέροντα με τόλμη και αποφασιστικότητα.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ από καρδιάς χρωστάω στον κ. Σταλικά για την υποστήριξη, το ενδιαφέρον, τις συμβουλές, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την εξαιρετική συνεργασία που είχαμε όλα αυτά τα χρόνια.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα επίσης να εκφράσω στην κ. Τράγκα για την ανιδιοτελή και ανυπολόγιστη υποστήριξή της καθώς και για το ενδιαφέρον και τις συμβουλές της.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον κ. Θεόδωρο Χατζημητάκο για την αμέριστη συμπαράσταση, την παρουσία του σε όλες τις δύσκολες στιγμές μου, την ηθική υποστήριξη, την τεράστια βοήθεια που μου προσέφερε στο εργαστήριο, την εξαιρετική συνεργασία καθώς και για την προθυμία του να με βοηθήσει σε οτιδήποτε χρειαζόμουν.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Γεώργιο Θυφρονίτη για την ελεύθερη πρόσβαση στους χώρους του εργαστηρίου του όπου διεξήχθη μεγάλο μέρος των πειραμάτων. Επίσης θα ήθελα να τον ευχαριστήσω θερμά για το ευχάριστο κλίμα, καθώς και την φιλική και πρόσχαρη συμπεριφορά του.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον υπεύθυνο του εκτροφείου Δρ. Παναγιώτη Λέκκα για την εξαιρετική συνεργασία και την προθυμία του να με βοηθήσει πέραν τον καθηκόντων του.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Αλεξάνδρα Παπούδου για την εξαιρετική συνεργασία που είχαμε κατά τη διεκπεραίωση των ιστοπαθολογικών αναλύσεων καθώς και το Τμήμα Αιμοδοσίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων από όπου προμηθευτήκαμε αίμα για τη διεκπεραίωση κάποιων πειραμάτων.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη των εργαστηρίων Φυσικοχημικών Μελετών του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Αναλυτικής Χημείας του Τμήματος Χημείας, Βιοχημείας και Ανοσολογίας του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για το ευχάριστο κλίμα και την αλληλοβοήθεια.

Ως ένδειξη ευγνωμοσύνης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου και την αδερφή μου για την ηθική και ψυχολογική υποστήριξη, καθώς και για τη συμπαράστασή τους όλα αυτά τα χρόνια. Στους γονείς μου και ιδιαίτερα στη μητέρα μου χρωστάω ένα τεράστιο ευχαριστώ για τις αρχές, τον τρόπο και την ηθική με τα οποία με διαπαιδαγόγησαν. Όλα αυτά κατέστησαν δυνατό να ανταπεξέλθω στις δυσκολίες που αντιμετώπισα και έπαιξαν καίριο ρόλο στη διεκπεραίωση της διδακτορικής μου διατριβής.

«Labor omnia vincit»

–Η σκληρή δουλειά όλα τα νικά

Βιργίλιος, 70-19 π.Χ., Λατίνος ποιητής

Περιεχόμενα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	11
SUMMARY	13
ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΟ	15
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	17
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	25
1.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	27
1.1 Φαρμακευτικά φυτά	27
1.1.1 <i>Urtica dioica</i> L. (Τσουκνίδα)	30
1.1.1.1 Ιστορική αναδρομή	31
1.1.1.2 Ιδιότητες – Χρήσεις	32
1.1.1.3 Συστατικά του φυτού	34
1.1.2 <i>Cistus creticus</i> (Λαδανιά)	37
1.1.2.1 Ιστορική αναδρομή	38
1.1.2.2 Ιδιότητες – Χρήσεις	39
1.1.2.3 Συστατικά	39
1.1.3 <i>Juniperus communis</i> (Κεδροκούκουτσο)	40
1.1.3.1 Ιστορική αναδρομή	41
1.1.3.2 Ιδιότητες-Χρήσεις	41
1.1.3.3 Συστατικά	41
1.1.4 <i>Galium concinnum</i> (Γάλλιο)	41
1.1.4.1 Ιστορική αναδρομή	42
1.1.4.2 Ιδιότητες – Χρήσεις	42
1.1.4.3 Συστατικά	43
1.1.5 <i>Parietaria officinalis</i> (Περδικάκι)	43
1.1.5.1 Ιστορική αναδρομή	44
1.1.5.2 Ιδιότητες – Χρήσεις	44
1.1.5.3 Συστατικά	45
1.1.6 <i>Peonia mascula</i> (Παιώνια)	45
1.1.6.1 Ιστορική αναδρομή	46
1.1.6.2 Ιδιότητες-χρήσεις	46
1.1.6.3 Συστατικά	47

1.1.7 <i>Rosa canina</i> L.(Άγριο τριαντάφυλλο)	47
1.1.7.1 Ιστορική αναδρομή	47
1.1.7.2 Ιδιότητες-χρήσεις	48
1.1.7.3 Συστατικά	48
1.1.8 <i>Trigonella foenum – graecum</i> (Τριγωνέλλα)	48
1.1.8.1 Ιστορική αναδρομή	49
1.1.8.2 Ιδιότητες-χρήσεις	49
1.1.8.3 Συστατικά	50
1.1.9 <i>Epilobium angustifolium</i> L. (Επιλόβιο)	50
1.1.9.1 Ιστορική αναδρομή	50
1.1.9.2 Ιδιότητες-Χρήσεις	51
1.1.9.3 Συστατικά	51
1.1.10 <i>Crataegus monogyna</i> (Κράταιγος)	51
1.1.10.1 Ιστορική αναδρομή	52
1.1.10.2 Ιδιότητες-Χρήσεις	52
1.1.10.3 Συστατικά	53
1.1.11 <i>Frangula alnus</i> (Φραγκουλιά)	53
1.1.11.1 Ιστορική αναδρομή	54
1.1.11.2 Ιδιότητες-Χρήσεις	54
1.1.11.3 Συστατικά	54
1.1.12 <i>Origanum dictamnus</i> L. (Δίκταμο)	55
1.1.12.1 Ιστορική αναδρομή	55
1.1.12.2 Ιδιότητες-Χρήσεις	56
1.1.12.3 Συστατικά	56
1.1.13 <i>Leonorus Cardiac</i> a (Παναγιόχορτο)	56
1.1.13.1 Ιστορική αναδρομή	57
1.1.13.2 Ιδιότητες-Χρήσεις	57
1.1.13.3 Συστατικά	58
1.1.14 <i>Asplenium ceterach</i> (Σκορπίδι)	58
1.1.14.1 Ιστορική αναδρομή	59
1.1.14.2 Ιδιότητες-Χρήσεις	59
1.1.14.3 Συστατικά	59
1.1.15 <i>Equisetum arvense</i> - <i>Horsetail</i> (Εκουϊζέτο)	60
1.1.15.1 Ιστορική αναδρομή	60
1.1.15.2 Ιδιότητες-Χρήσεις	61

1.1.15.3 Συστατικά	61
1.1.16 <i>Stellaria media</i> (Στελλάρια)	61
1.1.16.1 Ιστορική αναδρομή	62
1.1.16.2 Ιδιότητες – Χρήσεις	62
1.1.16.3 Συστατικά	63
1.1.17 <i>Borago officinalis</i> L. (Μποράνγκο)	63
1.1.17.1 Ιστορική αναδρομή	64
1.1.17.2 Ιδιότητες-Χρήσεις.....	64
1.1.17.3 Συστατικά	65
1.1.18 <i>Agrimonia eupatoria</i> (Αγριμόνιο).....	65
1.1.18.1 Ιστορική αναδρομή	66
1.1.18.2 Ιδιότητες-Χρήσεις.....	66
1.1.18.3 Συστατικά	67
1.1.19 <i>Calendula officinalis</i> L. (Καλεντούλα)	67
1.1.19.1 Ιστορική αναδρομή	68
1.1.19.2 Ιδιότητες-Χρήσεις.....	68
1.1.19.3 Συστατικά	69
1.1.20 Χελιδόνιο (<i>Chelidonium majus</i>)	69
1.1.20.1 Ιστορική αναδρομή	70
1.1.20.2 Ιδιότητες-Χρήσεις.....	70
1.1.20.3 Συστατικά	71
1.2 Βιολογικές δράσεις φυτών.....	71
1.2.1 Αντιβακτηριακή δράση	71
1.2.1.1 Αντιβακτηριακή δράση και φυτά.....	72
1.2.2 Αντιφλεγμονώδης δράση	73
1.2.2.1 Μηχανισμός φλεγμονής.....	74
1.2.2.2 Φυτά με αντιφλεγμονώδη δράση.....	78
1.2.3 Αντιοξειδωτική δράση.....	82
1.2.3.1 Επιπτώσεις οξειδωτικού στρες	82
1.2.3.1.1 Οξειδωτική βλάβη στα λιπίδια.....	83
1.2.3.1.2 Οξειδωτική βλάβη στις πρωτεΐνες	84
1.2.3.1.3 Οξειδωτική βλάβη στο DNA	85
1.2.3.2 Αντιοξειδωτικά	85
1.2.3.2.1 Αντιοξειδωτικά και φυτά.....	86

1.2.3.2.2 Μέτρηση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών (Free-radical scavenging activity)	87
1.2.3.2.3 Ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων (Metal chelating activity).....	88
1.2.3.2.4 Αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης - Μέθοδος θειοβαρβιτουρικού οξέος (Lipid phase antioxidant activity: TBARS)	88
1.2.3.2.5 Αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών.....	89
1.2.3.2.6 Προσδιορισμός αναγωγικής ισχύος (Reducing power)	89
1.2.3.2.7 Μέτρηση της δέσμευσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου (Hydrogen peroxide scavenging assay)	89
1.2.4 Επουλωτική δράση.....	90
1.2.4.1 Πληγές, Χρόνιες πληγές- Επιπτώσεις.....	90
1.2.4.2 Στάδια επούλωσης πληγών.....	92
1.2.4.3 Ο δερματικός ιστός	94
1.2.4.4 Φαρμακευτικά φυτά και επουλωτική δράση	99
ΣΚΟΠΟΣ	111
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	113
2.1 Αντιδραστήρια και κύτταρα	113
2.2 Διαλύματα	115
2.3 Όργανα και συσκευές	118
2.4 Προετοιμασία φυτικών εκχυλισμάτων	118
2.5 Φυτοχημική ανάλυση εκχυλισμάτων	119
2.5.1 Δοκιμή αμινοξέων	119
2.5.2 Δοκιμή για ξανθοπρωτεΐνες.....	119
2.4.3 Δοκιμή για κινόνες	119
2.5.4 Δοκιμή για κουμαρίνες	119
2.5.5 Δοκιμή καρβοξυλικών οξέων	120
2.5.6 Δοκιμή για τανίνες	120
2.5.7 Δοκιμή για γλυκοσίδες.....	120
2.5.8 Δοκιμή φλαβονοειδών	120
2.5.9 Δοκιμή σαπωνοειδών	121
2.5.10 Δοκιμή τερπενοειδών	121
2.5.11 Δοκιμή καρδιακών γλυκοσίδων.....	121
2.5.12 Δοκιμή ρητινών	121
2.5.13 Δοκιμή στεροειδών	121
2.5.14 Δοκιμή φαινολών	121

2.5.15 Δοκιμή για την παρουσία αναγόντων σακχάρων	122
2.5.16 Δοκιμή για ανθρακινόνες	122
2.5.17 Δοκιμή φλοβατανινών	122
2.5.18 Δοκιμή πρωτεϊνών.....	122
2.5.19 Δοκιμή υδατανθράκων	123
2.5.20 Δοκιμή μονοσακχαριτών	123
2.5.21 Δοκιμή κετοζών	123
2.5.3 Φάσματα Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)	123
2.6 Αντιβακτηριακή δράση εκχυλισμάτων	124
2.6.1 Καλλιέργεια βακτηρίων	124
2.6.2 Μελέτη των βακτηριοκτόνων ιδιοτήτων των εκχυλισμάτων	124
2.7 Μελέτη της επίδρασης των εκχυλισμάτων σε ευκαριωτικά κύτταρα (καρκινικά και μη) ..	125
2.7.1 Κυτταρικές καλλιέργειες	125
2.7.2 Μελέτη της πολλαπλασιαστικής ικανότητας των κυττάρων παρουσία των εκχυλισμάτων.....	125
2.7.3 Ανάλυση κυτταρικού κύκλου	126
2.8 Μελέτη της επίδρασης των εκχυλισμάτων στη μετανάστευση των κυττάρων.....	127
2.9 Μελέτη της αντιφλεγμονώδους δράσεις των εκχυλισμάτων	128
2.9.1 Αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης	128
2.9.2 Αναστολή της αποσταθεροποίησης της μεμβράνης των ανθρώπινων ερυθρών αιμοσφαιρίων	129
2.10 Δοκιμασίες αντιοξειδωτικής δράσης	129
2.10.1 Δοκιμασία DPPH'	129
2.10.2 Αναστολή της οξείδωσης των λιπιδίων - Δοκιμασία TBARS	130
2.10.3 Ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων	130
2.10.4 Αναγωγική ισχύς.....	131
2.10.5 Αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών.....	131
2.10.6 Αντιοξειδωτική δράση με δέσμευση H ₂ O ₂	132
2.11 Προστασία των κυττάρων από ROS	132
2.11.1 Προσδιορισμός θανατηφόρου συγκέντρωσης H ₂ O ₂	132
2.11.2 Μελέτη της προστασίας των κυττάρων από το οξειδωτικό στρες παρουσία των εκχυλισμάτων.....	133
2.11.3 Υπολογισμός των παραγόμενων ROS	133
2.12 Συμβατότητα αίματος	134
2.13 <i>In vivo</i> πειράματα.....	135

2.13.1 Συνθήκες πειράματος	135
2.13.2 Δημιουργία τραυμάτων	135
2.13.3 Ιστοπαθολογική εξέταση	137
2.14 Στατιστική ανάλυση	137
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	139
3.1 Φυτοχημική ανάλυση εκχυλισμάτων	139
3.1.1 Μελέτη χημικής σύστασης εκχυλισμάτων με χρήση $^1\text{H-NMR}$	145
3.2 Μελέτη βακτηριοκτόνου δράσης των εκχυλισμάτων.....	165
3.3 Επίδραση εκχυλισμάτων στον ρυθμό ανάπτυξης ευκαρυωτικών κυττάρων.....	174
3.3.1 Μελέτη τοξικότητας.....	174
3.3.2 Μελέτη της επίδρασης επιλεγμένων εκχυλισμάτων στον κυτταρικό κύκλο	191
3.4 Επίδραση εκχυλισμάτων στη μετανάστευση ευκαρυωτικών κυττάρων.....	199
3.5 Αντιφλεγμονώδης δράση εκχυλισμάτων.....	213
3.6 Αντιοξειδωτική δράση εκχυλισμάτων.....	223
3.7 <i>In vivo</i> μελέτη επούλωσης τραυμάτων παρουσία φυτικών εκχυλισμάτων	251
3.7.1 Συμβατότητα εκχυλισμάτων με το αίμα	252
3.7.2 Επούλωση τραύματος.....	252
3.7.3 Προστασία κυττάρων από ROS	263
3.7.4 Ιστοπαθολογική μελέτη δερματικών ιστών στη περιοχή των τραυμάτων.....	267
4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	273
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	275

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Είναι ευρέως γνωστό ότι τα φυτά χρησιμοποιούνται εδώ και αιώνες για τη θεραπεία διαφόρων ασθενειών. Η δράση τους οφείλεται στα βιοδραστικά συστατικά που περιέχουν. Λόγω των πολλών πλεονεκτημάτων που εμφανίζουν, γίνεται συνεχώς προσπάθεια για ταυτοποίηση των βιοδραστικών συστατικών των φυτών, με απώτερο σκοπό την αξιοποίησή τους για την παρασκευή φαρμακευτικών σκευασμάτων. Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η μελέτη εκχυλισμάτων από φυτά της Ηπείρου, τόσο ως προς τη βιολογική τους δράση, όσο και ως προς τη χημική τους σύσταση.

Πιο συγκεκριμένα επιλέχθηκαν τα φυτά αγριμόνιο, γάλλιο, δίκταμο, εκουϊζέτο, επιλόβιο, καλεντούλα, κεδροκούκουτσο, κράταιγος, λαδανιά, μποράνγκο, παναγιόχορτο, παιώνια, περδικάκι, σκορπίδι, στελλάρια, τριαντάφυλλο, τριγωνέλλα, τσουκνίδα, φραγκουλιά και χελιδόνιο. Για την παρασκευή των εκχυλισμάτων, απομακρύνθηκε μέρος των φυτοχημικών συστατικών με χρήση οξικού αιθυλεστέρα και ακετονιτριλίου σε συσκευή Soxhlet. Στη συνέχεια έγινε βρασμός του εκάστοτε φυτού και μετά από διήθηση παραλήφθηκε το τελικό εκχύλισμα. Ακολούθησε φυτοχημική ανάλυση των εκχυλισμάτων για την ύπαρξη ορισμένων κατηγοριών ενώσεων καθώς και λήψη δακτυλικών αποτυπωμάτων με χρήση φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού.

Τα εκχυλίσματα των φυτών μελετήθηκαν ως προς τη βακτηριοκτόνο δράση τους, την επίδρασή τους στον πολλαπλασιασμό και τη μεταναστευτική ικανότητα ευκαρυωτικών κυττάρων (καρκινικών και μη), την επίδρασή τους στον κυτταρικό κύκλο ευκαρυωτικών αθανатоποιημένων κυττάρων, την αντιφλεγμονώδη και την αντιοξειδωτική τους δράση. Από τα *in vitro* πειράματα επιλέχθηκαν τα εκχυλίσματα της λαδανιάς, του κεδροκούκουτσου και της τσουκνίδας. Πιο συγκεκριμένα, το εκχύλισμα της λαδανιάς εμφάνισε την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση, το εκχύλισμα του κεδροκούκουτσου την υψηλότερη αντιφλεγμονώδη δράση, ενώ το εκχύλισμα της τσουκνίδας εμφάνισε τη μεγαλύτερη επίδραση πολλαπλασιαστική δράση σε αθανатоποιημένα κύτταρα HEK-293 και αθανатоποιημένα κερατινοκύτταρα, συνοδευόμενη από υψηλή μεταναστευτική επιτάχυνση. Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν, τα παραπάνω εκχυλίσματα

θεωρούνται αξιόλογα για να χρησιμοποιηθούν για την ταχύτερη επούλωση δερματικών τραυμάτων.

Ως εκ τούτου, μελετήθηκε η επουλωτική δράση τους σε δέρμα επιμυών. Από τα *in vivo* πειράματα προέκυψε πως το εκχύλισμα της τσουκνίδας προκαλεί την ταχύτερη επούλωση του τραύματος του ραχιαίου τμήματος των επιμυών. Επιπλέον η επούλωση του τραύματος στο οποίο πραγματοποιούνταν καθημερινή επάλειψη με το εκχύλισμα τσουκνίδας αποδείχθηκε ταχύτερη από εμπορικό σκεύασμα, με το εκχύλισμα τσουκνίδας να επιφέρει πλήρη επούλωση του τραύματος σε 9 ημέρες, έναντι του εμπορικού σκευάσματος το οποίο επιφέρει πλήρη επούλωση του τραύματος σε 11 ημέρες. Στο δείγμα ελέγχου η επούλωση του τραύματος πραγματοποιείται σε 14 ημέρες. Ιστολογική μελέτη των τραυμάτων των επιμυών επιβεβαιώνει διαφορές μεταξύ των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε το εκχύλισμα της τσουκνίδας, που αφορούν κυρίως τη φλεγμονή, την παρουσία και τη διάταξη των ινοβλαστών, το κολλαγόνο, την αγγειογένεση και την επανεπιθηλίωση.

Με βάση όλα τα παραπάνω, επιβεβαιώνεται ότι τα φαρμακευτικά φυτά αποτελούν μια ανεξάντλητη πηγή φυτοχημικών ενώσεων που μπορούν να εμφανίσουν ποικίλες δράσεις. Με τη διεξαγωγή των πειραμάτων αυτών προέκυψαν για πρώτη φορά δεδομένα σε σχέση με την επουλωτική δράση που έχουν φυτά, τα οποία ελάχιστα έχουν μελετηθεί έως τώρα, ενώ ταυτόχρονα με τον τρόπο παρασκευής των εκχυλισμάτων θέτονται οι βάσεις για την εύρεση νέων βιολογικών δράσεων, γεγονός που μπορεί να δώσει τεράστια αύξηση στην εμπορική εκμετάλλευση της χλωρίδας της Ηπείρου.

SUMMARY

It is well known that plants have been used for centuries to treat various diseases. Their action is due to the bioactive compounds they contain. Due to the many benefits that they exhibit, efforts are constantly being made to identify the bioactive constituents of plants, with the ultimate aim to utilize them for the preparation of pharmaceutical preparations. The aim of this thesis is the study of the chemical consistency and the biological activity of extracts from plants grown in the region of Epirus,

Specifically, the following plants were selected: *Agrimonia eupatoria*, *Galium concinnum*, *Origanum dictamnus* L., *Equisetum arvense* - Horsetail, *Epilobium angustifolium* L.), *Calendula officinalis* L., *Juniperus communis*, *Crataegus monogyna*, *Cistus creticus*, *Borago officinalis* L., *Leonurus cardiaca*, *Peonia mascula*, *Parietaria judaica*, *Asplenium ceterach*, *Stellaria media*, *Rosa canina* L., *Trigonella foenum – graecum*, *Urtica dioica* L., *Frangula alnus*, *Chelidonium majus*. In order to prepare the plant extracts, initially, part of the bioactive constituents was removed following a Soxhlet extraction procedure, using ethyl acetate and acetonitrile. Then the remaining plant was boiled, and after filtration the final extract was obtained. Phytochemical screening tests were carried out to assess the existence of certain classes of compounds as well as fingerprints of the extracts were obtained using nuclear magnetic resonance spectroscopy.

Plant extracts were studied for their bactericidal activity, their effect on proliferation and migration rate of eukaryotic cells (cancerous and non-cancerous), their effect on the cell cycle of immortalized eukaryotic cells, their anti-inflammatory and their antioxidant activity. From the results of the in vitro experiments, three extracts were selected, namely *Cistus creticus*, *Juniperus communis* and *Urtica dioica* L. The *Cistus creticus* extract showed the highest antioxidant activity, the *Juniperus communis* extract had the highest anti-inflammatory activity, while the *Urtica dioica* L. extract showed the highest proliferative activity in immortalized HEK-293 and immortalized keratinocytes. Based on the in vitro

experiments, the three aforementioned plant extract can be used to promote wound healing and as such, to be used in such applications.

Therefore, the wound healing effect of the extracts was studied on rat skin. *In vivo* experiments showed that the *Urtica dioica* L. extract causes faster healing of the dorsal part of the rat. In addition, wound healing that was applied daily with the *Urtica dioica* L. extract proved to be faster than commercial formulation, with the extract yielding complete wound healing in 9 days, compared to the commercial formulation which resulted in complete healing of the wound 11 days. In the control sample, the wound healing occurs within 14 days. Histological study of rat wounds confirms differences between control wounds and those treated with ointment containing the *Urtica dioica* L. extract, mainly involving inflammation, the presence and arrangement of fibroblasts, collagen, angiogenesis and reperfusion.

Based on all the above, it is validated that pharmaceutical plants are an inexhaustive source of phytochemicals which can be used in various applications. Based on the experiments conducted herein, results were obtained for the first time regarding the wound healing activity of plants, that have been scarcely studied up to now. At the same time, following the suggested way to prepare the plant extracts, the basis for the research of new biological activities is put forward. This can give a huge boost to the commercialization of Epirus' flora.

ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΟ

DDW: dabble distilled water/δισ απεσταγμένο ύδωρ

ROS: reactive oxygen species/ενεργές ρίζες οξυγόνου

H₂O₂: hydrogen peroxide/υπεροξειδίο του υδρογόνου

O₂^{•-}:superoxide ion/σουπεροξειδικό ανιόν

BHT : tert-butyl hydroxyltoluene/tert-βουτυλο-υδροξυτολουόλιο/

PC: phosphatidylcholine/φωσφατιδυλοχολίνη

DPPH[•]: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl/2,2 διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζυλική ρίζα

TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances/ενώσεις που αντιδρούν με
θειοβαρβιτουρικό οξύ

PBS: phosphate buffered saline/ αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών

FBS: fetal bovine serum/ ορός βόειου εμβρύου

PI: propidium iodide/ ιωδιούχο προπίδιο

DNA: deoxyribonucleic acid /δε(σ)οξυριβο(ζο)νουκλεϊ(νι)κό οξύ

MAA: μέση απόσταση των δύο άκρων της αμυχής

AE: hematoxylin-eosin/αιματοξυλίνη - εωσίνη

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Αριθμός επιστημονικών δημοσιεύσεων με φυτικά εκχυλίσματα και βιολογικές δράσεις αυτών. Πηγή δεδομένων: PubMed.....	29
Εικόνα 2: Φωτογραφία του φυτού τσουκνίδα.....	31
Εικόνα 3: Χημική δομή κυριότερων χημικών ενώσεων της τσουκνίδας.....	36
Εικόνα 4: Φωτογραφία του φυτού λαδανιά.....	37
Εικόνα 5: Φωτογραφία του φυτού κεδροκούκουτσο.....	40
Εικόνα 6: Φωτογραφία του φυτού γάλλιο.....	42
Εικόνα 7: Φωτογραφία του φυτού περδικάκι.....	44
Εικόνα 8: Φωτογραφία του φυτού παιώνια.....	46
Εικόνα 9: Φωτογραφία του φυτού άγριου τριαντάφυλλου πριν την άνθηση.....	47
Εικόνα 10: Φωτογραφία του φυτού τριγωνέλλα.....	49
Εικόνα 11: Φωτογραφία του φυτού επιλόβιο.....	50
Εικόνα 12: Φωτογραφία του φυτού κράταιγος.....	52
Εικόνα 13: Φωτογραφία του φυτού φραγκουλιά.....	54
Εικόνα 14: Φωτογραφία του φυτού δίκταμο.....	55
Εικόνα 15: Φωτογραφία του φυτού παναγιόχορτο.....	57
Εικόνα 16: Φωτογραφία του φυτού σκορπίδι.....	59
Εικόνα 17: Φωτογραφία του φυτού εκουϊζέτο.....	60
Εικόνα 18: Φωτογραφία του φυτού στελλάρια.....	62
Εικόνα 19: Φωτογραφία του φυτού μποράνγκο.....	64
Εικόνα 20: Φωτογραφία του φυτού αγριμόνιο.....	66
Εικόνα 21: Φωτογραφία του φυτού καλεντούλα.....	68
Εικόνα 22: Φωτογραφία του φυτού χελιδόνιο.....	70
Εικόνα 23: Η οξεία φλεγμονώδης αντίδραση ξεκινά με εξαγγείωση των ουδετερόφιλων στους ιστούς. Τα ουδετερόφιλα παράγουν χημειοκίνες προσελκύοντας τα μακροφάγα στο σημείο της φλεγμονής. Η απελευθέρωση χημειοελκυστικών παραγόντων από τα παραπάνω κύτταρα διευκολύνουν την εξαγγείωση ουδετερόφιλων και λεμφοκυττάρων.....	76
Εικόνα 24: Η χρόνια φλεγμονώδης αντίδραση έχει ως αποτέλεσμα την ιστική βλάβη. Τα μακροφάγα απελευθερώνουν υδρολυτικά ένζυμα και δραστικές ρίζες οξυγόνου και αζώτου που ως επι το πλείστον είναι υπεύθυνες για την πρόκληση βλάβης στους περιβάλλοντες ιστούς. Οι κυτοκίνες που απελευθερώνονται από τα μακροφάγα διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και την παραγωγή κολλαγόνου με αποτέλεσμα την δημιουργία ενός ουλώδους ιστού (ίνωση).....	77
Εικόνα 25: Κύριες ενώσεις που έχουν απομονωθεί από φυτά και στις οποίες αποδίδεται η αντιφλεγμονώδης δράση.....	80
Εικόνα 26: Εγκάρσια τομή τμήματος δέρματος επίμυου. Χρώση με ΑΕ 1: επιδερμίδα, 2: βασική στιβάδα, 3: ακανθωτή στιβάδα, 4: κοκώδης στιβάδα, 5: διαυγής στιβάδα, 6: κεράτινη στιβάδα, 7: χόριο, 8: κερατινοκύτταρα, 9: ίνες κολλαγόνου, 10:ινοβλάστες.....	96
Εικόνα 27: Η διαδικασία επούλωσης πληγών περιλαμβάνει αλληλεπικαλυπτόμενα στάδια που ποικίλουν σε διάρκεια, εξαρτώμενη από το μέγεθος της πληγής. Έτσι η αιμόσταση διαρκεί από μια έως τέσσερις ημέρες. Η φλεγμονή διαρκεί από την δεύτερη έως και την 14η ημέρα. Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων (κερατινοκύτταρα, ινοβλάστες) από τη τέταρτη έως και τη τελευταία ημέρα στην οποία η πληγή επουλώνεται πλήρως, ενώ το στάδιο της αναδιαμόρφωσης είναι το τελευταίο στάδιο της επούλωσης των πληγών.....	97

Εικόνα 28: Η διαδικασία επούλωσης πληγών απεικονίζεται εδώ σχηματικά. Αρχικά τα κομμένα αιμοφόρα αγγεία αιμορραγούν μέσα στο τραύμα (1). Στην περιοχή του τραύματος εισέρχονται ουδετερόφιλα και μακροφάγα (φλεγμονή) και δημιουργείται θρόμβος αίματος (2). Υπό την επίδραση των κυτοκινών που απελευθερώνονται εν μέρει από τα μακροφάγα οι ινοβλάστες πολλαπλασιάζονται και παράγουν κολλαγόνο, ενώ τα επιθηλιακά κύτταρα μεταναστεύουν από τις άκρες του τράυματος κάτω και ενδιάμεσα από τον θρόμβο του αίματος (3). Η επιδερμίδα επανευκαθιδρύει βαθμιαία τη συνοχή στην περιοχή του τραύματος (4).....	98
Εικόνα 29: Διαγραμματική απεικόνιση της μεθόδου που ακολουθείται για την εύρεση φυτοχημικών με επούλωση δράση.	110
Εικόνα 30: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος αγριμονίου σε D_2O	145
Εικόνα 31: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος γαλλίου σε D_2O	146
Εικόνα 32: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος δίκταμου σε D_2O	147
Εικόνα 33: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος επιλόβιου σε D_2O	148
Εικόνα 34: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος εκουϊζέτου σε D_2O	149
Εικόνα 35: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος καλεντούλας σε D_2O	150
Εικόνα 36: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος κεδροκούκουτσου σε D_2O	151
Εικόνα 37: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος κράταιγου σε D_2O	152
Εικόνα 38: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος λαδανιάς σε D_2O	153
Εικόνα 39: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος μποράνγκου σε D_2O	154
Εικόνα 40: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος παναγιόχορτου σε D_2O	155
Εικόνα 41: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος παιώνιας σε D_2O	156
Εικόνα 42: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος περδικακίου σε D_2O	157
Εικόνα 43: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος στελλάριας σε D_2O	158
Εικόνα 44: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος σκορπιδίου σε D_2O	159
Εικόνα 45: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος τριαντάφυλλου σε D_2O	160
Εικόνα 46: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος τριγωνέλλας σε D_2O	161
Εικόνα 47: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος τσουκνίδας σε D_2O	162
Εικόνα 48 : Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος φραγκουλιάς σε D_2O	163
Εικόνα 49: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του εκχυλίσματος χελιδονίου σε D_2O	164
Εικόνα 50: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων <i>E.coli</i> και <i>S. Aureus</i> μετά από 0,5, 1, 2 και 4 ώρες έκθεσής τους στο εκχύλισμα του αγριμονίου.	167
Εικόνα 51: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων <i>E.coli</i> και <i>S. Aureus</i> μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του γαλλίου.	168
Εικόνα 52: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων <i>E.coli</i> και <i>S. Aureus</i> μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του δίκταμου.	168
Εικόνα 53: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων <i>E.coli</i> και <i>S. Aureus</i> μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του εκουϊζέτου.	168
Εικόνα 54: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων <i>E.coli</i> και <i>S. Aureus</i> μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του επιλόβιου.	169
Εικόνα 55: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων <i>E.coli</i> και <i>S. Aureus</i> μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της καλεντούλας.	169
Εικόνα 56: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων <i>E.coli</i> και <i>S. Aureus</i> μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του κεδροκούκουτσου.	169
Εικόνα 57: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων <i>E.coli</i> και <i>S. Aureus</i> μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του κράταιγου.	170
Εικόνα 58: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων <i>E.coli</i> και <i>S. Aureus</i> μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της λαδανιάς.	170

Εικόνα 59: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων E.coli και S. Aureus μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του μποράνγκου.	170
Εικόνα 60: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων E.coli και S. Aureus μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του παναγιόχορτου.	171
Εικόνα 61: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων E.coli και S. Aureus μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της παιώνιας.	171
Εικόνα 62: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων E.coli και S. Aureus μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του σκορπιδίου.	172
Εικόνα 63: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων E.coli και S. Aureus μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της στελλάριδας.	172
Εικόνα 64: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων E.coli και S. Aureus μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του τριαντάφυλλου.	172
Εικόνα 65: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων E.coli και S. Aureus μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της τριγωνέλλας.	173
Εικόνα 66: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων E.coli και S. Aureus μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της τσουκνίδας.	173
Εικόνα 67: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων E.coli και S. Aureus μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της φραγκουλιάς.	173
Εικόνα 68: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων E.coli και S. Aureus μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του χελιδονίου.	174
Εικόνα 69: % αριθμός των κυττάρων HEK-293 με 1 και 2 “δόσεις” εκχυλίσματος τσουκνίδας μετά από 48 ώρες επώασης.	180
Εικόνα 70: % αριθμός των κυττάρων HaCaT με 1 και 2 “δόσεις” εκχυλίσματος τσουκνίδας μετά από 48 ώρες επώασης.	180
Εικόνα 71: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα αγριμονίου.	181
Εικόνα 72: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα γάλλιου.	181
Εικόνα 73: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα δίκταμου.	182
Εικόνα 74: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα εκουϊζέτου.	182
Εικόνα 75: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα επιλόβιου.	183
Εικόνα 76: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα καλεντούλας.	183
Εικόνα 77: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα κεδροκούκουτσου.	184
Εικόνα 78: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα κράταιγου.	184
Εικόνα 79: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα λαδανιάς.	185
Εικόνα 80: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα μποράνγκου.	185
Εικόνα 81: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα παιώνιας.	186

Εικόνα 82: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα παναγιόχορτου.	186
Εικόνα 83: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα περδικακίου.	187
Εικόνα 84: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα σκορπιδίου.	187
Εικόνα 85: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα στελλάριας.	188
Εικόνα 86: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα τριαντάφυλλου.	188
Εικόνα 87: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα τριγωνέλλας.	189
Εικόνα 88: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα τσουκνίδας.	189
Εικόνα 89: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα φραγκουλιάς.	190
Εικόνα 90: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα χελιδόνιου.	190
Εικόνα 91: Ιστογράμματα DNA των HEK-293 (1: κύτταρα ελέγχου, 2: κύτταρα μετά από επώαση με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τσουκνίδας και 3: κύτταρα μετά από επώαση με $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τσουκνίδας) και κύτταρα HaCaT (4: κύτταρα ελέγχου και 5: κύτταρα μετά από επώαση με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τσουκνίδας) μετά από 12 (Α) και 24 (Β) ώρες επώασης.	195
Εικόνα 92: Αριθμός κυττάρων/ανα φάση (%) στις εκάστοτε φάσεις του κυτταρικού κύκλου μετά από 12 ώρες επώαση με εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκεντρώσεις 100 και $150 \mu\text{g mL}^{-1}$	196
Εικόνα 93: Αριθμός κυττάρων (%) στις εκάστοτε φάσεις του κυτταρικού κύκλου μετά από 24 ώρες επώαση με το εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκεντρώσεις 100 και $150 \mu\text{g mL}^{-1}$	196
Εικόνα 94: Αριθμός κυττάρων (%) στις εκάστοτε φάσεις του κυτταρικού κύκλου μετά από 12 ώρες επώαση με το εκχύλισμα περδικακίου σε συγκεντρώσεις 100 και $150 \mu\text{g mL}^{-1}$	197
Εικόνα 95: Αριθμός κυττάρων (%) στις εκάστοτε φάσεις του κυτταρικού κύκλου μετά από 24 ώρες επώαση με το εκχύλισμα περδικακίου σε συγκεντρώσεις 100 και $150 \mu\text{g mL}^{-1}$	197
Εικόνα 96: Αριθμός κυττάρων (%) στις εκάστοτε φάσεις του κυτταρικού κύκλου μετά από 12 ώρες επώαση με το εκχύλισμα λαδανιάς σε συγκεντρώσεις 100 και $150 \mu\text{g mL}^{-1}$	198
Εικόνα 97: Αριθμός κυττάρων (%) στις εκάστοτε φάσεις του κυτταρικού κύκλου μετά από 24 ώρες επώαση με το εκχύλισμα λαδανιάς σε συγκεντρώσεις 100 και $150 \mu\text{g mL}^{-1}$	198
Εικόνα 98: Φωτογραφίες (μεγέθυνση 5x) κατά τη μελέτη της μετανάστευσης των κυττάρων παρουσία εκχυλίσματος τσουκνίδας. Οι εικόνες Α-Γ αντιπροσωπεύουν τα κύτταρα HEK-293, ενώ οι Δ,Ε τα κύτταρα HaCaT. (Α) δείγμα ελέγχου, (Β) κύτταρα τα οποία έχουν επωαστεί με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος, (Γ) κύτταρα τα οποία έχουν επωαστεί με $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος και κύτταρα, Ε) κύτταρα τα οποία έχουν επωαστεί με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος, σε (1) 0 ώρες και (2) 24 ώρες.	202
Εικόνα 99: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ και $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος αγριμόνιου.	203
Εικόνα 100: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ και $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος γαλλίου.	203

Εικόνα 101: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος δίκταμου.	204
Εικόνα 102: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος εκουϊζέτου.	204
Εικόνα 103: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος επιλόβιου.	205
Εικόνα 104: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος καλεντούλας.	205
Εικόνα 105: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος κεδροκούκουτσου.	206
Εικόνα 106: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος κράταιγου.	206
Εικόνα 107: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος λαδανιάς.	207
Εικόνα 108: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος μποράνγκο.	207
Εικόνα 109: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος παιώνιας.	208
Εικόνα 110: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος εκχυλίσματος παναγιόχορτου.	208
Εικόνα 111: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος εκχυλίσματος περδικάκι.	209
Εικόνα 112: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος εκχυλίσματος σκορπίδι.	209
Εικόνα 113: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος στελλάριας.	210
Εικόνα 114: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τριαντάφυλλου.	210
Εικόνα 115: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τριγωνέλλας.	211

Εικόνα 116: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τσουκνίδας.	211
Εικόνα 117: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος φραγκουλιάς.	212
Εικόνα 118: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος χελιδόνιου.	212
Εικόνα 119: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του αγριμονίου.	216
Εικόνα 120: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του γαλλίου.	217
Εικόνα 121: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του δίκταμου.	217
Εικόνα 122: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του εκουϊζέτου.	217
Εικόνα 123: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του επιλόβιου.	218
Εικόνα 124: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της καλεντούλας.	218
Εικόνα 125: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του κεδροκούκουτσου.	218
Εικόνα 126: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του κράταιγου.	219
Εικόνα 127: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της λαδανιάς.	219
Εικόνα 128: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του μποράνγκου.	219
Εικόνα 129: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της παιώνιας.	220
Εικόνα 130: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του παναγιόχορτου.	220
Εικόνα 131: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του περδικακίου.	220
Εικόνα 132: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του σκορπίδιου.	221
Εικόνα 133: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της στελλάριας.	221
Εικόνα 134: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του τριαντάφυλλου.	221
Εικόνα 135: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της τριγωνέλλας.	222
Εικόνα 136: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της τσουκνίδας.	222
Εικόνα 137: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της φραγκουλιάς.	222

Εικόνα 138: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του χελιδόνιου.....	223
Εικόνα 139: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος αγριμόνιου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	231
Εικόνα 140: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος γάλλιου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	232
Εικόνα 141: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος δίκταμου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	233
Εικόνα 142: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος εκουϊζέτου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	234
Εικόνα 143: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος επιλόβιου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	235
Εικόνα 144: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος καλεντούλας, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	236
Εικόνα 145: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος κεδροκούκουτσου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	237
Εικόνα 146: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος κράταιγου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	238
Εικόνα 147: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος λαδανιάς, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	239
Εικόνα 148: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος μποράνγκου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	240
Εικόνα 149: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος παιώνιας, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	241
Εικόνα 150: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος παναγιόχορτου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	242
Εικόνα 151: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος περδικάκιου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	243
Εικόνα 152: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος σκορπίδιου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	244
Εικόνα 153: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος στελλάριας, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	245
Εικόνα 154: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος τριαντάφυλλου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	246
Εικόνα 155: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος τριγωνέλλας, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	247
Εικόνα 156: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος τσουκνίδας, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	248
Εικόνα 157: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος φραγκουλιάς, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	249
Εικόνα 158: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος χελιδόνιου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.....	250
Εικόνα 159: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων τις ημέρες 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκεντρώσεις 2 mg g ⁻¹ .	256

Εικόνα 160: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων την ημέρα 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκεντρώσεις 4 mg g ⁻¹ .	256
Εικόνα 161: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων τις ημέρες 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα λαδανιάς σε συγκεντρώσεις 2 mg g ⁻¹ .	257
Εικόνα 162: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων την ημέρα 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα λαδανιάς σε συγκεντρώσεις 4 mg g ⁻¹ .	257
Εικόνα 163: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων τις ημέρες 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα κεδροκούκουτσου σε συγκεντρώσεις 2 mg g ⁻¹ .	258
Εικόνα 164: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων την ημέρα 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα κεδροκούκουτσου σε συγκεντρώσεις 4 mg g ⁻¹ .	258
Εικόνα 165: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων την ημέρα 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με η αλοιφή Madecassol που αποτελεί τον θετικό μάρτυρα.	259
Εικόνα 166: % μείωση του εμβαδού των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 2 mg g ⁻¹ , σε σχέση με το εμβαδό που είχαν τη μέρα 0, μέχρι και 9 μέρες μετά την δημιουργία του τραύματος.	260
Εικόνα 167: % μείωση του εμβαδού των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 4 mg g ⁻¹ , σε σχέση με το εμβαδό που είχαν τη μέρα 0, μέχρι και 9 μέρες μετά την δημιουργία του τραύματος.	260
Εικόνα 168: % μείωση του εμβαδού των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα λαδανιάς σε συγκέντρωση 2 mg g ⁻¹ , σε σχέση με το εμβαδό που είχαν τη μέρα 0, μέχρι και 9 μέρες μετά την δημιουργία του τραύματος.	261
Εικόνα 169: % μείωση του εμβαδού των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα λαδανιάς σε συγκέντρωση 4 mg g ⁻¹ , σε σχέση με το εμβαδό που είχαν τη μέρα 0, μέχρι και 9 μέρες μετά την δημιουργία του τραύματος.	261
Εικόνα 170: % μείωση του εμβαδού των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα κεδροκούκουτσου σε συγκέντρωση 2 mg g ⁻¹ , σε σχέση με το εμβαδό που είχαν τη μέρα 0, μέχρι και 9 μέρες μετά την δημιουργία του τραύματος.	262
Εικόνα 171: % μείωση του εμβαδού των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα κεδροκούκουτσου σε συγκέντρωση 4 mg g ⁻¹ , σε σχέση με το εμβαδό που είχαν τη μέρα 0, μέχρι και 9 μέρες μετά την δημιουργία του τραύματος.	262
Εικόνα 172: % αριθμός των κυττάρων HaCaT και HEK-293 24 ώρες μετά το οξειδωτικό στρες με H ₂ O ₂ . Τα κύτταρα πριν το οξειδωτικό στρες επώαστηκαν με 100 και 150 μg mL ⁻¹ τσουκνίδας και κεδροκούκουτσου καθώς και με 100 μg mL ⁻¹ λαδανιάς.	265

Εικόνα 173: % μείωση των παραγόμενων ROS των κυττάρων HaCaT και HEK-293 μετά το οξειδωτικό στρες με H ₂ O ₂ . Τα κύτταρα πριν το οξειδωτικό στρες επωάστηκαν με 100 και 150 μg mL ⁻¹ τσουκνίδας και κεδροκούκουτσου καθώς και με 100 μg mL ⁻¹ λαδανιάς.	266
Εικόνα 174: Εγκάρσια τομή τμήματος δέρματος επιμυών μετά από χρώση ΑΕ. Στην πρώτη σειρά φαίνονται οι ιστοί που απομονώθηκαν από τα δείγματα ελέγχου, ενώ στην δεύτερη σειρά φαίνονται οι ιστοί που απομονώθηκαν από τα δείγματα στα οποία έγινε επάλειψη με το εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 2 mg g ⁻¹ για πέντε ημέρες. A= x 100 μεγέθυνση, B= x200 μεγέθυνση.	269
Εικόνα 175: Εγκάρσια τομή τμήματος δέρματος επιμυών μετά από τριχρωμική χρώση Masson. Στην πρώτη σειρά φαίνονται οι ιστοί που απομονώθηκαν από τα δείγματα ελέγχου, ενώ στην δεύτερη σειρά φαίνονται οι ιστοί που απομονώθηκαν από τα δείγματα στα οποία έγινε επάλειψη με το εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 2 mg g ⁻¹ για πέντε ημέρες. A= x 100 μεγέθυνση, B= x200 μεγέθυνση.	270
Εικόνα 176: Εγκάρσια τομή τμήματος δέρματος επιμυών μετά από χρώση ΑΕ από ιστούς που απομονώθηκαν από τα δείγματα ελέγχου (A1) και ιστούς που απομονώθηκαν από τα δείγματα στα οποία έγινε επάλειψη με το εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 2 mg g ⁻¹ (A2). Οι ιστοί απομονώθηκαν μετά την επούλωση των τραυμάτων (10 μέρες μετά την αρχική τομή). A= x 100 μεγέθυνση.	271
Εικόνα 177: Εγκάρσια τομή τμήματος δέρματος επιμυών μετά από χρώση ΑΕ από ιστούς που απομονώθηκαν από τα δείγματα ελέγχου (A1) και ιστούς που απομονώθηκαν από τα δείγματα στα οποία έγινε επάλειψη με το εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 2 mg g ⁻¹ (A2). Οι ιστοί απομονώθηκαν μετά την επούλωση των τραυμάτων (10 μέρες μετά την αρχική τομή). B= x 200 μεγέθυνση.	272

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Εκχυλίσματα φυτών της Ελλάδος με αντιφλεγμονώδη δράση	81
Πίνακας 2: Εκχυλίσματα φυτών της Ελλάδος με επουλωτική δράση	102
Πίνακας 3: Φυτοχημικές ενώσεις που έχουν απομονωθεί από φυτά με ιδιότητες επούλωσης πληγών [216]	103
Πίνακας 4: Κατηγορίες φυτοχημικών ενώσεων σε κάθε εκχύλισμα. Με ✓ υποδηλώνεται η παρουσία των αντίστοιχων ενώσεων και με ✕ η απουσία τους	142

1.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

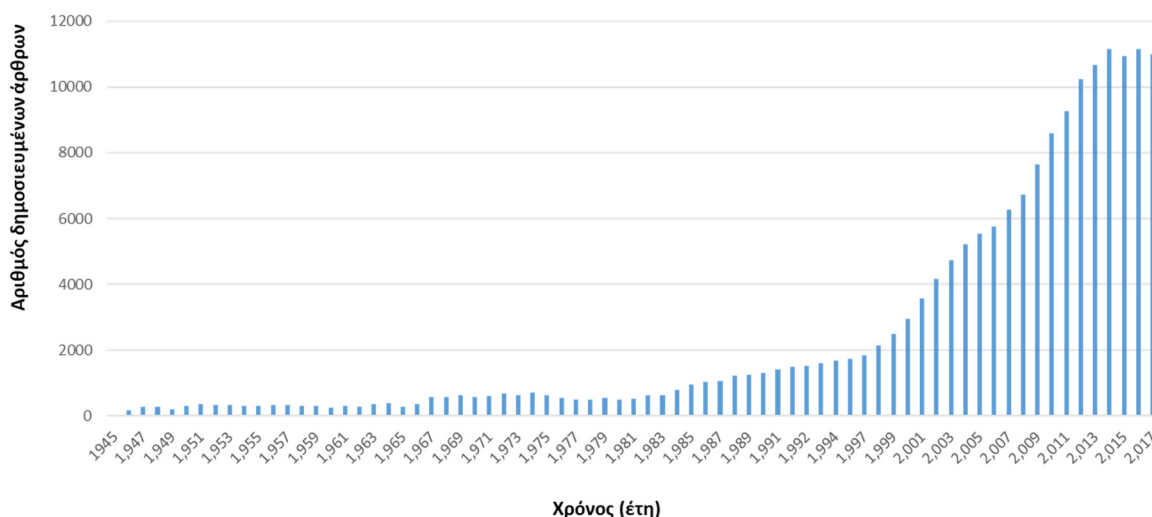
1.1 Φαρμακευτικά φυτά

Ο όρος φαρμακευτικά αποδίδεται σε φυτά που παράγουν βιολογικά δραστικές ενώσεις με θεραπευτική δράση για τον άνθρωπο. Αυτά τα φυτά είναι σημαντικά για τη βοτανική ιατρική, η οποία γίνεται όλο και πιο δημοφιλής σε πολλές χώρες, λόγω του χαμηλού κόστους και της υψηλής διαθεσιμότητας φυτών. Τα φαρμακευτικά φυτά αποτελούν μια μεγάλη πηγή δραστικών φυτοχημικών ενώσεων και μελετώνται εκτενώς, προκειμένου να αποκτηθούν γνώσεις σχετικά με τις θεραπευτικές τους δράσεις, ώστε να αξιοποιηθούν για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων. Τα φαρμακευτικά φυτά χρησιμοποιούνται από αρχαιότατους χρόνους στην παραδοσιακή ιατρική για τη θεραπεία διαφόρων ασθενειών σε τέτοιο βαθμό, ώστε η βοτανική και η ιατρική αποτελούσαν στη πρακτική τους εφαρμογή συνώνυμους όρους. Από την ελληνική αρχαιότητα υπήρξε καταγραφή/ταξινόμηση φαρμακευτικών φυτών κατά θεραπευτική χρήση, τα οποία ανευρίσκονται σε κείμενα του Ιπποκράτη. Πρώτος αρχαίος Έλληνας που ασχολήθηκε ιδιαίτερα με τα φαρμακευτικά φυτά ήταν ο Θεόφραστος ο Ερέσιος (372-287 π.Χ), ο σημαντικότερος μαθητής του Αριστοτέλη, που συνέγραψε τις "*Περί φυτών ιστορίαι*" (9 βιβλία) και "*Περί φυτών αιτίαι*" (6 βιβλία). Επίσης, μία από τις πιο ισχυρές επιρροές ήταν το περίφημο βιβλίο "*De Materia Medica*", που γράφτηκε από τον Έλληνα γιατρό Διοσκουρίδη τον 1ο αιώνα μ.Χ. Ο Ιπποκράτης, ο Αριστοτέλης, ο Διοσκουρίδης και ο Γαληνός συνέβαλαν σημαντικά στην ορθολογική χρήση των φυτών, δημοσιεύοντας βιβλία και σύνθετες συνταγές για τη χρήση των φυτών [1].

Λόγω του ότι οι γνώσεις γύρω από τις αιτίες των ασθενειών και τις ιδιότητες των φυτών ήταν περιορισμένες, η χρήση των φυτών για τη θεραπεία της εκάστοτε ασθένειας βασιζόταν στην εμπειρία. Κατά τον 19ο αιώνα η μελέτη της χημικής δομής των ενώσεων, μέσω της ανάπτυξης της οργανικής χημείας, συνέβαλε καθοριστικά στην απόκτηση γνώσης για την δομή συγκεκριμένων ενώσεων που υπάρχουν στα φαρμακευτικά φυτά. Οι γνώσεις αυτές άνοιξαν το δρόμο για τη σύνθεση φαρμακευτικών ενώσεων, με δομή όμοιας αυτής

των φυτικών βιοδραστικών συστατικών και την παρασκευή φαρμάκων από φυτικά συστατικά. Η ανάπτυξη της χημείας και των βιολογικών επιστημών συνετέλεσε στη μέγιστη αξιοποίηση αυτής της γνώσης, με αποτέλεσμα η χρήση των φαρμακευτικών φυτών να εγκαταλείψει σταδιακά την εμπειρική χρήση και να βασιστεί σε επιστημονικές έρευνες. Έκτοτε, έχουν δημοσιευτεί χιλιάδες επιστημονικά άρθρα τα οποία περιγράφουν τις βιολογικές δράσεις διαφόρων εκχυλισμάτων/βαμμάτων/εγχυμάτων κλπ. των φυτών. Μάλιστα, το ενδιαφέρον για την εύρεση νέων φυτοχημικών, όχι μόνο είναι αμείωτο, αλλά αυξάνεται με εκθετικούς ρυθμούς, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1. Είναι αξιοσημείωτο ότι από το 2012 και μετά, δημοσιεύονται παραπάνω από 10.000 επιστημονικά άρθρα ετησίως με αυτή τη θεματολογία. Πλέον, η έρευνα διευκολύνεται αρκετά καθώς υπάρχουν διαθέσιμες διαδικτυακά, λεπτομερείς ηλεκτρονικές βάσεις δεδομένων από τις οποίες μπορεί κανείς να αντλήσει πληροφορίες σχετικά με τις επιστημονικές, κοινές και λαϊκές ονομασίες φυτών, τη μορφή τους, τις δραστικές ουσίες που περιέχουν, τα μέρη του φυτού στα οποία περιέχονται, τον συνιστώμενο τρόπο κατανάλωσής τους, τις φαρμακολογικές ιδιότητες και εφαρμογές καθώς και τις ανεπιθύμητες παρενέργειες και την ενδεχόμενη τοξικότητά τους. Τέτοιες βάσεις δεδομένων συνοδεύονται από εκτεταμένες επιστημονικές μελέτες και δημοσιευμένα άρθρα, στα οποία παρέχονται περαιτέρω πληροφορίες. Τα φαρμακευτικά φυτά αξιοποιούνται ποικιλοτρόπως από τη βιομηχανία παρασκευής ροφημάτων, τη βιομηχανία τροφίμων, τη ζαχαροπλαστική, τη μαγειρική, τις βιομηχανίες παρασκευής φαρμάκων και τις βιομηχανίες παρασκευής προϊόντων κοσμετολογίας. Η απομόνωση των δραστικών ουσιών στις οποίες οφείλονται οι θεραπευτικές δράσεις των φυτών και η μελέτη των μηχανισμών, μέσω των οποίων οι δραστικές ουσίες επιτυγχάνουν τις φαρμακολογικές ή τοξικές δράσεις τους, έχουν φέρει επανάσταση στη σύγχρονη ιατρική. Παρότι σήμερα αρκετά μεγάλο ποσοστό των φαρμάκων που συνταγογραφούνται συντίθενται κατά κύριο λόγο, στα εργαστήρια των φαρμακοβιομηχανιών, τα φαρμακευτικά φυτά εξακολουθούν να κατέχουν μεγάλο μερίδιο στη λαϊκή/παραδοσιακή θεραπευτική. Είναι αδιαμφισβήτητο γεγονός ότι αποτελούν πηγή έμπνευσης για τους σύγχρονους ερευνητές, για τις περιπτώσεις όπου η σύγχρονη φαρμακευτική χημεία αδυνατεί να σχεδιάσει νέα συνθετικά φάρμακα, ενώ το μικρό κόστος τους, καθιστά εφικτή τη διεξαγωγή

ποικίλων μελετών για την ανάδειξη δραστικών εκχυλισμάτων [1–4]. Επιπλέον είναι σημαντικό να αναφερθεί, ότι τα φυτά συνήθως, παρουσιάζουν λιγότερες παρενέργειες από τα χημικά κατασκευασμένα φάρμακα. Αυτό αποτελεί έναν επιπλέον λόγο για τον οποίο μελέτες έχουν εστιάσει σε αυτά, καθώς υπάρχει η τάση αντικατάστασης των υπαρχόντων φαρμάκων με φάρμακα νέα γενιάς προκειμένου να ελαχιστοποιούνται οι παρενέργειες.



Εικόνα 1: Αριθμός επιστημονικών δημοσιεύσεων με φυτικά εκχυλίσματα και βιολογικές δράσεις αυτών. Πηγή δεδομένων: PubMed.

Τα τελευταία χρόνια σημειώνεται διαρκής αύξηση της ζήτησης προϊόντων ευρείας κατανάλωσης, όπως φάρμακα και καλλυντικά, κυρίως στις οικονομικά αναπτυγμένες χώρες, που να βασίζονται ή να περιέχουν συστατικά φαρμακευτικών φυτών. Ακόμη διαπιστώνεται αυξημένη ζήτηση αρωματικών φαρμακευτικών φυτών για την παρασκευή τροφίμων υψηλής θρεπτικής αξίας, διαιτητικών προϊόντων, αλλά και προϊόντων που συνδυάζονται με τη σωματική και ψυχική ευεξία (όπως αρωματοθεραπεία κ.λπ.). Η Ελλάδα, σε σχέση με την έκτασή της, διαθέτει αρκετά πλούσιους φυτογενετικούς πόρους και έναν εξαιρετικά υψηλό αριθμό διαφορετικών φυτών. Ιδιαίτερα στην περιοχή της Ηπείρου ευδοκούν πάνω από 1100 διαφορετικά είδη, αρκετά από τα οποία εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται από τους ηλικιωμένους προκειμένου να ανακουφιστούν από τα συμπτώματα πολλών παθήσεων. Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι εφαρμογές τους πραγματοποιούνται υπό το πρίσμα των σύγχρονων χημικών και

φαρμακολογικών δεδομένων. Ωστόσο πολλά βότανα ακόμα παραμένουν ανεξερεύνητα, ενώ για αρκετά από τα αυτά που έχουν μελετηθεί εξακολουθούν να προκύπτουν δεδομένα που υποδεικνύουν νέες πιθανές χρήσεις [5,6].

1.1.1 *Urtica dioica* L. (Τσουκνίδα)

Η τσουκνίδα ανήκει στο γένος των αγγειόσπερμων φυτών Κνίδη και στην οικογένεια των Κνιδοειδών. Τη συναντούμε με τις ονομασίες τσουκνίδα, αγκινίδα, ακαληφή, ούρτικη κ.α. Φύεται σε κατοικήσιμες περιοχές, σε ακαλλιέργητα εδάφη, σε φράκτες και σε κοπρισμένα εδάφη πλούσια σε άζωτο, κοντά σε ζώα. Πρόκειται για μονοετές ή πολυετές, ποώδες, αυτοφυές φυτό που αναπτύσσεται στις εύκρατες περιοχές της Ασίας, της Αμερικής, της Βόρειας Αφρικής και της Ευρώπης. Είναι ένα από τα βασικά φυτά της Ευρωπαϊκής φαρμακοποιίας, δεδομένου ότι έχει χρησιμοποιηθεί από την αρχαιότητα, σε οικιακές θεραπείες. Επιπλέον, έχει μεγάλο οικονομικό αντίκτυπο λόγω του πολυλειτουργικού χαρακτήρα του. Ο βλαστός της φτάνει σε ύψος το 1 μέτρο ενώ τα άνθη της είναι μικρά και άοσμα. Ολόκληρο το φυτό καλύπτεται από αδενώδεις τρίχες που κατά την επαφή τους με το δέρμα προκαλούν φαγούρα, που πολλές φορές είναι έντονη, αίσθημα καύσου και ερυθρότητα, ενώ σπανιότερα προκαλούν αλλεργικές διαταραχές. Αυτό οφείλεται σε ένα υγρό που περιέχουν οι λεπτές βελόνες του φυτού. Μεταξύ άλλων, το υγρό αυτό περιέχει μυρμηκικό οξύ, ακετυλοχολίνες, ισταμίνη, σεροτονίνη και χολίνη [7,8].



Εικόνα 2: Φωτογραφία του φυτού τσουκνίδα.

1.1.1.1 Ιστορική αναδρομή

Η τσουκνίδα ανήκει στο γένος φυτών *Urtica* της οικογένειας *Urticaceae* της οποίας το όνομα προέρχεται από το λατινικά “*uro*” που σημαίνει “κάψιμο”. Υπάρχουν περισσότερα από 40 είδη σε όλο τον κόσμο. Η χρήση της ως φαρμακευτικό φυτό χρονολογείται από την Αρχαία Ελλάδα. Ο Ιπποκράτης (460-377 π.Χ.) ανέφερε 61 φυσικές θεραπείες με βάση την τσουκνίδα. Στον δεύτερο αιώνα μ.Χ. ο Έλληνας ιατρός Γαληνός στο βιβλίο του “*De Simplicibus Medicamentis ad Paternainum (espurio)*” συνιστά την τσουκνίδα ως διουρητικό και καθαρτικό. Επίσης τη συνιστά για τη θεραπεία των δαγκωμάτων από σκύλους, της γάγγραινας, των οιδημάτων, για την αιμορραγία από τη μύτη, την υπερβολική εμμηνόρροια, ασθένειες που σχετίζονται με τον σπλήνα, την πλευρίτιδα, την πνευμονία, το άσθμα και το έλκος του στομάχου. Ο Έλληνας γιατρός και βοτανολόγος Διοσκουρίδης έγραψε την εκτεταμένη *Materia Medica* και συμβουλεύει ότι τα φύλλα της τσουκνίδας πρέπει να εφαρμόζονται με αλάτι για δαγκώματα σκυλιών, έλκη, κακοήθεις όγκους, καθώς και για την ανακούφιση από τον πόνο. Μετά τον Γαληνό ο Απουλίου Πλατόνικους (400μ.Χ.) στο βιβλίο του “*Herbarium of Apuleius*” αναφέρει την τσουκνίδα ως φυσική θεραπεία των συμπτωμάτων του κρυολογήματος. Τα ρωμαϊκά στρατεύματα του Καίσαρα έφεραν την τσουκνίδα στην Αγγλία και την χρησιμοποίησαν στην

κλωστοϋφαντουργία λόγω των ασυνήθιστων ινών της. Κατά τη διάρκεια του Μεσαίωνα (πέμπτο με δέκατο αιώνα) η τσουκνίδα χρησιμοποιείτο για τη θεραπεία του έρπητα ζωστήρα, της δυσκοιλιότητας και της ξηράς ασθένειας, η οποία κατά πάσα πιθανότητα οφειλόταν σε προβλήματα που σχετίζονταν με τα ιγμόρεια, τους βλεννογόνους, τους πνεύμονες και το δέρμα. Στη Σκωτία η τσουκνίδα χρησιμοποιήθηκε επίσης στην κλωστοϋφαντουργία κατά το 17ο αιώνα. Το ίδιο διάστημα αρκετές χώρες της Ευρώπης και της Αμερικής παρασκεύαζαν ίνες από τα φύλλα της τσουκνίδας και τις χρησιμοποιούσαν, μεταξύ άλλων για την κατασκευή διχτυών αλιείας. Κατά τη διάρκεια του Α΄ Παγκοσμίου Πολέμου η Γερμανία και η Αυστρία χρησιμοποίησαν τις ίνες της τσουκνίδας ως υποκατάστατο του βαμβακιού για τις στρατιωτικές στολές τους. Οι Ινδιάνοι χρησιμοποιούσαν την τσουκνίδα για τη θεραπεία της ακμής, της διάρροιας και για τις λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, ενώ οι αρχαίοι Αιγύπτιοι την χρησιμοποιούσαν για την ανακούφιση της αρθρίτιδας και της οσφυαλγίας. Σήμερα μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε όλα τα μέρη του φυτού και κάθε μέρος του συμβάλλει στη θεραπεία διαφορετικών παθήσεων. Τα φύλλα, οι μίσχοι και η ρίζα της μπορούν να καταναλωθούν ως αφεψήματα. Οι χρήσεις της τσουκνίδας στην κλωστοϋφαντουργία παρά τη μείωση που είχαν σημειώσει μετά τον 17ο αιώνα, έχουν αρχίσει να αυξάνονται σημαντικά για 2 κυρίως λόγους: η παραγωγή νημάτων από την τσουκνίδα είναι πιο φιλική και λιγότερο επιβαρυντική για το περιβάλλον σε σχέση με το βαμβάκι, ενώ τα ρούχα που παρασκευάζονται από νήματα τσουκνίδας έχουν την ικανότητα να “αναπνέουν” επιτρέποντας έτσι την καλύτερη ρύθμιση της θερμοκρασίας του σώματος κατά τους θερινούς μήνες, αποφεύγοντας προβλήματα θερμοπληξίας ενώ τον χειμώνα είναι πιο ζεστά, αποφεύγοντας προβλήματα υποθερμίας [9–11].

1.1.1.2 Ιδιότητες – Χρήσεις

Η τσουκνίδα είναι αδιαμφισβήτητα ένα βότανο με πολυάριθμες χρήσεις και πολλαπλά οφέλη για την υγεία, την ευεξία και την ομορφιά. Σε γενικές γραμμές, για τοπικές εφαρμογές χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο το έγχυμα της τσουκνίδας, ενώ καταναλώνεται, κυρίως, σε μορφή αφεψήματος ή βάμματος, ενώ υπάρχουν αρκετοί που

καταναλώνουν το φυτό αυτούσιο, μετά από μαγείρεμα. Μεταξύ άλλων, έρευνες έχουν δείξει τις έντονες στυπτικές και τονωτικές της ιδιότητες. Επιπλέον, αναφέρεται ότι καθαρίζει τον οργανισμό από τις τοξίνες, βοηθάει στον έλεγχο των αιμορραγιών, αυξάνει τα ποσοστά της αιμοσφαιρίνης, ρυθμίζει την αρτηριακή πίεση αλλά και τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα [12]. Επίσης, έχει αντιμικροβιακή, αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση [13]. Λόγω όλων αυτών των ιδιοτήτων της η τσουκνίδα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μια μεγάλη γκάμα παθήσεων και ασθενειών. Πιο συγκεκριμένα το αφέψημα τσουκνίδας καταναλώνεται για τη θεραπεία του Alzheimer, της αρθρίτιδας, του άσθματος, των λοιμώξεων της ουροδόχου κύστης, της βρογχίτιδας, της θυλακίτιδας, της ουλίτιδας, της ουρικής αρθρίτιδας, της κνίδωσης, της λαρυγγίτιδας, της σκλήρυνσης κατά πλάκας, του θυρεοειδούς, της νευραλγίας, των παθήσεων του δέρματος, της ισχιαλγίας, της ιγμορίτιδας, της αλλεργικής ρινίτιδας, των αιμορροΐδων, του έλκους, της φλεγμονής του εντέρου, του προστάτη, της τενοντίτιδας, των πετρών στα νεφρά και τέλος των παθήσεων του παγκρέατος, του ήπατος, των εντέρων και της χοληδόχου κύστης. Εναλλακτικά, το έγχυμα και ο χυμός του φυτού αναφέρεται ότι δρουν σαν ηρεμιστικό για τις νευρικές διαταραχές, την επιληψία, την υστερία και τους σπασμούς [7,14–16]. Πέραν αυτών, το έγχυμα και το αφέψημα ολόκληρου του φυτού είναι χρήσιμα στη γαστρίτιδα με υπερέκκριση πεπτικών υγρών, βελτιώνουν την λειτουργία των νεφρών και δρουν σαν διουρητικό και αντιφλεγμονώδες μέσο στις παθήσεις των νεφρών και της ουρήθρας, αλλά και σε περιπτώσεις κατακράτησης ούρων. Εν αντιθέσει, η κύρια εξωτερική χρήση του φυτού είναι για την καταπολέμηση της λιπαρότητας των μαλλιών και της πιτυρίδας [8].

Η ρίζα του φυτού συνιστάται ως διουρητικό για την ανακούφιση της καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη αλλά κι άλλων προβλημάτων του προστάτη και για τη θεραπεία ή την πρόληψη της αλωπεκίας [7,17]. Επιπλέον το εκχύλισμα ρίζας της τσουκνίδας έχει βρεθεί ότι έχει αντιπολλαπλασιαστικές επιδράσεις σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του προστάτη [18]. Το αφέψημα σπόρων της τσουκνίδας είναι ένα καλό καθαρτικό μέσο ενάντια στην δυσκοιλιότητα, η οποία οφείλεται σε δυσλειτουργία του συκωτιού και της χολής [19]. Τα φύλλα των νεαρών τσουκνίδων μπορούν να

χρησιμοποιηθούν - καταναλωθούν αυτούσια σε σαλάτες για την αύξηση και ρύθμιση της λειτουργίας των εντέρων καθώς και στις αναιμίες. Το τσάι των φύλλων και τα φρέσκα φύλλα με μέλι παρουσιάζουν καλή αποχρεμπτική δράση και χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση των συμπτωμάτων που παρουσιάζονται στον βήχα, στη βρογχίτιδα, στη δύσπνοια, στην πνευμονία, στη φυματίωση και σε περιπτώσεις αιμοπτύσεως. Σε περιπτώσεις κακοηθών εξογκωμάτων συνιστάται να γίνονται πλύσεις με το αφέψημα των φύλλων και της ρίζας [20]. Από όλα όσα αναφέρθηκαν έως τώρα γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι η τσουκνίδα είναι ένα σημαντικότατο ιατρικό βότανο με πολλαπλά οφέλη για την υγεία. Λόγω του πολυλειτουργικού της χαρακτήρα αναδείχθηκε από αρχαιοτάτων χρόνων και παραμένει ένα από τα σημαντικότερα φυτά της Ευρωπαϊκής φαρμακοποιίας.

Ως συστατικό της ανθρώπινης διατροφής προσφέρει στον οργανισμό πολλά μέταλλα και ιχνοστοιχεία (σίδηρο, ασβέστιο, κάλιο, μαγγάνιο, πυρίτιο, φωσφόρο, χαλκό), αμινοξέα, λεκιθίνη, καροτενοειδή (λουτεΐνη, ξανθοφύλλη κ.α.) και βιταμίνες (κυρίως A, B2, C, E και K1). Η τσουκνίδα μπορεί να καταναλωθεί άφοβα παρά τις καυστικές ιδιότητες του χλωρού φυτού. Το στεγνό σκεύασμα, καθώς και τα υγρά παρασκευάσματα που φτιάχνονται από το χλωρό φυτό με ζέσταμα δεν έχουν καυστικές ιδιότητες. Αντιθέτως, καυστικές ιδιότητες παρατηρούνται στα αλκοολούχα παρασκευάσματα (βάμματα) που φτιάχνονται από το φρέσκο φυτό [21,22].

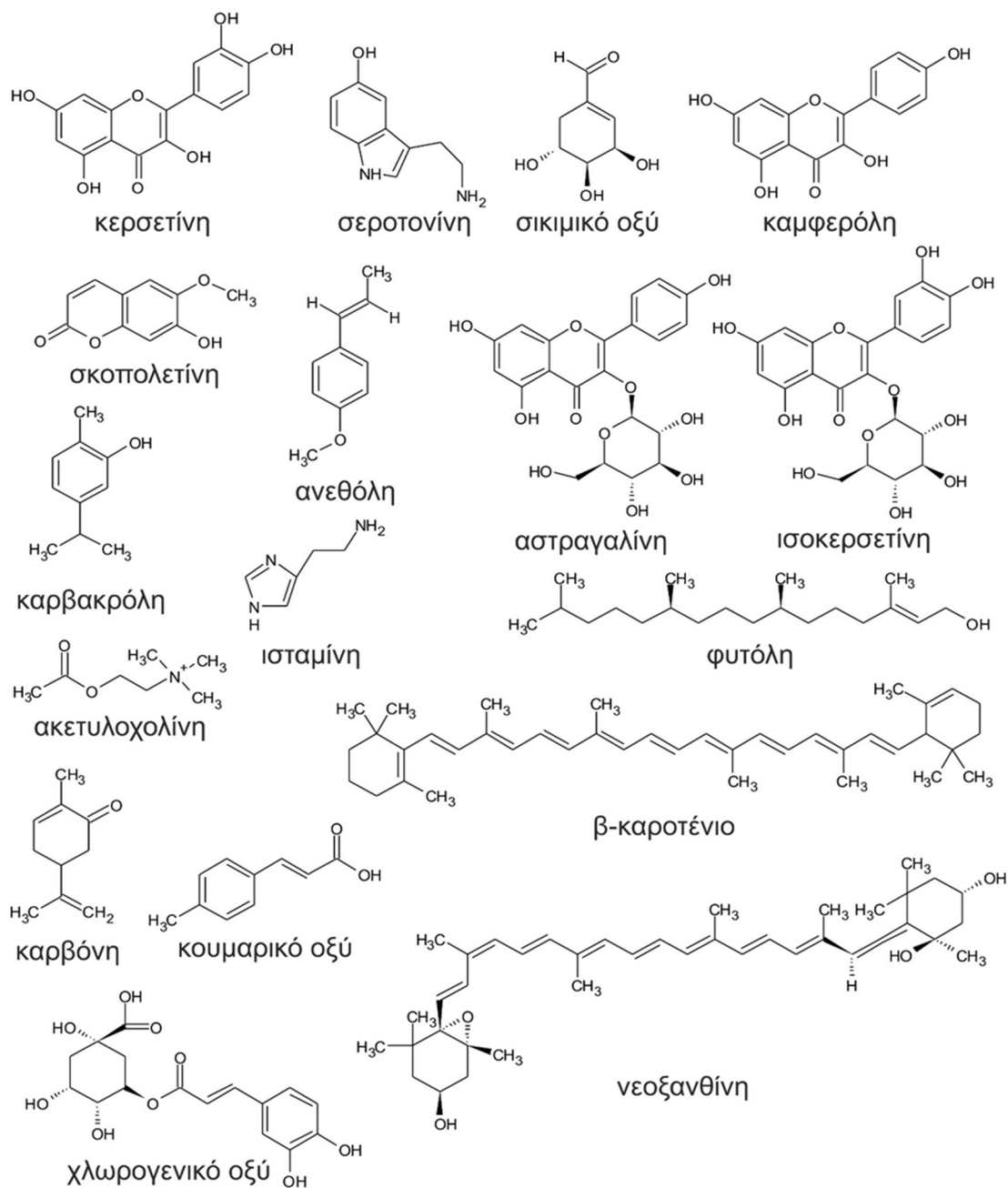
1.1.1.3 Συστατικά του φυτού

Στο πλαίσιο της οικονομικής εκμετάλλευσης της τσουκνίδας, εξάγεται η χλωροφύλλη του φυτού, από την οποία παρασκευάζεται η φυτόλη, που αποτελεί πρώτη ύλη για τη σύνθεση των βιταμινών E και K [8]. Τα φύλλα περιέχουν περίπου 4,8 mg χλωροφύλλης ανά γραμμάριο ξηρών φύλλων, ποσοστό που εξαρτάται από το αν το φυτό αναπτύχθηκε στον ήλιο ή τη σκιά (περισσότερη χλωροφύλλη και καροτενοειδή βρίσκονται σε φυτά που έχουν αναπτυχθεί στη σκιά). Το φυτό περιέχει κατά μέσο όρο 22% πρωτεΐνες, 4% λιπαρά, 37% μη αζωτούχες ενώσεις, 9-21% φυτικές ίνες και 20-30% ανόργανα συστατικά. Στα φρέσκα φύλλα του φυτού περιέχονται οι βιταμίνες A, C, D, E, F, K, P, και B-σύμπλοκα όπως

και θειαμίνη, ριβοφλαβίνη, νιασίνη και βιταμίνη B6, τα οποία λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά. Τα φύλλα είναι πλούσια σε στοιχεία όπως ασβέστιο, σίδηρο, μαγνήσιο, φωσφόρο, κάλιο, νάτριο και ενώσεις όπως αμμωνία, οξικό οξύ, φορμικό οξύ, χλωροφύλλη, καροτενοειδή, προβιταμίνη A, παντοθενικό οξύ, άλατα του καλίου, γαλλικό οξύ, φλαβονοειδή, στερόλες, ταννίνες και ελεύθερα αμινοξέα [10,21,23].

Στο εμπόριο κυκλοφορεί σκόνη από αποξηραμένα φύλλα τσουκνίδας. Η σκόνη αυτή περιέχει 7% υγρασία, 33% πρωτεΐνες, 9% φυτικές ίνες, 4% λιπαρά, 16% τέφρα, 37% υδατάνθρακες, 1% ταννίνες, ασβέστιο (168 mg ανά 100 g), σίδηρο (230 mg ανά 100 g) πολυφενόλες (128 mg ανά 100 g) και καροτενοειδή (3,5 mg ανά 100 g) αποτελώντας ένα εξαιρετικό συμπλήρωμα διατροφής [22,24].

Τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου της είναι: καρβακρόλη (~38%), καρβόνη (~9%), ναφθαλίνιο (~9%), (E) -ανεθόλη (~5%), εξαϋδροφαρνεζυλ-ακετόνη (~3%), (E) -ερανυλ ακετόνη (~3%), (E)-β-ιόνιο (~3%) και φυτόλη (~3%). Το φυτό περιέχει πληθώρα φλαβονοειδών συστατικών, τα κυριότερα από τα οποία είναι: καμφερόλη, κερσετίνη, ισοκερσετίνη, αστραγαλίνη, ρουτίνη κ.α. Ένας αριθμός χημικών συστατικών όπως τανίνες, στερόλες, τερπένια, ξανθοφύλλες, αμινοξέα, γλυκοκινίνες και αλκαλοειδή έχουν απομονωθεί από διάφορα μέρη του φυτού καθώς και μερικοί πολυσακχαρίτες απομονώθηκαν από το υδρόφιλο κλάσμα (ενώσεις που διαλύονται ή αναμιγνύονται με απεσταγμένο ύδωρ) και θεωρούνται πολύ σημαντικά φαρμακολογικά ευρήματα. Επίσης έχουν ταυτοποιηθεί αρκετές ενώσεις στο φυτό όπως: το σικιμικό οξύ και παράγωγα αυτού, φαινυλοπροπάνια, καφεϊκό οξύ και εστέρες του, χλωρογενικό οξύ και καφεοϋλομηλικό οξύ. Άλλα βασικά συστατικά που υπάρχουν στο φυτό είναι: ισταμίνη, σεροτονίνη, ακετοφαινόνη, ακετυλοχολίνη, συγκολλητίνες, αστραγκαλίνη, βουτυρικό οξύ, χλωρογενικό οξύ, χολίνη, κουμαρικό οξύ, φλουκίνη, μυρμηκικό οξύ, λεκιθίνη, λιγνάνες, λινολεϊκό οξύ, λινολενικό οξύ, παλμιτικό οξύ, παντοθενικό οξύ, κουκεστίνη, κινικό οξύ, σκοπολετίνη, σεκοϊσολαρσιριζίνη, σιτοστερόλες, στιγμαστερόλη, 5-υδροξυτρυπταμίνη, ηλεκτρικό οξύ, καροτένιο, βεταΐνη, βρωμίνη και κυτταρίνη [7,15,17,24,25]. Στην εικόνα 3 φαίνονται οι χημικές δομές των κυριότερων ενώσεων της τσουκνίδας.



Εικόνα 3: Χημική δομή κυριότερων χημικών ενώσεων της τσουκνίδας.

1.1.2 *Cistus creticus* (Λαδανιά)

Η λαδανιά είναι φαρμακευτικό φυτό που φύεται σε περιοχές της Αμερικής και της Μαύρης Θάλασσας, στην Κριμαία και στον Καυκάσο, αλλά και σε άλλες περιοχές της ανατολικής Μεσογείου. Το φυτό φύεται επίσης σε πολλά μέρη της Ελλάδας και κυρίως στην Κρήτη και την Κύπρο και ανήκει στην οικογένεια των Κιστιδών. Η οικογένεια αυτή περιλαμβάνει 8 γένη και περίπου 180 είδη. Ορισμένα είδη είναι ιδιαίτερα αρωματικά και ως εκ τούτου χρησιμοποιούνται ιδιαίτερα στη βιομηχανία αρωμάτων. Στην Ελλάδα, αυτοφυές είναι το γένος *Cistus* το οποίο αποτελείται από 5 είδη. Αυτά είναι τα *Cistus creticus* (ή *incanus* ή *villosus*), *Cistus parviflorus*, *Cistus monspeliensis*, *Cistus salviifolius* και το σπάνιο *Cistus laurifolius*. Το είδος *Cistus creticus* είναι ένα θαμνώδεις φυτό με 30 - 50 cm ύψος και απαντάται συνήθως με τις ονομασίες λάβδανο, κουνουκλιά, αλαδανιά, αγκίσσαρος (Κρήτη) και κιστάρι. Τα άνθη του φυτού είναι ιώδη, τα φύλλα του είναι κυματοειδή, η ρίζα του είναι πολύ σκληρή και οι βλαστοί του τραχείς. Χαρακτηρίζεται ως πυρόφυτο λόγω της ιδιότητας των σπερμάτων του να αναβλαστάνουν αμέσως μετά από πυρκαγιά [26].



Εικόνα 4: Φωτογραφία του φυτού λαδανιά.

1.1.2.1 Ιστορική αναδρομή

Μέχρι τα τέλη του 18ου αιώνα, το λάδανο θεωρούνταν ένα από τα πιο σπουδαία φάρμακα με δύο ιδιότητες, τη θεραπευτική και την κοσμετολογική. Το λάδανο ή ο αλάδανος, γνωστό εδώ και 2.500 χρόνια, είναι μια αρωματική ρητίνη με έντονες φαρμακευτικές και αρωματικές ιδιότητες που βρίσκεται στα φύλλα του φυτού. Οι αρχαίοι Αιγύπτιοι ήταν οι πρώτοι που συνέλλεξαν την αρωματική ρητίνη (*gummi ladanum*) της λαδανιάς και την χρησιμοποίησαν ως αρωματική ουσία για θυμιάσεις ή/και για την ταρίχευση των νεκρών. Στον Μινωϊκό πολιτισμό υπάρχουν ενδείξεις χρήσης της ρητίνης ως καλλυντικό και θεραπευτικό. Στην ορθοδοξία αποτελεί ένα από τα 40 συστατικά του Άγιου Μύρου. Ο πατέρας της βοτανικής Διοσκουρίδης αναφέρεται στις συτυπικές, θερμαντικές και μαλακτικές ιδιότητες του φυτού. Στην αρχαιότητα χρησιμοποιείτο κατά κύριο λόγο για τη θεραπεία διαφόρων μορφών καρκίνου, σε κακοήγη σαρκώματα και σε όγκους του πρωκτού, ενώ σε μορφή ελαίου χρησιμοποιείτο και σε όγκους της μήτρας. Η λαδανιά χρησιμοποιείτο επίσης για τη θεραπεία των πεπτικών διαταραχών και κρυολογημάτων, σε δερματοπάθειες, κνησμούς, αλλεργίες, ερεθισμούς του δέρματος, αιμορροΐδες, ενώ στη λαϊκή ιατρική εφαρμόζεται και σαν κατάπλασμα (κυρίως στην περιοχή της Χαλκιδικής). Το αιθέριο έλαιο και το ανθόνερο της λαδανιάς χρησιμοποιείται στις μέρες μας σε προϊόντα καλλωπισμού, στην αρωματοποιία, στη ζαχαροπλαστική, στη μαγειρική και τη σαπωνοποιία. Σήμερα στην Βόρεια Κρήτη συνεχίζεται η παράδοση (που κρατάει πολλούς αιώνες) της συλλογής του λάδανου για διάφορες χρήσεις. Στο εμπόριο προσφέρονται συμπληρώματα διατροφής που προέρχονται από το φυτό καθώς και εκχυλίσματά του. Τα προϊόντα αυτά προωθούνται ιδιαίτερα για το υψηλό περιεχόμενο και το διαφορετικό προφίλ των φαινολικών ουσιών που έχουν σε σχέση με άλλα αντίστοιχα προϊόντα. Αποτέλεσμα της μοναδικής του σύστασης είναι η ιδιαίτερα έντονη αντιοξειδωτική δράση τους [26–28].

1.1.2.2 Ιδιότητες – Χρήσεις

Η λαδανιά είναι ένα αρωματικό, αποχρεμπτικό και αντιβηχικό βότανο που ελέγχει την αιμορραγία και χρησιμοποιείται τόσο για τη θεραπεία της καταρροής και της διάρροιας, όσο και ως εμμηναγωγό. Έχει καταπραϋντικές ιδιότητες και χρησιμοποιείται για την αϋπνία και τον πονόδοντο. Τα φύλλα της λαδανιάς έχουν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες από οποιοδήποτε άλλο φυτό στην Ευρώπη, καθώς και πολύ υψηλή αντιοξειδωτική δράση. Μεταξύ των βιοενεργών ενώσεων που υπάρχουν στα είδη *Cistus*, οι πολυφαινόλες και τα φλαβονοειδή ειδικότερα εκτιμώνται ευρέως για τις πιθανές ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία. Με τη κατανάλωση των εκχυλισμάτων του φυτού υποβοηθείται η αποβολή των τοξικών βαρέων μετάλλων από τον οργανισμό που προέρχονται από τον καπνό των τσιγάρων και ταυτόχρονα προστατεύει την καρδιά από τις βλαπτικές επιδράσεις του καπνίσματος. Ως βοτανόλαδο (ήπια εκχύλιση σε ελαιόλαδο) χρησιμοποιείται για τη παρασκευή των αντίστοιχων κηραλοιφών, ενώ ως ανθόνερο σε εξειδικευμένα καλλυντικά και λοσιόν. Τα αντιοξειδωτικά συστατικά του φυτού, που όπως αναφέρθηκε είναι ιδιαίτερα πολλά, έχουν την ιδιότητα να καταστρέφουν τις ελεύθερες ρίζες που προκαλούν οξείδωση στον οργανισμό και αποτελούν βασικό παράγοντα της πρόωρης γήρανσης του δέρματος. Επίσης, το φυτό βοηθάει στο να καταπραΰνει δερματοπάθειες, κνησμούς, αλλεργίες, ερεθισμούς του δέρματος, αιμορροΐδες και είναι δυνητικά επωφελές για την πρόληψη της τερηδόνας και της περιοδοντίτιδας [28,29]. Υδατικά εκχυλίσματα του φυτού έδειξαν προστατευτικές δράσεις κατά της διάσπασης του DNA [29]. Επιπλέον φαρμακολογικές μελέτες σε εκχυλίσματα του φυτού έχουν επιβεβαιώσει την ισχυρή αντιοξειδωτική του δράση [29–32] και έχουν δείξει ότι έχει αντιμυκητιακή [32], αντική [33] και αντικαρκινική δράση [34], καθώς και αντιβακτηριακή δράση σε πλανκτονικά βακτήρια και βιομεμβράνες βακτηρίων [28,31].

1.1.2.3 Συστατικά

Έως σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί ποικίλες χημικές ενώσεις στα διάφορα μέρη του φυτού, οι οποίες εμφανίζουν και διαφορετικές βιολογικές δράσεις. Μεταξύ των σημαντικότερων ενώσεων είναι τα τερπενοειδή (συμπεριλαμβανομένων των

διτερπενίων), τα φαινυλοπροπανοειδή (συμπεριλαμβανομένων των φλαβονοειδών), τα αλκαλοειδή καθώς και δευτερογενείς μεταβολίτες (π.χ. ρητίνη και γαλλικό οξύ). Έχουν ταυτοποιηθεί 32 φαινολικές ενώσεις και 29 πολυφαινόλες σε εγχύματα του φυτού. Πιο συγκεκριμένα έχουν ταυτοποιηθεί πολυφαινολικές ενώσεις όπως είναι η κατεχίνη, επικικατίνη, γαλλοκατεχίνη, κερσετίνη, μυρικετίνη και παράγωγα αυτών, καμπεφερόλη, σικιμικό οξύ, προανθοκυανιδίνες, καθώς και γλυκοζιτικές ενώσεις που ανήκουν στην οικογένεια των φλαβονοειδών [35–37].

1.1.3 *Juniperus communis* (Κεδροκούκουτσο)

Το κεδροκούκουτσο ή αλλιώς άρκευθος είναι ένα πολυετές κωνοφόρο, αειθαλές δέντρο ή θάμνος ύψους 1-3 m. Οι καρποί έχουν μια γλυκόπικρη γεύση και ευχάριστο πικάντικο άρωμα, που τους κάνει κατάλληλους ως καρυκεύματα, καθώς και για τον αρωματισμό τροφών και αλκοολούχων ποτών. Το χρώμα τους είναι ιώδες-μαύρο. Τα φύλλα του είναι μικρά και αγκαθωτά, ενώ τα άνθη του κίτρινα. Φύεται στην Ευρώπη, την Ασία και την Νότια Αμερική [38].



Εικόνα 5: Φωτογραφία του φυτού κεδροκούκουτσο.

1.1.3.1 Ιστορική αναδρομή

Το κεδροκούκουτσο χρησιμοποιείτο από αρχαιοτάτων χρόνων ως αντιδιαβητικό, αντισηπτικό, διουρητικό, καταπραϋντικό και τονωτικό. Επίσης, αναφέρεται η χρήση του για την αντιμετώπιση δερματικών παθήσεων, γυναικολογικών παθήσεων, της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, της ουρικής αρθρίτιδας, των κυστίτιδων, παθήσεων που σχετίζονται με τα ούρα και τα νεφρά, ημικρανιών και άσθματος [39,40].

1.1.3.2 Ιδιότητες-Χρήσεις

Για τις θεραπευτικές δράσεις του φυτού χρησιμοποιούνται όλα τα μέρη του. Έρευνες έχουν δείξει ότι το κεδροκούκουτσο έχει αντιβακτηριακή, αντιδιαβητική, αναλγητική και αντισηπτική δράση. Επίσης χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση των λοιμώξεων του γαστρεντερικού, της επιληψίας, της κυστίτιδας και των ρευματισμών. Το βότανο συμβάλλει επίσης στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος [41,42].

1.1.3.3 Συστατικά

Το κεδροκούκουτσο περιέχει φλαβονοειδή, τανίνες, ρητίνες, αλκαλοειδή, γλυκοζίτες, φαινολικές ενώσεις, στεροειδή, τριτερπενοειδή, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, αμινοξέα και αιθέρα έλαια. Ο καρπός περιέχει επιπλέον, οργανικά οξέα, σάκχαρα, πικρούς παράγοντες, και ρητίνες. Το αιθέριο έλαιο του φυτού περιέχει β-μυρκένιο, α-πινένιο, λεμονένιο, α-φελλανδρένιο, σεσκιφελλανδρένιο, δ-καδινένιο, καδιμίνη, τερπινεόλη, καμφένιο [41].

1.1.4 *Galium concinnum* (Γάλλιο)

Το γάλλιο είναι περισσότερο γνωστό στη χώρα μας ως κολλιτσίδα ή καβαλλαριά. Η επιστημονική του ονομασία είναι *Galium*. Το γάλλιο είναι δικοτυλήδονο ποώδες φυτό και ανήκει στην οικογένεια των Ρουβιίδων (Rubiaceae) που περιλαμβάνει περίπου 400 είδη, 145 από τα οποία βρίσκονται στην Ευρώπη. Στην Ελλάδα υπάρχουν περισσότερα από 40 είδη, με ύψος από 20-120 cm. Το γάλλιο φύεται στην Ευρώπη, την Βόρεια και Νότια Αμερική, την Αυστραλία, την Ουκρανία και σε αρκετές εύκρατες περιοχές. Είναι βρώσιμο

φυτό με τριχωτό βλαστό, στρογγυλούς σπόρους, γραμμοειδή φύλλα και λευκά άνθη. Οι βλαστοί και τα φύλλα του τρώγονται όπως το σπανάκι ή σε σαλάτες και σούπες [43,44].



Εικόνα 6: Φωτογραφία του φυτού γάλλιο.

1.1.4.1 Ιστορική αναδρομή

Παραδοσιακά στην χώρα μας το γάλλιο χρησιμοποιείτο για διάφορες παθήσεις του δέρματος, όπως για παράδειγμα σε πληγές και εγκαύματα. Επίσης στην λαϊκή ιατρική έχει χρησιμοποιηθεί κατά του καρκίνου και για την αντιμετώπιση προβλημάτων του λεμφικού συστήματος. Ο Διοσκουρίδης αναφέρει την χρήση του ως κατάπλασμα για την αντιμετώπιση των οιδημάτων στους αδένες που βρίσκονται στον λαιμό. Στην Ουκρανία εδώ και πάρα πολλά χρόνια χρησιμοποιείται για τη θεραπεία λοιμώξεων του δέρματος, αναπνευστικών λοιμώξεων και λοιμώξεων των ουρογεννητικών συστημάτων. Σήμερα πολυάριθμες πειραματικές μελέτες επιβεβαιώνουν τις αντιμικροβιακές ιδιότητες του φυτού [43].

1.1.4.2 Ιδιότητες – Χρήσεις

Στη σύγχρονη βοτανοθεραπεία το γάλλιο χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση λοιμώξεων του ουροποιητικού, μειώνοντας την κατακράτηση υγρών και διευκολύνοντας την απόπλυση άμμου και λίθων στο ουροποιητικό. Η δράση του ως διουρητικό θεωρείται

τόσο μεγάλη που το καθιστά αποτελεσματικό στην αντιμετώπιση ενοχλήσεων που προέρχονται από φλεγμονές στο ουροποιητικό σύστημα. Επίσης δρα ως αντιοξειδωτικό και ως διεγερτικό του λεμφικού συστήματος, βοηθώντας την αποβολή των τοξινών από το αίμα και ανακουφίζοντας τους πρησμένους λεμφαδένες. Χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση διαφόρων δερματικών παθήσεων όπως είναι η ψωρίαση, τα εκζέματα και η ακμή. Τα φρέσκα φύλλα του χρησιμοποιούνται για τη παρασκευή καταπλάσματος, το οποίο εφαρμόζεται για την αντιμετώπιση της αιμορραγίας και της φλεγμονής με αποτέλεσμα να επιταχύνουν και την επούλωση των πληγών [45,46].

1.1.4.3 Συστατικά

Έχουν απομονωθεί αρκετά είδη βιοδραστικών ενώσεων από τα είδη *Galium* μέχρι στιγμής. Μεταξύ άλλων περιέχει ιριδοειδή, κουμαρίνες, ασπερουλοζίδη, γλυκοσίδες, φαινολικές ενώσεις, ανθρακίνες και τριτερπένια. Επίσης έχουν εντοπιστεί μικρές ποσότητες τανινών, σαπωνινών, αιθέριων ελαίων, κεριών, χρωστικών ουσιών και βιταμίνης C. Όλα τα παραπάνω συστατικά καθιστούν το γάλλιο σημαντικό φαρμακευτικό φυτό, του οποίου όλα τα μέρη αξιοποιούνται [44,45,47,48].

1.1.5 *Parietaria officinalis* (Περδικάκι)

Το περδικάκι είναι ποώδες πολυετές φυτό το οποίο ανήκει στην οικογένεια Κνιδοειδή, την οικογένεια της τσουκνίδας. Η λατινική ονομασία του βοτάνου είναι *Parietaria officinalis* (παριετάρια η φαρμακευτική) και το συναντούμε συνήθως με τα ονόματα περδικάκι, ελξίνη, ανεμόχορτο, ή κολλητσίδα. Η γύρη αυτού του φυτού είναι έντονα αλλεργιογόνος καθιστώντας το φυτό μία από τις κυριότερες αιτίες αλλεργικών νόσων στις χώρες της Μεσογείου. Το φυτό φύεται στην Δυτική και Νότια Ευρώπη. Είναι χαρακτηριστικό ότι αναπτύσσεται σε τοίχους και σε τούβλα. Είναι φυτό με ελάχιστες διακλαδώσεις οι οποίες είναι κοντύτερες από τα φύλλα, τα οποία είναι εναλλασσόμενα με μίσχο. Τα φύλλα είναι ωοειδή ή μακρόστενα και χνουδωτά. Τα άνθη είναι δίοικα, αρκετά μικρά και πράσινα. Φτάνει σε ύψος τα 60 cm [49].



Εικόνα 7: Φωτογραφία του φυτού περδικάκι.

1.1.5.1 Ιστορική αναδρομή

Το περδικάκι χρησιμοποιείτο από την αρχαιότητα ως διουρητικό, ως βάλσαμο για τα τραύματα και τα εγκαύματα και ως καταπραϋντικό για τον βήχα. Το έγχυμα του φυτού επίσης το χρησιμοποιούσαν σε πληγές και κατά των σχισμών στις θηλές των μανάδων που θήλαζαν. Σκόνη από τις ρίζες του φυτού χρησιμοποιείτο για την αντιμετώπιση του πονόδοντου, ενώ έγχυμα του φυτού σε κυστίτιδες, βλεννόρια και κατά του πυρετού. Στον Μεσαίωνα το φυτό χρησιμοποιείτο σε ιεροτελεστίες, πιστεύοντας ότι καίγοντας το φυτό έδιωχναν μακριά τα «κακά πνεύματα». Σύμφωνα με τον Πλίνιο το περδικάκι γιάτρεψε τις πληγές ενός εργάτη που δούλευε στην Ακρόπολη Αθηνών, ενώ ο Διοσκουρίδης κάνει αναφορά για τις δροσιστικές και στυπτικές του ιδιότητες [50].

1.1.5.2 Ιδιότητες – Χρήσεις

Το περδικάκι είναι ισχυρό διουρητικό εξαιτίας του νιτρικού καλίου που περιέχει και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις φλεγμονής του ουροποιητικού συστήματος. Επιπλέον έχει μαλακτικές, επουλωτικές και καταπραϋντικές ιδιότητες που το καθιστούν πολύτιμο βότανο σε περιπτώσεις κυστίτιδας και πυελίτιδας. Έγχυμα του φυτού μπορεί να

χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση του κρυολογήματος και του βήχα, ενώ είναι ευεργετικό στις παθήσεις του λαιμού και τους ρευματισμούς. Εξωτερικά χρησιμοποιείται σαν κατάπλασμα σε πληγές και εγκαύματα [51].

1.1.5.3 Συστατικά

Δεν έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες για τη σύσταση του φυτού. Το φυτό έχει μελετηθεί κυρίως για την ύπαρξη φλαβονοειδών και έχουν ταυτοποιηθεί γλυκοζίτες, ρουτινοειδή της κερσετίνης, καμφερόλη, ισοραμνετίνη, σοφοροσίδες της κερσετίνης και της μαφερόλης και νεοεσπεριδοσίνες της καμφερόλης και της ισοραμνετίνης [52].

1.1.6 *Peonia mascula* (Παιώνια)

Η παιώνια (*Peonia*) ή αλλιώς πηγουνιά είναι αυτοφυές, φυλλοβόλο φυτό που φτάνει σε ύψος το ένα μέτρο και ανήκει στην οικογένεια *Paeoniaceae*. Η οικογένεια αυτή περιλαμβάνει 33 είδη. Στην Ελλάδα έχουν αναγνωριστεί 12 είδη με πιο διαδεδομένο το είδος *Peonia mascula* (παιώνια ή αρσενική). Τη συναντάμε με τις ονομασίες παιώνια, παγώνι και ρόδο του βουνού. Η παιώνια είναι αυτοφυές φυτό σε Ασία, Νότια Ευρώπη και Βορειοδυτική Αμερική. Τα φύλλα του φυτού είναι λοβωτά, τα κλαδιά της λεία και ραβδωτά, ενώ τα άνθη της, τα οποία είναι και αρωματικά στα περισσότερα είδη, μπορεί να είναι κίτρινα, ιώδη ή λευκά [53].



Εικόνα 8: Φωτογραφία του φυτού παιώνια.

1.1.6.1 Ιστορική αναδρομή

Οι ρίζες του φυτού έχουν χρησιμοποιηθεί παραδοσιακά για τον καθαρισμό τραυμάτων, λόγω των αντισηπτικών ιδιοτήτων του φυτού καθώς και ως αντισπασμωδικό φάρμακο. Ο Διοσκουρίδης στο έργο του «Περί Ύλης Ιατρικής» συστήνει το αφέψημα της ρίζας για την αντιμετώπιση των πόνων στα νεφρά, της διάρροιας, του έλκους του στομάχου και των κυστών, καθώς και την επούλωση πληγών. Επιπλέον ο Πλίνιος πρότεινε την χρήση αποξηραμένων ριζών ενάντια στους εφιάλτες. Οι ρίζες του φυτού ήταν επίσης σημαντικές στην παραδοσιακή κινεζική ιατρική, όπου χρησιμοποιούνταν ως αναλγητικά, ηρεμιστικά, αντιφλεγμονώδη και αντιμικροβιακά φάρμακα [53–55].

1.1.6.2 Ιδιότητες-χρήσεις

Η παιώνια χρησιμοποιείται ως φάρμακο για καρδιαγγειακές παθήσεις και εκζέματα εξαιτίας των αναλγητικών και αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων. Επίσης χρησιμοποιείται σαν ηρεμιστικό και αντιμικροβιακό φάρμακο, κατά του βήχα και της επιληψίας, ενώ καταπραΰνει νοσήματα των γυναικείων γεννητικών οργάνων [53,56].

1.1.6.3 Συστατικά

Το φυτό περιέχει μονοτερπένια, διτερπένια, αρωματικές ενώσεις, φλαβονοειδή, τανίνες, τριτερπενοειδή, στεροειδή, φαινόλες, βενζοϊκό οξύ, ασπαραγίνη, αιθέρια έλαια και αλκαλοειδή [57].

1.1.7 *Rosa canina* L. (Άγριο τριαντάφυλλο)

Η λατινική ονομασία του φυτού είναι *Rosa canina* L. και ανήκει στην οικογένεια Rosacea. Είναι πολυετές φυλλοβόλο φυτό (θάμνος) που φτάνει σε ύψος τα 3 μέτρα, ενώ το στέλεχός του είναι λεπτό με αγκάθια. Τα λουλούδια του φυτού έχουν διάμετρο 4-6 cm και το χρώμα τους κυμαίνεται από ανοιχτό ερυθροϊώδες έως σκούρο ερυθροϊώδες και λευκό. Ο καρπός του φυτού αποτελείται από περίπου 70% περικάρπιο και 30% σπόρο και ζυγίζει 1-3 g. Είναι εξαιρετικά ανθεκτικό, αφού μπορεί να αναπτυχθεί σε ξηρές βραχώδης περιοχές της Ευρώπης, της Βόρειας Αφρικής και της Δυτικής Ασίας [58].



Εικόνα 9: Φωτογραφία του φυτού άγριου τριαντάφυλλου πριν την άνθηση.

1.1.7.1 Ιστορική αναδρομή

Ο Πλίνιος (23-79 μ.Χ.) ήταν ο πρώτος άνθρωπος που ανέφερε τις φαρμακευτικές ιδιότητες του *R. Canina*, παρατηρώντας την εκτεταμένη χρήση της κατά των δαγκωμάτων των σκύλων. Λόγω της χρήσης του αυτής το φυτό ονομάστηκε «dog rose». Εξαιτίας της

υψηλής συγκέντρωση της βιταμίνης C χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια του Β 'Παγκοσμίου Πολέμου για την ενίσχυση του ανοσοποιητικού. Επίσης χρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία του έλκους και της ουλίτιδας. Η ρίζα του φυτού χρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία του βήχα και των αιμορροΐδων, ενώ τα φύλλα και ο καρπός χρησιμοποιήθηκαν στη θεραπεία του κοινού κρυολογήματος, της γρίπης και του βήχα. Τέλος, οι σπόροι της χρησιμοποιήθηκαν για τη θεραπεία της οστεοαρθρίτιδας, της ουρικής αρθρίτιδας και των ρευματισμών [59].

1.1.7.2 Ιδιότητες-χρήσεις

Το άγριο τριαντάφυλλο χρησιμοποιείται για τη θεραπεία καρδιαγγειακών παθήσεων και του καρκίνου, κατά της παχυσαρκίας, της αρθρίτιδας, της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και της οστεοαρθρίτιδας. Επίσης έχει αντιβακτηριακή, αντιδιαβητική, αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση [59,60].

1.1.7.3 Συστατικά

Οι καρποί περιέχουν ενώσεις όπως βιταμίνη C, καροτενοειδή, βιταμίνη E, αλκαλοειδή, φλαβονοειδή, τανίνες, ανθοκυανίνη, ανθρακινόνες, σαπωνίνες, φαινολικό οξύ, πηκτίνες, οργανικά οξέα, αμινοξέα, αιθέρια έλαια, λυκοπένιο και ακόρεστα λιπαρά οξέα [58,60].

1.1.8 *Trigonella foenum – graecum* (Τριγωνέλλα)

Η τριγωνέλλα ή αλλιώς τριγωνίσκος, τήλιδα, χόρτο των Ελλήνων, ελληνικό τριφύλλι, νυχάκι, στροφίλι, χέλμπα είναι ένα ετήσιο φυτό της οικογένειας *Fabaceae*. Η λατινική ονομασία του βοτάνου είναι *Trigonella foenum – graecum*. Το φυτό φύεται σε περιοχές της Ευρώπης, της Αυστραλίας, της Βόρειας Αμερικής, της Βόρειας Αφρικής, καθώς και στην Δυτική, Νότια και Νοτιοανατολική Ασία. Το φυτό μεγαλώνει σε μεγάλο υψόμετρο, τα φύλλα του είναι τρίλοβα (εξ ου και η ονομασία) και το ύψος του φτάνει τα 60 cm [61].



Εικόνα 10: Φωτογραφία του φυτού τριγωνέλλα.

1.1.8.1 Ιστορική αναδρομή

Από αρχαιότατων χρόνων η τριγωνέλλα χρησιμοποιείται ως καταπραϋντική, κατά του πυρετού, της ανορεξίας και για την αντιμετώπιση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Στη Μέση Ανατολή και στα Βαλκάνια, τα υπέργεια μέρη του φυτού χρησιμοποιούνται για κοιλιακές κράμπες που σχετίζονται με τον πόνο της εμμήνου ρύσεως, τη διάρροια, τον πόνο στα νευρά ή τη γαστρεντερίτιδα. Στην Κίνα, σπόροι του φυτού χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Επίσης οι σπόροι χρησιμοποιούνταν ως συντηρητικά σε τουρσί και άλλα τρόφιμα [62].

1.1.8.2 Ιδιότητες-χρήσεις

Έχει αντιδιαβητική, αντιμικροβιακή, αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση. Χρησιμοποιείται ως τονωτικό, καθαρτικό, αποχρεμπτικό, υποτασικό, αντι-ιικό. Επιπλέον οι σπόροι ή το εκχύλισμα χρησιμοποιούνται στη σύγχρονη πρακτική τροφίμων σε αρτοσκευάσματα, κατεψυγμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, προϊόντα με βάση το κρέας, καρυκεύματα, σάλτσες κ.α.[63,64].

1.1.8.3 Συστατικά

Το φυτό καλλιεργείται κυρίως για τους εξαιρετικά θρεπτικούς σπόρους του που περιέχουν 25-30% πρωτεΐνες με υψηλή βιολογική αξία, λιπίδια, σαπωνίνες, φλαβονοειδή, μέταλλα (Ca, Mg, P, Fe, Na, K, Cu, S, Cl, Mn και Cr), βιταμίνες, β-καροτένιο, φολικό οξύ, θειαμίνη, αζωτούχα συστατικά, πολυφαινολικές ουσίες, πτητικά συστατικά, αμινοξέα κλπ. [61,62].

1.1.9 *Epilobium angustifolium* L. (Επιλόβιο)

Το επιλόβιο είναι ποώδες πολυετές φυτό και ανήκει στην οικογένεια *Onagraceae* που περιλαμβάνει περισσότερα από 200 είδη. Φύεται στην Ασία, την Ευρώπη και τη Νότια Αμερική και φτάνει σε ύψος τα 60 cm. Έχει λεπτά φύλλα με κυματιστές άκρες και τα άνθη είναι ερυθροϊώδη - λευκά, ενώ ο καρπός είναι μια λεπτή κυλινδρική κάψουλα που περιέχει πολυάριθμους σπόρους που διασπείρει πολύ αποτελεσματικά με τον άνεμο [65].



Εικόνα 11: Φωτογραφία του φυτού επιλόβιο.

1.1.9.1 Ιστορική αναδρομή

Το επιλόβιο χρησιμοποιείτο παραδοσιακά για τη θεραπεία παθήσεων σχετικών με την ούρηση, την ημικρανία, την αναιμία, κατά των λοιμώξεων, του γαστρικού έλκους, της διάρροιας, του προστάτη και των κρυολογημάτων. Στην Ρωσία αναφέρεται η χρήση του για

τη θεραπεία του έλκους του στομάχου, της γαστρίτιδας, καθώς και ως χαλαρωτικό για την αντιμετώπιση της αυπνίας, ενώ οι Κινέζοι το χρησιμοποίησαν για την ανακούφιση των εμμηνορροϊκών διαταραχών [66,67].

1.1.9.2 Ιδιότητες-Χρήσεις

Το επιλόβιο χρησιμοποιείται ευρέως για τη θεραπεία γαστρεντερικών διαταραχών, για την αντιμετώπιση της υπερπλασίας του προστάτη, κατά του έλκους, της κυστίτιδας, των μολύνσεων του ουροποιητικού και των οιδημάτων και για τη γρήγορη επούλωση των πληγών. Έχει αντιφλεγμονώδεις, στυπτικές, αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες. Δρα επίσης ως αναλγητικό, τονωτικό και μαλακτικό [65,66].

1.1.9.3 Συστατικά

Περιέχει πολυφαινόλες συμπεριλαμβανομένων των φλαβονοειδών, φαινολικά οξέα, τανίνες, στεροειδή, τριτερπενοειδή, λιπαρά οξέα, εστέρες, καμφερόλη, κερσετίνη, σιτοστερόλη και γλυκοσίδια [66].

1.1.10 *Crataegus monogyna* (Κράταιγος)

Ο κράταιγος είναι ένα μικρό φυλλοβόλο δένδρο με λευκό φλοιό και ανήκει στην οικογένεια Rosaceae που περιλαμβάνει 200 είδη. Ορισμένα είδη είναι θάμνοι, ενώ άλλα μπορούν να φτάσουν σε ύψος τα 12 m (δέντρα). Στην Ελλάδα τον συναντάμε επίσης ως τρικοκκιά, μουρζιά, μπουρμπουτζελιά, ξανθή τσαπουρνιά, τσιατσιά και ξαγκαθιά. Ο κράταιγος είναι εγγενής στις βόρειες εύκρατες ζώνες, συμπεριλαμβανομένων χωρών της Βόρειας Αφρικής, Βόρειας Αμερικής και Δυτικής Ασίας, την Ινδία και την Κίνα, κυρίως μεταξύ γεωγραφικού πλάτους 30° και 50° Β. Τα λουλούδια του είναι λευκά και αρωματικά, οι καρποί του είναι κόκκινοι, έχουν ωοειδές σχήμα με διάμετρο 8-12 mm και έχει κοφτερά αγκάθια [68].



Εικόνα 12: Φωτογραφία του φυτού κράταιγος.

1.1.10.1 Ιστορική αναδρομή

Ο κράταιγος έχει χρησιμοποιηθεί παραδοσιακά κυρίως για την αντιοξειδωτική του δράση. Ένα αφέψημα των φύλλων και των καρπών του χρησιμοποιείτο για τη θεραπεία καρδιαγγειακών παθήσεων, του καρκίνου και του διαβήτη. Η χρήση του για τη θεραπεία καρδιαγγειακών παθήσεων χρονολογείται από τα τέλη του 1800, ενώ έχει επίσης αναφερθεί χρήση του κατά της διάρροιας, της αϋπνίας, των σπασμών και του άσθματος. Στην Κίνα χρησιμοποιήθηκε επίσης για μια ποικιλία καταστάσεων που περιλαμβάνουν πεπτικά προβλήματα, κακή κυκλοφορία και δύσπνοια. Επειδή οι καρποί του είναι βρώσιμοι, χρησιμοποιήθηκαν στην κινέζικη ιατρική για τη μείωση των λιπιδίων του πλάσματος. Πέρα από τις φαρμακευτικές του ιδιότητες για τους αρχαίους Έλληνες και Ρωμαίους είχε μεγάλη συμβολική σημασία και συνδεόταν με την ελπίδα, το γάμο και τη γονιμότητα [68,69].

1.1.10.2 Ιδιότητες-Χρήσεις

Σήμερα χρησιμοποιείται κυρίως για καρδιαγγειακές παθήσεις, όπως η στηθάγχη, αφού έχει βρεθεί ότι ομαλοποιεί τους παλμούς της καρδιάς και βελτιώνει την παροχή αίματος στον καρδιακό μυ. Ο κράταιγος είναι σπασμολυτικός και καταπραϊντικός, καθώς

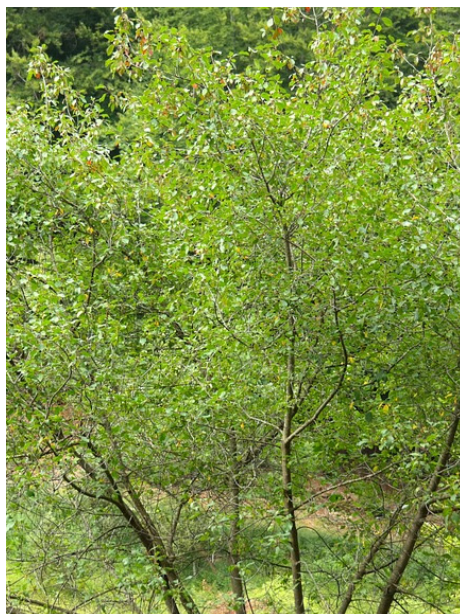
και πολύ αποτελεσματικός για την καταπολέμηση της αϋπνίας που οφείλεται σε νευρική υπερένταση. Μειώνει τη χοληστερίνη, βοηθά στην αντιμετώπιση των αρρυθμιών, της ταχυκαρδίας, της υπέρτασης και της υπότασης και προφυλάσσει από την αρτηριοσκλήρωση. Χρησιμοποιείται επίσης κατά του πυρετού, της δυσπεψίας και της διάρροιας, ενώ ενισχύει την κακή μνήμη [69,70].

1.1.10.3 Συστατικά

Τα φύλλα, τα άνθη και οι καρποί περιέχουν μια ποικιλία флаβονοειδών (ολιγομερικές προκυανιδίνες, κερσετίνη, βιτεξίνη) τα οποία και είναι υπεύθυνα για τα οφέλη της χρήσης του στην καρδιά. Επίσης περιέχει τριτερπενοειδή, κυανιούχους γλυκοζίτες, αμίνες (τριμεθυλαμίνη - μόνο στα άνθη), πολυφαινόλες, κουμαρίνες, τανίνες, λευκο-ανθοκυανιδίνες, ολεανολικό οξύ και σαπωνίνες [71].

1.1.11 *Frangula alnus* (Φραγκουλιά)

Η επιστημονική ονομασία είναι *Rhamnus frangula* και ανήκει στην οικογένεια Rhamnaceae. Τα είδη αυτής της οικογενείας είναι θάμνοι ή δέντρα. Το *Frangula alnus* το συναντάμε με τις κοινές ονομασίες ράμνος, βουρβουλιά, φραγκούλα, λευκαγκαθιά. Είναι ένας θάμνος που φτάνει σε ύψος τα 7 μέτρα. Τα φύλλα είναι αντιστρόφως αυγοειδή έως ελλειπτικά, τα άνθη μικρά και λευκά και οι καρποί κόκκινοι. Φύεται σε όλη την Ευρώπη και την δυτική Ασία [72,73].



Εικόνα 13: Φωτογραφία του φυτού φραγκουλιά.

1.1.11.1 Ιστορική αναδρομή

Η φραγκουλιά χρησιμοποιείται σαν φαρμακευτικό φυτό από τον 19^ο αιώνα. Χρησιμοποιείτο ως κατάπλασμα κατά της αιμορραγίας και των κονδυλωμάτων. Τα φύλλα και ο φλοιός του φυτού χρησιμοποιούνταν για δερματικές παθήσεις, όπως εκζέματα καθώς και ως καθαρτικό. Κατά τον Μεσαίωνα το φυτό χρησιμοποιήθηκε ως χρωστική για το βάψιμο ρούχων και μαλλιών ύφανσης [74].

1.1.11.2 Ιδιότητες-Χρήσεις

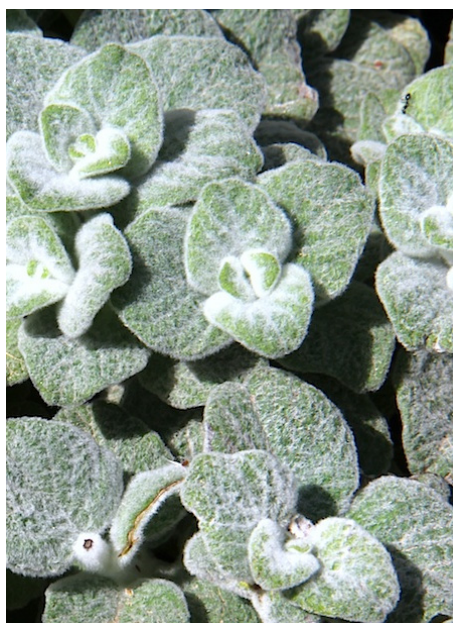
Το φυτό χρησιμοποιείται ευρέως στην ιατρική για τη θεραπεία του απλού έρπητα, του άσθματος, των ερεθισμών του δέρματος καθώς και ως καθαρτικό. Επίσης έχει αντιμικροβιακή, αντιμυκητιακή, αντιπαρασιτική, αντικαρκινική και αντιοξειδωτική δράση [72,75].

1.1.11.3 Συστατικά

Το φυτό περιέχει флаβονοειδή, τερπενοειδή (μονοτερπένια, διτερπένια) φαινολικά οξέα, πολυφαινόλες, και τανίνες [76].

1.1.12 *Origanum dictamnus* L. (Δίκταμο)

Το δίκταμο ή αλλιώς δίκταμο ή τίταμο είναι πολυετές φυτό που φτάνει σε ύψος τα 40 cm και συναντάται στην Κρήτη. Τα φύλλα του είναι ωοειδή, καλυμμένα με πυκνό άσπρο χνούδι και φτάνουν σε μήκος τα 10 mm. Τα άνθη του είναι ανοιχτά ρόδινα ή βιολετί και έχουν μήκος 11 cm. Το φυτό φύεται σε ορεινές λοφώδεις εκτάσεις σε γκρεμούς και πλαγιές βουνών [77].



Εικόνα 14: Φωτογραφία του φυτού δίκταμο.

1.1.12.1 Ιστορική αναδρομή

Το δίκταμο από την αρχαιότητα θεωρούνταν θεραπευτικό φυτό. Οι θαυματουργικές του ιδιότητες αναφέρονται από πολλούς αρχαίους συγγραφείς όπως ο Δισκουρίδης, ο Γαληνός, ο Όμηρος, ο Αριστοτέλης κ.α. Το χρησιμοποιούσαν για τη θεραπεία παθήσεων των νεφρών, των εντέρων και για την αντιμετώπιση των δηλητηριάσεων. Ο Πλίνιος χαρακτηρίζει το δίκταμο ως το πιο αποτελεσματικό εμμηναγωγό φάρμακο και αναφέρει ότι συμβάλλει στην αποβολή νεκρών εμβρύων. Ο Ιπποκράτης αναφέρει το δίκταμο ως θεραπευτικό για την αντιμετώπιση φλεγμονωδών παθήσεων του δέρματος [77].

1.1.12.2 Ιδιότητες-Χρήσεις

Τα υπέργεια μέρη του φυτού χρησιμοποιούνται σε μορφή αφεψήματος για τη θεραπεία των ρευματισμών, των αποστημάτων, των οιδημάτων, της αρθρίτιδας και της κεφαλαλγίας. Θεωρείται ότι διευκολύνει την κατάκλιση, δρα σαν αντιεπιληπτικό, αιμοστατικό, τονωτικό, αντισηπτικό και διουρητικό. Λόγω της αντιοξειδωτικής του δράσης είναι κατάλληλο ως φυσικό συντηρητικό στη βιομηχανία τροφίμων ενώ αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνται στην κοσμετολογία και στην αρωματοποιία [78,79].

1.1.12.3 Συστατικά

Το δίκταμο περιέχει θυμόλη, καρβακρόλη, πουλεγόνη, βενζοκαΐνη, τοκοφερόλες, φαινολικά οξέα, καφεϊκό και βανιλικό οξύ και φλαβονοειδή όπως η ταξιφολίνη και η λουτεολίνη. Τα φύλλα του φυτού είναι πλούσια σε λιπαρά συστατικά. Μη πολικά τέτοια συστατικά είναι οι στερόλες, οι λιπαρές αλκοόλες, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και τα αιθέρια έλαια. Τα κυριότερα λιπαρά οξέα είναι το παλμιτικό, το ολεϊκό και το λινολεϊκό οξύ. Πολικά συστατικά είναι η σερίνη, η ινοσιτόλη, η γλυκερόλη και τα γλυκερίδια [80].

1.1.13 *Leonorus Cardiaca* (Παναγιόχορτο)

Το παναγιόχορτο είναι ποώδες πολυετές φυτό που φτάνει σε ύψος τα 120 cm και ανήκει στην οικογένεια Lamiaceae. Στη χώρα μας το συναντούμε επίσης με τις ονομασίες λεόνουρος, λεονούριο ή δεσποινόχορτο. Φυτρώνει σε χαλάσματα, πλαγιές, άκρες δρόμων, παλιούς τοίχους και επιχωματώσεις. Τα φύλλα καλύπτονται με δύσκαμπτες τρίχες, τα λουλούδια είναι ομαδοποιημένα σε 10-20 συστάδες μήκους περίπου 1 mm και το χρώμα είναι τους είναι ερυθροϊώδες. Φύεται στην Ασία και τη Νοτιοανατολική Ευρώπη [81].



Εικόνα 15: Φωτογραφία του φυτού παναγιόχορτο.

1.1.13.1 Ιστορική αναδρομή

Το παναγιόχορτο ήταν γνωστό βότανο στην αρχαία Ελλάδα. Το χρησιμοποιούσαν για την αντιμετώπιση της ταχυκαρδίας και άλλων καρδιακών διαταραχών και κάποιων γυναικολογικών παθήσεων όπως η λοίμωξη της μήτρας. Η λατινική του ονομασία *Leonurus* που σημαίνει «ουρά λιονταριού», προκύπτει από τα τριχωτά φύλλα του φυτού και προέρχεται από την Ρωμαϊκή εποχή όπου το χρησιμοποιούσαν για προβλήματα που σχετίζονταν με την καρδιά. Οι κινέζοι το χρησιμοποιούσαν επίσης και ως διουρητικό, για την αντιμετώπιση προβλημάτων στο ήπαρ καθώς και ως καταπραϋντικό για ενοχλήσεις στην περιοχή των ματιών [82,83].

1.1.13.2 Ιδιότητες-Χρήσεις

Σύγχρονες μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την αποτελεσματικότητα του φυτού για καρδιαγγειακές παθήσεις, την αντιμετώπιση της θρόμβωσης και της ταχυκαρδίας. Είναι ηρεμιστικό, και αντισπασμωδικό. Επίσης ανακουφίζει από τους πόνους στο στήθος, όταν συνοδεύονται από δύσπνοια και άγχος, δρα κατά της αϋπνίας και της επιληψίας, είναι χαλαρωτικό, τονωτικό, αντιφλεγμονώδες, αντιοξειδωτικό και αντιβακτηριακό [81].

1.1.13.3 Συστατικά

Το παναγιόχορτο έχει έντονη πικρή γεύση η οποία οφείλεται σε μια πικρή ουσία που περιέχει την λεονουρίνη. Επίσης περιέχει τανίνες, αιθέρια έλαια, βιταμίνη Α, γλυκοσίδια, φουρανικά διτερπένια, μονοτερπένια (ιριδοειδή), τριτερπένια (ουρσολικό και ολεανολικό οξέα) αλκαλοειδή (σταχυδρίνη), στερόλες, флаβονοειδή, φαινυλοπροπανοειδή, φαινολικά οξέα, πτητικά έλαια, στερόλες, μέταλλα και άλλα [84].

1.1.14 *Asplenium ceterach* (Σκορπίδι)

Το σκορπίδι είναι πολυετές ποώδες φυτό και ανήκει στην οικογένεια *Polypodiaceae*. Τα φύλλα του είναι μικρά (φτάνουν σε μήκος μέχρι τα 20 cm) με πτεροειδείς λοβούς. Στο πάνω μέρος τους είναι λεία και πράσινα, ενώ το κάτω μέρος της επιφάνειας είναι τριχοειδές και έχει ανοικτό καστανό χρώμα. Φύεται στην Ευρώπη, τη Βόρεια Αφρική και την εγγύς Ανατολή στις ρωγμές των βράχων και στις σχισμές παλαιών τοίχων. Στη χώρα μας το συναντούμε με τις κοινές ονομασίες σκορπιδόχορτο, σκορπιδάτσι, χρυσόχορτο και αγριοσπάρτι. Ο πολλαπλασιασμός του γίνεται με σπόρια, τα οποία σχηματίζονται σε σποράγγεια. Τα σποράγγεια βρίσκονται στα φύλλα μέσα σε μικροσκοπικούς ελαστικούς σάκους, στρογγυλού σχήματος οι οποίοι κάποια στιγμή “σκάνε” σκορπίζοντας τους σπόρους ολόγυρα και το φυτό πολλαπλασιάζεται [85].



Εικόνα 16: Φωτογραφία του φυτού σκορπίδι.

1.1.14.1 Ιστορική αναδρομή

Το σκορπίδι χρησιμοποιείται εδώ και εκατοντάδες χρόνια για την αντιμετώπιση νοσημάτων της ουροδόχου κύστης και γενικότερα των ουροφόρων οδών, του πυρετού και της βλεννόρροιας. Επίσης το χρησιμοποιούσαν ως έμπλαστρο για να θεραπεύουν ακμή και εκζέματα και να επιταχύνουν την επούλωση των πληγών. Ο Διοσκουρίδης αναφέρει την χρήση του ως αποχρεμπτικό και διουρητικό [86].

1.1.14.2 Ιδιότητες-Χρήσεις

Για θεραπευτικούς σκοπούς το φυτό χρησιμοποιείται συνήθως ολόκληρο. Χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση των νοσημάτων της ουροδόχου κύστης, των ουροφόρων οδών, του προστάτη και των νεφρών (ειδικότερα για την αντιμετώπιση της πέτρας στα νεφρά), της διάρροιας, των στηθικών παθήσεων και του βήχα. Είναι επίσης καταπραϋντικό, διουρητικό, αποχρεμπτικό και εφιδρωτικό [87].

1.1.14.3 Συστατικά

Το σκορπίδι περιέχει δευτερογενείς μεταβολίτες όπως φλαβονοειδή, αλκαλοειδή, τριτερπενοειδή, διτερπενοειδή και φαινόλες [86].

1.1.15 *Equisetum arvense* - Horsetail (Εκουϊζέτο)

Το εκουϊζέτο είναι ποώδες, πολυετές φυτό, το οποίο στα αγγλικά αποκαλείται *Horsetail* εξαιτίας της ομοιότητάς του με "ουρά αλόγου". Το συναντάμε στη χώρα μας με τις ονομασίες πολυκόμπι, κοντυλόχορτο, και πολυτρίχι. Το ύψος του φτάνει τα 60 cm, δεν έχει φύλλα, ενώ οι σπόνδυλοι των κλάδων είναι αδύνατοι και το χρώμα τους ανοιχτό πράσινο. Δεν έχει άνθη, σχηματίζει σπόρους και οι βλαστοί του έχουν τραχιά υφή. Φύεται σε όλη την Ευρώπη, σε καλλιέργειες, αναχώματα, πετρώδη και ξερά εδάφη [88].



Εικόνα 17: Φωτογραφία του φυτού εκουϊζέτο.

1.1.15.1 Ιστορική αναδρομή

Από αρχαιοτάτων χρόνων το εκουϊζέτο χρησιμοποιήθηκε ως διουρητικό και αιμοστατικό κατά την ρινική, πνευμονική και γαστρική αιμορραγία, καθώς και κατά την εμμηνόρροια. Επίσης χρησιμοποιήθηκε για την αντιμετώπιση παθήσεων των νεφρών και της ουροδόχου κύστης, την καταπολέμηση της φυματίωσης και για ρευματικές παθήσεις. Ο Διοσκουρίδης το αναφέρει ως θεραπευτικό βότανο, για την επούλωση των πληγών και των ελκών, ενώ το συστήνει για εύθραυστα μαλλιά και νύχια [88].

1.1.15.2 Ιδιότητες-Χρήσεις

Το εκουϊζέτο έχει αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή δράση. Χρησιμοποιείται ως αιμοστατικό, αντισηπτικό, τονωτικό και διουρητικό, κατά του έλκους του στομάχου και της αρτηριοσκλήρωσης. Έρευνες έχουν δείξει πως μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατά του καρκίνου του προστάτη, εξαιτίας της μεγάλης περιεκτικότητάς του σε διοξείδιο του πυριτίου και μεταλλικά ιχνοστοιχεία [89].

1.1.15.3 Συστατικά

Η προκαταρκτική φυτοχημική ανάλυση έδειξε ότι το φυτό περιέχει αλκαλοειδή, флаβονοειδή, τριτερπενοειδή, φαινόλες (καμπφερόλη), σαπωνίνες, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, αμινοξέα, φυτοστερόλες, στερόλες, τανίνες, ασκορβικό οξύ, πυριτικό οξύ, γλυκοζίτες και καφεϊκά οξέα. Επίσης περιέχει σε υψηλή περιεκτικότητα μέταλλα όπως Ca, K, Al, S, Na, Zn, Mg και Mn [88].

1.1.16 *Stellaria media* (Στελλάρια)

Η στελλάρια είναι πολυετές φυτό με ύψος έως τα 40 cm και θεωρείται ζιζάνιο. Η λατινική ονομασία του βοτάνου είναι *Stellaria media* (Στελλαρία η μεσαία) και ανήκει στην οικογένεια των Καρυοφυλλιδών που περιλαμβάνει περισσότερα από 100 είδη. Αναπτύσσεται εύκολα σε χερσαία εδάφη και φύεται σχεδόν σ' όλο τον κόσμο σε περιοχές που έχουν υγρασία και θερμοκρασία από 0 ως 30 βαθμούς κελσίου. Ιδιαίτερα εύκολα αναπτύσσεται σε χώρες της Μεσογείου, στην Ασία και την Β. Αμερική. Έχει χνουδωτούς μίσχους, στρογγυλούς βλαστούς, οβάλ φύλλα, ινώδεις και εύθραυστες ρίζες και τα άνθη του είναι λευκά. Είναι βρώσιμο φυτό καθώς τα φύλλα και οι μίσχοι μπορούν να καταναλωθούν σε σαλάτες ή να μαγειρευτούν όπως άλλα φυτά/χόρτα που καταναλώνονται ευρέως. Βρώσιμοι είναι και οι σπόροι του φυτού. Η στελλάρια έχει μεγάλη θρεπτική αξία καθώς περιέχει πολλές βιταμίνες και ανόργανα άλατα. Οι φαρμακευτικές και κοσμετολογικές εφαρμογές του φυτού επιτυγχάνονται τόσο με την κατανάλωση δια του στόματος όσο και με εξωτερικές επαλείψεις [90,91].



Εικόνα 18: Φωτογραφία του φυτού στελλάρια.

1.1.16.1 Ιστορική αναδρομή

Η στελλάρια χρησιμοποιείται από αρχαιοτάτων χρόνων ως τονωτικό για την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος ευπαθών ανθρώπων. Ο Διοσκουρίδης πρότεινε την χρήση της για τις φλεγμονές των ματιών και την ωτίτιδα, ενώ στην λαϊκή ιατρική αναφέρεται η χρήση της στην αντιμετώπιση της ψώρας και της αλωπεκίας. Επίσης, χρησιμοποιείτο ως κατάπλασμα για επούλωση πληγών. Στην κινεζική ιατρική χρησιμοποιείται για πάνω από 200 χρόνια ως αντι-ιικός παράγοντας, ενώ η ρίζα του βοτάνου χρησιμοποιείτο ως δροσιστικό βότανο στον πυρετό και για την αντιμετώπιση της αιμορραγίας κατά την έμμηνο ρύση [92]. Οι ιθαγενείς της Αμερικής το χρησιμοποιούσαν ως τονωτικό και θεωρούσαν ότι προστατεύει τον οργανισμό από τις ασθένειες. Στην Ευρώπη χρησιμοποιείτο τόσο ως τονωτικό όσο και ως καθαρτικό και διουρητικό [93]. Η στελλάρια χρησιμοποιείται έως σήμερα για δερματικές παθήσεις αφού έχουν αποδειχθεί πολλές θεραπευτικές ιδιότητες της.

1.1.16.2 Ιδιότητες – Χρήσεις

Η στελλάρια χρησιμοποιείται εξωτερικά ως κατάπλασμα για την αντιμετώπιση της ψωρίασης, των εκζεμάτων, των φλυκταινών και αποστημάτων καθώς και σε άλλα δερματικά προβλήματα, όπως η ακμή, τα εξανθήματα, τα εγκαύματα και η επούλωση των

πληγών. Ως έγχυμα χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση των ρευματισμών, της δυσκαμψίας του αυχένα και των αρθρώσεων, της φλεγμονής, του βήχα, της βρογχίτιδας, του πονόλαιμου, της ρινικής συμφόρησης, των κρυολογημάτων και των ιογενών λοιμώξεων, καθώς και για εσωτερικές και εξωτερικές πλύσεις [92]. Επίσης καθαρίζει το αίμα και τους ιστούς από τοξίνες και βοηθά σημαντικά στην απώλεια βάρους. Η τελευταία δράση επιτυγχάνεται με το ότι διασπά τα μόρια του λίπους, τα οποία στη συνέχεια απεκκρίνονται και επίσης μειώνει την όρεξη. [91]. Η στελλάρια μειώνει την ένταση των συμπτωμάτων της δυσπεψίας, του πεπτικού και γαστρικού έλκους, διευκολύνοντας την πέψη. Επίσης ανακουφίζει από τα συμπτώματα της δυσκοιλιότητας δρώντας ως διουρητικό και καθαρτικό. Η αντιβακτηριακή της δράση βοηθά στην ανακούφιση των φλεγμονών του ουροποιητικού συστήματος, της κυστίτιδας και της κολπίτιδας [92]. Συνίσταται για το άσθμα και τη βρογχίτιδα, ενώ ως βάμμα βοηθά στην αντιμετώπιση των κυστών και των κονδυλωμάτων [90,91].

1.1.16.3 Συστατικά

Μεταξύ άλλων, τα κύρια συστατικά της στελλάριας είναι οι βιταμίνες A, B1, B2, B3 και C, το μαγνήσιο, το νάτριο, το σελήνιο, το πυρίτιο, ο σίδηρος, ο φωσφόρος, ο ψευδαργύρος, το γ-λινολενικό οξύ, τα φλαβονοειδή, οι κουμαρίνες, οι τριτερπενοειδείς σαπωνίνες και τα καρβοξυλικά οξέα. Επίσης, η στελλάρια περιέχει πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε κάλιο και οξαλικό οξύ. Οι σπόροι της περιέχουν πρωτεΐνες και λιπαρά, ενώ τα φύλλα της πρωτεΐνες, λιπαρά, υδατάνθρακες, φυτικές ίνες και μικρά ποσοστά βιταμινών και ριβοφλαβίνης [90].

1.1.17 *Borago officinalis* L. (Μποράνγκο)

Το μποράνγκο είναι ετήσιο φυτό και ανήκει στην οικογένεια *Boraginaceae*. Στην Ελλάδα το συναντάμε με τις ονομασίες βορατσίνα, μποράντζα, βόραγο, βοράγινο και βούγλωσσο. Το φυτό φθάνει σε ύψος τα 60 cm. Το στέλεχος του είναι καλυμμένο με τρίχες από τις οποίες αναβλύζει έντονη οσμή που μοιάζει με άρωμα φρέσκων αγγουριών. Ο καρπός περιέχει 4 αγκαθωτούς σπόρους. Στις κορυφές των βλαστών

υπάρχουν οι αστεροειδείς ταξιανθίες οι οποίες έχουν μπλε χρώμα. Φύεται στην Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική, σε καλλιεργούμενους και μη αγρούς, σε λιβάδια, σε πάρκα κ.α.[94].



Εικόνα 19: Φωτογραφία του φυτού μποράνγκο.

1.1.17.1 Ιστορική αναδρομή

Το μποράνγκο χρησιμοποιείται από αρχαιοτάτων χρόνων για γαστρονομικούς και ιατρικούς σκοπούς. Στην λαϊκή ιατρική χρησιμοποιήθηκε ως καθαρτικό, διουρητικό, εφιδρωτικό, αντιπυρετικό, για την αντιμετώπιση των παθήσεων της χολής, της πνευμονίας, της παχυσαρκίας, των οξέων ρευματισμών, της ιλαράς, της οστρακιάς και της ευλογιάς. Ο Διοσκουρίδης και ο Πλίνιος αναφέρουν, ότι τα φύλλα του φυτού διώχνουν τη μελαγχολία [95].

1.1.17.2 Ιδιότητες-Χρήσεις

Έχει διουρητικές, αντισπασμωδικές, αντιπυρετικές και αφροδισιακές ιδιότητες. Χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση της υπέρτασης, του άσθματος, της βρογχίτιδας, της διάρροιας και των παθήσεων των νεφρών. Εξαιτίας της υψηλής αντιοξειδωτικής του δράσης χρησιμοποιείται σε πληθώρα τροφίμων ως συντηρητικό. Στην κοσμετολογία αποτελεί ένα εξαιρετικό πρόσθετο σε καλλυντικά υψηλής αξίας λόγω της

αντιφλεγμονώδους και επουλωτικής δράσης του. Οι δράσεις αυτές αποδίδονται κυρίως στην υψηλή περιεκτικότητα σε γ-λινολενικό οξύ (GLA), υψηλότερη από οποιοδήποτε άλλο φυτικό έλαιο, βότανο ή τροφή υπάρχει στη φύση. Το GLA είναι ένα ωμέγα-6 λιπαρό οξύ, με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, οι οποίες επιταχύνουν την επούλωση των πληγών και θεραπευθούν διάφορες δερματολογικές παθήσεις [96].

1.1.17.3 Συστατικά

Περιέχει σαπωνίνες, τανίνες, φλαβονοειδή, αλκαλοειδή, οργανικά οξέα, μονοτερπένια, διτερπένια, εικοσανοειδή, βιταμίνη C, ασβέστιο, κάλιο και αιθέριο έλαιο. Επίσης περιέχει λιπαρά οξέα όπως παλμιτικό οξύ, στεατικό οξύ, ελαϊκό οξύ, εικοσενοϊκό οξύ, ερουκικό και νερβονικό οξύ και υψηλή συγκέντρωση γ-λινολενικού οξέος [97].

1.1.18 *Agrimonia eupatoria* (Αγριμόνιο)

Το αγριμόνιο είναι πολυετές, ποώδες φυτό που φτάνει σε ύψος τα 70 cm και ανήκει στην οικογένεια *Rosaceae*. Φύεται στην Ευρώπη, την Ασία και την Βόρεια Αμερική σε όλα τα εδάφη, (φράκτες, δάση, λιβάδια). Στη χώρα μας το συναντάμε με τις ονομασίες αγριμαία, ασπροζάκι, ασπροζάνη. Ο βλαστός του είναι τριχοειδής και το χρώμα του κόκκινο. Τα άνθη του είναι αστεροειδή και χρυσοκίτρινα, ενώ οι καρποί του είναι τριχωτοί [98].



Εικόνα 20: Φωτογραφία του φυτού αγριμόνιο.

1.1.18.1 Ιστορική αναδρομή

Το αγριμόνιο πήρε το όνομά του από τη λέξη “αγρός” και “μένω” δηλαδή αυτό που μένει στους αγρούς. Το όνομα του είδους *eupatoria* αναφέρεται στον Μιθριδάτη Ευπάτωρ, βασιλιά του Πόντου, και δόθηκε από τον Διοσκουρίδη για να τον τιμήσει για τις γνώσεις του στη βοτανοθεραπεία. Από την αρχαιότητα το χρησιμοποιούσαν για την επούλωση πληγών, σε παθήσεις των ματιών, του συκωτιού, διαταραχές της χοληδόχου κύστης και του ουροποιητικού συστήματος ή και στο δάγκωμα φιδιών. Επίσης αναφέρεται η χρήση του ως στυπτικού, καρδιοτονωτικού, πηκτικού, διουρητικού, καταπραϋντικού, για την αντιμετώπιση της καταρροής, του άσθματος, της αιμορραγίας, της φυματίωσης, της φλεγμονής, των κονδυλωμάτων και των δερματικών παθήσεων [98].

1.1.18.2 Ιδιότητες-Χρήσεις

Το φυτό έχει αντιμικροβιακή, αντιδιαβητική, αναλγητική, αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση. Είναι στυπτικό, διουρητικό και τονωτικό. Ενισχύει την άμυνα του οργανισμού και είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό στη θεραπεία της χρόνιας φαρυγγίτιδας.

Το τσάι των φύλλων του χρησιμοποιείται κατά της ημικρανίας, της δυσπεψίας και της διάρροιας, ενώ ως κατάπλασμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πρηξίματα και μώλωπες [99].

1.1.18.3 Συστατικά

Τα υπέργεια τμήματα του φυτού περιέχουν φλαβονοειδή, τανίνες, υδατάνθρακες, φαινολικές ενώσεις, πολυσακχαρίτες, ρητίνη, κουμαρίνη, τριτερπενοειδή (α-αμυρίνη, ουρσολικό οξύ, ευσκαλικό οξύ), πυριτικό οξύ, σαλικυλικό οξύ, οργανικά οξέα, ασκορβικό οξύ, νικοτιναμίδιο, φυτοστερόλες, γαλακτοζίνη, γλυκοζίτες και έλαια. Οι σπόροι περιέχουν ελαϊκό, λινολεϊκό και λινολενικό οξύ [98,100].

1.1.19 *Calendula officinalis* L. (Καλεντούλα)

Η καλεντούλα η φαρμακευτική (*Calendula officinalis*) είναι ένα ποώδες ετήσιο φυτό, το οποίο φύεται στην Ευρώπη και ανήκει στην οικογένεια Asteraceae. Το όνομα αυτού του φυτού προέρχεται από μια λατινική λέξη 'Calend' που σημαίνει την πρώτη ημέρα κάθε μήνα, λόγω της μεγάλης ανθοφορίας του. Το φυτό φθάνει σε ύψος έως και 80 cm και τα στελέχη του είναι όρθια και διακλαδισμένα. Τα φύλλα του είναι επιμήκη, χνουδάτα και φτάνουν τα 20 cm. Οι ταξιανθίες είναι κίτρινες και αποτελούνται από μια ανθική κεφαλή διαμέτρου 4-7 cm. Τα άνθη μπορεί να εμφανίζονται όλο το χρόνο, όπου οι συνθήκες είναι κατάλληλες [101].



Εικόνα 21: Φωτογραφία του φυτού καλεντούλα.

1.1.19.1 Ιστορική αναδρομή

Υπάρχουν αναφορές που υποστηρίζουν ότι κατά την αρχαιότητα, οι Έλληνες και οι Πέρσες χρησιμοποιούσαν άνθη του φυτού σε φαγητά και ειδικότερα σε σούπες για να τις αρωματίσουν. Κατά τον Μεσαίωνα, οι γυναίκες χρησιμοποιούσαν το φυτό για να βάψουν τα μαλλιά τους. Ιδιαίτερα τα λουλούδια του φυτού χρησιμοποιούνταν για την επούλωση των πληγών, για την αντιμετώπιση του έλκους, των παθήσεων του γαστρεντερικού σωλήνα, της δυσπεψίας, της δυσμηνόρροιας και των φλεγμονών του ήπατος. Εξωτερικά χρησιμοποιείτο για τη θεραπεία φλεγμονών του δέρματος, τραυμάτων και εγκαυμάτων, καθώς και ως στοματικό έγχυμα μετά από αφαίρεση δοντιών [102].

1.1.19.2 Ιδιότητες-Χρήσεις

Τα εκχυλίσματα της καλεντούλας εφαρμόζονται σε μια μεγάλη ποικιλία φαρμακολογικών παθήσεων. Χρησιμοποιούνται ως αντισηπτικά, διεγερτικά, αντισπασμωδικά, αντιτυρετικά και αντι-ιικά (HIV). Επίσης, έρευνες έχουν δείξει αντικαρκινική δράση σε διάφορες κυτταρικές σειρές που προέρχονται από λευχαιμίες, ινοσαρκώματα, μελανώματα, στήθος, τράχηλο, προστάτη, πάγκρεας και τον πνεύμονα [103]. Έχει χρησιμοποιηθεί εσωτερικά για τη θεραπεία της γαστρίτιδας, της κολίτιδας και του έλκους. Εξωτερικά

χρησιμοποιείται για τη θεραπεία διάφορων δερματικών παθήσεων. Λόγω των σημαντικών βιολογικών της δράσεων έχουν παρασκευαστεί φαρμακευτικές αλοιφές για την ακμή, τις ουλές, τα τραύματα, το έκζεμα, τις αιμορροΐδες, τον έρπητα και την ψωρίαση, ενώ αιθέριο έλαιο του φυτού χρησιμοποιείται σαν βρεφικό λάδι ή κατά το μασάζ στην αρωματοθεραπεία [104].

1.1.19.3 Συστατικά

Περιέχει σαπωνίνες, καροτενοειδή, στερόλες, флаβονοειδή, ρητίνες, υδατάνθρακες, αμινοξέα, λιπίδια, τερπενοειδή, флаβονοειδή, κινόνες, κουμαρίνες και αιθέρια έλαια [104].

1.1.20 Χελιδόνιο (*Chelidonium majus*)

Το χελιδόνιο είναι ένα ποώδες πολυετές φυτό, ανήκει στην οικογένεια *Papaveraceae* και φτάνει σε ύψος τα 80 cm. Τα φύλλα του είναι μεγάλα και ωοειδή. Οι ρίζες και οι βλαστοί του περιέχουν έναν πορτοκαλοκίτρινο χυμό που ρέει, όταν κοπεί ο βλαστός. Τα άνθη του έχουν, διάμετρο 2 cm και αποτελούνται από 4 πέταλα και 2 σέπαλα με πολλούς στήμονες. Ο καρπός του περιέχει πολλούς μαύρους σπόρους με άσπρο λοφίο. Φύεται στην Ευρώπη, τη δυτική Ασία και τη Βόρεια Αμερική σε υγρούς τόπους, παλιούς τοίχους σπιτιών, ερείπια και βράχους. Στην χώρα μας το συναντάμε με τις ονομασίες χελιδονόχορτο και δοντόχορτο [105].



Εικόνα 22: Φωτογραφία του φυτού χελιδόνιο.

1.1.20.1 Ιστορική αναδρομή

Το φυτό χρησιμοποιείτο για την αντιμετώπιση λοιμώξεων, δυσεντερίας, λίθους χολής, αιμορροΐδων και καρδιολογικών παθήσεων. Στην Κίνα χρησιμοποιείτο για τη βελτίωση του κυκλοφορικού, την ανακούφιση του πόνου, την προώθηση της διούρησης, τη θεραπεία του ίκτερου και για την ανακούφιση του βήχα [106].

1.1.20.2 Ιδιότητες-Χρήσεις

Το χελιδόνιο χαλαρώνει τους μύες των βρόγχων και των εντέρων, ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα, καταπραΰνει τον πόνο του ήπατος που οφείλεται σε προβλήματα των χοληφόρων οδών και συντελεί στην απαλλαγή από τους λίθους. Έχει αντικαρκινική δράση, κυρίως για τις υπερπλασίες του δέρματος, και δρα ευεργετικά σε παθήσεις των ματιών όπως καταρράκτη, αποκόλληση αμφιβληστροειδούς, στίγματα στον κερατοειδή ή ελαττωματική όραση. Επίσης, έχει αντιμικροβιακή αντισπασμωδική, ηπατοπροστατευτική και αντιοξειδωτική δράση. Ο χυμός του φυτού χρησιμοποιείται κατά των κονδυλωμάτων, των κάλων και των μυρμηγκιών [106,107].

1.1.20.3 Συστατικά

Περιέχει υψηλή συγκέντρωση αλκαλοειδών και έχουν απομονωθεί πάνω από 70 τέτοιες ενώσεις, όπως βερβερίνη και ισοκινολίνη. Επίσης περιέχει φλαβονοειδή, σαπωνίνες, βιταμίνες Α και C, ανόργανα στοιχεία, στερόλες, οξέα, αιθέριο έλαιο και καροτενοειδή. Όλα τα μέρη του φυτού περιέχουν ένα κιτρινωπό καυστικό χυμό με τη μορφή γάλακτος, ο οποίος περιέχει πολλές χημικές ουσίες, όπως χολερυθρίνη, σαπωνίνη, χελιδονίνη, προτοπίνη, κοπτισίνη, μέταλλα κ.λπ. [107,108].

1.2 Βιολογικές δράσεις φυτών

Έως τώρα αναφέρθηκαν πολυάριθμες βιολογικές δράσεις των φυτών και των φυτικών εκχυλισμάτων. Όπως προαναφέρθηκε, οι περισσότερες είναι βασισμένες στην εμπειρική χρήση των φυτών, ενώ μόλις τα τελευταία χρόνια ξεκίνησαν να θέτονται οι επιστημονικές βάσεις για τις δράσεις αυτές. Μεταξύ των διαφόρων βιολογικών δράσεων που παρατηρούνται, ορισμένες εμφανίζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς είτε είναι ιδιαίτερα σημαντικές, είτε είναι αλληλένδετες με ποικίλες ασθένειες και προβλήματα στην υγεία του ανθρώπου. Παραδείγματα τέτοιων δράσεων είναι η αντιοξειδωτική, η αντιφλεγμονώδης, η επούλωση τραυμάτων κ.α. Λόγο της σημαντικότητάς τους θα αναπτυχθούν λεπτομερώς στο επόμενο τμήμα.

1.2.1 Αντιβακτηριακή δράση

Αν και τα περισσότερα βακτήρια είναι αβλαβή ή ευεργετικά, αρκετά από αυτά είναι παθογόνα. Στα βακτήρια οφείλονται αρκετά σημαντικές ασθένειες. Ενδεικτικά, η φυματίωση, η οποία προκαλείται από το βακτήριο *Mycobacterium tuberculosis*, θανατώνει περίπου δυο εκατομμύρια ανθρώπους κάθε χρόνο. Τα παθογόνα βακτήρια συμβάλλουν και σε άλλες παγκοσμίως σημαντικές ασθένειες, όπως η πνευμονία, η οποία μπορεί να προκληθεί από βακτήρια όπως *Streptococcus* και *Pseudomonas*, και τροφογενείς ασθένειες, οι οποίες μπορεί να προκαλούνται από βακτήρια, όπως *Shigella*, *Campylobacter* και *Salmonella*. Επιπλέον, μπορούν να προκαλέσουν λοιμώξεις, όπως

τέτανο, τυφοειδή πυρετό, διφθερίτιδα, σύφιλη και λέπρα [109]. Ως λοίμωξη ορίζεται η παρατεταμένη μόλυνση από ένα ή περισσότερα είδη μικροοργανισμών. Κατά την λοίμωξη ενεργοποιείται το ανοσοποιητικό σύστημα και προκαλείται φλεγμονή και βλάβη των ιστών [110,111].

1.2.1.1 Αντιβακτηριακή δράση και φυτά

Οι αντιβακτηριακές ιδιότητες των φυτών και των εκχυλισμάτων τους έχουν αναγνωριστεί από την αρχαιότητα χωρίς να υπάρχει κάποια επιστημονική τεκμηρίωση. Από τις αρχές του 19ου αιώνα οι ερευνητές άρχισαν να μελετούν αυτή την δράση *in-vitro* και αργότερα έγιναν και προσπάθειες απομόνωσης και ταυτοποίησης των ενώσεων που ευθύνονται για τη δράση αυτή [112]. Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες έχουν απομονωθεί εκατοντάδες ενώσεις από φυτά με διαφορετικούς μηχανισμούς δράσεις [113–115]. Πιο συγκεκριμένα μελέτες που έχουν διεξαχθεί κατά καιρούς, αποδεικνύουν ότι οι φαινόλες και τα φαινολικά οξέα εμφανίζουν αντιβακτηριακές ιδιότητες. Για παράδειγμα, μονο-υποκατεστημένες φαινόλες όπως το κυναμικό και το καφεϊκό οξύ έχουν απομονωθεί από το θυμάρι και εμφανίζουν βακτηριοκτόνο δράση έναντι *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Thyphimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* και *Bacillus cereus* [116]. Σε άλλη μελέτη βρέθηκε ότι ο αριθμός των ομάδων υδροξυλίου που φέρουν οι υδροξυλιωμένες φαινόλες (π.χ κατεχόλη, πυρογαλόλη) σχετίζεται με την τοξικότητά τους έναντι βακτηρίων, με τις ενώσεις που περιέχουν περισσότερες ομάδες υδροξυλίου να είναι πιο τοξικές [117]. Πέραν αυτών, οι κινόνες είναι ενώσεις που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση των μικροβίων. Σύμφωνα με τον Kazmi και την ομάδα του οι ανθρακινόνες του φυτού *Cassia italica* είναι υπεύθυνες για τη βακτηριοστατική δράση έναντι των *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium pseudodiphthericum* και *Pseudomonas aeruginosa* καθώς και για τη βακτηριοκτόνο δράση έναντι του *Pseudomonas pseudomalliae* [118]. Παρόμοια δράση έχει βρεθεί για την υπερικίνη, μια ανθρακινόνη που απομονώθηκε από το βαλσαμόχορτο (*Hypericum perforatum*) [119]. Δεδομένου ότι οι φλαβόνες και τα φλαβονοειδή συντίθενται από τα φυτά για την αντιμετώπιση βακτηριακών μολύνσεων [120], προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι είναι αποτελεσματικές έναντι ενός ευρέος

φάσματος μικροοργανισμών [121]. Σε άλλη μελέτη τεκμηριώθηκαν οι αντιμικροβιακές ιδιότητες των τανινών [122], σύμφωνα με την οποία οι τανίνες είναι τοξικές για βακτήρια και μύκητες. Αρκετές είναι και οι αναφορές για την αντιβακτηριακή δράση των τερπενοειδών έναντι των *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli*, *S.aureus* και *Candida albicans*, τα οποία βρίσκονται σε υψηλή συγκέντρωση στα αιθέρια έλαια των φυτών [123]. Τέλος, αντιβακτηριακή δράση εμφανίζουν και τα αλκαλοειδή, οι κουμαρίνες και οι λεκτίνες [124].

1.2.2 Αντιφλεγμονώδης δράση

Η φλεγμονή είναι ένας αμυντικός μηχανισμός που επιτρέπει στο σώμα να αντιμετωπίσει τις μολύνσεις που προκαλούνται μετά από τραυματισμούς των ιστών, διατηρώντας την ομοιοστάσή τους μετά τη δημιουργία του εκάστοτε τραύματος. Πιο συγκεκριμένα η φλεγμονή είναι η απόκριση που προκαλείται, συνήθως, από βλάβες των ιστών που οφείλονται σε βακτηριακές, ιογενείς και μυκητιακές μολύνσεις, φυσικούς παράγοντες και ελαττωματική ανοσοαπόκριση. Τα κυριότερα χαρακτηριστικά της φλεγμονής είναι το οίδημα, η ερυθρότητα, η αύξηση της θερμοκρασίας, ο πόνος και η μείωση της λειτουργικότητας των ιστών. Κατά τη φλεγμονώδη αντίδραση μακροφάγα και ουδετερόφιλα εκκρίνουν διάφορους μεσολαβητές υπεύθυνους για την έναρξη, την εξέλιξη, τη διατήρηση και την ολοκλήρωση της οξείας φλεγμονής. Η διακοπή της φλεγμονής επηρεάζεται από πολλούς αντι-φλεγμονώδεις μεσολαβητές αλλά και από τη συγκέντρωση μονοκυττάρων που είναι υπεύθυνα για την απομάκρυνση των κυττάρων ή των υπολειμμάτων των ιστών. Ωστόσο είναι πιθανό η διακοπή της φλεγμονής να μην συμβεί στην οξεία φάση, μετατρέποντάς την έτσι σε χρόνια φάση. Διάφορες παθολογικές καταστάσεις που εμφανίζονται, τόσο στις ανεπτυγμένες χώρες όσο και στις αναπτυσσόμενες (κατά κύριο λόγο στις χώρες της Αφρικής), οφείλονται σε χρόνιες φλεγμονές [125]. Η χρόνια φλεγμονή είναι περισσότερο παρατεταμένη χρονικά, με αποτέλεσμα την ίνωση (fibrosis) και νέκρωση ιστών από την παρουσία του λεμφοκυττάρων και μακροφάγων. Ως εκ τούτου η φλεγμονή από θεραπευτική μπορεί υπό ορισμένες προϋποθέσεις να καταστεί επιβαρυντική για την υγεία. Ενδεικτικά ασθένειες

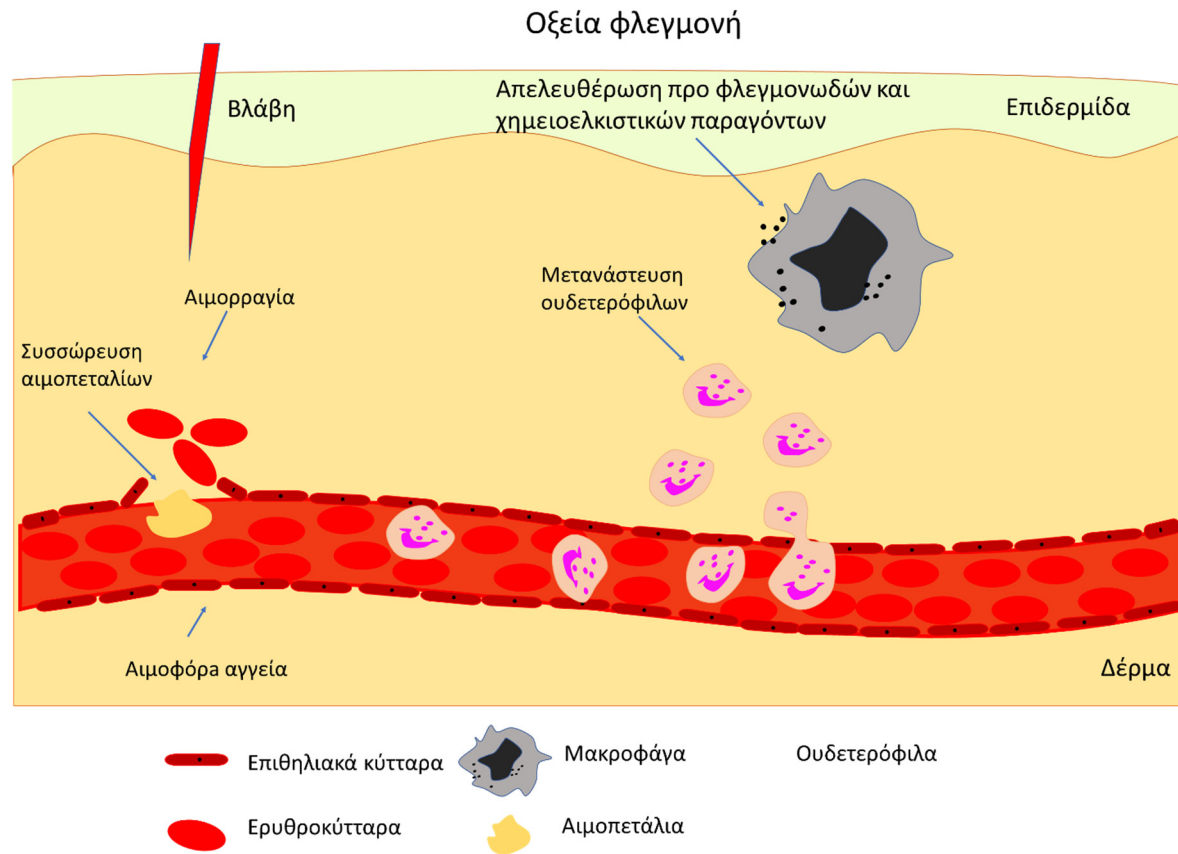
όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η οστεοαρθρίτιδα, οι φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου, η αμφιβληστροειδίτιδα, η σκλήρυνση κατά πλάκας, η αθηροσκλήρωση και η ψωρίαση σχετίζονται με φλεγμονές. Για να αποφευχθούν τέτοια προβλήματα, έχουν αναπτυχθεί διάφορα είδη ασφαλών και αποτελεσματικών αντιφλεγμονωδών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένης της ασπιρίνης και άλλων μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, ενώ πολλά ακόμα βρίσκονται υπό ανάπτυξη [126,127].

1.2.2.1 Μηχανισμός φλεγμονής

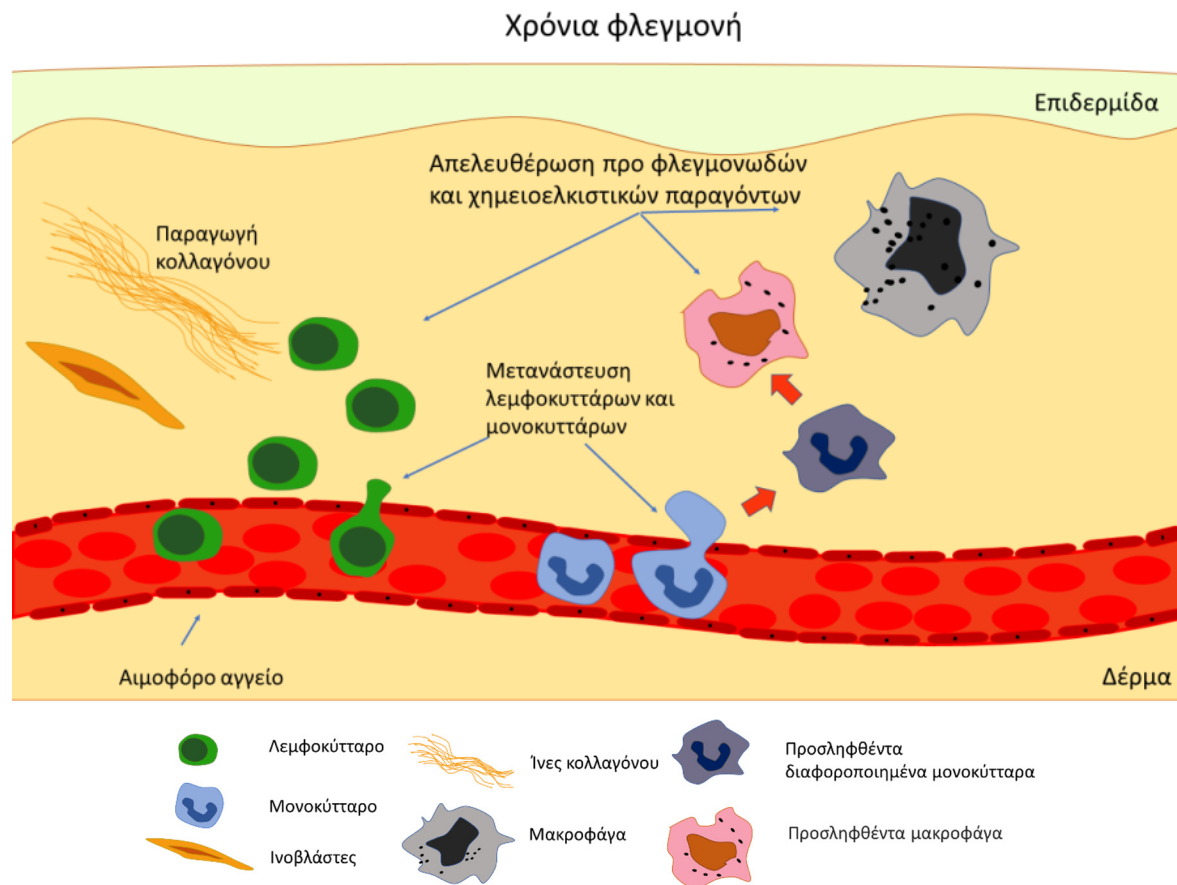
Η διαδικασία της φλεγμονής περιλαμβάνει αρχικά την αύξηση της διαπερατότητας των αιμοφόρων αγγείων. Μέσα σε αρκετά σύντομο χρονικό διάστημα παρατηρείται προσκόλληση των ουδετερόφιλων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και μετανάστευσή τους από το αίμα στους ιστούς. Τα ουδετερόφιλα φαγοκυτταρώνουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς και απελευθερώνουν μεσολαβητές, όπως χημειοκίνες, που συνεισφέρουν στη φλεγμονώδη αντίδραση προσελκύοντας τα μακροφάγα στο σημείο της φλεγμονής. Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα, εκτός από τη συμμετοχή τους στη φαγοκυττάρωση των παθογόνων μικροοργανισμών, εκκρίνουν κυτταροκίνες (ιντερλευκίνες και TNF- α), οι οποίες αυξάνουν τη διαπερατότητα των αιμοφόρων αγγείων και επάγουν την έκφραση μορίων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων. Οι κυτταροκίνες σε συνδυασμό με άλλους χημειοτακτικούς παράγοντες ελέγχουν εκλεκτικά την προσκόλληση, τη χημειοταξία και την ενεργοποίηση πολλών ειδών λευκοκυττάρων όπως τα ουδετερόφιλα και τα λεμφοκύτταρα [128,129].

Ως αποτέλεσμα της διατάραξης της κυτταρικής μεμβράνης τα φωσφολιπίδια ορισμένων κυττάρων (ουδετερόφιλων, μακροφάγων κ.α.) διασπώνται, κατά κύριο λόγο σε αραχιδονικό οξύ. Το αραχιδονικό οξύ αποτελεί υπόστρωμα για την κυκλοοξυγενάση και τη λιποοξυγενάση. Υποπροϊόντα αυτών των αντιδράσεων είναι οι προσταγλανδίνες PGE₂, PGH₂ και τα λευκοτριένια όπως LTC₄, LTB₄ κλπ. [130,131]. Μεταξύ των φλεγμονωδών μεσολαβητών έχουν μελετηθεί επίσης κυτοκίνες (π.χ. ιντερφερόνες), χημειοκίνες (π.χ., MCP-1), εικοσανοειδή (π.χ. προσταγλανδίνες και λευκοτριένια) και ο πυρηνικός μεταγραφικός παράγοντας (NF- κ B). Αναστολή της παραγωγής ή/και της

απελευθέρωσης πολλών από αυτούς τους μεσολαβητές είναι “καθιερωμένοι” στόχοι για την ανακάλυψη αντιφλεγμονωδών φαρμάκων. Ωστόσο, λόγω των διαφόρων παρενεργειών που σχετίζονται με το γαστρεντερικό σύστημα και τον αυξημένο κίνδυνο εμφράγματος και εγκεφαλικού επεισοδίου, εξακολουθεί να υπάρχει μια τεράστια ανάγκη για την ανακάλυψη αντιφλεγμονωδών παραγόντων με λιγότερες παρενέργειες [125,130–132].



Εικόνα 23: Η οξεία φλεγμονώδης αντίδραση ξεκινά με εξαγγείωση των ουδετερόφιλων στους ιστούς. Τα ουδετερόφιλα παράγουν χημειοκίνες προσελκύνοντας τα μακροφάγα στο σημείο της φλεγμονής. Η απελευθέρωση χημειοελκιστικών παραγόντων από τα παραπάνω κύτταρα διευκολύνουν την εξαγγείωση ουδετερόφιλων και λεμφοκυττάρων.



Εικόνα 24: Η χρόνια φλεγμονώδης αντίδραση έχει ως αποτέλεσμα την ιστική βλάβη. Τα μακροφάγα απελευθερώνουν υδρολυτικά ένζυμα και δραστικές ρίζες οξυγόνου και αζώτου που ως επι το πλείστον είναι υπεύθυνες για την πρόκληση βλάβης στους περιβάλλοντες ιστούς. Οι κυτοκίνες που απελευθερώνονται από τα μακροφάγα διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και την παραγωγή κολλαγόνου με αποτέλεσμα την δημιουργία ενός ουλώδους ιστού (ίνωση).

1.2.2.2 Φυτά με αντιφλεγμονώδη δράση

Παρά την ταχεία πρόοδο στην ανάπτυξη πολλών θεραπειών για τη φλεγμονή, η αποτελεσματικότητα των συμβατικών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων και αναλγητικών μπορεί να επισκιάζονται από τις ανεπιθύμητες παρενέργειές τους. Εδώ και αρκετές δεκαετίες γίνονται έρευνες για την ανακάλυψη εκχυλισμάτων βοτάνων τα οποία εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη δράση, χωρίς φυσικά την εμφάνιση παρενεργειών στον ασθενή. Επίσης από αυτά έχει απομονωθεί και χαρακτηριστεί ένας μεγάλος αριθμός αντιφλεγμονωδών συστατικών τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία πολλών ασθενειών [126].

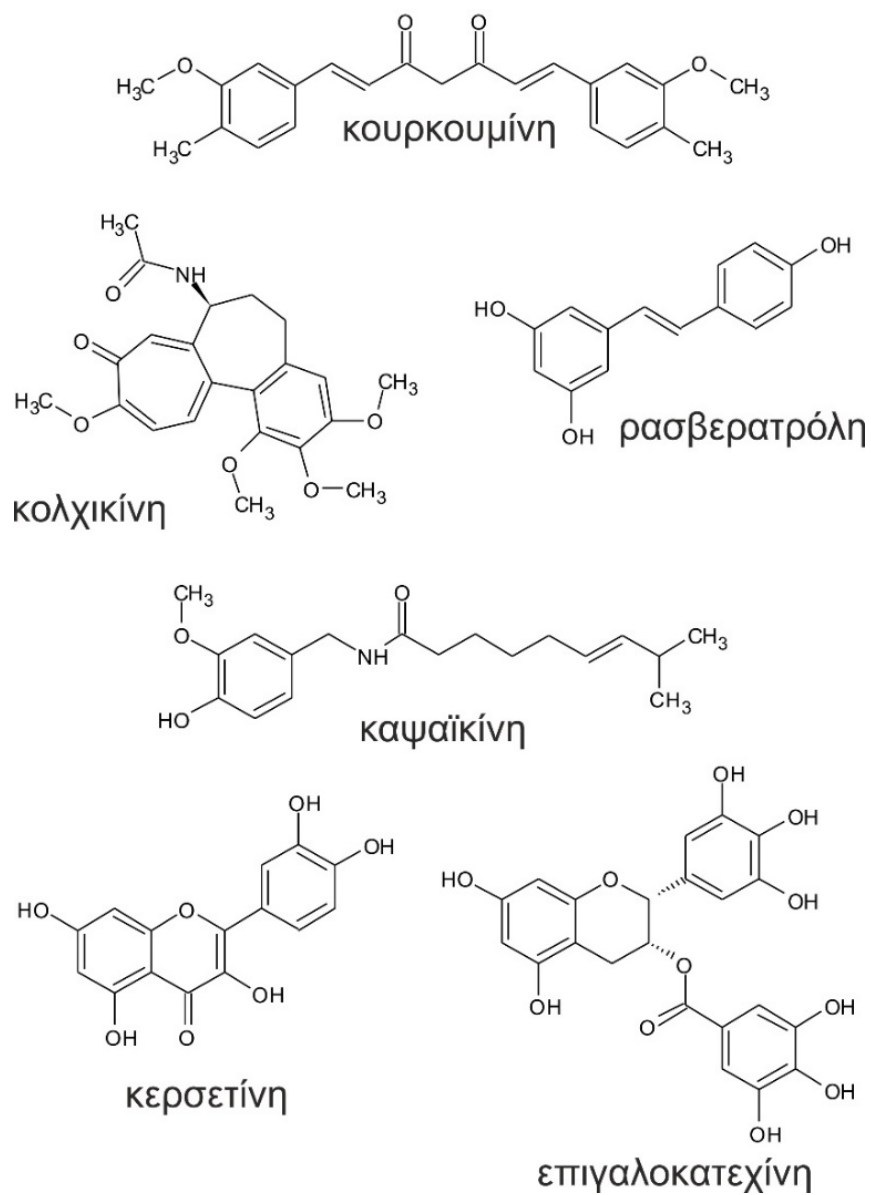
Διάφορα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα μπορούν να μειώσουν τον πόνο και τη φλεγμονή παρεμποδίζοντας τον μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος με ισομορφία του ενζύμου κυκλοοξυγενάση (COX-1 και / ή COX-2), μειώνοντας έτσι την παραγωγή της προσταγλανδίνης. Η αναστολή των COX-1 και COX-2 έχει αναφερθεί ως ο μοριακός στόχος αρκετών αντιφλεγμονωδών φυτικών εκχυλισμάτων και ενώσεων που προέρχονται από βότανα. Πολλά φυτά περιέχουν γνωστές βιολογικά δραστικές ενώσεις που περιλαμβάνονται στα αλκαλοειδή, τις φαινόλες, τα флаβονοειδή, τις κουμαρίνες, τις κινόνες, τα τερπενοειδή, τα στεροειδή, τους γλυκοσίδες και τους σαπωνίνες, καθώς και ενώσεις όπως η κουρκουμίνη, η ρασβερατρόλη και η κολχικίνη. Αυτοί οι δευτερογενείς μεταβολίτες είναι ικανοί να μειώσουν τον πόνο και τη φλεγμονή [133].

Τα флаβονοειδή έχουν μελετηθεί περισσότερο αφού είναι τα πρώτα φυτοχημικά με αντιφλεγμονώδη δράση που ανακαλύφθηκαν. Πιο συγκεκριμένα ο πρώτος αναστολέας από την οικογένεια των флаβονοειδών που ταυτοποιήθηκε με ικανότητα να αναστέλλουν τη βιοσύνθεση των προσταγλανδινών και της φωσφολιπάσης A2 είναι η κερσετίνη [134]. Φλαβονοειδή όπως η κερσετίνη, οι ανθοκυανίνες, οι κατεχίνες και επικατεχίνες, η πυροκυανιδίνη B2 and B4, η καμφερόλη, το ουρσολικό και καρνοσικό οξύ έχει βρεθεί ότι αναστέλλουν τη φλεγμονή *in vivo* [135]. Επίσης έχει βρεθεί ότι τα флаβονοειδή αναστέλλουν την παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, όπως η ιντερλευκίνη-6 (IL-6), οι οποίες ρυθμίζουν φλεγμονώδεις αντιδράσεις είτε άμεσα είτε με την ικανότητά τους να

επάγουν τη σύνθεση κυτταρικών μορίων προσκόλλησης ή άλλων κυτοκινών σε ορισμένους κυτταρικούς τύπους [136], ενώ αυξάνουν την έκκριση ιντερλευκίνης-10 [137]. Επιπλέον, μερικά φλαβονοειδή δρουν ως αναστολείς της φωσφολιπάσης [138].

Επίσης διάφορα αλκαλοειδή όπως decinine, gentianaine, demethylsonodione, καψαϊκίνη, 3-ακετυλοακονιτίνη, τετρανδρίνη, θαλικτρινίνη, εφερδοξάνη, χελιδονίνη, καψαϊκίνη, κουμαρίνες όπως η σκοπολετίνη και η δαφνετίνη, φαινόλες όπως η βεργενίνη και το καφεϊκό οξύ, , κινόνες όπως οι abruquinones και η σικονίνη, τερπενοειδή όπως τα arvenoside, λουπεόλη, βετουλίνη και ροσμαρινικό οξύ, στεροειδή όπως η β-σιτοστερόλη και η βελουτινόλη, σαπωνίνες όπως chikusetsusaponin V και fruticesaponin, γλυκοσίδες όπως ο γλυκοζίτης του ολεανολικού έχουν απομονωθεί από τα φυτά και έχει βρεθεί ότι έχουν ισχυρή αντιφλεγμονώδη και αναλγητική δράση, μελετώντας είτε την ικανότητά του να αναστέλλουν την παραγωγή μορίων που ενέχονται στη διαδικασία της φλεγμονής (π.χ. ισταμίνη) ή το οίδημα σε πόδι αρουραίου στο οποίο έχει δημιουργηθεί φλεγμονή με χρήση καραγενάνης [135,139].

Στον πίνακα 1 φαίνονται ορισμένα εκχυλίσματα φυτών της Ελλάδος τα οποία έχει βρεθεί πως εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη δράση, ενώ στην εικόνα 25 αποτυπώνονται οι κύριες ενώσεις που έχουν απομονωθεί από φυτά και στις οποίες αποδίδεται η αντιφλεγμονώδης δράση.



Εικόνα 25: Κύριες ενώσεις που έχουν απομονωθεί από φυτά και στις οποίες αποδίδεται η αντιφλεγμονώδης δράση.

Πίνακας 1: Εκχυλίσματα φυτών της Ελλάδος με αντιφλεγμονώδη δράση

Επιστημονική ονομασία	Τμήμα φυτού	Εκχύλισμα	Αναφορές
<i>Melissa officinalis</i>	Φύλλα	Αιθέρια ελαία	[140]
<i>Mentha piperita</i>	Φύλλα	Αιθέρια ελαία	[141]
<i>Rosa canina L.</i>	Καρπός	Υδροαιθανολικό	[142]
<i>Salvia fruticosa</i>	Υπέργειο τμήμα	Βουτανόλης	[143]
<i>Sideritis spp.</i>	Υπέργειο τμήμα	Υδροαιθανολικό	[144]
<i>Matricaria chamomilla compositae</i>	Άνθη	Υδροαιθανολικό	[145]
<i>Urtica dioica L.</i>	Φύλλα	Υδροαιθανολικό	[146]
<i>Symphytum officinate</i>	Ρίζα	Υδροαιθανολικό	[147]
<i>Origanum vulgare L.</i>	Υπέργειο τμήμα	Υδροαιθανολικό	[148]
<i>Avena sativa</i>	Υπέργειο τμήμα	Βουτανόλης	[149]
<i>Lavandula stoechas</i>	Υπέργειο τμήμα	Αιθέρια έλαια	[150]
<i>Calendula officinalis</i>	Άνθη	Αιθυλικής αλκοόλης	[151]
<i>Harpagophytum procumbens (Devil's Clow)</i>	Υπέργειο τμήμα	Υδροαιθανολικό	[152]
<i>Olea europaea</i>	Καρπός	Υδατικό	[153]
<i>Elaeagnus angustifolia</i>	Καρπός	Υδατικό	[154]
<i>Trigonella foenum-graecum L.</i>	Σπόρος	Πετρελαϊκού αιθέρα	[63]
<i>Paeonia mascula L.</i>	Υπέργειο τμήμα	Αιθανολικό	[155]

1.2.3 Αντιοξειδωτική δράση

Το οξειδωτικό στρες είναι ένας σημαντικός παράγοντας που διαδραματίζει καίριο ρόλο στην παθογένεση πολυάριθμων χρόνιων παθήσεων, όπως ο καρκίνος, η ισχαιμική καρδιακή νόσος, ο διαβήτης, η αθηροσκλήρωση και οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές όπως το άσθμα. Επιπλέον, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη γήρανση και τη φλεγμονή. Το οξειδωτικό στρες προκαλείται κυρίως μέσω των δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS). Από τα ROS, ιδιαίτερα σημαντικά είναι το σουπεροξειδικό ανιόν ($O_2^{\bullet-}$), η ρίζα υδροξυλίου ($OH^{\bullet}$) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), καθώς προκαλούν οξείδωση διαφόρων ενώσεων. Τα ROS μπορούν να εμφανιστούν είτε ως αποτέλεσμα “φυσιολογικών” απαραίτητων μεταβολικών διεργασιών στον ανθρώπινο οργανισμό όπως: η διαφυγή τους από τα μιτοχόνδρια, η φαγοκυττάρωση και οι διάφορες ενζυμικές αντιδράσεις, είτε ως αποτέλεσμα περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως η έκθεση σε: υπεριώδη ακτινοβολία, ακτίνες Χ, διάφορες ξеноβιοτικές ουσίες, ρυπαντές της ατμόσφαιρας, όζον, διοξείδιο του αζώτου, καπνό τσιγάρου και τοξικές ουσίες [156]. Το $O_2^{\bullet-}$ είναι αποτέλεσμα της προσθήκης ενός ηλεκτρονίου στο μόριο του οξυγόνου. Είναι γνωστό ότι πολλά βιομόρια όπως η αδρεναλίνη και η γλυκόζη, μπορούν να οξειδωθούν παρουσία οξυγόνου, παράγοντας το $O_2^{\bullet-}$. Το H_2O_2 μπορεί να παραχθεί σε οποιοδήποτε βιολογικό σύστημα παράγει υπεροξείδια. Οι $OH^{\bullet}$, αντιδρούν με εξαιρετικά υψηλή ταχύτητα με οποιοδήποτε μόριο εντός του οργανισμού και θεωρούνται ως ο τελικός “διαμεσολαβητής” των βλαβών που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες.

1.2.3.1 Επιπτώσεις οξειδωτικού στρες

Ο όρος οξειδωτικό στρες χρησιμοποιείται για να περιγράψει τις οξειδωτικές βλάβες που είναι αποτέλεσμα της ανατροπής της ισορροπίας μεταξύ αντιοξειδωτικών και οξειδωτικών ουσιών, σε βάρος των αντιοξειδωτικών. Σύντομο και έντονο οξειδωτικό στρες εμφανίζεται σε ιστούς που τραυματίστηκαν, σε περιπτώσεις λοίμωξης, θερμικής βλάβης (έγκαυμα), αυξημένης συγκέντρωσης τοξινών και παρατεταμένης, υψηλής έντασης άσκηση. Αυτοί οι τραυματισμένοι ιστοί είτε παράγουν αυξημένες ποσότητες ενζύμων που παράγουν ελεύθερες ρίζες, όπως η οξειδάση της ξανθίνης, η λιπογενάση, η

κυκλοοξυγενάση κ.α., είτε ενεργοποιούν τα φαγοκύτταρα, είτε απελευθερώνουν ιόντα σιδήρου και χαλκού. Επίσης κατά τον τραυματισμό διαταράσσεται η μεταφορά ηλεκτρονίων της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Αποτέλεσμα όλων των παραπάνω είναι να παράγεται περίσσεια ROS. Η οξειδωτική βλάβη που συμβαίνει έχει ως στόχο πολλά διαφορετικά βιομόρια, με πιο σημαντικά τα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα [157].

1.2.3.1.1 Οξειδωτική βλάβη στα λιπίδια

Η πιο συνηθισμένη, ίσως, αντίδραση οξείδωσης είναι η αυτοοξείδωση ή λιπιδική υπεροξείδωση. Με τον όρο λιπιδική υπεροξείδωση περιγράφουμε την οξειδωτική καταστροφή πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Πρόκειται για μια μη ελεγχόμενη, αυτοκαταλυόμενη διεργασία που πραγματοποιείται μέσω ROS. Προϊόντα της λιπιδικής υπεροξείδωσης είναι τα υδροϋπεροξειδία των λιπαρών οξέων και ορισμένες αλδεϋδικές ενώσεις. Λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων σε ακόρεστα λιπαρά οξέα στις κυτταρικές μεμβράνες, η λιπιδική υπεροξείδωση πραγματοποιείται κατά κύριο λόγο σε αυτές. Η διαδικασία της υπεροξείδωσης ολοκληρώνεται σε τρία στάδια. Κατά το πρώτο στάδιο (στάδιο έναρξης) η ελεύθερη ρίζα αποσπά ένα άτομο υδρογόνου από μια μεθυλο-ομάδα του λιπιδίου. Η απόσπαση του υδρογόνου ευνοείται στις μεθυλο-ομάδες που βρίσκονται δίπλα σε διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα, καθώς η ύπαρξη του δεσμού εξασθενεί τον δεσμό μεταξύ των ατόμων υδρογόνου και άνθρακα. Μετά την απόσπαση του υδρογόνου, γίνεται επαναδιευθέτηση της δομής του λιπαρού οξέος (το οποίο πλέον διατηρεί ένα ηλεκτρόνιο) και σχηματίζεται ένα συζυγές διένιο. Στο δεύτερο στάδιο (διάδοση) το συζυγές, πλέον, διένιο αντιδρά με το μοριακό οξυγόνο και δίνει υπερόξυλο ρίζες. Αυτές οι υπερόξυλο ρίζες έχουν την ικανότητα να αποσπούν άτομα υδρογόνου από γειτονικά ακόρεστα λιπαρά οξέα, συνεχίζοντας έτσι την παραγωγή υπερόξυλο ριζών. Το τρίτο στάδιο είναι το στάδιο τερματισμού στο οποίο οι ρίζες που σχηματίστηκαν στα προηγούμενα στάδια αντιδρούν μεταξύ τους δίνοντας σταθερά προϊόντα. Εξάιρεση αποτελεί η δημιουργία λιπιδικών υπεροξειδίων τα οποία είναι ασταθή και διασπώνται

παρουσία μεταλλικών ιόντων, όπως ο σίδηρος, σχηματίζοντας νέες ελεύθερες ρίζες (δευτερογενής έναρξη καταλυόμενη από μέταλλα).

Αν δεν τερματιστεί έγκαιρα η λιπιδική υπεροξείδωση, καταστρέφεται (πολλές φορές ανεπανόρθωτα) η κυτταρική μεμβράνη. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη θανάτωση των κυττάρων ή και την αιμόλυση, στην περίπτωση των ερυθροκυττάρων. Επιπλέον, τα τελικά προϊόντα της λιπιδικής υπεροξείδωσης μπορεί να έχουν μεταλλαξογόνο ή καρκινογόνο δράση [158]. Για παράδειγμα η μηλονική διαλδεϋδη (ένα σύνθετο προϊόν της λιπιδικής υπεροξείδωσης) μπορεί να αντιδράσει με δεοξαδενοσίνη και δεοξυγουανοσίνη στο DNA και να σχηματίσει προϊόντα προσθήκης στο DNA. Η λιπιδική υπεροξείδωση έχει ενοχοποιηθεί για διάφορες ασθένειες και παθολογικές καταστάσεις όπως η καρκινογένεση (που αναφέρθηκε παραπάνω), οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο νευροεκφυλισμός και η γήρανση [159].

1.2.3.1.2 Οξειδωτική βλάβη στις πρωτεΐνες

Μια ακόμα μεγάλη κατηγορία ενώσεων που καταστρέφονται από τα ROS είναι οι πρωτεΐνες. Τα ROS μπορούν να προκαλέσουν θραυσματοποίηση της πεπτιδικής αλυσίδας, να μεταβάλουν το ηλεκτρικό φορτίο των πρωτεϊνών, να προκαλέσουν διασύνδεση μεταξύ των πρωτεϊνών, καταστροφή της τριτοταγούς δομής και οξείδωση συγκεκριμένων αμινοξέων γεγονός που οδηγεί σε αυξημένη ευαισθησία και σε πρωτεόλυση από συγκεκριμένες πρωτεάσες [160]. Από τα διάφορα αμινοξέα, πιο ευαίσθητα είναι η κυστεΐνη και η μεθειονίνη. Η οξείδωση των σουλφυδριλο-ομάδων ή της μεθειονίνης οδηγεί σε μεταβολές στη διαμόρφωση των πρωτεϊνών, απώλεια της δομής και αποικοδόμησή τους. Τα ένζυμα που έχουν μέταλλα στο ενεργό κέντρο ή κοντά σε αυτό είναι πιο ευαίσθητα στην καταλυόμενη οξείδωση από μέταλλα. Σε συγκεκριμένες περιπτώσεις μπορεί να συμβεί εκλεκτική οξείδωση των πρωτεϊνών. Για παράδειγμα η μεθειονίνη οξειδώνεται σε σουλφοξειδίο μεθειονίνης, η φαινυλαλανίνη σε τυροσίνη, οι σουλφδριλο-ομάδες οξειδώνονται σε δισουλφιδικούς δεσμούς, ενώ καρβονυλικές ομάδες μπορούν να εισαχθούν στις πλευρικές αλυσίδες των πρωτεϊνών. Οι επιπτώσεις των παραπάνω μεταβολών είναι η απώλεια της λειτουργικότητας των πρωτεϊνών, οι

αλλαγές στις κυτταρικές λειτουργίες και οι αλλαγές στον τύπο των κυτταρικών πρωτεϊνών [160]. Αυτά με τη σειρά τους αλλάζουν το μεταβολικό δίκτυο των κυττάρων, οδηγώντας σε ποικίλες ασθένειες.

1.2.3.1.3 Οξειδωτική βλάβη στο DNA

Παρόλο που το DNA είναι ένα σταθερό καλά προστατευμένο μόριο, τα ROS μπορούν να αλληλεπιδράσουν με αυτό και να προκαλέσουν καταστροφές. Μεταξύ άλλων μπορεί να πραγματοποιηθεί αποδόμηση των αζωτούχων βάσεων, θραύση του μονόκλωνου ή δίκλωνου DNA, τροποποιήσεις των πουρινών ή πυριμιδινών, μεταλλάξεις, αποσιωπήσεις, μετατοπίσεις κ.α. Αυτές οι βλάβες σχετίζονται άμεσα με την καρκινογένεση, τη γήρανση, τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες, τα αυτοάνοσα νοσήματα, τις καρδιαγγειακές παθήσεις κ.α. Η πιο γνωστή βλάβη είναι η προσβολή της γουανίνης στη θέση C-8, από ρίζες υδροξυλίου, και ο σχηματισμός του οξειδωτικού προϊόντος 8-υδροξυγουανίνη (8-OHdG). Τα πρωταρχικά τμήματα των γονιδίων περιέχουν συνήθως πολλές αλληλουχίες γουανίνης-θυμίνης, καθιστώντας τα τμήματα αυτά πιο επιρρεπή στην οξείδωση από τα ROS, οδηγώντας σε προβλήματα με την έκφραση των γονιδίων. Οι ρίζες υδροξυλίου μπορούν επίσης να επιτεθούν και σε άλλες βάσεις όπως η αδενίνη για να σχηματίσουν την 8-υδροξαδενίνη.

1.2.3.2 Αντιοξειδωτικά

Όλοι οι αερόβιοι οργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων, προκειμένου να "εξουδετερώσουν" την αυτοοξείδωση/υπεροξείδωση, έχουν αναπτύξει μια σειρά μηχανισμών αντιοξειδωτικής άμυνας [160]. Τα αντιοξειδωτικά είναι φυσικές ουσίες που αναστέλλουν ή προφυλάσσουν το κύτταρο από τις οξειδωτικές ενώσεις, τα ROS και την οξείδωση. Βρίσκονται στα τρόφιμα και στα πρόσθετα (χημικά ή φυσικά) που περιέχονται σε αυτά, με συνήθη σκοπό τη συντήρησή τους. Υπάρχουν δύο τύποι αντιοξειδωτικών, τα "πρωτογενή" (διακοπή αλυσιδωτών αντιδράσεων, δέσμευση ελεύθερων ριζών) και τα "δευτερογενή". Τα "δευτερογενή" αντιοξειδωτικά περιλαμβάνουν απενεργοποίηση μετάλλων, αναστολή της μετατροπής των λιπιδίων σε ανεπιθύμητα πτητικά προϊόντα, αναγέννηση των "πρωτογενών" αντιοξειδωτικών, απλή οξυγόνωση, κ.λπ. [30].

1.2.3.2.1 Αντιοξειδωτικά και φυτά

Έως τώρα, μια πληθώρα τροφίμων έχει μελετηθεί για την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, συμπεριλαμβάνοντας φρούτα, λαχανικά, κρασί, μπαχαρικά κ.α. Ωστόσο, τα φυτά θεωρούνται η καλύτερη πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών ενώσεων, με πιο αντιπροσωπευτικό το πράσινο τσάι, το οποίο είναι ιδιαίτερα φημισμένο για τις αντιοξειδωτικές του ικανότητες. Με βάση τα παραπάνω, αρκετά φυσικά οξειδωτικά, προερχόμενα από φυτικές πηγές, χρησιμοποιούνται εμπορικά, είτε ως πρόσθετα αντιοξειδωτικά σε τρόφιμα, είτε ως συμπληρώματα διατροφής [161]. Η τόσο αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση που παρουσιάζουν τα φυτικά εκχυλίσματα οφείλεται στην πλειάδα των διαφορετικών φυτοχημικών ενώσεων που περιέχουν, οι οποίες επιτυγχάνουν ποικιλοτρόπως την αντιοξειδωτική δράση. Τέτοιες ενώσεις είναι η βιταμίνη C, το καροτένιο, η βιταμίνη E, το λυκοπένιο, η λουτεΐνη, τα καροτενοειδή, τα φαινολικά οξέα (γαλλικό, 3,4-διυδροξυβενζοϊκό, p-κουμαρικό, καφεϊκό και ροσμαρινικό), τα φαινολικά διτερπένια (καρνοσόλη, καρνοσικό οξύ, ροσμανόλη και ροσμαρινικό οξύ), τα πτητικά έλαια (ευγενόλη, καρβακρόλη, σαφρόλη, θυμόλη, μενθόλη, ευκαλυπτόλη, α-τερπινεόλη, π-κουμένιο, κινναμαλδεΐδη, μυριστικήνη, και πιπερίνη), τα флаβονοειδή (φλαβονόλες, флаβόνες, флаβανόνες, κατεχίνες, ανθοκυανιδίνες, ισοφλαβόνες), η α και γ τοκοφερόλη, το ασκορβικό οξύ, η ρεσβερατρόλη, τα στερεοϊσομερή (εσπεριτίνη, ναρινγίνη, νεοεσπεριδίνη διϋδροχαλκόνη και εσπεριδίνη) καθώς και ενώσεις που περιέχουν θείο [162]. Αυτοί οι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών όπως τα φαινολικά οξέα, οι πολυφαινόλες και τα флаβονοειδή έχει βρεθεί ότι δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες και τα ROS, διαδραματίζοντας σημαντικότατο ρόλο στην άμυνα του οργανισμού κατά των ελεύθερων ριζών [163,164]. Συνεπώς, η ανάγκη για εύρεση ολοένα και περισσότερων αντιοξειδωτικών ενώσεων, αυξάνεται συνεχώς, με αποτέλεσμα να μελετώνται όλο και περισσότερα φυτικά είδη [165]. Η ανάγκη αυτή προκύπτει επίσης από το γεγονός ότι ορισμένες αντιοξειδωτικές ενώσεις εμφανίζουν εξειδικευμένη δράση έναντι συγκεκριμένων ειδών ελευθέρων ριζών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην είναι δραστικά τα αντιοξειδωτικά αυτά έναντι άλλων ελευθέρων ριζών και να χρειαζόμαστε μια ποικιλία διαφορετικών αντιοξειδωτικών ενώσεων. Αυτή την ανάγκη μπορούν να καλύψουν τα φυτά, διότι περιέχουν πολλές διαφορετικές κατηγορίες αντιοξειδωτικών ενώσεων.

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται πολλές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων των φυτών και των φυτικών εκχυλισμάτων [166,167]. Ορισμένες μέθοδοι βασίζονται στην αναστολή της οξείδωσης ενός λιπιδίου ή μιας λιποπρωτεΐνης (η οποία επιτυγχάνεται με διάφορους τρόπους) παρουσία του υπό μελέτη παράγοντα. Άλλες μέθοδοι βασίζονται στη μέτρηση της συγκέντρωσης της αντιοξειδωτικής ένωσης ή της ελεύθερης ρίζας μετά από μια διαδικασία δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας από το αντιοξειδωτικό. Σε πολλές περιπτώσεις αναφέρεται, ότι η προστασία των κυττάρων από το οξειδωτικό στρες οφείλεται στη σιδηροδεσμευτική και όχι στην αντιοξειδωτική ικανότητα ορισμένων ενώσεων. Έτσι, ένας ακόμα, πιθανών πιο αποτελεσματικός, τρόπος προφύλαξης από τις ελεύθερες ρίζες, είναι η αποτροπή της δημιουργίας ελεύθερων ριζών στα βιολογικά συστήματα μέσω της δέσμευσης των οξειδοαναγωγικά ενεργών μεταλλικών ιόντων με ειδικές μεταλλοδεσμευτικές ενώσεις [34,168].

Παρακάτω παρατίθενται οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι μέθοδοι αξιολόγησης της αντιοξειδωτικής δράσης των φυτικών εκχυλισμάτων.

1.2.3.2.2 Μέτρηση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών (Free-radical scavenging activity)

Από τις πλέον κοινές μεθόδους είναι αυτές οι οποίες βασίζονται στην δέσμευση συνθετικών ελευθέρων ριζών σε πολικούς οργανικούς διαλύτες. Μία από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες, σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες ελεύθερες ρίζες είναι το (2,2'-diphenylpicryl hydrazyl). Πρόκειται για ένα διάλυμα με βαθύ ιώδες χρώμα το οποίο όταν αντιδρά με άλλες ρίζες, ηλεκτρόνια, ή άτομα υδρογόνου αποχρωματίζεται. Η μέθοδος του DPPH· δεν είναι εκλεκτική ως προς κάποια συγκεκριμένη κατηγορία αντιοξειδωτικών ενώσεων, αλλά χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της συνολικής αντιοξειδωτικής δράσης ενός δείγματος. Η μέθοδος βασίζεται στη μέτρηση της μείωσης της απορρόφησης στα 515 nm. Η μέτρηση της μείωσης της απορρόφησης πραγματοποιείται μετά από 15 ή 30 λεπτά και ο χρόνος που απαιτείται για να ολοκληρωθεί η δέσμευση εξαρτάται από την εξεταζόμενη ένωση [169,170].

1.2.3.2.3 Ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων (Metal chelating activity)

Η πιο κοινή μέθοδος αξιολόγησης της ικανότητας διαφόρων ενώσεων να σχηματίζουν χηλικά σύμπλοκα με ιόντα Fe^{2+} είναι αυτή των Dinis, Madeira και Almeida [40]. Στη μέθοδο αυτή προστίθεται φερροζίνη σε ένα υδατικό διάλυμα FeCl_2 , καθώς η φερροζίνη μπορεί να σχηματίσει χηλικά σύμπλοκα με τα ιόντα Fe^{2+} , τα οποία εμφανίζουν απορρόφηση στα 560 nm. Παρουσία άλλων ενώσεων που μπορούν να σχηματίσουν χηλικά σύμπλοκα, ο σχηματισμός του συμπλέγματος φερροζίνη- Fe^{2+} διαταράσσεται, οδηγώντας σε μείωση της απορρόφησης στα 560 nm. Η μέτρηση της μείωσης της απορρόφησης αποτελεί τη βάση για την εκτίμηση της ικανότητας σχηματισμού χηλικών συμπλόκων [171].

1.2.3.2.4 Αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης - Μέθοδος θειοβαρβιτουρικού οξέος (Lipid phase antioxidant activity: TBARS)

Άλλη μια μέθοδος προσδιορισμού της οξειδωτικής βλάβης είναι η ικανότητα αναστολής της λιπιδικής υπεροξειδωσης. Η χρήση της μεθόδου TBARS για τη μέτρηση της οξείδωσης στα λιπιδικά συστήματα αναπτύχθηκε το 1944 από τους Kohn και Liversedge [172]. Με τη μέθοδο αυτή προσδιορίζεται η αναστολή της οξείδωσης της φωσφατιδυλοχολίνης ή λεκιθίνης (PC). Παρά το γεγονός ότι υπάρχουν πολλές παραλλαγές της μεθοδολογίας που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, όλες οι δοκιμασίες TBARS μοιράζονται κοινά χαρακτηριστικά. Ένα λιπίδιο όπως η PC χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα για την οξείδωση. Από την οξείδωση των λιπιδίων/λιπαρών οξέων σχηματίζεται η μηλονική διαλδεΰδη, η συγκέντρωση της οποίας μπορεί να προσδιοριστεί από την αντίδρασή της με το θειοβαρβιτουρικό οξύ. Από την αντίδραση των παραπάνω ενώσεων προκύπτει έγχρωμο προϊόν με έντονη απορρόφηση στα 530 nm. Παρουσία ενώσεων που εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση αναστέλλεται η οξείδωση του υποστρώματος και η μηλονική διαλδεΰδη που παράγεται είναι μειωμένη. Συνεπώς μειώνεται και η απορρόφηση του έγχρωμου προϊόντος στα 530 nm [173].

1.2.3.2.5 Αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών

Για τον προσδιορισμό της αναστολής της οξείδωσης των πρωτεϊνών χρησιμοποιείται η αντίδραση Fenton. Ο σίδηρος προσδένεται στην πρωτεΐνη-υπόστρωμα και στη συνέχεια παράγονται ROS με προσθήκη υπεροξειδίου του υδρογόνου. Τα ROS σχηματίζουν καρβονυλικές ενώσεις στις πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων, κοντά στο ενεργό κέντρο της πρωτεΐνης. Στη συνέχεια, οι καρβονυλικές ενώσεις μετατρέπονται στις αντίστοιχες υδραζόνες με χρήση 2,4-δινιτρο-φαινυλο-υδραζίνης. Μετά από καταβύθιση των πρωτεϊνών και εκπλύσεις για την απομάκρυνση των ελεύθερων καρβονυλικών ενώσεων, οι καρβονυλικές ενώσεις που σχηματίστηκαν στην πρωτεΐνη-υπόστρωμα προσδιορίζονται φασματοφωτομετρικά με μέτρηση της απορρόφησης στα 390 nm. Παρουσία ενώσεων που εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση μειώνεται ο σχηματισμός των καρβονυλικών ενώσεων, άρα κατά συνέπεια και η απορρόφηση στα 390 nm [174].

1.2.3.2.6 Προσδιορισμός αναγωγικής ισχύος (Reducing power)

Η αναγωγική ισχύς συνδέεται γενικά με την παρουσία αναγωγικών και ο προσδιορισμός της αναγωγικής ισχύος ενός δείγματος γίνεται σύμφωνα με τη μέθοδο Ogaizu (1986). Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή του σιδηρικούανιούχου καλίου ($K_3[Fe(CN)_6]$) προς σιδηροκυανιούχο κάλιο ($K_4[Fe(CN)_6]$), σε διάλυμα το οποίο περιέχει ενώσεις με αντιοξειδωτική δράση. Το σιδηροκυανιούχο κάλιο που παράχθηκε αντιδρά στη συνέχεια με Fe^{3+} σχηματίζοντας το κυανό του Βερολίνου, ένα άλας με έντονο κυανό χρώμα. Ο σχηματισμός αυτού του άλατος επιτρέπει τη φασματοφωτομετρική πρόοδο της αντίδρασης με μέτρηση της απορρόφησης στα 700 nm, η οποία είναι ανάλογη της συνολικής αναγωγικής ισχύος του εξεταζόμενου δείγματος και υποδηλώνει την ύπαρξη αντιοξειδωτικής δράσης [175].

1.2.3.2.7 Μέτρηση της δέσμευσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου (Hydrogen peroxide scavenging assay)

Η μέτρηση της ικανότητας μιας ένωσης να δεσμεύει το υπεροξείδιο του υδρογόνου γίνεται σύμφωνα με τη μέθοδο των Ruch, Cheng και Klauning (1989). Η απορρόφηση στα 230 nm μειώνεται όσο αυξάνεται η ικανότητα δέσμευσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου [176].

1.2.4 Επουλωτική δράση

1.2.4.1 Πληγές, Χρόνιες πληγές- Επιπτώσεις

Η πληγή προκύπτει μετά από τραυματισμό των ιστών είτε εσωτερικά είτε εξωτερικά. Τα οξεία τραύματα συνήθως δεν παρουσιάζουν επιπλοκές και χαρακτηρίζονται από την απώλεια της ακεραιότητας του δέρματος (τραυματισμός) που εμφανίζεται ξαφνικά και επουλώνονται μέσα σε περιορισμένο χρονικό διάστημα. Ως χρόνια πληγή ορίζεται αυτή που έχει αποτύχει να αποκατασταθεί ανατομικά και λειτουργικά εντός 3 μηνών ή που έχει επουλωθεί χωρίς να διατηρεί την αρχική ανατομία και λειτουργία του ιστού. Οι χρόνιες πληγές ταξινομούνται σε: έλκη πίεσης, διαβητικά έλκη, φλεβικά έλκη και έλκη αρτηριακής ανεπάρκειας και είναι το αποτέλεσμα της δράσης παραγόντων που είτε διαταράσσουν την ισορροπία μεταξύ βιολογικής ροής του τραύματος και του ανοσοποιητικού συστήματος του ασθενούς είτε βλάπτουν τον κύκλο επούλωσης του τραύματος. Χαρακτηριστικά των χρόνιων πληγών είναι η καθυστερημένη επούλωση, ο εύθρυπτος κοκκιώδης ιστός, η παρατεταμένη φάση φλεγμονής, η επίμονη μόλυνση και η παρουσία ανθεκτικών μικροοργανισμών. Καθώς το σώμα μεγαλώνει αυξάνεται και η συχνότητα εμφάνισης των καρδιαγγειακών παθήσεων και του διαβήτη (που αυξάνουν τη συχνότητα χρόνιων πληγών). Δεδομένου ότι η επιδιόρθωση των πληγών επιβραδύνεται στους ηλικιωμένους, αυτοί αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου για χρόνιες πληγές. Ωστόσο η επίδραση των αλλαγών που σχετίζονται με την ηλικία στην επούλωση των πληγών δεν είναι πλήρως κατανοητές και υπάρχουν πολλά ερευνητικά ερωτήματα που πρέπει να απαντηθούν [177].

Χρόνιες πληγές σπάνια παρατηρούνται σε άτομα που κατά τα άλλα είναι υγιή. Στην πραγματικότητα, χρόνιες πληγές εμφανίζονται συνήθως σε άτομα που υποφέρουν από ασθένειες όπως ο διαβήτης και η παχυσαρκία. Ο όρος συν-νοσηρότητα αναφέρεται στη σύνδεση δύο ξεχωριστών ασθενειών στο ίδιο άτομο σε ποσοστό μεγαλύτερο από το στατιστικά αναμενόμενο (π.χ. διαβήτης-χρόνιες πληγές). Οι πληγές αντιμετωπίζονται συνήθως σε συνδυασμό με κάποια άλλη ασθένεια και οι κλινικοί

γιατροί συχνά στερούνται εξειδικευμένης κατάρτισης στη διάγνωση και θεραπεία τραυμάτων, με αποτέλεσμα να μην δίνεται αρκετή σημασία στο πρόβλημα που δημιουργούν οι χρόνιες πληγές. Κατά συνέπεια, η επούλωση των πληγών είναι ένας σημαντικός αλλά παραμελημένος τομέας. Η έλλειψη έρευνας έχει θέσει σε κίνδυνο την καινοτομία σε νέες θεραπείες και κλινικές πρακτικές. Για παράδειγμα, η επιστημονική βιβλιογραφία επισημαίνει την έλλειψη γνώσης σχετικά με τις βιολογικές διεργασίες που σχετίζονται με την επούλωση πληγών και περιορισμένα είναι τα στοιχεία για αποτελεσματικές οδούς κλινικής περίθαλψης και θεραπειών πρόληψης και επούλωσης [177–179].

Έρευνες έχουν δείξει ότι στις Ηνωμένες Πολιτείες, οι χρόνιες πληγές επηρεάζουν περίπου 6,5 εκατομμύρια ασθενείς, ενώ 25 δισεκατομμύρια δολάρια δαπανώνται ετησίως για τη θεραπεία τους. Λόγω του αυξημένου κόστους της υγειονομικής περίθαλψης, του αυξημένου προσδόκιμου ζωής, της απότομης αύξησης της συχνότητας εμφάνισης του διαβήτη και της παχυσαρκίας παγκοσμίως, το κόστος για τη θεραπεία χρόνιων πληγών αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς. Υπάρχουν πολυάριθμοι παράγοντες που οδηγούν σε καθυστέρηση της επούλωσης των πληγών, όπως μολυσματικοί μικροοργανισμοί, διατροφική ανεπάρκεια, διακοπτόμενη παροχή αίματος και ακατάλληλη κίνηση των διαταραγμένων τμημάτων του σώματος. Η παρουσία χρόνιων πληγών, όπως τα διαβητικά ή ισχαιμικά έλκη, οδηγεί σε μειωμένη ποιότητα ζωής και αποτελεί μεγάλη πρόκληση ιδίως για τους χειρουργούς, αλλά και τους γιατρούς εν γένει, ιδιαίτερα σε παθολογικές και μη θεραπευτικές συνθήκες. Πέρα από τα προβλήματα υγείας που προκαλούν οι ανοιχτές πληγές, όπως είναι οι μολύνσεις, προκαλούν σωματική και ψυχολογική καταπόνηση στους ασθενείς, δημιουργώντας τεράστια κοινωνικο-οικονομικά προβλήματα. Οι τεράστιες οικονομικές και κοινωνικές επιπτώσεις των χρόνιων πληγών στην κοινωνία μας απαιτούν την κατανομή υψηλότερου επιπέδου προσοχής και πόρων για την κατανόηση των βιολογικών μηχανισμών που ευθύνονται για τη δημιουργία τους [178].

1.2.4.2 Στάδια επούλωσης πληγών

Το δέρμα, ένας εξωτερικός μη ειδικός μηχανισμός άμυνας, αποτελεί τον πρώτο φραγμό του οργανισμού έναντι παθογόνων μικροοργανισμών. Επιπλέον, διαθέτει ιδιότητες απαραίτητες για την επιβίωση και ευζωία του οργανισμού. Είναι σύνηθες φαινόμενο, να διαρρηγνύεται η ακεραιότητα του δερματικού ιστού για διάφορους λόγους, όπως η πρόκληση ατυχημάτων, τα οποία υπερβαίνουν τη φυσική αντοχή του ιστού, οι χειρουργικές επεμβάσεις κ.α. Μόλις γίνει διάρρηξη του ιστού ξεκινάει η διαδικασία επούλωσης του τραύματος (wound healing). Η επούλωση διεξάγεται μέσω τεσσάρων, καλά οργανωμένων σταδίων:

- Αιμοστατική φάση. Η αιμόσταση είναι η διαδικασία κατά την οποία το τραύμα κλείνει με θρόμβωση του αίματος. Η φάση αυτή ξεκινάει με τη διαρροή του αίματος έξω από το σώμα, όπου τα αιμοφόρα αγγεία συστέλλονται για να περιορίσουν τη ροή του αίματος. Στη συνέχεια τα αιμοπετάλια συγκολλούνται προκειμένου να σφραγίσουν τα διαρρηγμένα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων. Τέλος γίνεται πήξη του αίματος και ενισχύεται το τοίχωμα των αιμοπεταλίων. Η διάρκεια της αιμοστατικής φάσης είναι πολύ μικρή, καθώς οι προαναφερθείσες διαδικασίες συμβαίνουν πολύ γρήγορα (ενδεικτικά αναφέρεται ότι τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στην επιφάνεια των αιμοφόρων αγγείων μέσα σε μερικά δευτερόλεπτα από τη ρήξη του επιθηλιακού τοιχώματος του αιμοφόρου αγγείου και η ενίσχυση του σχηματιζόμενου τοιχώματος αιμοπεταλίων ξεκινάει 60 δευτερόλεπτα αργότερα).

- Φλεγμονώδης φάση. Η φλεγμονή είναι το δεύτερο στάδιο της επούλωσης του τραύματος και αρχίζει αμέσως μετά τον τραυματισμό, προκαλώντας τοπικό οίδημα. Η φλεγμονή ελέγχει την αιμορραγία και προλαμβάνει τη μόλυνση του τραύματος. Τα λευκά αιμοσφαίρια, οι αυξητικοί παράγοντες, τα θρεπτικά συστατικά και τα ένζυμα που συσσωρεύονται στο τραύμα, στη φάση αυτή, προκαλούν πρήξιμο, αύξηση της θερμοκρασίας της προσβληθείσας περιοχής, πόνο και ερυθρότητα.

•Πολλαπλασιαστική φάση. Κατά την πολλαπλασιαστική φάση της επούλωσης του τραύματος, το τραύμα ανοικοδομείται με νέο ιστό που αποτελείται από κολλαγόνο και εξωκυτταρικά συστατικά. Η αύξηση των επιδερμικών κυττάρων και των ινοβλαστών διεγείρεται από αυξητικούς παράγοντες που απελευθερώνονται από τα μακροφάγα και άλλα κύτταρα. Επιπλέον, ένα νέο δίκτυο αιμοφόρων αγγείων κατασκευάζεται προκειμένου ο νέος ιστός να είναι υγιής και να λαμβάνει επαρκές οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά. Οι μυοϊνοβλάστες συστέλλουν την πληγή συγκρατώντας τα άκρα του τραύματος και τραβώντας τα μαζί χρησιμοποιώντας ένα μηχανισμό παρόμοιο με αυτόν των κυττάρων των λείων μυών. Στην τελική φάση του πολλαπλασιαστικού σταδίου επούλωσης του τραύματος, επανεμφανίζονται τα επιθηλιακά κύτταρα.

•Αναδιαμόρφωση. Κατά το στάδιο αυτό γίνεται αναδιαμόρφωση του τραύματος. Ο πολλαπλασιασμός των ινοβλαστών και η εκβλάστηση των πρόσφατων τριχοειδών, παράγουν τον νέο πλούσιο σε κολλαγόνο κοκκιώδη ιστό. Το κολλαγόνο και οι ινοβλάστες είναι αρκετά περισσότεροι και η περιοχή του δέρματος είναι πιο αποδιοργανωμένη (ουλώδης ιστός). Τα κύτταρα που είχαν χρησιμοποιηθεί για την επιδιόρθωση του τραύματος, δεν είναι πλέον απαραίτητα και απομακρύνονται με απόπτωση. Το κολλαγόνο που τοποθετήθηκε κατά τη διάρκεια της πολλαπλασιαστικής φάσης, ευθυγραμμίζεται και επαναρροφάται νερό προκειμένου οι ίνες κολλαγόνου να βρίσκονται πιο κοντά μεταξύ τους και να σχηματίζουν σταυροειδείς δεσμούς (cross-linking). Η διασταυρούμενη σύνδεση του κολλαγόνου μειώνει το πάχος της ουλής και επίσης καθιστά την περιοχή του τραύματος ισχυρότερη. Γενικά, η αναδιαμόρφωση αρχίζει περίπου 14 ημέρες μετά από τραυματισμό και μπορεί να συνεχιστεί για ένα ή περισσότερα χρόνια.

Τα στάδια επούλωσης του τραύματος είναι αρκετά περίπλοκα, καθώς μια πλειάδα διαδικασιών συμβαίνει. Είναι εύκολα αντιληπτό ότι η διαδικασία αυτή είναι ιδιαίτερα «εύθραυστη», γεγονός που σημαίνει ότι η αποτυχία της φυσιολογικής προόδου των τεσσάρων, προαναφερθέντων, σταδίων οδηγεί σε χρόνια τραύματα. Τα χρόνια τραύματα παραμένουν σε μία ή περισσότερες από τις φάσεις επούλωσης, με αποτέλεσμα αυτή να διαρκεί από τρεις μήνες έως χρόνια. Αυτά τα τραύματα προκαλούν στους ασθενείς

σοβαρή συναισθηματική και σωματική πίεση και δημιουργούν σημαντικό οικονομικό βάρος στους ασθενείς και στο σύνολο του συστήματος υγειονομικής περίθαλψης. Επιπλέον, καθώς το δέρμα παραμένει διαρρηγμένο, είναι ευάλωτο σε μολύνσεις από μικροοργανισμούς, οι οποίες με τη σειρά τους δημιουργούν ποικίλα προβλήματα υγείας [180–182].

1.2.4.3 Ο δερματικός ιστός

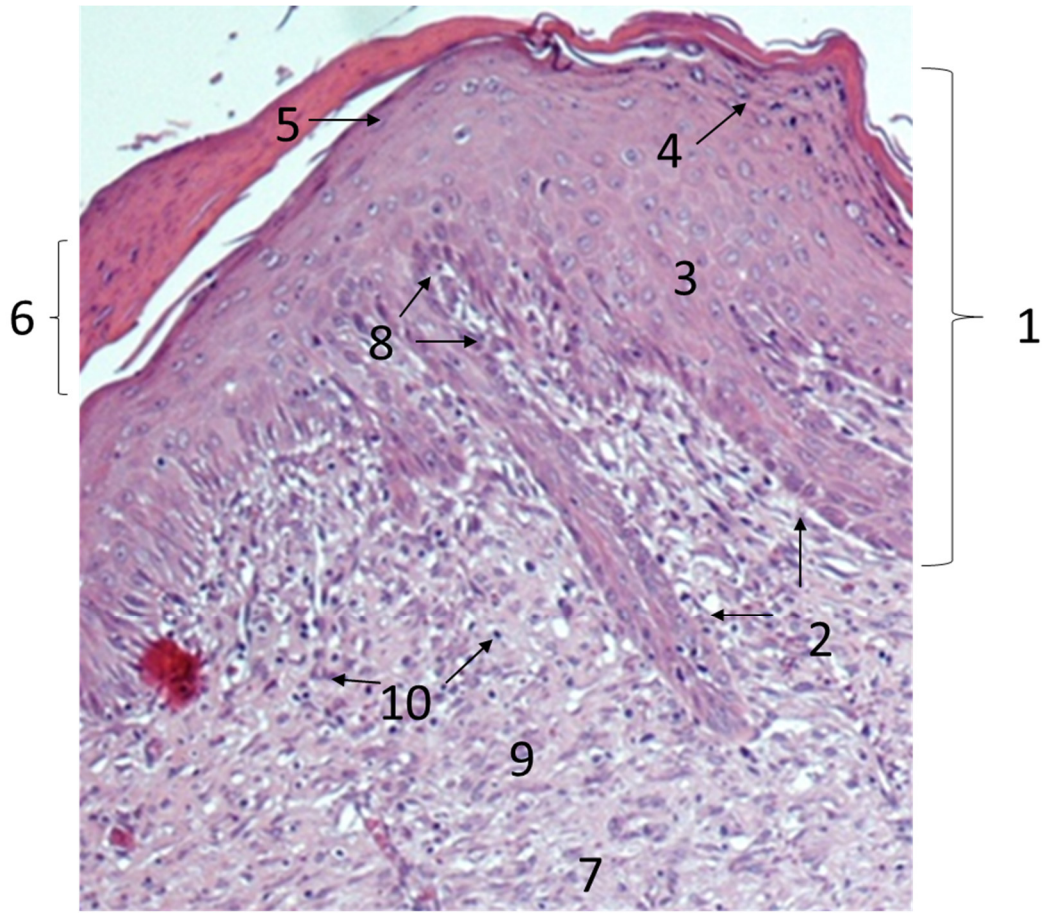
Το δέρμα αποτελείται από τρεις κυρίες στιβάδες: την επιδερμίδα η οποία βρίσκεται στην επιφάνεια του δέρματος (επιφανειακή στιβάδα) και έχει άμεση επαφή με το εξωτερικό περιβάλλον, το χόριο (μεσαία στιβάδα) που αποτελείται από κολλαγόνο, ινοβλάστες, αγγεία και νεύρα και την υποδερμίδα (βαθύτερη στιβάδα) που αποτελείται κυρίως από λιπώδη ιστό.

Η επιδερμίδα αποτελείται από πέντε στιβάδες, τη βασική, την ακανθωτή, την κοκκιώδη στιβάδα, τη διαυγή και την κεράτινη στιβάδα. Στη βασική στιβάδα βρίσκεται όλος ο αριθμός των κερατινοκυττάρων, τα οποία διαιρούνται και αντικαθιστούν τα κύτταρα που χάνονται στην επιφάνεια του δέρματος με την απολέπιση εντός 30 ημερών. Τα βασικά κύτταρα έχουν κυτταρόπλασμα πλούσιο σε ριβοσώματα και μιτοχόνδρια ενώ περιέχουν και τονοϊνίδια μελανίνης και λυσοσώματα. Άλλοι τύποι κυττάρων της βασικής στιβάδας είναι τα μελανινοκύτταρα τα οποία είναι υπεύθυνα για τον χρωματισμό του δέρματος και τα κύτταρα Merkel τα οποία χρησιμεύουν ως αισθητικοί υποδοχείς και εξ αιτίας της δομής τους (περιέχουν εκκριτικά κοκκία) θεωρείται ότι ανήκουν στο διάχυτο νευροενδοκρινικό σύστημα. Στην ακανθωτή στιβάδα βρίσκονται τα ακανθωτά κύτταρα, τα οποία περιέχουν τονοϊνίδια που προσδίδουν σημαντική σταθερότητα και αντοχή στην επιδερμίδα, εξαιτίας των κυτταρικών γεφυρών μέσω των οποίων συνδέονται. Σε αυτή τη στιβάδα βρίσκονται επίσης τα κύτταρα Langerhans που είναι υπεύθυνα για τη μεταφορά-παρουσίαση περιφερειακών αντιγόνων και τη διέγερση των λεμφοκυττάρων σε διάφορες αλλεργικές και φλεγμονώδεις καταστάσεις. Την κοκκιώδη στιβάδα αποτελούν τα κοκκιώδη κύτταρα τα οποία περιέχουν κοκκία κερατοϋαλίνης των οποίων ο αριθμός αυξάνει προς τις ανώτερες στιβάδες της καθώς και άφθονα τονοϊνίδια. Η

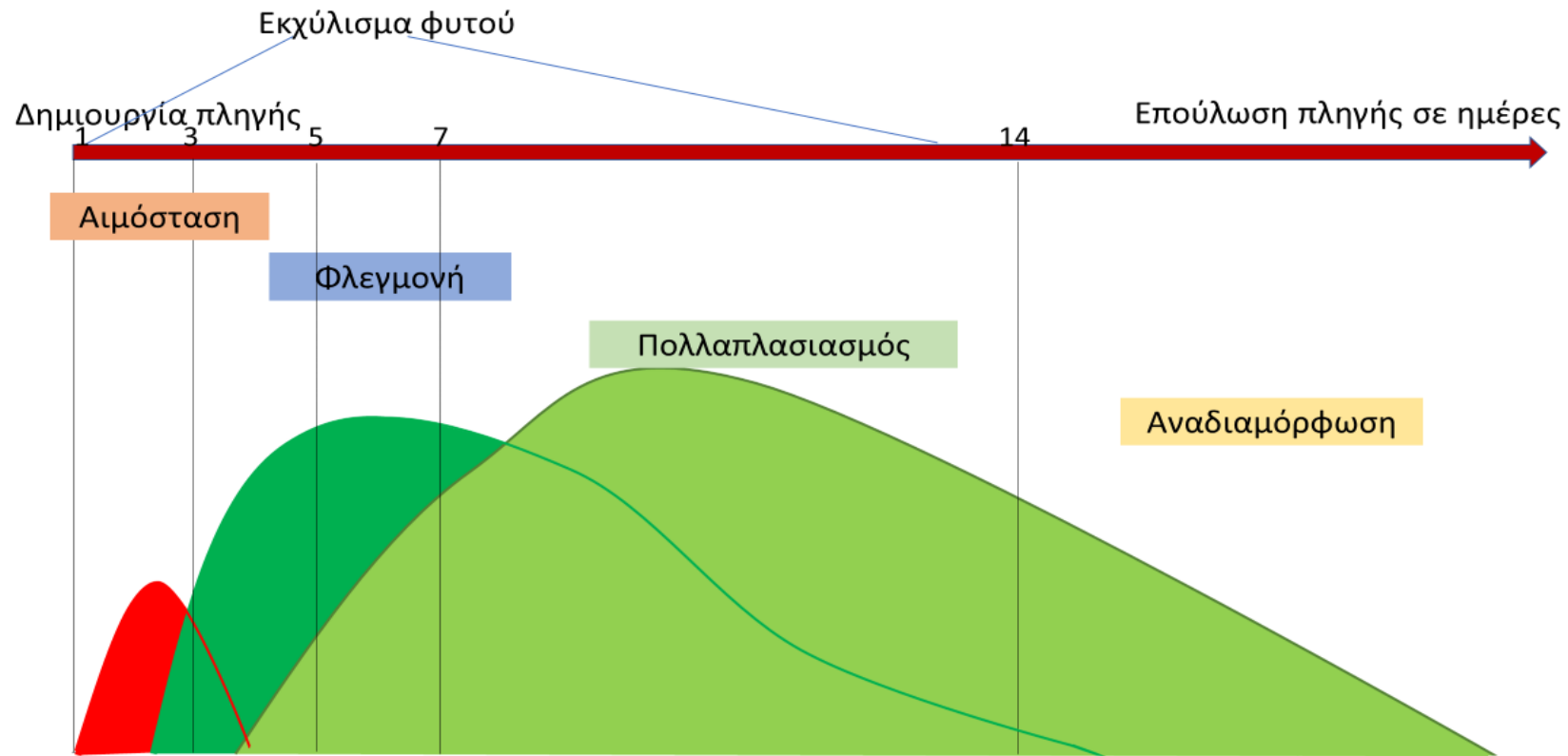
διαυγής στιβάδα αποτελείται από πεπλατυσμένα κύτταρα χωρίς κοκκία, παρεμβάλλεται μεταξύ της κοκκώδους και της κεράτινης στιβάδας και έχει μεγαλύτερο πάχος στις παλάμες και στα πέλματα. Η κεράτινη στιβάδα αποτελείται από αποπεπλατυσμένα απύρρηνα κύτταρα χωρίς κυτταροπλασματικά οργανίδια που περιέχουν ορισμένες μορφές κεράτινης ουσίας, η οποία προσφέρει ελαστικότητα, μηχανική αντοχή και ανθεκτικότητα στις χημικές αντιδράσεις του περιβάλλοντος. Τα κύτταρα αυτά αποπύπτουν φυσιολογικά εξαιτίας της φθοράς τους από πιέσεις στην επιφάνεια του δέρματος και την τριβή.

Το χόριο αποτελείται από τη θεμέλια ουσία μέσα στην οποία βρίσκονται οι ίνες, τα αγγεία, τα νεύρα και τα κύτταρα του χορίου. Οι ίνες του χορίου αποτελούνται στο μεγαλύτερο ποσοστό τους από κολλαγόνες ίνες οι οποίες συμβάλουν στην ελαστικότητα και την αντοχή του δέρματος. Τα αγγεία και λεμφαγγεία του χορίου δημιουργούν αγγειακά πλέγματα δύο επιπέδων, το επιπολής αγγειακό πλέγμα και το εν τω βάθει αγγειακό πλέγμα με σπουδαίο ρόλο στη θερμορύθμιση. Η νεύρωση του δέρματος γίνεται μέσω του αυτόνομου νευρικού συστήματος και των αισθητήριων νευρικών ινών, οι οποίες είναι ελεύθερες στο χόριο και την επιδερμίδα και είναι υπεύθυνες για το αίσθημα του πόνου. Οι ίνες που βρίσκονται γύρω από τριχοθυλάκους είναι υπεύθυνες για το αίσθημα της αφής και αυτές που καταλήγουν σε εξειδικευμένα τελικά σωμάτια είναι υπεύθυνες για το αίσθημα αφής, πίεσης, ψύχους, θερμότητας. Κύτταρα του χορίου αποτελούν οι ινοβλάστες, τα μακροφάγα και τα μαστοκύτταρα.

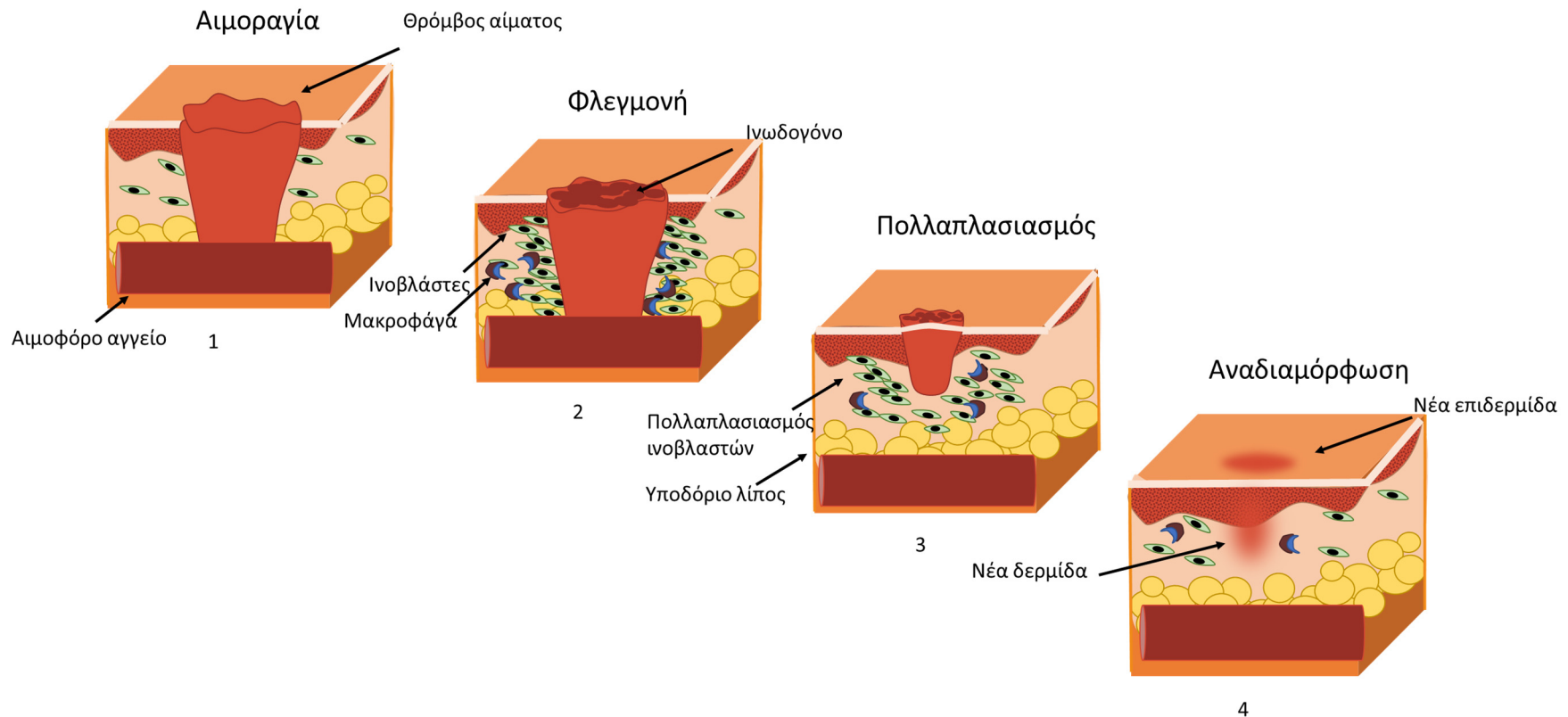
Το υπόδερμα αποτελείται από κύτταρα που έχουν διαφοροποιηθεί έτσι ώστε να μπορούν να αποθηκεύουν λίπος και να προστατεύουν τον ανθρώπινο οργανισμό από τραυματισμούς και ψύχος, ενώ ταυτόχρονα αποτελεί αποθήκη ενέργειας.



Εικόνα 26: Εγκάρσια τομή τμήματος δέρματος επίμυου. Χρώση με ΑΕ 1: επιδερμίδα, 2: βασική στιβάδα, 3: ακανθωτή στιβάδα, 4: κοκώδης στιβάδα, 5: διαυγής στιβάδα, 6: κεράτινη στιβάδα, 7: χόριο, 8: κερατινοκύτταρα, 9: ίνες κολλαγόνου, 10: ινοβλάστες.



Εικόνα 27: Η διαδικασία επούλωσης πληγών περιλαμβάνει αλληλεπικαλυπτόμενα στάδια που ποικίλουν σε διάρκεια, εξαρτώμενη από το μέγεθος της πληγής. Έτσι η αιμόσταση διαρκεί από μια έως τέσσερις ημέρες. Η φλεγμονή διαρκεί από την δεύτερη έως και την 14η ημέρα. Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων (κερατινοκύτταρα, ινοβλάστες) από τη τέταρτη έως και τη τελευταία ημέρα στην οποία η πληγή επουλώνεται πλήρως, ενώ το στάδιο της αναδιαμόρφωσης είναι το τελευταίο στάδιο της επούλωσης των πληγών.



Εικόνα 28: Η διαδικασία επούλωσης πληγών απεικονίζεται εδώ σχηματικά. Αρχικά τα κομμένα αιμοφόρα αγγεία αιμορραγούν μέσα στο τραύμα (1). Στην περιοχή του τραύματος εισέρχονται ουδετερόφιλα και μακροφάγα (φλεγμονή) και δημιουργείται θρόμβος αίματος (2). Υπό την επίδραση των κυτοκινών που απελευθερώνονται εν μέρει από τα μακροφάγα οι ινοβλάστες πολλαπλασιάζονται και παράγουν κολλαγόνο, ενώ τα επιθηλιακά κύτταρα μεταναστεύουν από τις άκρες του τραύματος κάτω και ενδιάμεσα από τον θρόμβο του αίματος (3). Η επιδερμίδα επανεγκαθιδρύει βαθμιαία τη συνοχή στην περιοχή του τραύματος (4).

1.2.4.4 Φαρμακευτικά φυτά και επουλωτική δράση

Προκειμένου να αντιμετωπιστούν οι χρόνιες πληγές και η διαδικασία της επούλωσης να συνεχίσει, πρέπει να αντιμετωπιστεί ο παράγοντας που αναστέλλει τη φάση στην οποία εντοπίζεται το πρόβλημα (π.χ. μικροβιακό φορτίο, νεκρωτικός ιστός, έλλειψη υγρασίας). Η αντιμετώπιση είναι συνήθως δαπανηρή και χρονοβόρα. Προκειμένου να μη χρειαστεί να αντιμετωπιστούν τέτοιοι παράγοντες, είναι σαφώς προτιμητέα, αν όχι επιτακτική ανάγκη, η πρόληψη δημιουργίας χρόνιων πληγών. Η πρόληψη μπορεί να επιτευχθεί με το να υποβοηθηθεί η διαδικασία της επούλωσης σε διάφορα στάδια, προκειμένου να ολοκληρωθεί στο ελάχιστο δυνατό χρονικό διάστημα. Για το σκοπό αυτό εξετάζονται διάφορες ενώσεις, οι οποίες έχουν αντιμικροβιακή ή αντιοξειδωτική δράση ή έχουν την ικανότητα να αυξάνουν τον ρυθμό του πολλαπλασιασμού ή/και της μετανάστευσης των κυττάρων. Το ενδιαφέρον αρκετών επιστημόνων έχει εστιαστεί στη χρήση αυξητικών παραγόντων όπως ο παράγοντας επιδερμικής ανάπτυξης (epidermal growth factor-EGF) και ο αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού (transforming growth factor-TGF). Ωστόσο, η χρήση αυξητικών παραγόντων συνοδεύεται από αρκετούς περιορισμούς, όπως ο βραχύς χρόνος ημιζωής, το υψηλό κόστος παρασκευής τους και η δυσκολία της στοχευμένης χορήγησής τους. Πηγές ενώσεων με παρόμοιες δράσεις αποτελούν τα φαρμακευτικά φυτά [183,184].

Στη παραδοσιακή ιατρική, τα φαρμακευτικά φυτά έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς για την επούλωση πληγών. Έχουν διεξαχθεί αρκετές επιστημονικές μελέτες με σκοπό την ανεύρεση τέτοιων φυτών/φυτικών εκχυλισμάτων και του μηχανισμού δράσης τους στην επούλωση των πληγών. Ένα φυτό ή φυτικό εκχύλισμα έχει ιδιότητες επούλωσης όταν επηρεάζει τουλάχιστον μια από τις τέσσερις προαναφερθείσες φάσεις. Στις περισσότερες περιπτώσεις η ικανότητα των φυτών αποδίδεται στις αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδης και αντιβακτηριακές του ιδιότητες, ενώ οι αναφορές φυτών με ιδιότητες επούλωσης πληγών που δεν αποδίδονται στις παραπάνω ιδιότητες, είναι περιορισμένες [185]. Έτσι τα τελευταία χρόνια οι ερευνητές έχουν στραφεί στην ανακάλυψη φυτοχημικών ενώσεων με ικανότητα επούλωσης πληγών μέσω της επίδρασής τους στον μεταβολισμό

των ινοβλαστών και των κερατινοκυττάρων. Από τις έρευνες που έχουν διεξαχθεί έχουν προκύψει ορισμένες ενώσεις που ανήκουν σε τέσσερις κατηγορίες ενώσεων, αλκαλοειδή, флаβονοειδή, τερπενοειδή και γλυκοσίδες.

Τα αλκαλοειδή songorine, napelline and hyraconitine βρέθηκε ότι διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό προδρόμων ινοβλαστών και την παραγωγή αυξητικών παραγόντων από τα στρωματικά κύτταρα του δέρματος [186]. Ένα άλλο αλκαλοειδές, το taspine που βρίσκεται σε διάφορα φυτά, συμπεριλαμβανομένων των *Magnolia* της ελληνικής υπαίθρου, βοηθά την επούλωση των πληγών αυξάνοντας την παραγωγή του TGF-β και του EGF σε ινοβλάστες [187].

Το флаβονοειδές Vicenin-2 ενισχύει τον πολλαπλασιασμό και τη βιωσιμότητα των ανθρώπινων κυττάρων ινοβλαστών *in vitro* [188], ενώ η 4',6,7-τριμεθοξυϊσοφλαβόνη επιταχύνει την επούλωση των πληγών προωθώντας τη μετανάστευση μέσω της επαγωγής των NADPH οξειδασών (NOXs) των κερατινοκυττάρων, αλλά όχι τον πολλαπλασιασμό τους [189]. Η κερσετίνη είναι επίσης αποτελεσματική στην επούλωση των πληγών αυξάνοντας την παραγωγή κολλαγόνου και φιβρονεκτίνης. Επίσης βοηθά στην αποκατάσταση της βλάβης των νευρικών ιστών στους ιστούς των νεύρων και μειώνει την ίνωση με αποτέλεσμα την καλύτερη αναδιαμόρφωση του τραύματος [190]. Επιπροσθέτως μείγμα флаβονοειδών με βάση την κερσετίνη(quercetin-3-O-[(6-caffeoyl)-β-glucopyranosyl (1 → 3) α-rhamnopyranoside]-7-O-α-rhamnopyranoside, kaempferol-3-O-[(6-caffeoyl)-β-glucopyranosyl (1 → 3) α-rhamnopyranoside]-7-O-α-rhamnopyranoside and quercetin-3-Omethyl) βρέθηκε ότι επιταχύνουν τη μετανάστευση των κερατινοκυττάρων μέσω του εξαρτώμενου από ασβέστιο μονοπατιού της ERK1 / 2 MAP κινάσης [191].

Η *Gentiana lutea* L. περιέχει διάφορα τερπένια συμπεριλαμβανομένης της gentiomicroside, της sweroside και της swertiamarine που συμβάλλουν συνεργιστικά στην επούλωση των πληγών διεγείροντας την παραγωγή κολλαγόνου και τη μιτωτική δραστηριότητα των εμβρυϊκών ινοβλαστών [192]. Η ασιατικοσίδα είναι ένα τριτερπένιο το οποίο βρέθηκε ότι προήγαγε την αγγειογένεση, το σχηματισμό κολλαγόνου καθώς και την αναδιαμόρφωσή του [193]. Η θυμόλη επηρεάζει το μεταβολισμό των ινοβλαστών και αυξάνει τη σύνθεση κολλαγόνου. Μερικά πιο σύνθετα τερπενοειδή όπως τα

6beta-(3'-methoxy-4'-hydroxybenzoyl)-lup-20(29)-ene-one και 6beta-(3'-methoxy-4'-hydroxybenzoyl)-lup-20(29)-ene-ol διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών [194].

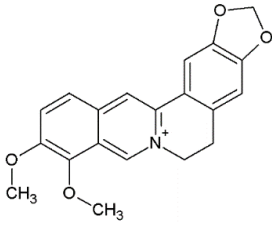
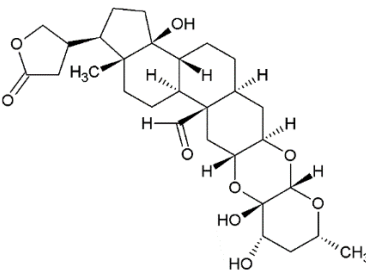
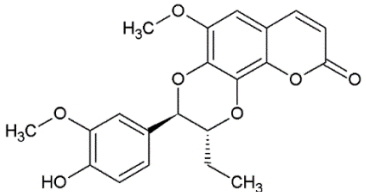
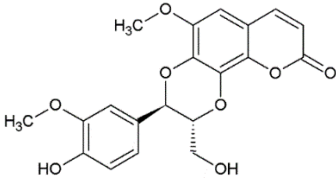
Η κουρκουμίνη εμπλέκεται στην απόθεση του κολλαγόνου, την αναδιαμόρφωση του ιστού, τον αυξημένο πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και την αγγειογένεση [195]. Το γαλλικό οξύ επιταχύνει τη μετανάστευση των κερατινοκυττάρων και των ινοβλαστών τόσο σε φυσιολογικά όσο και σε διαβητικά μοντέλα ενεργοποιώντας παράγοντες που ευθύνονται για την επούλωση πληγών, όπως το c-Jun N-τερματικές κινάσες (JNK), κινάσες εστιακής προσκόλλησης (FAK), και οι εξωκυτταρικές κινάσες που ρυθμίζονται από το σήμα (Erk) [196]. Το τριτεπένιο ελεανολικό οξύ επηρέασε τη μεταναστευτική δραστηριότητα των NIH / 3T3 ινοβλαστών και των κερατινοκυττάρων [197], ενώ η τετραϋδροκανναβινόλη προωθεί την επούλωση των πληγών χωρίς όμως να είναι γνωστός ο μηχανισμός μέσω του οποίου επιτελείται αυτή η δράση [198].

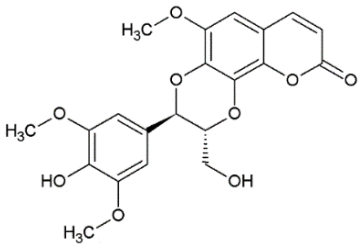
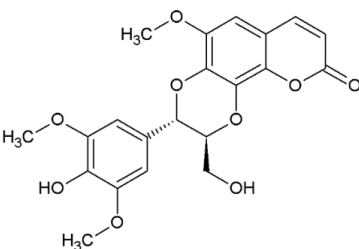
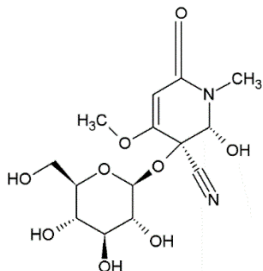
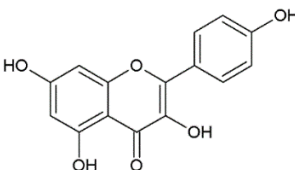
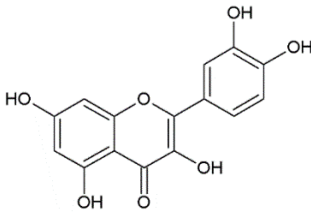
Μείγμα 11 γλυκοζιτών σαπωνίνης από το *Panax ginseng* προώθησαν την επούλωση των τραυμάτων του δέρματος σε ζωικά μοντέλα, ενισχύοντας τη σύνθεση κολλαγόνου σε ινοβλάστες μέσω φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης Smad 2 και ανέστειλαν τις φλεγμονώδεις διεργασίες. Δύο στεροειδής γλυκοζίτες από *Lilium longiflorum* Thunmb ((22R,25R)-spirosol-5-en-3β-yl-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1-2)-β-D-glucopyranosyl-(1-4)-β-D-glucopyranoside, και (22R,25R)-spirosol-5-en-3β-yl-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1-2)-[6-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl-(1-4)]-β-D-glucopyranoside) τα οποία έχουν παρόμοια χημική δομή αυξάνουν την μετανάστευση των ινοβλαστών και την παραγωγή του υποδοχέα του TGF-β σε επίπεδο mRNA [199]. Οι φαινυλοπροπανοειδής γλυκοζίτες, όπως Verbascoside είναι ικανοί να ενισχύουν την παραγωγή αυξητικού παράγοντα ηπατοκυττάρων στους ινοβλάστες. Οι ιδιότητες επούλωσης αυτής της ένωσης συνδέονται με τη χημική της φύση επιβεβαιώνοντας την ισχυρή συγγένειά του για αρνητικά φορτισμένες μεμβράνες που αποτελούνται από φωσφατιδυλογλυκερόλη [200]. Οι J. Kim et al. σε ένα ερευνητικό άρθρο διερεύνησαν την επίδραση της φυτικής λιγνίνης tracheloside, επί του πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης των κερατινοκυττάρων. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι η παραπάνω ένωση επιταχύνει το ρυθμό πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης των κερατινοκυττάρων μέσω της ρύθμισης της φωσφορυλίωσης ERK1 / 2 [201].

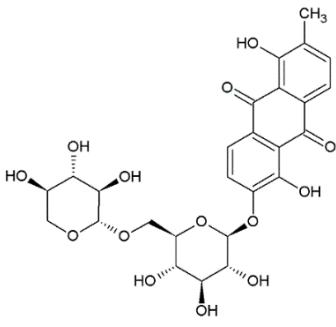
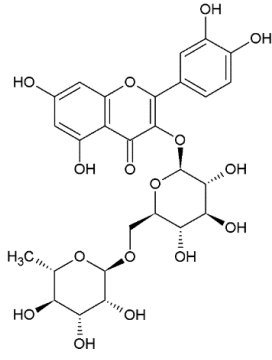
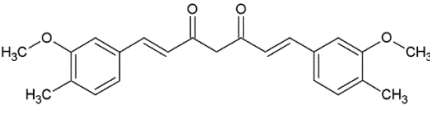
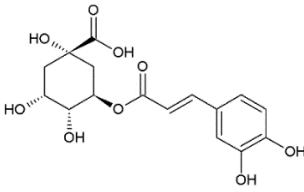
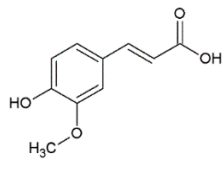
Πίνακας 2: Εκχυλίσματα φυτών της Ελλάδος με επουλωτική δράση

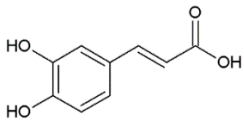
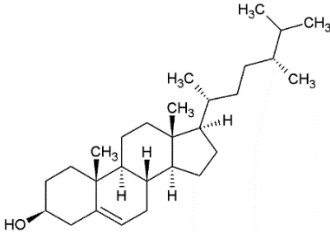
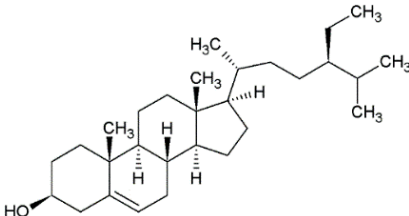
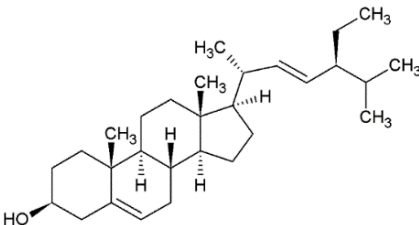
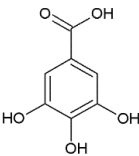
Επιστημονική ονομασία	Τμήμα φυτού	Εκχύλισμα	Αναφορές
<i>Radix paeoniae</i>	Ρίζα	Υδατικό	[202]
<i>Trigonella foenum - graecum</i>	Σπόροι	Υδροαιθανολικό	[203]
<i>Hypericum perforatum L.</i>	Υπέργειο τμήμα	Έλαιο	[204]
<i>Plantago lanceolata L</i>	Άνθη	Υδατικό	[205]
<i>Achillea millefoilum L. (Yarrow)</i>	Φύλλα	Υδροαιθανολικό	[206]
<i>Matricaria chamomilla L</i>	Άνθη	Έλαιο	[207]
<i>Calendula offlcinalis</i>	Άνθη	Αιθανολικό	[208]
<i>Arnica montana</i>	Υπέργειο τμήμα	Υδροαιθανολικο	[209]
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Ρίζα	Υδροαιθανολικο	[210]
<i>Silybum marianum</i>	Φύλλα και ρίζα	Υδατικό	[211]
<i>Equisetum arvense</i>	Φύλλα	Υδατικό	[212]
<i>Hypericum perforatum</i>	Άνθη	Έλαιο	[213]
<i>Symphytum officinale</i>	Ρίζα	Υδροαιθανολικό	[214]
<i>Althaea officinalis</i>	Άνθη	Υδατικό	[215]

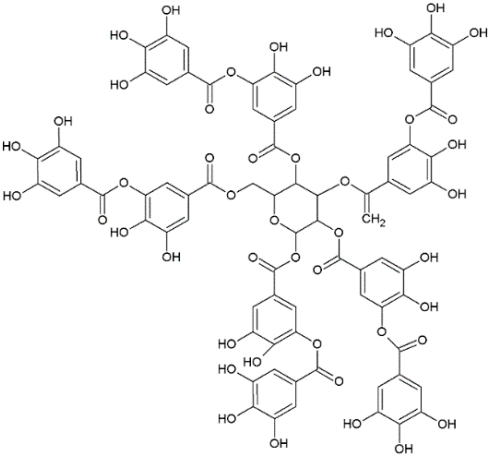
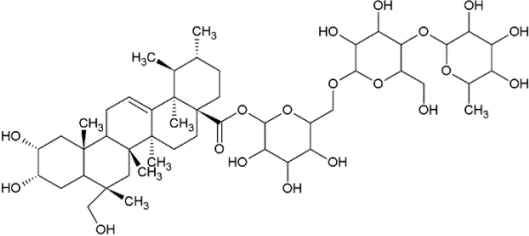
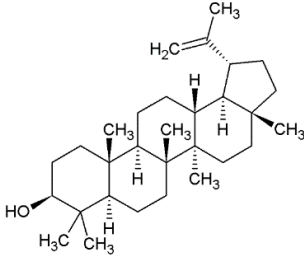
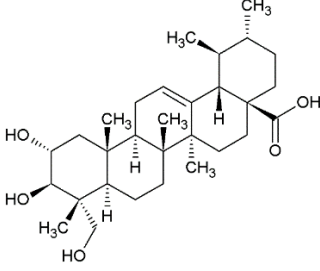
Πίνακας 3: Φυτοχημικές ενώσεις που έχουν απομονωθεί από φυτά με ιδιότητες επούλωσης πληγών [216]

Οικογένεια ενώσεων	Ενώσεις
Αλκαλοειδή	Βερβερίνη 
Καρδενολοειδή	Καλοτροπίνη 
Κουμαρίνες	Κλεομισκοσίνη Α  Κλεομισκοσίνη Β 

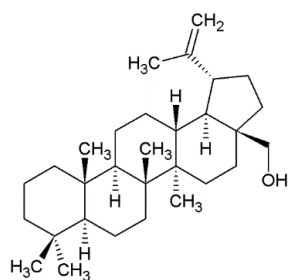
	Κλεομισκοσίνη C  Κλεομισκοσίνη D 
Κυανογενείς γλυκοζίτες	Ακαλυφύνη 
Φλαβονοειδή	Καμφερόλη  Κερσετίνη 

Γλυκοζίτες	Μορινδίνη  Ρουτίνη 
Πολυφαινόλες	Κουρκουμίνη  Χλωρογενικό οξύ  Φερουλικό οξύ 

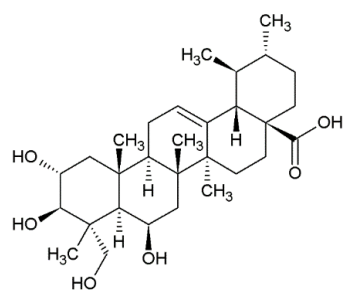
	Καφεϊκό οξύ 
Στερόλες	Καμπεστερόλη 
	β-σιτοστερόλη 
	Στιγμαστερόλη 
	Γαλλικό οξύ 
Τανίνες	

	Ταννικό οξύ 
Τερπενοειδή	Ασιατικοζίδιο 
	Λουπεόλη 
	Ασιατικό οξύ 

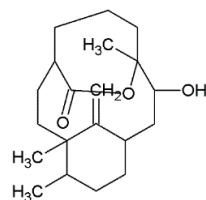
Γιασμινόλη



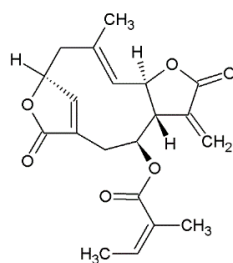
Μαντεκασικό οξύ



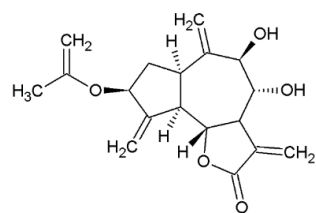
Κλεομεολίδη



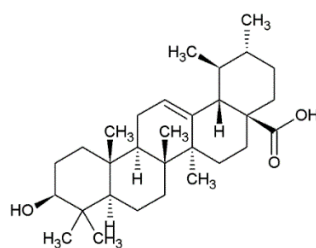
Σκαρβετοπίνη

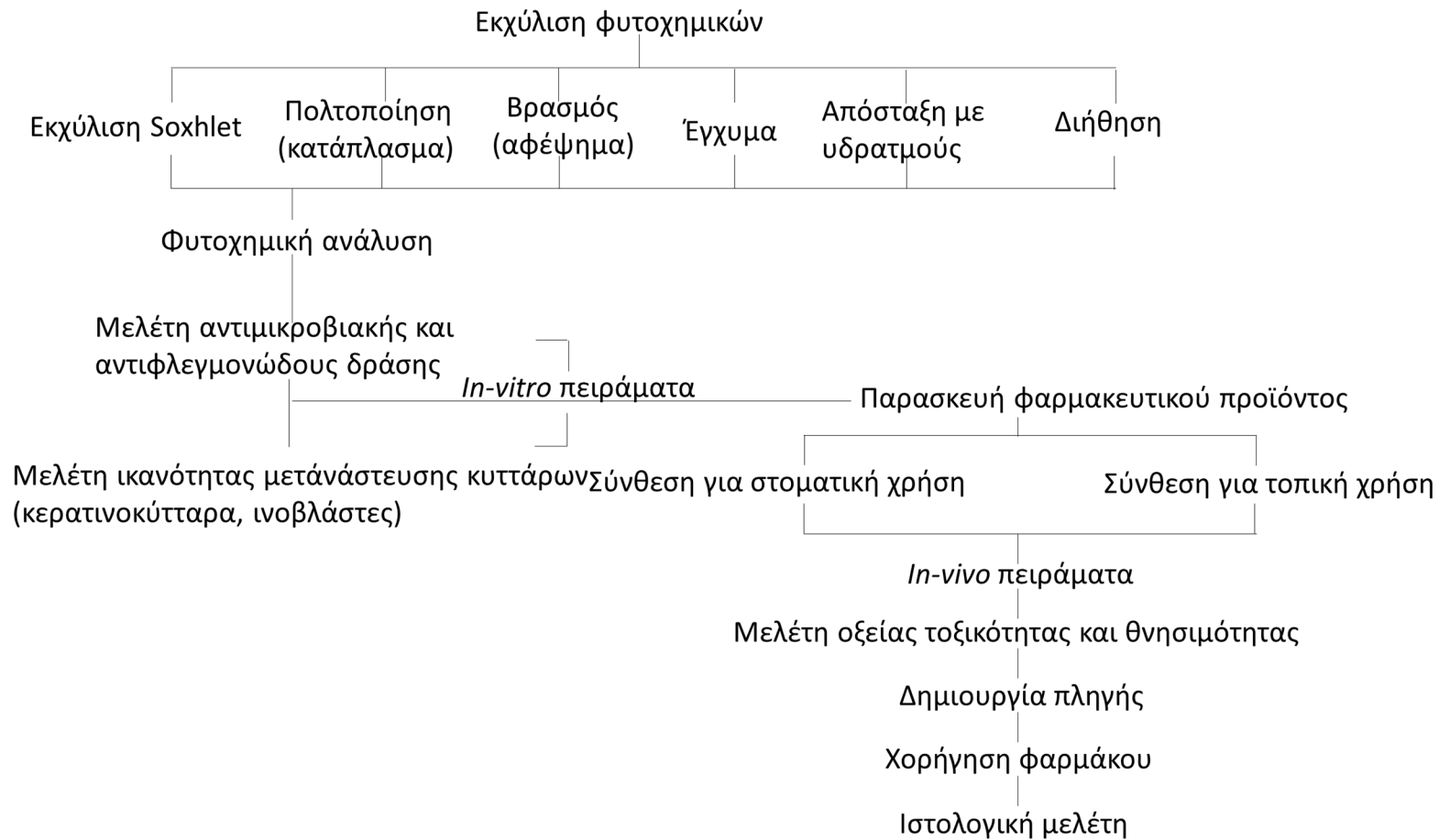


Σαλογραβιολίτης Α



Ουρσολικό οξύ





Εικόνα 29: Διαγραμματική απεικόνιση της μεθόδου που ακολουθείται για την εύρεση φυτοχημικών με επουλωτική δράση.

ΣΚΟΠΟΣ

Το ενδιαφέρον για τη μελέτη των φαρμακευτικών φυτών αυξάνεται με αμείωτους ρυθμούς τα τελευταία περίπου 60 χρόνια. Ένας από τους λόγους είναι ότι τα φυτά αποτελούν μια “ανεξάντλητη” πηγή βιοδραστικών συστατικών με ποικίλες δράσεις. Λόγω της πολύ μεγάλης ποικιλομορφίας που εμφανίζουν τα φυτά καθώς και των πολλών βιοδραστικών συστατικών που περιέχουν, η μελέτη των φυτών με απώτερο σκοπό την αναζήτηση συγκεκριμένων συστατικών είναι μια επίπονη, χρονοβόρα και δύσκολη διαδικασία. Ωστόσο η ανάδειξη φυτών ή/και βιοδραστικών συστατικών θα έχει τεράστιο αντίκτυπο στη σύγχρονη ιατρική αλλά και στην οικονομία, καθώς πέρα από τη χρήση τους για τη θεραπεία ασθενειών, η καλλιέργεια των φυτών αυτών θα μπορούσε να φανεί μια ιδιαίτερα επικερδής επιχείρηση. Δεδομένης της τεράστιας ποικιλίας φυτών που φύονται στη χώρα μας, η ανάδειξή τους θα μπορούσε να έχει πολλαπλά οφέλη τόσο σε εθνικό, όσο και σε τοπικό επίπεδο. Σκοπός λοιπόν της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η διερεύνηση διαφόρων βιολογικών δράσεων που εμφανίζουν μερικά από τα πολλά φυτά της Ηπείρου, και η εύρεση νέων δράσεων προκειμένου να αναδειχθεί μια εναλλακτική χρήση των φυτών. Πιο συγκεκριμένα, μέρος των βιοδραστικών συστατικών από 20 φυτά της Ηπείρου εκχυλίστηκαν και τα εκχυλίσματα που παρασκευάστηκαν μελετήθηκαν ως προς την αντιβακτηριακή τους δράση, ως προς την ικανότητάς τους να αυξάνουν τον αριθμό των ευκαρυωτικών κυττάρων και τον ρυθμό μετανάστευσής τους, την αντιφλεγμονώδη δράση τους και τις αντιοξειδωτικές τους ικανότητες.

Καθώς οι προαναφερθείσες ικανότητες/δράσεις διαδραματίζουν καίριο ρόλο στην επούλωση των δερματικών τραυμάτων, πέρα από τη μεμονωμένη μελέτη της εκάστοτε δράσης, γίνεται και συσχέτισή τους, έτσι ώστε να προκύψουν ορισμένα φυτικά εκχυλίσματα με ιδιαίτερα ικανοποιητικές ικανότητες να επουλώνουν ταχύτερα τα τραύματα. Για τον σκοπό αυτό, με το πέρας των *in vitro* πειραμάτων, διεξήχθησαν πειράματα *in vivo* σε επιμύες και έγιναν ιστολογικές μελέτες των τραυμάτων των ζώων για να επιβεβαιωθούν τα *in vitro* αποτελέσματα και να αξιολογηθεί ταυτόχρονα η δράση των εκχυλισμάτων σε πολύπλοκους οργανισμούς.

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Αντιδραστήρια και κύτταρα

Τα αντιδραστήρια και τα κύτταρα που χρησιμοποιήθηκαν για την διεκπεραίωση της διδακτορικής διατριβής είναι τα εξής:

- L-φωσφατιδυλοχολίνη (99%) (Sigma, St. Louis, MO, USA)
- Αλβουμίνη βόειου ορού, BSA (Sigma, St. Louis, MO, USA)
- Μηλονική διαλδεΰδη, MDA (Aldrich, Steinheim, Germany)
- 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζυλική ελεύθερη ρίζα, DPPH[·] (95%)

(Aldrich, Steinheim, Germany)

- tert-βουτυλο-υδροξυτολουόλιο, BHT (99%) (Aldrich, Steinheim, Germany)
- 2,4,6-τριχλωροφαινυλδραζίνη, TCPH (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Διχλωριούχος σίδηρος, FeCl₂ (Riedel-de-Haen, Seelze, Germany)
- Τριχλωριούχος σίδηρος, FeCl₃ (Merck, Darmstadt, Germany)
- Γουανιδίνη υδροχλωριωμένη (≥98%) (Fluka Chemie, Buchs SG,

Switzerland)

- Φερροζίνη (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Σιδηρικούανιούχο κάλιο, K₃[Fe(CN)₆] (BDH, Ltd. Poole, England)
- Τριχλωροξικό οξύ, TCA (Merck, Darmstadt, Germany)
- Κιτρικό οξύ (99,5%) (Merck, Darmstadt, Germany)
- Πυκνό νιτρικό οξύ (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Υδροξείδιο του καλίου και υδροξείδιο του νατρίου (Aldrich, Steinheim,

Germany)

- Πυκνό υδροχλωρικό οξύ (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Θειικό οξύ (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Ασκορβικό οξύ L (+)- (Riedel-de-Haen, Seelze, Germany)
- 2,4-δινιτροφαινυλδραζίνη, DNPH (97%) (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Χλωριούχο κάλιο, KCl (p.a.) (Merck, Darmstadt, Germany)

- 2-Θειοβαρβιτουρικό οξύ, TBA ($\geq 98\%$) (Fluka Chemie, Buchs SG, Switzerland)
- Χλωριούχο νάτριο, NaCl (p.a.) (Riedel-de Haen, Seelze, Germany)
- Ανθρακικό νάτριο, Na₂CO₃ (Merck, Darmstadt, Germany)
- Υπεροξείδιο του υδρογόνου, H₂O₂ (30%) (Riedel-de-Haen, Seelze, Germany)
- Δις απεσταγμένο ύδωρ (DDW)
- Υδροχλωρικό οξύ, HCl (37% w/w) (Merck, Darmstadt, Germany)
- Αιθανόλη απόλυτη (Riedel-de-Haen, Seelze, Germany)
- Μεθανόλη, ακετονιτρίλιο, οξικός αιθυλεστέρας, πετρελαϊκός αιθέρας, χλωροφόρμιο (HPLC-grade, 99,9%) (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Οξικός ανυδρίτης (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Αντιδραστήριο Fehling (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Θεϊικός χαλκός 1% (Aldrich, Steinheim, Germany)
- α-Ναφθόλη (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Αντιδραστήριο Barfeed (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Αντιδραστήριο Seliwanoff (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Διακετονική διχλωροφλουρεσεΐνη (Aldrich, Steinheim, Germany)
- Αθανατοποιημένα ανθρώπινα εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα 293 (HEK-293)
- Αθανατοποιημένα ανθρώπινα κερατινοκύτταρα (HaCaT)
- Καρκινικά κύτταρα πνεύμονα (A549)
- Κύτταρα καρκίνου του μαστού (MCF-7)
- Κύτταρα καρκίνου του μαστού (MDA-MB-231)
- Καρκινικά κύτταρα ωοθηκών (HeLa)
- Staphylococcus aureus (NCTC 6571) και Escherichia coli (DH5 alpha)
- Ορός εμβρύου βοοειδούς (FBS) (Gibco, thermo fisher scientific, Australia)
- L-γλουταμίνη (200 mM) (Gibco, thermo fisher scientific, Australia)
- Αντιβιοτικά (πενικιλίνη-στρεπτομυκίνη) 10,000 U mL⁻¹ (Gibco, thermo fisher scientific, Australia)

- Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS) (Merk, Sigma Aldrich, America)
- Θρυψίνη (Trypsin-EDTA 0.5%) (Gibco, thermo fisher scientific, America)
- Κρυσταλλικό ιώδες, crystal violet (Merck, Darmstadt, Germany)
- Φορμαλδεΰδη 37% (Merck, Darmstadt, Germany)
- Βακτηριολογική πεπτόνη (Biolife, Milano, Italy)
- Εκχύλισμα μαγιάς (Biolife, Milano, Italy)
- Άγαρ (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Germany)
- Ribonuclease A (RNase A) 40 U/mg (Merk, Sigma Aldrich, America)
- Ιωδιούχο προπίδιο 1.0 mg mL⁻¹ (PI) (Merk, Sigma Aldrich, America)
- NucleoZOL (Macherey-Nagel, Αθήνα, Ελλάδα)
- Αλοιφή Chemco υδρόφιλης βάσης (αγοράστηκε από τοπικό φαρμακείο)
- Αλοιφή Madecassol με εκχύλισμα του φυτού *Centella asiatica* (αγοράστηκε από τοπικό φαρμακείο)
- Κεταμίνη (Narketan®) 100 mg mL⁻¹ (ζωοδυναμική ε.π.ε.)
- Ξυλαζίνη 20 mg mL⁻¹ (ζωοδυναμική ε.π.ε.)

2.2 Διαλύματα

Τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν για την διεκπεραίωση της διδακτορικής διατριβής παρασκευάστηκαν ως εξής:

- Διαλύματα φυτικών εκχυλισμάτων διαφόρων συγκεντρώσεων (0,05-1,00 mg mL⁻¹). Ζυγίστηκαν με ακρίβεια 3 mg στερεού φυτικού εκχυλίσματος, διαλυτοποιήθηκαν σε 1 mL DDW και με κατάλληλες αραιώσεις προέκυψε η επιθυμητή συγκέντρωση.
- Διάλυμα DPPH· σε μεθανόλη/ύδωρ (50/50) συγκέντρωσης 3×10⁻⁵ M. Το διάλυμα παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση αντίστοιχα 1,2 mg DPPH· σε 100 mL μεθανόλης/ύδατος.
- Διάλυμα PC 10 mg/mL σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών pH 7,4. Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 0,1 g PC σε 10 mL ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών (0,1 M, pH 7,4).

- Διάλυμα BSA 20 mg/mL σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών pH 7,4.

Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 0,2 g BSA σε 10 mL ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών (0,1 M, pH 7,4).

- Διάλυμα FeCl_2 συγκέντρωσης 2 mM. Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 12,7 mg FeCl_2 σε 50 mL δις απεσταγμένου ύδατος.

- Διάλυμα FeCl_2 συγκέντρωσης 20 mM σε 3,5% HCl. Το διάλυμα HCl 3,5% παρασκευάστηκε με αραίωση 9,46 mL πυκνού HCl 37% με δις απεσταγμένο ύδωρ σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL. Στη συνέχεια διαλυτοποιήθηκαν 0,127 g FeCl_2 σε 50 mL HCl 3,5%.

- Διάλυμα FeCl_3 συγκέντρωσης 1 mM. Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 16 mg FeCl_3 σε 100 mL δις απεσταγμένου ύδατος.

- Διάλυμα FeCl_3 0,1%. Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 0,1 g FeCl_3 σε 100 mL δις απεσταγμένου ύδατος.

- Διάλυμα (FeCl_2 - κιτρικού οξέος) (4,4 – 4,0 mM). Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 28 mg FeCl_2 και 42 mg κιτρικού οξέος σε 50 mL δις απεσταγμένου ύδατος.

- Διάλυμα φερροζίνης συγκέντρωσης 5 mM. Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 0,123 g φερροζίνης σε 50 mL δις απεσταγμένου ύδατος.

- Διάλυμα ασκορβικού οξέος συγκέντρωσης 1 mM. Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 18 mg ασκορβικού οξέος σε 100 mL δις απεσταγμένου ύδατος.

- Διάλυμα KCl 1 M. Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 7,46 g KCl σε 100 mL δις απεσταγμένου ύδατος.

- Διάλυμα $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1% (w/v). Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 1 g $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ σε 100 mL δις απεσταγμένου ύδατος.

- Διάλυμα τριχλωροξικού οξέος 20%, 10% και 2,8% (w/v). Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση αντίστοιχα 20, 10 και 2,8 g τριχλωροξικού οξέος σε 100 mL δις απεσταγμένου ύδατος.

- Διάλυμα θειοβαρβιτουρικού οξέος 1,0% (w/v) σε 0,05 M NaOH. Το διάλυμα NaOH 0,05 M παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 0,2 g NaOH σε 100 mL δις απεσταγμένου ύδατος. Στη συνέχεια διαλυτοποιήθηκε 1,0 g TBA σε 100 mL διαλύματος NaOH 0,05 M.
- Διάλυμα tert-βουτυλο-υδροξυτολουόλιο 2,0% (w/v) σε μεθανόλη. Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 2,0 g TBA σε 100 mL μεθανόλης. Από αυτό το διάλυμα παρασκευάστηκαν, με κατάλληλες αραιώσεις, διαλύματα tert-βουτυλο-υδροξυτολουόλιο μικρότερων συγκεντρώσεων.
- Διάλυμα 2,4-δινιτροφαινυλδραζίνης 10 mM σε 2 N HCl. Το διάλυμα HCl 2 N παρασκευάστηκε με αραιώση 16,6 mL πυκνού HCl 37% σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL με δις απεσταγμένο ύδωρ. Στη συνέχεια διαλυτοποιήθηκαν 0,1 g 2,4-δινιτροφαινυλδραζίνης σε 50 mL διαλύματος HCl 2 N.
- Διάλυμα γουανιδίνης 6 M. Παρασκευάστηκε με διαλυτοποίηση 57 g γουανιδίνης σε 100 mL δις απεσταγμένου ύδατος.
- Διάλυμα H₂O₂ 4,4 mM. Παρασκευάστηκε με αραιώση 41 μL πυκνού H₂O₂ 30% σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL με δις απεσταγμένο ύδωρ.
- Το θρεπτικό υλικό για καλλιέργεια κυττάρων DMEM υψηλής συγκέντρωσης γλυκόζης παρασκευάστηκε με την προσθήκη 1% πενικιλίνη-στρεπτομικίνη, 10% FBS και 1% L-γλουταμίνη.
- Το θρεπτικό υλικό για καλλιέργεια κυττάρων RPMI-1640 παρασκευάστηκε με την προσθήκη 1% πενικιλίνη-στρεπτομικίνη και 10% FBS.
- Το διάλυμα κρυσταλλικού ιώδους 0,4% w/v παρασκευάστηκε με την προσθήκη 10 mL διαλύματος φορμαλδεΰδης 37% w/v, 0,25 g χλωριούχου νατρίου, 50 mL μεθανόλης και 40 mL DDW και αποθηκεύτηκε στους 4 °C, μέχρι τη χρήση.
- Παρασκευάστηκε φυσιολογικός ορός με διάλυση 0,90 g χλωριούχου νατρίου σε 100 mL ύδατος.
- Το διάλυμα PI 4,6% (v/v) παρασκευάστηκε προσθέτοντας 38 mM κιτρικό νάτριο pH 7,4 και 1% RNάση A.

2.3 Όργανα και συσκευές

- Θερμαντικός-μαγνητικός αναδευτήρας (IKA RET Basic Magnetic Stirrer and Hot Plate) (The lab world, Boston)
- Συσκευή υπερήχων mrc (Fisherbrand™ S-Series Heated Ultrasonic Cleaning Bath) (Fisher scientific, Thermo Fisher scientific, America)
- KERN ABT Ζυγός αναλυτικός
- Φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους (Jasco v-730 spectrophotometer) (Jasco Europe Spectroscopy and Chromatography, Italy)
- Φυγόκεντρος (Thermo Scientific ST16R Refrigerated Centrifuge) (Thermo Fisher scientific, America)
- Υδατόλουτρο (Brookfield TC-200 Constant Temperature Bath water recirculator circulating) (AMETEK Brookfield, America)
- Περιστροφικός αναδευτήρας (Buchi R-210 Rotavapor System) (Marshall scientific, America)
- Κυτταρόμετρο (BD FACS Aria III (BD Biosciences Flow Cytometer)
- Λυοφιλοποιητής (Alpha 1-2 LDplus Entry Freeze Dryer Package) (John Morris Group, Aystalia)
- Κλίβανος με παροχή διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) (forma direct heat CO₂ incubator) (thermo electron corporation, America)
- Απαγωγός με ομαλή, αδιάκοπη, βελτιωμένη ροή (laminar flow) αποστειρωμένου αέρα που έχει φιλτραριστεί (Distributor of EUROCLONE Fume Hood (EUROCLONE, Italy)
- Μικροσκόπιο με ενσωματωμένη κάμερα και δυνατότητα λήψης φωτογραφιών Olympus BX43 (Lumenera, Canada)

2.4 Προετοιμασία φυτικών εκχυλισμάτων

Για την παρασκευή των φυτικών εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκαν 50 g του εκάστοτε φυτού. Τα φυτά αρχικά κονιορτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας υγρό άζωτο και τοποθετήθηκαν σε ειδικές φύσιγγες. Τα συστατικά του κονιορτοποιημένου φυτού εκχυλίστηκαν μέσω εκχύλισης Soxhlet χρησιμοποιώντας οξικό αιθυλεστέρα για 3 ώρες, ακολουθούμενο από εκχύλιση με ακετονιτρίλιο για επιπλέον 3 ώρες. Μετά την εκχύλιση,

το κάθε φυτό βράστηκε σε δις απεσταγμένο ύδωρ για 5 λεπτά και διηθήθηκε μέσω χάρτινου φίλτρου Whatman 4. Το νερό απομακρύνθηκε με λυοφιλοποίηση και ελήφθη ένα στερεό σε μορφής σκόνης. Το ξηρό εκχύλισμα αποθηκεύτηκε σε γυάλινα φιαλίδια στους -80 °C, για να αποφευχθεί πιθανή χημική αποικοδόμηση. Για τις *in vivo* μελέτες, αλοιφή 0,25% (w/w) παρασκευάστηκε με ανάμιξη του εκχυλίσματος σε υδατική αλοιφή υδρόφιλης βάσης Chemco.

2.5 Φυτοχημική ανάλυση εκχυλισμάτων

Διεξήχθησαν ποιοτικά πειράματα για τον εντοπισμό κατηγοριών φυτοχημικών στο εκχύλισμα. Οι αναλύσεις διεξήχθησαν σύμφωνα με προηγούμενες μεθόδους [217,218]. Σε όλες τις περιπτώσεις, η συγκέντρωση του εκχυλίσματος ήταν 1 mg mL⁻¹.

2.5.1 Δοκιμή αμινοξέων

Σε 1 mL διαλύματος εκχυλίσματος προστέθηκε νινυδρίνη και το μείγμα βράστηκε για 5 λεπτά. Η εμφάνιση κυανού χρώματος είναι ενδεικτική της παρουσίας αμινοξέων.

2.5.2 Δοκιμή για ξανθοπρωτεΐνες

Σε 1 mL διαλύματος εκχυλίσματος προστέθηκαν μερικές σταγόνες πυκνού νιτρικού οξέος ή πυκνής αμμωνίας. Η εμφάνιση ερυθρο-πορτοκαλί ιζήματος υποδεικνύει την παρουσία ξανθοπρωτεϊνών.

2.4.3 Δοκιμή για κινόνες

Σε 1 mL διαλύματος εκχυλίσματος προστέθηκαν μερικές σταγόνες αλκοολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου. Η εμφάνιση ερυθρού-κυανού χρώματος υποδεικνύει την παρουσία κινόνων.

2.5.4 Δοκιμή για κουμαρίνες

Σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα προστίθενται 0,05 g εκχυλίσματος και 1-2 σταγόνες απεσταγμένου ύδατος προκειμένου να υγρανθεί το στερεό εκχύλισμα. Χρησιμοποιήθηκε ένα διηθητικό χαρτί επεξεργασμένο με 1 mol L⁻¹ διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου για

να καλύψει το στόμιο του σωλήνα και έπειτα ο σωλήνας τοποθετήθηκε σε βραστό απεσταγμένο ύδωρ για λίγα λεπτά. Το διηθητικό χαρτί αφαιρέθηκε και εξετάστηκε υπό υπεριώδες φως. Η εμφάνιση κίτρινου φθορισμού υποδεικνύει την παρουσία κουμαρινών.

2.5.5 Δοκιμή καρβοξυλικών οξέων

Σε 1 mL διαλύματος εκχυλίσματος, προστέθηκαν μερικές σταγόνες διαλύματος όξινου ανθρακικού νατρίου. Η παρουσία φυσαλίδων είναι ενδεικτική της παρουσίας καρβοξυλικών οξέων.

2.5.6 Δοκιμή για τανίνες

Σε 1 mL διαλύματος εκχυλίσματος, προστέθηκαν μερικές σταγόνες υδατικού διαλύματος τριχλωριούχου σιδήρου 1% (w/v). Η εμφάνιση έντονου κυανού, μαύρου, πράσινου ή ιώδους χρώματος υποδηλώνει την παρουσία τανινών.

2.5.7 Δοκιμή για γλυκοσίδες

Σε δοκιμαστικό σωλήνα μεταφέρθηκαν 5 mL διαλύματος εκχυλίσματος και υδρολύθηκαν με προσθήκη 5 mL πυκνού υδροχλωρικού οξέος. Ακολούθησε βρασμός του μείγματος για μερικές ώρες. Μια μικρή ποσότητα του υδρολυμένου εκχυλίσματος διαλύθηκε σε 1 mL απεσταγμένου ύδατος και στη συνέχεια προστέθηκε μικρή ποσότητα 10% (w/v) υδροξειδίου του νατρίου. Η εμφάνιση κίτρινου χρώματος υποδεικνύει την παρουσία γλυκοσίδων.

2.5.8 Δοκιμή φλαβονοειδών

Το εκχύλισμα (από το οποίο έχουν προηγουμένως αφαιρεθεί τα λιπαρά οξέα με πετρελαϊκό αιθέρα) διαλύθηκε σε διάλυμα αιθανόλης 80% v/v και 3 mL από αυτό μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα. Η εμφάνιση κίτρινου χρώματος μετά την προσθήκη 4 mL (1% w/v) υδροξειδίου του καλίου είναι ενδεικτική της παρουσίας φλαβονοειδών.

2.5.9 Δοκιμή σαπωνοειδών

Το εκχύλισμα αναταράσσεται έντονα. Η εμφάνιση σταθερού αφρού για τουλάχιστον 1 λεπτό, είναι ενδεικτική της παρουσίας σαπωνοειδών.

2.5.10 Δοκιμή τερπενοειδών

Σε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 5 mL διαλύματος εκχυλίσματος, ακολουθούμενο από την προσθήκη 2 mL χλωροφორμίου. Μετά από αργή προσθήκη 3 mL πυκνού θειϊκού οξέος παρατηρήθηκε το χρώμα της διεπιφάνειας. Η εμφάνιση ενός κεραμέρυθρου χρώματος υποδεικνύει την παρουσία τερπενοειδών.

2.5.11 Δοκιμή καρδιακών γλυκοσίδων

Σε 2 mL διαλύματος εκχυλίσματος, προστέθηκε 1 mL παγόμορφου οξικού οξέος και ακολούθησε προσθήκη 1 mL διαλύματος τριχλωριούχου σιδήρου και 1 mL πυκνού θειϊκού οξέος. Η πράσινη ή κυανή χρώση του διαλύματος υποδεικνύει την παρουσία καρδιακών γλυκοσίδων.

2.5.12 Δοκιμή ρητινών

Σε 1 mL διαλύματος εκχυλίσματος, προστέθηκαν μερικές σταγόνες διαλύματος οξικού ανυδρίτη και ακολούθησε προσθήκη 1 mL πυκνού θειϊκού οξέος. Η εμφάνιση πορτοκαλί-κίτρινου χρώματος υποδεικνύει την παρουσία ρητινών.

2.5.13 Δοκιμή στεροειδών

Σε 2 mL οξικού ανυδρίτη προστέθηκε μικρή ποσότητα του εκχυλίσματος σε στερεή μορφή και στη συνέχεια προστέθηκαν 2 mL πυκνού θειϊκού οξέος. Η αλλαγή χρώματος από ιώδες σε κυανό ή πράσινο είναι ενδεικτική της παρουσίας στεροειδών.

2.5.14 Δοκιμή φαινολών

Σε 1 mL διαλύματος εκχυλίσματος προστέθηκαν 2 mL απεσταγμένου ύδατος και μερικές σταγόνες 10% (w/v) διαλύματος τριχλωριούχου σιδήρου. Η εμφάνιση κυανού ή πράσινου χρώματος υποδεικνύει την παρουσία φαινολών.

2.5.15 Δοκιμή για την παρουσία αναγόντων σακχάρων

Σε 5 mL διαλύματος εκχυλίσματος προστέθηκαν 25 mL αραιού διαλύματος θειϊκού οξέος και το μίγμα βράστηκε για 15 λεπτά. Μετά από ψύξη, το pH ρυθμίστηκε στο 7 χρησιμοποιώντας 10% (w/v) διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου και κατόπιν, προστέθηκαν 5 mL αντιδραστήριου Fehling. Ο σχηματισμός σκούρου ερυθρού ιζήματος υποδεικνύει την παρουσία αναγωγικών σακχάρων. Εναλλακτικά, ισοδύναμες ποσότητες διαλύματος φυτικού εκχυλίσματος και αντιδραστήριου Benedict αναμίχθηκαν και τοποθετήθηκαν σε λουτρό ζέοντος απεσταγμένου ύδατος για 5 λεπτά. Η εμφάνιση πράσινου, κίτρινου ή ερυθρού χρώματος υποδεικνύει την παρουσία αναγωγικών σακχάρων και εξαρτάται από το ποσό τους.

2.5.16 Δοκιμή για ανθρακινόνες

Σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα, προστέθηκε μικρή ποσότητα του εκχυλίσματος μαζί με 1 mL διαλύματος χλωριούχου σιδήρου 10% (w/v) και 1 mL πυκνού διαλύματος υδροχλωρίου και το μίγμα θερμάνθηκε. Μετά από ψύξη του μίγματος, προστέθηκε ίση ποσότητα χλωροφορμίου και το μίγμα ανακινήθηκε για 1 λεπτό. Σε 2 mL της φάσης χλωροφορμίου, προστέθηκε 1 mL διαλύματος αμμωνίας 10% (v/v). Το βαθύ ερυθρό ή ροζ χρώμα της υδατικής φάσης υποδεικνύει την παρουσία ανθρακινονών.

2.5.17 Δοκιμή φλοβατανινών

Σε δοκιμαστικό σωλήνα μεταφέρθηκαν 2 mL διαλύματος εκχυλίσματος και 2 mL πυκνού διαλύματος 1% (v/v) υδροχλωρίου και το μείγμα βράστηκε για μερικά λεπτά. Ο σχηματισμός ερυθρού ιζήματος υποδεικνύει την παρουσία φλοβατανινών.

2.5.18 Δοκιμή πρωτεϊνών

Σε 3 mL διαλύματος φυτικού εκχυλίσματος, προστέθηκαν μερικές σταγόνες διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου 4% (w/v) και ακολούθησε προσθήκη μερικών σταγόνων διαλύματος θειϊκού χαλκού 1% (w/v). Η εμφάνιση ροζ χρώματος υποδεικνύει την παρουσία πρωτεϊνών.

2.5.19 Δοκιμή υδατανθράκων

Σε 5 mL εκχυλίσματος, προστέθηκαν 2 σταγόνες αλκοολικού διαλύματος α-ναφθόλης. Ο σχηματισμός ενός ιώδους δακτυλίου στη διεπιφάνεια έδειξε την παρουσία υδατανθράκων.

2.5.20 Δοκιμή μονοσακχαριτών

Ίσες ποσότητες του εκχυλίσματος και του αντιδραστηρίου Barfoed ($0,33 \text{ mol L}^{-1}$ ουδέτερου οξικού χαλκού σε 1% οξικό οξύ) αναμίχθηκαν και θερμάνθηκαν για 2 λεπτά σε λουτρό ζέοντος απεσταγμένου ύδατος. Ο σχηματισμός ερυθρού ιζήματος υποδεικνύει την παρουσία μονοσακχαριτών.

2.5.21 Δοκιμή κετοζών

Σε διάλυμα εκχυλίσματος 1mL προστέθηκαν 5 mL αντιδραστηρίου Seliwanoff (ρεσορκινόλη και πυκνό υδροχλώριο) και το μίγμα τοποθετήθηκε σε λουτρό ζέοντος ύδατος για 5 λεπτά. Ο σχηματισμός ερυθρού χρώματος έδειξε την παρουσία των κετοζών.

2.5.3 Φάσματα Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Τα φάσματα μιας διάστασης πρωτονίου (1D ^1H -NMR) ελήφθησαν χρησιμοποιώντας εύρος σάρωσης (sweep width, SW) 6000 Hz (12 ppm), 32 k σημεία για την ελεύθερη επαγόμενη απόσβεση (free induction decay, FID, TD), 256 παλμούς (NS), χρόνο συλλογής δεδομένων 3.4 s (AQ) και χρόνο επανάληψης 8s (AQ + D1). Για την καταστολή της κορυφής του απεσταγμένου ύδατος χρησιμοποιήθηκε η παλμική ακολουθία WATERGATE-5. Πριν από τον μετασχηματισμό Fourier για τη μετατροπή της συνάρτησης χρόνου (FID) σε συνάρτηση συχνότητας (spectrum), η συνάρτηση χρόνου πολλαπλασιάστηκε με εκθετική συνάρτηση εύρους 0,3 Hz (LB) για βελτίωση του λόγου σήματος – θορύβου (S/N ratio) και συμπληρώθηκε με μηδενικά μέχρι 62 k (SI).

Τα φάσματα δύο διαστάσεων ελήφθησαν συλλέγοντας 2k σημεία στη διάσταση F2 και 512 σημεία στη διάσταση F1. Πριν από τον μετασχηματισμό Fourier, τα δεδομένα και των δύο διαστάσεων πολλαπλασιάστηκαν με ημιτονοειδή συνάρτηση 60° , για βελτίωση του λόγου σήματος – θορύβου.

Τα φάσματα NMR μιας διάστασης (1D) ελήφθησαν σε όργανο AV-500 της εταιρείας BRUKER, στους $298 \pm 1 \text{ K}$ σε διαλύτη D_2O .

2.6 Αντιβακτηριακή δράση εκχυλισμάτων

2.6.1 Καλλιέργεια βακτηρίων

Τα δύο βακτήρια *Staphylococcus aureus* (NCTC 6571) και *Escherichia coli* DH5 alpha ήταν αποθηκευμένα σε γλυκερόλη 20% (v/v), στους -80°C . Αρχικά παρασκευάστηκε μια βακτηριακή προ-καλλιέργεια από κάθε βακτήριο, με προσθήκη μικρής ποσότητας βακτηριακών κυττάρων σε 10 mL φρέσκου LB και επώαστηκε 37°C , όλο το βράδυ. Η βακτηριακή καλλιέργεια παρασκευάστηκε με ενοφθαλμισμό 2,5 mL βακτηριακής προ-καλλιέργειας σε 250 mL LB και επώαση αυτής για 16 ώρες σε επωαστικό αναδευτήρα, στους 37°C και ταχύτητα ανάδευσης 250 rpm. Για την παραλαβή των βακτηριακών κυττάρων, μια πλήρως ανεπτυγμένη καλλιέργεια (OD_{540} ίση με 2,2 A.U.) φυγοκεντρήθηκε στα 4000 rpm, στους 4°C , για 5 λεπτά. Ακολούθησε έκπλυση των κυττάρων με 30 mL ισοτονικού αλατούχου διαλύματος (normal saline) για να απομακρυνθούν εναπομείναντα συστατικά του θρεπτικού υλικού. Τα δείγματα αναδεύτηκαν σε συσκευή περιδίνησης για 1 λεπτό και στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν στις ίδιες συνθήκες, για 5 λεπτά. Το στάδιο του καθαρισμού επαναλήφθηκε δυο επιπλέον φορές.

2.6.2 Μελέτη των βακτηριοκτόνων ιδιοτήτων των εκχυλισμάτων

Για την αξιολόγηση των βακτηριοκτόνων ιδιοτήτων των εκχυλισμάτων, βακτηριακά κύτταρα επαναιωρήθηκαν σε φυσιολογικό ορό, μέχρι η οπτική πυκνότητα του εναιωρήματος στα 540 nm (OD_{540}) να γίνει 0,2 A.U. Στη συνέχεια προστέθηκε ίση ποσότητα φυσιολογικού ορού, στον οποίο περιέχονταν τα εκχυλίσματα σε διπλάσιες από τις επιθυμητές συγκεντρώσεις 100, 200, 400, 800, 1200 $\mu\text{g mL}^{-1}$) έτσι ώστε στο τελικό μίγμα οι συγκεντρώσεις να είναι οι επιθυμητές (50, 100, 200, 400, 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$) και η OD_{540} να είναι 0,1 (περίπου 10^7 CFU ανά mL). Το εναιώρημα επώαστηκε στους 37°C , υπό ανάδευση στα 250 rpm, για 4 ώρες. Στο δείγμα ελέγχου δεν προστέθηκε κανένα εκχύλισμα. Η μείωση της βιωσιμότητας (θνησιμότητα) των βακτηρίων αξιολογήθηκε με τη μέθοδο καταμέτρησης αποικιών σε τρυβλία. Για το σκοπό αυτό, γινόνταν δειγματοληψία

από το υπό επώαση εναιώρημα βακτηρίων – εκχυλισμάτων, σε διάστημα 0, 5, 1, 2 και 4 ώρες από την αρχή της επώασης. Στα δείγματα έγιναν πέντε διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις. Από την τελευταία δεκαδική αραιώση, 100 μ L επιστρώθηκαν σε τρυβλία με στερεό LB. Τα τρυβλία αφέθηκαν όλο το βράδυ στους 37°C, για ανάπτυξη. Οι αποικίες που αναπτύχθηκαν, μετρήθηκαν και συγκρίθηκε ο αριθμός τους σε σχέση με τον αριθμό των αποικιών του δείγματος ελέγχου.

2.7 Μελέτη της επίδρασης των εκχυλισμάτων σε ευκαριωτικά κύτταρα (καρκινικά και μη)

2.7.1 Κυτταρικές καλλιέργειες

Οι κυτταροκαλλιέργειες πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου [219–221]. Όλα τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό υλικό που περιείχε 1% αντιβιοτικά και 10% βόειο ορό στους 37°C με 5% CO₂. Τα κύτταρα A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa καλλιεργήθηκαν σε RPMI-1640 ενώ τα κύτταρα HaCaT και HEK-293 καλλιεργήθηκαν σε DMEM με υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης και 1% γλουταμίνη. Οι ανακαλλιέργειες πραγματοποιούνταν κάθε 2-3 ημέρες με την παρακάτω διαδικασία: αρχικά το θρεπτικό αφαιρείται από την φλάσκα και τα κύτταρα ξεπλένονται με PBS. Στη συνέχεια προστίθεται θρυψίνη (τόση ώστε να καλύψει την επιφάνεια των κυττάρων) και τα αποκολλημένα κύτταρα φυγοκεντρούνται για 5 λεπτά στις 2000 rpm. Τα κύτταρα επαναιωρούνται σε θρεπτικό υλικό και περίπου το 1/3 από αυτά προτίθεται σε νέα φλάσκα.

2.7.2 Μελέτη της πολλαπλασιαστικής ικανότητας των κυττάρων παρουσία των εκχυλισμάτων

Ο πληθυσμός των κυττάρων υπολογίστηκε με τη μέθοδο του κρυσταλλικού ιώδους, σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου [220,222]. Κατάλληλος αριθμός κυττάρων εμβολιάστηκε σε τρυβλία των 24 φρεατίων και επωάστηκαν για 5 ώρες. Σε κάθε

θέση προστέθηκαν 0,5 mL θρεπτικού. Μετά το πέρας των 5 ώρες, κατάλληλη συγκέντρωση του εκάστοτε εκχυλίσματος σε 0,5 mL φρέσκου θρεπτικού προστέθηκε στα κύτταρα με αποτέλεσμα να προκύψουν οι τελικές συγκεντρώσεις 50, 100 και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Τα κύτταρα επωάστηκαν περαιτέρω είτε για 24 ή 48 ώρες. Σε κάθε συνθήκη παρασκευάστηκαν τρία ίδια δείγματα. Κύτταρα που επωάστηκαν απουσία φυτικού εκχυλίσματος χρησιμοποιήθηκαν ως δείγματα ελέγχου. Μετά από 24 ή 48 ώρες το θρεπτικό υλικό αφαιρέθηκε, τα κύτταρα ξεπλύθηκαν με PBS και σε κάθε θέση προστέθηκαν 200 μL διαλύματος κρυσταλλικού ιώδους. Τα κύτταρα επωάστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Έπειτα το διάλυμα κρυσταλλικού ιώδους ξεπλύθηκε βυθίζοντας τα τρυβλία σε απεσταγμένο ύδωρ. Τα τρυβλία αφέθηκαν να στεγνώσουν σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια το διάλυμα κρυσταλλικού ιώδους αφαιρέθηκε από τα κύτταρα με μεθανόλη. Για να γίνει αυτό τα κύτταρα επωάστηκαν με 1 mL μεθανόλης σε θερμοκρασία δωματίου για 20 λεπτά (η διαδικασία πραγματοποιήθηκε 2 φορές) και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 570 nm. Ο αριθμός των κυττάρων υπολογίστηκε ως ποσοστό επί τοις εκατό των κυττάρων ελέγχου, χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \text{ αριθμός κυττάρων} = \frac{A_{\text{δείγματος}} - A_{\text{δείγματος ελέγχου}}}{A_{\text{δείγματος ελέγχου}}} \times 100$$

Όπου A η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος. Όλα τα αποτελέσματα εκφράζονται σε σύγκριση με το δείγμα ελέγχου.

2.7.3 Ανάλυση κυτταρικού κύκλου

Για την ανάλυση του κυτταρικού κύκλου των κυττάρων HEK-293 και HaCaT πραγματοποιήθηκε συγχρονισμός αυτών με επώαση με θρεπτικό υλικό χωρίς βόειο ορό για 20 ώρες. Μετά το πέρας των 20 ωρών ένα υψηλό ποσοστό κυττάρων αναστέλλεται στη φάση G_0/G_1 . Τα κύτταρα επαναδιεγέρθηκαν με επώαση σε θρεπτικό υλικό που περιείχε 10% βόειο ορό για 24 ώρες, για να εισέλθουν στον κυτταρικό κύκλο [223]. Στη συνέχεια, τα κύτταρα εμβολιάστηκαν σε τρυβλία των 24 φρεατίων και επωάστηκαν για 5

ώρες. Έπειτα προστέθηκαν 100 ή 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ του εκάστοτε εκχυλίσματος και τα κύτταρα επώαστηκαν για 12 ή 24 ώρες. Μετά την επώαση των κυττάρων με το εκάστοτε εκχύλισμα το θρεπτικό υλικό των κυττάρων αφαιρέθηκε, τα κύτταρα ξεπλύθηκαν με PBS και υποβλήθηκαν σε κατεργασία με θρυψίνη. Τα αποκολλημένα κύτταρα φυγοκεντρήθηκαν στις 2200 rpm για 6 λεπτά, σε θερμοκρασία δωματίου. Το υπερκείμενο απορρίφθηκε, το προκύπτον κυτταρικό ίζημα ξεπλύθηκε με PBS και φυγοκεντρήθηκε στις παραπάνω συνθήκες. Το στάδιο πλύσης επαναλήφθηκε για μια ακόμη φορά. Μετά την απομάκρυνση του PBS, τα κύτταρα σταθεροποιήθηκαν προσθέτοντας στάγδην 4.5 mL 70% (v/v) ψυχρή αιθανόλη στο κυτταρικό ίζημα και αποθηκεύτηκαν στους -20°C για μία νύχτα. Το κυτταρικό εναίωρημα φυγοκεντρήθηκε στις 2200 rpm για 6 λεπτά, η αιθανόλη απομακρύνθηκε και το προκύπτον κυτταρικό ίζημα ξεπλύθηκε δύο φορές με PBS. Το κυτταρικό ίζημα επαναιωρήθηκε σε διάλυμα PI, επώαστηκε στους 37°C , στο σκοτάδι, για 45 λεπτά και στη συνέχεια αναλύθηκε με κυτταρομετρία ροής. Για κάθε δείγμα καταγράφηκαν τουλάχιστον 30.000 συμβάντα και η αναλογία των κυττάρων στις φάσεις G_0/G_1 , S και G_2/M του κυτταρικού κύκλου υπολογίστηκε από τα προκύπτοντα ιστογράμματα DNA χρησιμοποιώντας το λογισμικό BD FACS Diva [224].

2.8 Μελέτη της επίδρασης των εκχυλισμάτων στη μετανάστευση των κυττάρων

Για τη μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε διαμήκης αμυχή με χρήση κίτρινου ρύγχους (200 μL) σε μονοστιβάδα κυττάρων, έτσι ώστε να προκύψει περιοχή χωρίς κύτταρα. Στη συνέχεια προστέθηκαν 50, 100 και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ από το εκάστοτε εκχύλισμα στις προαναφερθείσες κυτταρικές σειρές και στη συνέχεια μετρήθηκε η απόσταση των δύο άκρων που σχηματίζουν τα εναπομείναντα κύτταρα στην ώρα μηδέν (δημιουργία αμυχής) και μετά από 24 ώρες. Για να γίνει αυτό τις προαναφερθείσες ώρες επιλέχθηκε σημειώθηκε περιοχή κυττάρων και πραγματοποιήθηκε λήψη φωτογραφιών μεγέθυνσης 5x με κάμερα ενσωματωμένη σε μικροσκόπιο ανεστραμμένης φάσης (Olympus CK40). Οι εικόνες που ελήφθησαν για κάθε δείγμα αναλύθηκαν περαιτέρω χρησιμοποιώντας το λογισμικό Leica LAS X. Ως δείγμα ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν κύτταρα τα οποία

επωάστηκαν απουσία των εκχυλισμάτων, ενώ ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκαν κύτταρα τα οποία επωάστηκαν παρουσία αυξητικών παραγόντων. Η μέση απόσταση των δύο άκρων της αμυχής (MAA) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας μετρήσεις από τρία διαφορετικά σημεία για κάθε δείγμα [221]. Η μείωση της MAA (%) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \text{ μείωση της MAA} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100$$

Όπου A_0 η MAA στον χρόνο 0 και A_t η MAA στις 24 ώρες.

2.9 Μελέτη της αντιφλεγμονώδους δράσεις των εκχυλισμάτων

2.9.1 Αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης

Η μελέτη της αντιφλεγμονώδους δράσης πραγματοποιήθηκε βασιζόμενη σε προγενέστερη μέθοδο (μέθοδος του Osman) [225] μετά από κάποιες τροποποιήσεις. Σε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 1 mL PBS, 1 mL αλβουμίνης (3% w/v σε PBS) και 1 mL διαλύματος φυτικού εκχυλίσματος (οι τελικές συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν ήταν 50, 100, 200, 400 και 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ σε PBS). Τα δείγματα επωάστηκαν στους 37 °C για 20 λεπτά και κατόπιν θερμάνθηκαν στους 70 °C για 20 λεπτά. Μετά από ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου η θολερότητα μετρήθηκε φασματοφωτομετρικά στα 660 nm. Για κάθε εξεταζόμενη συγκέντρωση παρασκευάστηκαν τρία όμοια διαλύματα. Η αναστολή της αποδιάταξης της πρωτεΐνης (%) υπολογίστηκε ως εξής:

$$\begin{aligned} &\% \text{ αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης} \\ &= \frac{\text{θολερότητα}_{\text{δείγματος ελέγχου}} - \text{θολερότητα}_{\text{δείγματος}}}{\text{θολερότητα}_{\text{δείγματος ελέγχου}}} \times 100 \end{aligned}$$

2.9.2 Αναστολή της αποσταθεροποίησης της μεμβράνης των ανθρώπινων ερυθρών αιμοσφαιρίων

Η σταθεροποίηση της μεμβράνης των ανθρώπινων ερυθρών αιμοσφαιρίων (red blood cells, RBC) μελετήθηκε, ακολουθώντας μια προηγουμένως αναφερθείσα μέθοδο [226]. Όγκος διαλύματος RBCs αναμείχθηκε με ίσο όγκο διαλύματος φυτικού εκχυλίσματος (έτσι ώστε η τελική συγκέντρωση να κυμαίνεται μεταξύ 0,2 έως 1 g mL⁻¹) και το μίγμα επωάστηκε στους 56 °C για 30 λεπτά. Μετά το πέρας των 30 λεπτά ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 1500 rpm για 5 λεπτά. Μετά τη φυγοκέντρηση, η απορρόφηση του υπερκειμένου μετρήθηκε στα 560 nm. Η προστασία της αποσταθεροποίησης της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$\text{Σταθεροποίηση ερυθροκυττάρων (\%)} = \frac{A_{\text{δείγματος ελέγχου}} - A_{\text{δείγματος}}}{A_{\text{δείγματος ελέγχου}}} \times 100$$

Όπου A η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος.

2.10 Δοκιμασίες αντιοξειδωτικής δράσης

Για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω μέθοδοι. Οι συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 50, 100, 200, 400 και 600 μg mL⁻¹.

2.10.1 Δοκιμασία DPPH[•]

Η μελέτη της δέσμευσης των ελευθέρων ριζών (DPPH[•]) έγινε σύμφωνα με προηγούμενη αναφορά, με μικρές τροποποιήσεις [227]. Σε δοκιμαστικό σωλήνα αναμείχθηκαν 3,9 mL διαλύματος DPPH[•] (1: 1 μεθανόλη: απεσταγμένο ύδωρ, 3x10⁻⁵ mol L⁻¹) με 1,1 mL μείγματος μεθανόλης: απεσταγμένου ύδατος (1: 1), που περιέχει το εκάστοτε εκχύλισμα σε διάφορες συγκεντρώσεις και το μίγμα αναδεύτηκε για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Η απορρόφηση του διαλύματος μετρήθηκε στα 515 nm. Το καθαρό διάλυμα DPPH[•], που παρασκευάστηκε υπό τις ίδιες συνθήκες, χρησιμοποιήθηκε

ως δείγμα ελέγχου. Ο προσδιορισμός της απορρόφησης DPPH· (%) προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \text{ DPPH} \cdot = \frac{A_{\text{δείγματος ελέγχου}} - A_{\text{δείγματος}}}{A_{\text{δείγματος ελέγχου}}} \times 100$$

Όπου A η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος.

2.10.2 Αναστολή της οξείδωσης των λιπιδίων - Δοκιμασία TBARS

Η αναστολή της οξείδωσης των λιπιδίων μελετήθηκε χρησιμοποιώντας την δοκιμασία TBARS. Ως μήτρα οξείδωσης χρησιμοποιήθηκε η φωσφατιδυλοχολίνη (PC) [227]. Σε δοκιμαστικό σωλήνα, προστέθηκαν 40 μL διαλύματος PC (10 g L^{-1} σε PBS), 60 μL KCl (1 mol L^{-1}), 80 μL FeCl_3 (1 mmol L^{-1}), 200 μL απεσταγμένου ύδατος, φυτικά εκχυλίσματα σε διάφορες συγκεντρώσεις και 20 μL ασκορβικού οξέος (1 mmol L^{-1}) αναμίχθηκαν και επωάστηκαν για 1 ώρα στους 37°C . Στη συνέχεια προστέθηκαν διαδοχικά 10 μL διαλύματος BHT 0,002% (w/v) σε μεθανόλη, 400 μL τριχλωρωξικού οξέος 2,8% (w/v) και 400 μL θειοβαρβιτουρικού οξέος 1,0% (w/v) σε $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ και το μείγμα επωάστηκε για 20 λεπτά στους 100°C . Μετά από ψύξη επί 5 λεπτά σε πάγο, προστέθηκε 1 mL n-βουτανόλης και το μίγμα ανακινήθηκε έντονα. Μετά από φυγοκέντρηση για 5 λεπτά στις 3000 rpm, μετρήθηκε η απορρόφηση της οργανικής φάσης στα 530 nm. Η αναστολή της οξείδωσης PC (%) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \text{ αναστολή της οξείδωσης PC} = \frac{A_{\text{δείγματος ελέγχου}} - A_{\text{δείγματος}}}{A_{\text{δείγματος ελέγχου}}} \times 100$$

Όπου A η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος.

2.10.3 Ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων

Σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα, προστέθηκαν 3 mL εκχυλίσματος (διαφόρων συγκεντρώσεων), 3,7 mL απεσταγμένου ύδατος, 0,1 mL FeCl_2 (2 mmol L^{-1}) και 0,2 mL φερροζίνης (5 mmol L^{-1}) και το μίγμα αναδεύτηκε επί 10 λεπτά. Μετά από 10 λεπτά, η απορρόφηση μετρήθηκε στα 560 nm [228]. Η ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων

(%) (δηλ. η αναστολή σχηματισμού συμπλόκου φερροζίνης-Fe²⁺) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$\begin{aligned} & \% \text{ ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων} \\ &= \frac{A_{\text{δείγματος ελέγχου}} - A_{\text{δείγματος}}}{A_{\text{δείγματος ελέγχου}}} \times 100 \end{aligned}$$

Όπου A η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος.

2.10.4 Αναγωγική ισχύς

Σε δοκιμαστικό σωλήνα, 2,5 mL εκχυλίσματος (διαφόρων συγκεντρώσεων), 2,5 mL διαλύματος φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος (pH 6,6, 0,2 mol L⁻¹) και 2,5 mL K₃[Fe(CN)₆] 1% (w/v) προστίθενται, αναμιγνύονται και επωάζονται στους 50 °C για 20 λεπτά. Στη συνέχεια, προστέθηκε διάλυμα 2,5 mL τριχλωροξικού οξέος (10% w/v) και το μίγμα φυγοκεντρήθηκε στις 3000 rpm για 5 λεπτά. Από το υπερκείμενο υγρό παραλαμβάνονται 2,5 mL και μεταφέρονται σε νέο δοκιμαστικό σωλήνα, όπου προστέθηκαν 2,5 mL ε και 0,5 mL FeCl₃ (0,1% w/v). Μετά από 10 λεπτά ανάδευσης, η απορρόφηση μετρήθηκε στα 700 nm. Το διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε ως τυφλό αποτελείται από απεσταγμένο ύδωρ, χωρίς την προσθήκη φυτικού εκχυλίσματος [228].

$$\% \text{ αναγωγική ισχύς} = \frac{A_{\text{δείγματος ελέγχου}} - A_{\text{δείγματος}}}{A_{\text{δείγματος ελέγχου}}} \times 100$$

Όπου A η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος.

2.10.5 Αναστολή της οξειδωσης των πρωτεϊνών

Η αναστολή της οξειδωσης των πρωτεϊνών βασίστηκε στην αντίδραση Fenton/BSA [228]. Σε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 100 μL διαλύματος BSA (20 mg mL⁻¹ σε PBS), 100 μL διαλύματος FeCl₂/κιτρικού οξέος (4,4/4,0 mmol L⁻¹), 100 μL διαλύματος H₂O₂ (4,4 mmol L⁻¹) προστέθηκαν και το μίγμα επώαστηκε στους 37 °C για 1 ώρα. Μετά την προσθήκη 1 mL διαλύματος 2,4-δινιτροφαινυλ-υδραζίνης (0,01 mol L⁻¹ σε διάλυμα 2 mol L⁻¹), το μίγμα επώαστηκε περαιτέρω για 1 ώρα, με περιοδική ανάδευση κάθε 15 λεπτά. Στη συνέχεια, προστέθηκε 1 mL διαλύματος τριχλωροξικού οξέος (20% w/v) και το μίγμα

φυγοκεντρήθηκε στις 3000 rpm για 5 λεπτά. Το υπερκείμενο απορρίφθηκε και το ίζημα πλύθηκε τρεις φορές με 2 mL αιθανόλη: οξικό αιθύλιο (1: 1 v/v). Τέλος, το ίζημα διαλυτοποιήθηκε σε 1,2 mL υδατικού διαλύματος γουανιδίνης (6 mol L⁻¹) και το μίγμα επωάστηκε στους 37°C για 20 λεπτά. Μετά τη φυγοκέντρωση, η απορρόφηση μετρήθηκε στα 390 nm. Το διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε ως τυφλό αποτελείται από απεσταγμένο ύδωρ, χωρίς την προσθήκη φυτικού εκχυλίσματος.

$$\% \text{ αναστολή της οξειδωσης των πρωτεϊνών} = \frac{A_{\text{δείγματος ελέγχου}} - A_{\text{δείγματος}}}{A_{\text{δείγματος ελέγχου}}} \times 100$$

Όπου A η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος.

2.10.6 Αντιοξειδωτική δράση με δέσμευση H₂O₂

Σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 0,6 mL διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου (40 mmol L⁻¹, παρασκευασμένο σε PBS (pH 7,4) και 0,4 mL διαλύματος εκχυλισμάτων (κατάλληλης συγκέντρωσης) και το διάλυμα αναδεύτηκε για 10 λεπτά [229]. Η απορρόφηση του διαλύματος μετρήθηκε στα 230 nm. Το δείγμα που περιείχε μόνο το διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου χρησιμοποιήθηκε ως θετικός μάρτυρας. Παρόμοια διαλύματα παρασκευάστηκαν απουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου και παρουσία μόνο των εκχυλισμάτων και μετρήθηκε η απορρόφησή τους, έτσι ώστε να αφαιρεθεί η απορρόφησή τους από τα δείγματα. Η δραστητικότητα % απορρόφησης του υπεροξειδίου του υδρογόνου υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \text{ δραστητικότητα H}_2\text{O}_2 = \frac{A_{\text{δείγματος ελέγχου}} - A_{\text{δείγματος}}}{A_{\text{δείγματος ελέγχου}}} \times 100$$

Όπου A η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος.

2.11 Προστασία των κυττάρων από ROS

2.11.1 Προσδιορισμός θανατηφόρου συγκέντρωσης H₂O₂

Για να αξιολογηθεί το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από το H₂O₂ στα κύτταρα HEK-293 και HaCaT και να βρεθεί η κατάλληλη συγκέντρωση που προκαλεί μείωση στη βιωσιμότητά τους κατά 40%, τα κύτταρα εμβολιάστηκαν σε τρυβλία των 24 φρεατίων σε

συγκέντρωση 50.000 κυττάρων / φρεάτιο. Μετά από ολονύκτια επώαση προστέθηκαν 100, 200, 400, 600, 800 και 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ H_2O_2 . Τα κύτταρα επώαστηκαν με το H_2O_2 για 5 ώρες. Μετά από αυτό αφαιρέθηκε το υπερκείμενο και προστέθηκε 1 mL φρέσκου θρεπτικού μέσου σε κάθε φρεάτιο [230]. Η βιωσιμότητα των κυττάρων υπολογίστηκε μετρώντας τον αριθμό τους μετά από επώαση 24 ώρες με ανάλυση κρυσταλλικού ιώδους όπως αναφέρεται στην ενότητα 2.4.

2.11.2 Μελέτη της προστασίας των κυττάρων από το οξειδωτικό στρες παρουσία των εκχυλισμάτων

Για να εκτιμηθεί η βιωσιμότητα των κυττάρων που εκτίθενται σε οξειδωτικό στρες από το H_2O_2 , ακολουθήθηκε η διαδικασία που αναφέρεται στο τμήμα 2.8.1 με μικρές τροποποιήσεις. Πιο συγκεκριμένα, μετά από ολονύκτια επώαση κυττάρων με 100 και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ τσουκνίδας και κεδροκούκουτσου καθώς και με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ λαδανιάς, το υπερκείμενο αντικαταστάθηκε με φρέσκο θρεπτικό υλικό και τα κύτταρα πλύθηκαν με PBS. Ακολούθως, 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ή 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ υπεροξειδίου του υδρογόνου προστέθηκαν στα κύτταρα HEK-293 και HaCaT αντίστοιχα και τα κύτταρα επώαστηκαν για 5 ώρες. Στη συνέχεια, το υπερκείμενο απομακρύνθηκε και τα κύτταρα πλύθηκαν με PBS. Στο εκάστοτε φρεάτιο των τρυβλίων προστέθηκε 1 mL φρέσκο θρεπτικό και τα κύτταρα επώαστηκαν για 24 ώρες [231]. Η βιωσιμότητα των κυττάρων υπολογίστηκε μετρώντας τον αριθμό τους όπως αναφέρεται στην ενότητα 2.4.

2.11.3 Υπολογισμός των παραγόμενων ROS

Για να υπολογιστεί η ποσότητα των ROS που παρήχθησαν από τα κύτταρα παρουσία και απουσία των εκχυλισμάτων, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος προσδιορισμού της διακετονικής διχλωροφλουορεσκεΐνης. Πιο συγκεκριμένα τα κύτταρα επώαστηκαν με τα εκχυλίσματα που αναφέρονται στην προηγούμενη ενότητα για μία νύκτα και στη συνέχεια πλύθηκαν με PBS. Κατόπιν, 1 mL PBS, που περιείχε 100 μM διοξεικής διχλωροφλουορεσκεΐνης, προστέθηκε σε κάθε φρεάτιο και τα κύτταρα επώαστηκαν για 30 λεπτά. Στη συνέχεια, το υπερκείμενο απομακρύνθηκε, τα κύτταρα πλύθηκαν με

φρέσκο διάλυμα PBS και τέλος, 1 mL φρέσκου θρεπτικού υλικού που περιείχε υπεροξειδίο του υδρογόνου προστέθηκε σε κάθε φρεάτιο. Μετά από επώαση για 5 ώρες, τα κύτταρα συλλέχθηκαν και η εκπομπή φθορισμού καταγράφηκε χρησιμοποιώντας φασματοφθορόμετρο με διέγερση 485 nm και εκπομπή μήκους κύματος 530 nm [231]. Η παραγωγή των ROS εκφράστηκε ως ποσοστό των κυττάρων ελέγχου σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\% \text{ μείωση των παραγόμενων ROS} = \frac{A_{\text{δείγματος ελέγχου}} - A_{\text{δείγματος}}}{A_{\text{δείγματος ελέγχου}}} \times 100$$

Όπου A η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος.

2.12 Συμβατότητα αίματος

Η συμβατότητα των εκχυλισμάτων με το αίμα εξετάστηκε σύμφωνα με προηγούμενη μέθοδο [221]. Ανθρώπινο αίμα συλλέχθηκε και αναμείχθηκε με ίσο όγκο φυσιολογικού ορού (3% w/w κιτρικό νάτριο προστέθηκε ως αντιθρομβωτικό στο αίμα πριν την ανάμιξη). Σε 1 mL αίματος, προστέθηκε φυσιολογικό ορός που περιείχε το εκχύλισμα τσουκνίδας, λαδανιάς και κεδροκούκουτσου σε συγκεντρώσεις 200, 400, 600 και 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και το μίγμα επώαστηκε για 60 λεπτά στους 37 °C. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και καταγράφηκε η απορρόφηση στα 540 nm. Το δείγμα που περιείχε φυσιολογικό ορό και αυτό που περιείχε 1% Triton-X χρησιμοποιήθηκαν ως αρνητικοί και θετικοί μάρτυρες, αντίστοιχα.

$$\% \text{ αιμόλυση ερυθρών αιμοσφαιρίων} = \frac{A_{\text{δείγματος ελέγχου}} - A_{\text{δείγματος}}}{A_{\text{δείγματος ελέγχου}}} \times 100$$

Όπου A η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος.

Επίσης μελετήθηκε ο χρόνος πήξης του αίματος παρουσία και απουσία των εκχυλισμάτων. Μία σταγόνα αίματος τοποθετήθηκε σε καθαρό γυάλινο πλακίδιο και προστέθηκε διάλυμα εκχυλισμάτων. Στη συνέχεια προστέθηκαν 25 μL χλωριούχου

ασβεστίου (50 mmol L^{-1}) και καταγράφηκε ο χρόνος που απαιτείται για την πήξη του αίματος. Το αίμα στο οποίο προστέθηκε φυσιολογικός ορός χρησιμοποιήθηκε ως δείγμα ελέγχου [221].

2.13 *In vivo* πειράματα

Για τα *in vivo* πειράματα χορηγήθηκε άδεια διεξαγωγής τους από την Επιτροπή Αξιολόγησης Πρωτοκόλλων (ΕΑΠ) του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με αριθμό Πρωτοκόλλου 2757/22.03.2019 ππ και τα πειράματα διεξήχθησαν με βάση τους εγκεκριμένους κανόνες βιοηθικής.

2.13.1 Συνθήκες πειράματος

Για τα *in vivo* πειράματα χρησιμοποιήθηκαν 24 αρσενικοί επίμυες (Wistar rats) μη γενετικά τροποποιημένοι, 4 έως 6 εβδομάδων, βάρους 150-200 gr. Οι επίμυες στεγάζονταν σε ξεχωριστά κλουβιά σε θερμοκρασία δωματίου, προκειμένου να μην έρχονται σε επαφή και μολύνουν ή επηρεάζουν με οποιοδήποτε άλλο τρόπο την φυσιολογική πορεία επούλωσης των τραυμάτων. Επιπλέον, τα κλουβιά στα οποία στεγάζονταν καθαρίζονταν καθημερινά και αποστειρώνονταν, προκειμένου να αποφευχθούν μολύνσεις που μπορεί να επηρεάσουν το πειραματικό αποτέλεσμα. Κατά της διεξαγωγή του πειράματος ο ημερήσιος κύκλος των ζώων αποτελούνταν από 12 ώρες έκθεσής τους στο φως και 12 ώρες έκθεσής τους σκοτάδι. Τροφή και νερό ήταν διαθέσιμα στα ζώα, προκειμένου να λαμβάνουν κατά βούληση τις ποσότητες που επιθυμούν.

2.13.2 Δημιουργία τραυμάτων

Για την διεξαγωγή του πειράματος δημιουργήθηκαν 2 ίδια τραύματα (full-thickness wounds) εκατέρωθεν της ράχης κάθε ζώου, χρησιμοποιώντας εργαλείο βιοψίας διαμέτρου 8 χιλιοστών. Πριν την δημιουργία των τομών τα ζώα αναισθητοποιήθηκαν με ένεση κεταμίνης ($10 \text{ mg } 100 \text{ g}$ σωματικού βάρους) ενδοπεριτοναϊκά. Παράλληλα χορηγήθηκε μυοχαλαρωτικό (ξυλαζίνη, $1 \text{ mg } 100 \text{ g}$ σωματικού βάρους). Υπό αναισθησία, το ραχιαίο δέρμα κάθε ζώου ξυρίστηκε, προκειμένου να απομακρυνθούν οι τρίχες και απολυμάνθηκε με χρήση διαλύματος αιθανόλης 70%. Για την περαιτέρω αντισηψία, το σημείο

επαλείφθηκε με betadine. Κατά τις πρώτες ώρες διεξαγωγής του πειράματος χορηγήθηκε παρακεταμόλη για τη μείωση του πόνου των πειραματόζων. Από τα δυο τραύματα που υπάρχουν στο κάθε ζώο, το ένα χρησιμοποιήθηκε ως «τραύμα ελέγχου», το οποίο υποβλήθηκε σε καθημερινή αγωγή με αλοιφή, η οποία χρησιμοποιείται ως βάση (εμπορικό σκεύασμα: βάση υδρόφιλης αλοιφής CHEMCO), ενώ το δεύτερο τραύμα είναι το «τραύμα - δείγμα» το οποίο υποβλήθηκε σε καθημερινή αγωγή με αλοιφή που περιείχε τα εκχυλίσματα τσουκνίδας, λαδανιάς και κεδροκούκουτσου σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις (στη βάση υδρόφιλης αλοιφής CHEMCO προστέθηκε κατάλληλη ποσότητα, αποστειρωμένου, υδατικού διαλύματος του εκάστοτε εκχυλίσματος, έτσι ώστε στην δόση που χορηγήθηκε να περιέχεται η επιθυμητή συγκέντρωση). Για κάθε συνθήκη χρησιμοποιήθηκαν 3 επίμυες. Στα υπόλοιπα ζώα, το ένα τραύμα χρησιμοποιήθηκε ως «τραύμα ελέγχου» και το δεύτερο ως «τραύμα δείγμα», όπου ως βάση χρησιμοποιήθηκε εμπορικό σκεύασμα (Madecassol με εκχύλισμα του φυτού *Centella asiatica*), το οποίο προτείνεται ως θεραπευτικό για την επούλωση των πληγών. Η χορήγηση της αλοιφής πραγματοποιούνταν μια φορά την ημέρα με χρήση ξύλινων αποστειρωμένων γλωσσοπιεστών. Κατά την χορήγηση της αλοιφής τα ζώα αναισθητοποιούνταν και λαμβάνονταν όλα τα δυνατά μέτρα προκειμένου να διαταράσσονται το ελάχιστο δυνατό. Σε καθημερινή βάση λαμβάνονταν φωτογραφίες, από σταθερό σημείο, για κάθε ζώο και καταγραφόταν η πρόοδος της επούλωσης των τραυμάτων που δημιουργήθηκαν. Οι περιοχές των τραυμάτων υπολογίστηκαν από κάθε φωτογραφία χρησιμοποιώντας το λογισμικό Image J. Με αυτό τον τρόπο, προσδιορίστηκε αυτόματα η περιοχή του τραύματος και το ποσοστό μείωσής της υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \text{ εμβαδόν περιοχής τραύματος} = \frac{E_0 - E_t}{E_0} \times 100$$

Όπου E_0 το εμβαδόν του τραύματος τη πρώτη μέρα και E_t το εμβαδόν του τραύματος στις διάφορες μέρες διεξαγωγής του πειράματος.

Οι προαναφερθείσες πειραματικές διαδικασίες επιλέχθηκαν με βάση τη συνηθισμένη επιστημονική πρακτική, μελετώντας βιβλιογραφικά δεδομένα. Η αρχή της αντικατάστασης δεν μπορεί να εφαρμοστεί στη προκειμένη περίπτωση, καθώς

πειραματόζωα όπως ασπόνδυλα ή φυτά δεν μπορούν να αξιοποιηθούν για πειράματα αξιολόγησης επούλωσης πληγών. Όσον αφορά την αρχή της μείωσης, ο σχεδιασμός του πειράματος βασίζεται στην ελάχιστη χρήση πειραματόζωων. Προκειμένου να προκύψουν «ασφαλή» στατιστικά συμπεράσματα, το κάθε ζώο είχε 2 τραύματα, εκ των οποίων το ένα χρησιμεύει ως τραύμα αναφοράς και το άλλο ως τραύμα - δείγμα. Με τον τρόπο αυτό, μειώνονται οι διακυμάνσεις μεταξύ των αποτελεσμάτων, καθώς το δείγμα συγκρίνεται με του τραύματος αναφοράς, στον ίδιο οργανισμό, σε σχέση με πειράματα στα οποία άλλα ζώα χρησιμεύουν ως ζώα-αναφοράς και άλλα ως ζώα-δείγματα [232,233].

2.13.3 Ιστοπαθολογική εξέταση

Στο τέλος της 5^{ης} και της 10^{ης} ημέρας, οι επίμυες υποβλήθηκαν σε ευθανασία και απομονώθηκαν δείγματα ιστών (2 δείγματα τομών ελέγχου και 2 δείγματα τομών τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε το εκχύλισμα που παρουσίασε την ταχύτερη επούλωση του τραύματος). Οι ιστοί διατηρήθηκαν σε 10% διάλυμα ουδέτερης φορμαλίνης και ενσωματώθηκαν σε παραφίνη. Χρησιμοποιώντας μικροτόμο, κόπηκαν τομές πάχους 5 μm , χρωματίστηκαν με συνδυασμό αιμοξυλίνης και εωσίνης (A&E) και τριχόχρωμη χρωστική Masson και εξετάστηκαν υπό οπτικό μικροσκόπιο. Η αιμοξυλίνη βάφει το DNA στον πυρήνα και άλλες βασεόφιλες δομές (π.χ. RNA και μεσοκυττάρια ουσία του χόνδρου) σε ιώδες χρώμα. Η εωσίνη βάφει ροζ άλλα συστατικά του κυτταροπλάσματος και το κολλαγόνο. Η τρίχρωμη χρωστική Masson εκτός από την πολύ καλή κατάδειξη των πυρήνων και του κυτταροπλάσματος, βοηθά καλύτερα από την A&E στην διάκριση των συστατικών της εξωκυττάριας ουσίας.

2.14 Στατιστική ανάλυση

Όλες οι αναλύσεις επαναλήφθηκαν τρεις φορές για να εξασφαλιστεί η αναπαραγωγιμότητα. Οι τιμές P μικρότερες από 0,05 θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέση $\pm$ τυπική απόκλιση. Τα επίπεδα σημαντικότητας μεταξύ των δειγμάτων συγκρίθηκαν με μονόδρομη ανάλυση ANOVA με χρήση του t-test Student.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Φυτοχημική ανάλυση εκχυλισμάτων

Πριν τη διεξαγωγή των *in vitro* πειραμάτων έγινε φυτοχημική ανάλυση των εκχυλισμάτων προκειμένου να προκύψουν αποτελέσματα σχετικά με τη σύσταση του εκάστοτε εκχυλίσματος. Τα πειράματα που διεξήχθησαν δίνουν ποιοτικά αποτελέσματα και όχι ποσοτικά. Τα εκχυλίσματα μελετήθηκαν ως προς την περιεκτικότητά τους σε σαπωνοειδή, τερπενοειδή, αλκαλοειδή, τανίνες, φλοβατανίνες, φλαβονοειδή, φαινόλες, υδατάνθρακες, κετόζες, στεροειδή, ξανθοπρωτεΐνες, πρωτεΐνες, αμινοξέα, καρβοξυλικά οξέα, ρητίνες, κινόνες, κουμαρίνες, ανάγοντα σάκχαρα, μονοσακχαρίτες, καρδιακούς γλυκοζίτες και τα αποτελέσματα παρατίθενται στον πίνακα 4. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι όλα τα εκχυλίσματα περιέχουν σαπωνοειδή και υδατάνθρακες, ενώ δεν περιέχουν τερπενοειδή (με εξαίρεση το εκχύλισμα τριαντάφυλλο, σκορπίδι και κράταιγος), αλκαλοειδή (με εξαίρεση την παιώνια), φλοβατανίνες (με εξαίρεση το κεδροκούκουτσο), καρβοξυλικά οξέα, ξανθοπρωτεΐνες, αμινοξέα (με εξαίρεση τον κράταιγο και την παιώνια) καθώς και καρδιακούς γλυκοζίτες. Επίσης, φαίνονται ότι δεν περιέχουν όλα τα φυτά φλαβονοειδή, γεγονός που διαφοροποιεί τα συγκριμένα εκχυλίσματα από άλλα εκχυλίσματα που αναφέρονται μέχρι στιγμής στη βιβλιογραφία. Αυτό είναι αποτέλεσμα του τρόπου εκχύλισης, με τον οποίο απομακρύνονται πολλά συστατικά και παραλαμβάνονται εκχυλίσματα με λιγότερα συστατικά.

Απαραίτητη προϋπόθεση στη μελέτη των φυτικών εκχυλισμάτων είναι η δυνατότητα παρασκευής εκ νέου του εκάστοτε εκχυλίσματος και η διασφάλιση της επαναληψιμότητας της διαδικασίας εκχύλισης με τέτοιο τρόπο, έτσι ώστε να είναι δυνατή η αναπαραγωγή των αποτελεσμάτων ακόμα και με χρήση διαφορετικών εκχυλισμάτων που προέρχονται από διαφορετική παρτίδα του ίδιου φυτού. Προκειμένου αρχικά να ελαχιστοποιηθούν οι διακυμάνσεις στα παρασκευαζόμενα εκχυλίσματα, χρησιμοποιήθηκαν φυτά που συλλεχθήκαν την ίδια χρονική περίοδο κάθε έτους και φύονταν στην περιοχή της Ηπείρου. Προκειμένου να αξιολογηθεί η σύσταση του κάθε εκχυλίσματος, λήφθηκε το δακτυλικό αποτύπωμα του κάθε εκχυλίσματος. Αυτό επιτεύχθηκε με χρήση φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR). Η χρήση του NMR είναι ιδιαίτερα

διαδεδομένη στη μελέτη των φυτικών εκχυλισμάτων καθώς μπορεί σε πολύ λίγο χρόνο να δώσει πληροφορίες για την περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων και καθώς είναι μια μη εκλεκτική τεχνική να παρατηρηθούν κορυφές όλων των διαφορετικών τύπων πρωτονίων που περιέχονται στο εκάστοτε εκχύλισμα. Στην προκειμένη περίπτωση λήφθηκαν τα φάσματα NMR πρωτονίου για το εκάστοτε εκχύλισμα. Στο σημείο αυτό να αναφερθεί ότι με σύγκριση των φασμάτων NMR αξιολογήθηκαν ποιοτικά τα διαφορετικά εκχυλίσματα που παρασκευάστηκαν κατά καιρούς από το κάθε φυτό. Σε όλες τις περιπτώσεις δεν βρέθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές στα δακτυλικά αποτυπώματα των εκχυλισμάτων, γεγονός που δηλώνει την παραπλήσια περιεκτικότητά τους σε φυτοχημικά συστατικά. Ωστόσο, οι μικρές διαφορές που παρατηρήθηκαν είναι αναμενόμενες αναλογιζόμενοι την πλειάδα των παραμέτρων που μπορεί να επηρεάσει τη σύσταση των φυτών σε ενώσεις (καιρικές συνθήκες, βροχόπτωση, χρήση γεωργικών λιπασμάτων, κ.α.), φαινόμενο που παρατηρείται συχνά στις μελέτες των φυσικών προϊόντων. Ωστόσο, οι μικρές αυτές διαφοροποιήσεις στη σύσταση των εκχυλισμάτων δεν επηρέασαν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό τα αποτελέσματα των πειραμάτων που αναλύονται στη συνέχεια, γεγονός που δηλώνει αφενός ότι η περιεκτικότητα των φυτών στα βιοδραστικά συστατικά στα οποία οφείλονται οι παρατηρούμενες δράσεις δεν επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τις γεωκλιματικές παραμέτρους και αφετέρου ότι με τη μέθοδο εκχύλισης που ακολουθείται, η σύσταση των εκχυλισμάτων είναι επαναλήψιμη. Τα δακτυλικά αποτυπώματα των εκχυλισμάτων δίνονται στις εικόνες 30 έως 49. Για λόγους ευκρίνειας παρουσιάζεται ένα δακτυλικό αποτύπωμα για κάθε εκχύλισμα, ενώ και τα υπόλοιπα δακτυλικά αποτυπώματα, όπως προαναφέρθηκε δεν διαφοροποιούνται σημαντικά.

Δεδομένου ότι τα φάσματα NMR λήφθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου και σε πρωτικό διαλύτη, οι απορροφήσεις συντονισμού των υδροξυλικών πρωτονίων εμφανίζονται διευρυμένες, λόγω της ταχείας ανταλλαγής τους με τα πρωτόνια του διαλύτη.

Στην περιοχή των 6-8 ppm εμφανίζονται κατά κύριο λόγο τα αρωματικά πρωτόνια. Όπως φαίνεται στα φάσματα NMR των φυτών: φραγκουλιά, τσουκνίδα, τριγωνέλλα, τριαντάφυλλο, σκορπίδι, στελλάρια, περδικάκι, μποράνγκο, κράταιγος, κεδροκούκουτσο, καλεντούλα, γάλλιο και αγριμόνιο στην περιοχή αυτή εμφανίζονται ελάχιστα έως καθόλου σήματα συντονισμού, ενώ στα φάσματα NMR των φυτών: χελιδόνιο, παιώνια,

παναγιόχορτο, λαδανιά, εκουϊζέτο, επιλόβιο και δίκταμος εμφανίζονται περισσότερα σήματα συντονισμού, τα οποία μπορεί να οφείλονται σε αρωματικά αμινοξέα ή/και πρωτεΐνες. Επιπλέον σε όλα τα φάσματα NMR παρατηρείται η ύπαρξη μιας ομάδας σημάτων συντονισμού στην περιοχή 2,5-4 ppm, τα οποία οφείλονται σε σαπωνίνες και υδρογονάνθρακες. Τα αποτελέσματα αυτά συνάδουν με αυτά που παρουσιάζονται στον πίνακα 4.

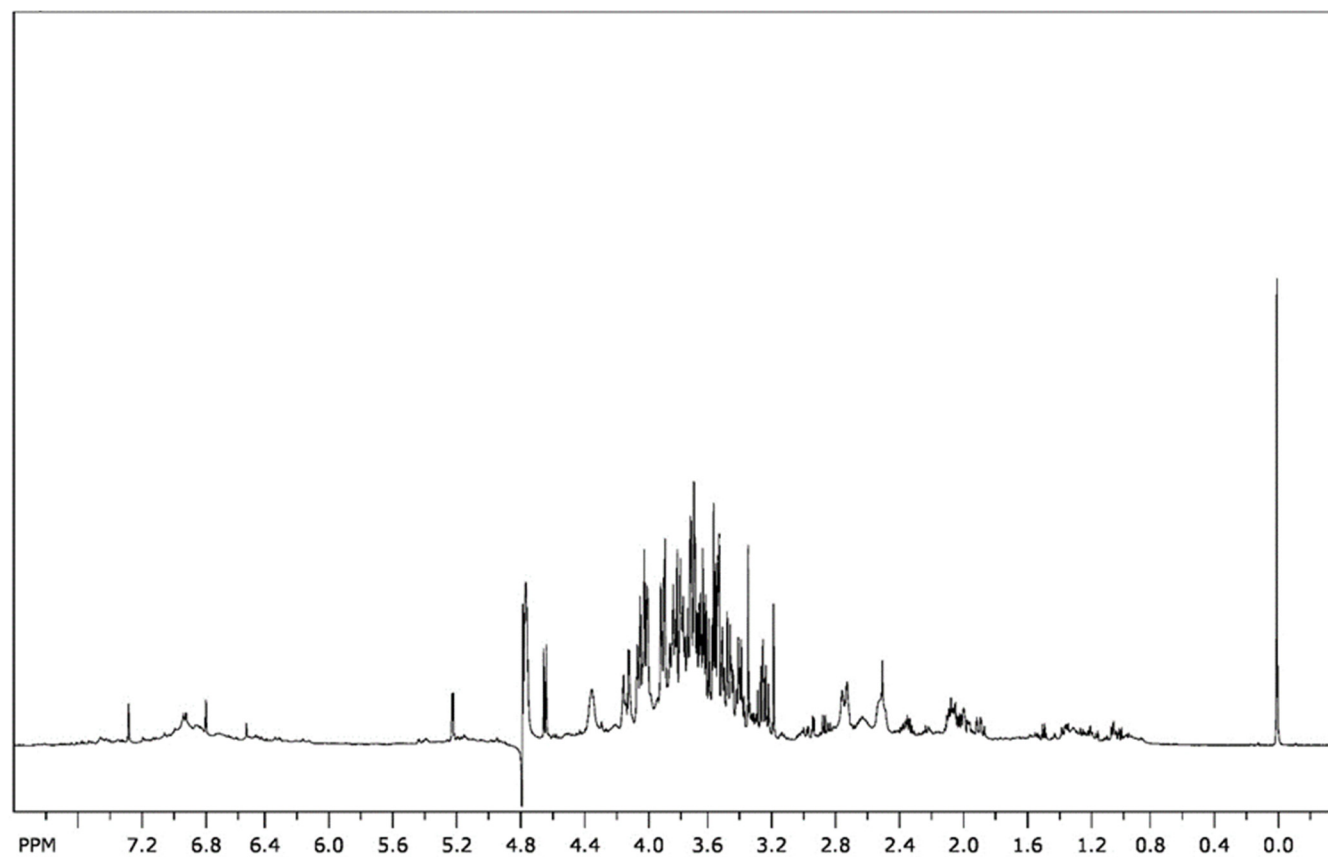
Πίνακας 4: Κατηγορίες φυτοχημικών ενώσεων σε κάθε εκχύλισμα. Με ✓ υποδηλώνεται η παρουσία των αντίστοιχων ενώσεων και με ✕ η απουσία τους

	Σαπωνοειδή	Τερπενοειδή	Αλκαλοειδή	Τανίνες	Φλοβατανίνες	Φλαβονοειδή	Φαινόλες
Αγριμόνιο	✓	✕	✕	✓	✕	✓	✓
Γάλλιο	✓	✕	✕	✕	✕	✕	✕
Δίκταμο	✓	✕	✕	✓	✕	✓	✓
Εκουϊζέτο	✓	✕	✕	✕	✕	✓	✕
Επιλόβιο	✓	✕	✕	✓	✕	✕	✓
Καλεντούλα	✓	✕	✕	✕	✕	✓	✕
Κεδροκούκουτσο	✓	✕	✕	✓	✓	✓	✓
Κράταιγος	✓	✓	✕	✓	✕	✓	✕
Λαδανιά	✓	✕	✕	✓	✕	✓	✕
Μποράνγκο	✓	✕	✕	✕	✕	✓	✕
Παναγιόχορτο	✓	✕	✕	✕	✕	✓	✕
Παιώνια	✓	✕	✓	✕	✕	✕	✕
Περδικάκι	✓	✕	✕	✕	✕	✓	✕
Σκορπίδι	✓	✓	✕	✓	✕	✕	✓
Στελλάρια	✓	✕	✕	✕	✕	✕	✕
Τριαντάφυλλο	✓	✓	✕	✓	✕	✕	✓
Τριγωνέλλα	✓	✕	✕	✓	✕	✓	✕
Τσουκνίδα	✓	✕	✕	✕	✕	✓	✕
Φραγκουλιά	✓	✕	✕	✕	✕	✕	✕
Χελιδόνιο	✓	✕	✕	✕	✕	✓	✕

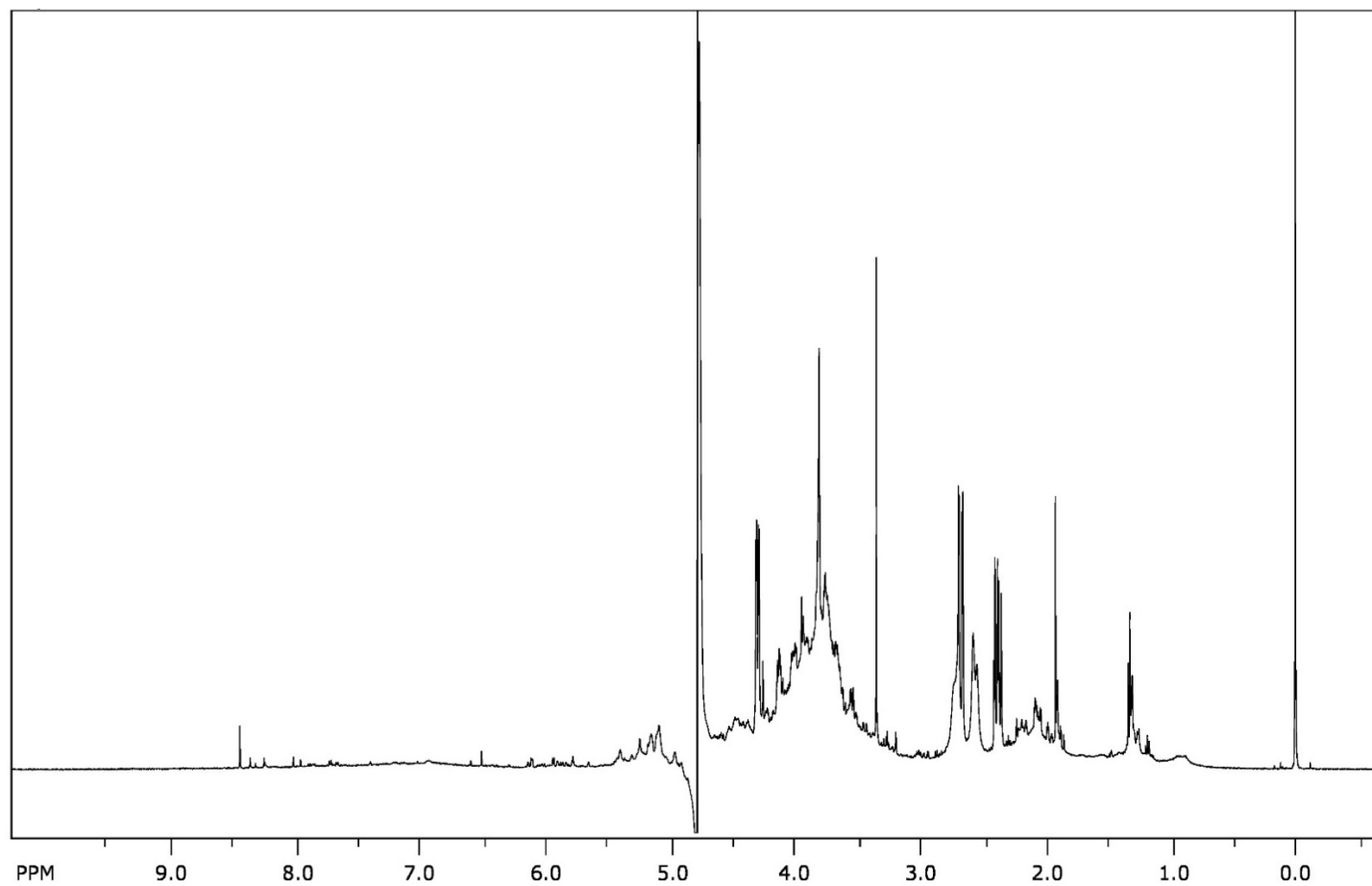
	Υδατάνθρακες	Κετόζες	Στεροειδή	Ξανθοπρωτεΐνες	Πρωτεΐνες	Αμινοξέα	Καρβοξυλικά οξέα
Αγριμόνιο	✓	✗	✗	✗	✓	✗	✗
Γάλλιο	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✗
Δίκταμο	✓	✗	✗	✗	✓	✗	✗
Εκουϊζέτο	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗
Επιλόβιο	✓	✓	✗	✗	✓	✗	✗
Καλεντούλα	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗
Κεδροκούκουτσο	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗
Κράταιγος	✓	✓	✓	✗	✗	✓	✗
Λαδανιά	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗
Μποράνγκο	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗
Παναγιόχορτο	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✗
Παιώνια	✓	✗	✗	✗	✗	✓	✗
Περδικάκι	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗
Σκορπίδι	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗
Στελλάρια	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗
Τριαντάφυλλο	✓	✓	✓	✗	✓	✗	✗
Τριγωνέλλα	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗
Τσουκνίδα	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗
Φραγκουλιά	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗
Χελιδόνιο	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗

	Ρητίνες	Κινόνες	Κουμαρίνες	Ανάγοντα σάκχαρα	Μονοσακχαρίτες	Καρδιακοί γλυκοζίτες
Αγριμόνιο	✓	✗	✓	✓	✗	✗
Γάλλιο	✗	✗	✗	✗	✗	✗
Δίκταμο	✗	✗	✗	✓	✓	✗
Εκουϊζέτο	✗	✗	✗	✗	✗	✗
Επιλόβιο	✗	✓	✗	✓	✗	✗
Καλεντούλα	✓	✗	✓	✓	✗	✗
Κεδροκούκουτσο	✓	✓	✗	✓	✓	✗
Κράταιγος	✓	✗	✓	✓	✓	✗
Λαδανιά	✓	✗	✗	✗	✗	✗
Μποράνγκο	✓	✗	✗	✓	✗	✗
Παναγιόχορτο	✗	✗	✗	✓	✓	✗
Παιώνια	✗	✓	✗	✗	✗	✗
Περδικάκι	✗	✗	✓	✗	✗	✗
Σκορπίδι	✓	✗	✗	✓	✗	✗
Στελλάρια	✗	✗	✓	✗	✗	✗
Τριαντάφυλλο	✗	✗	✗	✓	✓	✗
Τριγωνέλλα	✓	✗	✓	✓	✗	✗
Τσουκνίδα	✓	✗	✓	✗	✗	✗
Φραγκουλιά	✓	✗	✓	✗	✗	✗
Χελιδόνιο	✗	✗	✗	✓	✗	✗

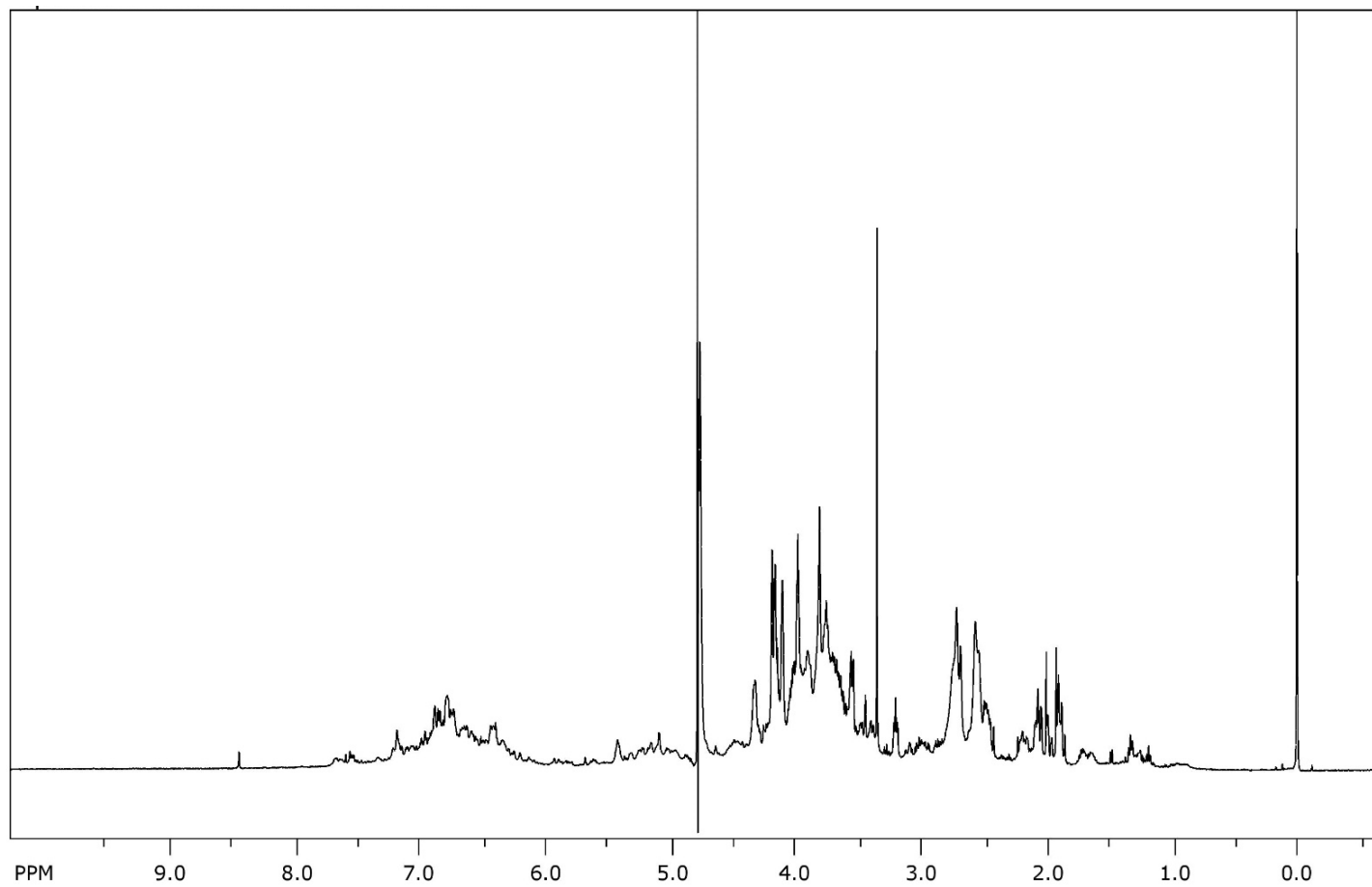
3.1.1 Μελέτη χημικής σύστασης εκχυλισμάτων με χρήση ^1H -NMR



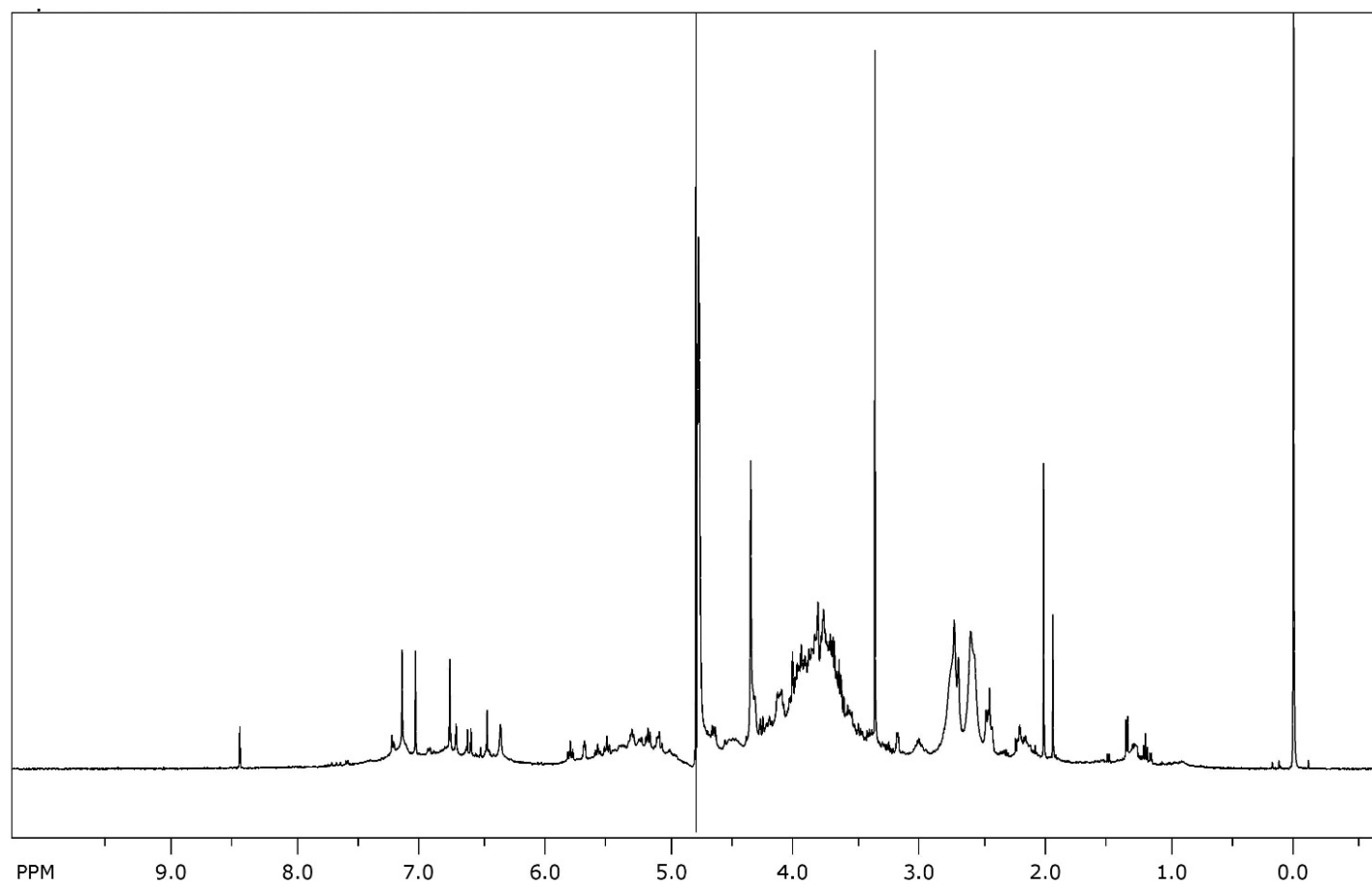
Εικόνα 30: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος αγριμονίου σε D_2O .



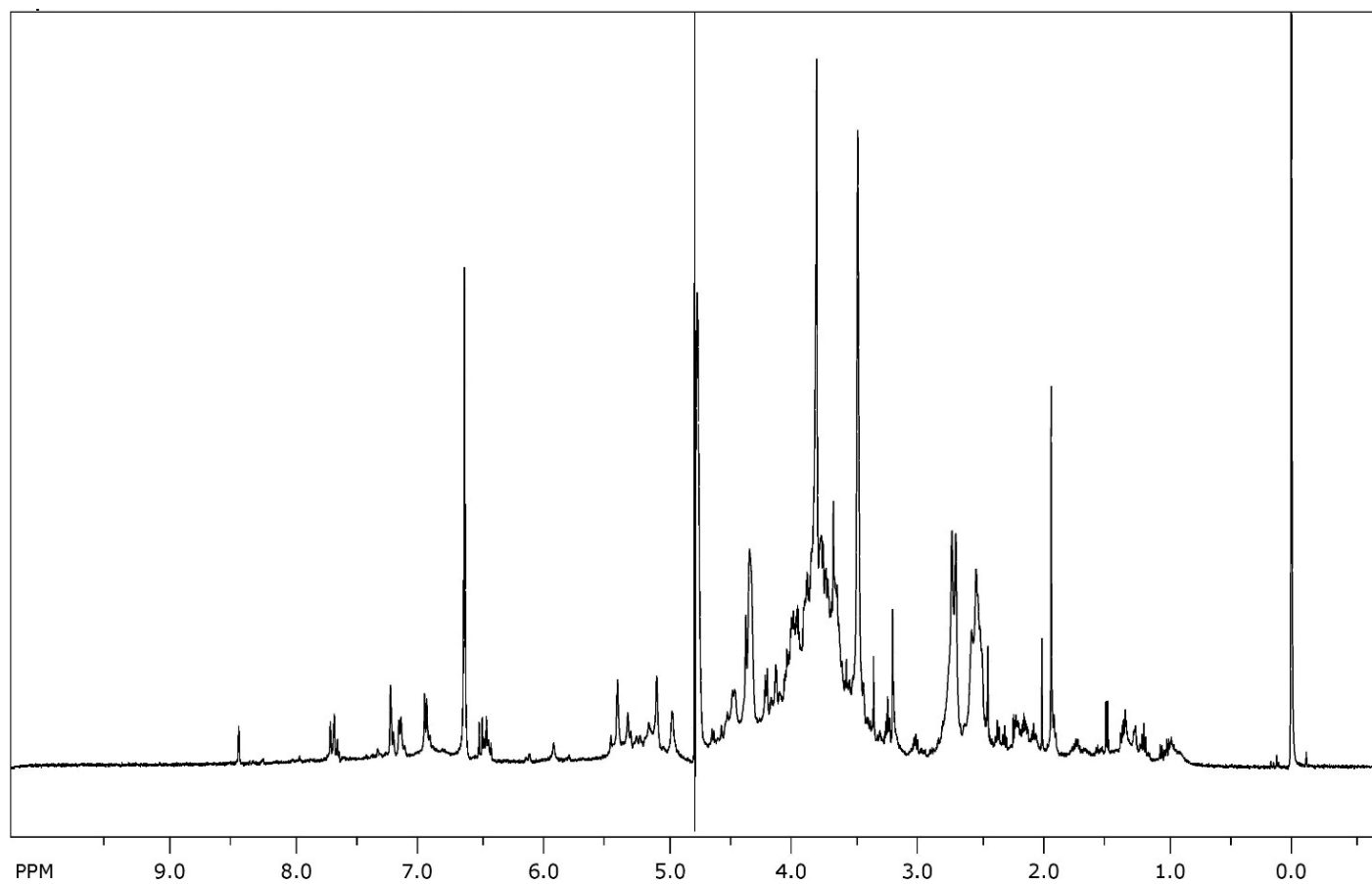
Εικόνα 31: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος γαλλίου σε D_2O .



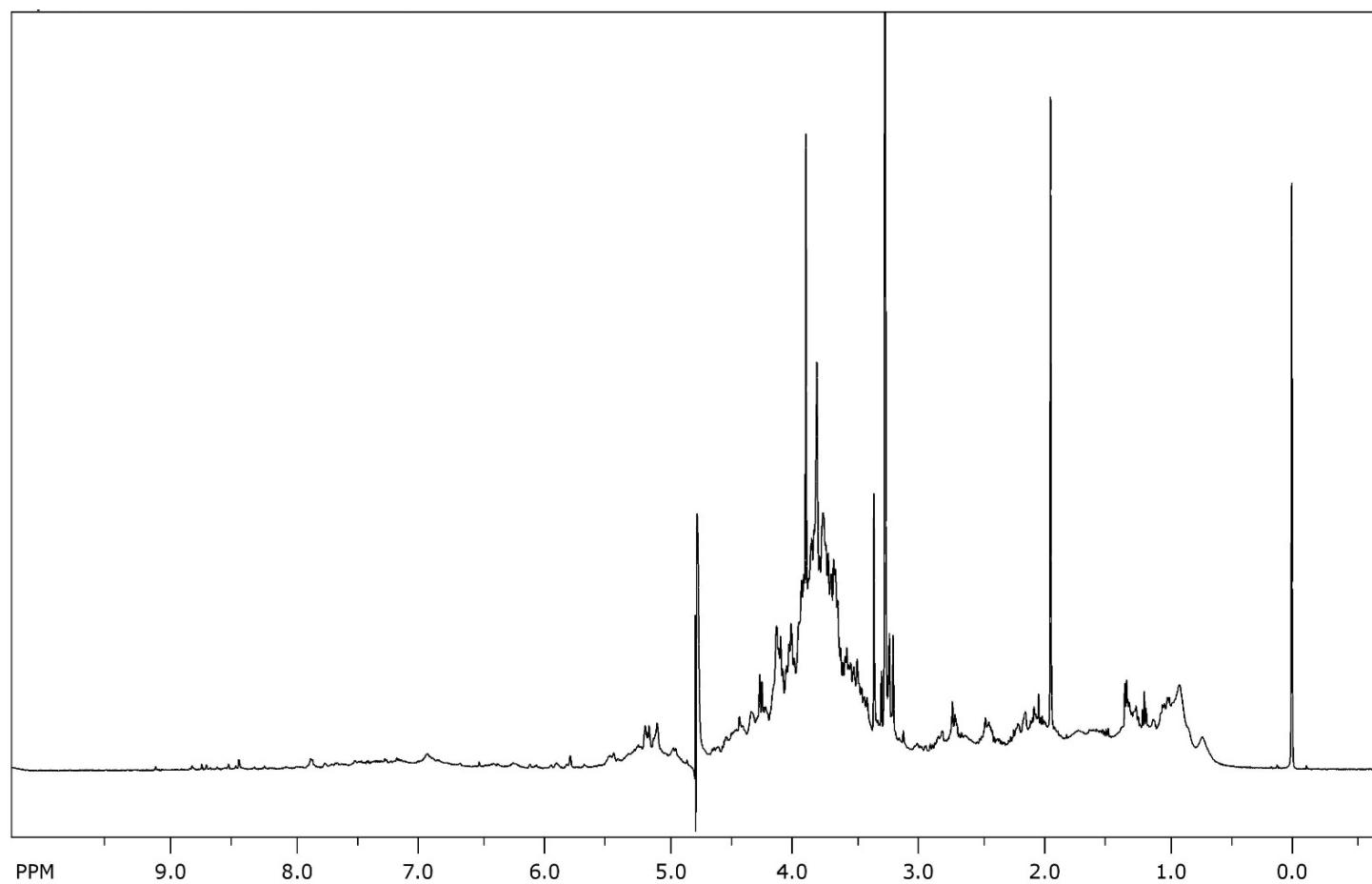
Εικόνα 32: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος δίκταμου σε D_2O .



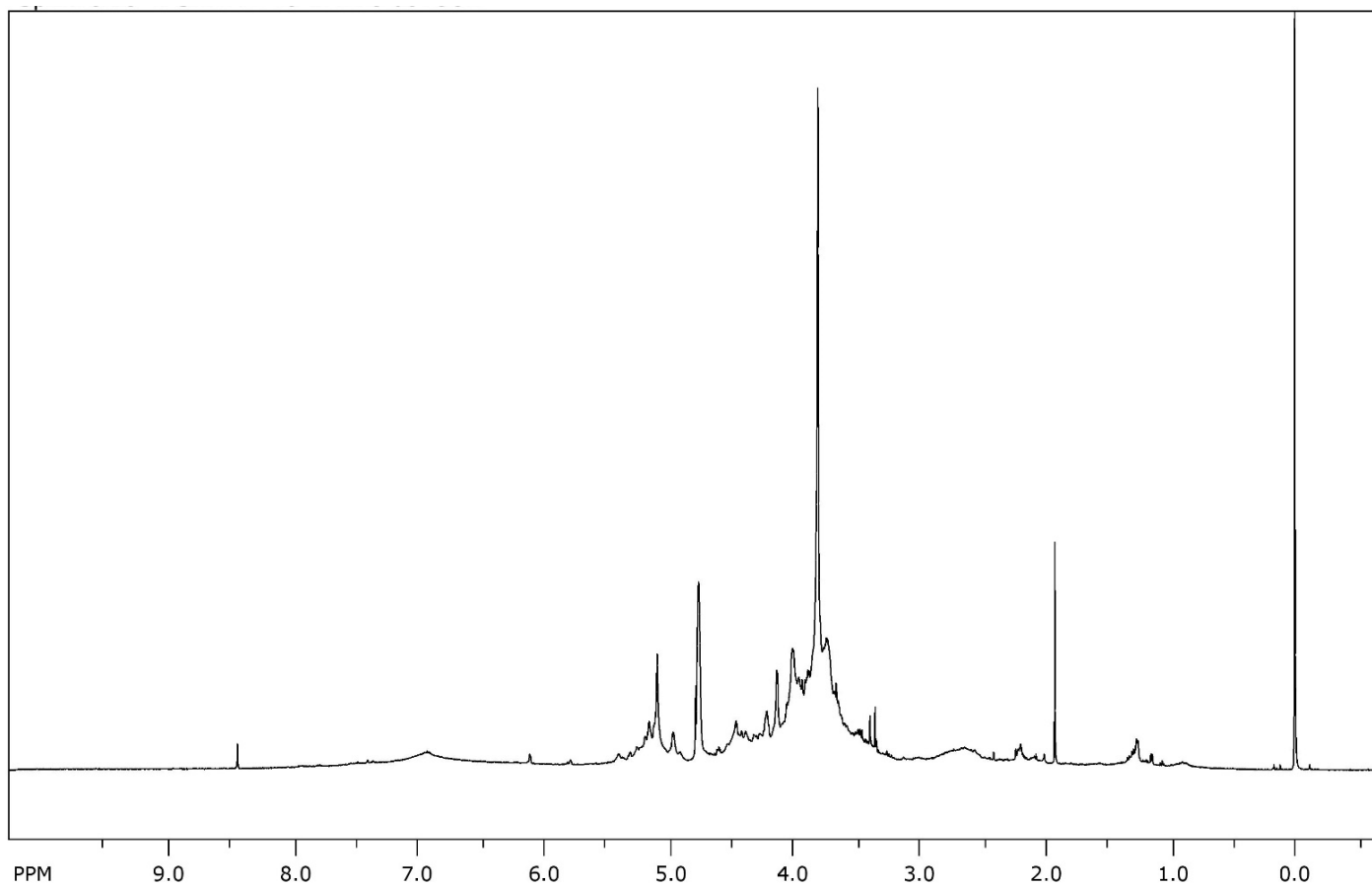
Εικόνα 33: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος επιλόβιου σε D_2O .



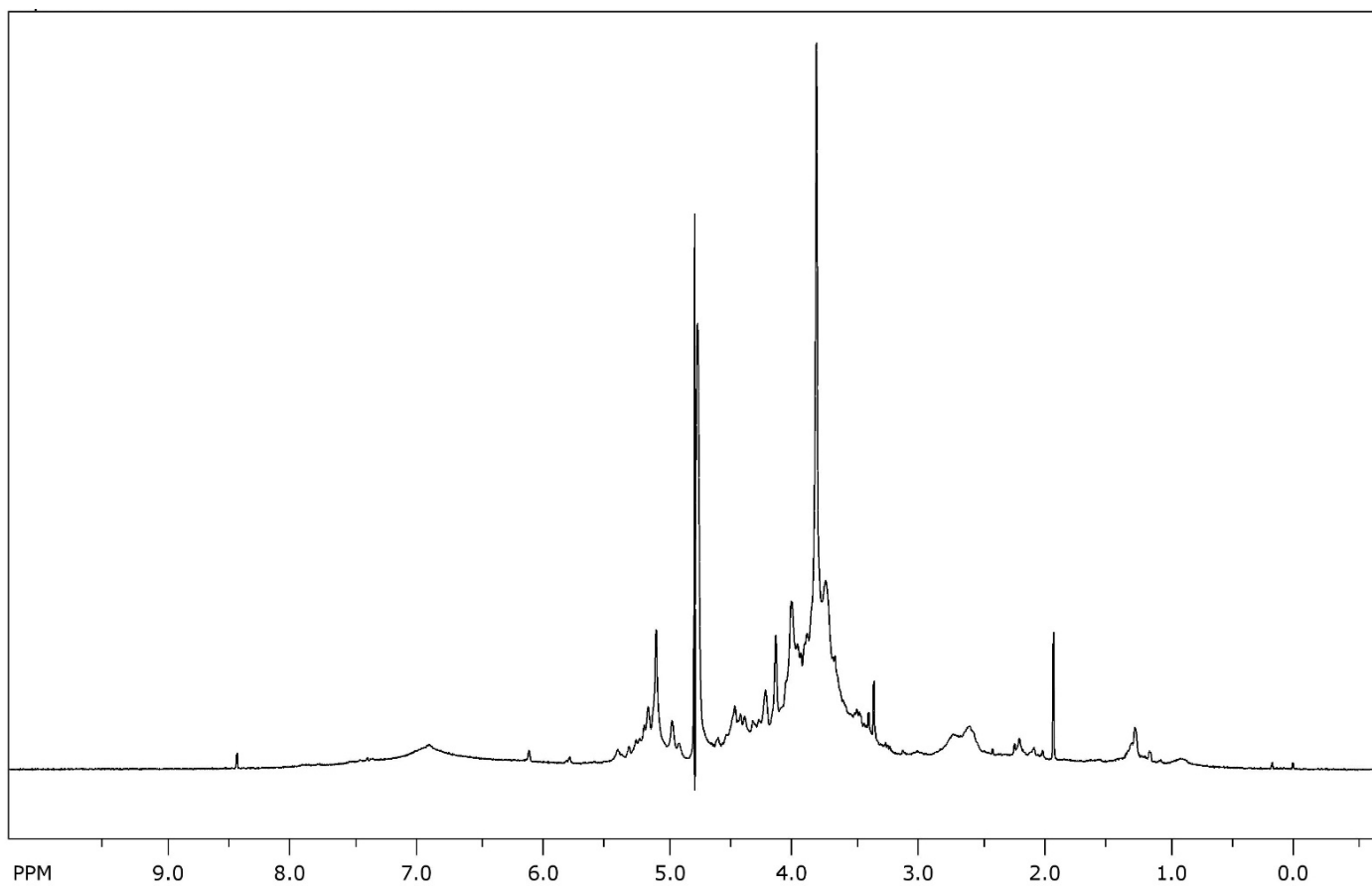
Εικόνα 34: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος εκουϊζέτου σε D_2O .



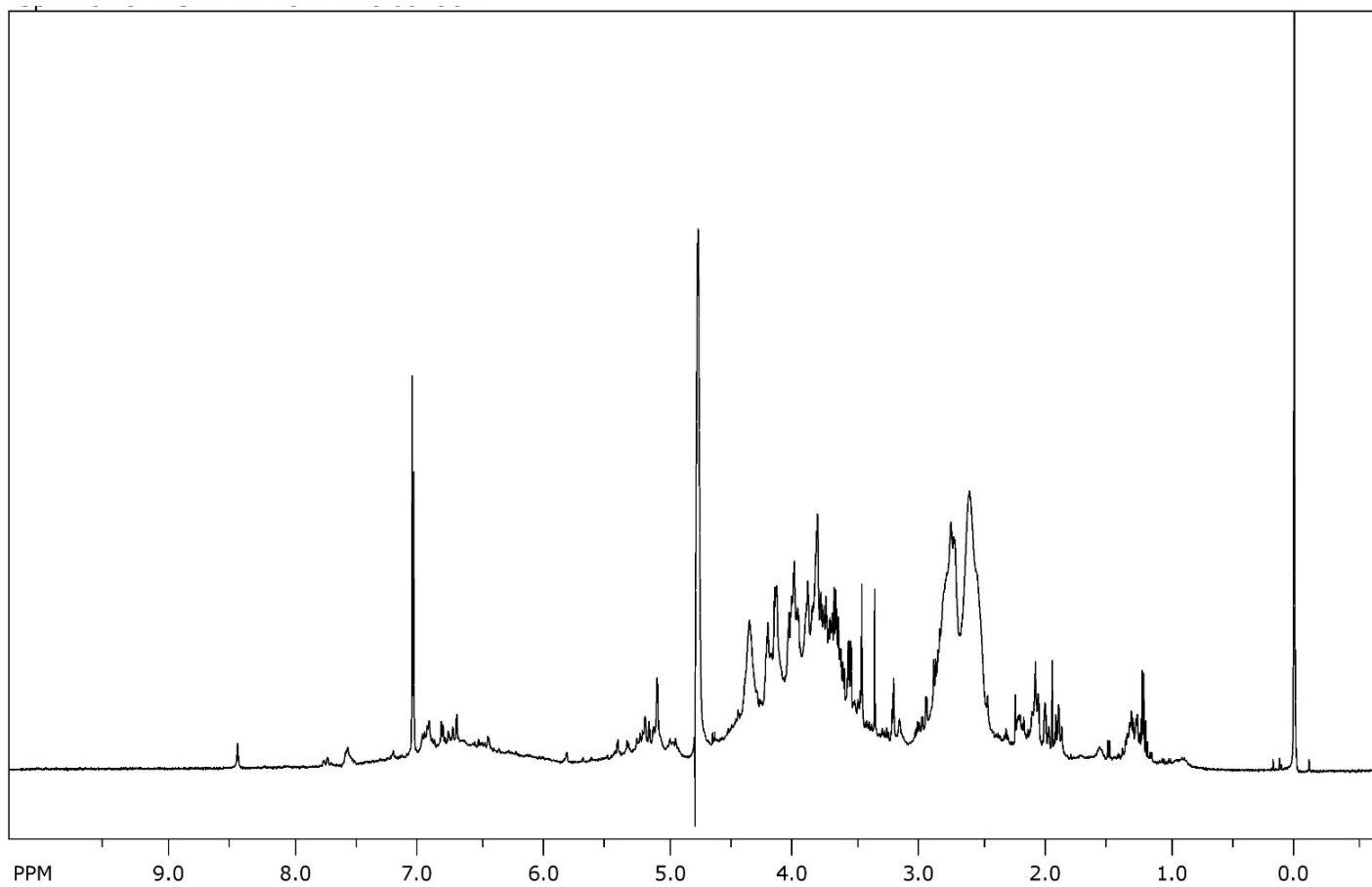
Εικόνα 35: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος καλεντούλας σε D_2O .



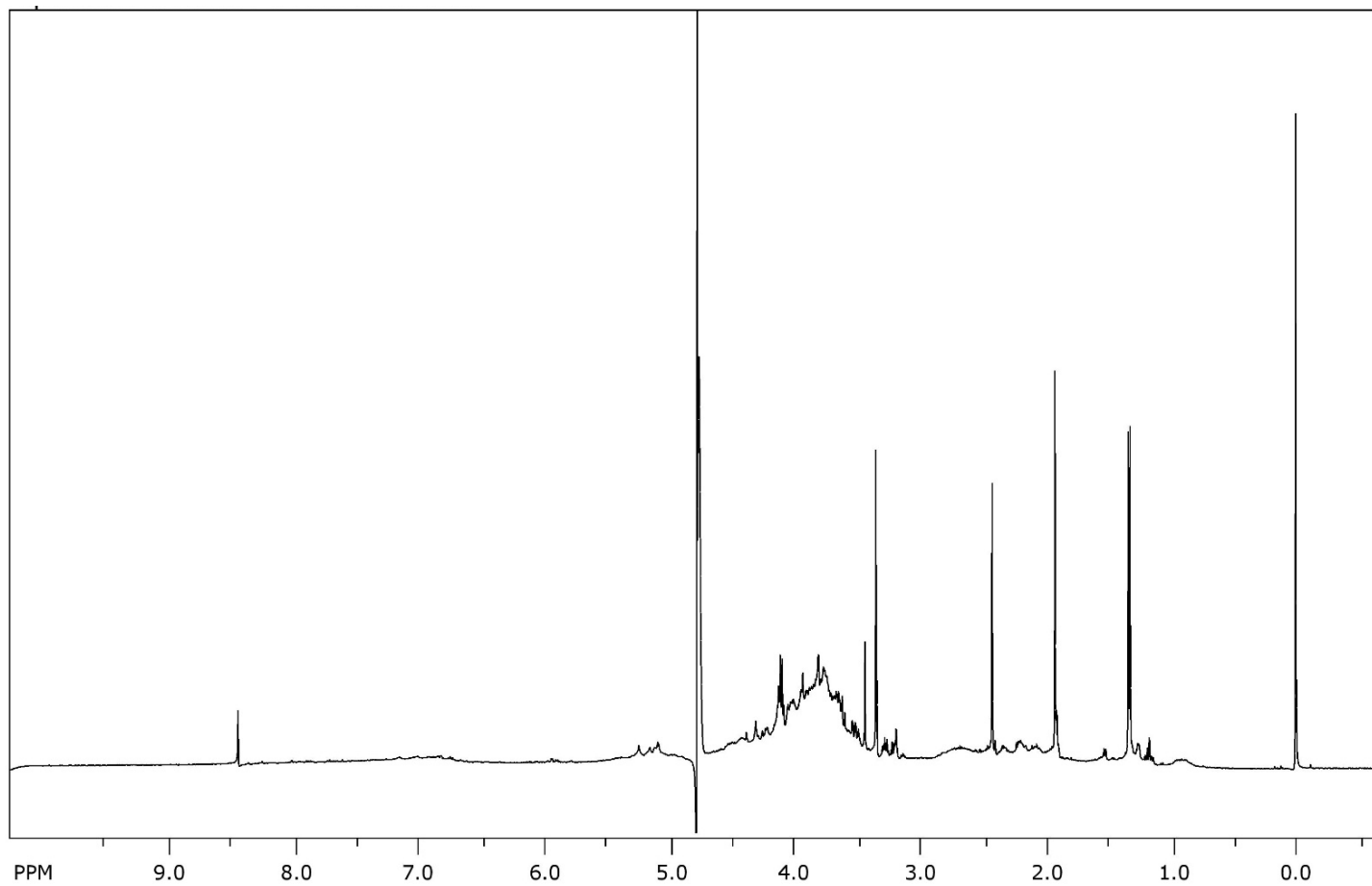
Εικόνα 36: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος κεδροκούκουτσου σε D_2O .



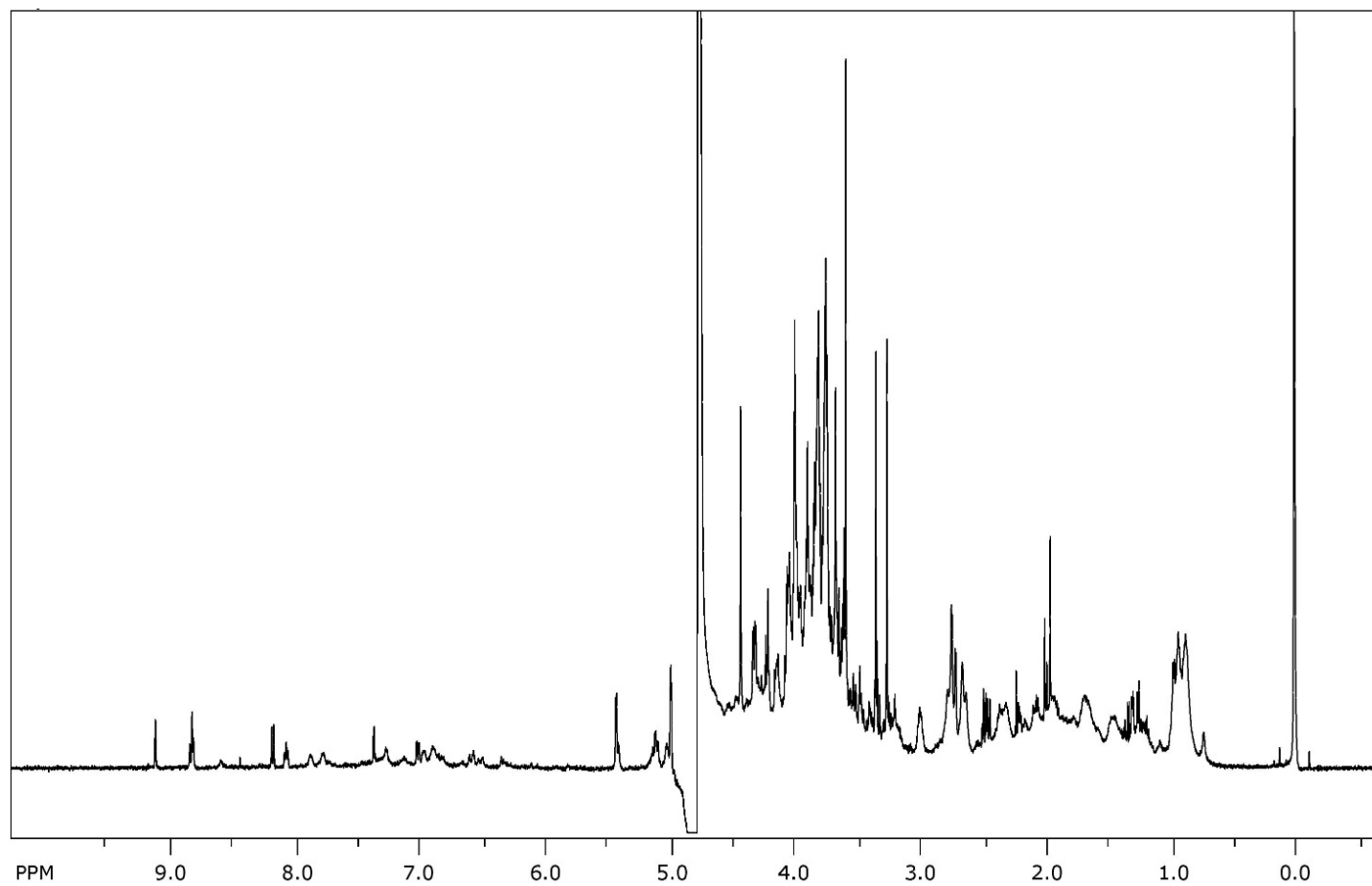
Εικόνα 37: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος κράταιγου σε D_2O .



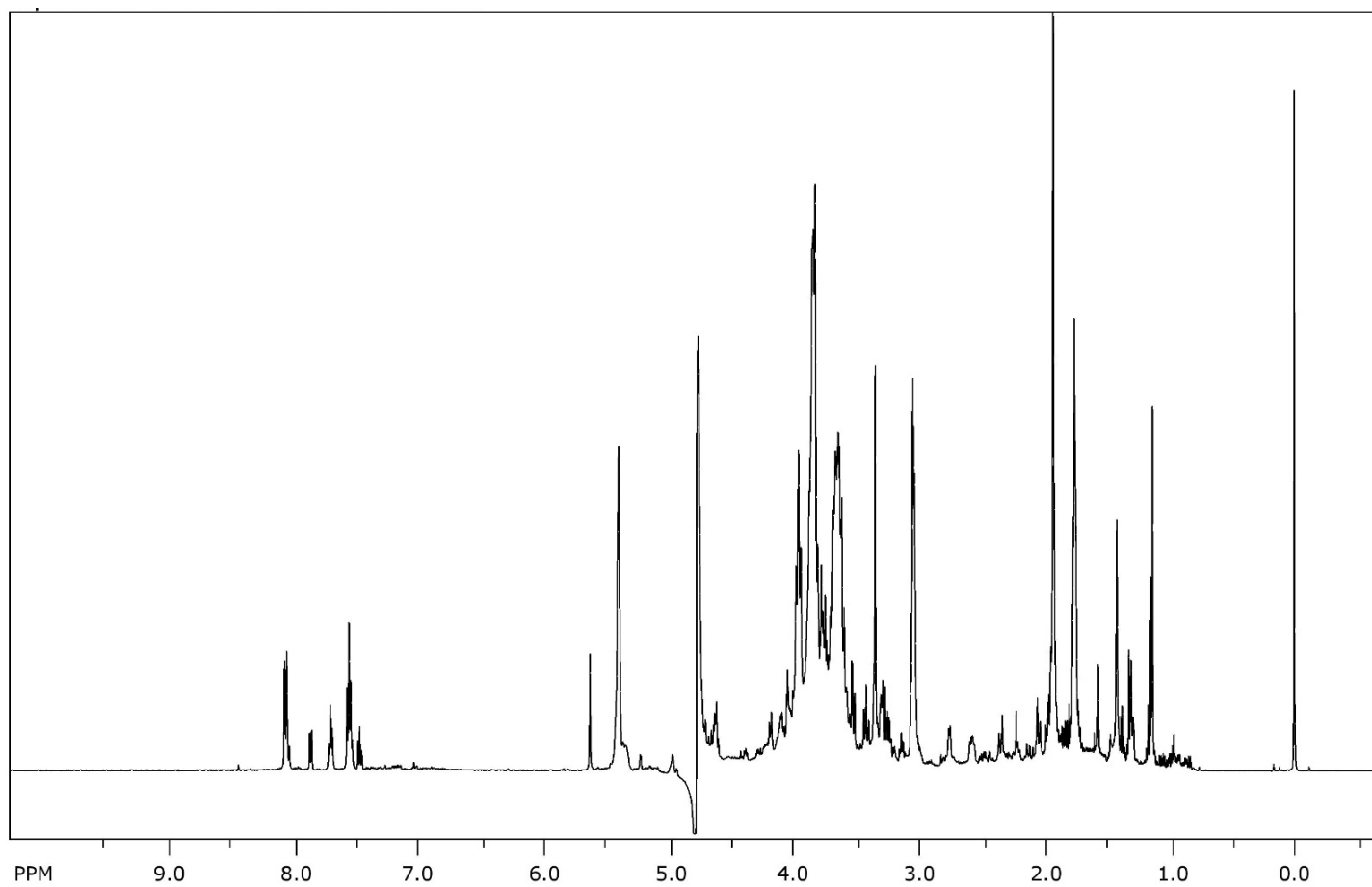
Εικόνα 38: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος λαδανιάς σε D_2O .



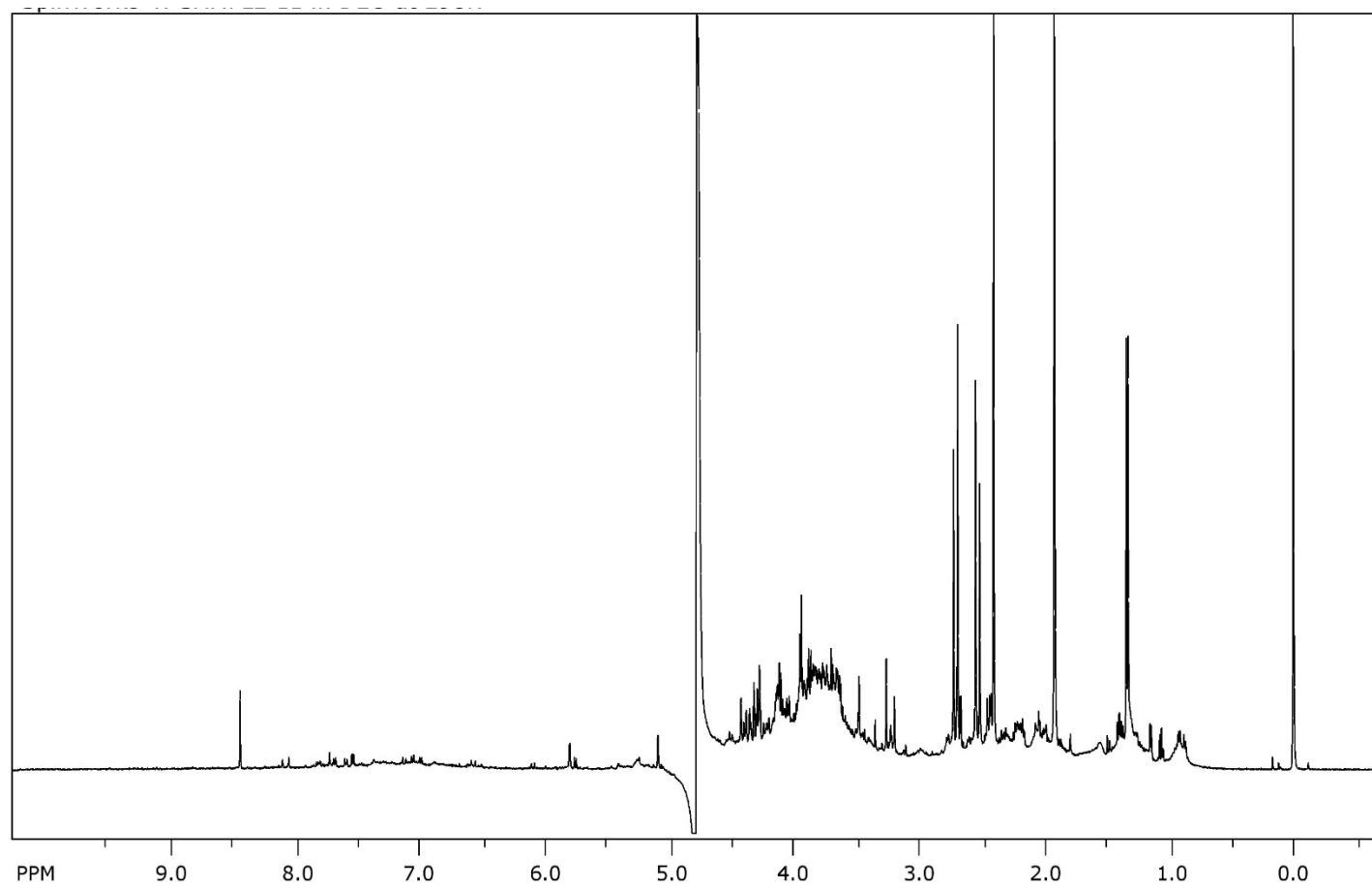
Εικόνα 39: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος μποράνγκου σε D_2O .



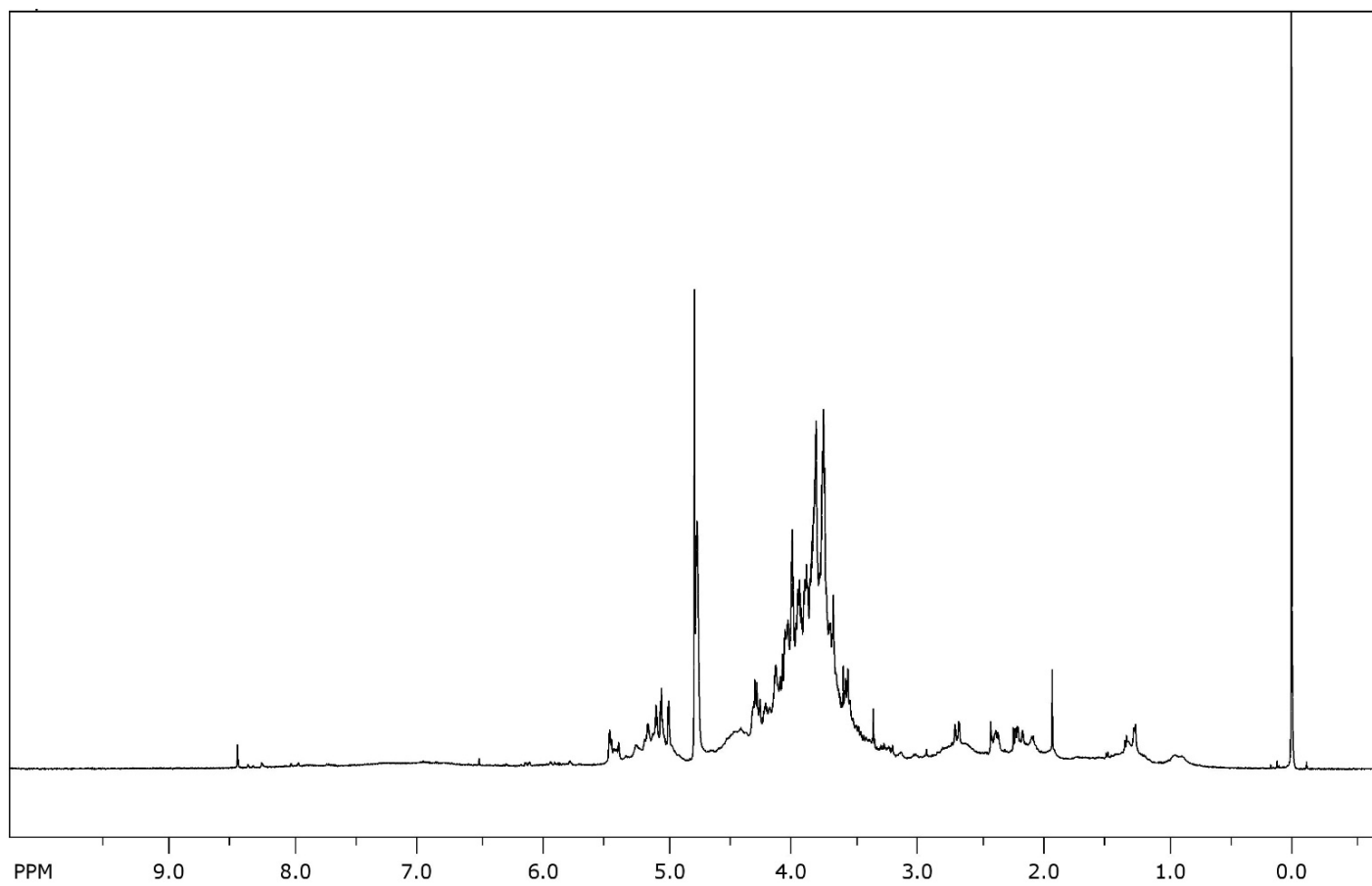
Εικόνα 40: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος παναγιόχορτου σε D_2O .



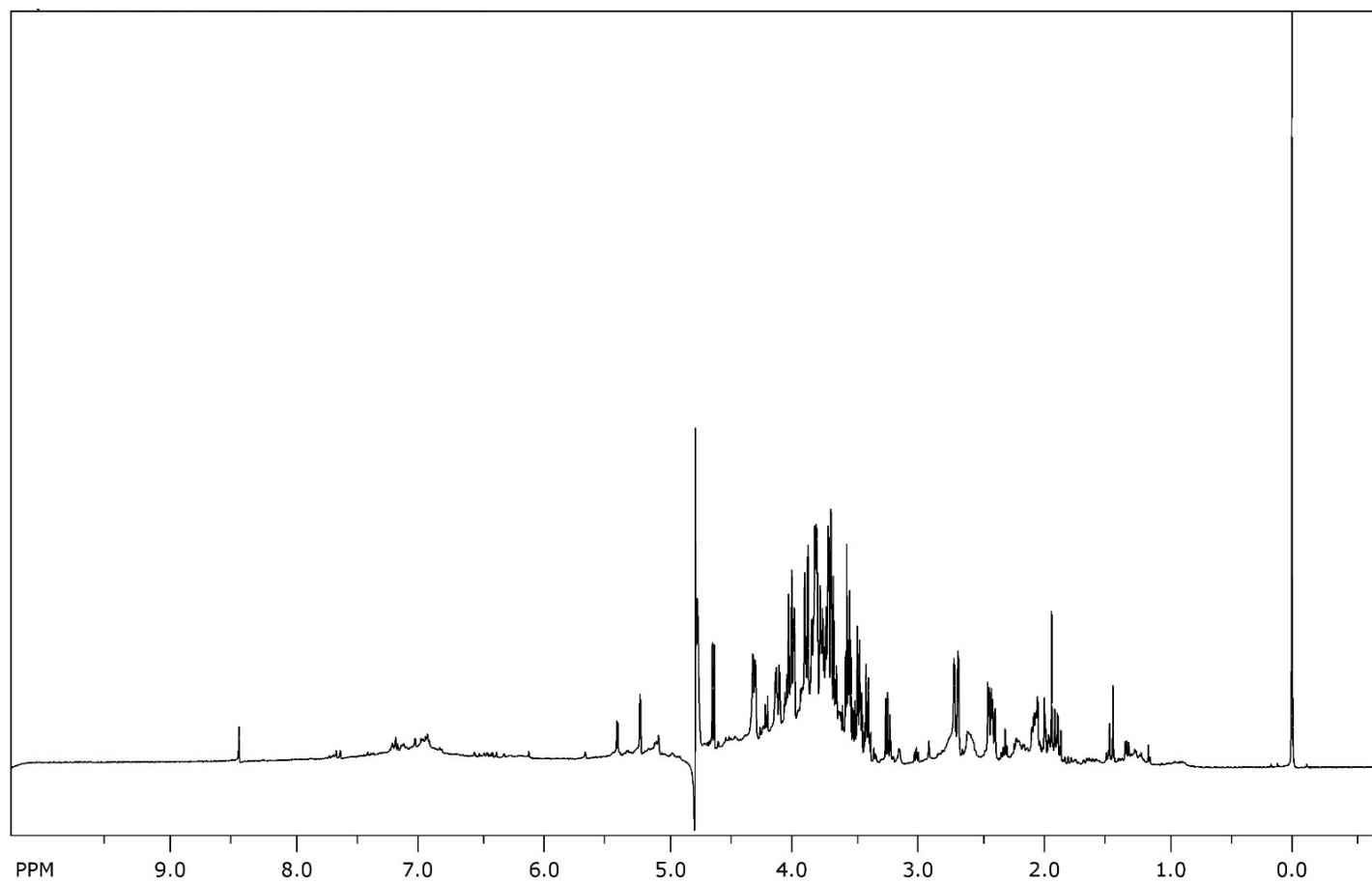
Εικόνα 41: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος παιώνιας σε D_2O .



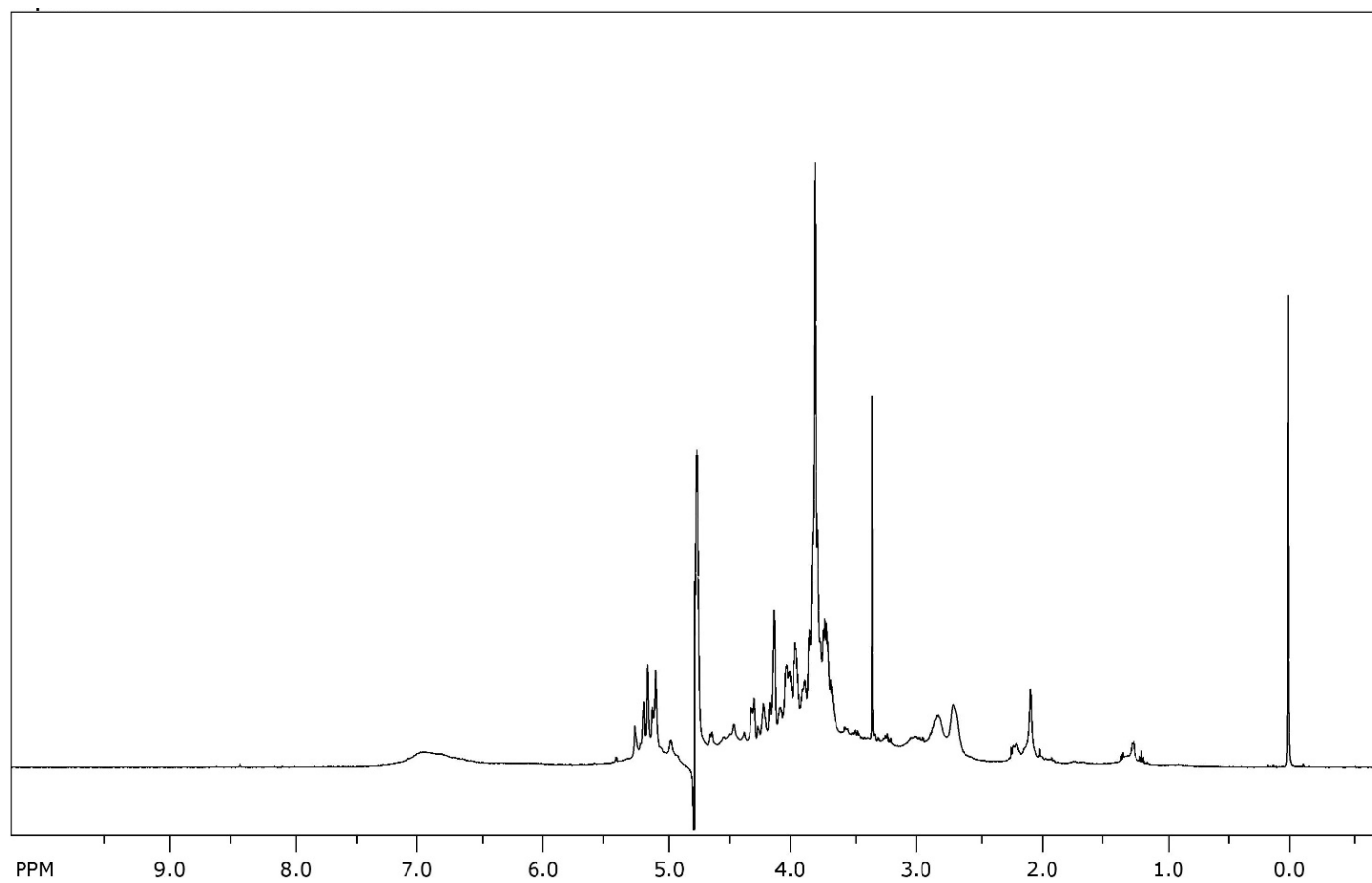
Εικόνα 42: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος περδικακίου σε D_2O .



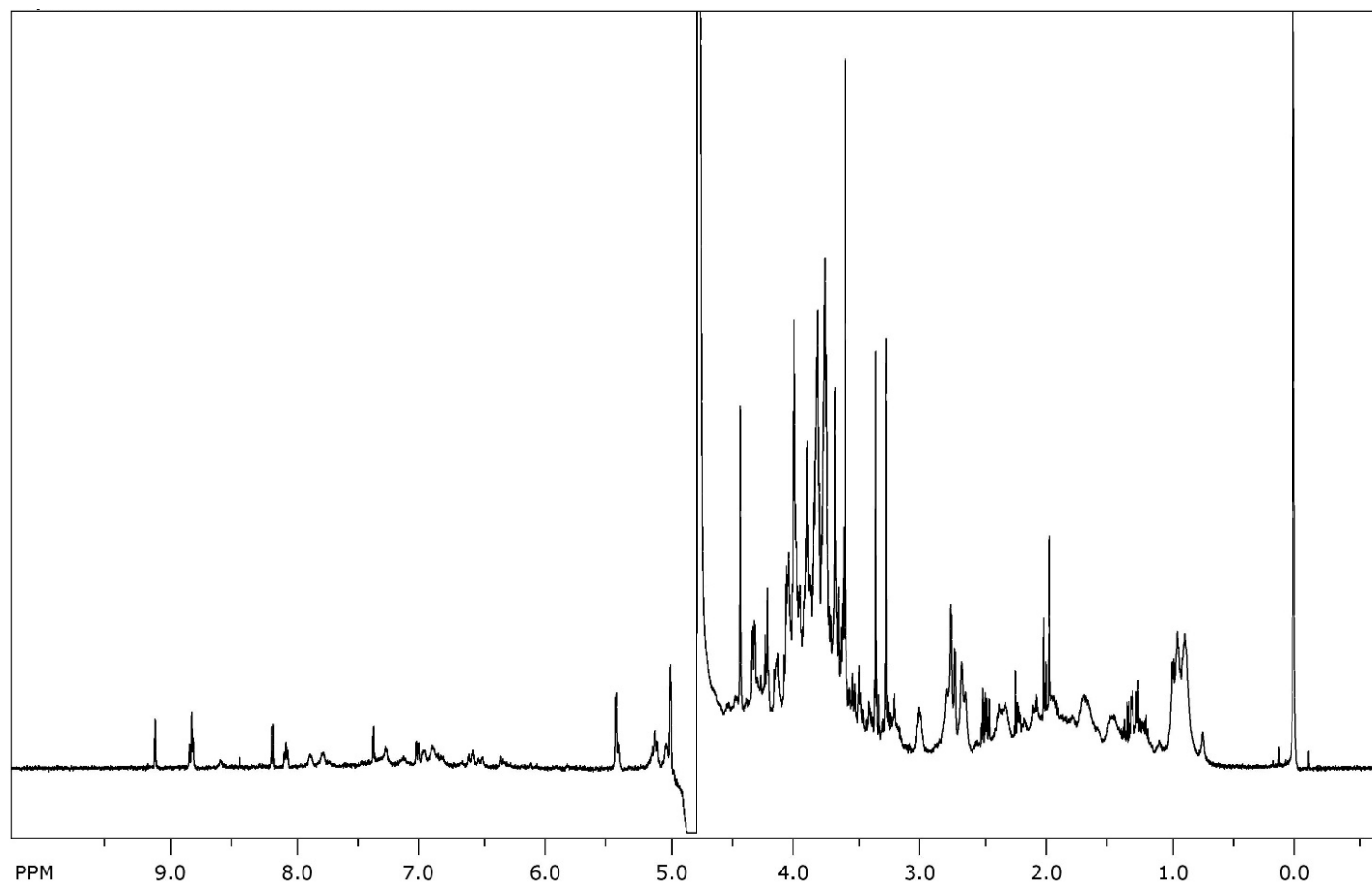
Εικόνα 43: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος στελλάριας σε D_2O .



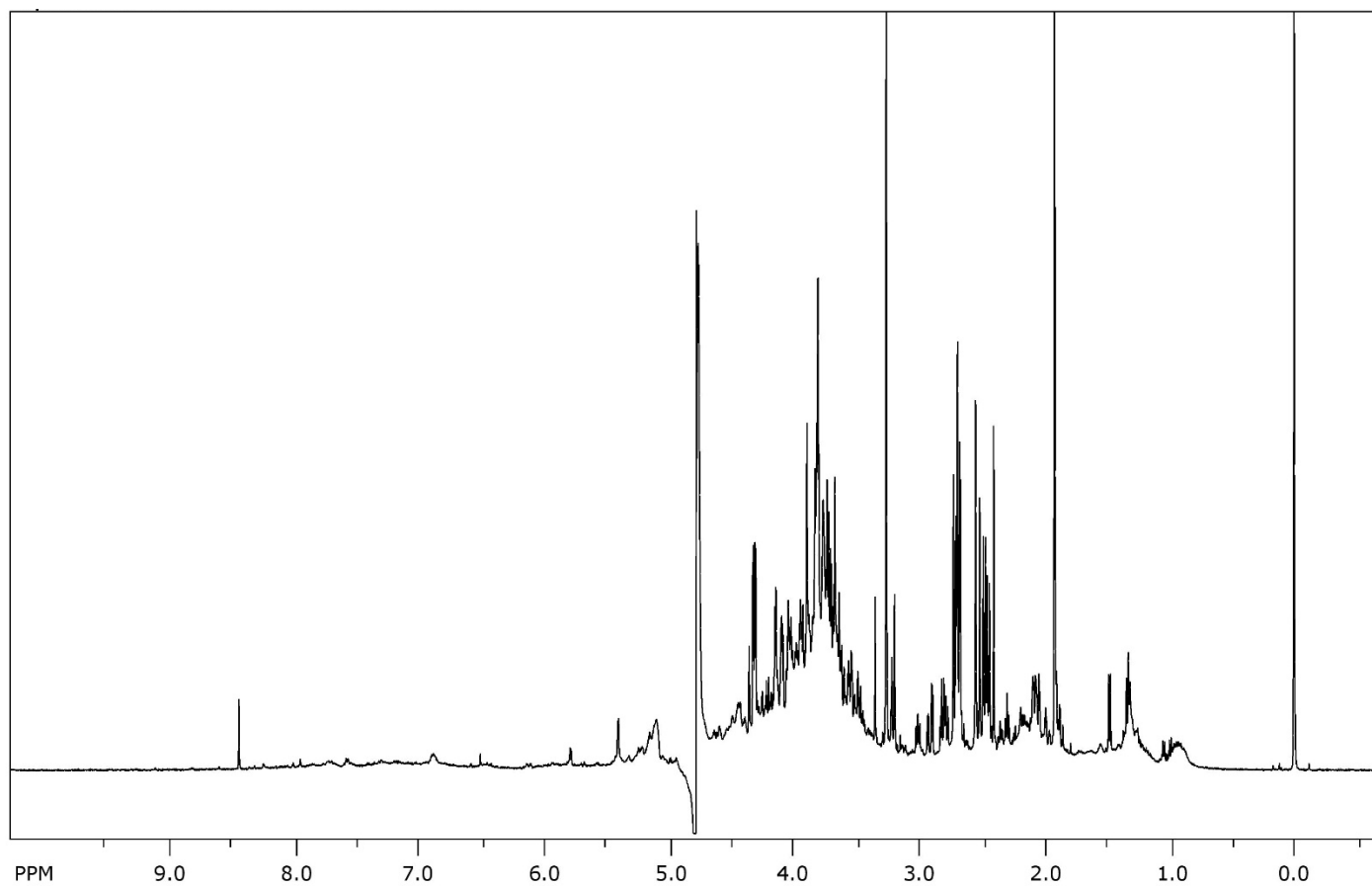
Εικόνα 44: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος σκορπιδίου σε D_2O .



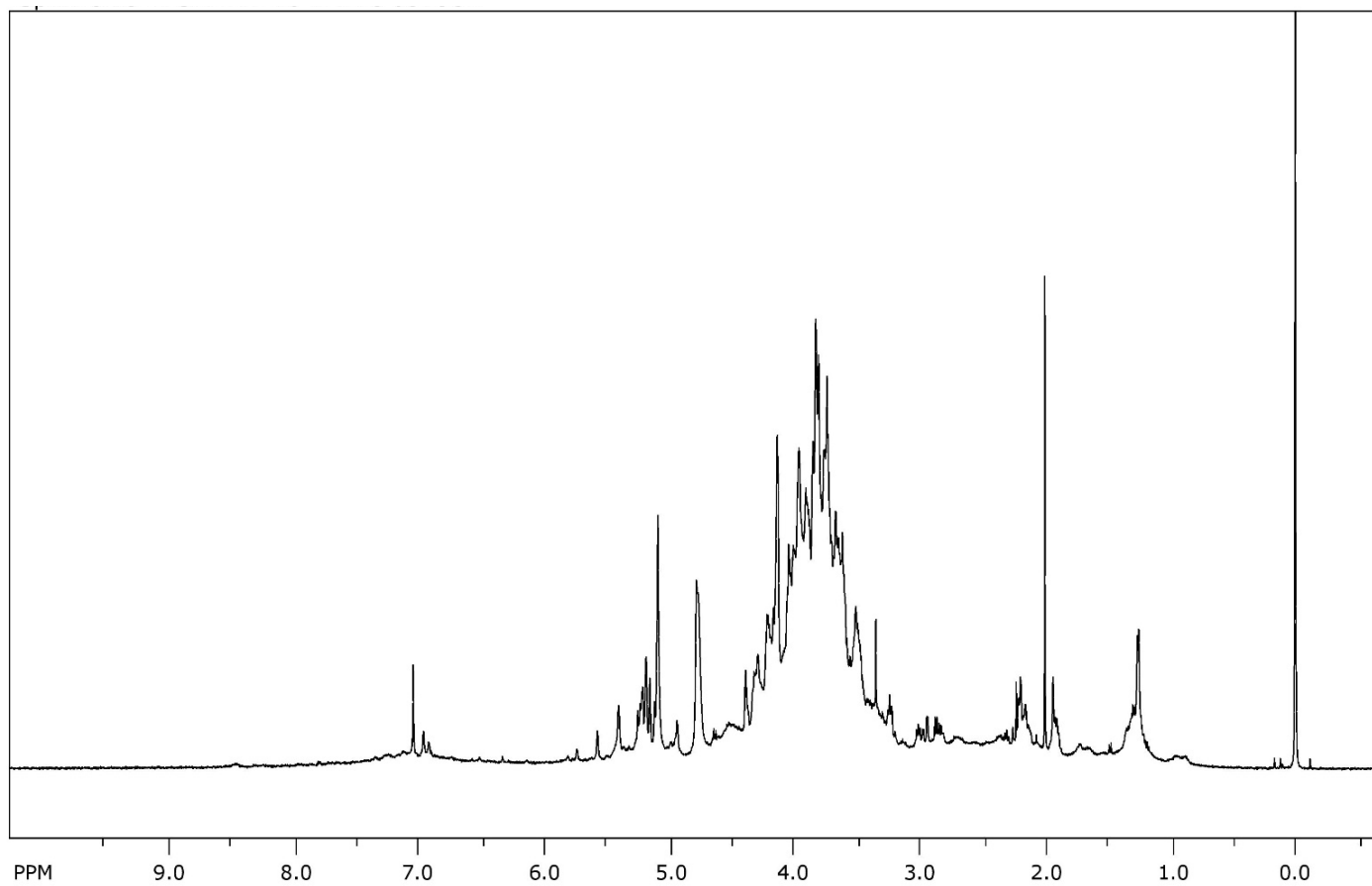
Εικόνα 45: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος τριαντάφυλλου σε D_2O .



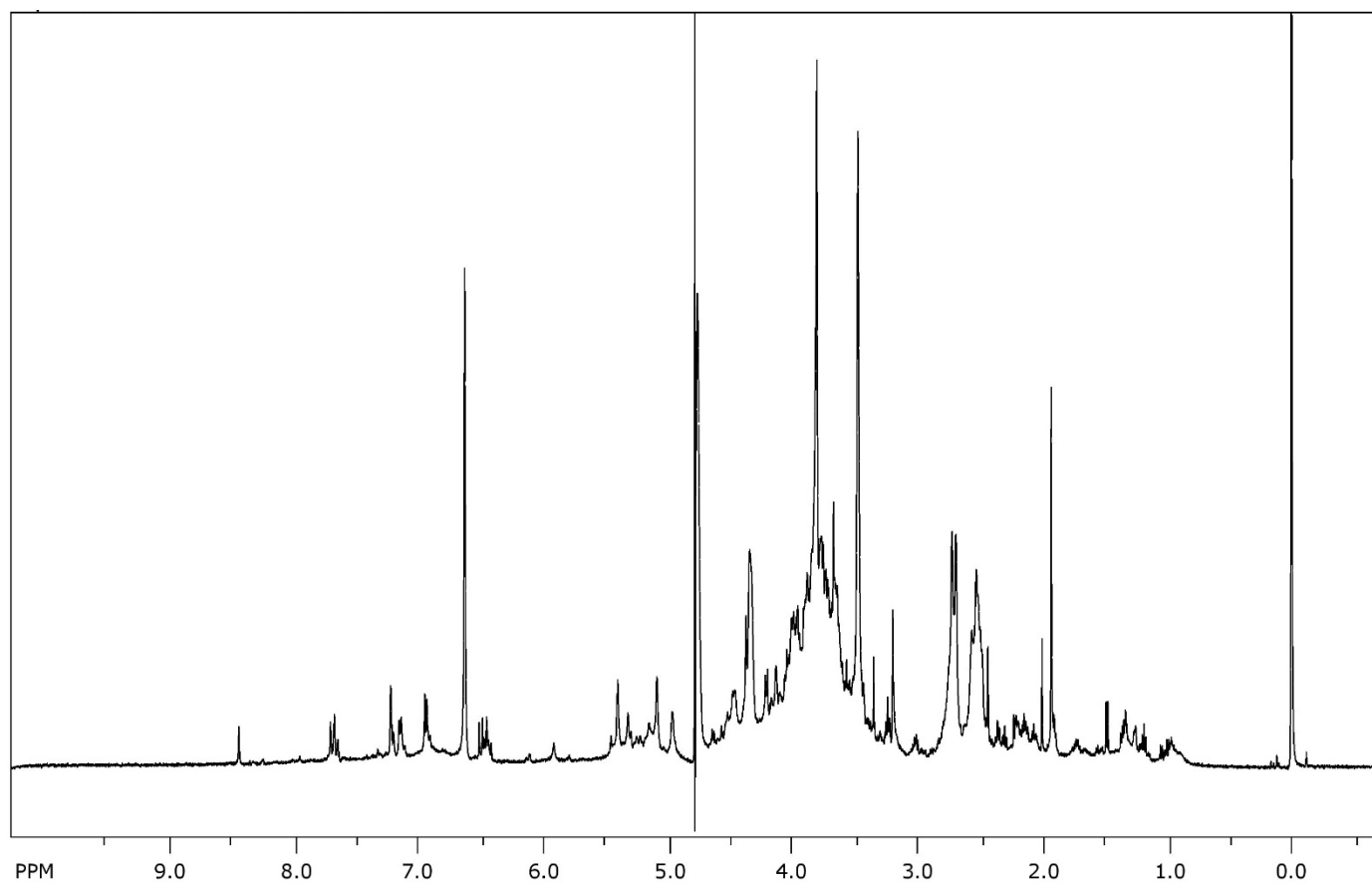
Εικόνα 46: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος τριγωνέλλας σε D_2O .



Εικόνα 47: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος τσουκνίδας σε D_2O .



Εικόνα 48 : Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος φραγκουλιάς σε D_2O .



Εικόνα 49: Φάσμα ^1H -NMR του εκχυλίσματος χελιδονίου σε D_2O .

3.2 Μελέτη βακτηριοκτόνου δράσης των εκχυλισμάτων

Μια από τις πλέον διαδεδομένες χρήσεις, από αρχαιοτάτων χρόνων, των φυτών και των φυτικών εκχυλισμάτων είναι αυτή κατά των βακτηριακών μολύνσεων. Η πλειάδα των φυτοχημικών τα οποία περιέχονται στα φυτά σε συνδυασμό με την ανάγκη για εύρεση νέων αντιβακτηριακών παραγόντων, δεδομένης της ανθεκτικότητας που αναπτύσσουν τα βακτήρια στα αντιβιοτικά, έχει εντείνει τις μελέτες για τις αντιβακτηριακές ιδιότητες των φυτικών εκχυλισμάτων. Μέχρι σήμερα έχουν απομονωθεί αρκετοί δευτερογενείς μεταβολίτες φυτών, των οποίων σκοπός είναι η άμυνα των φυτών έναντι μικροοργανισμών, εντόμων και φυτοφάγων ζώων και χρησιμοποιούνται ως αντιβακτηριακοί παράγοντες, ενώ αρκετοί από αυτούς δοκιμάζονται ήδη σε ανθρώπους [113].

Στα περισσότερα μολυσμένα τραύματα παρατηρείται πλήθος διαφορετικών μικροοργανισμών, εκ των οποίων τα βακτήρια αποτελούν την κύρια αιτία μόλυνσής τους. Πιο συγκεκριμένα στα αρχικά στάδια του σχηματισμού (χρόνιων) τραυμάτων κυριαρχούν τα Gram θετικά βακτήρια όπως ο *Staphylococcus aureus* [119], ενώ στα μεταγενέστερα στάδια, εντοπίζονται περισσότερα Gram-αρνητικά βακτήρια (π.χ. *Escherichia coli*, *Pseudomonas*) τα οποία τείνουν να εισβάλλουν σε βαθύτερα στρώματα του δέρματος προκαλώντας σημαντική βλάβη των ιστών [234]. Άλλοι αερόβιοι μικροοργανισμοί που εμπλέκονται είναι διάφορα είδη σταφυλόκοκκων και στρεπτόκοκκων καθώς και ορισμένα αναερόβια βακτήρια [235]. Δεδομένου ότι η πρόληψη σχηματισμού των χρόνιων τραυμάτων είναι προτιμότερη από την αντιμετώπισή τους, στο πλαίσιο της μελέτης των βιολογικών δράσεων που εμφανίζουν τα υπό μελέτη φυτικά εκχυλίσματα αξιολογήθηκε η βακτηριοκτόνος δράση που εμφανίζουν έναντι δυο ευρέως διαδεδομένων βακτηρίων, το *Escherichia coli* (*E. coli*) και το *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Τα αποτελέσματα της μελέτης αποτυπώνονται στις εικόνες 50 έως 68. Για τη μελέτη της βακτηριοκτόνου δράσης των φυτικών εκχυλισμάτων δεν δοκιμάστηκαν συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ καθώς σκοπός είναι να βρεθούν ενώσεις με ισχυρή βακτηριοκτόνο δράση, οι οποίες θα είναι δραστικές από πολύ μικρές συγκεντρώσεις, έτσι ώστε να αποφεύγονται τυχόν παρενέργειες. Επιπλέον, δε

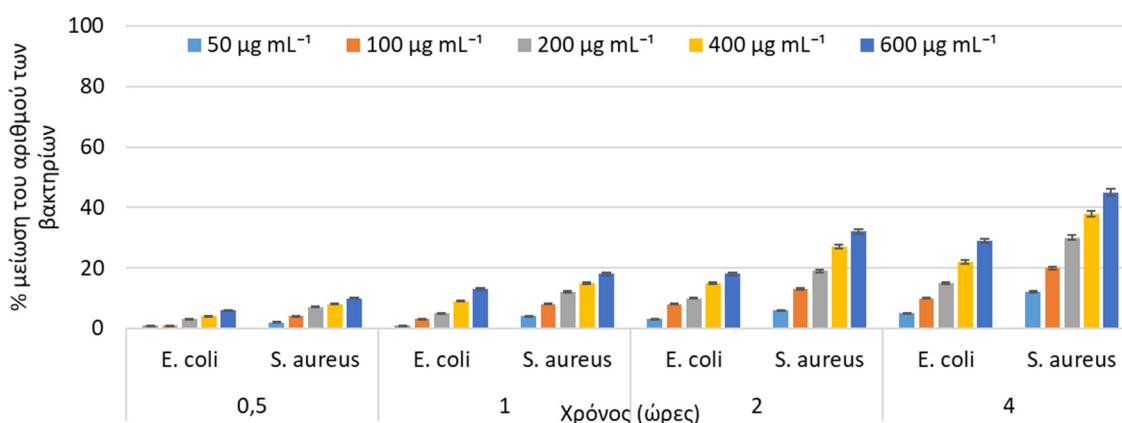
μελετήθηκε η βακτηριοκτόνος δράση, πέραν των 4 ωρών, καθώς τα βακτήρια είναι, στην πλειονότητά τους, μικροοργανισμοί ταχέως αναπτυσσόμενοι και θα πρέπει οι μολύνσεις να αντιμετωπίζονται γρήγορα [236].

Κανένα από τα εκχυλίσματα που δοκιμάστηκαν δεν κατάφερε να μειώσει σε σημαντικό βαθμό τον αρχικό αριθμό των βακτηρίων. Η μεγαλύτερη δραστικότητα παρατηρήθηκε στο εκχύλισμα του αγριμονίου, το οποίο σε συγκέντρωση $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ μείωσε τον αριθμό των βακτηρίων *E. coli* κατά $15 \pm 2\%$ και των βακτηρίων *S. aureus* κατά $30 \pm 3\%$. Η Alina Ioana και οι συνεργάτες της δημοσίευσαν το 2017 μία έρευνα για τη βακτηριοκτόνο δράση του αγριμονίου έναντι τεσσάρων παθογόνων μικροοργανισμών, των *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* και *Staphylococcus epidermidis*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το αιθανολικό εκχύλισμα του φυτού εμφανίζει ήπια βακτηριοκτόνο δράση έναντι και των τεσσάρων μικροοργανισμών, ενώ μεγαλύτερη δράση παρατηρήθηκε έναντι των Gram θετικών βακτηρίων, όπως και στη περίπτωση του υπό μελέτη εκχυλίσματος [237].

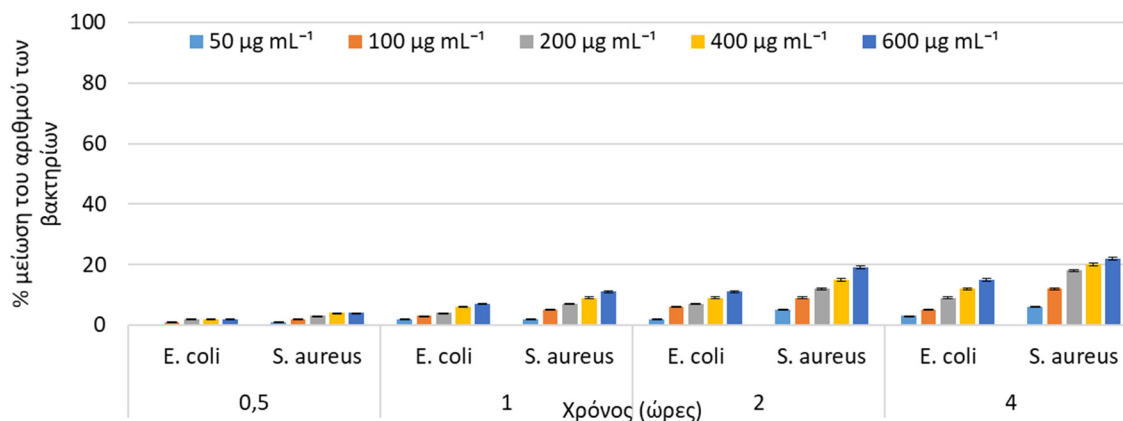
Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρήθηκε και για το εκχύλισμα φραγκουλιάς το οποίο στην ίδια συγκέντρωση μείωσε τον αριθμό των βακτηρίων *E. coli* κατά $10 \pm 2\%$ και των βακτηρίων *S. aureus* κατά $27 \pm 3\%$. Ανάλογη δράση βρέθηκε και από τον Kremer και τους συνεργάτες του και αποδόθηκε σε δυο ανθρακινόνες του φυτού, τη φυσιόνη και την εμοδίνη [238]. Τα εκχυλίσματα των φυτών σκορπίδι και μποράνγκο μείωσαν τον αριθμό των βακτηρίων *E. coli* κατά $16 \pm 1\%$ και των βακτηρίων *S. aureus* κατά $25 \pm 2\%$, ενώ το εκχύλισμα του επιλόβιου μείωσε τον αριθμό των βακτηρίων *E. coli* κατά $23 \pm 2\%$ και των βακτηρίων *S. aureus* κατά $17 \pm 3\%$. Προηγούμενη μελέτη για τη βακτηριοκτόνο ιδιότητα του υδατικού εκχυλίσματος του φυτού σκορπίδι (το οποίο παρασκευάστηκε με απευθείας βρασμό), έδειξε ότι το εκχύλισμά του είναι πιο δραστικό έναντι των μικροοργανισμών *Shigella dysenteriae* και *S. aureus*, ενώ μικρή δραστικότητα εμφανίστηκε έναντι του *E. coli* [239]. Σε παρόμοια μελέτη βρέθηκε ότι το υδατικό εκχύλισμα του φυτού μποράνγκο εμφανίζει ήπια βακτηριοκτόνο δράση έναντι του *S. aureus* [240].

Για όλα τα υπόλοιπα εκχυλίσματα η μείωση του αριθμού των βακτηρίων που καταγράφηκε ήταν μικρότερη από 20% για 4 ώρες επώασης των βακτηρίων με $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ από το εκάστοτε εκχύλισμα. Επιπλέον δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ της μείωσης του αριθμού των δύο τύπων βακτηρίων, γεγονός που υποδηλώνει τη μη εκλεκτικότητα της βακτηριοκτόνου δράσης των εκχυλισμάτων έναντι Gram-θετικών ή Gram-αρνητικών βακτηρίων.

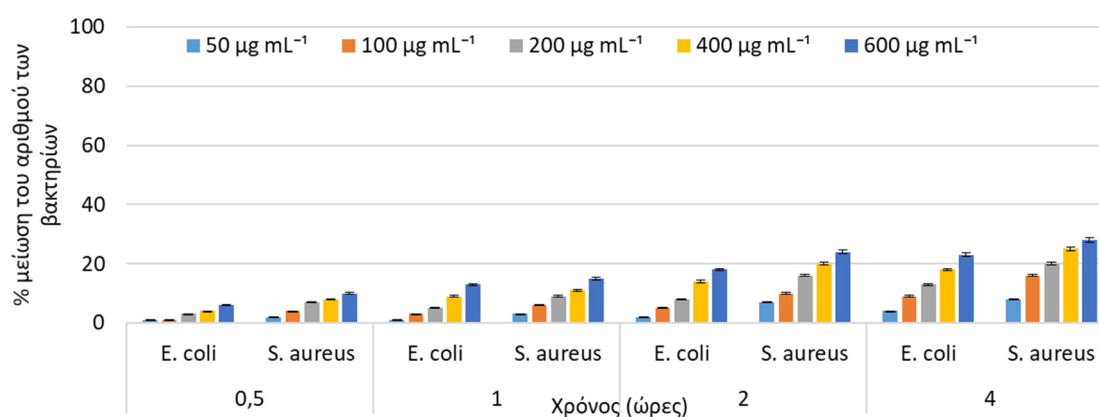
Ενώσεις οι οποίες εμφανίζουν αντιβακτηριακή δράση είναι οι εξής: τανίνες, τερπενοειδή (μονοτερπένια, διτερπένια), αλκαλοειδή, φλαβονοειδή, οξέα, αλκοόλες, αλδεΐδες, εστέρες, ενώσεις που περιέχουν άζωτο και θείο, κουμαρίνες και ομόλογα των φαινυλοπροπανοειδών. Με βάση τη χημική σύσταση των φυτικών εκχυλισμάτων στις διάφορες κατηγορίες φυτοχημικών ενώσεων που μελετήθηκαν φαίνεται ότι τα υπό μελέτη φυτικά εκχυλίσματα δεν περιέχουν αρκετές από τις προαναφερθείσες κατηγορίες φυτοχημικών ενώσεων οι οποίες παρουσιάζουν, εν δυνάμει, βακτηριοκτόνο δράση, κάτι το οποίο συνάδει με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Ωστόσο, ακόμα και η ήπια βακτηριοκτόνος δράση των εκχυλισμάτων, μπορεί να είναι πολύτιμη αν συνδυαστεί και με άλλες δράσεις, έτσι ώστε να υποβοηθηθεί η ταχύτερη επούλωση των τραυμάτων και να αποφευχθεί η δημιουργία χρόνιων τραυμάτων.



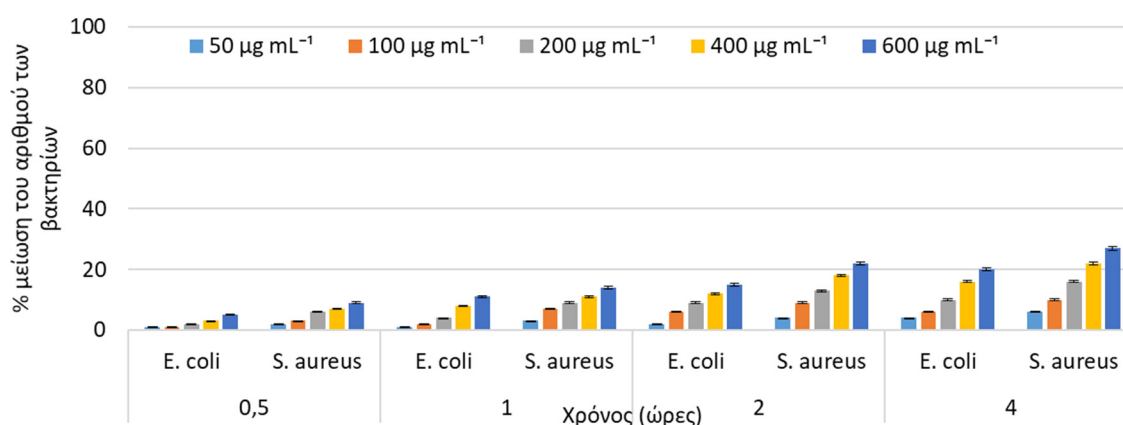
Εικόνα 50: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από 0,5, 1, 2 και 4 ώρες έκθεσής τους στο εκχύλισμα του αγριμονιού.



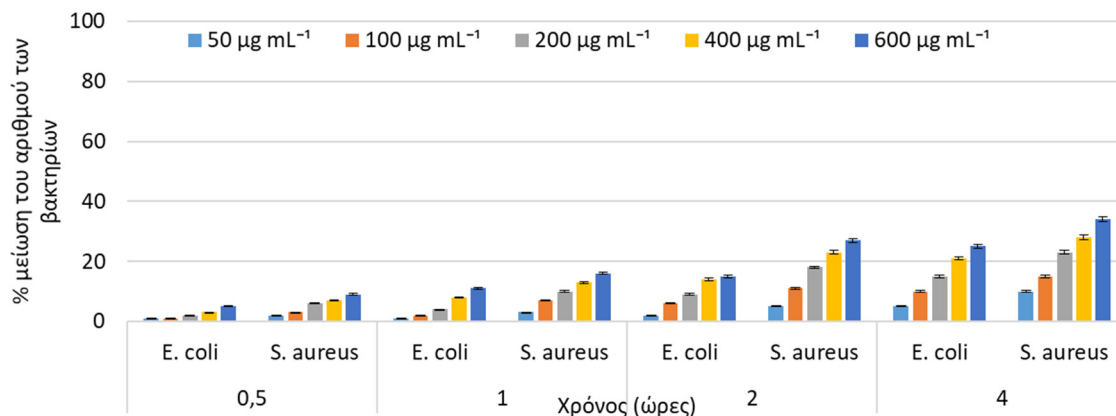
Εικόνα 51: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του γαλλίου.



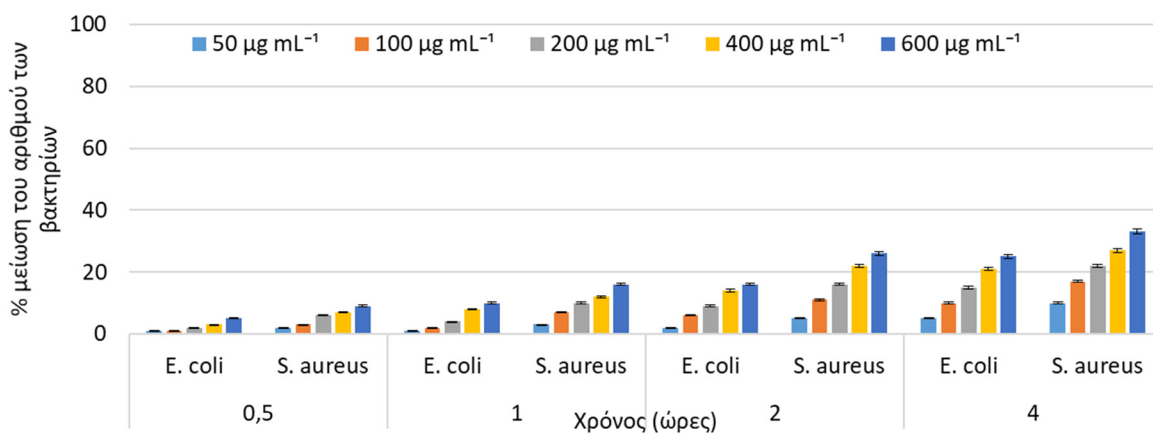
Εικόνα 52: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του δίκταμου.



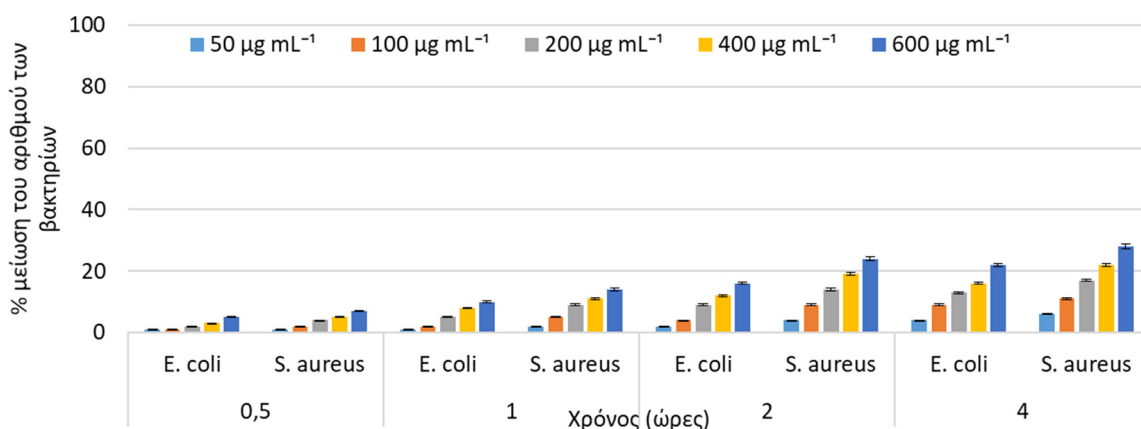
Εικόνα 53: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του εκουϊζέτου.



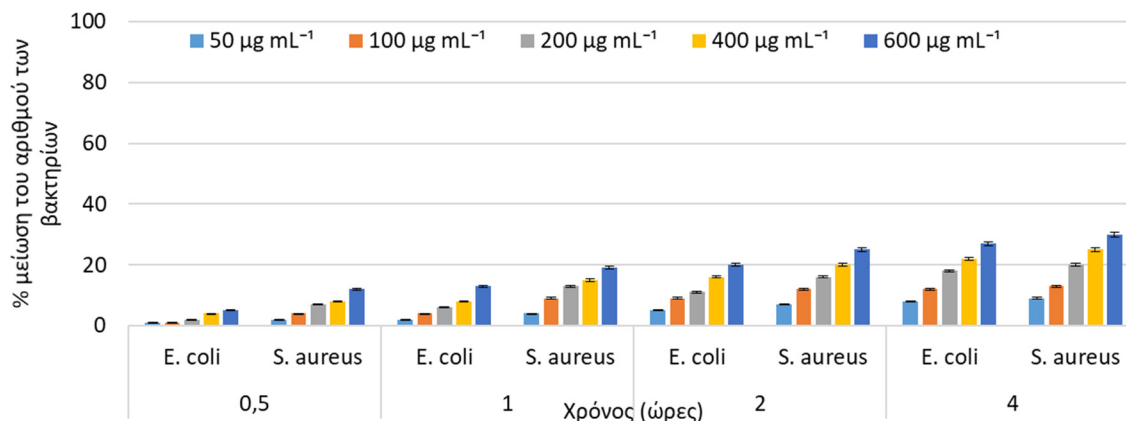
Εικόνα 54: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του επιλόβιου.



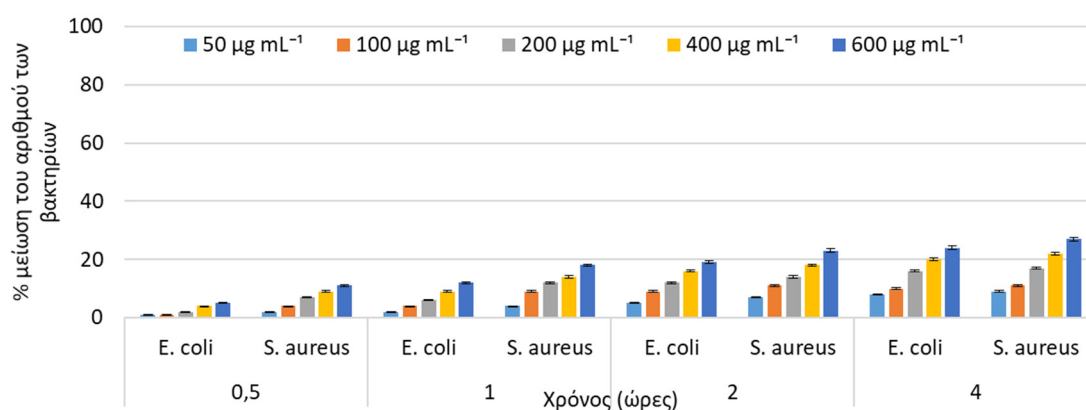
Εικόνα 55: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της καλεντούλας.



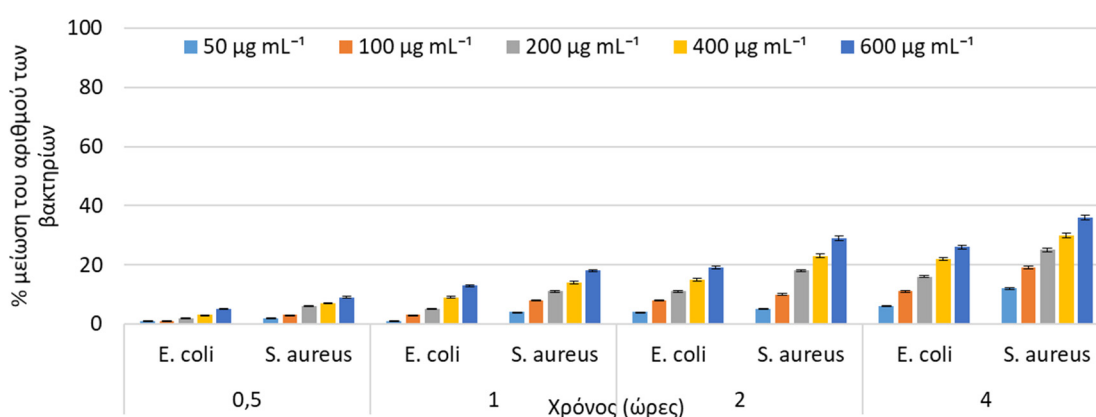
Εικόνα 56: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του κεδροκούκουτσου.



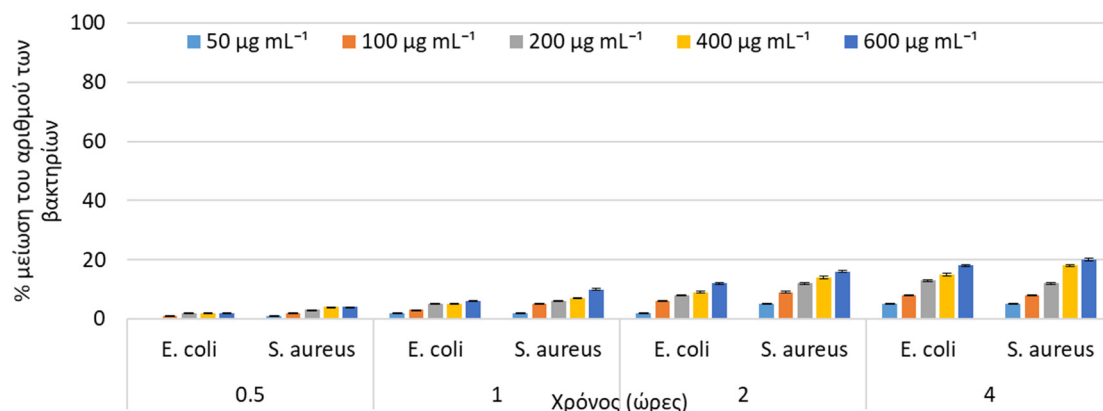
Εικόνα 57: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του κράταιγου.



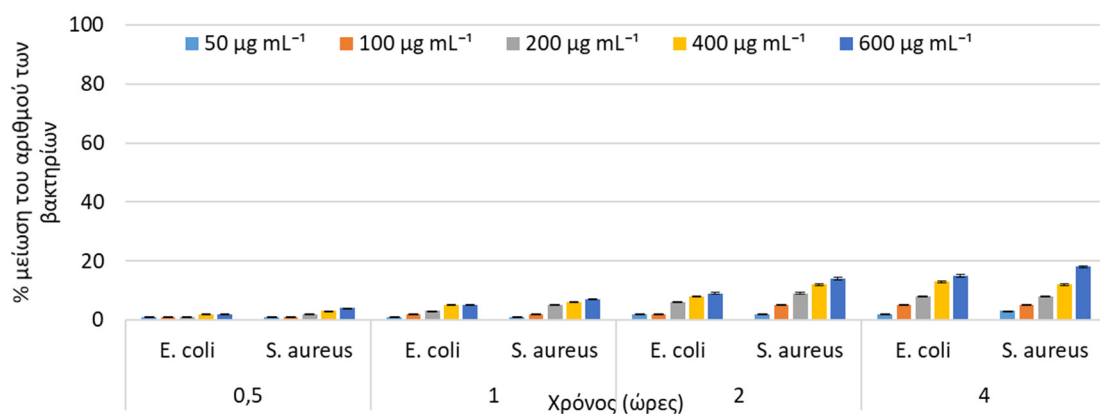
Εικόνα 58: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της λαδανιάς.



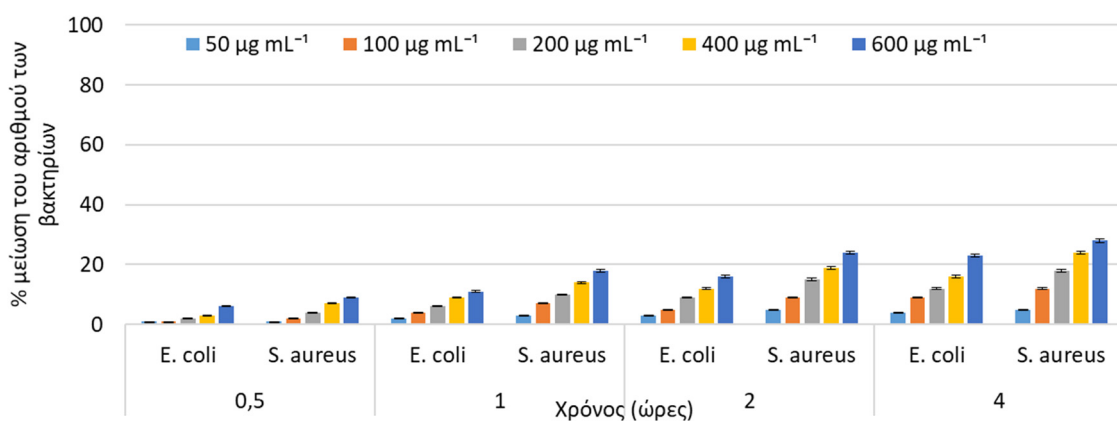
Εικόνα 59: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του μποράνγκου.



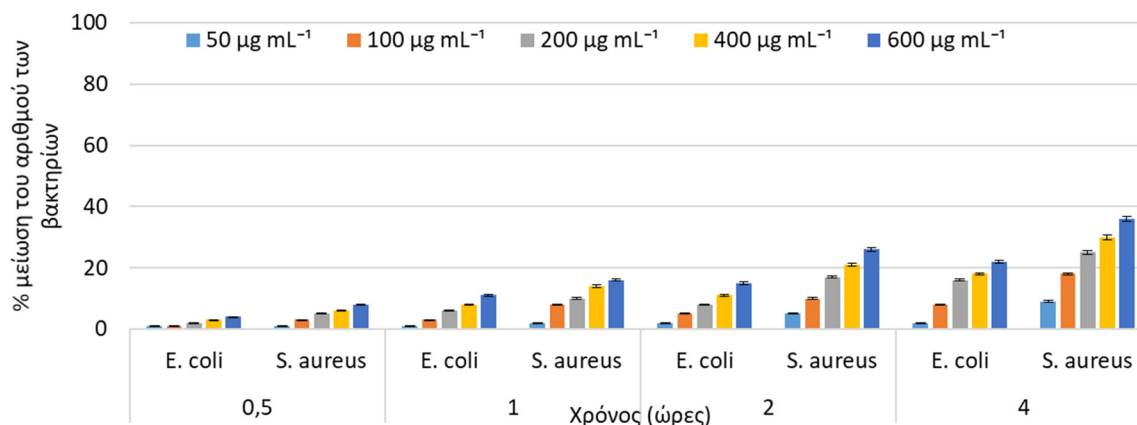
Εικόνα 60: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του παναγιόχορτου.



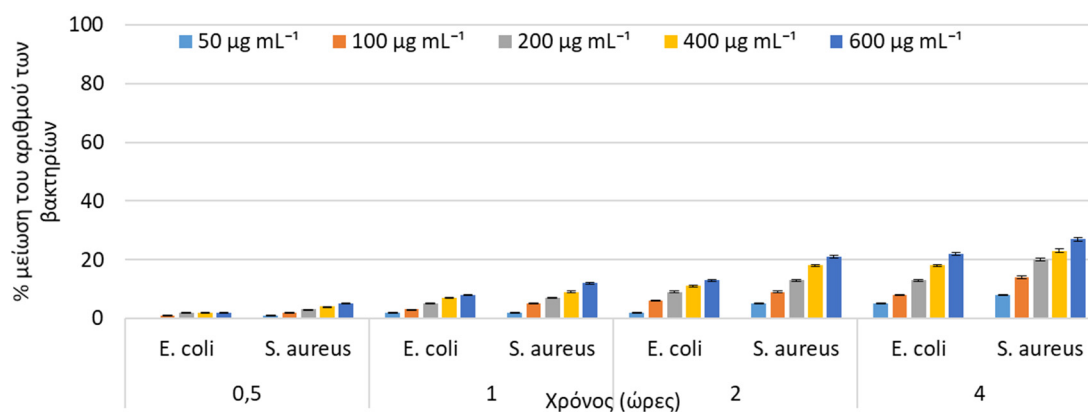
Εικόνα 61: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της παιώνιας.



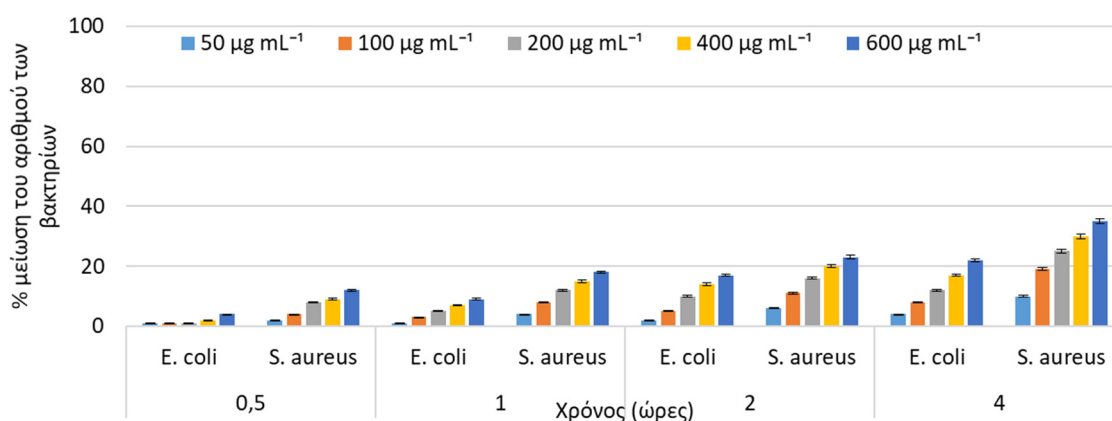
Εικόνα 62: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του περδικακίου.



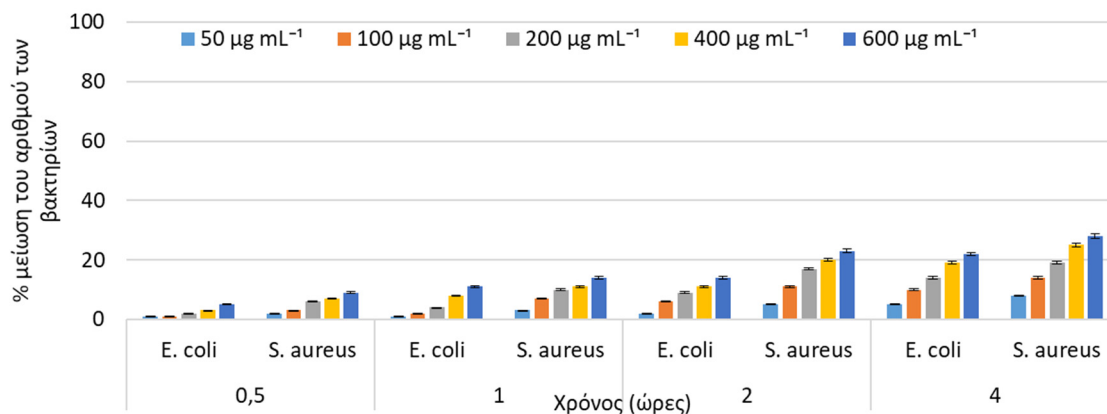
Εικόνα 62: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του σκορπιδίου.



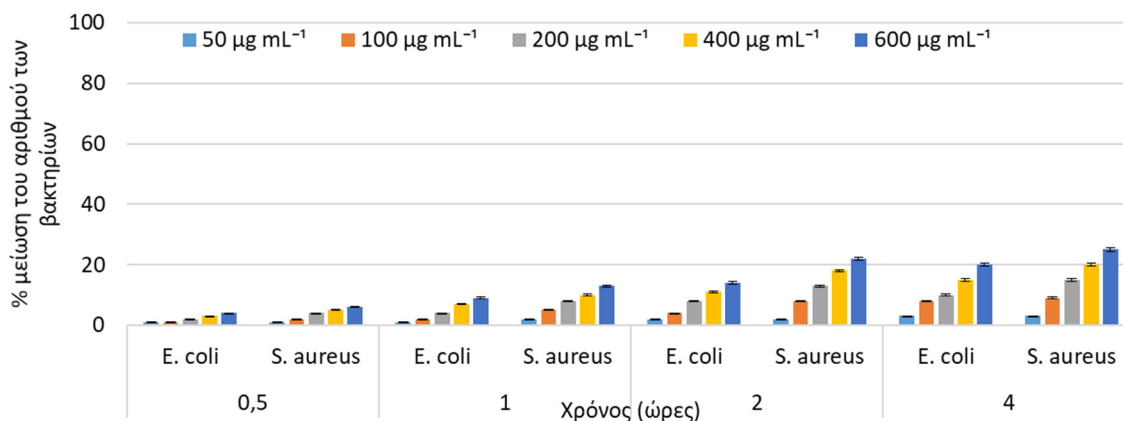
Εικόνα 63: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της στελλάριας.



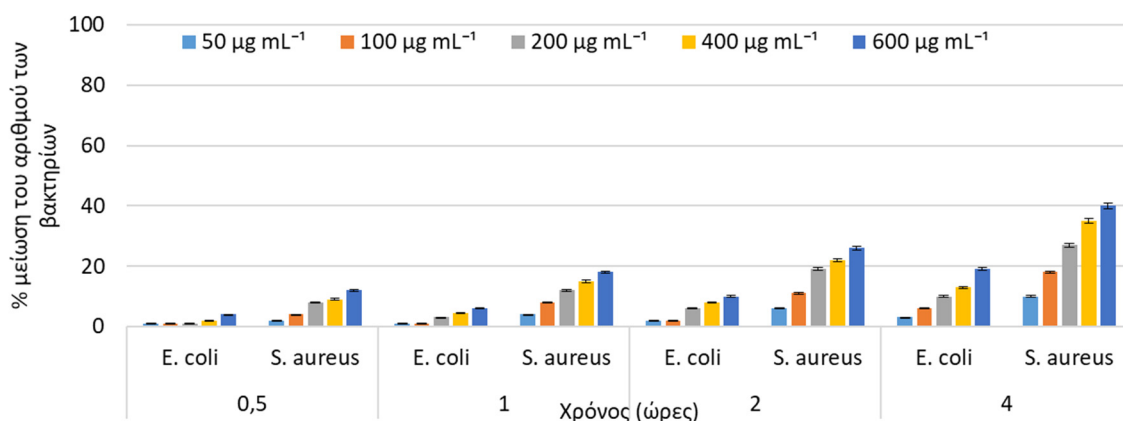
Εικόνα 64: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του τριαντάφυλλου.



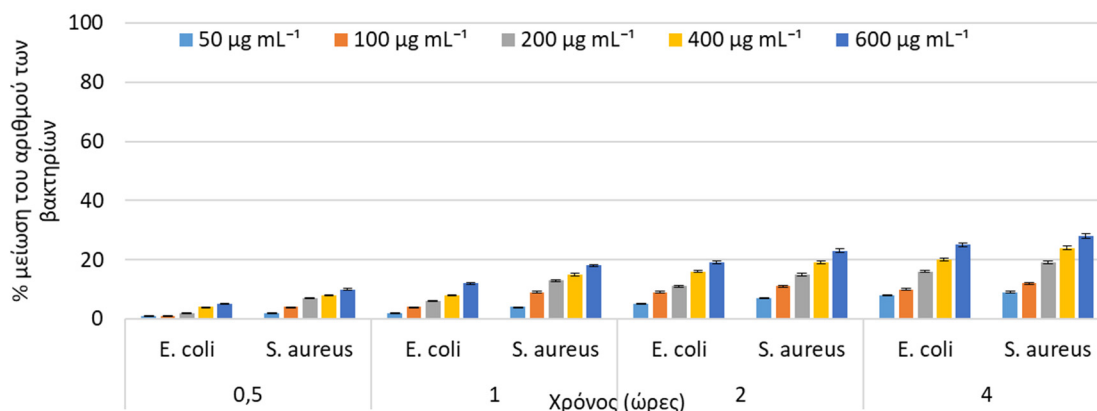
Εικόνα 65: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της τριγωνέλλας.



Εικόνα 66: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της τσουκνίδας.



Εικόνα 67: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα της φραγκουλιάς.



Εικόνα 68: % μείωση του αριθμού των βακτηρίων *E.coli* και *S. Aureus* μετά από μισή 1, 2 και 4 ώρες με το εκχύλισμα του χελιδονίου.

3.3 Επίδραση εκχυλισμάτων στον ρυθμό ανάπτυξης ευκαρυωτικών κυττάρων

3.3.1 Μελέτη τοξικότητας

Στα *in vitro* πειράματα που πραγματοποιήθηκαν, μελετήθηκε η επίδραση των φυτικών εκχυλισμάτων στην πολλαπλασιαστική ικανότητα αθανатоποιημένων - μη καρκινικών (HaCaT και HEK-293) και καρκινικών (A549, MCF-7, MDA-MB, HeLa) κυττάρων. Σκοπός των πειραμάτων ήταν να προκύψουν αποτελέσματα σχετικά με την εν δυνάμει τοξικότητα των εκχυλισμάτων στις υπό μελέτη κυτταρικές σειρές, καθώς και πληροφορίες για τη συγκέντρωση και τον χρόνο επώασης στον οποίο το εκάστοτε εκχύλισμα εμφανίζει τοξικότητα. Επιπλέον δεδομένα σχετικά με την εν δυνάμει ευεργετική δράση των εκχυλισμάτων στον ρυθμό ανάπτυξης των κυττάρων μπορούν να προκύψουν. Οι δυο αυτές, υπό μελέτη, βιολογικές δράσεις δικαιολογούν και την επιλογή των συγκεκριμένων κυτταρικών σειρών, καθώς είναι επιθυμητό να βρεθούν ενώσεις με τοξική δράση έναντι των καρκινικών κυττάρων και ενώσεις με ευεργετική επίδραση στον ρυθμό ανάπτυξης των αθανатоποιημένων - μη καρκινικών κυττάρων. Για τη μελέτη αυτή προστέθηκαν 50, 100 και 150 µg mL⁻¹ από το εκάστοτε εκχύλισμα στις προαναφερθείσες κυτταρικές σειρές και στη συνέχεια μετρήθηκε ο αριθμός των ζωντανών κυττάρων μετά από 24 και 48 ώρες επώασης με το εκάστοτε εκχύλισμα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στις εικόνες 71 έως 90. Όσον αφορά την τοξικότητα των εκχυλισμάτων

στα καρκινικά κύτταρα, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι κανένα από τα εξεταζόμενα εκχυλίσματα δεν προκαλεί μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων σε σημαντικό βαθμό. Η μεγαλύτερη μείωση του ρυθμού ανάπτυξης (~5%) παρατηρήθηκε στα κύτταρα MDA-MB μετά από 48 ώρες επώασης με $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ του εκχυλίσματος φραγκουλιάς. Ωστόσο η μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των αθανатоποιημένων - μη καρκινικών κυττάρων στις ίδιες συνθήκες ανέρχεται σε 10% και 13% για τα HEK-293 και HaCaT, αντίστοιχα. Η δοκιμή μεγαλύτερων συγκεντρώσεων εκχυλίσματος φραγκουλιάς προκειμένου να επιτευχθεί μεγαλύτερη μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων κρίνεται μάταιη, καθώς και η μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των αθανатоποιημένων - μη καρκινικών κυττάρων θα είναι εξίσου μεγάλη ή και μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή των καρκινικών κυττάρων. Κάτι τέτοιο δεν θα είχε καμία βιολογική αξία και πρακτική εφαρμογή καθώς οι ενώσεις που προκαλούν τοξικότητα στα καρκινικά κύτταρα θα πρέπει να είναι εκλεκτικές και να μην επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό τα φυσιολογικά κύτταρα.

Από τα αποτελέσματα είναι επίσης εμφανές, ότι δέκα από τα εκχυλίσματα που δοκιμάστηκαν έχουν ευεργετική δράση καθώς αυξάνουν τον ρυθμό ανάπτυξης των κυττάρων. Τη μεγαλύτερη δράση εμφανίζει το εκχύλισμα τσουκνίδας (αύξηση του αριθμού των κυττάρων έως και 40% μετά από 24 ώρες επώαση των κυττάρων HEK-293 με $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος). Πιο συγκεκριμένα $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τσουκνίδας αυξάνουν τον αριθμό των κυττάρων HEK-293, σε σχέση με το δείγμα ελέγχου (όλα τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής που παρουσιάζονται στη συνέχεια εκφράζονται σε σχέση με το δείγμα ελέγχου), κατά $15 \pm 1\%$ μετά από 24 ώρες, ενώ $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ και $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ αυξάνουν τον αριθμό των κυττάρων κατά 28 ± 2 και $39 \pm 2 \%$ αντίστοιχα. Η διαφορά αυτή είναι στατιστικά σημαντική για $p < 0,001$. Μετά από 48 ώρες επώαση των κυττάρων με το εκχύλισμα τσουκνίδας η βιωσιμότητα των κυττάρων είναι μικρότερη από την παρατηρούμενη στις 24 ώρες, ωστόσο και πάλι υψηλότερη σε σχέση με το δείγμα ελέγχου. Συγκεκριμένα, ο αριθμός των κυττάρων HEK-293 είναι αυξημένος κατά $5 \pm 1\%$, $10 \pm 1\%$ και $25 \pm 2\%$ όταν αυτά επωάστηκαν με 50, 100 και $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ αντίστοιχα. Στα κύτταρα HaCaT, η μεγαλύτερη αύξηση του αριθμού των κυττάρων σε σχέση με το δείγμα

ελέγχου ($30 \pm 2\%$) παρατηρήθηκε, όταν αυτά επώαστηκαν με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ για 24 ώρες, ενώ για συγκεντρώσεις 50 και $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ παρατηρήθηκε αύξηση των κυττάρων κατά $19 \pm 2\%$ και $14 \pm 1\%$, αντίστοιχα. Παρόμοια αποτελέσματα με αυτά των κυττάρων HEK-293 καταγράφηκαν και για τα κύτταρα HaCaT μετά από 48 ώρες επώασης με το εκχύλισμα της τσουκνίδας. Πιο συγκεκριμένα καταγράφηκε αύξηση του αριθμού των κυττάρων κατά $13 \pm 2\%$, $26 \pm 1\%$ και $3 \pm 1\%$ για 50, 100 και $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ αντίστοιχα. Μέχρι τώρα δεν υπάρχουν προηγούμενες μελέτες που να αναφέρουν την ικανότητα των εκχυλισμάτων της τσουκνίδας να αυξάνουν τον αριθμό των ευκαρυωτικών κυττάρων. Αντιθέτως, υπάρχουν εργασίες που αναφέρουν ότι τα υδατικά εκχυλίσματα της τσουκνίδας εμφανίζουν τοξική δράση στα καρκινικά κύτταρα MCF-7 καθώς και τους καρκινικούς ιστούς που απομονώθηκαν από ασθενείς [241,242]. Υπάρχει μόνο μια αναφορά για εκχύλισμα τσουκνίδας το οποίο επιταχύνει την επούλωση των δερματικών τραυμάτων [243]. Στην εργασία αυτή χρησιμοποιήθηκε υδροαιθανολικό εκχύλισμα από τα φύλλα της τσουκνίδας και βρέθηκε από πειράματα *in vivo* ότι επιταχύνει την επούλωση των δερματικών τραυμάτων. Ωστόσο, η δράση αποδίδεται στην αντιοξειδωτική και βακτηριοκτόνο δράση του, ενώ δεν αναφέρεται αύξηση του αριθμού των κυττάρων, όπως παρατηρήθηκε στη προκειμένη περίπτωση. Η διαφορά αυτή στη δράση των 2 εκχυλισμάτων (υπό μελέτη εκχύλισμα και υδροαιθανολικό εκχύλισμα), οφείλεται πιθανότατα στη διαφορετική τους σύσταση, η οποία είναι αποτέλεσμα του διαφορετικού τρόπου παρασκευής των δυο εκχυλισμάτων. Το εκχύλισμα της παρούσας μελέτης παρασκευάστηκε μετά από απομάκρυνση ποικίλων φυτοχημικών ενώσεων κατά το στάδιο εκχύλισης Soxhlet με οξικό αιθυλεστέρα και ακετονιτρίλιο, με αποτέλεσμα σε μια ορισμένη συγκέντρωση εκχυλίσματος μετά τον βρασμό του φυτού να περιέχεται μεγαλύτερη ποσότητα των φυτοχημικών που δεν απομακρύνθηκαν (σε σύγκριση με ένα υδροαιθανολικό εκχύλισμα με απευθείας βρασμό του φυτού), καθιστώντας ευκολότερη την ανάδειξη των βιολογικών τους δράσεων.

Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν, όπως προαναφέρθηκε και για άλλα φυτά. Όσον αφορά το φυτό περδικάκι, η μεγαλύτερη αύξηση του αριθμού των κυττάρων παρατηρήθηκε σε συγκεντρώσεις 150 και $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ για τα κύτταρα HEK-293 και HaCaT,

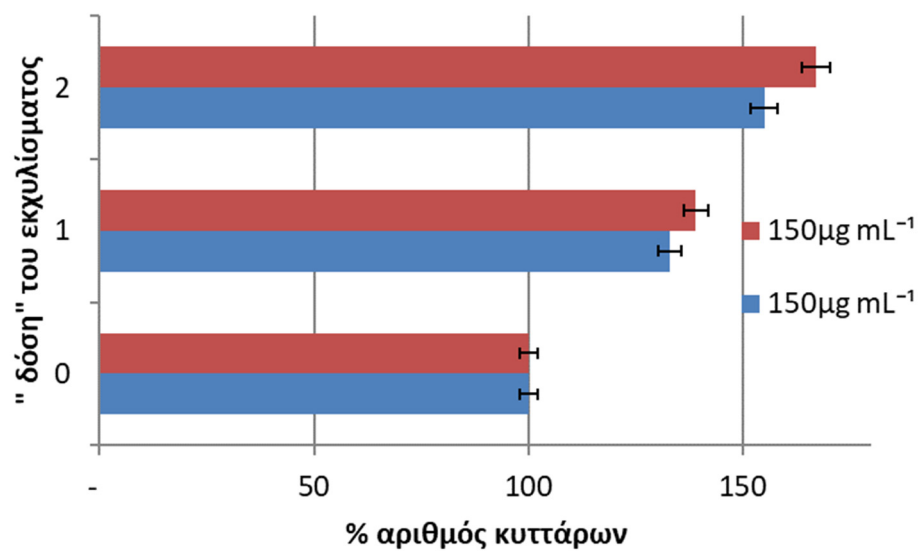
αντίστοιχα, μετά από 24 ώρες επώασης (στα κύτταρα HEK-293 η αύξηση ήταν $30 \pm 2\%$ και $20 \pm 2\%$ για τα κύτταρα HaCaT). Σε συγκέντρωση $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ το εκχύλισμα της λαδανιάς προκαλεί αύξηση του αριθμού των κυττάρων HEK-293 και HaCaT κατά $31 \pm 2\%$ και $25 \pm 2\%$, αντίστοιχα, μετά από 24 ώρες. Το εκχύλισμα παιώνιας ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) επιφέρει αύξηση στον αριθμό των κυττάρων HEK-293 και HaCaT κατά $28 \pm 2\%$ και $17 \pm 1\%$ μετά από 24 ώρες. Σε συγκέντρωση $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ το εκχύλισμα της καλεντούλας προκαλεί αύξηση του αριθμού των κυττάρων HEK-293 και HaCaT κατά $26 \pm 1\%$ και $20 \pm 1\%$, αντίστοιχα, μετά από 24 ώρες. Το εκχύλισμα τριγωνέλλας ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) επιφέρει αύξηση στον αριθμό των κυττάρων HEK-293 και HaCaT κατά $25 \pm 2\%$ και $11 \pm 1\%$ μετά από 24 ώρες. Το εκχύλισμα κεδροκούκουτσου ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) επιφέρει αύξηση στον αριθμό των κυττάρων HEK-293 και HaCaT κατά $25 \pm 1\%$ και $20 \pm 1\%$ μετά από 24 ώρες, ενώ $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ επιφέρουν 19 ± 2 και $13 \pm 1\%$ αύξηση στον πληθυσμό των κυττάρων αντίστοιχα. Το εκχύλισμα επιλόβιου επιφέρει αύξηση στον αριθμό των κυττάρων κατά 19 ± 1 και $13 \pm 1\%$ στα κύτταρα HEK-293 ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) και HaCaT ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) αντίστοιχα μετά από 24 ώρες. Όσον αφορά τα εκχυλίσματα στελλάριας και γαλλίου παρατηρήθηκαν παρόμοια αποτελέσματα. Στα κύτταρα HEK-293 σε συγκέντρωση $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ σημειώθηκε αύξηση του αριθμού των κυττάρων κατά $21 \pm 1\%$ και $20 \pm 1\%$ για το εκχύλισμα στελλάριας και γαλλίου αντίστοιχα, ενώ στα κύτταρα HaCaT σημειώθηκε αύξηση του αριθμού των κυττάρων κατά $19 \pm 1\%$ ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) και $19 \pm 1\%$ ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) μετά από επώαση με το εκχύλισμα στελλάριας και γαλλίου αντίστοιχα. Τα εκχυλίσματα των φυτών τριαντάφυλλο, κράταιγος, παναγίοχορτο, δίκταμος, εκουϊζέτο, χελιδόνιο και μποράνγκο επιφέρουν αύξηση στον αριθμό των κυττάρων HEK-293 έως 16% και στον αριθμό των κυττάρων HaCaT έως 13% (χελιδόνιο), ενώ τα εκχυλίσματα των φυτών φραγκουλιά, αγριμόνιο και σκορπίδι δεν επιφέρουν καμία αύξηση στον αριθμό των κυττάρων. Όσον αφορά τα φυτά καλεντούλα και τριγωνέλλα πρόσφατα δημοσιεύτηκαν παρόμοια ευρήματα [244,245]. Όσον αφορά τα υπόλοιπα φυτά δεν έχει γίνει ακόμη κάποια μελέτη για την επίδρασή τους στον ρυθμό πολλαπλασιασμού ευκαρυωτικών κυττάρων, γεγονός που αναδεικνύει ακόμα περισσότερο τη σημαντικότητα των αποτελεσμάτων αυτών, καθώς αν και τα

παρατηρούμενα ποσοστά είναι μειωμένα σε σχέση με το εκχύλισμα της τσουκνίδας, δεν είναι καθόλου ευκαταφρόνητα και αμελητέα. Τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να πυροδοτήσουν μελλοντικές έρευνες και να αναδείξουν επιπλέον ιδιότητες των φυτών.

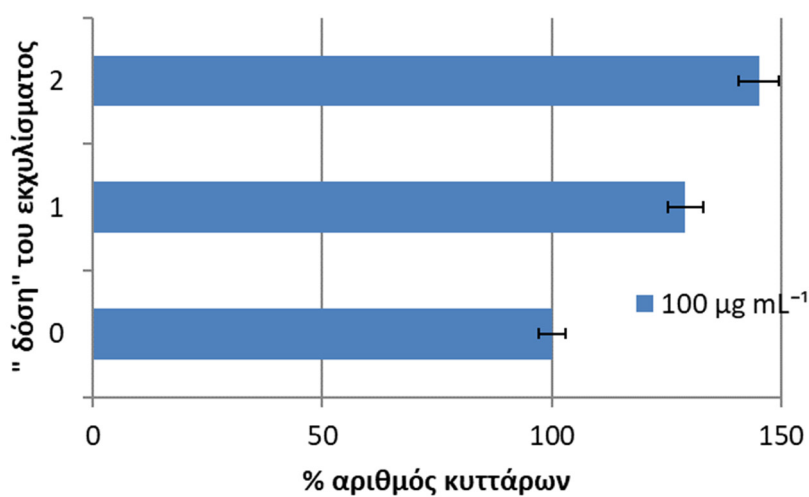
Για τα φυτά που παρουσιάζουν αύξηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων, σε όλες τις περιπτώσεις παρατηρείται ότι η αύξηση του αριθμού των αθανатоποιημένων - μη καρκινικών κυττάρων είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τα καρκινικά κύτταρα. Τα κύτταρα HaCaT προήλθαν από φυσιολογική κερατινοποίηση σε μια αυθόρμητα αθανатоποιημένη ανευπλοειδής ανθρώπινη κερατινοκυτταρική σειρά [246], ενώ τα κύτταρα HEK-293 προέρχονται από ανθρώπινα εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα [247]. Η διαφορά αυτή στην απόκριση των κυττάρων στο ίδιο εκχύλισμα μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι τα καρκινικά κύτταρα εξαρτώνται σε μικρότερο βαθμό από εξωγενή ερεθίσματα προκειμένου να πολλαπλασιαστούν. Λόγω αυτού, η δράση των εκχυλισμάτων στα κύτταρα HEK-293 και HaCaT είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τα καρκινικά κύτταρα [248]. Επιπλέον, ακόμα και μεταξύ παρόμοιων καρκινικών κυττάρων του μαστού (MDA-MB-231 και MCF-7), των οποίων η διαφορά επικεντρώνεται στον μεταστατικό και διεισδυτικό χαρακτήρα τους, παρατηρείται διαφορετική επίδραση, ενισχύοντας την προαναφερθείσα υπόθεση [249]. Όσον αφορά τις παρατηρούμενες διαφορές στην αύξηση του αριθμού των αθανатоποιημένων- μη καρκινικών κυττάρων HEK-293 και HaCaT, αυτές μπορούν να αποδοθούν στον διαφορετικό χρόνο διπλασιασμού της κάθε κυτταρικής σειράς. Τα κύτταρα HEK-293 διπλασιάζονται κάθε 24 ώρες, ενώ τα HaCaT κάθε 30 ώρες.

Σε γενικές γραμμές παρατηρείται ότι οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων προκαλούν μεγαλύτερη αύξηση του αριθμού των κυττάρων. Ωστόσο κατά την επώαση κυττάρων με εκχυλίσματα από τα φυτά λαδανιά, τριγωνέλλα, χελιδόνιο, τσουκνίδα και περδικάκι, ο αριθμός των κυττάρων βρέθηκε να είναι μειωμένος όταν η επώαση γινόταν με $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ σε σχέση με τον αριθμό τους όταν αυτά επωάστηκαν με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ των εκχυλισμάτων. Από τα αποτελέσματα προκύπτει, ότι αυξάνοντας τη συγκέντρωση των εκχυλισμάτων αυξάνεται και η συγκέντρωση ορισμένων ενώσεων οι

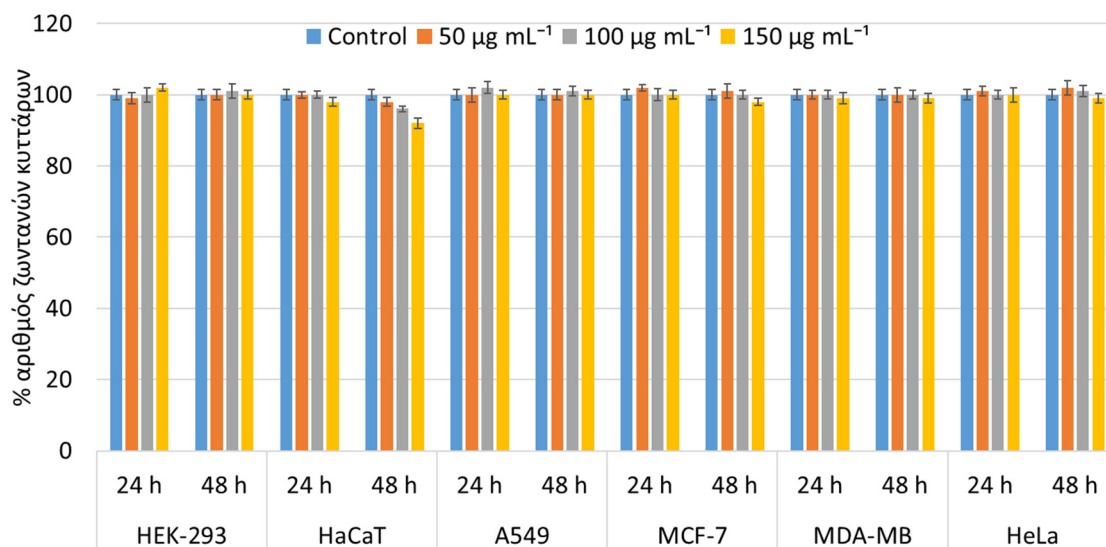
οποίες σε μεγαλύτερη συγκέντρωση προκαλούν μείωση του αριθμού των κυττάρων και συνεπώς αντισταθμίζουν την ευεργετική δράση. Και για τα 10 εκχυλίσματα παρατηρείται ότι η αύξηση του αριθμού των κυττάρων μετά από 48 ώρες είναι μικρότερη σε σχέση με τις 24 ώρες. Αυτό αποτελεί μια ένδειξη της “κατανάλωσης” των εκχυλισμάτων και της ανάγκης για ανατροφοδότηση των κυττάρων με τα εκχυλίσματα. Για να επιβεβαιωθεί η ένδειξη αυτή, έγινε η εξής δοκιμή: αρχικά τα κύτταρα επώαστηκαν για 24 ώρες παρουσία του εκάστοτε εκχυλίσματος και στη συνέχεια το θρεπτικό υλικό των κυττάρων αντικαταστάθηκε με νέο που περιείχε μια ακόμα “δόση” του εκχυλίσματος και τα κύτταρα επώαστηκαν για ακόμα 24 ώρες. Ο αριθμός των κυττάρων στα οποία προστέθηκε η δεύτερη “δόση” εκχυλίσματος, 24 ώρες μετά την πρώτη “δόση”, ήταν σχεδόν διπλάσια σε σχέση με τον αριθμό των κυττάρων (όπως φαίνεται στις εικόνες 48 και 49) που επώαστηκαν για 48 ώρες με μια “δόση” εκχυλίσματος. Για να διαπιστωθεί αν τα αποτελέσματα αυτά οφείλονται σε κατανάλωση του εκχυλίσματος, το θρεπτικό υλικό των κυττάρων που επώαστηκαν για 24 ώρες με μια “δόση” εκχυλίσματος μεταφέρθηκε σε νέα καλλιέργεια κυττάρων. Μετά από 24 ώρες δεν παρατηρήθηκε καμία αύξηση του αριθμού των κυττάρων. Τέλος, για να διαπιστωθεί εάν γίνεται αποδόμηση των δραστικών ενώσεων των εκχυλισμάτων κατά από 24 ώρες στις συνθήκες επώασης των κυττάρων, οι υπό μελέτη συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων προστέθηκαν σε θρεπτικό υλικό απουσία κυττάρων και επώαστηκαν για 24 ώρες. Μετά την επώαση το θρεπτικό υλικό με το εκάστοτε φυτικό εκχύλισμα μεταφέρθηκε σε κυτταροκαλλιέργεια και μετά από 24 ώρες μετρήθηκε ο αριθμός των κυττάρων. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν όμοια με αυτά της επώασης των κυττάρων με τα φυτικά εκχυλίσματα τα οποία δεν επώαστηκαν προηγουμένως για 24 ώρες με το θρεπτικό υλικό, γεγονός που δείχνει ότι δεν πραγματοποιείται αποδόμηση των δραστικών συστατικών στις συνθήκες διεξαγωγής του πειράματος. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων αυτών φαίνονται στις εικόνες 69 και 70. Η αύξηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων είναι επιθυμητή κατά το στάδιο της επούλωσης των τραυμάτων. Συνεπώς τα 10 εκχυλίσματα που αυξάνουν τον αριθμό των κυττάρων, ενδείκνυνται για την ταχύτερη επούλωση τραυμάτων.



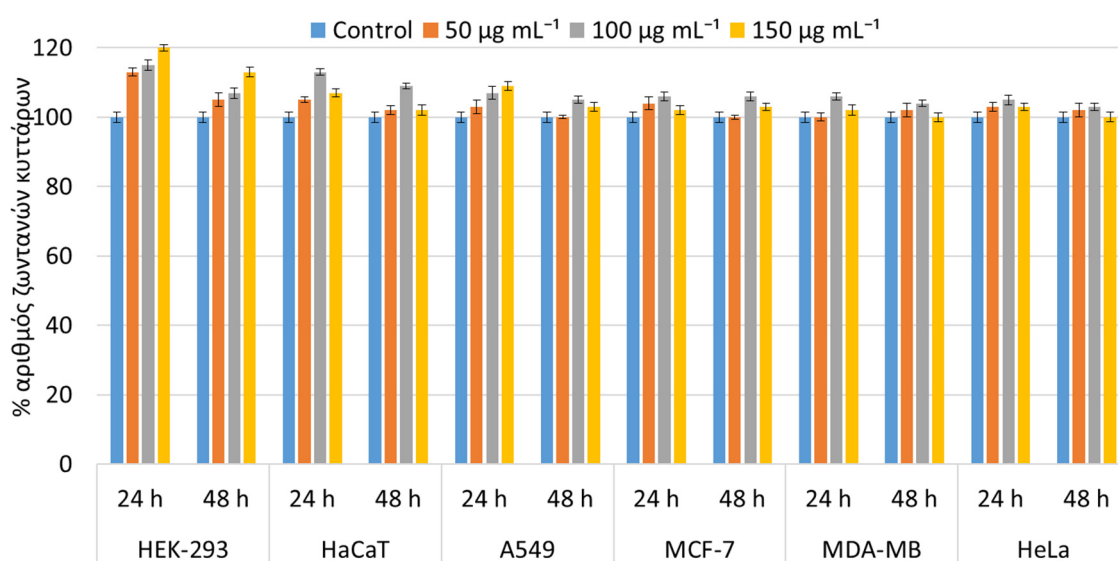
Εικόνα 69: % αριθμός των κυττάρων HEK-293 με 1 και 2 “δόσεις” εκχυλίσματος τσουκνίδας μετά από 48 ώρες επώασης.



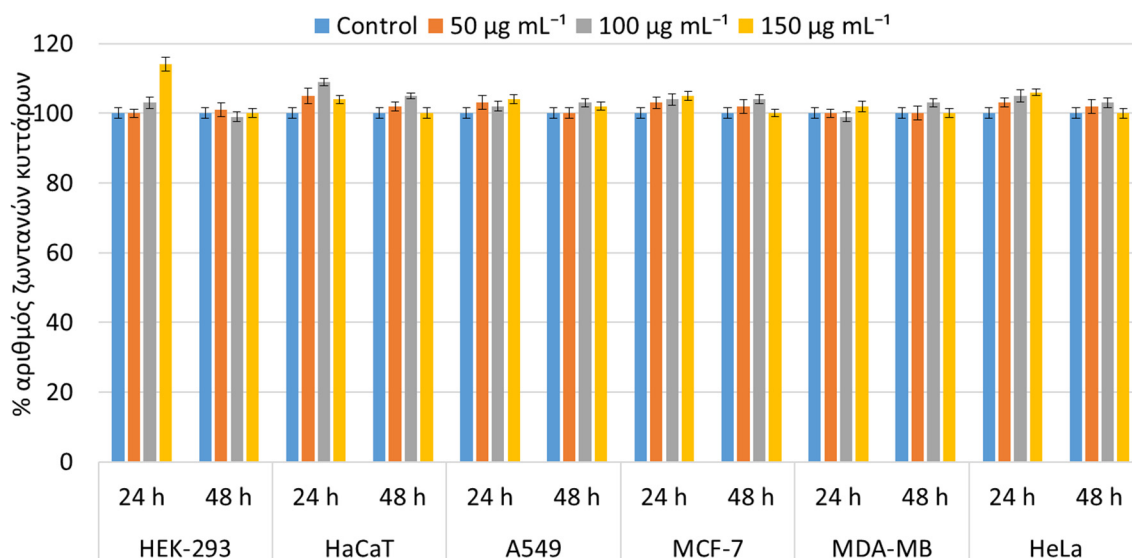
Εικόνα 70: % αριθμός των κυττάρων HaCaT με 1 και 2 “δόσεις” εκχυλίσματος τσουκνίδας μετά από 48 ώρες επώασης.



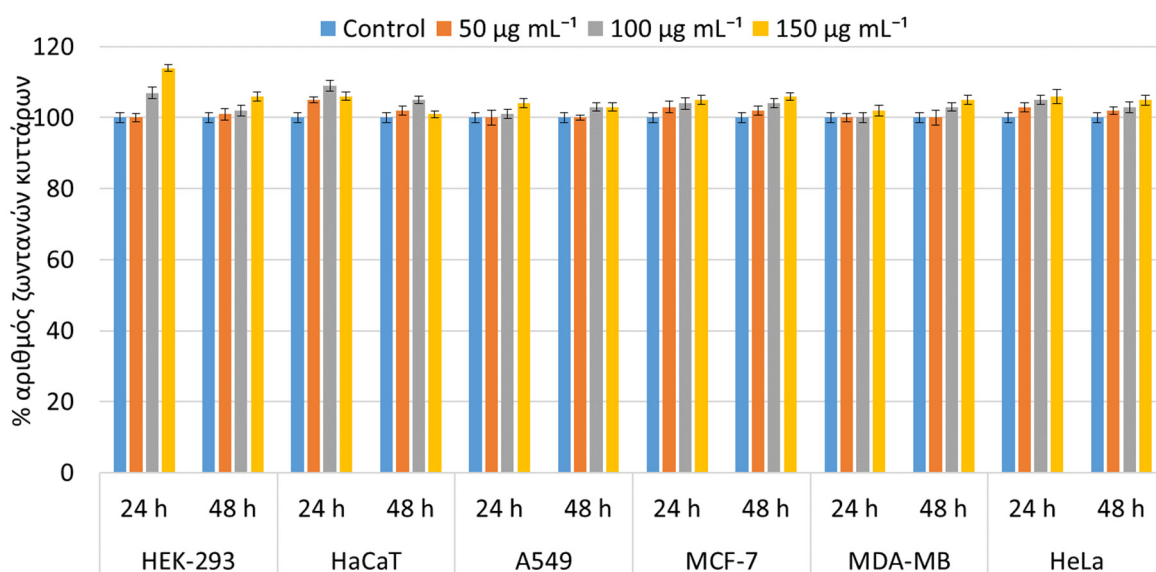
Εικόνα 71: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα αγριμονίου.



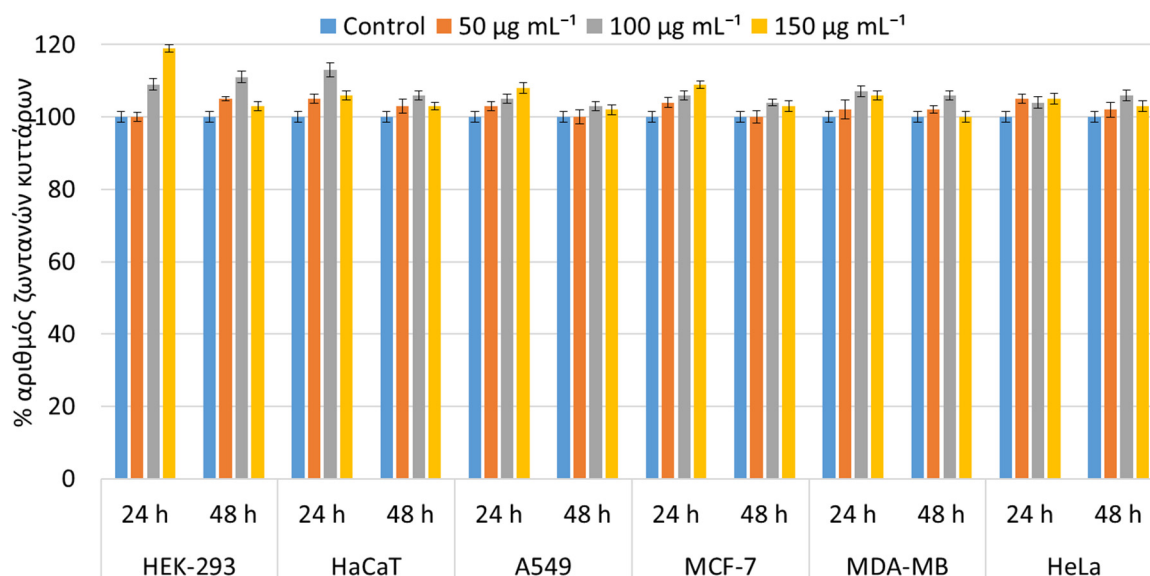
Εικόνα 72: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα γάλλιου.



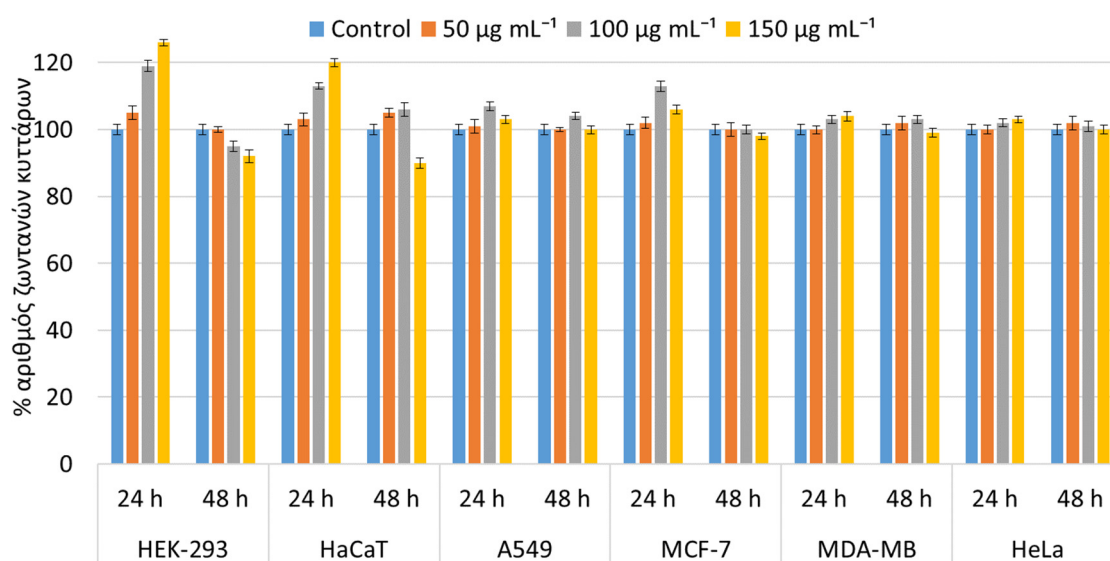
Εικόνα 73: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα δίκταμου.



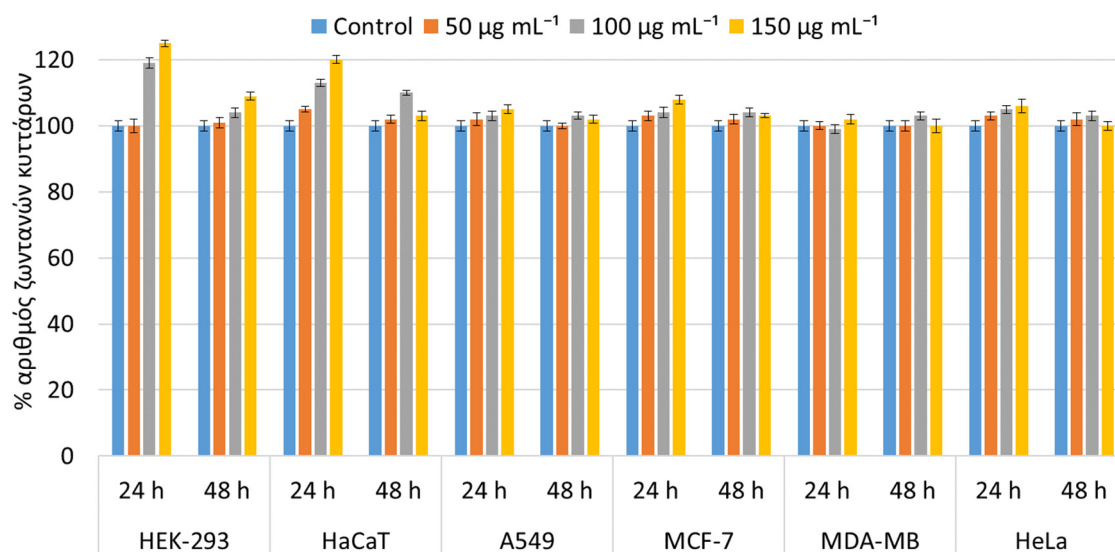
Εικόνα 74: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα εκουίζέτου.



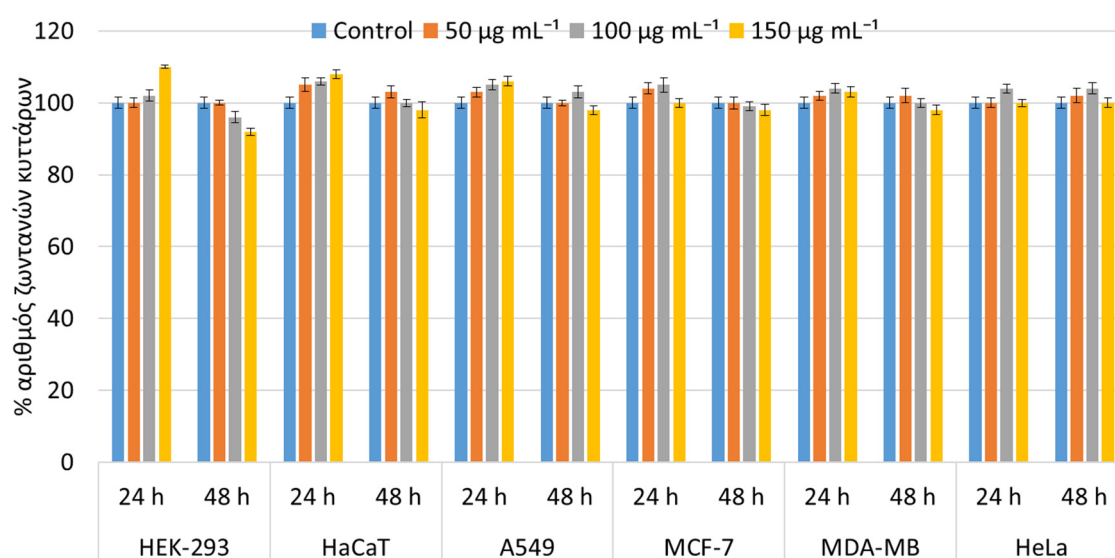
Εικόνα 75: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα επιλόβιου.



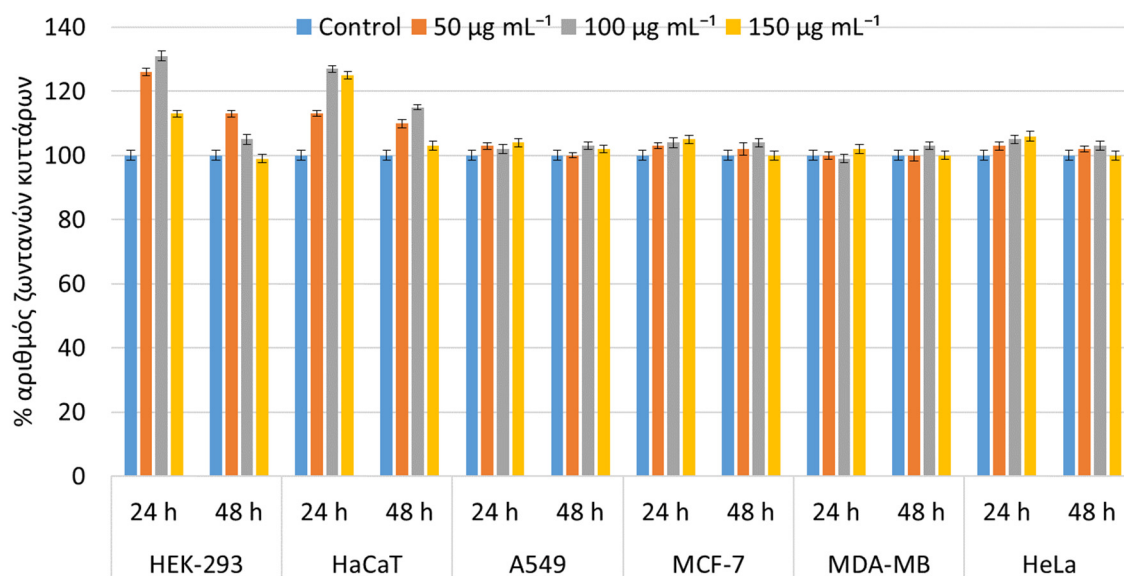
Εικόνα 76: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα καλεντούλας.



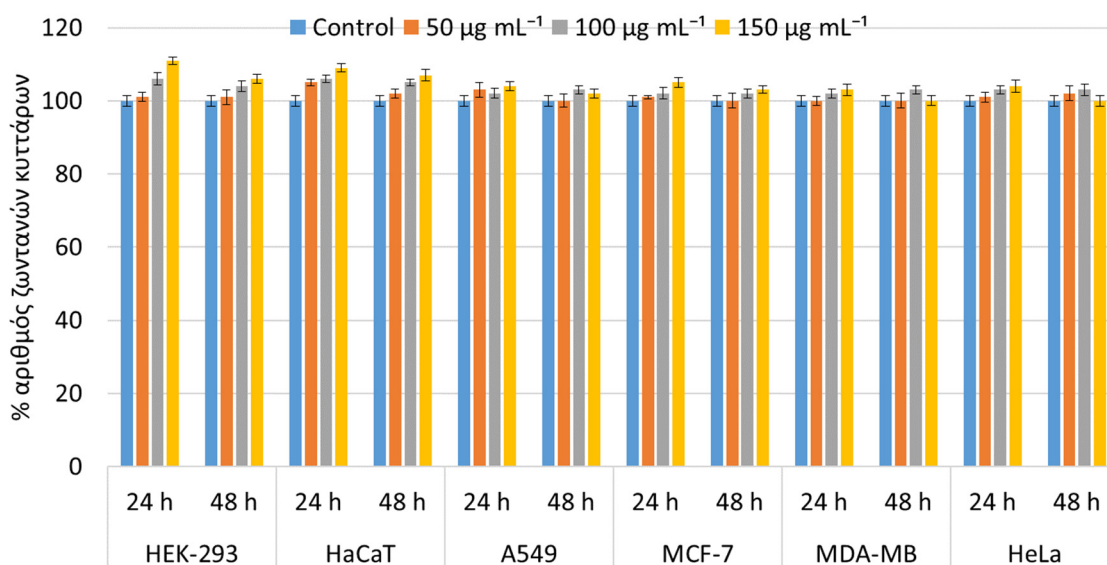
Εικόνα 77: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα κεδροκούκουτσου.



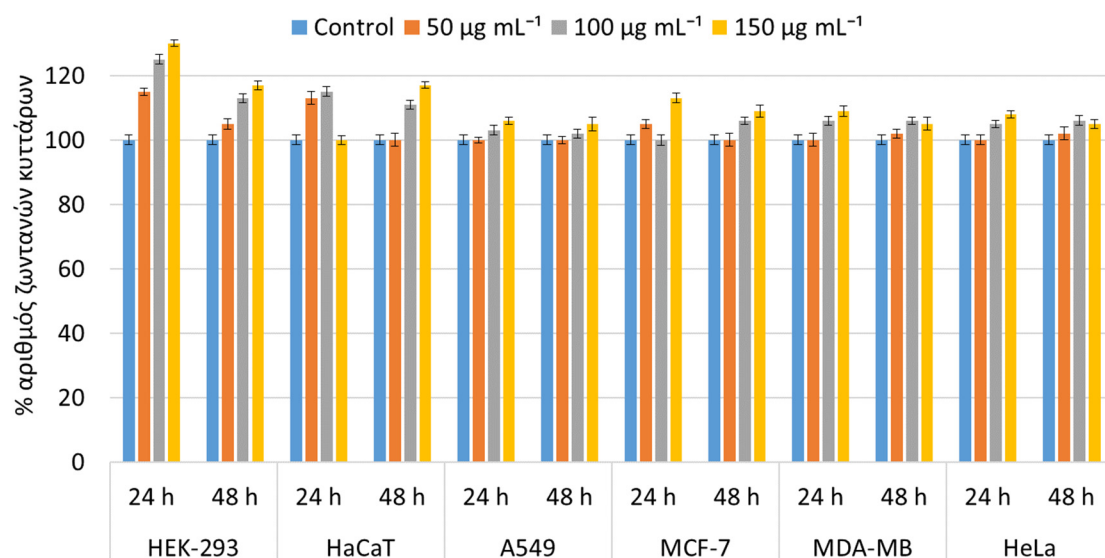
Εικόνα 78: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα κράταιγου.



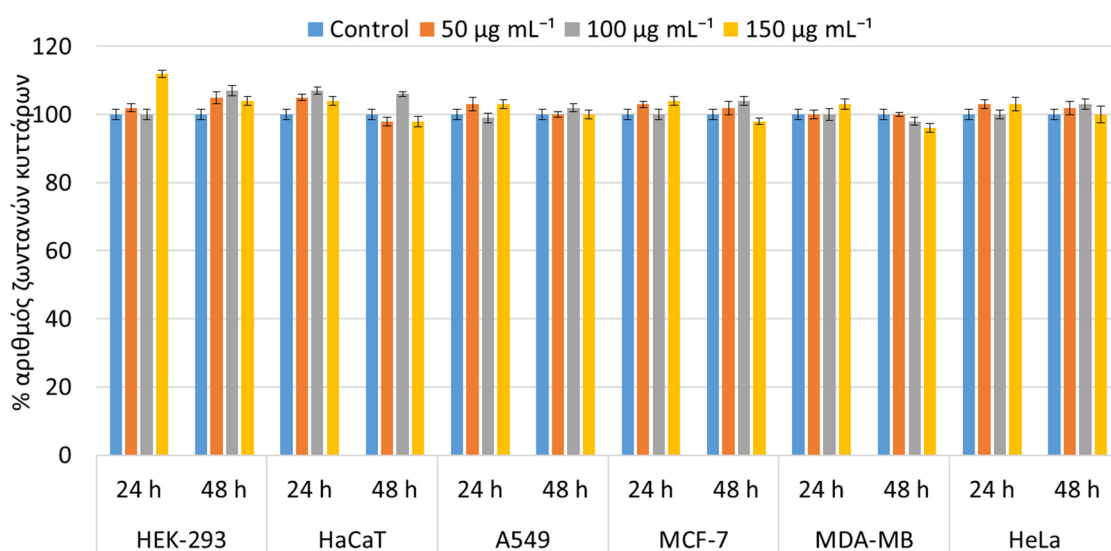
Εικόνα 79: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα λαδανιάς.



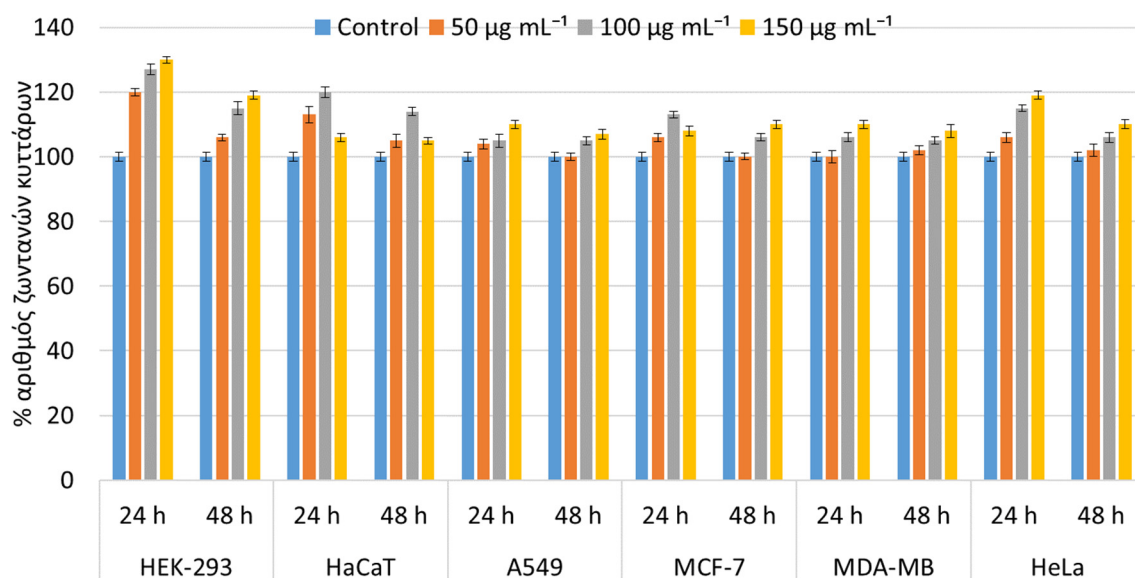
Εικόνα 80: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα μποράνγκου.



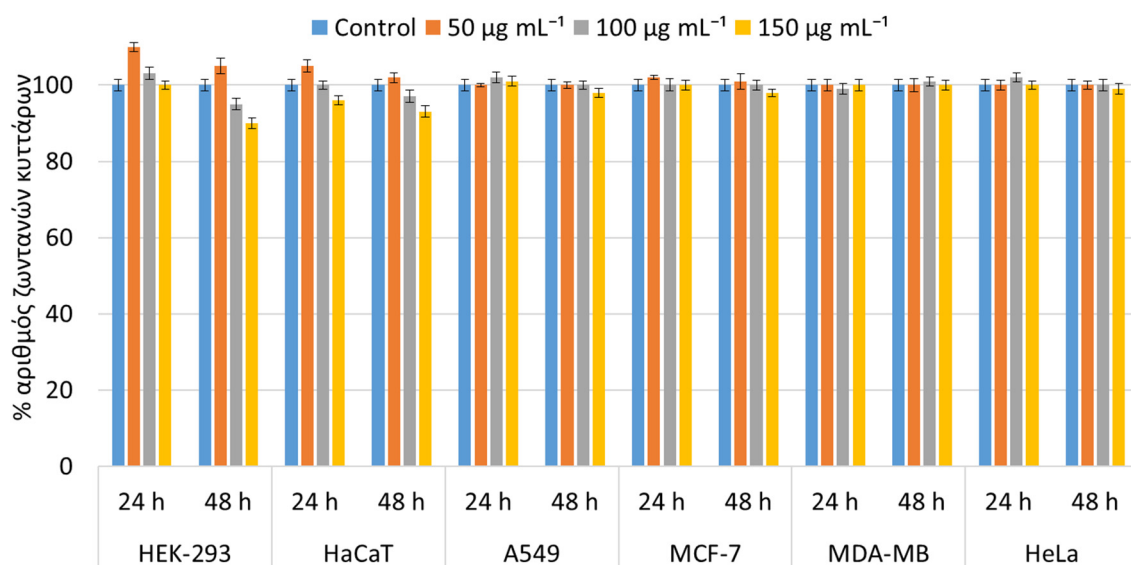
Εικόνα 81: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα παιώνιας.



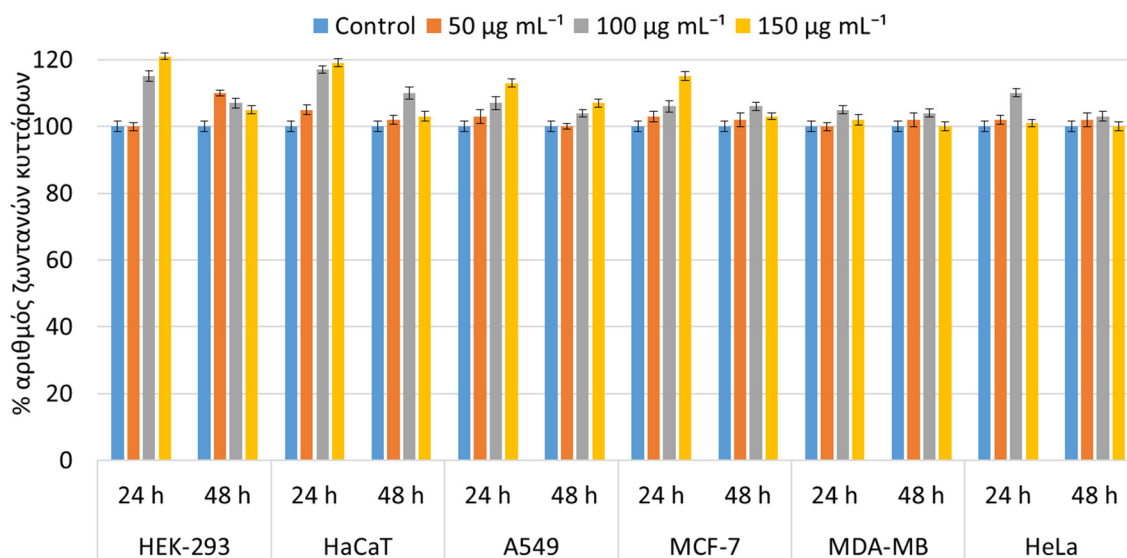
Εικόνα 82: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα παναγιόχορτου.



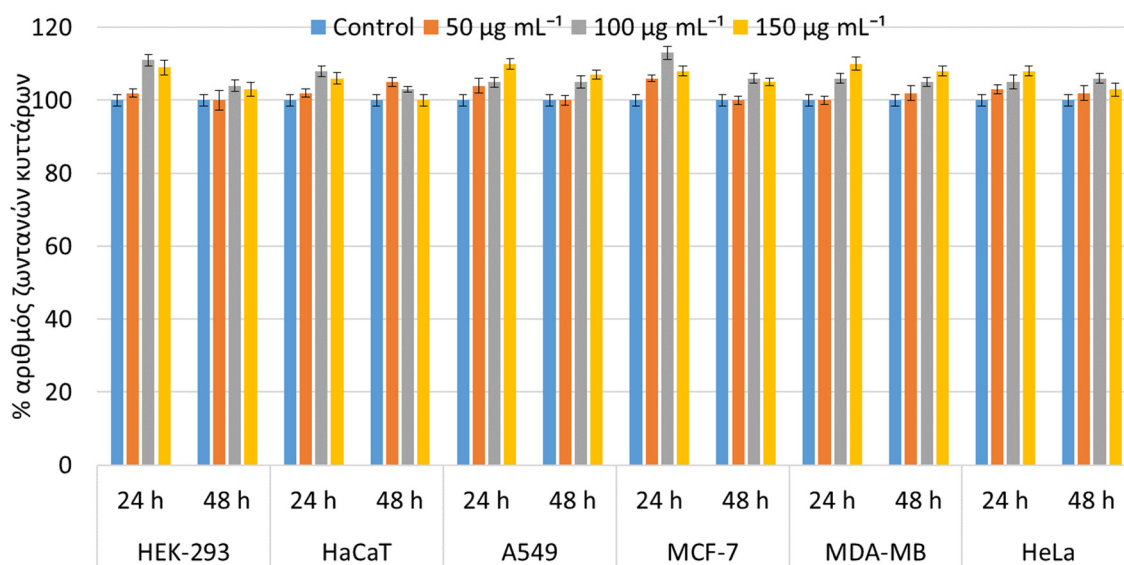
Εικόνα 83: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα περδικακίου.



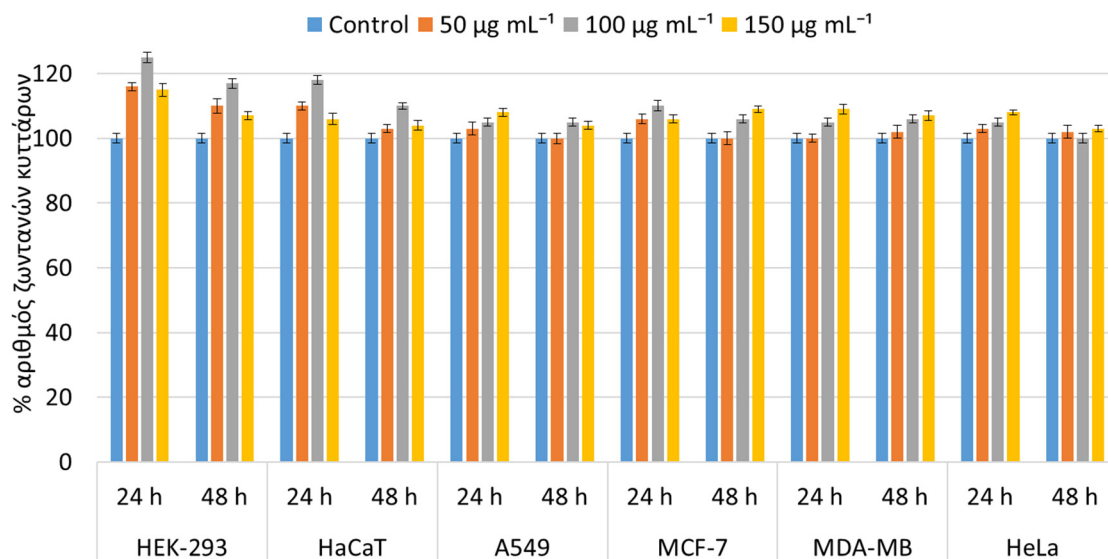
Εικόνα 84: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα σκορπιδίου.



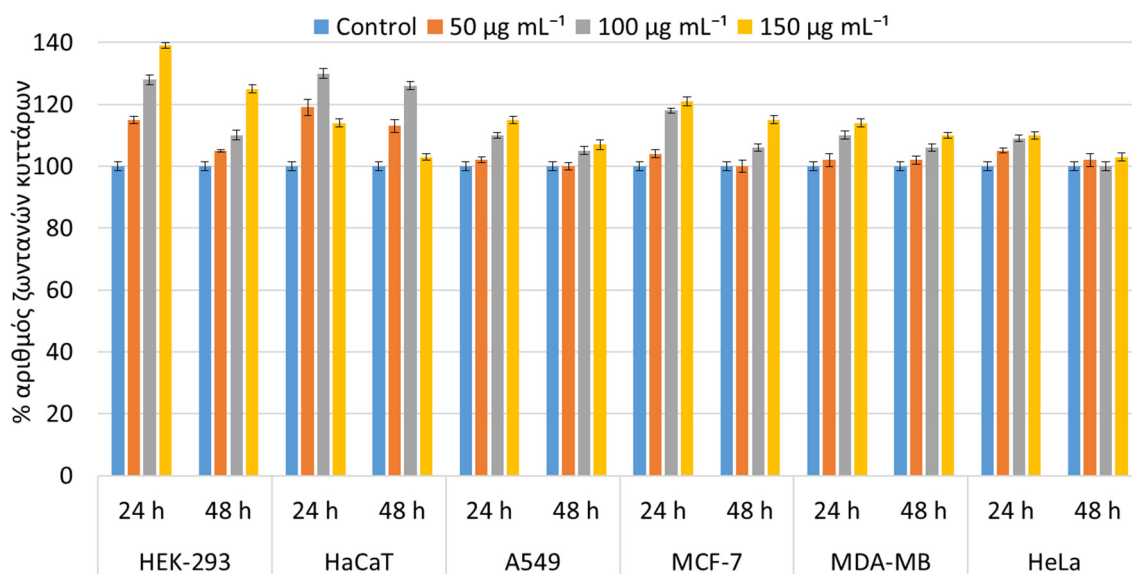
Εικόνα 85: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα στελλάρις.



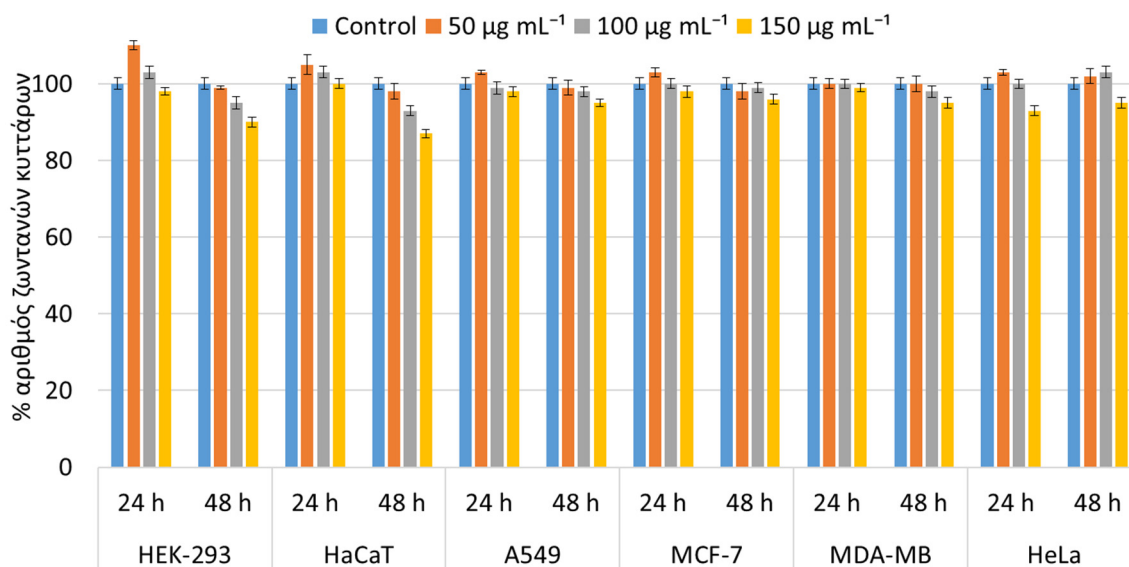
Εικόνα 86: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα τριαντάφυλλου.



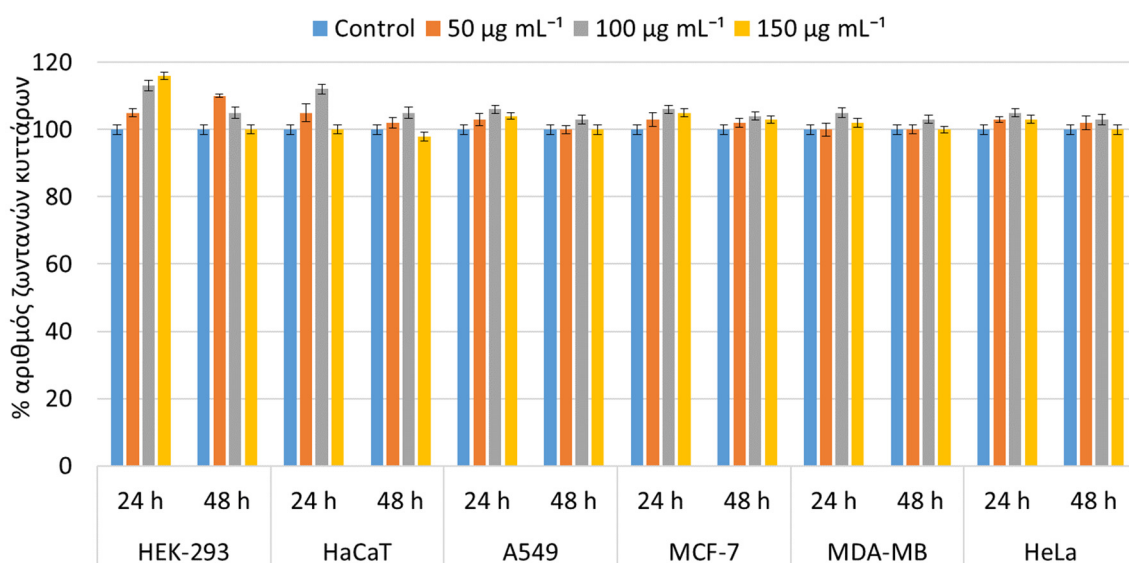
Εικόνα 87: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα τριγωνέλλας.



Εικόνα 88: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα τσουκνίδας.



Εικόνα 89: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα φραγκουλιάς.



Εικόνα 90: % αριθμός ζωντανών κυττάρων μετά από επώαση 24 και 48 ώρες των κυττάρων HEK-293, HaCaT, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa με εκχύλισμα χελιδόνιου.

3.3.2 Μελέτη της επίδρασης επιλεγμένων εκχυλισμάτων στον κυτταρικό κύκλο

Από τα αποτελέσματα μελέτης της επίδρασης των εκχυλισμάτων σε ευκαρυωτικά κύτταρα προέκυψαν εκχυλίσματα τα οποία αυξάνουν τον αριθμό τους, μέσα σε 24 ώρες, σε σημαντικό βαθμό. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά επιλέχθηκαν τρία φυτικά εκχυλίσματα (τσουκνίδας, περδικακίου και λαδανιάς) τα οποία προκάλεσαν τη μεγαλύτερη αύξηση του αριθμού των κυττάρων ($p < 0,001$), έτσι ώστε να μελετηθεί ο κυτταρικός κύκλος των κυττάρων, μετά από την επώασή τους με τα παραπάνω εκχυλίσματα. Σκοπός των πειραμάτων ήταν να διερευνηθεί το πώς επιδρούν τα εκχυλίσματα στον κυτταρικό κύκλο των κυττάρων καθώς και με ποιο τρόπο επιτυγχάνετε η αύξηση του αριθμού των κυττάρων. Για τη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά τα κύτταρα HEK-293 και HaCaT, αφενός επειδή σε αυτά παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη δράση και αφετέρου επειδή δεν θα είχε αξία να διεξαχθεί μια τέτοια μελέτη σε καρκινικά κύτταρα. Η μελέτη έγινε με κυτταρομετρία ροής, κατηγοριοποιώντας τα κύτταρα, με βάση την ποσότητα του DNA τους στις φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Τα ποσοστά που αναφέρονται στη συνέχεια είναι εκφρασμένα σε σχέση με το δείγμα ελέγχου.

Από τη μελέτη προέκυψε, πως και τα τρία εκχυλίσματα προωθούν τον κυτταρικό κύκλο. Σε όλες τις περιπτώσεις παρατηρείται μεγαλύτερο ποσοστό κυττάρων στη G_2/M φάση και μικρότερο στην S και τη G_0/G_1 σε σχέση με το δείγμα ελέγχου μετά από επώαση των κυττάρων με τα εκάστοτε εκχυλίσματα, ενώ η αύξηση του πληθυσμού των κυττάρων που παρατηρείται στη G_2/M φάση είναι μεγαλύτερη για τα δείγματα που επωάστηκαν 24 ώρες με τα εκχυλίσματα σε σχέση με τα δείγματα που επωάστηκαν για 12 ώρες. Ενδεικτικά παρατίθενται τα ιστογράμματα DNA που αφορούν τη μελέτη των κυττάρων μετά από επώασή τους με το εκχύλισμα τσουκνίδας, ενώ τα αποτελέσματα παρατίθενται συγκεντρωτικά σε διαγράμματα στις εικόνες 91 έως 97. Όσον αφορά τα κύτταρα ελέγχου, αυτά εμφανίζουν το φυσιολογικό προφίλ κυτταρικού κύκλου κυττάρων που αναπαράγονται συνεχώς. Μετά από 12 ώρες επώασης με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ του εκχυλίσματος τσουκνίδας παρατηρείται αύξηση του ποσοστού των κυττάρων HEK-

293 στη G₂/M φάση κατά $3 \pm 1\%$ (όχι στατιστικά σημαντική διαφορά), ενώ μετά από 24 ώρες επώαση το ποσοστό ανέρχεται στο $5,5 \pm 1\%$ ($p < 0,05$). Παρατηρείται δηλαδή μια μικρή αύξηση της τάξης του 2,5%, μετά από ακόμα 12 ώρες. Ο πληθυσμός των κυττάρων που βρίσκονται στη G₀/G₁ μειώθηκε από 58,2% σε 55,4% μετά από 12 ώρες επώασης με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ του εκχυλίσματος τσουκνίδας, ενώ δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στην S φάση. Μετά από 24 ώρες επώασης παρατηρήθηκε ίδια μείωση στον πληθυσμό των κυττάρων που βρίσκονται στην G₀/G₁ (από 56,6% σε 54,0%) αλλά και μείωση στον πληθυσμό των κυττάρων που βρίσκονται στην S φάση από 21,0% σε 17,7%. Μεγαλύτερη συγκέντρωση ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) εκχυλίσματος τσουκνίδας επιφέρει αύξηση του πληθυσμού των κυττάρων στη G₂/M κατά 5 ± 1 και $10 \pm 1\%$ μετά από 12 και 24 ώρες επώασης με το εκχύλισμα. Η διαφορά αυτή είναι στατιστικά σημαντική για $p < 0,01$. Η μείωση του πληθυσμού των κυττάρων που βρίσκονται στη G₀/G₁ ανέρχεται σε 7 ± 2 και $2,5 \pm 1\%$ για 12 και 24 ώρες επώασης αντίστοιχα. Όσον αφορά τα κύτταρα που βρίσκονται στην S φάση, αυτά αυξήθηκαν κατά $2 \pm 1\%$ μετά από 12 ώρες επώασης (μετατόπιση των κυττάρων από τη G₀/G₁ στην S φάση) και βρέθηκαν μειωμένα κατά 7% (μετατόπιση των κυττάρων από την S φάση στη G₂/M) μετά από 24 ώρες επώασης με το εκχύλισμα τσουκνίδας. Παρατηρείται δηλαδή προώθηση του κυτταρικού κύκλου των κυττάρων HEK-293 παρουσία του εκχυλίσματος από τη φάση G₀/G₁ στην φάση S και G₂/M μετά από 12 ώρες επώασης με το εκχύλισμα τσουκνίδας, ενώ μετά από 24 ώρες παρατηρείται προώθηση του κυτταρικού κύκλου από τις G₀/G₁ και S φάσεις στην G₂/M.

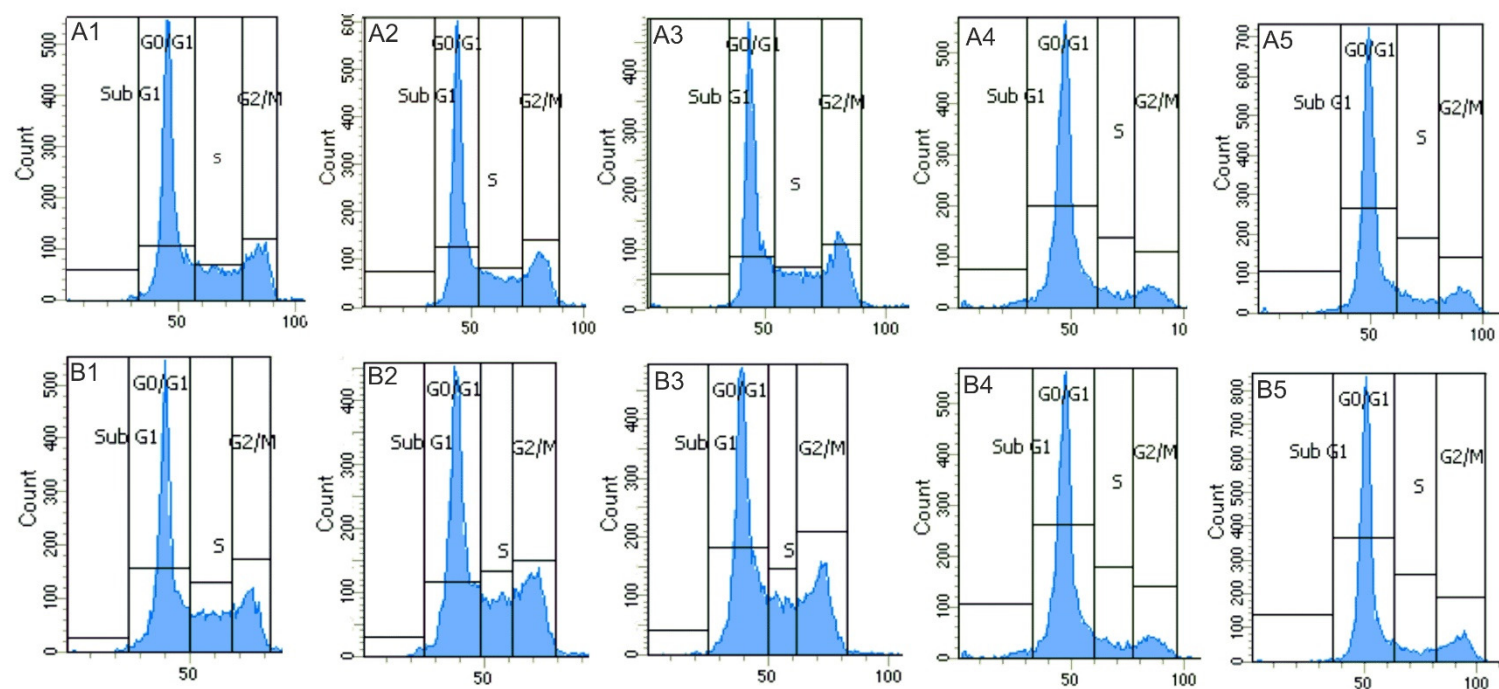
Ομοίως για τα HaCaT το ποσοστό αύξησης των κυττάρων στη G₂/M φάση μετά από 12 ώρες επώασης με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ του εκχυλίσματος τσουκνίδας είναι $3 \pm 1\%$ ενώ μετά από 24 ώρες είναι $6 \pm 1\%$ ($p < 0,01$). Η μικρότερη αύξηση με σχέση με αυτή που παρατηρήθηκε στα κύτταρα HEK-293 οφείλεται πιθανότατα στον μεγαλύτερο χρόνο διπλασιασμού που εμφανίζουν τα κύτταρα HaCaT σε σχέση με τα προαναφερθέντα. Ο πληθυσμός των κυττάρων που βρίσκονται στη G₀/G₁ μειώθηκε από 75,4% σε 71,9% μετά από 12 ώρες επώασης με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ του εκχυλίσματος τσουκνίδας και αυξήθηκε από 9,3 σε 10,7%

στην S φάση, χωρίς να είναι στατιστικά σημαντική η αύξηση αυτή. Μετά από 24 ώρες επώασης παρατηρήθηκε μείωση στον πληθυσμό των κυττάρων που βρίσκονται στην G_0/G_1 από 74,7 σε 72% αλλά και μείωση στον πληθυσμό των κυττάρων που βρίσκονται στην S φάση από 9,7 σε 7%.

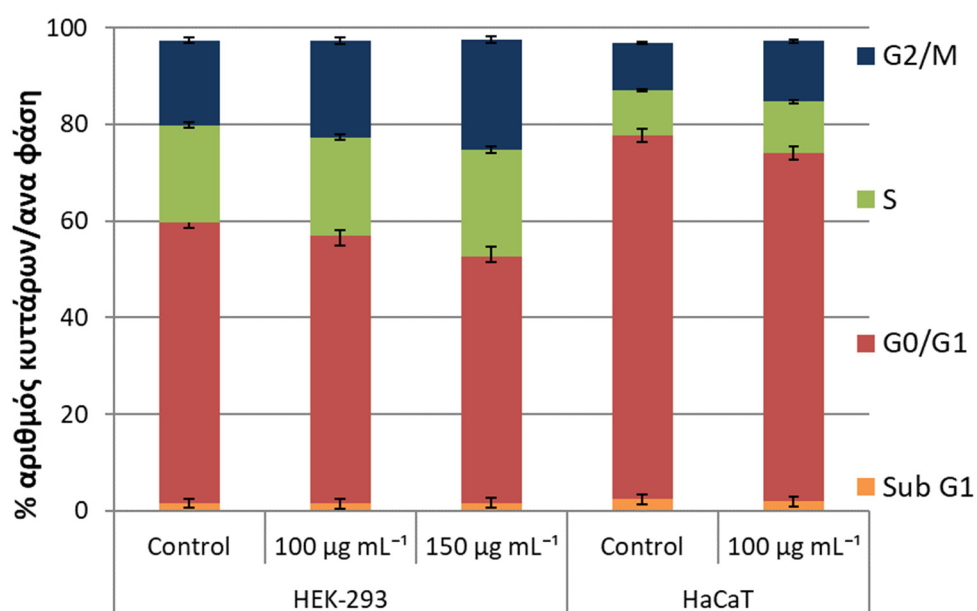
Όσον αφορά τα εκχυλίσματα περδικακίου και λαδανιάς τα ποσοστά που σημειώθηκαν είναι μικρότερα σε σχέση με αυτά της τσουκνίδας. Μετά από 24 ώρες επώασης κυττάρων με $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος περδικακίου, παρατηρήθηκε αύξηση του πληθυσμού των κυττάρων που βρίσκονται στη G_2/M φάση κατά ~5% για την περίπτωση των HEK-293, ενώ η αύξηση του πληθυσμού των κυττάρων HaCaT ήταν ~3% όταν αυτά επώαστηκαν με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ από το εκχύλισμα. Οι παραπάνω τιμές είναι στατιστικά σημαντικές για $p < 0,05$. Όταν δοκιμάστηκαν μικρότερες συγκεντρώσεις στην περίπτωση των HEK-293 ή τα κύτταρα επώαστηκαν για 12 ώρες με τα εκχυλίσματα, αντί των 24 ωρών, οι διαφορές που παρατηρήθηκαν ήταν πολύ μικρές και δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Το εκχύλισμα λαδανιάς επιφέρει μικρότερη αύξηση του πληθυσμού των κυττάρων που βρίσκονται στη G_2/M φάση στα κύτταρα HEK-293 και HaCaT της τάξης του 2 ± 1 και $3 \pm 1\%$ αντίστοιχα, μετά από 24 ώρες επώασής τους με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. Οι διαφορές στην αύξηση του αριθμού των κυττάρων που αναφέρθηκαν στην ενότητα 3.3.1 για τα τρία εκχυλίσματα, οφείλονται πιθανότητα στη διαφορετική επίδραση που εμφανίζουν τα τρία εκχυλίσματα στον κυτταρικό κύκλο των κυττάρων.

Αν και πολυάριθμες μελέτες έχουν διεξαχθεί σχετικά με τις βιολογικές δράσεις των φυτικών εκχυλισμάτων, λίγες μόνο αναφέρονται στην ικανότητα των εκχυλισμάτων να αυξάνουν τον ρυθμό πολλαπλασιασμού των ευκαρυωτικών κυττάρων και ελάχιστες μελετάνε τον μηχανισμό με τον οποίο αυτή η αύξηση επιτελείται. Το 2016 ο Mariko Moriyama μελέτησε τον κυτταρικό κύκλο των κυττάρων HPEKS παρουσία του φυτού *Aloe vera* (gel) και παρατήρησε προώθηση του κυτταρικού κύκλου από τη φάση G_0/G_1 στην φάση S [250]. Ανάλογα είναι και τα αποτελέσματα του Bingjiang Zhao και των συνεργατών του οι οποίοι το 2017 μελέτησαν τον κυτταρικό κύκλο ινοβλαστών (CCC-HSF-1). Παρουσία 25 mg L^{-1} των πολυσακχαριτών του φυτού *Astragalus membranaceus* προκάλεσαν ~10%

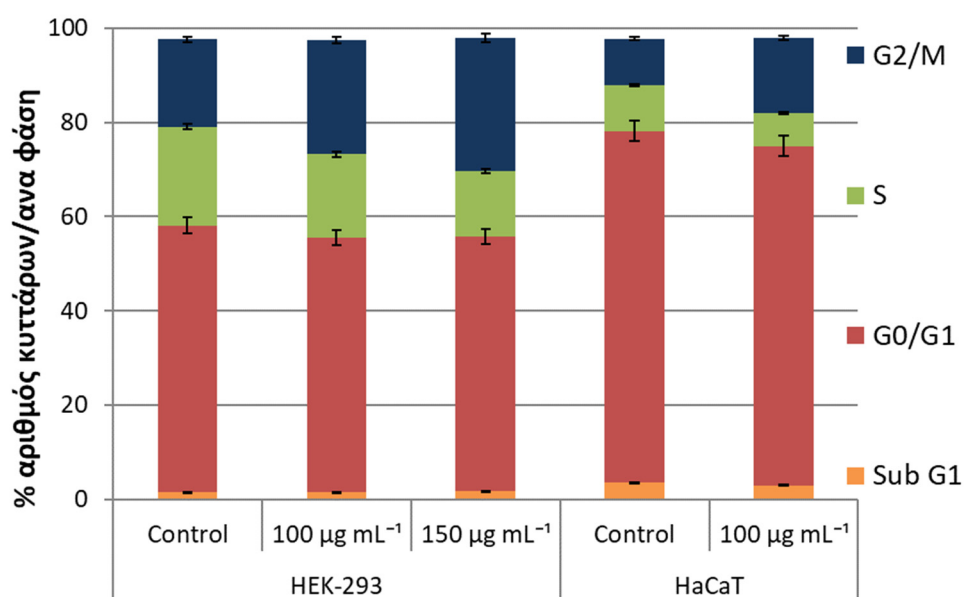
αύξηση του πληθυσμού των κυττάρων που βρίσκονται στη G₂/M φάση [251]. Για τα υπό μελέτη εκχυλίσματα δεν έχει πραγματοποιηθεί έως τώρα μελέτη της επίδρασής τους στον κυτταρικό κύκλο των κυττάρων.



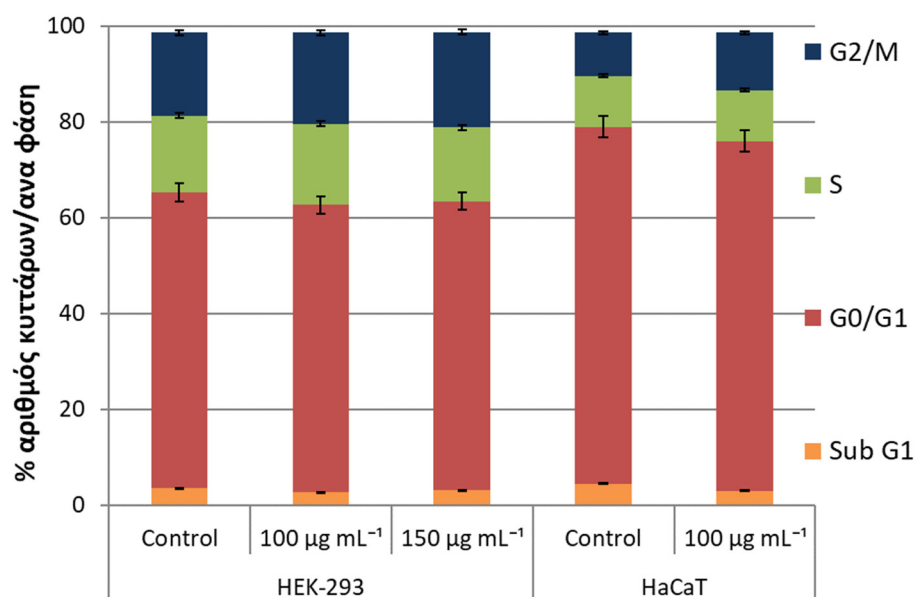
Εικόνα 91: Ιστογράμματα DNA των HEK-293 (1: κύτταρα ελέγχου, 2: κύτταρα μετά από επώαση με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τσουκνίδας και 3: κύτταρα μετά από επώαση με $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τσουκνίδας) και κύτταρα HaCaT (4: κύτταρα ελέγχου και 5: κύτταρα μετά από επώαση με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τσουκνίδας) μετά από 12 (Α) και 24 (Β) ώρες επώασης.



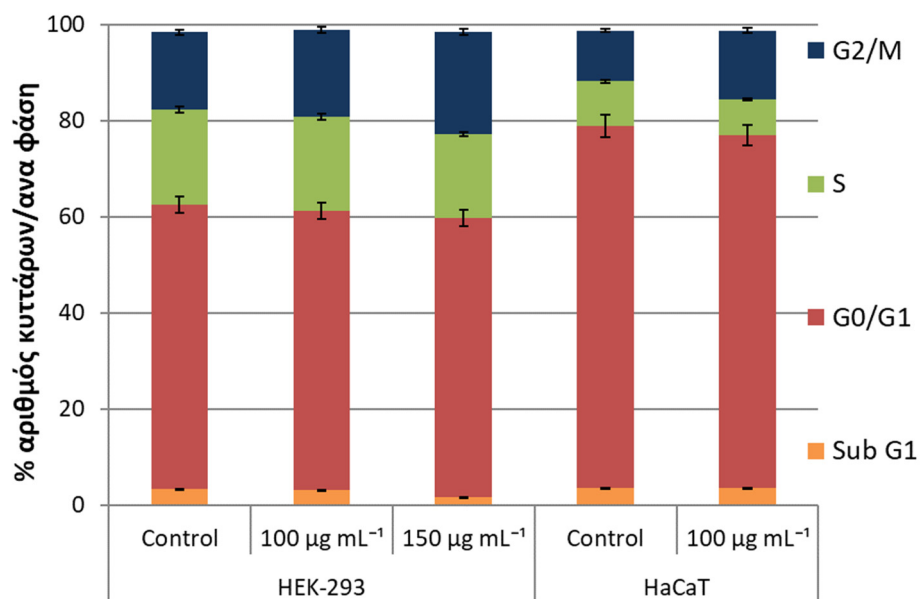
Εικόνα 92: Αριθμός κυττάρων/ανα φάση (%) στις εκάστοτε φάσεις του κυτταρικού κύκλου μετά από 12 ώρες επώαση με εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκεντρώσεις 100 και 150 µg mL⁻¹.



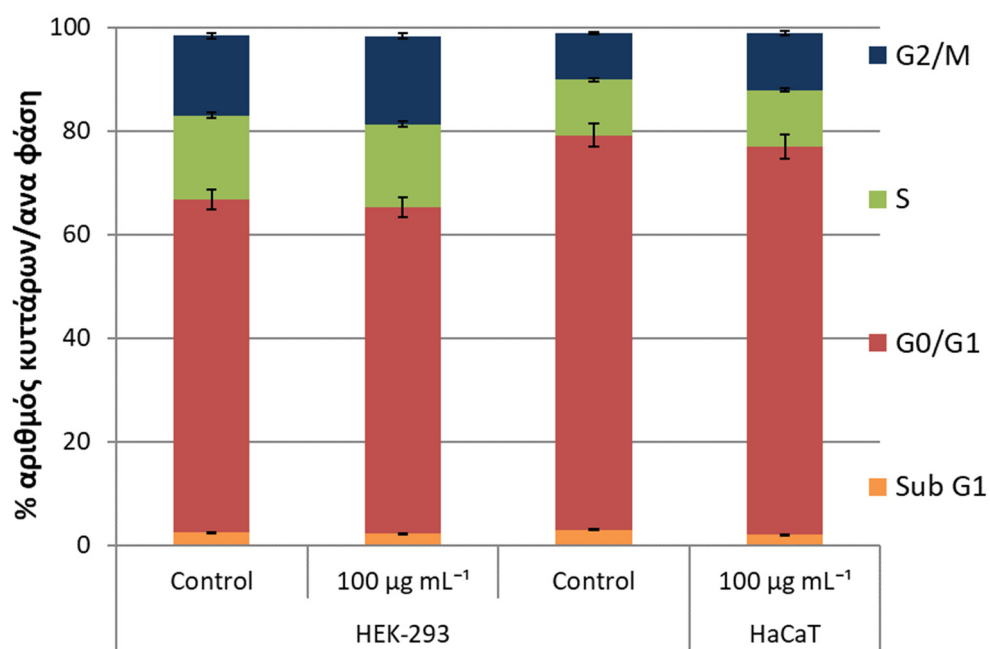
Εικόνα 93: Αριθμός κυττάρων (%) στις εκάστοτε φάσεις του κυτταρικού κύκλου μετά από 24 ώρες επώαση με το εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκεντρώσεις 100 και 150 µg mL⁻¹.



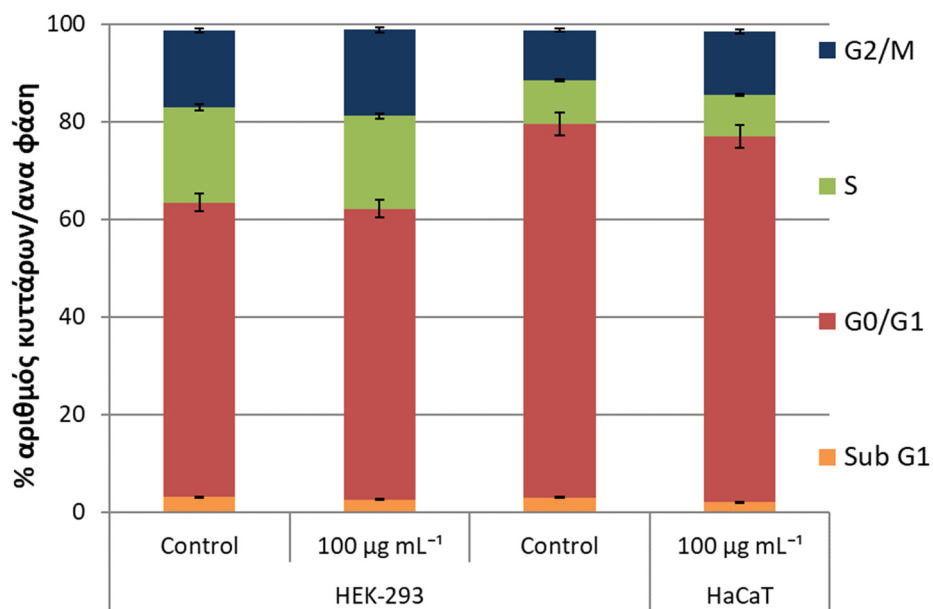
Εικόνα 94: Αριθμός κυττάρων (%) στις εκάστοτε φάσεις του κυτταρικού κύκλου μετά από 12 ώρες επώαση με το εκχύλισμα περδικακίου σε συγκεντρώσεις 100 και 150 µg mL⁻¹.



Εικόνα 95: Αριθμός κυττάρων (%) στις εκάστοτε φάσεις του κυτταρικού κύκλου μετά από 24 ώρες επώαση με το εκχύλισμα περδικακίου σε συγκεντρώσεις 100 και 150 µg mL⁻¹.



Εικόνα 96: Αριθμός κυττάρων (%) στις εκάστοτε φάσεις του κυτταρικού κύκλου μετά από 12 ώρες επώαση με το εκχύλισμα λαδανιάς σε συγκεντρώσεις 100 και 150 µg mL⁻¹.



Εικόνα 97: Αριθμός κυττάρων (%) στις εκάστοτε φάσεις του κυτταρικού κύκλου μετά από 24 ώρες επώαση με το εκχύλισμα λαδανιάς σε συγκεντρώσεις 100 και 150 µg mL⁻¹.

3.4 Επίδραση εκχυλισμάτων στη μετανάστευση ευκαρυωτικών κυττάρων

Μετά τη μελέτη της επίδρασης των εκχυλισμάτων στον κυτταρικό κύκλο των κυττάρων διεξήχθησαν πειράματα προκειμένου να μελετηθεί η επίδρασή τους στη μετανάστευση των κυττάρων HaCaT, HEK-293, A549, MCF-7, MDA-MB και HeLa. Σκοπός των πειραμάτων ήταν η μελέτη της εν δυνάμει μείωσης της ταχύτητας μετανάστευσης των καρκινικών κυττάρων ή της αύξησης της ταχύτητας μετανάστευσης των αθανатоποιημένων - μη καρκινικών κυττάρων παρουσία των εκχυλισμάτων. Η εύρεση εκχυλισμάτων που προκαλούν μείωση του ρυθμού μετανάστευσης των καρκινικών κυττάρων θα ωφελούσε στην ανάπτυξη σκευασμάτων κατά της μετάστασης του καρκίνου. Αντιθέτως, φυτικά εκχυλίσματα που προκαλούν αύξηση του ρυθμού μετανάστευσης των αθανатоποιημένων - μη καρκινικών κυττάρων μπορούν να αξιοποιηθούν για να επιταχυνθεί η επούλωση των τραυμάτων. Για τα πειράματα αυτά δημιουργήθηκε μια αμυχή στη μονοστιβάδα των ευκαρυωτικών κυττάρων και παρατηρήθηκε η MAA ανά τακτά χρονικά διαστήματα, παρουσία και απουσία των εκχυλισμάτων. Σε γενικές γραμμές, 6 από τα υπό μελέτη εκχυλίσματα δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές σε σχέση τα δείγματα ελέγχου, 7 εκχυλίσματα επιταχύνουν τη μετανάστευση των αθανатоποιημένων - μη καρκινικών κυττάρων σε σημαντικό βαθμό (μέχρι και 2 φορές ταχύτερη μετανάστευση), ενώ τα υπόλοιπα εκχυλίσματα επιταχύνουν τη μετανάστευση των κυττάρων σε μικρότερο βαθμό. Κανένα από τα υπό μελέτη εκχυλίσματα δεν προκάλεσε μείωση του ρυθμού μετανάστευσης των καρκινικών κυττάρων και συνεπώς είναι ακατάλληλα για την αντίστοιχη εφαρμογή. Για τον λόγο αυτό δεν γίνεται λεπτομερής αναφορά για τα αποτελέσματα που αφορούν τα καρκινικά κύτταρα. Ωστόσο τα αποτελέσματα φαίνονται στις εικόνες 99 έως 118.

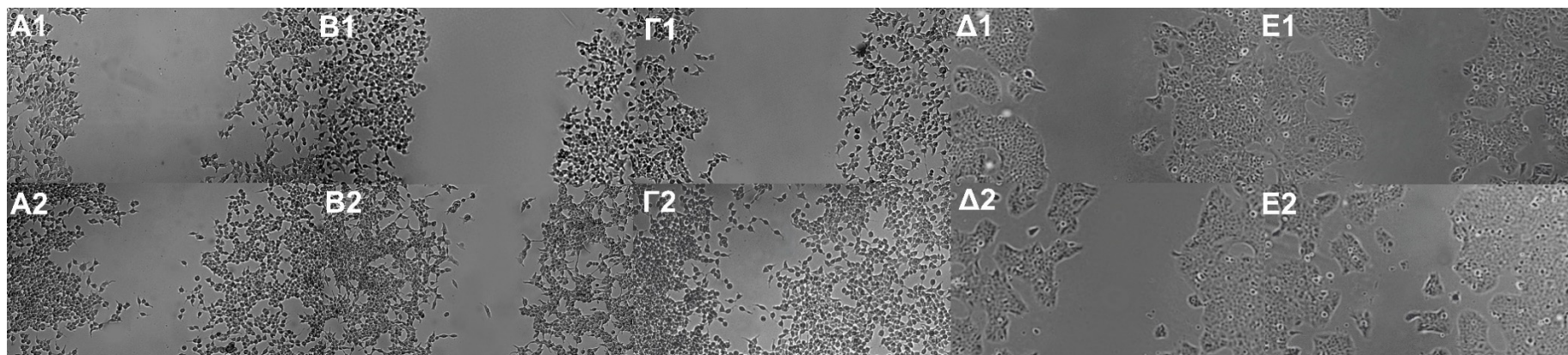
Όσον αφορά τα κύτταρα τα οποία επώαστηκαν με τα εκχυλίσματα αγριμόνιου, δίκταμου, φραγκουλιάς, τριαντάφυλλου, χελιδόνιου, μποράνγκου, τριγωνέλλας δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά στην MAA σε σχέση με τα δείγματα ελέγχου, με εξαίρεση τα δύο τελευταία τα οποία προκάλεσαν μικρή αύξηση (έως $6 \pm 1\%$, $p < 0,5$) στα HEK-293. Όλα τα ποσοστά που αναφέρονται στην ενότητα αυτή εκφράζονται σε σχέση με το αντίστοιχο δείγμα ελέγχου, 24 ώρες μετά τη δημιουργία της

αμυχής. Το εκχύλισμα τσουκνίδας αποδείχθηκε το πλέον αποτελεσματικό σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα εκχυλίσματα καθώς προκάλεσε την ταχύτερη μείωση της MAA και συνεπώς επιτάχυνε σημαντικά την ταχύτητα μετανάστευσης των κυττάρων. Το εκχύλισμα τσουκνίδας προκαλεί $51 \pm 3\%$ μεγαλύτερη μείωση της MAA στα κύτταρα HEK-293 μετά από 24 ώρες επώασής τους με $150 \mu\text{g mL}^{-1}$. Το ποσοστό αυτό είναι μεγαλύτερο κατά $\sim 10\%$ από τον θετικό μάρτυρα. Σε μικρότερη συγκέντρωση ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) η MAA στα HEK-293 είναι μειωμένη κατά $30 \pm 2\%$ μετά από 24 ώρες. Στην περίπτωση των HaCaT η παραπάνω συγκέντρωση μειώνει την MAA κατά $37 \pm 2\%$. Η μείωση αυτή είναι $\sim 12\%$ μεγαλύτερη από αυτή του θετικού μάρτυρα. Μεγαλύτερη συγκέντρωση ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) δε μελετήθηκε στα HaCaT αφού από τη μελέτη του αριθμού των κυττάρων μετά από επώασή τους με το εκχύλισμα (Εικόνα 87) προκύπτει ότι ο αριθμός των κυττάρων που επώαστηκαν με αυτή τη συγκέντρωση είναι μικρότερος από αυτόν που επώαστηκαν με μικρότερη συγκέντρωση ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$), υποδηλώνοντας πιθανή τοξική δράση γεγονός που αντισταθμίζει την αύξηση του αριθμού των κυττάρων σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Για τον ίδιο λόγο, δε μελετήθηκε αυτή η συγκέντρωση και άλλων εκχυλισμάτων στα παραπάνω κύτταρα. Όλα τα ποσοστά που αναφέρθηκαν για το εκχύλισμα της τσουκνίδας είναι στατιστικά σημαντικά για $p < 0,001$.

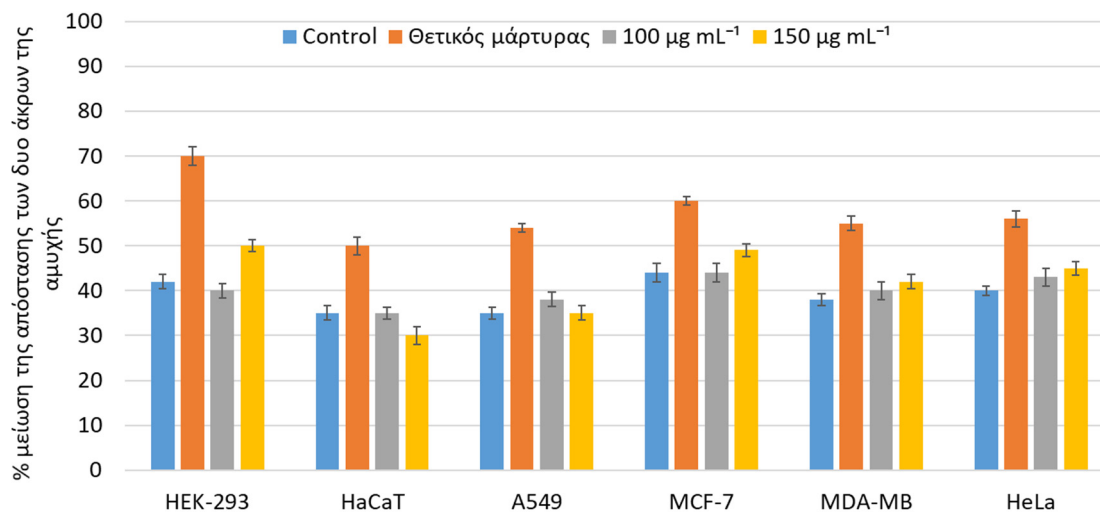
Το εκχύλισμα κεδροκούκουτσου επιταχύνει σημαντικά τη μείωση της MAA. Πιο συγκεκριμένα $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ μειώνουν κατά $24 \pm 2\%$ και $12 \pm 1\%$ την MAA στα κύτταρα HEK-293 και HaCaT, αντίστοιχα, ενώ η μεγαλύτερη συγκέντρωση ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) μειώνει κατά $37 \pm 2\%$ και $24 \pm 1\%$ τις αντίστοιχες αποστάσεις. Οι MAA που επώαστηκαν με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ από το εκχύλισμα της λαδανιάς ήταν μειωμένες κατά $31 \pm 3\%$ (HEK-293) και $23 \pm 2\%$ (HaCaT). Τα ποσοστά αυτά είναι $\sim 5\%$ μεγαλύτερα από αυτό του θετικού μάρτυρα, χωρίς ωστόσο η διαφορά αυτή να είναι στατιστικά σημαντική. Το εκχύλισμα του φυτού περδικάκι σε συγκέντρωση $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ επιφέρει μεγαλύτερη μείωση της MAA κατά $20 \pm 2\%$ και $25 \pm 2\%$ για τα κύτταρα HEK-293 και HaCaT, αντίστοιχα, ενώ $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ μειώνουν την MAA στα κύτταρα HEK-293 κατά $37 \pm 2\%$. Επώαση κυττάρων με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος στελλάριας μειώνουν την MAA κατά $16 \pm 2\%$ (HEK-293) και $6 \pm 1\%$ (HaCaT),

ενώ όταν χρησιμοποιήθηκαν $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ τα ποσοστά αυτά σχεδόν διπλασιάστηκαν. Οι MAA των κυττάρων που επωάστηκαν με $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ από το εκχύλισμα της καλεντούλας ήταν μειωμένες κατά $27 \pm 2\%$ (HEK-293) και $18 \pm 1,5\%$ (HaCaT). Το εκχύλισμα παιώνιας επιφέρει μείωση της MAA των κυττάρων κατά 25 ± 2 και $24 \pm 2\%$ στα κύτταρα HEK-293 ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) και HaCaT ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$), αντίστοιχα. Τέλος, το επιλόβιο μειώνει τις MAA των κυττάρων HEK-293 και HaCaT κατά $22 \pm 2\%$ και $10 \pm 1\%$. Για τα φυτά αυτά δεν υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα τα οποία να αναφέρουν την ικανότητά τους να επιταχύνουν τη μετανάστευση των κυττάρων. Ωστόσο για τα περισσότερα από αυτά γίνεται αναφορά στη μείωση ή αναστολή της μετανάστευσης των καρκινικών κυττάρων που προκαλούν [252]. Η διαφοροποίηση των υπό μελέτη εκχυλισμάτων με αντίστοιχα βιβλιογραφικά δεδομένα οφείλεται στον διαφορετικό τρόπο παρασκευής των εκχυλισμάτων. Όσον αφορά τα εκχυλίσματα των φυτών παναγίοχορτο, γάλλιο, κράταιγος, δίκταμος, εκουϊζέτο, τα ποσοστά είναι ιδιαίτερα μικρά (έως 16% μείωση της MAA στα HEK-293 και έως 11% στα HaCaT).

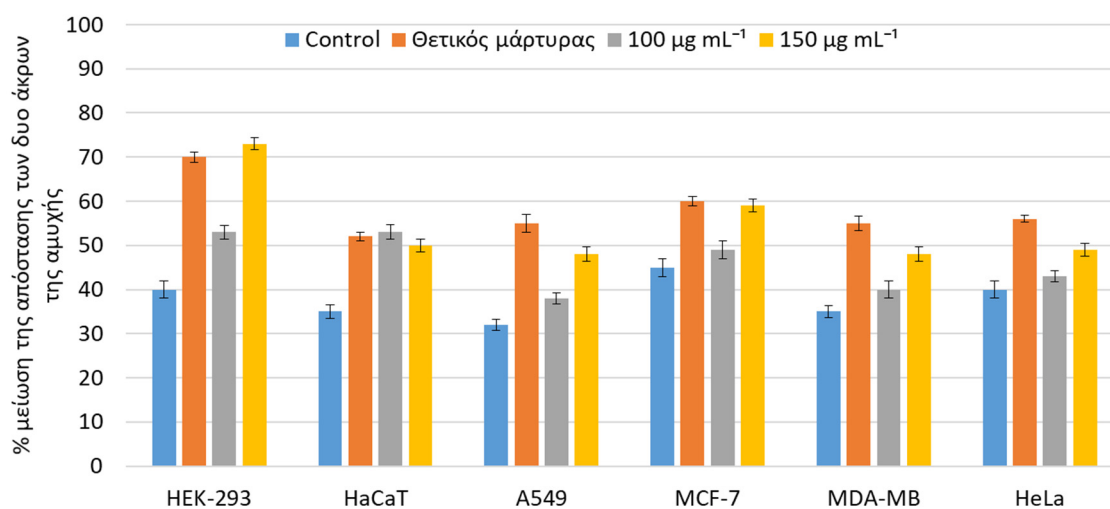
Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει ότι αρκετά από τα εκχυλίσματα μπορούν να επιταχύνουν τη μετανάστευση των κυττάρων, μια ιδιότητα ιδιαίτερα χρήσιμη κυρίως στην επούλωση τραυμάτων. Παρόλο που η αξιοποίηση των εκχυλισμάτων αποκλειστικά για αυτή την εφαρμογή θα ήταν χρήσιμη και ωφέλιμη, ο συνδυασμός παραπάνω από μιας δράσεων είναι ιδιαίτερα επιθυμητός, προκειμένου να προκύψουν ταυτόχρονα πολλαπλά οφέλη. Συνεπώς, συνδυάζοντας τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στην ενότητα 3.2 και 3.3 προκύπτει ότι το εκχύλισμα της τσουκνίδας, του περδικακίου, του κεδροκούκουτσου και της λαδανιάς συνδυάζουν τις δυο προαναφερθείσες δράσεις. Είναι δηλαδή ικανά να επιταχύνουν τόσο τον ρυθμό πολλαπλασιασμού των κυττάρων, όσο και τη μετανάστευσή τους.



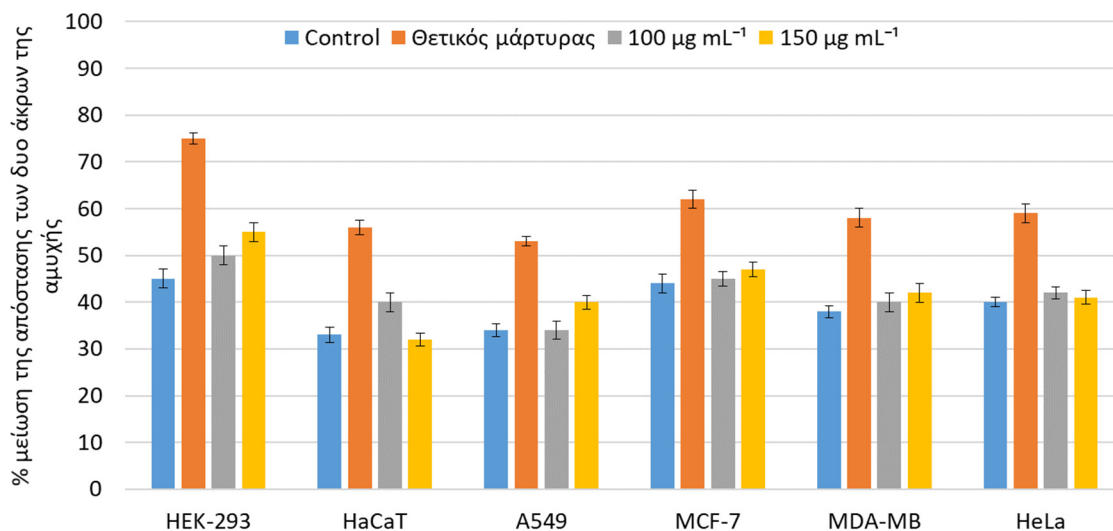
Εικόνα 98: Φωτογραφίες (μεγέθυνση 5x) κατά τη μελέτη της μετανάστευσης των κυττάρων παρουσία εκχυλίσματος τσουκνίδας. Οι εικόνες Α-Γ αντιπροσωπεύουν τα κύτταρα HEK-293, ενώ οι Δ,Ε τα κύτταρα HaCaT. (Α) δείγμα ελέγχου, (Β) κύτταρα τα οποία έχουν επωαστεί με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος, (Γ) κύτταρα τα οποία έχουν επωαστεί με $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος και κύτταρα, Ε) κύτταρα τα οποία έχουν επωαστεί με $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος, σε (1) 0 ώρες και (2) 24 ώρες.



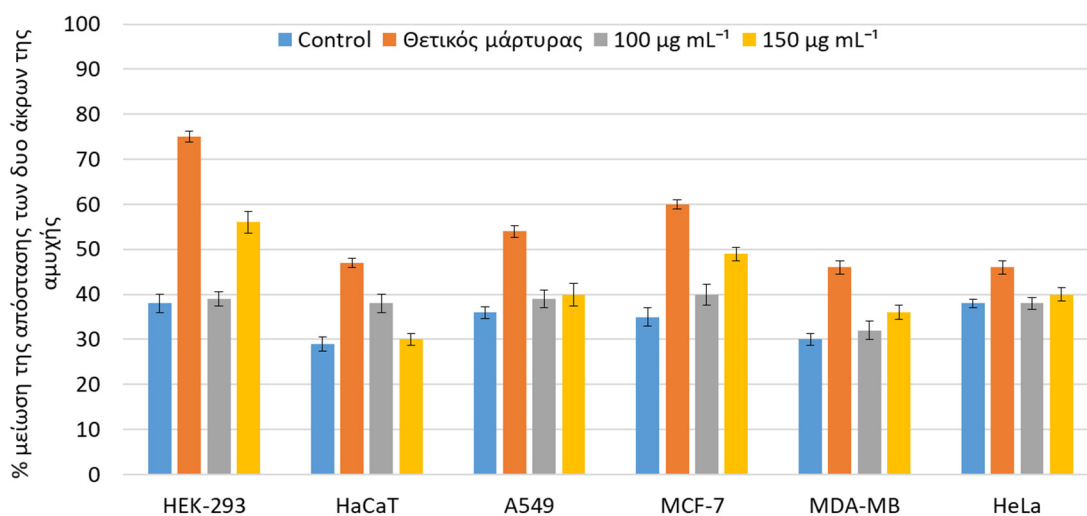
Εικόνα 99: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος αγριμόνιου.



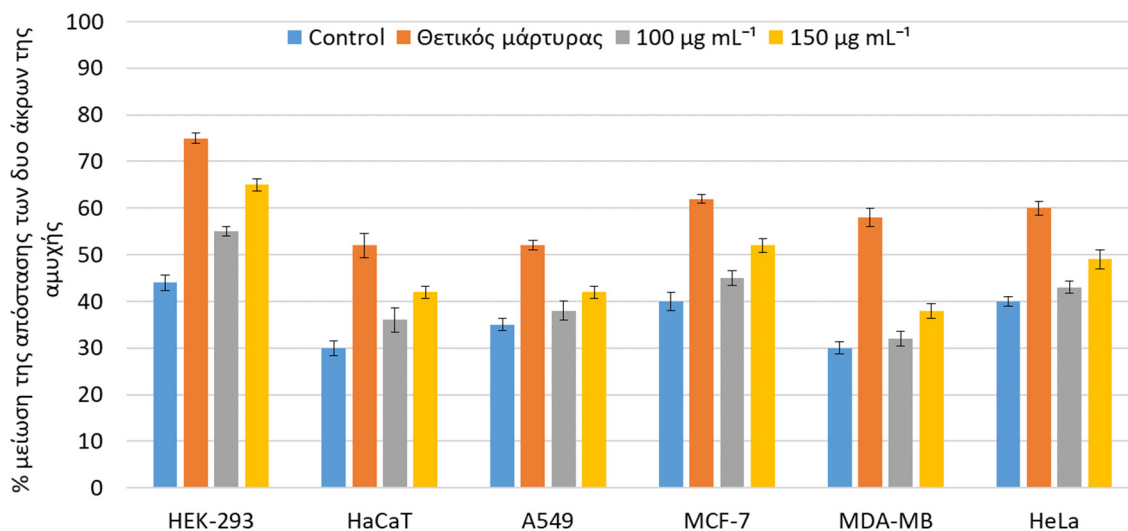
Εικόνα 100: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος γαλλίου.



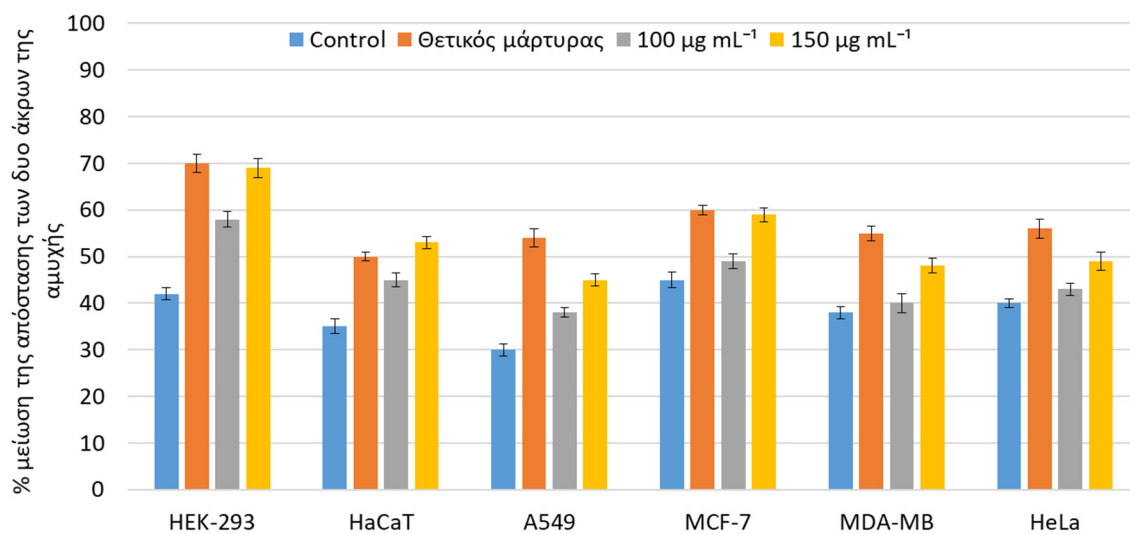
Εικόνα 101: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος δίκταμου.



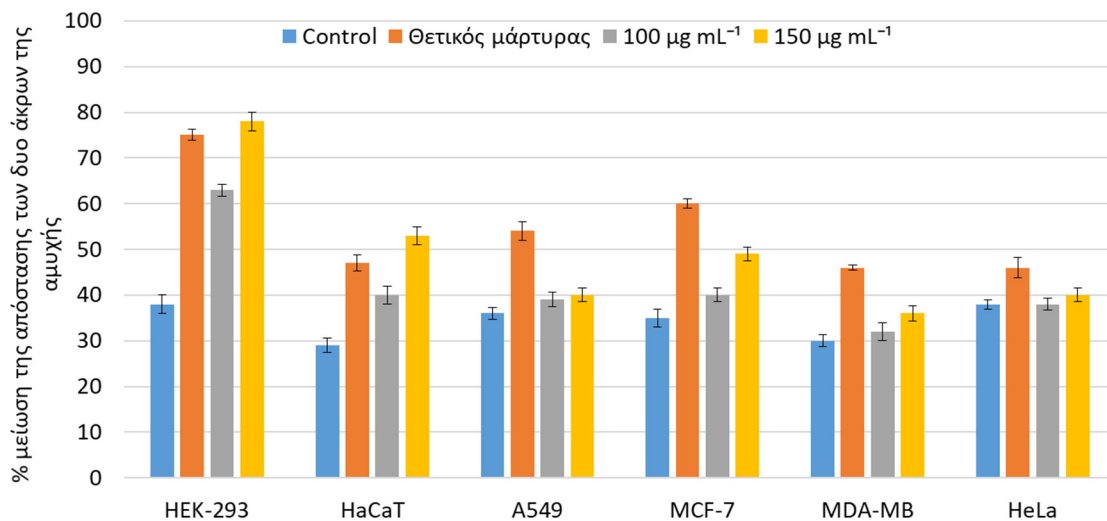
Εικόνα 102: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος εκουϊζέτου.



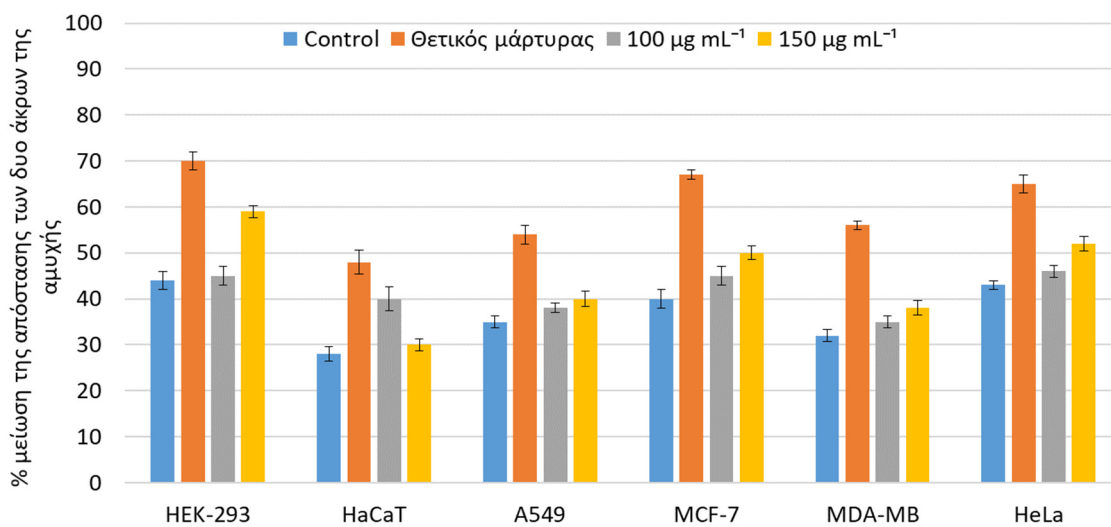
Εικόνα 103: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 µg mL⁻¹ και 150 µg mL⁻¹ εκχυλίσματος επιλόβιου.



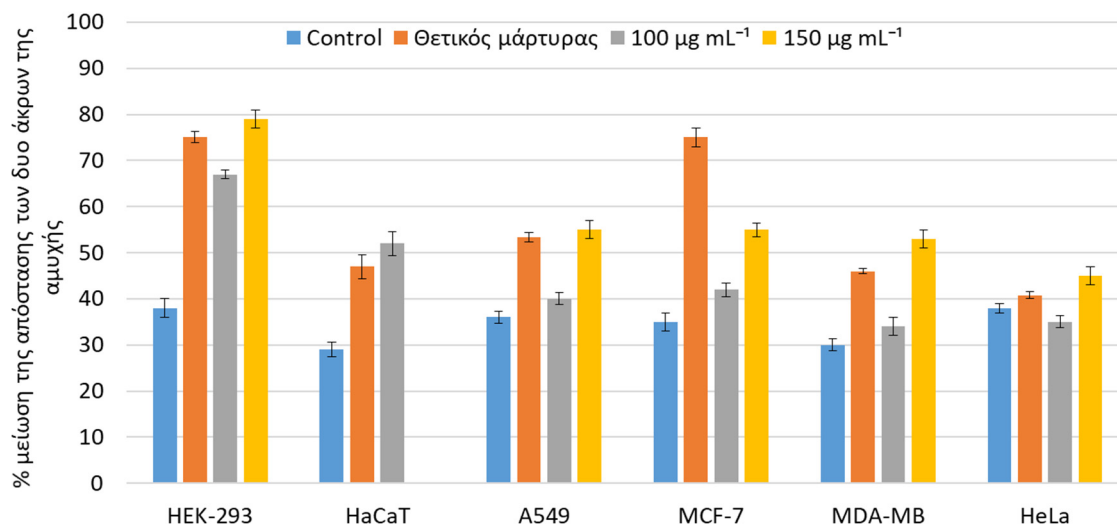
Εικόνα 104: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 µg mL⁻¹ και 150 µg mL⁻¹ εκχυλίσματος καλεντούλας.



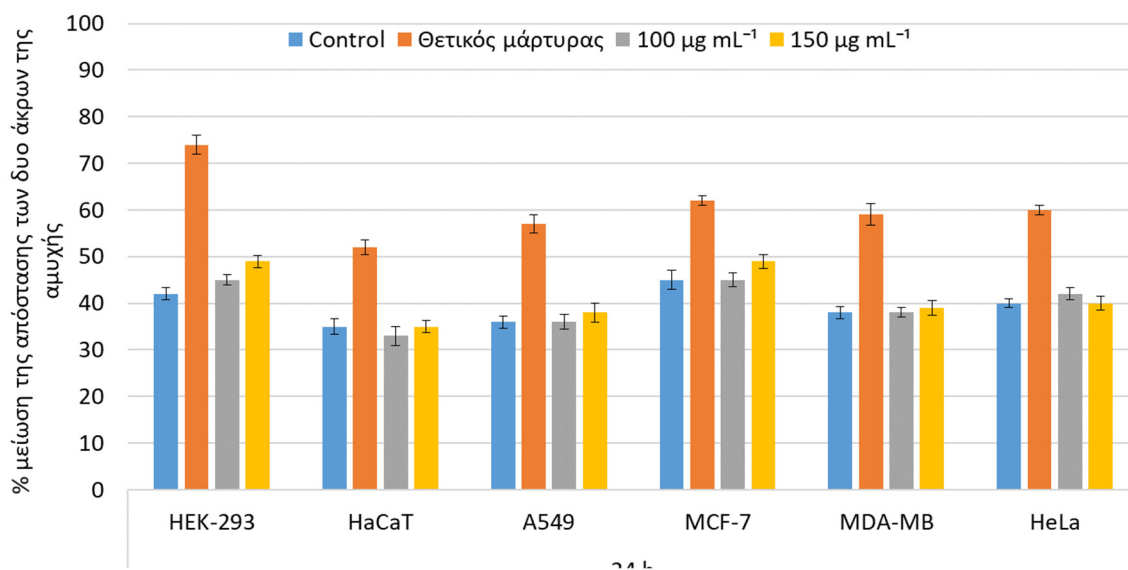
Εικόνα 105: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 μg mL⁻¹ και 150 μg mL⁻¹ εκχυλίσματος κεδροκούκουτσου.



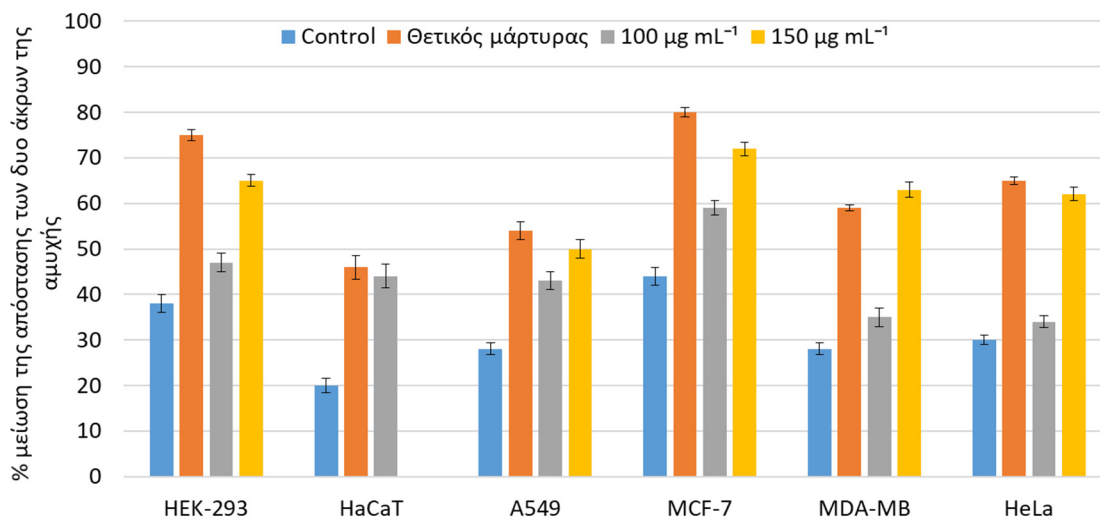
Εικόνα 106: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 μg mL⁻¹ και 150 μg mL⁻¹ εκχυλίσματος κράταιγου.



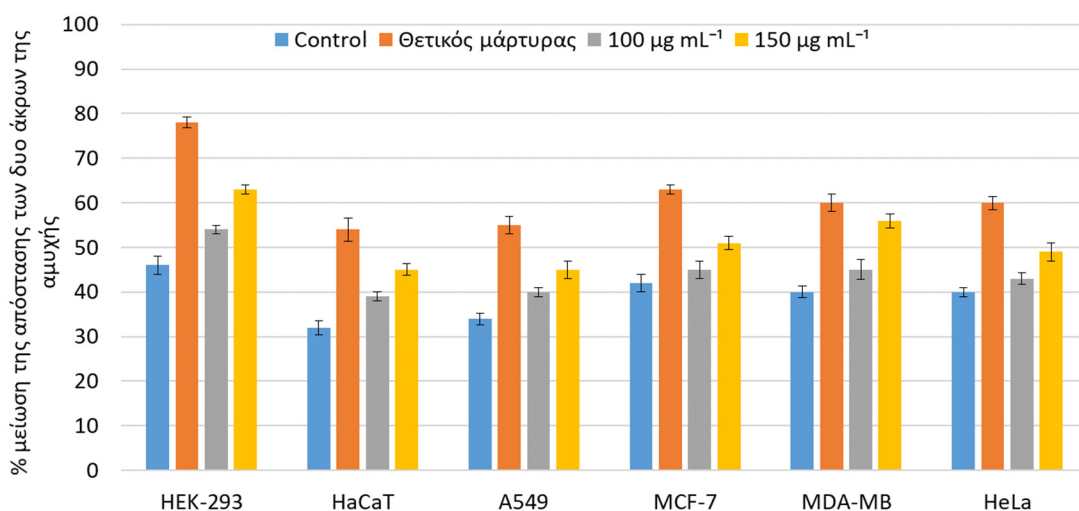
Εικόνα 107: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 μg mL⁻¹ και 150 μg mL⁻¹ εκχυλίσματος λαδανιάς.



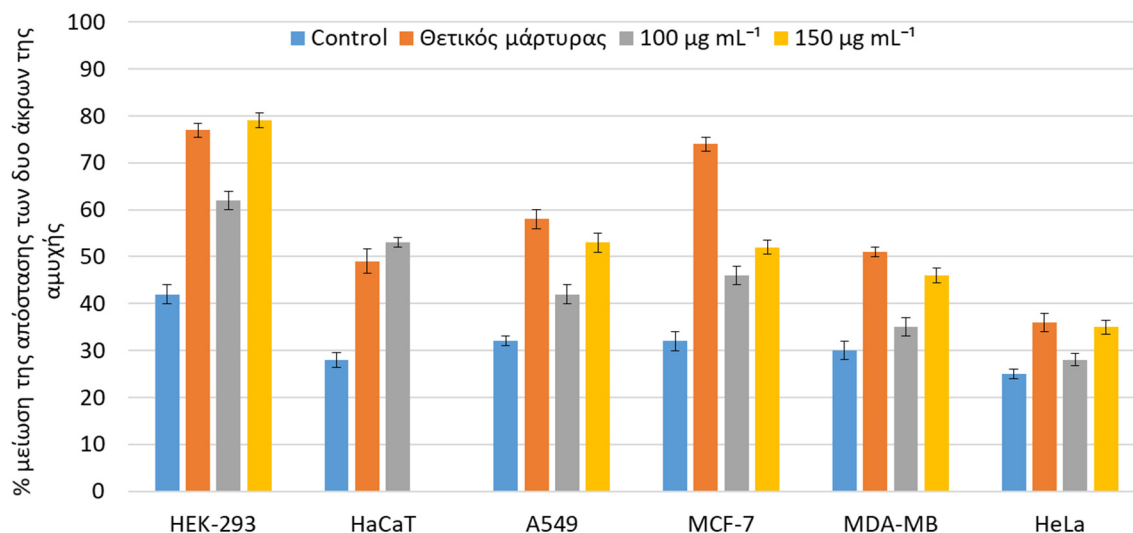
Εικόνα 108: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 μg mL⁻¹ και 150 μg mL⁻¹ εκχυλίσματος μποράνγκο.



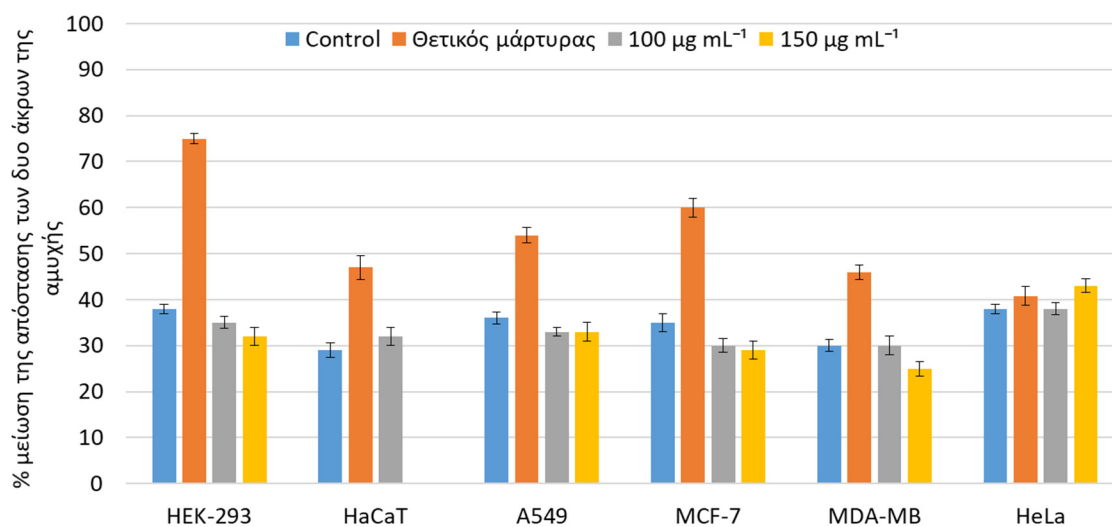
Εικόνα 109: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 µg mL⁻¹ και 150 µg mL⁻¹ εκχυλίσματος παιώνιας.



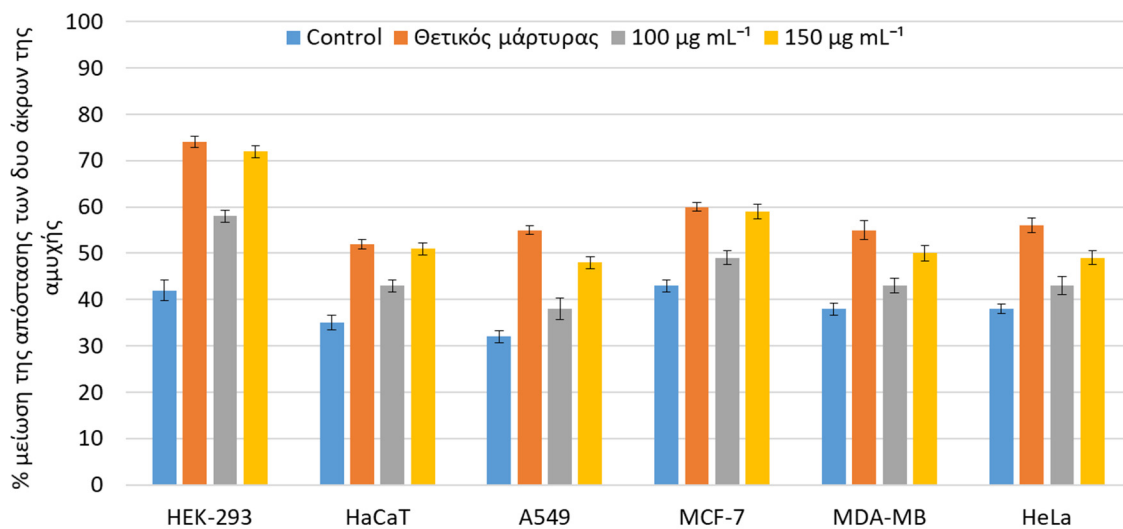
Εικόνα 110: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 µg mL⁻¹ και 150 µg mL⁻¹ εκχυλίσματος εκχυλίσματος παναγιόχορτου.



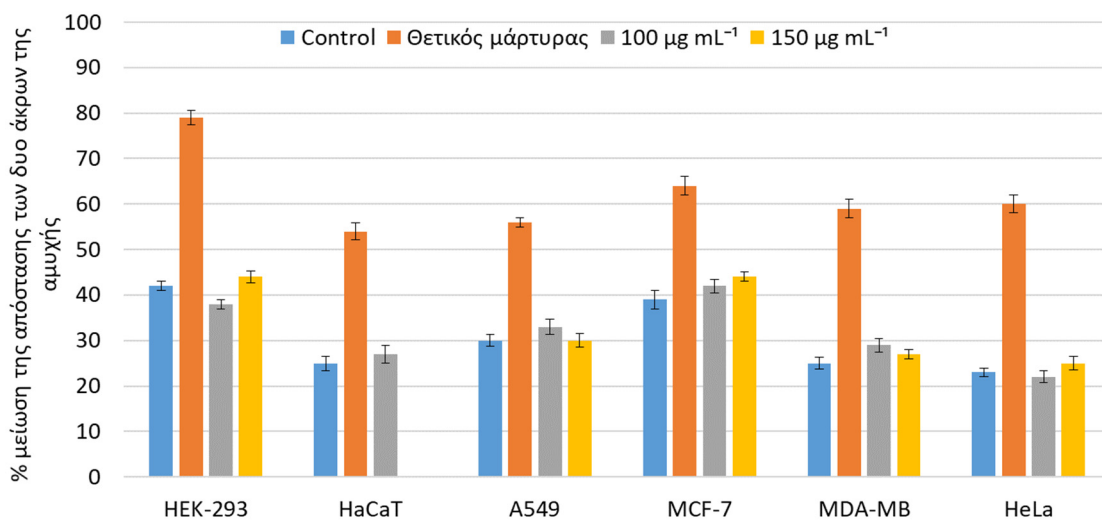
Εικόνα 111: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 µg mL⁻¹ και 150 µg mL⁻¹ εκχυλίσματος εκχυλίσματος περδικάκι.



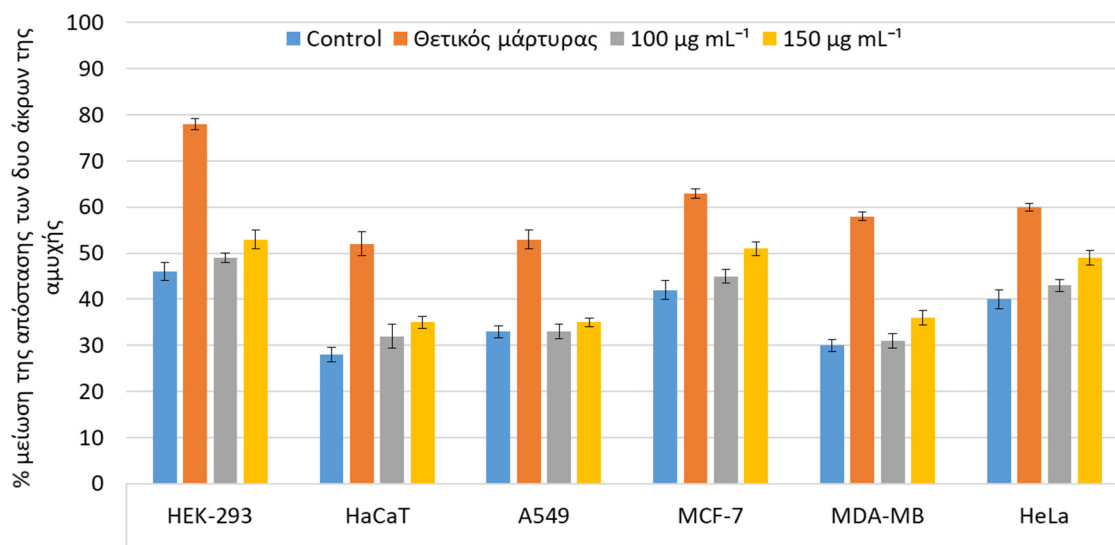
Εικόνα 112: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 µg mL⁻¹ και 150 µg mL⁻¹ εκχυλίσματος εκχυλίσματος σκορπίδι.



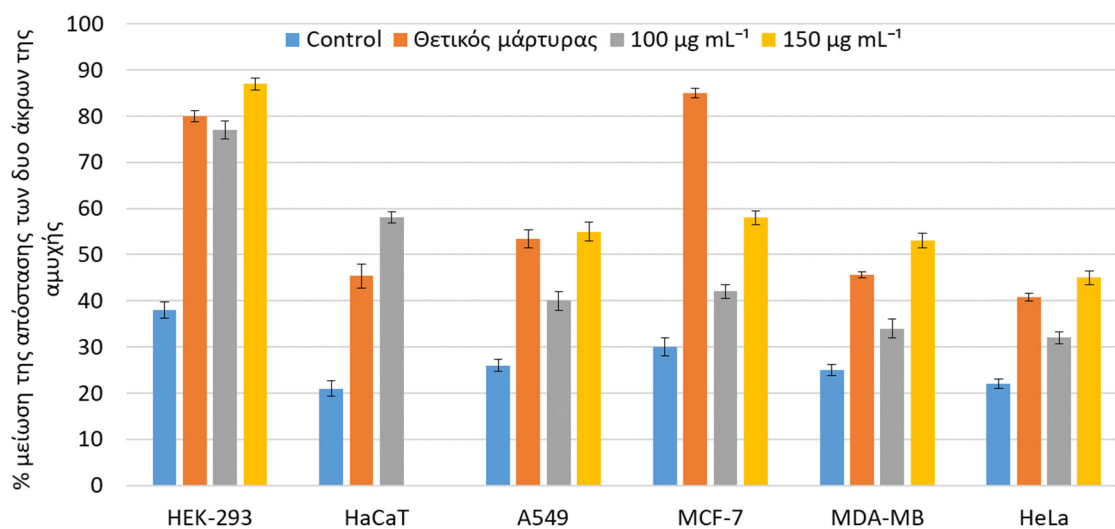
Εικόνα 113: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος στελλάριας.



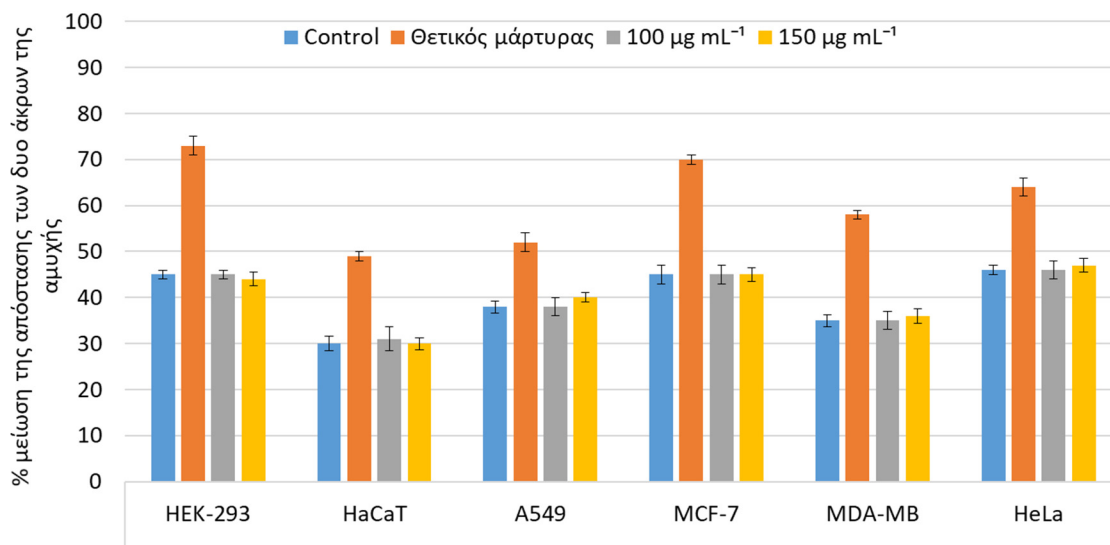
Εικόνα 114: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τριαντάφυλλου.



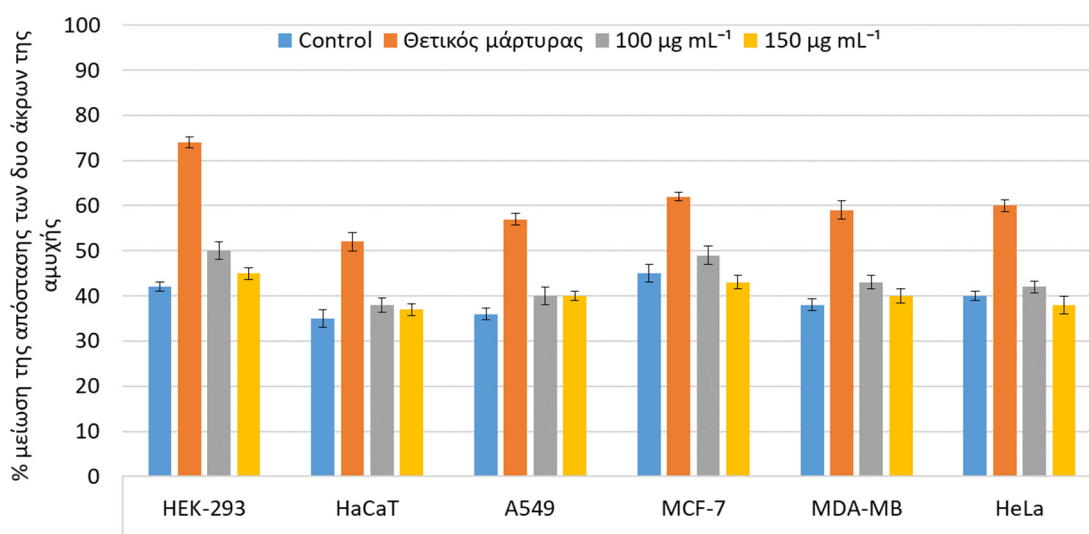
Εικόνα 115: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τριγωνέλλας.



Εικόνα 116: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος τσουκνίδας.



Εικόνα 117: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος φραγκουλιάς.



Εικόνα 118: % μείωση της απόστασης των δυο άκρων της αμυχής που δημιουργήθηκε στη μονοστιβάδα των κυττάρων μετά από 24 ώρες επώαση με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος χελιδόνιου.

3.5 Αντιφλεγμονώδης δράση εκχυλισμάτων

Η φλεγμονή είναι η φυσιολογική απόκριση του ζωντανού ιστού σε ένα εξωτερικό ερέθισμα και αποτελεί μέρος της διαδικασίας επούλωσης των τραυμάτων. Οι ενώσεις που παράγονται κατά την οξεία φλεγμονώδη απόκριση είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη ή την επιδιόρθωση ιστών μετά από τραυματισμό. Ωστόσο, αν η φλεγμονώδης απόκριση διαρκέσει παραπάνω από το “φυσιολογικό” χρόνο, μπορεί να οδηγήσει σε χρόνια φλεγμονή, αποτρέποντας έτσι την επούλωση των τραυμάτων [253]. Δεδομένου λοιπόν, ότι η φλεγμονή είναι ένα από τα στάδια της επούλωσης των τραυμάτων, φυτοχημικές ενώσεις με αντιφλεγμονώδη δράση είναι ικανές να επιταχύνουν την επούλωση των τραυμάτων. Ένας ενδεδειγμένος τρόπος μελέτης της αντιφλεγμονώδους δράσης διαφόρων ενώσεων είναι η μελέτη της προστασίας αποσταθεροποίησης της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων, διότι η μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων παρουσιάζει δομικές ομοιότητες με αυτές των λυσοσωμάτων, τα οποία λύνονται κατά τη διάρκεια της φλεγμονής και απελευθερώνουν συστατικά που προκαλούν διάφορες διαταραχές. Η αναστολή της λύσης των λυσοσωμάτων είναι τόσο σημαντική για την αντιμετώπιση της φλεγμονής που αρκετά μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα ασκούν ευεργετικά αποτελέσματα σταθεροποιώντας τη μεμβράνη των λυσοσωμάτων [254]. Ένας εναλλακτικός τρόπος μελέτης της αντιφλεγμονώδους δράσης είναι η αναστολή της αποδιάταξης των πρωτεϊνών, καθώς η αποδιάταξη των πρωτεϊνών έχει συσχετιστεί με τη φλεγμονή, οδηγώντας σε φλεγμονώδεις ασθένειες [225].

Η % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και η % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκάστοτε εκχυλίσματος φαίνονται στις εικόνες 119 έως 138. Είναι εμφανές, ότι επτά από τα 20 εκχυλίσματα που δοκιμάστηκαν, εμφανίζουν υψηλή (>40%) δραστικότητα από τη μικρότερη κίολας δοκιμαζόμενη συγκέντρωση ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$), ενώ η δράση τους είναι συγκρίσιμη με αυτή που επιτυγχάνεται με χρήση ασπιρίνης, ενός φαρμάκου με γνωστή αντιφλεγμονώδη δράση. Ενδεικτικά αναφέρεται, ότι $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ασπιρίνης αναστέλλουν την αποδιάταξη της αλβουμίνης κατά $68 \pm 3\%$ και σταθεροποιούν τη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων κατά $50 \pm 3\%$. Τα εκχυλίσματα με τη μεγαλύτερη δράση είναι αυτά είναι των φυτών κεδροκούκουτσο,

επιλόβιο, λαδανιά, σκορπίδι, αγριμόνιο, χελιδόνιο και παιωνιά. Από τις συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν (50, 100, 200, 400 και 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$) θα γίνει αναφορά μόνο στη συγκέντρωση των 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ για δυο λόγους. Αφενός επειδή η χρήση των μικρότερων δυνατών συγκεντρώσεων είναι επιθυμητή και αφετέρου επειδή αυτή είναι και η συγκέντρωση που συγκεντρώνει τις περισσότερες ευεργετικές δράσεις, όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν έως τώρα. Ωστόσο, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$, προκειμένου να επιτευχθεί μεγαλύτερη δραστικότητα, αν αυτός είναι αποκλειστικά ο σκοπός.

Από τα δοκιμαζόμενα εκχυλίσματα τη μεγαλύτερη δράση εμφάνισε το εκχύλισμα κεδροκούκουτσου καθώς σημειώθηκε $98 \pm 3\%$ προστασία της αποδιάταξης της αλβουμίνης και $82 \pm 3\%$ προστασία της αποσταθεροποίησης της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Το 2017 δημοσιεύτηκε εργασία στην οποία παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της αντιφλεγμονώδους δράσης του αιθέριου ελαίου του κεδροκούκουτσου σε ανθρώπινους ινοβλάστες [42]. Η Irina Fierascu και οι συνεργάτες της, δημοσίευσαν το 2018 μια έρευνα που αφορούσε την αντιφλεγμονώδη δράση του υδροαιθανολικού εκχυλίσματος κεδροκούκουτσου σε επίμυες [255]. Η αντιφλεγμονώδης δράση του εκχυλίσματος αποδόθηκε στην παρουσία πολυφαινολικών ενώσεων. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συνάδουν με αυτά των δυο προηγούμενων εργασιών και δείχνουν ότι το κεδροκούκουτσο είναι ένα φυτό που περιέχει παραπάνω από μια κατηγορίες ενώσεων με αντιφλεγμονώδη δράση. Το εκχύλισμα επιλόβιου επιτυγχάνει $82 \pm 2\%$ προστασία της αποδιάταξης της αλβουμίνης και $76 \pm 3\%$ προστασία της αποσταθεροποίησης της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Με χρήση εκχυλίσματος λαδανιάς, παρατηρήθηκε $80 \pm 2\%$ προστασία της αποδιάταξης της αλβουμίνης και $72 \pm 3\%$ προστασία της αποσταθεροποίησης της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Προηγούμενες μελέτες αναφέρουν αντιφλεγμονώδη δράση σε υδατικά εκχυλίσματα διαφορετικών ειδών λαδανιάς [256]. Πιο συγκεκριμένα από εκχύλισμα εξανίου των φύλλων του *Cistus creticus* απομονώθηκαν δύο διτερπένια με βάση το λαβδάνιο, στα οποία αποδίδεται η αντιφλεγμονώδης δράση του φυτού [257]. Από τα

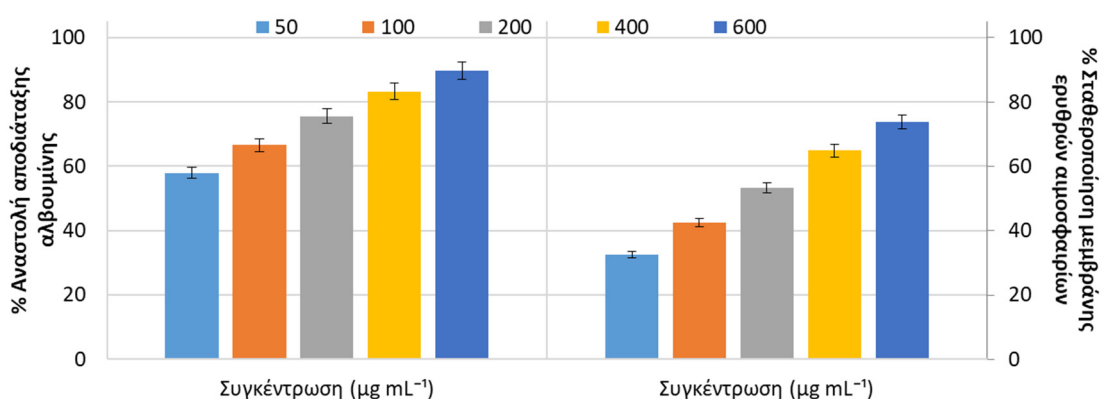
αποτελέσματα της φυτοχημικής ανάλυσης του υπό μελέτη εκχυλίσματος (Ενότητα 3.1) προκύπτει, ότι στο εκχύλισμα της λαδανιάς δεν υπάρχουν τερπενοειδή. Συνεπώς περιέχονται άλλου τύπου ενώσεις οι οποίες είναι υπεύθυνες για τις παραπάνω δράσεις.

Το εκχύλισμα του φυτού σκορπίδι, για την αντιφλεγμονώδη δράση του οποίου δεν έχει γίνει προγενέστερη αναφορά, επιφέρει, $84 \pm 3\%$ προστασία της αποδιάταξης της αλβουμίνης και $62 \pm 2\%$ προστασία της αποσταθεροποίησης της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Για τα εκχυλίσματα των φυτών αγριμόνιο και χελιδόνιο καταγράφηκαν $76 \pm 2\%$ και $69 \pm 2\%$ προστασία της αποδιάταξης της αλβουμίνης, αντίστοιχα και ποσοστά $52 \pm 2\%$ και $53 \pm 3\%$ όσον αφορά την προστασία της αποσταθεροποίησης της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων, αντίστοιχα. Το φυτό χελιδόνιο περιέχει μεγάλο αριθμό αλκαλοειδών ισοκινολίνης τα οποία βρέθηκε ότι είναι και υπεύθυνα για την αντιφλεγμονώδη δράση του [258], ενώ για το αγριμόνιο αναφέρεται ότι η αντιφλεγμονώδης δράση του οφείλεται στις πολυφαινόλες που περιέχει [99].

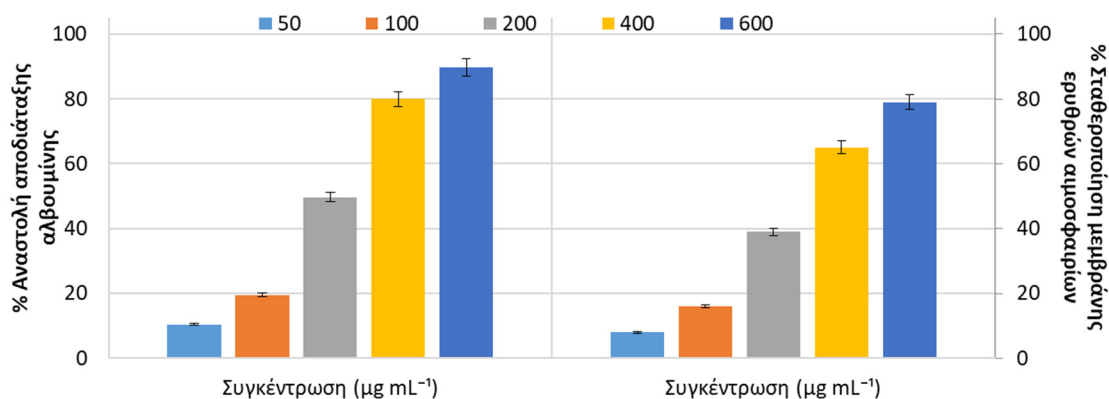
Όσον αφορά τα εκχυλίσματα των φυτών γάλλιο, δίκταμο, εκουϊζέτο, κράταιγος, παναγιόχορτο, τριαντάφυλλο, τσουκνίδα και φραγκουλιά, αυτά εμφάνιζαν ήπια δραστικότητα ($\sim 50\%$) για τη συγκέντρωση $200 \mu\text{g mL}^{-1}$. Παρόλο που τα ποσοστά δεν είναι εξίσου υψηλά σε σχέση με τα προηγούμενα φυτά, ακόμα και η ήπια αυτή δράση που παρουσιάζουν είναι αρωγός για την ταχύτερη επούλωση τραυμάτων. Τέλος, τα εκχυλίσματα των υπολοίπων φυτών (καλεντούλα, μποράνγκο, περδικάκι, στελλάρια, τριγωνέλλα) δεν εμφάνισαν αξιόλογη δραστικότητα.

Με αφορμή αυτά τα αποτελέσματα είναι σημαντικό να αναφερθεί, πως το εκάστοτε εκχύλισμα μπορεί να προκαλέσει ταχύτερη επούλωση των τραυμάτων, μέσω διαφορετικού μηχανισμού. Για παράδειγμα το εκχύλισμα της τσουκνίδας προκάλεσε τη μεγαλύτερη αύξηση του αριθμού των κυττάρων και τη ταχύτερη μετανάστευσή τους σε σχέση με τα υπόλοιπα εκχυλίσματα. Εντούτοις, προστατεύει σε μικρότερο βαθμό την αλβουμίνη από την αποδιάταξή της και σταθεροποιεί σε μικρότερο βαθμό τις μεμβράνες των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε σχέση με το εκχύλισμα κεδροκούκουτσου. Συνεπώς αναμένεται το εκχύλισμα της τσουκνίδας να επιτυγχάνει την επουλωτική του δράση μέσω

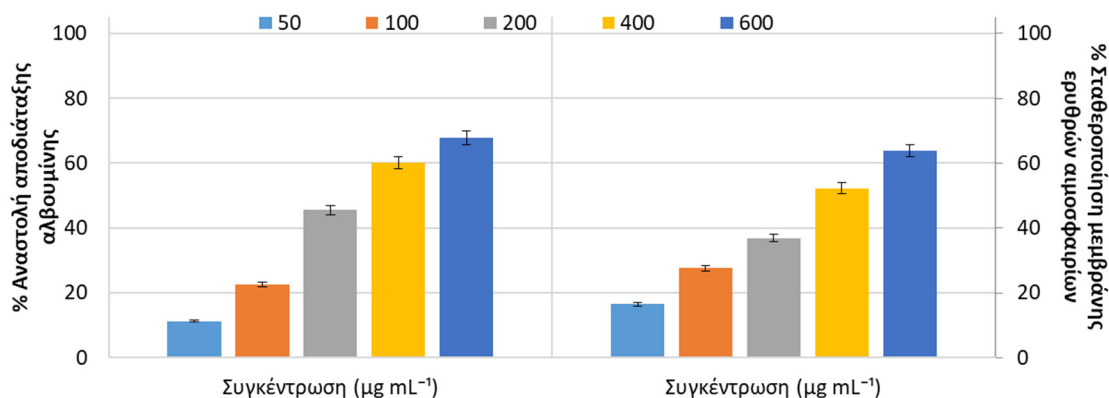
των αλλαγών που προκαλεί στον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των κυττάρων. Αντιθέτως, το εκχύλισμα κεδροκούκουτσου αναμένεται να προκαλεί ταχύτερη επούλωση των τραυμάτων, κυρίως λόγω της εξαιρετικής του αντιφλεγμονώδους δράσης, που υποδηλώνεται από την παραπάνω μελέτη. Η ύπαρξη αυτής της ποικιλομορφίας στα αποτελέσματα αναδεικνύει την ανάγκη για διεξοδικότερη μελέτη των βιολογικών δράσεων των φυτικών εκχυλισμάτων και είναι κάθε άλλο παρά ανεπιθύμητη. Η επίτευξη του ίδιου αποτελέσματος (ταχύτερη επούλωση τραυμάτων) μέσω διαφορετικών μηχανισμών είναι ιδιαίτερα σημαντική για την αντιμετώπιση κυρίως των χρόνιων τραυμάτων των οποίων η επούλωση σταμάτησε σε διαφορετικό στάδιο, και χρειάζεται συνεπώς και διαφορετική αντιμετώπιση.



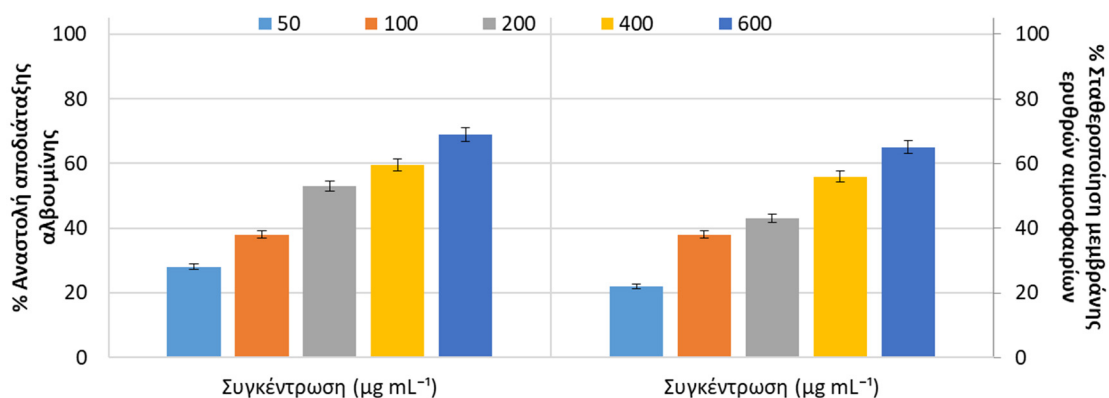
Εικόνα 119: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του αγριμονίου.



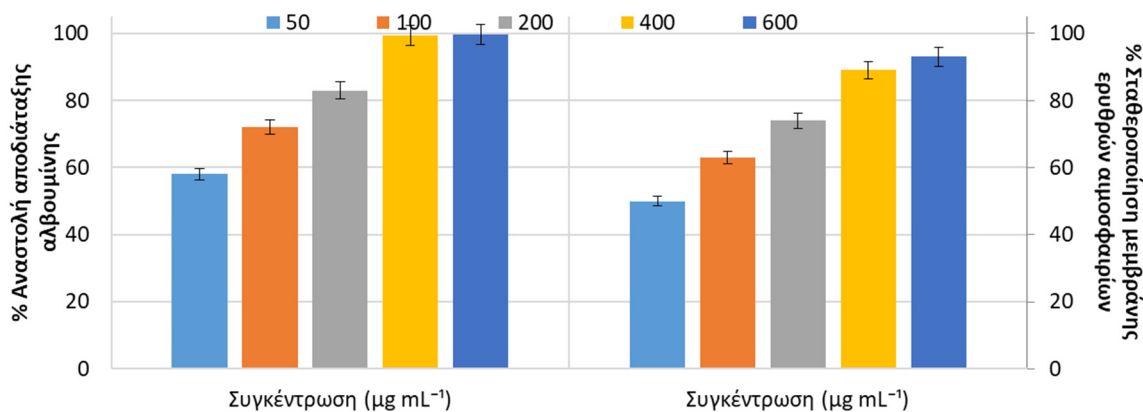
Εικόνα 120: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του γαλλίου.



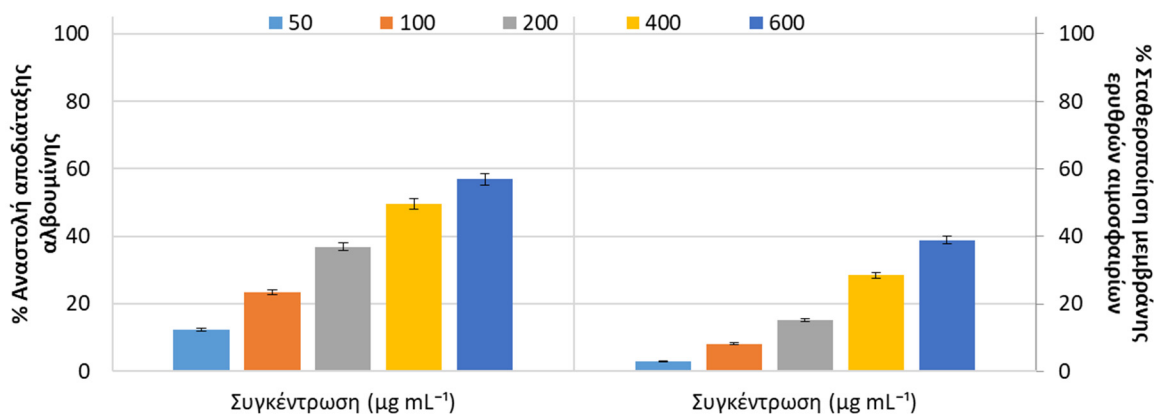
Εικόνα 121: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του δίκταμου.



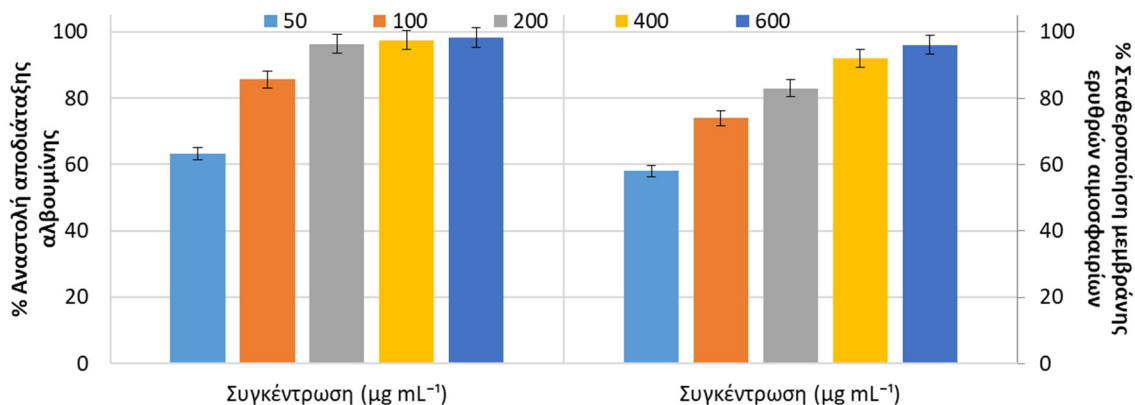
Εικόνα 122: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του εκουϊζέτου.



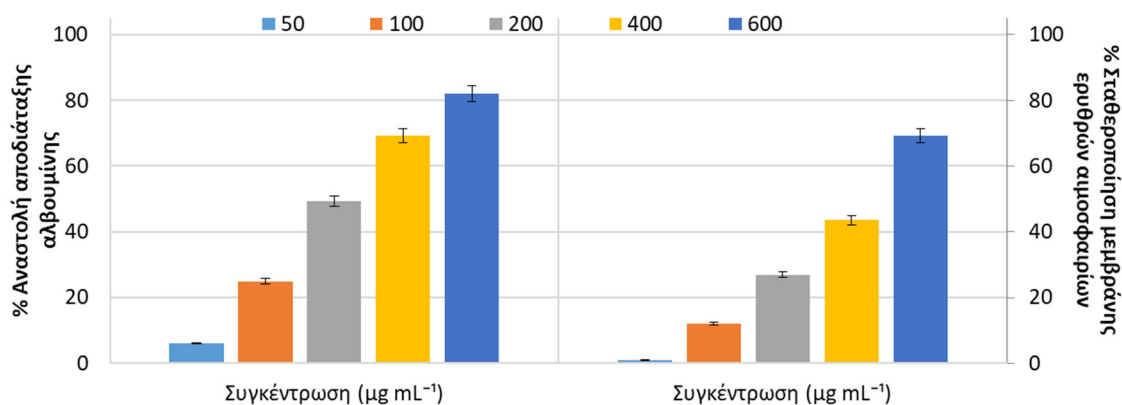
Εικόνα 123: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του επιλόβιου.



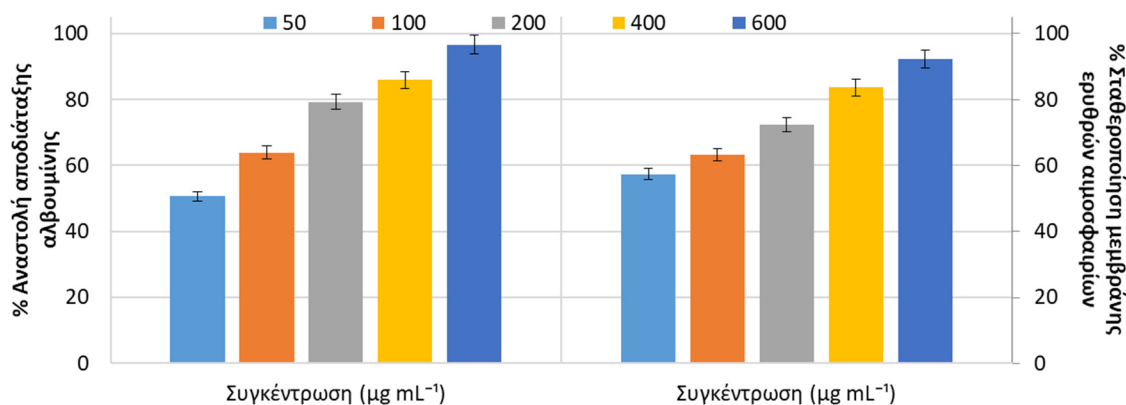
Εικόνα 124: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της καλεντούλας.



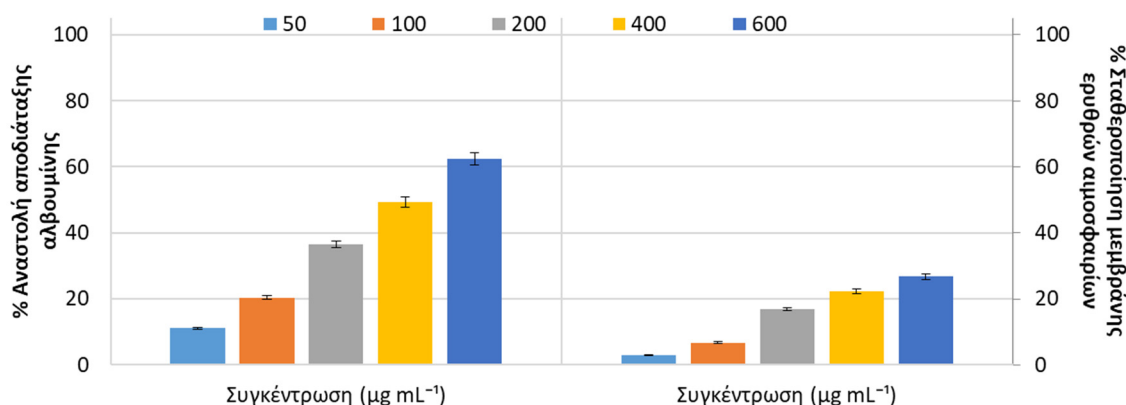
Εικόνα 125: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του κεδροκούκουτσου.



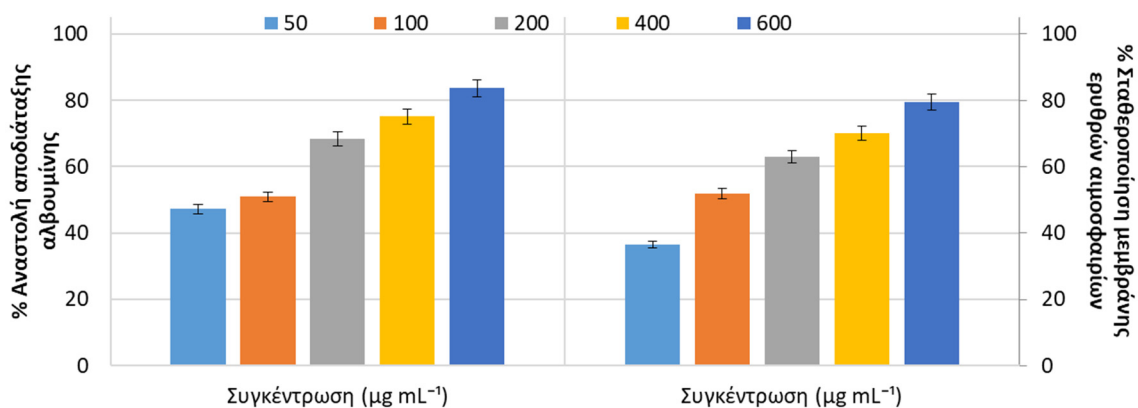
Εικόνα 126: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του κράταιγου.



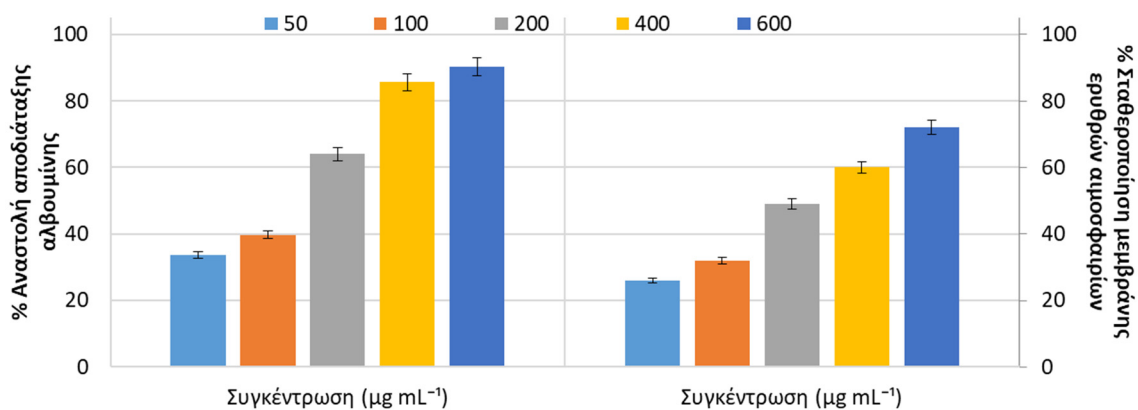
Εικόνα 127: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της λαδανιάς.



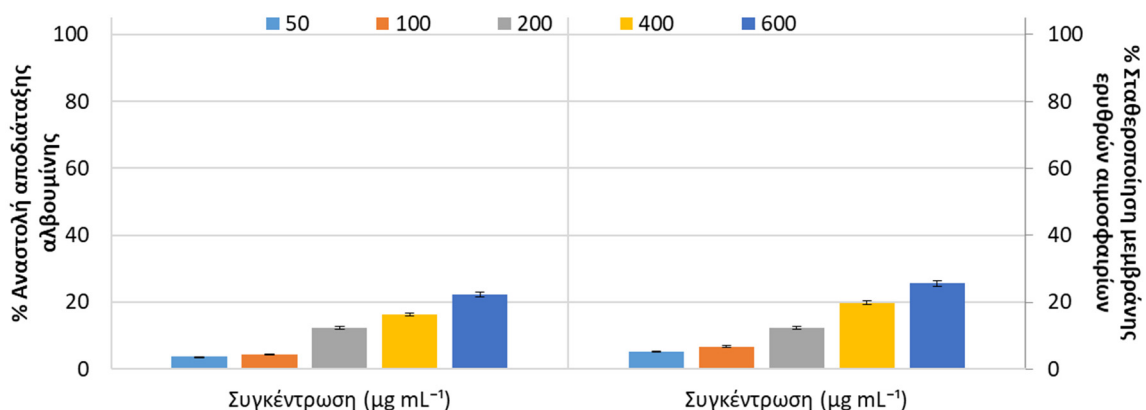
Εικόνα 128: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του μποράνγκου.



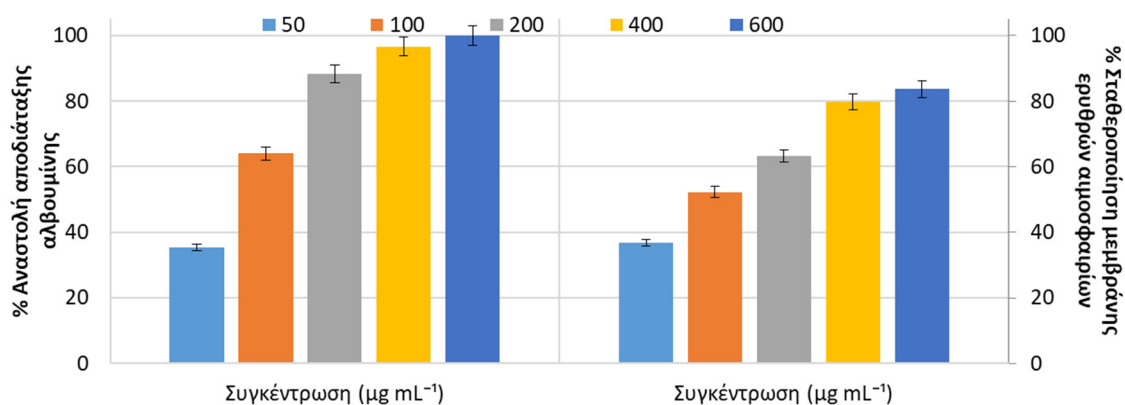
Εικόνα 129: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της παιώνιας.



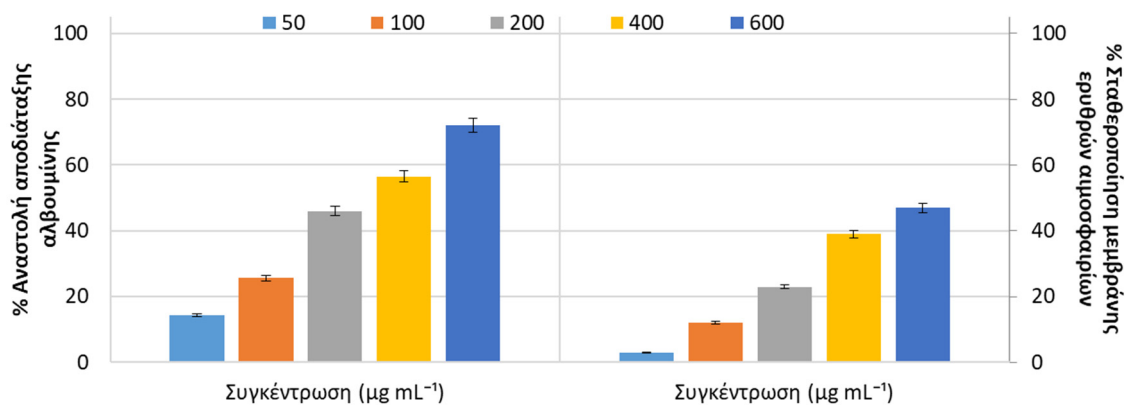
Εικόνα 130: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του παναγιόχορτου.



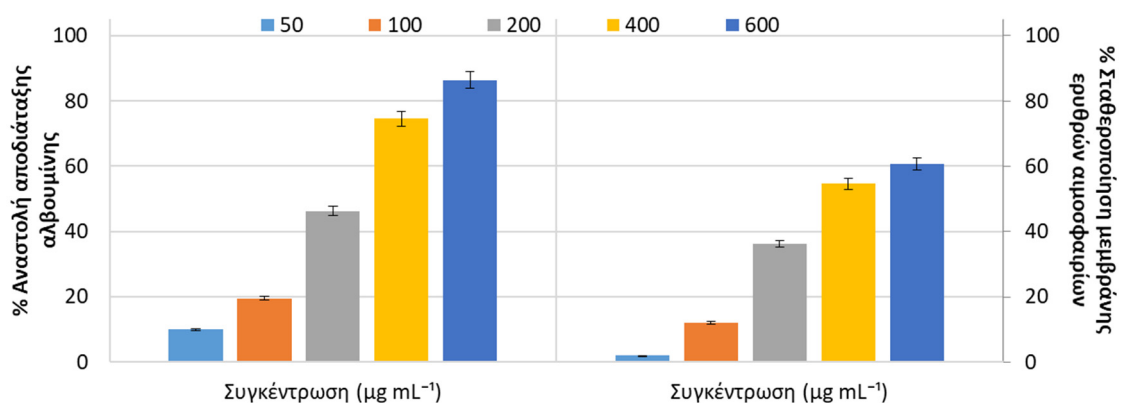
Εικόνα 131: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του περδικακίου.



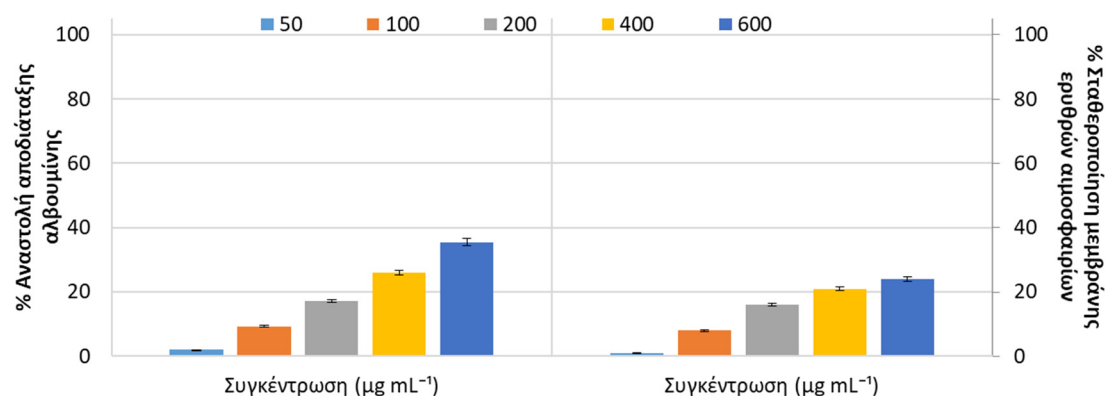
Εικόνα 132: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του σκορπίδιου.



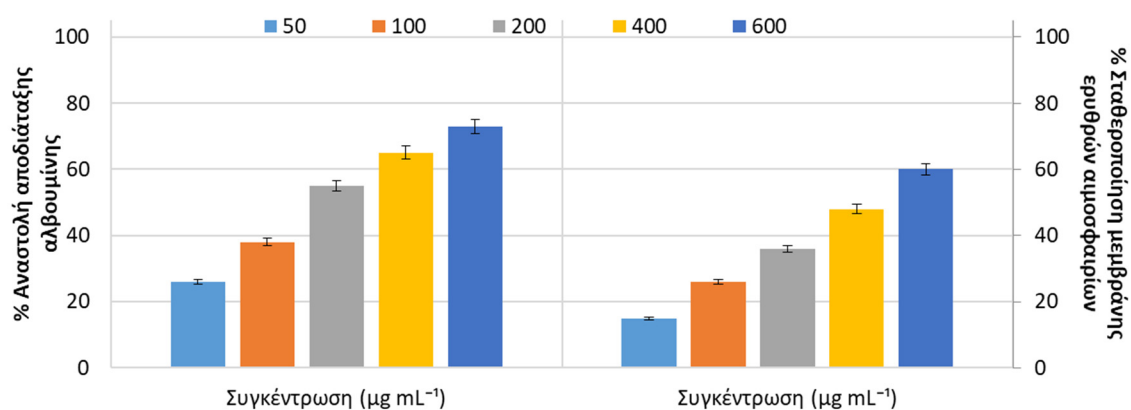
Εικόνα 133: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της στελλάριας.



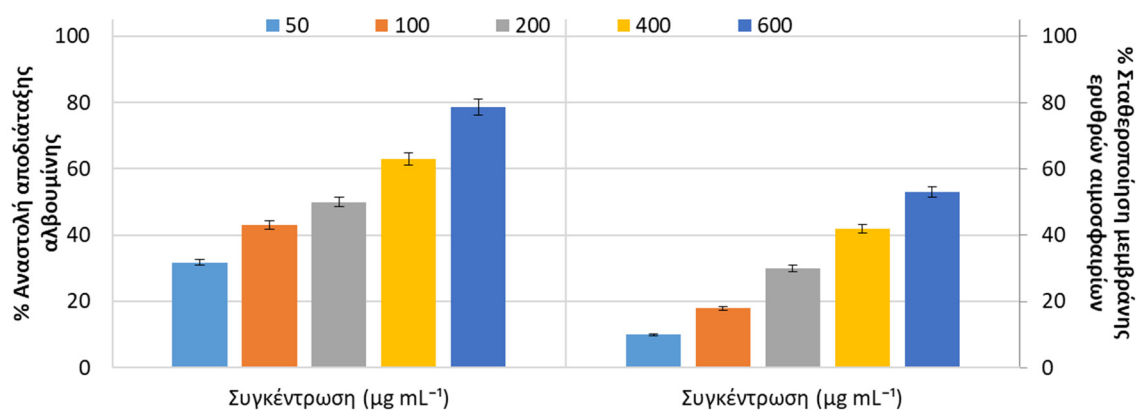
Εικόνα 134: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του τριαντάφυλλου.



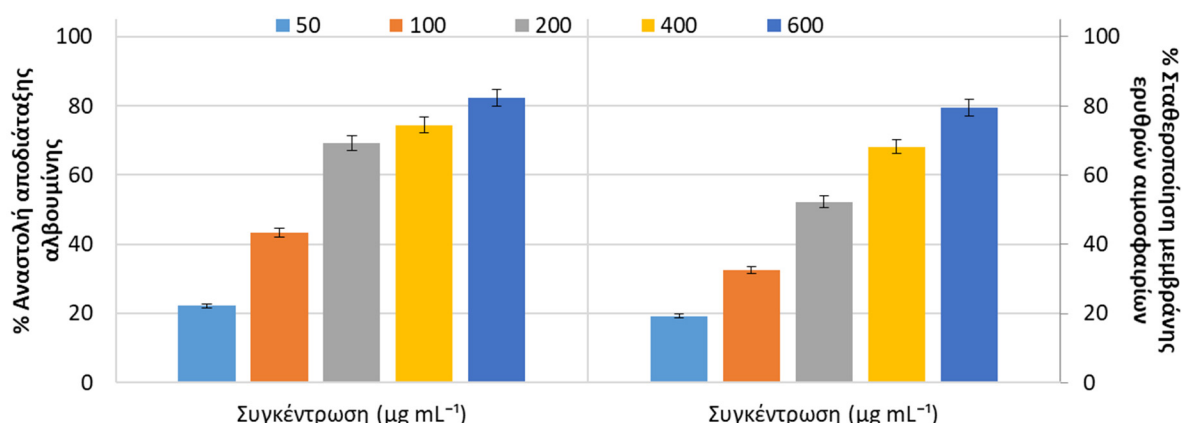
Εικόνα 135: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της τριγωνέλλας.



Εικόνα 136: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της τσουκνίδας.



Εικόνα 137: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος της φραγκουλιάς.



Εικόνα 138: % αναστολή της αποδιάταξης της αλβουμίνης και % σταθεροποίηση της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων του εκχυλίσματος του χελιδόνιου.

3.6 Αντιοξειδωτική δράση εκχυλισμάτων

Είναι γνωστό ότι στις τραυματισμένες περιοχές υπάρχουν πολλές ελεύθερες ρίζες, οι οποίες προκαλούν οξειδωτικό στρες, πλήττοντας το DNA, τις πρωτεΐνες και την κυτταρική μεμβράνη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την καθυστερημένη επούλωση των τραυμάτων [259,260]. Μεταξύ των πολυάριθμων βιολογικών δράσεων που διαθέτουν τα φυτά, μια από τις πιο διαδεδομένες είναι η αντιοξειδωτική τους δράση. Η τόσο αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση που παρουσιάζουν τα φυτικά εκχυλίσματα οφείλεται στην πλειάδα των διαφορετικών φυτοχημικών ενώσεων που περιέχουν, οι οποίες επιτυγχάνουν ποικιλοτρόπως την αντιοξειδωτική δράση. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι το οξειδωτικό στρες και οι οξειδωτικές βλάβες που προκαλούνται δεν είναι ένα μονοδιάστατο φαινόμενο που προκαλείται με έναν μόνο τρόπο, αλλά προκαλείται από τον συνδυασμό πολλαπλών διαφορετικών οξειδωτικών μηχανισμών και αντιδράσεων οξείδωσης. Δεδομένης και της πολυπλοκότητας του υποστρώματος (τραύμα) και των διαφόρων παραμέτρων που επηρεάζουν την οξείδωση, είναι αναμενόμενο ότι η δραστηριότητα των φυσικών αντιοξειδωτικών θα εξαρτάται από όλους αυτούς τους παράγοντες. Συνεπώς, κρίνεται αναγκαία η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των φυτικών εκχυλισμάτων με παραπάνω από ένα τρόπους, καθώς η συνολική παρατηρούμενη αντιοξειδωτική δράση είναι συνδυασμός πολλαπλών δράσεων.

Στο πλαίσιο αυτό, έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι αξιολόγησης της αντιοξειδωτικής δράσης ενώσεων και φυτικών εκχυλισμάτων. Οι μέθοδοι αυτές βασίζονται στα οξειδωτικά φαινόμενα που πραγματοποιούνται. Πρώτος και κύριος μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης είναι η απευθείας δέσμευση των ελευθέρων ριζών. Εάν δεσμευτούν οι ελεύθερες ρίζες, τότε αποτρέπεται η οξειδωτική βλάβη που προκαλούν σε διάφορα μόρια. Για τον σκοπό αυτό, έχουν αναπτυχθεί διάφορες τεχνικές στις οποίες υπολογίζεται το ποσοστό δέσμευσης ελευθέρων ριζών από ενώσεις ή φυτικά εκχυλίσματα. Δυο τέτοιες μέθοδοι είναι με χρήση των ριζών DPPH[·] και ριζών υδροξυλίου. Η ρίζα DPPH[·] είναι μια τεχνητή ρίζα η οποία εμφανίζει ιώδες χρώμα σε απρωτικούς διαλύτες. Όταν στο διάλυμα υπάρχουν ενώσεις που δρουν ως δοτές πρωτονίων τότε παραλαμβάνει το πρωτόνιο και η νέα πλέον μορφή δεν έχει ιώδες χρώμα. Είναι μια πολύ απλή και γρήγορη τεχνική για την αξιολόγηση της ικανότητας των ενώσεων να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες ή να προσφέρουν πρωτόνια στις ελεύθερες ρίζες. Ομοίως η τεχνική των ριζών OH[·], μελετάει την δέσμευση των ριζών OH[·] από διάφορες ενώσεις μετρώντας την απορρόφηση στα 230 nm. Αν και οι δυο αυτές τεχνικές δεν είναι οι μόνες για την αξιολόγηση της ικανότητας μιας ένωσης ή ενός μίγματος ενώσεων να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες, είναι ιδιαίτερα αντιπροσωπευτικές.

Ένας ακόμα διαδεδομένος μηχανισμός οξειδωτικής βλάβης είναι η υπεροξειδωση των λιπιδίων της μεμβράνης των κυττάρων στη περιοχή των τραυμάτων. Η υπεροξειδωση των λιπιδίων προκαλεί βλάβες στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τους ινοβλάστες, μειώνει τη παραγωγή του κολλαγόνου και μεταβάλλει την διαπερατότητα των κερατινοκυττάρων, οδηγώντας σε καθυστερημένη επούλωση των τραυμάτων. Συνεπώς, ένας τρόπος μελέτης της αντιοξειδωτικής δράσης είναι η αναστολή της υπεροξειδωσης των λιπιδίων [260]. Για τον σκοπό αυτό έχει αναπτυχθεί η τεχνική της αναστολής της υπεροξειδωσης της φωσφατιδυλοχολίνης. Στη τεχνική αυτή προκαλείται με χρήση μίγματος οξειδωτικών ενώσεων η υπεροξειδωση της φωσφατιδυλοχολίνης και παράγεται, κυρίως, η μηλονική διαλδεΰδη. Η μηλονική διαλδεΰδη στη συνέχεια αντιδρά με το θειοβαρβιτουρικό οξύ, δίνοντας ένα έγχρωμο σύμπλοκο το οποίο έχει μέγιστη απορρόφηση στα 540 nm. Αυτή η

μέθοδος είναι γνωστή και ως μέθοδος του θειοβαρβιτουρικού οξέος. Παρουσία ενώσεων που προστατεύουν τα λιπίδια από την υπεροξειδωση, μειώνεται ο σχηματισμός της μηλονικής διαλδεΐδης και κατά συνέπεια ο σχηματισμός του ιώδους συμπλόκου.

Ένας άλλος τρόπος μελέτης της αντιοξειδωτικής δράσης είναι η μελέτη της αναγωγικής ισχύος. Σε γενικές γραμμές η αναγωγική ισχύς σχετίζεται με την παρουσία αναγωγικών ενώσεων στο δείγμα. Η αντιοξειδωτική δράση των αναγωγικών ενώσεων στηρίζεται στην ικανότητά τους να προσφέρουν ένα πρωτόνιο και να σταματάνε τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών. Η πιο διαδεδομένη μέθοδος αξιολόγησης της αντιοξειδωτικής δράσης πραγματοποιείται με χρήση του σιδηρικού κυανίου καλίου $K_3[Fe(CN)_6]$, το οποίο μπορεί να αναχθεί στο σιδηροκυανιούχο κάλιο $K_4[Fe(CN)_6]$. Παρουσία τρισθενούς σιδήρου, το τελευταίο σχηματίζει τη γνωστή χρωστική κυανό του Βερολίνου (Prussian blue). Αν και κατά κύριο λόγο η αναγωγική ισχύς των φυτικών εκχυλισμάτων αποδίδεται στην παρουσία φαινολικών συστατικών, τα οποία θεωρούνται υπεύθυνα για την αντιοξειδωτική δράση, κυρίως μέσω αυτού του μηχανισμού, η απουσία φαινολικών συστατικών από ένα δείγμα δεν οδηγεί απαραίτητα σε χαμηλή αναγωγική ισχύ [261].

Οι πρωτεΐνες είναι βασικά μέρη των ζωντανών οργανισμών. Όπως προαναφέρθηκε, οι πρωτεΐνες είναι εν δυνάμει στόχοι των ελευθέρων ριζών, οδηγώντας σε μειωμένη λειτουργικότητά τους. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε απόπτωση και γήρανση των κυττάρων [262]. Ως εκ τούτου, μια άλλη μορφή μελέτης της αντιοξειδωτικής δράσης είναι η προστασία των πρωτεϊνών από την οξειδωτική βλάβη. Για τη μελέτη αυτής της δράσης, χρησιμοποιείται μια πρωτεΐνη (συνήθως αλβουμίνη βόειου όρου) της οποίας υπολογίζεται η αναστολή της οξείδωσης, παρουσία διαφόρων ενώσεων. Προκειμένου να οξειδωθεί η πρωτεΐνη χρησιμοποιούνται δυο προσεγγίσεις. Η πρώτη είναι με χρήση ελευθέρων ριζών, όπου στην ουσία αξιολογείται η ικανότητα του εκχυλίσματος να δεσμεύει τις ελεύθερες ρίζες. Η δεύτερη προσέγγιση είναι με χρήση σιδήρου μέσω της αντίδρασης Fenton. Η δεύτερη αυτή προσέγγιση μπορεί να είναι πιο πληροφοριακή για την αντιοξειδωτική δράση ενός φυτικού εκχυλίσματος, καθώς, οι ενώσεις που δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες είναι ελάχιστα έως καθόλου αποτελεσματικές στο να αναστέλλουν την

οξειδωση που καταλύεται από μέταλλα. Έτσι έχουν παρατηρηθεί περιπτώσεις φυτικών εκχυλισμάτων που δεν είναι ικανά να αναστέλλουν την οξειδωση των πρωτεϊνών, όταν αυτή καταλύεται από μέταλλα [263,264].

Τέλος, όπως αναφέρθηκε οξειδωτική βλάβη μπορεί να προέλθει μέσω της αντίδρασης Fenton [265]. Αναφέρεται, ότι το οξειδωτικό στρες που καταλύεται από τον σίδηρο οδηγεί σε ταχύτερη απόπτωση και έτσι ο χρόνος επούλωσης των τραυμάτων αυξάνεται [266]. Συνεπώς, ενώσεις οι οποίες μπορούν να δεσμεύουν τον σίδηρο, εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση, καθώς προλαμβάνουν τον σχηματισμό των ελεύθερων ριζών μέσω της αντίδρασης Fenton. Ακολουθώντας τις παραπάνω προσεγγίσεις, προκύπτουν πολλαπλές πληροφορίες σχετικά με την αντιοξειδωτική δράση των φυτικών εκχυλισμάτων. Ως εκ τούτου, μελετήθηκε η αντιοξειδωτική δράση των φυτικών εκχυλισμάτων, προσδιορίζοντας την ικανότητά τους να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες DPPH[·] και τις ελεύθερες OH[·], να αναστέλλουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων και την οξειδωση των πρωτεϊνών και να σχηματίζουν χηλικά σύμπλοκα με τον σίδηρο.

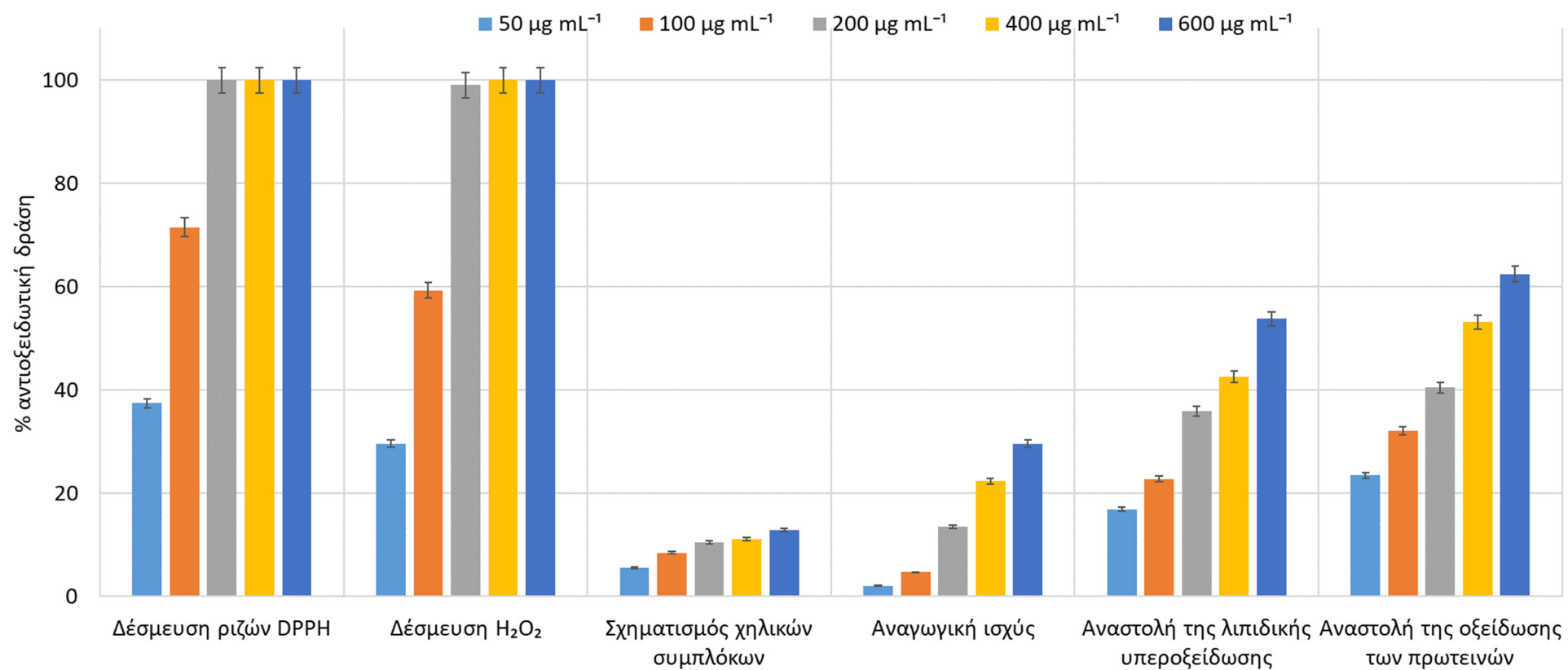
Οι συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων οι οποίες μελετήθηκαν είναι: 50, 100, 200, 400, 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Οι συγκεντρώσεις αυτές επιλέχθηκαν εξαιτίας του γεγονότος ότι τα φυτικά εκχυλίσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αντιοξειδωτική τους δράση σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από αυτές που χρησιμοποιούνται απευθείας στα κύτταρα. Όπως και στη περίπτωση της αντιφλεγμονώδους δράσης, λεπτομερής αναφορά θα γίνει μόνο για τη συγκέντρωση των 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$, προκειμένου να υπάρχει ένα κοινό σημείο αναφοράς και να εξεταστεί η δραστηριότητα των εκχυλισμάτων στη συγκέντρωση αυτή, η οποία εμφανίζει και τις περισσότερες βιολογικές δράσεις. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται λεπτομερώς στις εικόνες 138 έως 157. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι τα εκχυλίσματα των φυτών λαδανιά, αγριμόνιο, δίκταμο, επιλόβιο, κράταιγος, μποράνγκο και σκορπίδι εμφανίζουν την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση, καθώς επιτυγχάνουν έως και 100% δέσμευση των ριζών DPPH[·] και υδροξυλίου, περίπου 75% αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης και 50% αναστολή της οξειδωσης των πρωτεϊνών και σχηματισμό χηλικών συμπλόκων.

Πιο συγκεκριμένα, το εκχύλισμα λαδανιάς, φαίνεται πως εμφανίζει την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση στο σύνολο των διαφορετικών τεχνικών που δοκιμάστηκαν. Επιφέρει 100% δέσμευση των ριζών DPPH[·] και $96 \pm 3\%$ δέσμευση των ριζών υδροξυλίου, $22 \pm 1\%$ ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων, $50 \pm 3\%$ αναγωγική ισχύ, $77 \pm 3\%$ αναστολή της υπεροξειδωσης των λιπιδίων και $37 \pm 2\%$ αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών. Το εκχύλισμα αγριμόνιου επιτυγχάνει 100% δέσμευση των ριζών DPPH[·] και υδροξυλίου, $36 \pm 2\%$ αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης και $40 \pm 2\%$ αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών, ενώ η ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων και η αναγωγική ισχύς του ήταν κάτω από 20%. Το εκχύλισμα δίκταμου μπορεί να δεσμεύσει το $83 \pm 2\%$ των ριζών DPPH[·] και $40 \pm 2\%$ δέσμευση των ριζών υδροξυλίου, $40 \pm 2\%$ αναστολή της υπεροξειδωσης των λιπιδίων, $22 \pm 1\%$ αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών και μικρότερη από 20% ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων. Το εκχύλισμα επιλόβιου προκαλεί $89 \pm 2\%$ δέσμευση των ριζών υδροξυλίου, $44 \pm 1\%$ ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων και $34 \pm 1\%$ αναγωγική ισχύ. Η ικανότητα δέσμευσης των ριζών DPPH[·] και η αναστολής της οξείδωσης των πρωτεϊνών και της υπεροξειδωσης των λιπιδίων είναι μικρότερη από 20%. Το εκχύλισμα του κράταιγου μπορεί να δεσμεύσει τις ελεύθερες ρίζες του DPPH[·] κατά $36 \pm 1\%$ και τις ρίζες υδροξυλίου κατά $57 \pm 2\%$, ενώ εμφανίζει $37 \pm 1\%$ αναγωγική ισχύ, $38 \pm 1\%$ αναστολή της υπεροξειδωσης των λιπιδίων και λιγότερο από 20% αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών και ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων. Το εκχύλισμα μποράνγκου εμφανίζει $48 \pm 2\%$ δέσμευση των ριζών DPPH[·] και $59 \pm 3\%$ δέσμευση των ριζών υδροξυλίου, $49 \pm 2\%$ ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων και $23 \pm 1\%$ αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών. Η αναγωγική ισχύς και η αναστολή της υπεροξειδωσης των λιπιδίων βρέθηκε να είναι λιγότερη από 20%. Το εκχύλισμα του φυτού σκορπίδι επιφέρει 100% δέσμευση των ριζών DPPH[·] (επιτυγχάνεται από τη συγκέντρωση των $100 \mu\text{g mL}^{-1}$), $97 \pm 2\%$ δέσμευση του υπεροξειδίου του υδρογόνου, $50 \pm 1\%$ ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων, $42 \pm 1\%$ αναγωγική ισχύ, $29 \pm 2\%$ αναστολή της υπεροξειδωσης των λιπιδίων και $19 \pm 1\%$ αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών.

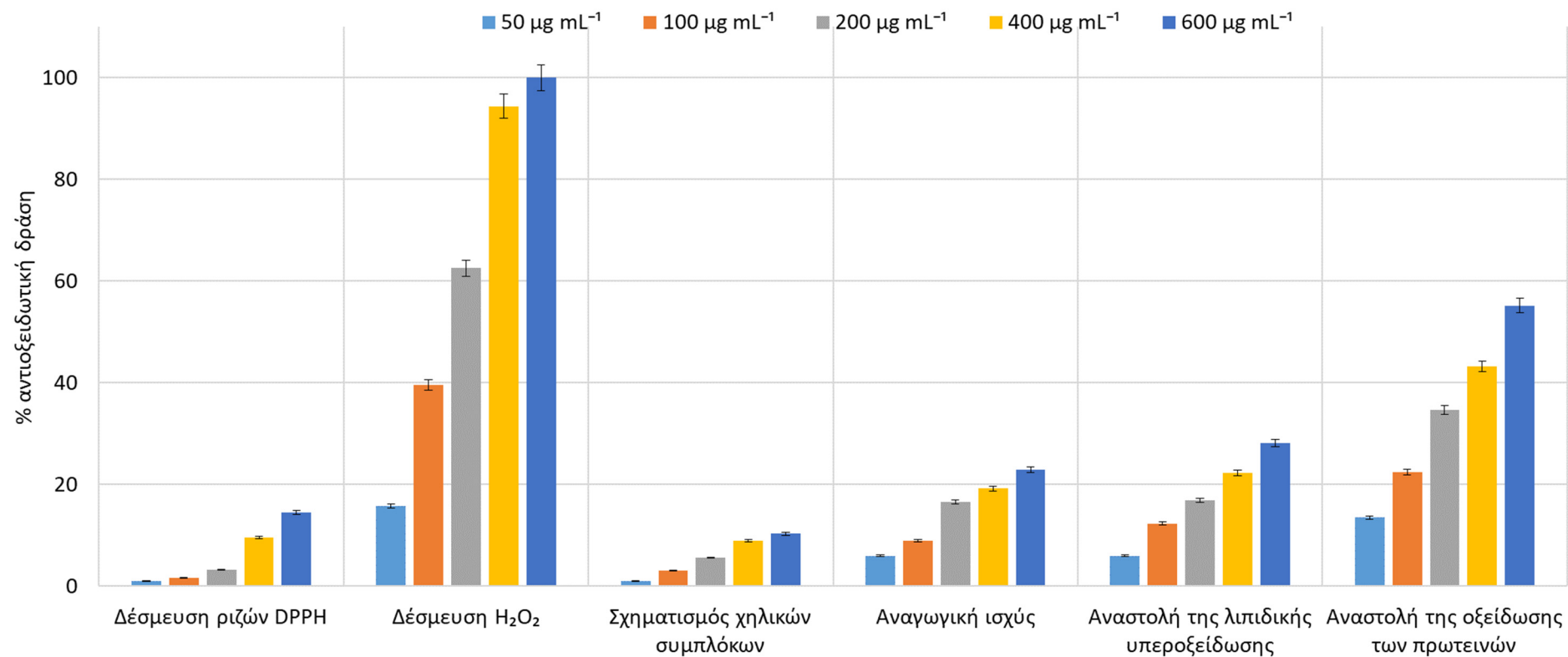
Τα εκχυλίσματα των φυτών γάλλιο, κεδροκούκουτσο, παναγιόχορτο, τριαντάφυλλο, τσουκνίδα και χελιδόνιο εμφανίζουν ήπια αντιοξειδωτική δράση με την τσουκνίδα να εμφανίζει ικανοποιητική δραστηριότητα σε όλους τους τρόπους υπολογισμού της αντιοξειδωτικής δράσης. Πιο συγκεκριμένα το εκχύλισμα τσουκνίδας προκαλεί $24 \pm 1\%$ δέσμευση των ριζών DPPH $\cdot$, $35 \pm 2\%$ δέσμευση των ριζών υδροξυλίου, $32 \pm 1\%$ ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων, $20 \pm 1\%$ αναγωγική ισχύ και αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών και $47 \pm 2\%$ αναστολή της υπεροξείδωσης των λιπιδίων. Το εκχύλισμα τριαντάφυλλου εμφανίζει $28 \pm 2\%$ δέσμευση των ριζών DPPH $\cdot$, $54 \pm 3\%$ δέσμευση των ριζών υδροξυλίου, $42 \pm 2\%$ αναγωγική ισχύ, $32 \pm 2\%$ αναστολή της υπεροξείδωσης των λιπιδίων και $23 \pm 1\%$ αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών και λιγότερο από 20% ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων. Το εκχύλισμα παναγιόχορτου προκαλεί 100% δέσμευση των ριζών υδροξυλίου ενώ έχει $39 \pm 2\%$ ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων, $24 \pm 1\%$ αναστολή της υπεροξείδωσης των λιπιδίων και λιγότερο από 20% αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών, δέσμευση των ριζών DPPH $\cdot$ και αναγωγική ισχύ. Το εκχύλισμα χελιδονίου δεσμεύει τις ρίζες υδροξυλίου κατά $53 \pm 2\%$ και εμφανίζει $27 \pm 1\%$ αναγωγική ισχύ, $27 \pm 2\%$ αναστολή της υπεροξείδωσης των λιπιδίων και $27 \pm 1\%$ αναστολή της οξείδωσης των πρωτεϊνών και λιγότερο από $20 \pm 2\%$ δέσμευση των ριζών DPPH $\cdot$ και ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων. Τα εκχυλίσματα κεδροκούκουτσου και γάλλιου επιφέρουν $77 \pm 3\%$ και $62 \pm 2\%$ δέσμευση των ριζών υδροξυλίου, 24 ± 1 και $20 \pm 2\%$ αναστολή της υπεροξείδωσης των λιπιδίων και λιγότερο από $20 \pm 1\%$ δέσμευση των ριζών DPPH $\cdot$, ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων και αναγωγική ισχύ. Τα υπόλοιπα εκχυλίσματα (εκουϊζέτο, καλεντούλα, παιώνια, περδικάκι, στελλάρια, τριγωνέλλα, φραγκουλιά), εμφάνισαν μειωμένη αντιοξειδωτική δράση με την ικανότητα δέσμευσης των ριζών υδροξυλίου να φτάνει το $62 \pm 2\%$ (τριγωνέλλα) και την αναστολή της υπεροξείδωσης των λιπιδίων, την δέσμευση των ριζών DPPH $\cdot$, την ικανότητα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων και αναγωγική ισχύ να είναι λιγότερη από 20% και σε κάποιες περιπτώσεις λιγότερο και από 10% .

Φαίνεται λοιπόν ότι αρκετά από τα εκχυλίσματα που μελετώνται εμφανίζουν αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση. Η αντιοξειδωτική τους δράση σε πολλές περιπτώσεις είναι χαμηλότερη από αυτή που αναφέρεται στη βιβλιογραφία [267–269]. Αυτό οφείλεται στον τρόπο με τον οποίο προετοιμάστηκαν τα φυτικά εκχυλίσματα. Είναι γνωστό ότι μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση εμφανίζουν τα αιθανολικά ή υδροαιθανολικά εκχυλίσματα. Τα φυτικά αντιοξειδωτικά μπορούν να χωριστούν σε 4 γενικές ομάδες: φαινολικά οξέα (γαλλικό, καφεϊκό, και ροσμαρινικό οξύ), φαινολικά διτερπένια (καρνοσόλη και καρνοσικό οξύ), φλαβονοειδή (κουερσετίνη και κατεχίνη) και πτητικά έλαια (ευγενόλη, καρβακρόλη, θυμόλη και μενθόλη) [162]. Λόγω της πολικότητας των παραπάνω ενώσεων τα εκχυλίσματα στα οποία παραλαμβάνονται οι ενώσεις αυτές είναι κατά κύριο λόγο εκχυλίσματα τα οποία παρασκευάζονται με χρήση οργανικών διαλυτών όπως το ακετονιτρίλιο, η μεθανόλη και η αιθανόλη. Αυτός είναι και ο λόγος για τον οποίο κατά κύριο λόγο μελετώνται τα αντίστοιχα εκχυλίσματα ως προς τις αντιοξειδωτικές τους ικανότητες [162]. Στη προκειμένη περίπτωση, η προηγηθείσα εκχύλιση με ακετονιτρίλιο και οξικό αιθυλεστέρα στη συσκευή Soxhlet, οδήγησε πιθανότατα στην απομάκρυνση των περισσότερων φαινολικών συστατικών, στα οποία αποδίδεται κατά κύριο λόγο η αντιοξειδωτική δράση των φυτικών εκχυλισμάτων. Η εικασία αυτή επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι, η αναγωγική ισχύς των δοκιμαζόμενων εκχυλισμάτων είναι στις περισσότερες περιπτώσεις χαμηλή, που όπως προαναφέρθηκε, συνήθως σημαίνει απουσία ή μικρή συγκέντρωση φαινολικών συστατικών. Αυτό επιβεβαιώνεται από τη φυτοχημική ανάλυση των εκχυλισμάτων (ενότητα 3.1), όπου αρκετά εκχυλίσματα δεν περιέχουν φαινολικά συστατικά. Ωστόσο, αυτό είναι και ένα πλεονέκτημα του παρόντος τρόπου με τον οποίο παραλαμβάνονται τα φυτικά εκχυλίσματα καθώς αναδεικνύεται η δράση άλλων συστατικών και η παρατηρούμενη δράση δεν οφείλεται στα πολυμελετημένα φαινολικά συστατικά. Όσον αφορά τη χρήση των εκχυλισμάτων για την επούλωση τραυμάτων, επτά φυτικά εκχυλίσματα (λαδανιά, αγριμόνιο, δίκταμο, επιλόβιο, κράταιγος, μποράνγκο και σκορπίδι) προκύπτει ότι θα βοηθούν αρκετά την ταχύτερη επούλωση των τραυμάτων, καθώς αποτρέπουν τις αρνητικές επιπτώσεις του οξειδωτικού στρες. Επιπλέον, ένα ακόμα

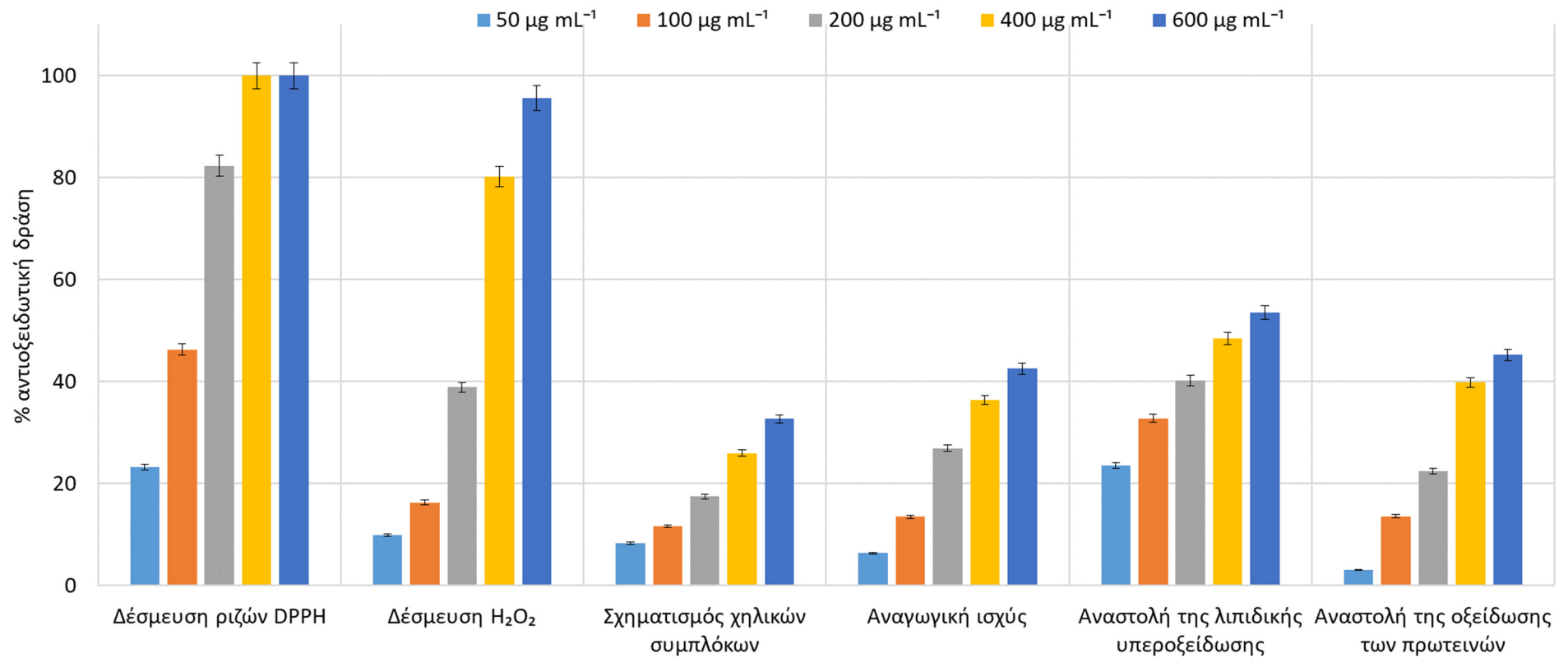
όφελος για την επούλωση των τραυμάτων προκύπτει από τη μελέτη της ικανότητας σχηματισμού των χηλικών συμπλόκων. Τα φυτικά εκχυλίσματα που μπορούν να σχηματίσουν χηλικά σύμπλοκα, πέρα της αντιοξειδωτικής τους δράσης, μπορούν να αποτρέψουν/μειώσουν τις βακτηριακές λοιμώξεις. Αυτό διότι δεσμεύουν τον σίδηρο, ο οποίος είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη των βακτηρίων, οδηγώντας σε βακτηριόσταση, έναν μηχανισμό βακτηριοκτόνου δράσης όμοιο με αυτής της πρωτεΐνης λακτοφερίνη [265].



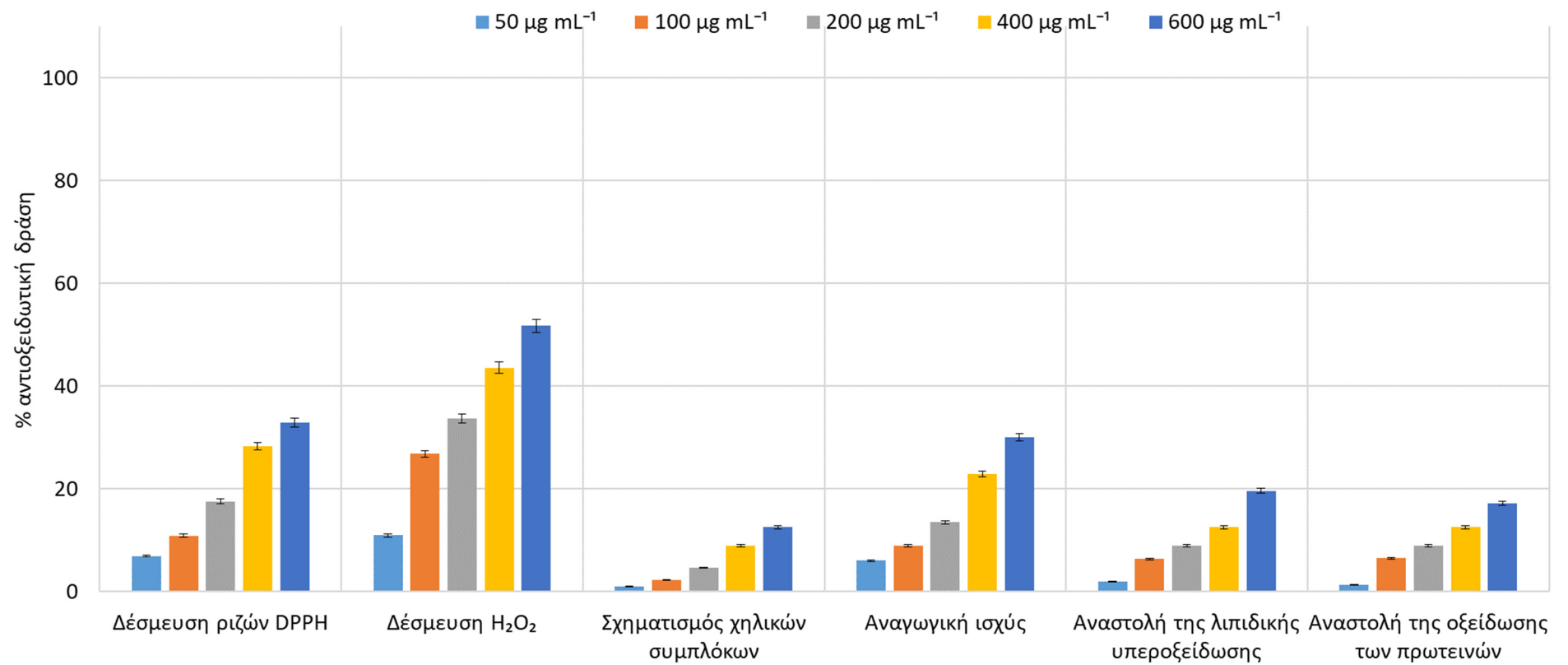
Εικόνα 139: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος αγριμόνιου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



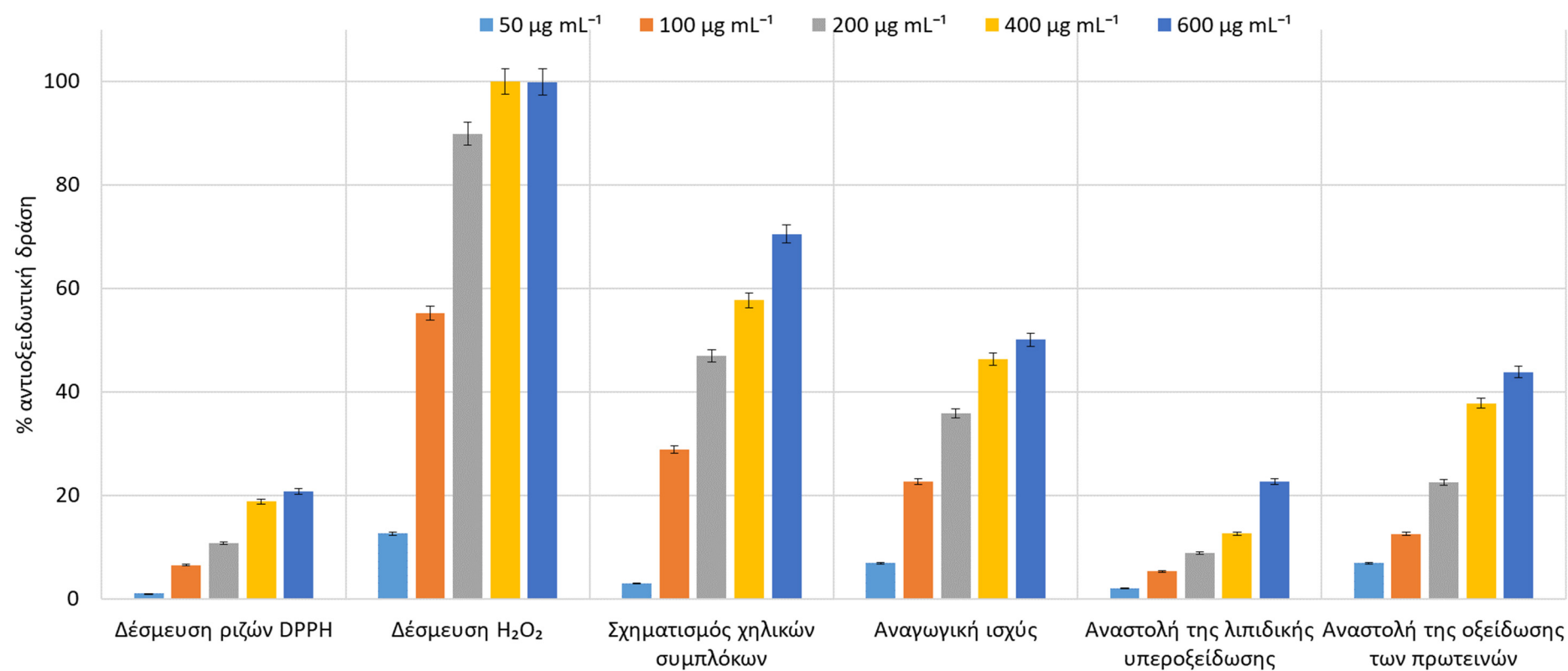
Εικόνα 140: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος γάλλιου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



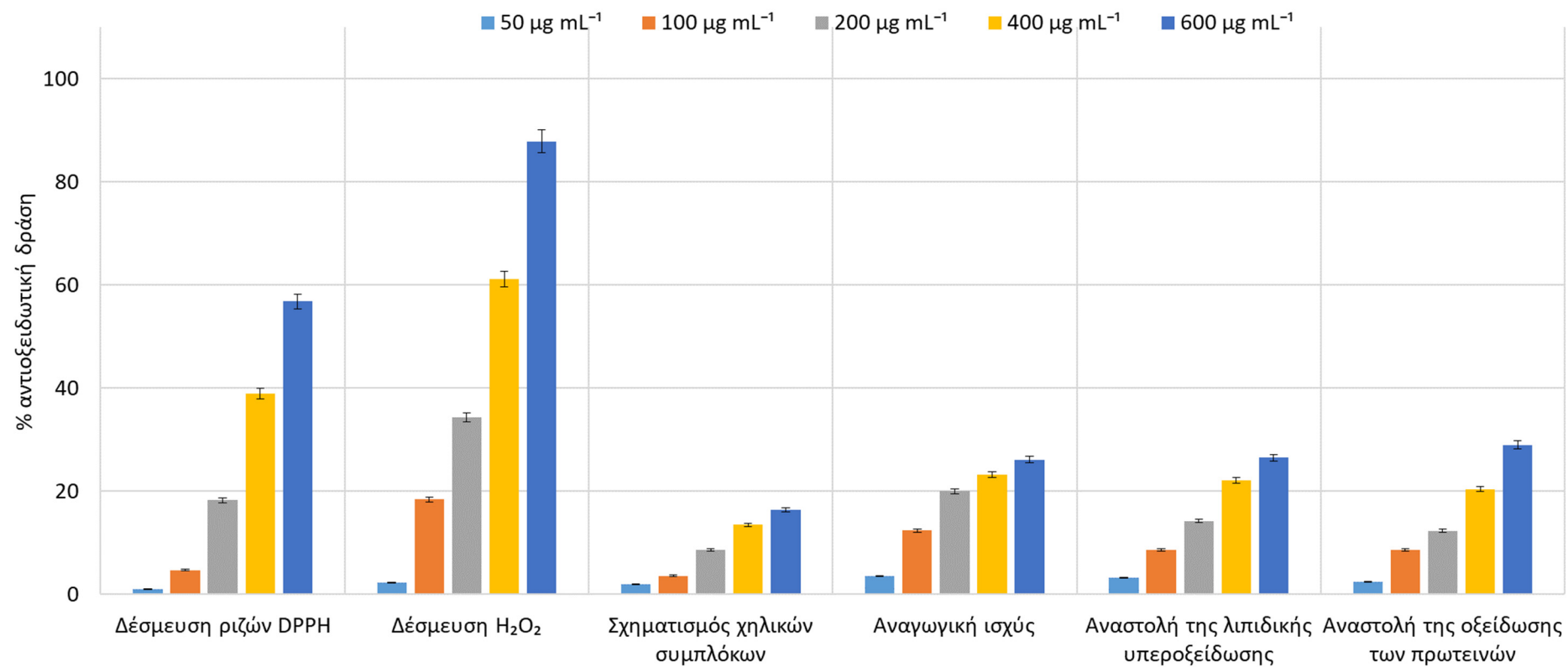
Εικόνα 141: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος δίκταμου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



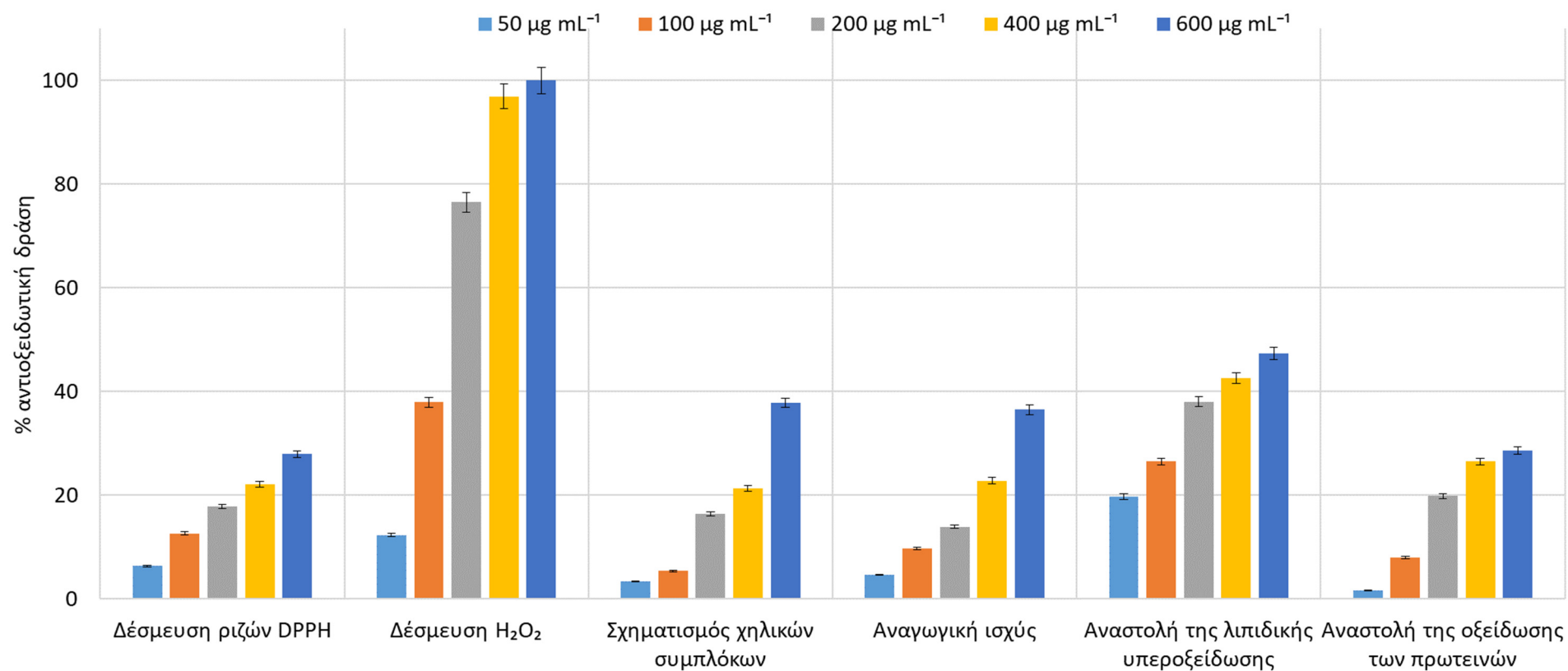
Εικόνα 142: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος εκουϊζέτου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



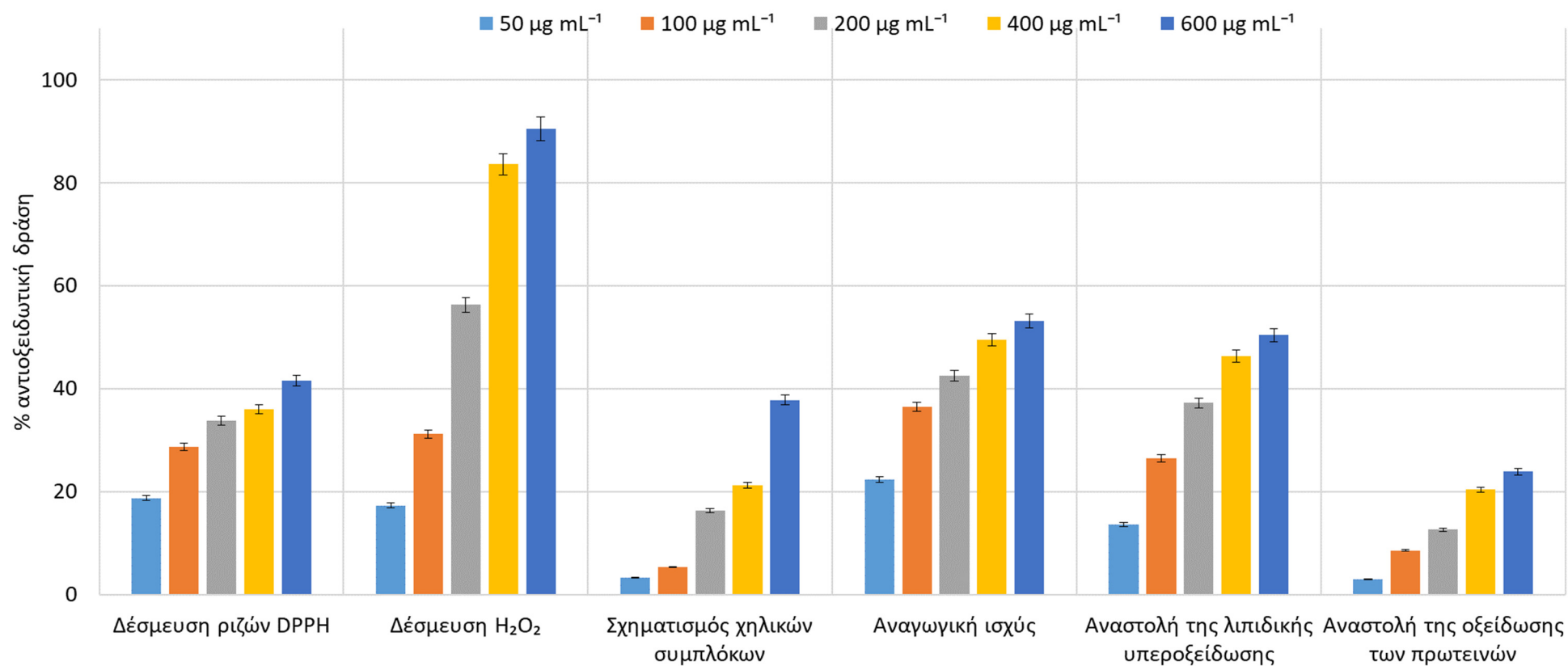
Εικόνα 143: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος επιλόβιου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



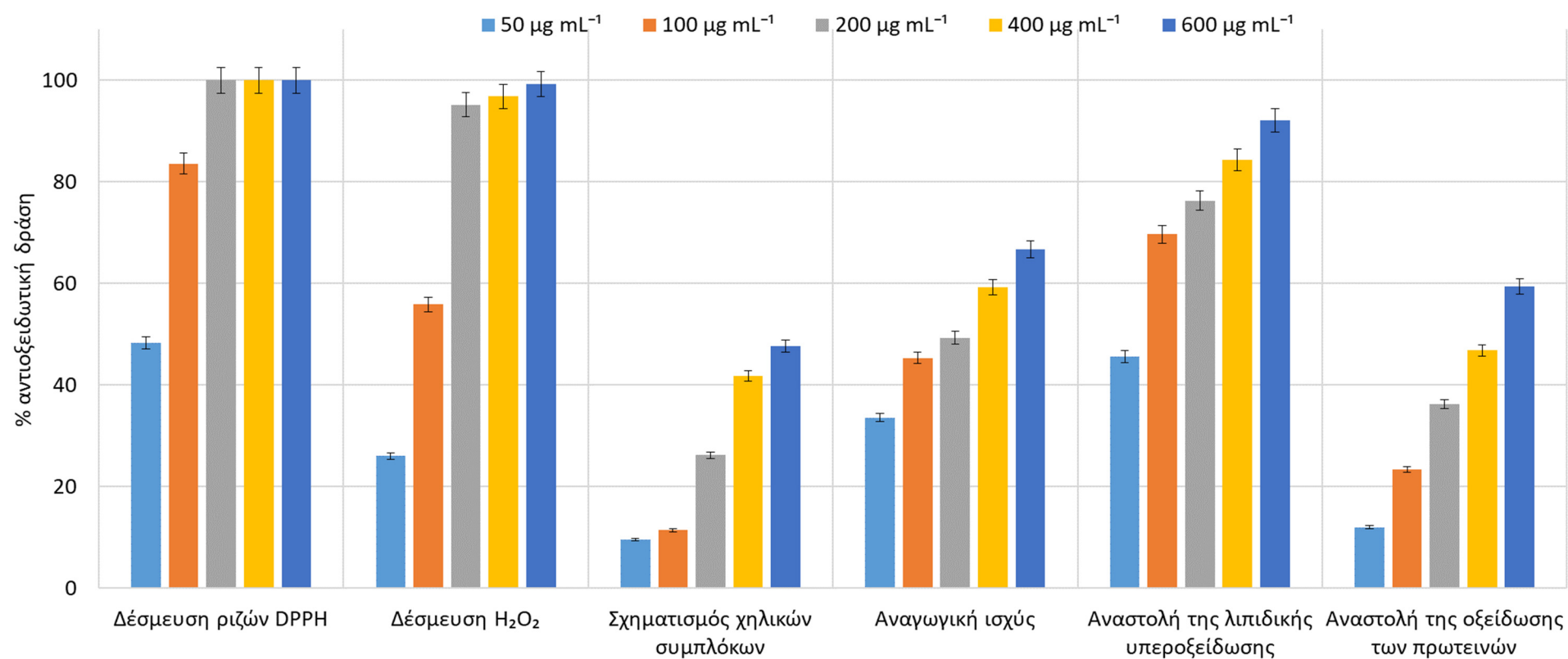
Εικόνα 144: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος καλεντούλας, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



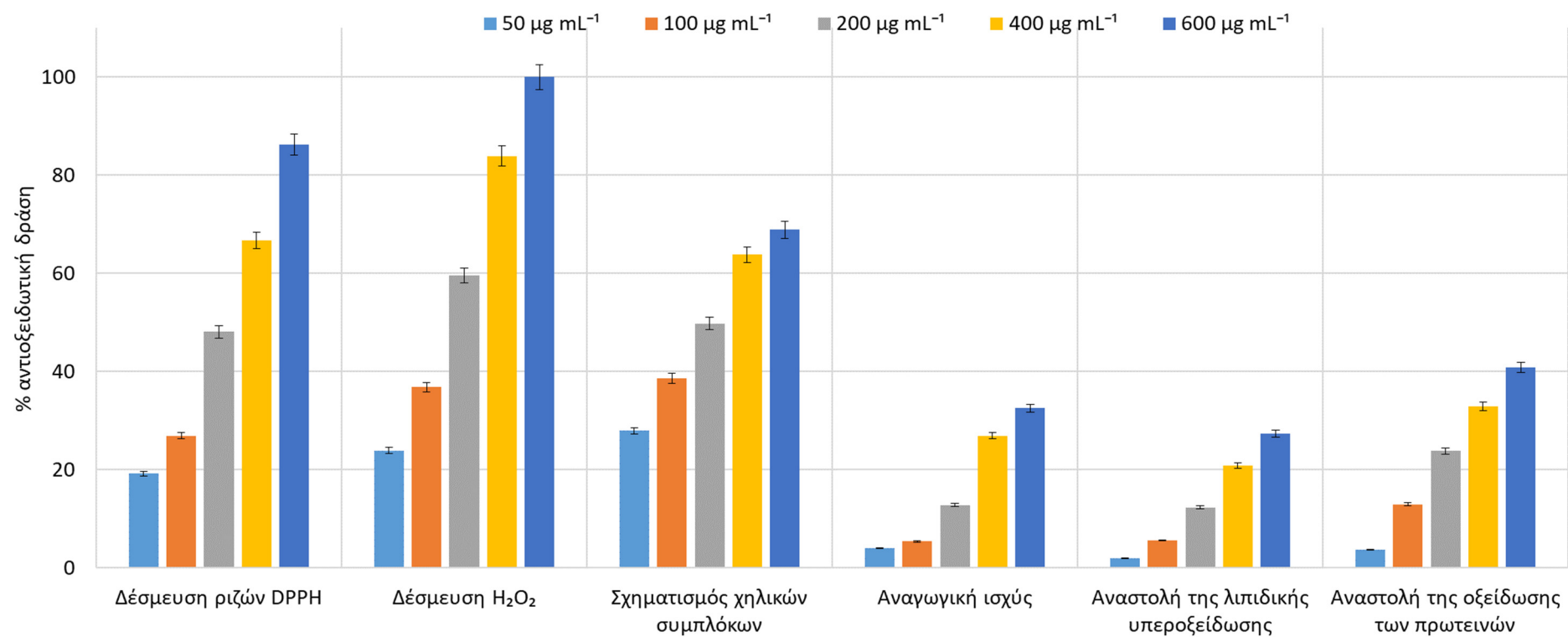
Εικόνα 145: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος κεδροκούκουτσου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



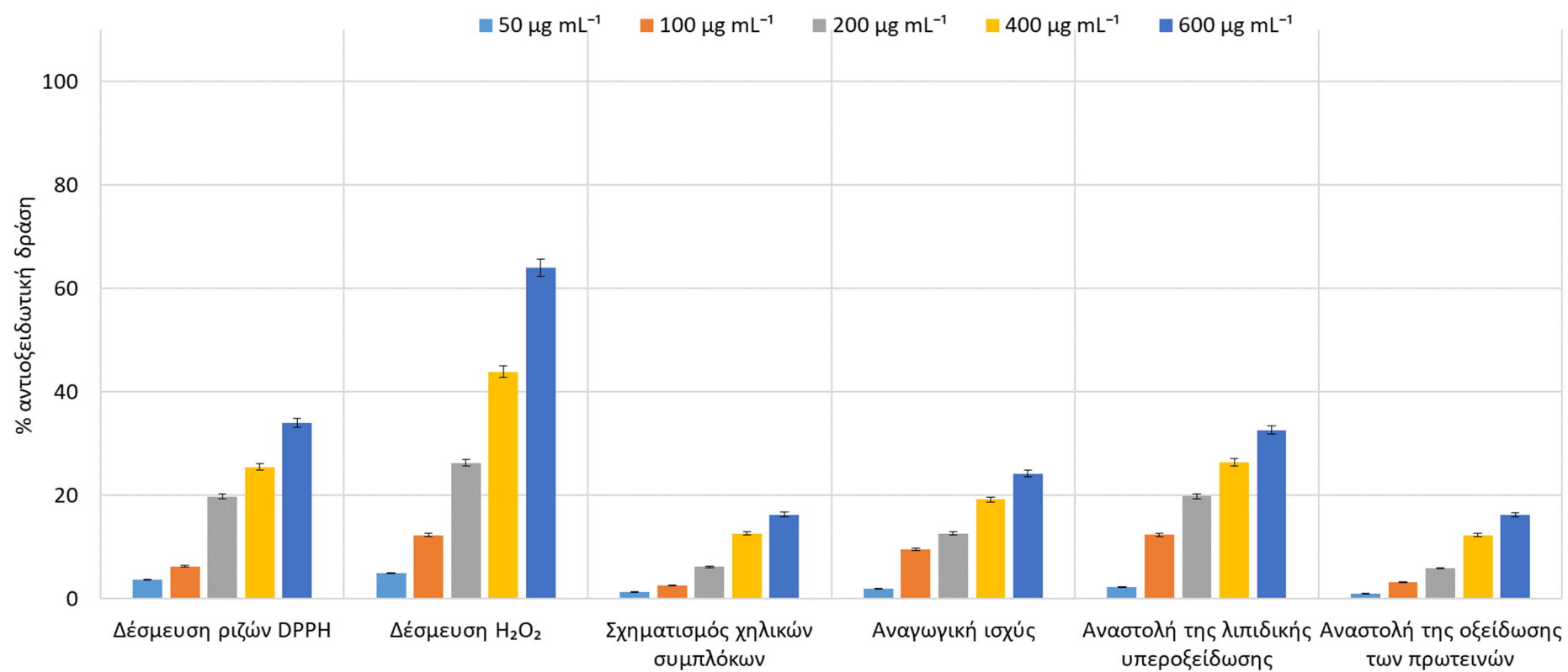
Εικόνα 146: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος κράταιγου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



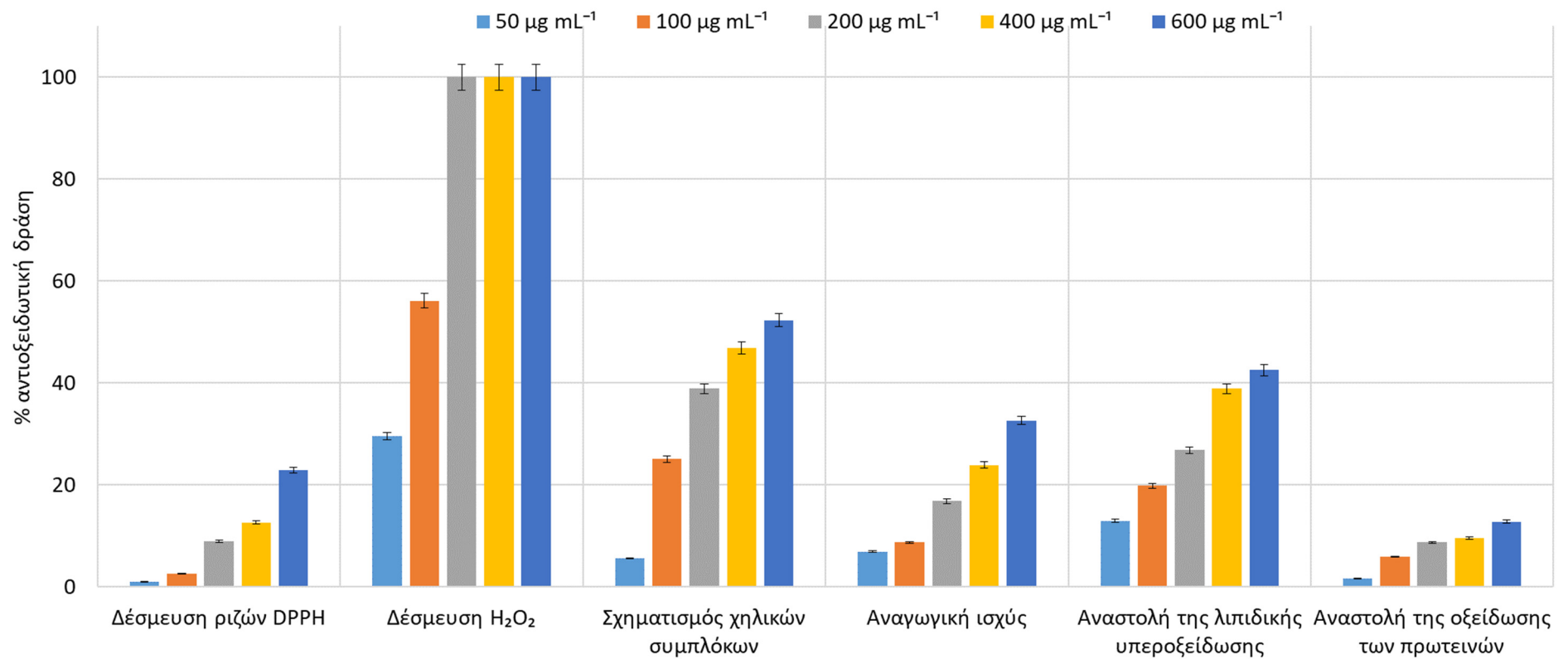
Εικόνα 147: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος λαδανιάς, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



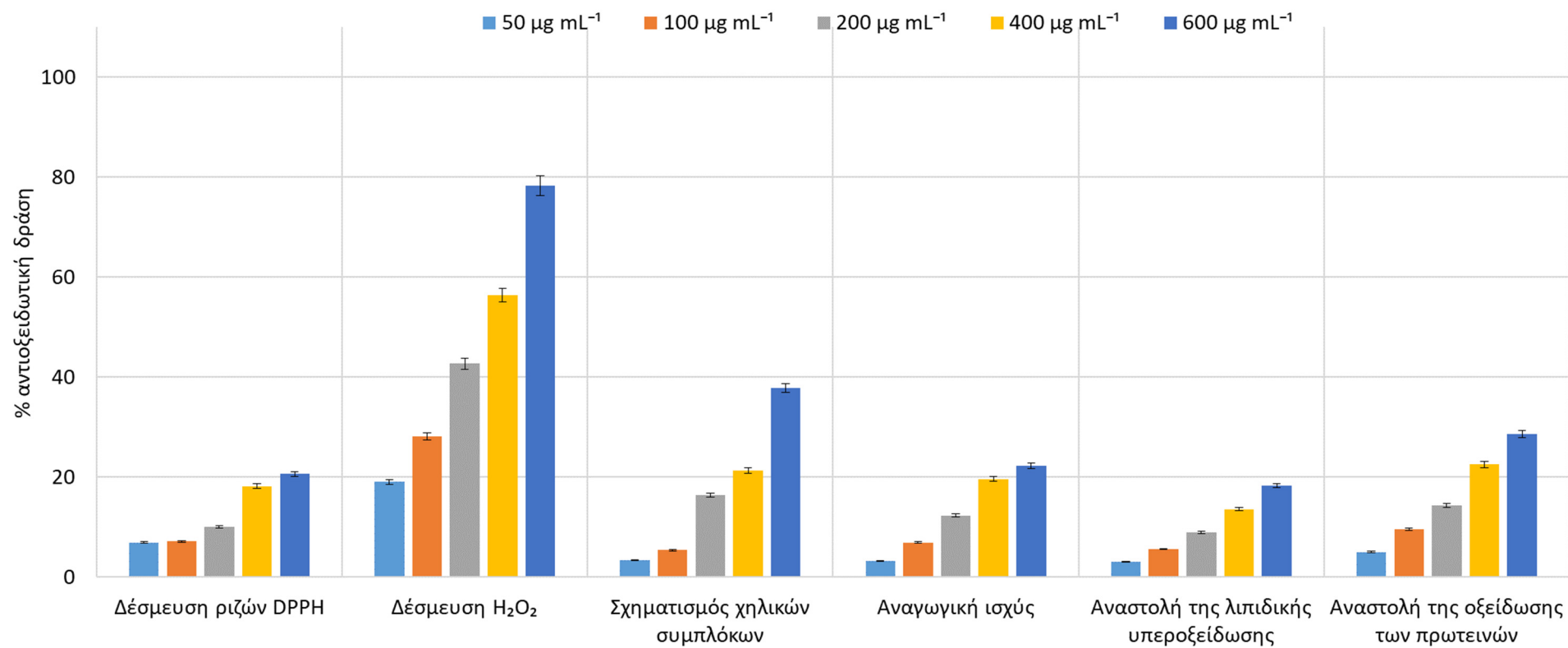
Εικόνα 148: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος μποράνγκου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



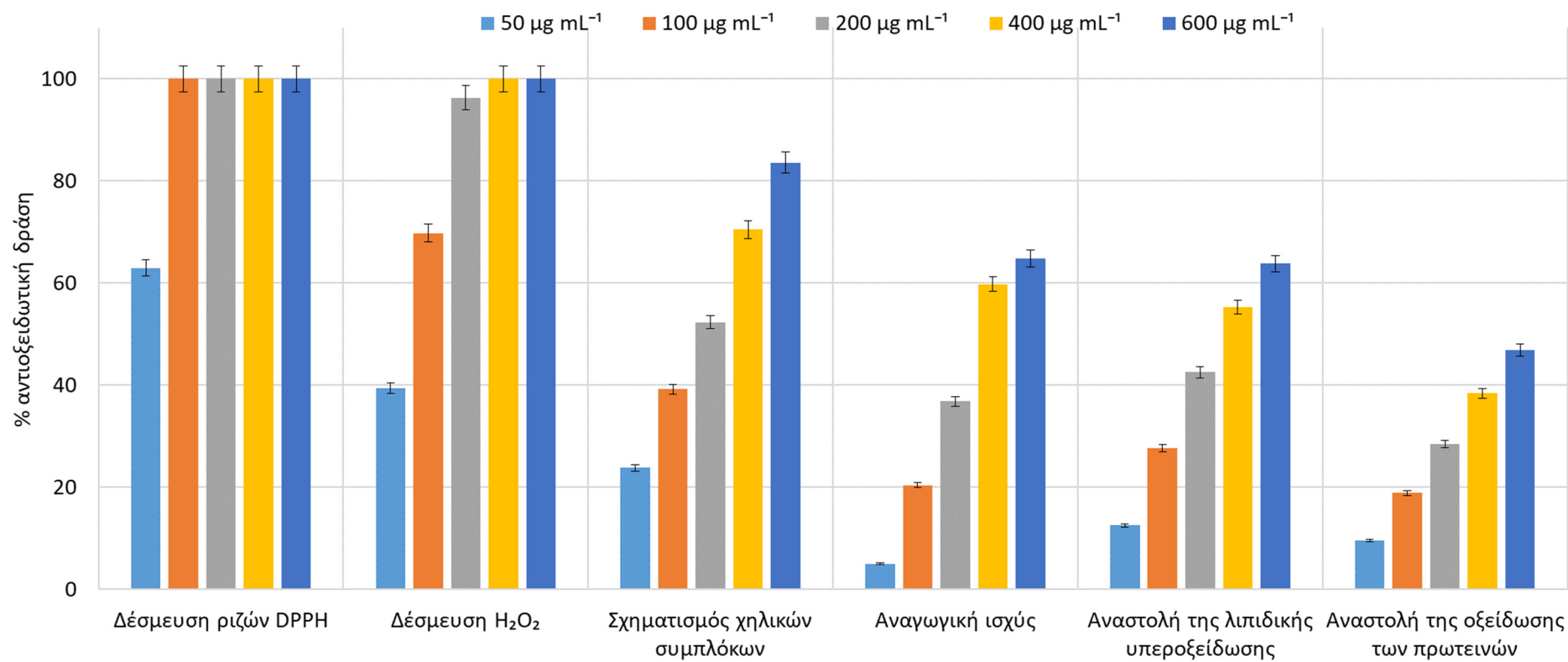
Εικόνα 149: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος παιώνιας, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



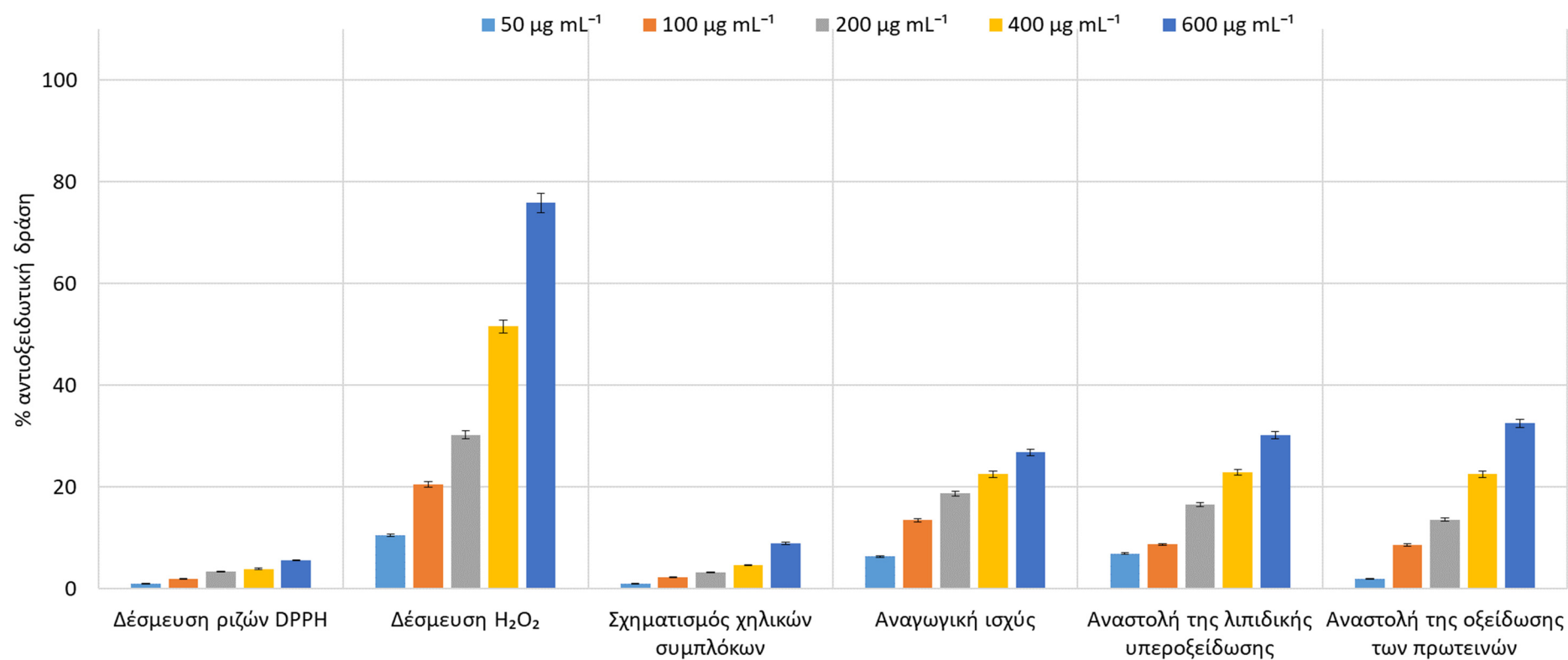
Εικόνα 150: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος παναγιόχορτου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



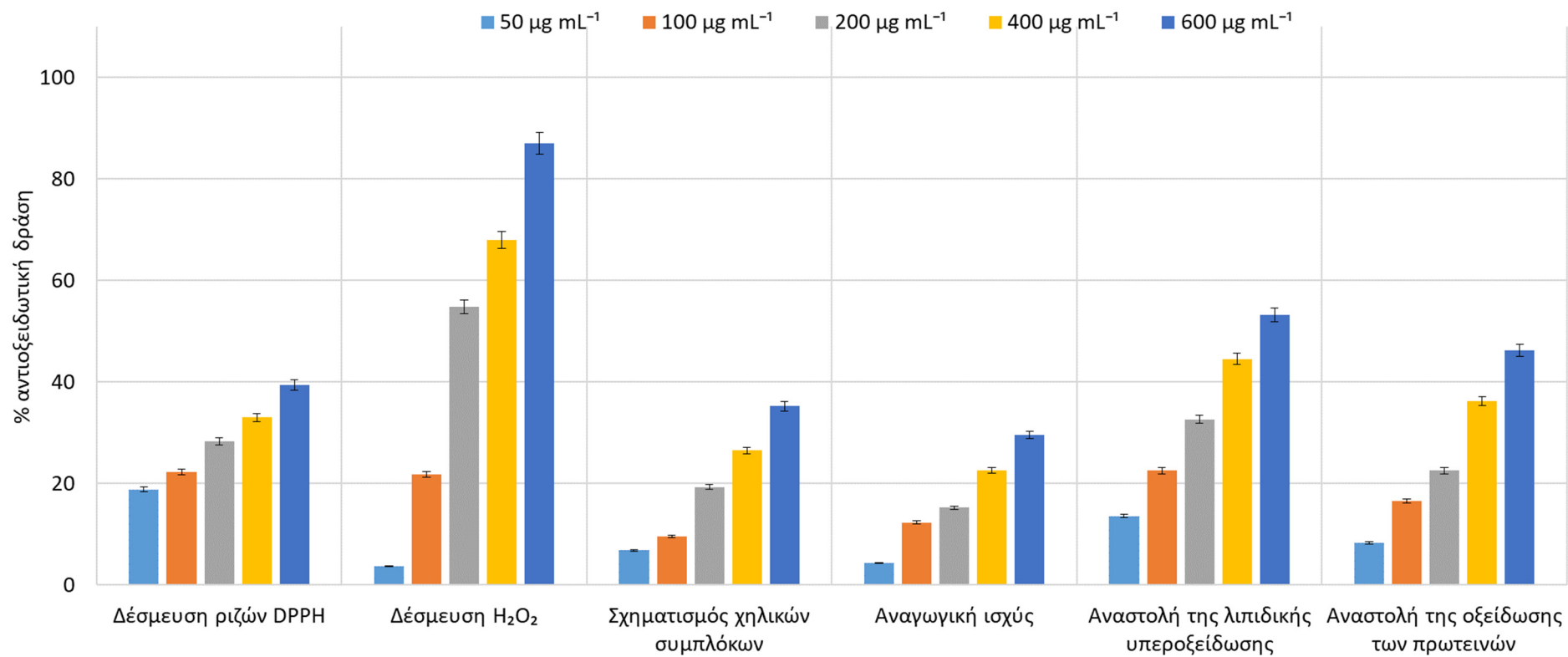
Εικόνα 151: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος περδικάκιου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



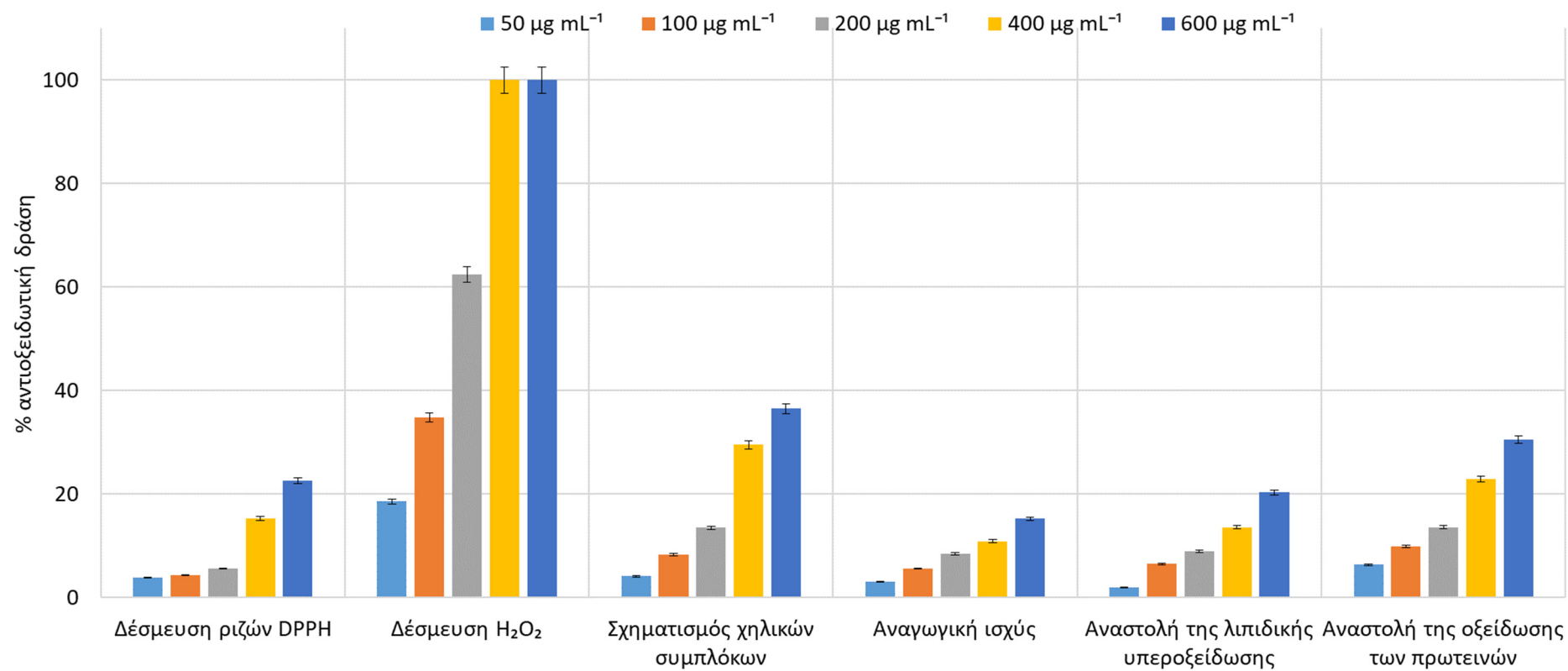
Εικόνα 152: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος σκορπιδίου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



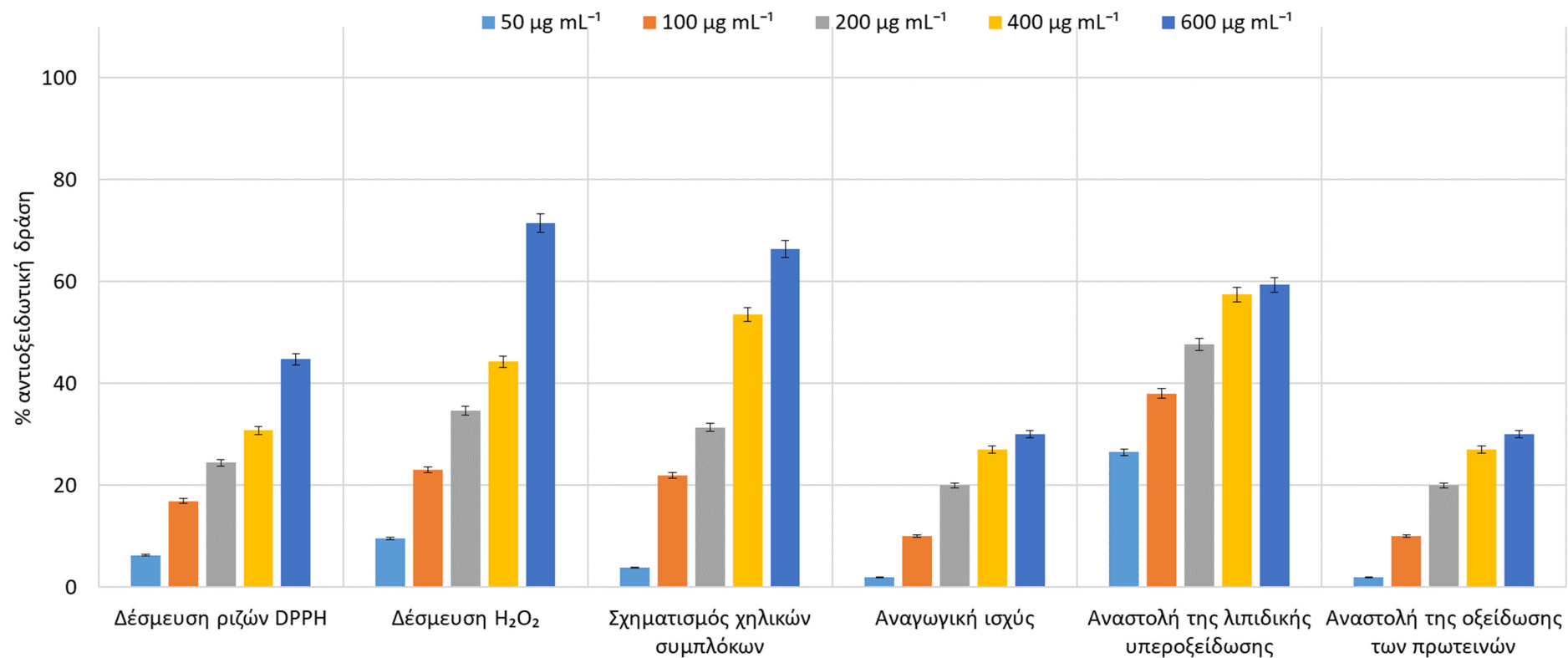
Εικόνα 153: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος στελλάριας, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



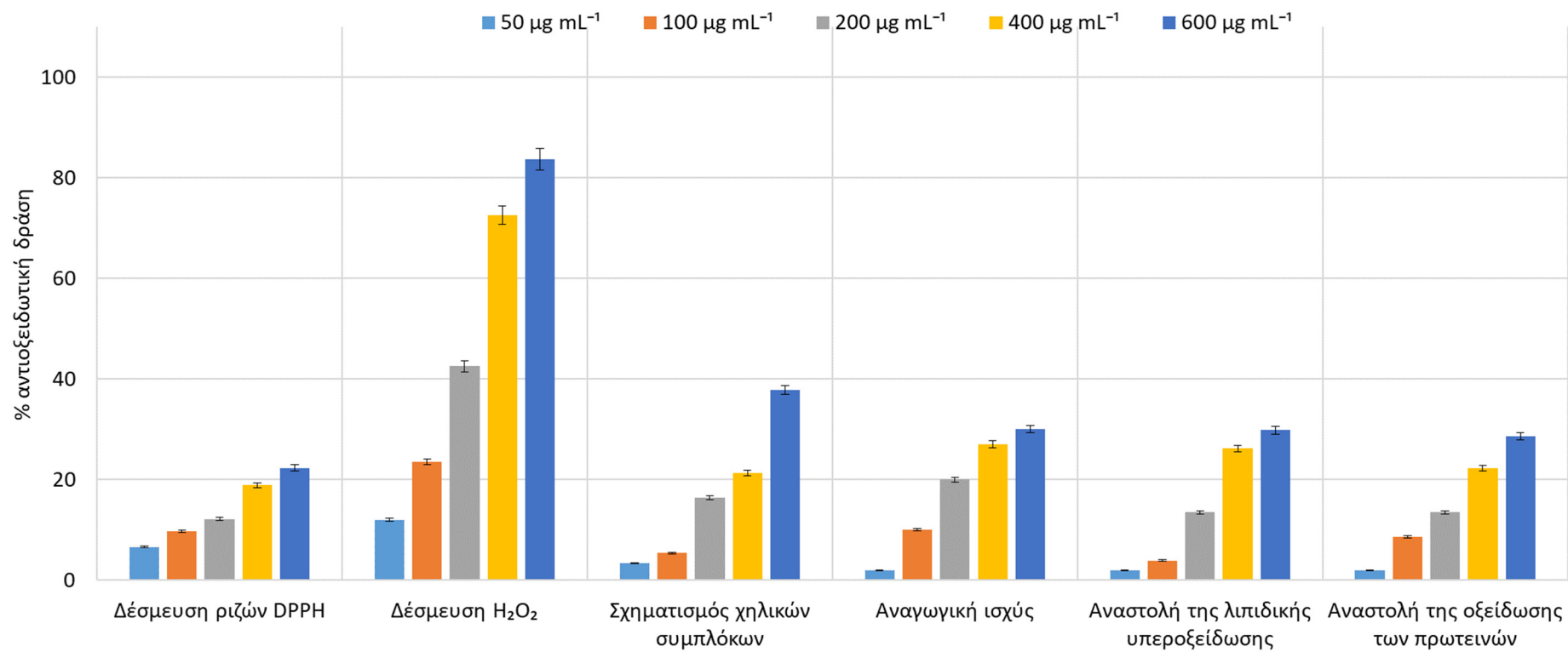
Εικόνα 154: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος τριαντάφυλλου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



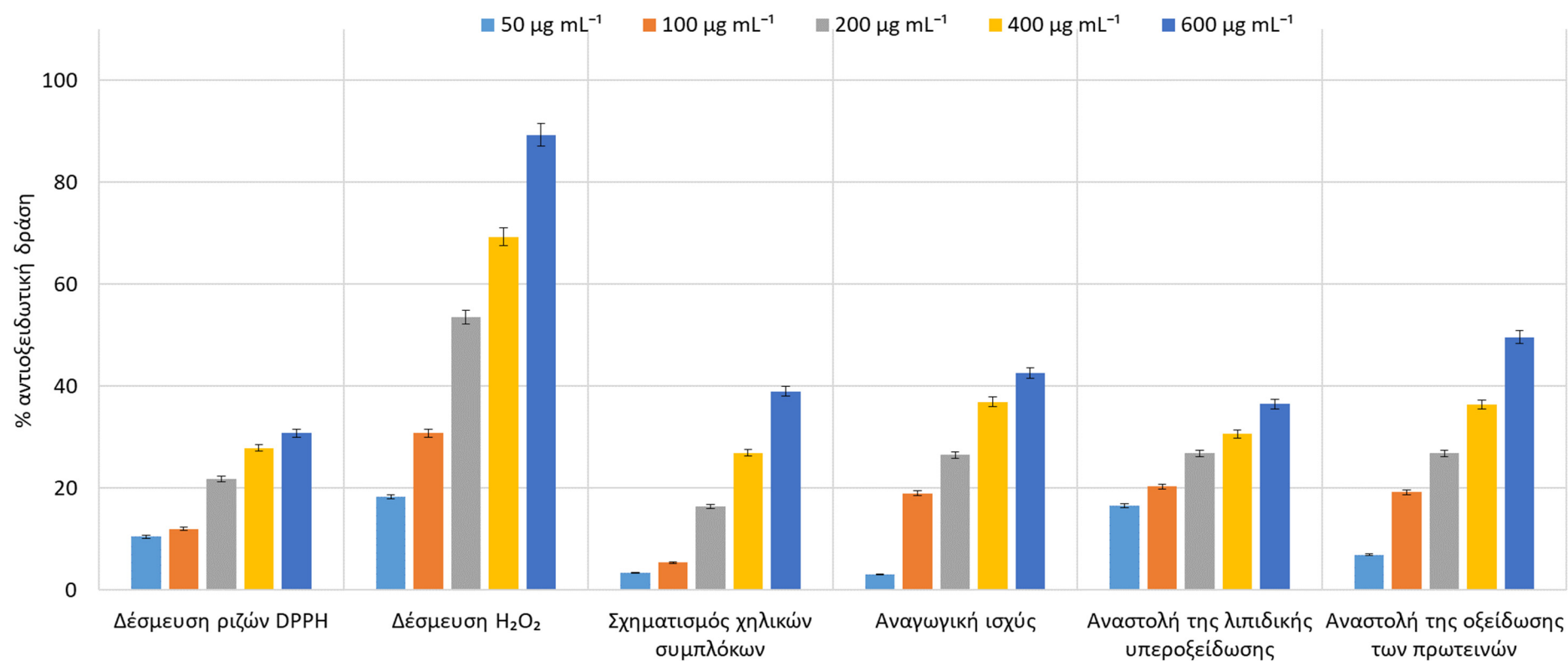
Εικόνα 155: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος τριγωνέλλας, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



Εικόνα 156: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος τσουκνίδας, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



Εικόνα 157: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος φραγκουλιάς, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.



Εικόνα 158: % αντιοξειδωτική δράση διαφόρων συγκεντρώσεων του εκχυλίσματος χελιδόνιου, υπολογισμένη με διαφορετικές μεθόδους.

3.7 *In vivo* μελέτη επούλωσης τραυμάτων παρουσία φυτικών εκχυλισμάτων

Από τη μελέτη της επίδρασης των φυτικών εκχυλισμάτων στον αριθμό των ευκαρυωτικών κυττάρων προέκυψε, ότι ορισμένα εκχυλίσματα έχουν την ικανότητα να αυξάνουν τον ρυθμό πολλαπλασιασμού των κυττάρων, μια ιδιότητα ιδιαίτερα χρήσιμη στην αναγεννητική ιατρική. Τα ευρήματα αυτά αποτέλεσαν το έναυσμα για την περεταίρω μελέτη των φυτικών εκχυλισμάτων, υπό το πρίσμα της επούλωσης των τραυμάτων ως τελικό στόχο. Από τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν έως τώρα, βρέθηκε ότι πέρα από την αύξηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων, τα υπό μελέτη φυτικά εκχυλίσματα είναι ικανά να επιταχύνουν τον ρυθμό μετανάστευσης των κυττάρων, ενώ ταυτόχρονα συνδυάζουν βακτηριοκτόνο, αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση. Ωστόσο, το κάθε εκχύλισμα παρουσίασε διαφορετική δραστικότητα στις προηγούμενες δράσεις. Προκειμένου να αναδειχθούν τα πλέον υποσχόμενα φυτικά εκχυλίσματα, έγινε συνολική αποτίμηση της δραστικότητάς τους στα *in vitro* πειράματα. Ως εκ τούτου, επιλέχθηκαν τα εκχυλίσματα των φυτών τσουκνίδα, κεδροκούκουτσο και λαδανιά για την *in vivo* μελέτη της ικανότητάς τους να επουλώνουν τραύματα. Τα τρία αυτά εκχυλίσματα ξεχώρισαν από τα υπόλοιπα, το κάθε ένα στη μελέτη διαφορετικής βιολογικής δράσης. Το εκχύλισμα της τσουκνίδας προκάλεσε τη μεγαλύτερη αύξηση στον αριθμό των ευκαρυωτικών κυττάρων και αύξησε τον ρυθμό μετανάστευσης των κυττάρων σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με τα υπόλοιπα εκχυλίσματα. Το εκχύλισμα κεδροκούκουτσου είχε την καλύτερη αντιφλεγμονώδη δράση σε σχέση με τα υπόλοιπα εκχυλίσματα και τέλος το εκχύλισμα λαδανιάς είχε την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση. Το γεγονός ότι τα παραπάνω εκχυλίσματα συνδυάζουν όλες τις προαναφερθείσες δράσεις σε διαφορετικά ποσοστά και δεν εμφανίζουν μόνο μια δράση, κάθε άλλο παρά μειονέκτημα είναι, καθώς ο τελικός στόχος είναι η ανάδειξη φυτικών εκχυλισμάτων με επουλωτική δράση για τα τραύματα. Έτσι για τη μελέτη της επούλωσης των τραυμάτων *in vivo* χρησιμοποιήθηκαν και τα τρία φυτικά εκχυλίσματα.

3.7.1 Συμβατότητα εκχυλισμάτων με το αίμα

Όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία [221], πριν από τη διεξαγωγή πειραμάτων σε ζωικά μοντέλα, είναι συνετό να εξετάζεται η συμβατότητα του υπό μελέτη υλικού με το αίμα. Παρά την ευεργετική επίδραση μιας ένωσης ή ενός μίγματος ουσιών που παρατηρείται με *in vitro* πειράματα, αν αυτή/αυτά δεν είναι συμβατή/ά με το αίμα θα προκύψουν κίνδυνοι για την υγεία. Όσον αφορά τα εκχυλίσματα τσουκνίδας, λαδανιάς και κεδροκούκουτσου προέκυψε ότι δεν προκαλούν λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων και δεν επηρεάζουν την πήξη του αίματος, μέχρι και τη συγκέντρωση 1 g L^{-1} , υποδεικνύοντας συμβατότητα των εκχυλισμάτων αυτών με το αίμα.

3.7.2 Επούλωση τραύματος

Για τα *in vivo* πειράματα χρησιμοποιήθηκαν επίμυες καθώς αποτελούν ιδανικά πειραματόζωα για μελέτες επούλωσης τραυμάτων. Σε πειράματα όπου μελετάται η επούλωση τραυμάτων έχει επικρατήσει η χρήση επιμυών, έναντι άλλων τρωκτικών (π.χ. ποντίκια) λόγω του μεγέθους τους, που είναι αρκετά μικρό σε σχέση με άλλα πειραματόζωα αλλά και αρκετά μεγάλο έτσι ώστε να παρέχουν μια ικανοποιητική περιοχή του δέρματός τους για μελέτες τραυμάτων. Επιπλέον, η ύπαρξη εκτεταμένης βάσης πληροφοριών/βιβλιογραφίας σχετικά με την επούλωση τραυμάτων σε επίμυες, αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα για την επιλογή του συγκεκριμένου πειραματόζωου [270]. Τα υπό μελέτη εκχυλίσματα χορηγήθηκαν στα ζώα σε δυο συγκεντρώσεις, 200 και 400 μg εκχυλίσματος ανά δόση αλοιφής ή 2 και 4 mg ανά γραμμάριο αλοιφής. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε προκαταρκτικά πειράματα που διεξήχθησαν, η αλοιφή δεν προκάλεσε ανεπιθύμητες παρενέργειες στους επίμυες (μείωση όρεξης, ερυθρότητα, ερεθισμός κλπ.). Τα τραύματα τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε τα φυτικά εκχυλίσματα, σε όλες τις περιπτώσεις επουλώθηκαν ταχύτερα από το τραύμα ελέγχου (τραύμα το οποίο υποβλήθηκε σε θεραπεία με αλοιφή απουσία των φυτικών εκχυλισμάτων). Οι διαφορές στην επούλωση των τραυμάτων είναι σημαντικές από τη δεύτερη μέρα και μετά. Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή απουσία των φυτικών εκχυλισμάτων και αλοιφή

που περιείχε το εκάστοτε εκχύλισμα στις ημέρες 0, 2, 4, 6, 8 και 10 δίνονται στις εικόνες 159 έως 165. Στις εικόνες 166 έως 171 αποτυπώνονται η επί τοις εκατό μείωση του εμβαδού του εκάστοτε τραύματος (τραύμα ελέγχου ή τραύμα-δείγμα) σε σχέση με το εμβαδό που είχε το τραύμα τη μέρα 0. Είναι σημαντικό να αναφερθεί, ότι η αλοιφή δεν επιτάχυνε την επούλωση των τραυμάτων σε σχέση με τραύματα τα οποία δεν υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή, από προκαταρκτικά πειράματα που διεξήχθησαν. Ωστόσο, τα αποτελέσματα συγκρίνονται με το δείγμα ελέγχου, δηλαδή το τραύμα το οποίο υποβλήθηκε καθημερινά σε θεραπεία με αλοιφή. Τα τραύματα τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε τα φυτικά εκχυλίσματα επουλώθηκαν σε 9 με 10 μέρες μετά τη δημιουργία του τραύματος, ενώ τα τραύματα ελέγχου επουλώθηκαν 14 μέρες μετά τη δημιουργία τους. Σε όλες τις περιπτώσεις, οι διαφορές στα εμβαδά των τραυμάτων μεταξύ τραύματος ελέγχου και δείγματος ήταν στατιστικά σημαντικές για $p < 0,01$.

Από τη δεύτερη μέρα δημιουργίας του τραύματος, το εμβαδό του τραύματος το οποίο υποβλήθηκε σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε 200 μg ανά δόση εκχύλισμα τσουκνίδας είναι κατά $24 \pm 2\%$ μικρότερο σε σχέση με το τραύμα ελέγχου. Η μεγαλύτερη διαφορά μεταξύ των δυο τραυμάτων για τη συγκέντρωση αυτή εντοπίζεται την 6^η μέρα, όπου το εμβαδό του τραύματος το οποίο υποβλήθηκε σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα τσουκνίδας είναι μικρότερο κατά $40 \pm 2\%$ σε σχέση με το τραύμα ελέγχου. Όταν τα ζώα υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε μεγαλύτερη ποσότητα εκχυλίσματος τσουκνίδας (400 μg ανά δόση) τότε παρατηρήθηκε μικρότερη ταχύτητα επούλωσης του τραύματος σε σχέση με τη μικρότερη συγκέντρωση, ωστόσο και πάλι πιο αυξημένη σε σχέση με το τραύμα ελέγχου. Στη 2^η μέρα η διαφορά μεταξύ τραύματος ελέγχου και δείγματος μειώθηκε από $24 \pm 2\%$ στο $12 \pm 1\%$ για τη μεγάλη συγκέντρωση. Ομοίως στην 6^η μέρα από $40 \pm 2\%$ το ποσοστό μειώθηκε στο $28 \pm 3\%$. Αυτή η μείωση στην επούλωση των τραυμάτων με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση συνάδει με τα αποτελέσματα από τα *in vitro* πειράματα, στα οποία παρατηρήθηκε μικρότερη αύξηση του αριθμού των κυττάρων και του ρυθμού μετανάστευσής τους στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις εκχυλίσματος τσουκνίδας. Πέραν αυτών, με μακροσκοπική εξέταση στο

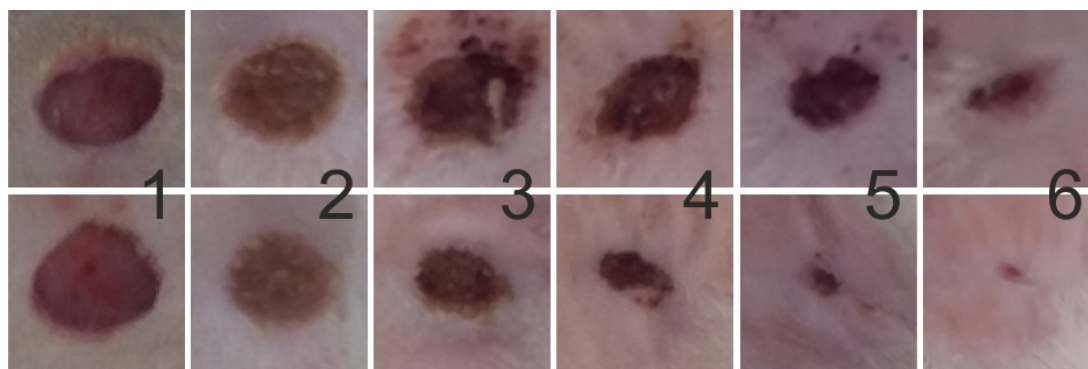
τραύμα ελέγχου, ήταν εμφανής η ύπαρξη φλεγμονής για αρκετές ημέρες στα δείγματα ελέγχου, ενώ δεν παρατηρήθηκε φλεγμονή στα τραύματα τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με το εκχύλισμα τσουκνίδας από τη 2^η μέρα. Αυτό συνάδει με την αντιφλεγμονώδη δράση που βρέθηκε να έχει το εκχύλισμα.

Παρόμοια συμπεριφορά με αυτή του εκχυλίσματος τσουκνίδας παρατηρήθηκε και για τα άλλα δυο εκχυλίσματα. Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις προκαλούν ταχύτερη επούλωση τραυμάτων σε σχέση με τα τραύμα ελέγχου αλλά βραδύτερη σε σχέση με τις μικρότερες συγκεντρώσεις. Και τα δύο εκχυλίσματα επουλώνουν ταχύτερα τα τραύματα, αλλά λιγότερο αποτελεσματικά από το εκχύλισμα της τσουκνίδας. Τραύματα τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με το εκχύλισμα λαδανιάς εμφανίζουν ταχύτερη επούλωση κατά $20 \pm 2\%$ με $27 \pm 2\%$ μεταξύ 2^{ης} και 4^{ης} μέρας, ενώ αυτά τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με εκχύλισμα κεδροκούκουτσου εμφανίζουν ταχύτερη επούλωση κατά $15 \pm 2\%$ με $27 \pm 2\%$ μεταξύ 2^{ης} και 4^{ης} μέρας. Με μακροσκοπική εξέταση των τραυμάτων, και στις δυο περιπτώσεις παρατηρείται έλλειψη φλεγμονής. Δεδομένου ότι η επιλογή των εκχυλισμάτων αυτών βασίστηκε στις αντιφλεγμονώδης και αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες είναι αναμενόμενο η δράση τους να εντοπίζεται κυρίως τις πρώτες μέρες μετά τη δημιουργία των τραυμάτων όπου η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών είναι μεγαλύτερη, άρα και το οξειδωτικό στρες καθώς και η φλεγμονή. Αντιθέτως, η μεγαλύτερη δράση για το εκχύλισμα της τσουκνίδας παρατηρήθηκε κατά την 6^η μέρα, όπου η διαδικασία της επούλωσης του τραύματος έχει προχωρήσει στα επόμενα στάδια και είναι πλέον εξαρτώμενη από την ταχύτητα πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης των κυττάρων.

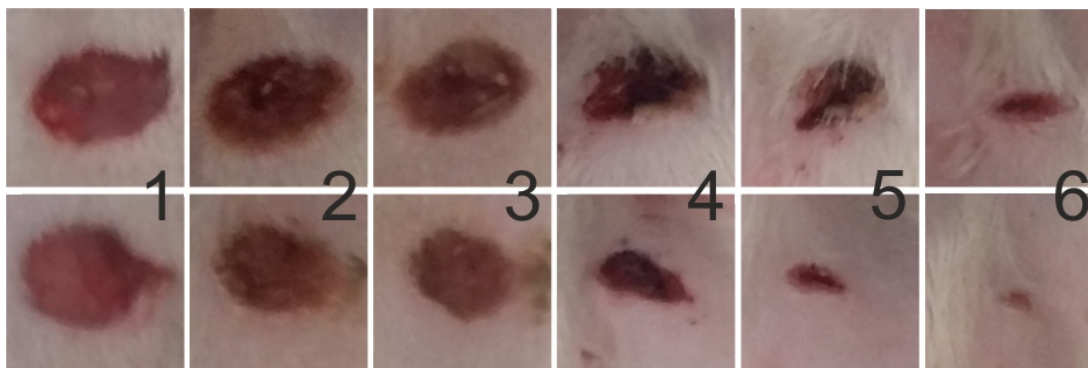
Από τα αποτελέσματα αυτά, προκύπτει πως η ταχύτερη αύξηση του αριθμού των κυττάρων και η ταχύτερη μετανάστευσή τους είναι παράγοντες πιο καθοριστικοί και προτιμητέοι για την ταχύτερη επούλωση των τραυμάτων. Από τα εκχυλίσματα που δοκιμάστηκαν, το εκχύλισμα της τσουκνίδας είναι το πλέον αποτελεσματικό, καθώς παρουσιάζει και τις αντίστοιχες δράσεις σε μεγαλύτερο βαθμό από τα υπόλοιπα εκχυλίσματα. Επιπλέον, η δράση του εκχυλίσματος ενισχύεται από την αντιοξειδωτική

και αντιφλεγμονώδη δράση του, καθώς παρατηρείται όμοια δράση στις πρώτες μέρες του τραύματος, με αυτή των εκχυλισμάτων που ξεχωρίζουν για την αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική τους δράση. Συνεπώς το εκχύλισμα της τσουκνίδας θεωρείται το πλέον ενδεδειγμένο από τα δοκιμαζόμενα για εφαρμογές επούλωσης τραυμάτων.

Τα παραπάνω αποτελέσματα συγκρίθηκαν με αυτά που προέκυψαν όταν μια ομάδα επιμυών υποβλήθηκε σε θεραπεία με ένα εμπορικά διαθέσιμο σκεύασμα που χρησιμοποιείτε για επούλωση πληγών (Madecassol), το οποίο περιέχει εκχύλισμα του φυτού *Centella asiatica* και χρησίμευσε ως θετικός μάρτυρας. Σε σύγκριση με τον θετικό μάρτυρα (αλοιφή Madecassol), τα καλύτερα αποτελέσματα καταγράφηκαν επίσης στην περίπτωση της τσουκνίδας. Στις ημέρες 2 και 4, η περιοχή του τραύματος που υποβλήθηκε σε θεραπεία με Madecassol μειώθηκε κατά $6 \pm 1\%$ και $14 \pm 2\%$ αντίστοιχα, ενώ η περιοχή του τραύματος που υποβλήθηκε σε θεραπεία με 2 mg g^{-1} του εκχυλίσματος τσουκνίδας μειώθηκε κατά $23 \pm 2 \%$ και $50 \pm 3\%$, αντίστοιχα (Εικόνα 165). Ομοίως την ημέρα 6, η περιοχή του τραύματος υποβλήθηκε σε θεραπεία με Madecassol μειώθηκε κατά $45 \pm 2\%$ και η περιοχή του τραύματος που υποβλήθηκε σε θεραπεία με το εκχύλισμα τσουκνίδας μειώθηκε κατά $80 \pm 2,5\%$. Τα αποτελέσματα σχετικά την επουλωτική δράση της αλοιφής Madecassol είναι σύμφωνα με προηγούμενες αναφορές [271,272]. Τελικά, το τραύμα που αποτελούσε τον θετικό μάρτυρα επουλώθηκε την 12η ημέρα, ενώ το τραύμα το οποίο υποβλήθηκε σε θεραπεία με το εκχύλισμα τσουκνίδας επουλώθηκε μεταξύ την 9^η ημέρα.

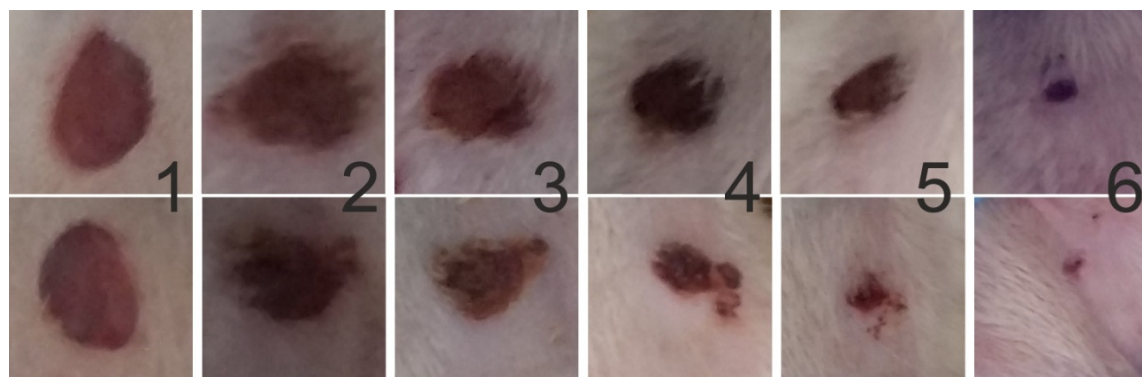


Εικόνα 159: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων τις ημέρες 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκεντρώσεις 2 mg g^{-1} .

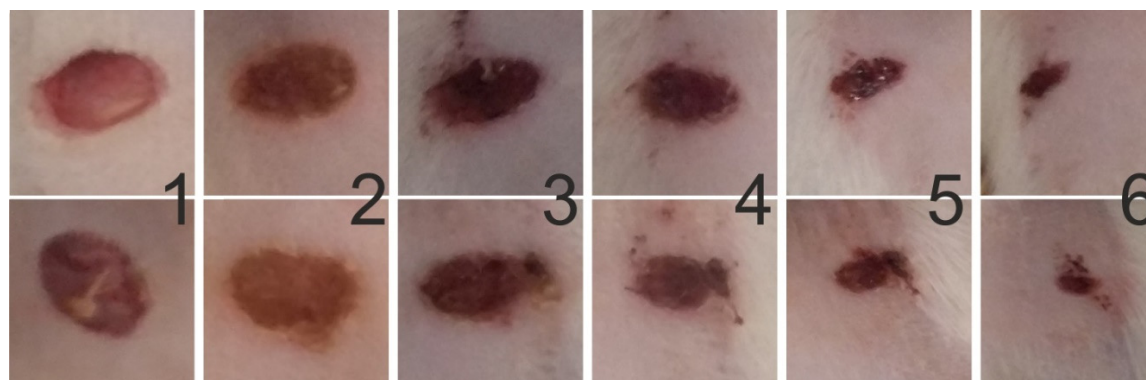


Εικόνα 160: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων την ημέρα 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκεντρώσεις 4 mg g^{-1} .

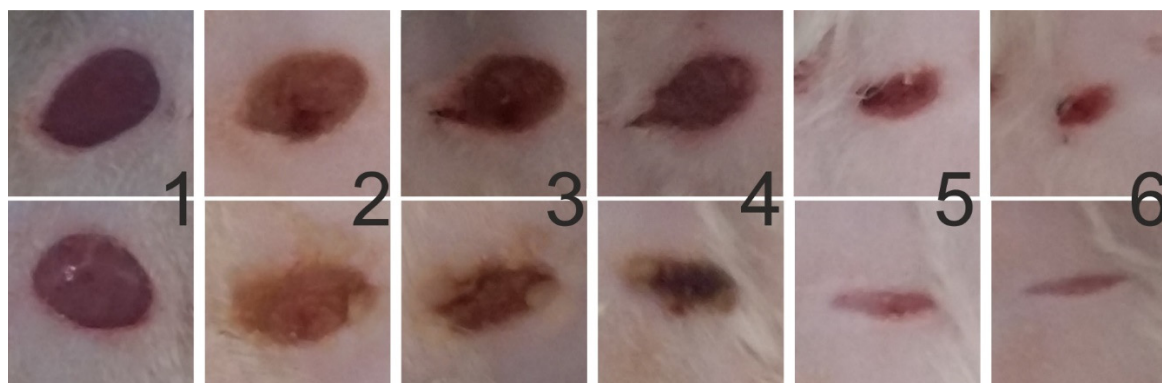
Σε όλες τις περιπτώσεις η επάνω σειρά αντιπροσωπεύει το τραύμα ελέγχου και η κάτω σειρά το τραύμα δοκιμής.



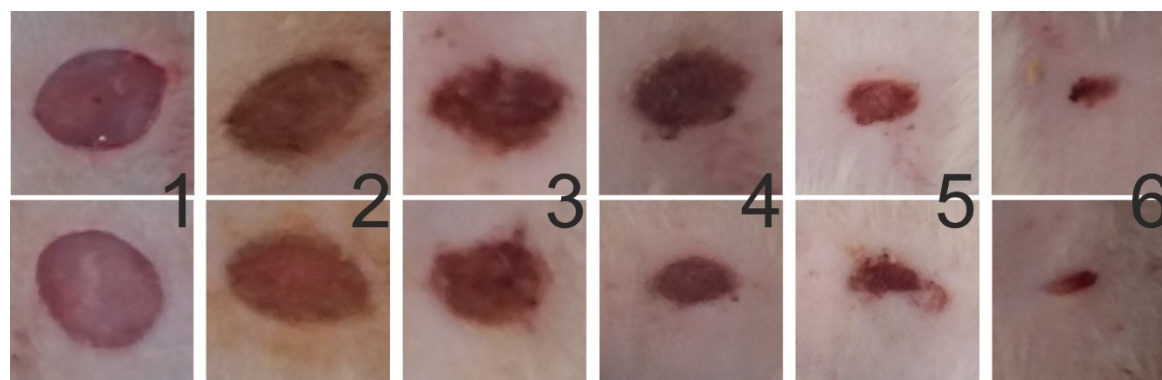
Εικόνα 161: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων τις ημέρες 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα λαδανιάς σε συγκεντρώσεις 2 mg g^{-1} .



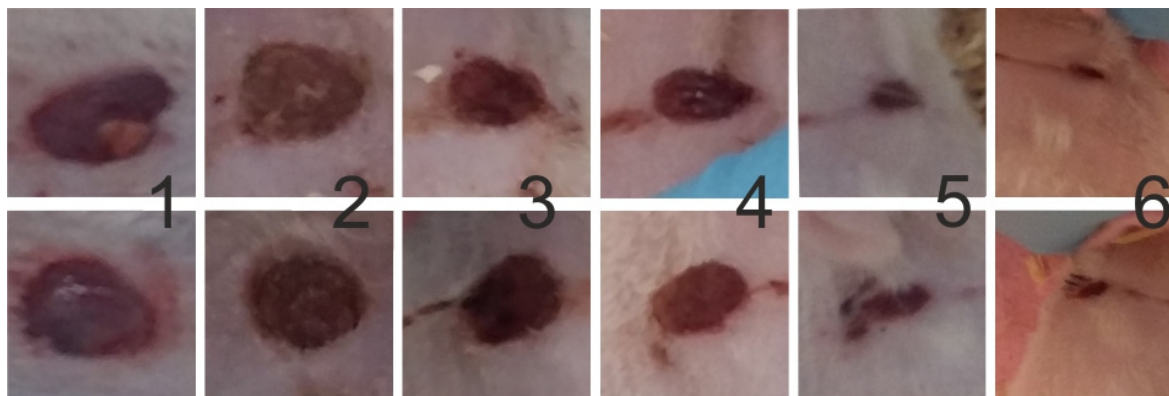
Εικόνα 162: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων την ημέρα 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα λαδανιάς σε συγκεντρώσεις 4 mg g^{-1} .



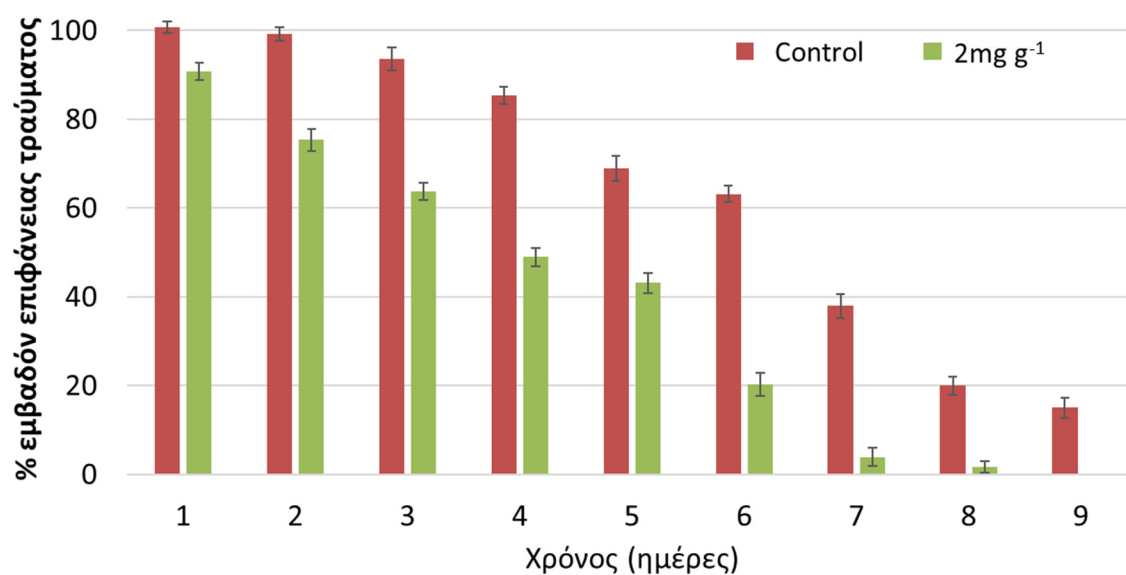
Εικόνα 163: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων τις ημέρες 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα κεδροκούκουτσου σε συγκεντρώσεις 2 mg g^{-1} .



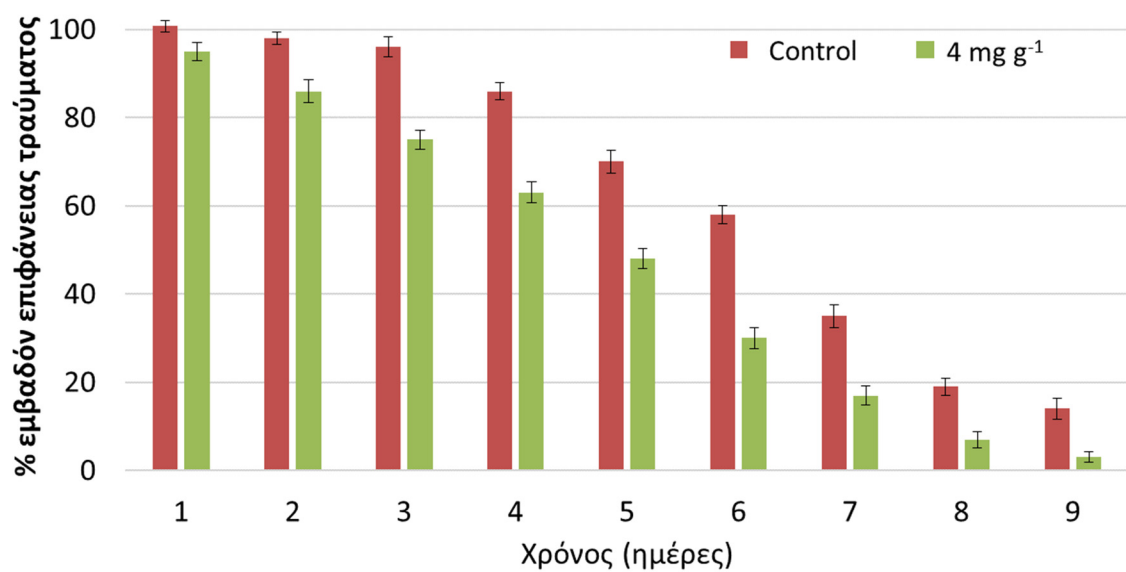
Εικόνα 164: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων την ημέρα 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα κεδροκούκουτσου σε συγκεντρώσεις 4 mg g^{-1} .



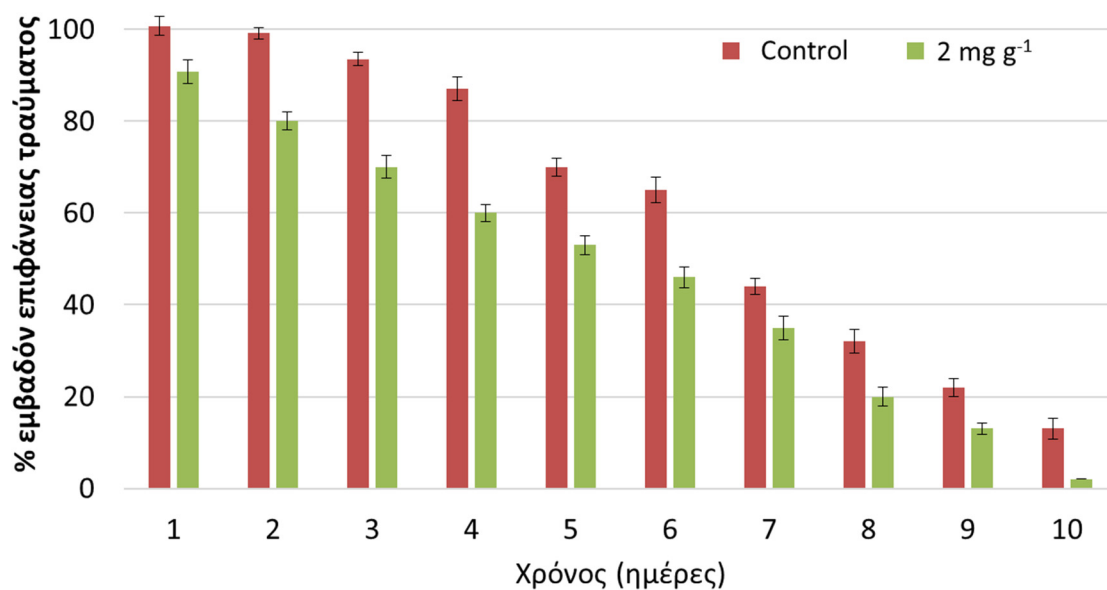
Εικόνα 165: Αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες τραυμάτων την ημέρα 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) και 10 (6) από επιμύες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με η αλοφή Madecassol που αποτελεί τον θετικό μάρτυρα.



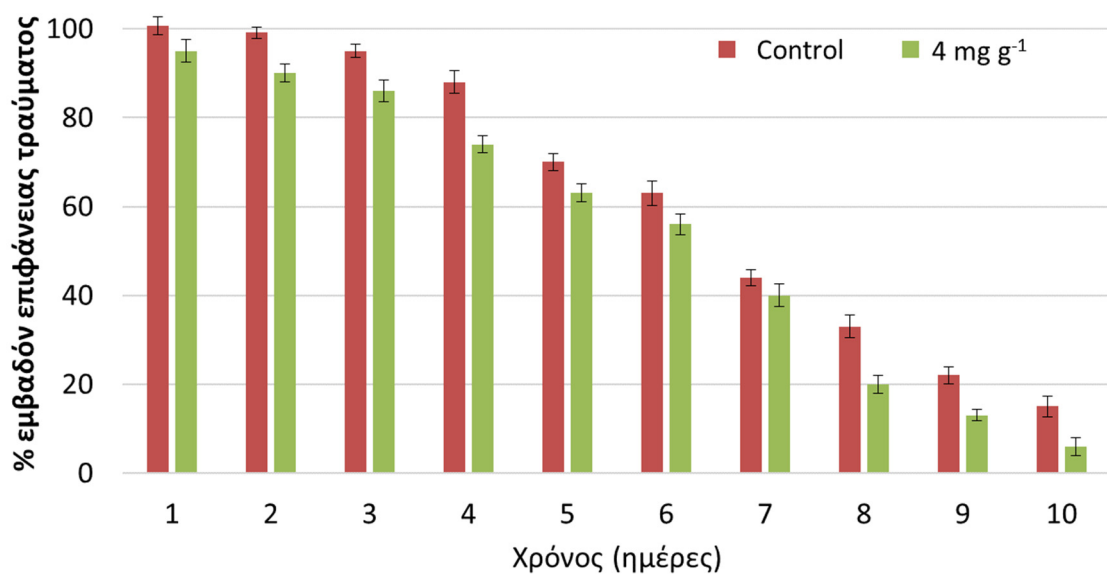
Εικόνα 166: % μείωση του εμφαδού των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 2 mg g⁻¹, σε σχέση με το εμφαδό που είχαν τη μέρα 0, μέχρι και 9 μέρες μετά την δημιουργία του τραύματος.



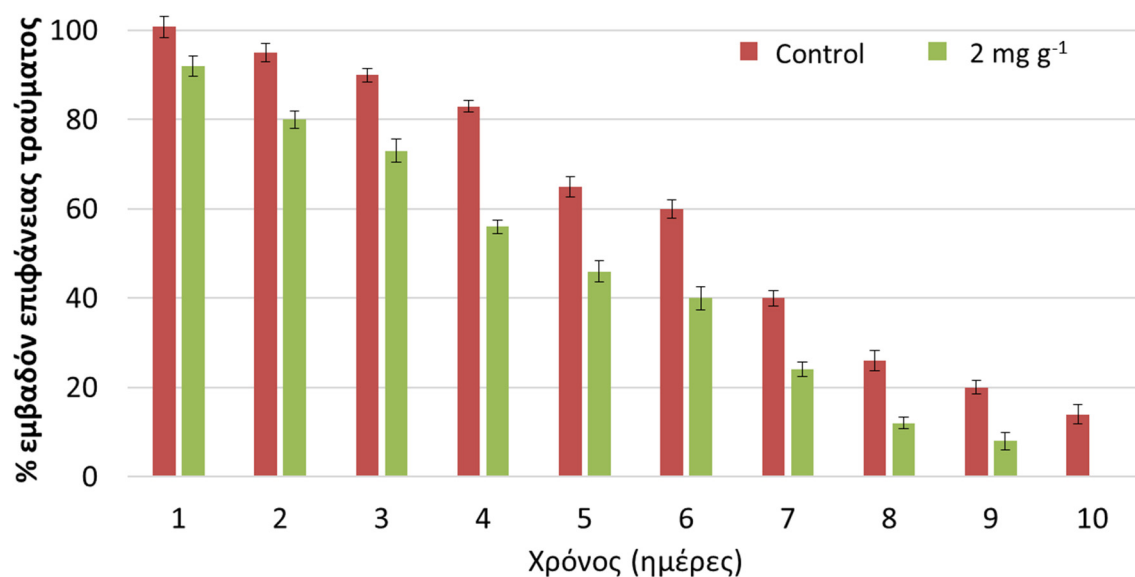
Εικόνα 167: % μείωση του εμφαδού των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 4 mg g⁻¹, σε σχέση με το εμφαδό που είχαν τη μέρα 0, μέχρι και 9 μέρες μετά την δημιουργία του τραύματος.



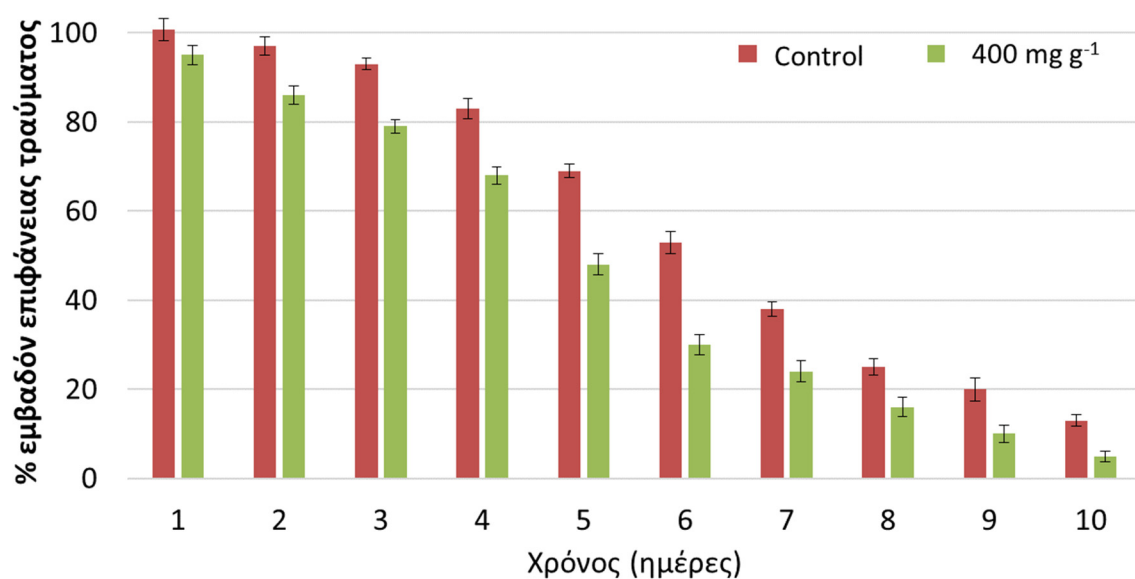
Εικόνα 168: % μείωση του εμφαδού των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα λαδανιάς σε συγκέντρωση 2 mg g⁻¹, σε σχέση με το εμφαδό που είχαν τη μέρα 0, μέχρι και 9 μέρες μετά την δημιουργία του τραύματος.



Εικόνα 169: % μείωση του εμφαδού των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα λαδανιάς σε συγκέντρωση 4 mg g⁻¹, σε σχέση με το εμφαδό που είχαν τη μέρα 0, μέχρι και 9 μέρες μετά την δημιουργία του τραύματος.



Εικόνα 170: % μείωση του εμφαδού των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα κεδροκούκουτσου σε συγκέντρωση 2 mg g⁻¹, σε σχέση με το εμφαδό που είχαν τη μέρα 0, μέχρι και 9 μέρες μετά την δημιουργία του τραύματος.



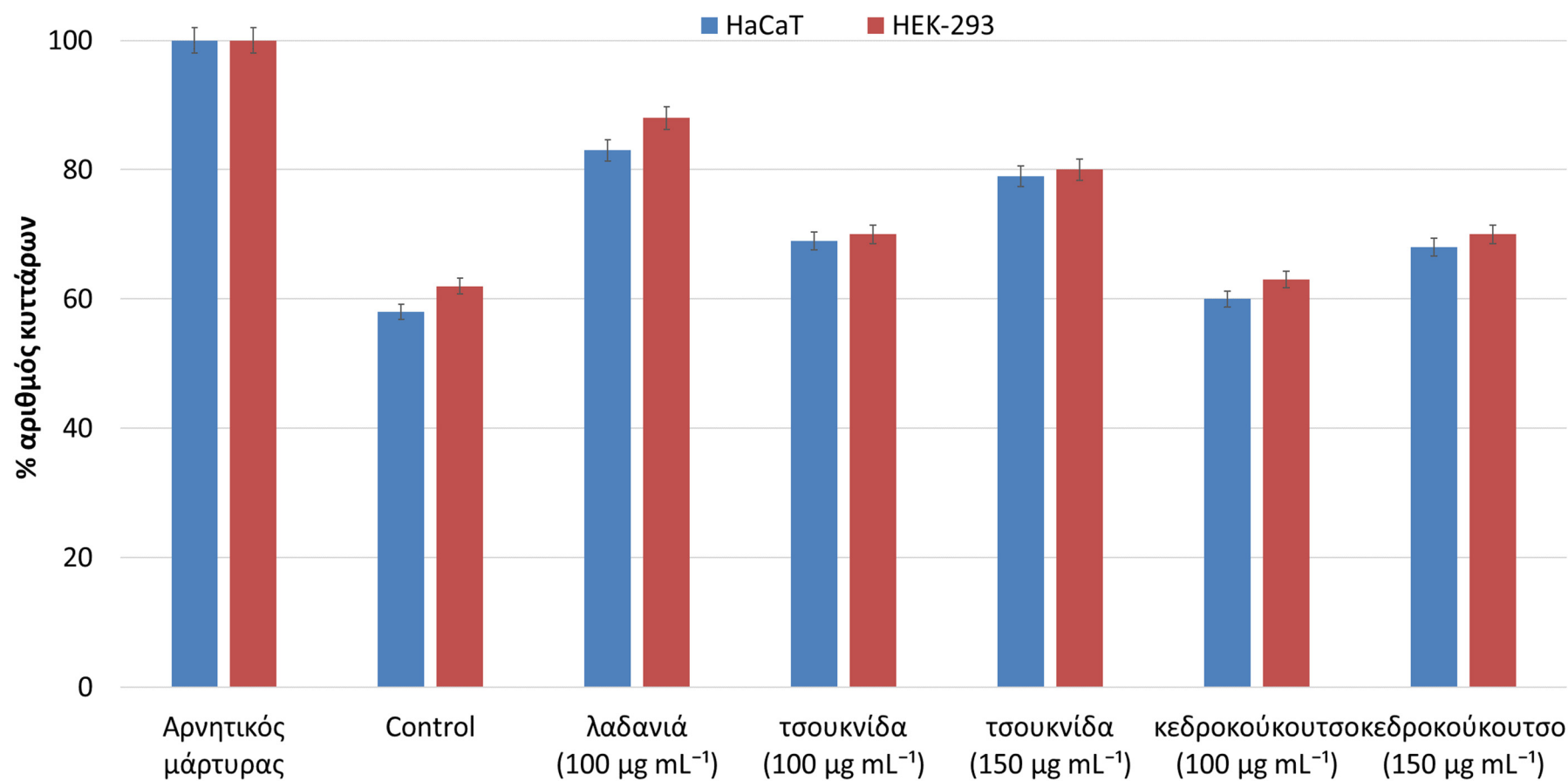
Εικόνα 171: % μείωση του εμφαδού των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα κεδροκούκουτσου σε συγκέντρωση 4 mg g⁻¹, σε σχέση με το εμφαδό που είχαν τη μέρα 0, μέχρι και 9 μέρες μετά την δημιουργία του τραύματος.

3.7.3 Προστασία κυττάρων από ROS

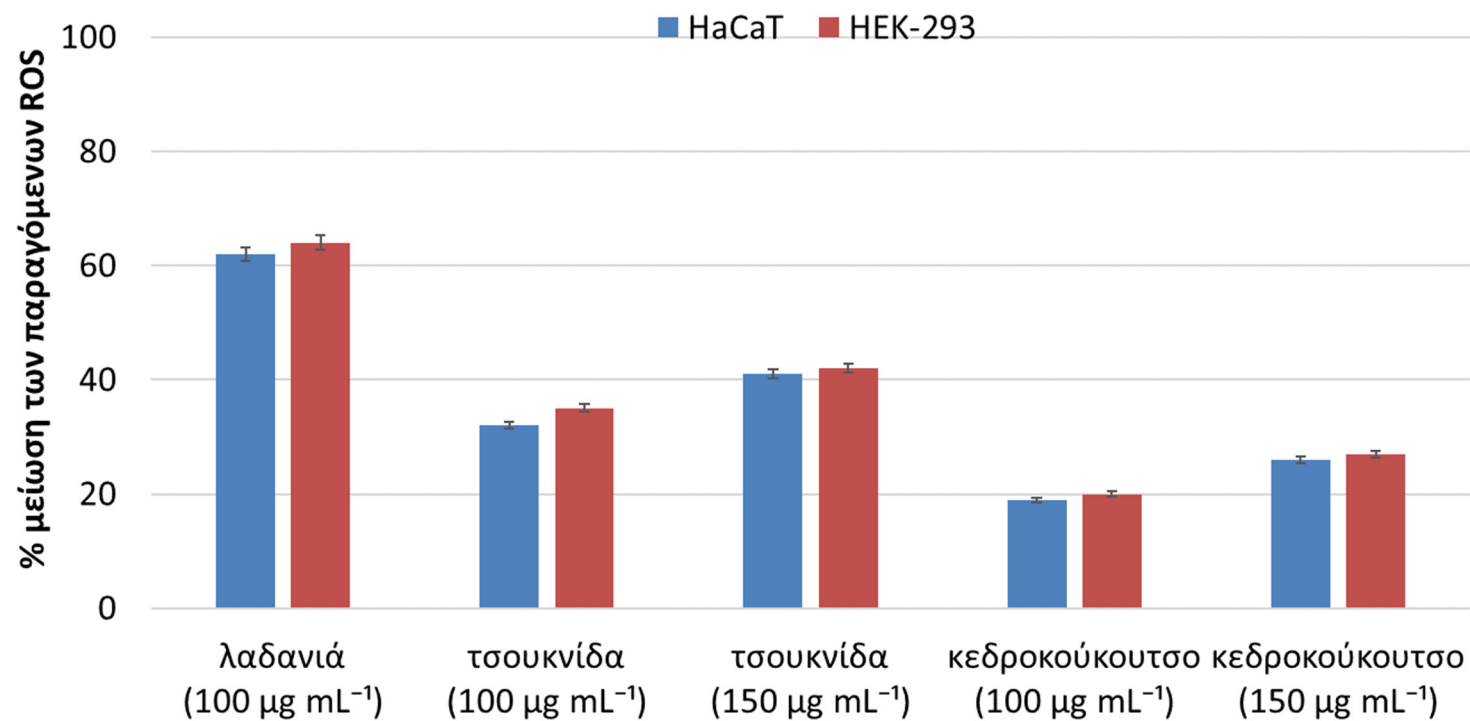
Τα ROS διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην ενορχήστρωση της επούλωσης των πληγών. Δρουν ως δευτερεύοντες αγγελιοφόροι σε πολλά ανοσοκύτταρα και μη λεμφοειδή κύτταρα, τα οποία εμπλέκονται στη διαδικασία επιδιόρθωσης και φαίνεται να συντονίζουν την συγκέντρωση των λεμφοειδών κυττάρων στην περιοχή του τραύματος με σκοπό την αποτελεσματική επισκευή του ιστού. Τα ROS διαθέτουν επίσης τη δυνατότητα ρύθμισης του σχηματισμού αγγείων (αγγειογένεση) και της βέλτιστης διάχυσης του αίματος στην περιοχή του τραύματος. Τα ROS παράγονται από μακροφάγα και ουδετερόφιλα, υπερασπίζοντας την περιοχή του τραύματος από παθογόνα μικρόβια κατά τη διάρκεια της φλεγμονής. Τα παραγόμενα ROS προσβάλλουν άμεσα τους μικροοργανισμούς. Ωστόσο, προκαλούνται υπερβολικές βλάβες στους περιβάλλοντες ιστούς, όταν η συγκέντρωση των ROS ξεπεράσει κάποιες τιμές και η ισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών ενώσεων διαταραχθεί [273].

Από τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν έως τώρα, φαίνεται ότι αρκετά εκχυλίσματα εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση. Ωστόσο, για να επιβεβαιωθεί το κατά πόσο αυτή η δράση παρουσιάζεται και σε ενδοκυτταρικό επίπεδο, η αντιοξειδωτική δράση θα πρέπει να αξιολογηθεί διεξάγοντας πειράματα σε κύτταρα. Η μελέτη αυτή είναι απαραίτητη, διότι αφενός δεν γνωρίζουμε ποιες αντιοξειδωτικές ενώσεις και σε ποιο ποσοστό μπορούν να εισέλθουν στον ενδοκυτταρικό χώρο και να προστατεύσουν τα κύτταρα και αφετέρου, επειδή οι ελεύθερες ρίζες είναι βραχύβια σωματίδια, ο χρόνος στον οποίο δεσμεύονται οι ελεύθερες ρίζες εντός ενός κυττάρου διαφέρει σε σχέση με τα *in vitro* πειράματα στα οποία δεν περιλαμβάνονται κύτταρα. Όπως φαίνεται και από προηγούμενες μελέτες, διαφορετικές ενώσεις εμφανίζουν διαφορετική αντιοξειδωτική δράση ανάλογα με τον χρόνο στον οποίο αυτή μελετάται [274]. Για παράδειγμα οι λιγνάνες της βενζοξανθίνης βρέθηκαν πιο αποτελεσματικές έναντι των νεολιγνανών του δεϋδροβενζοφουρανίου, λαμβάνοντας ως μέτρο σύγκρισης τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα, ενώ λαμβάνοντας υπόψη τον χρόνο στον οποίο αυτή επιτυγχάνεται η δραστικότητα αντιστρέφεται. Για τον σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα.

Αρχικά μελετήθηκε η προστασία των κυττάρων HEK-293 και HaCaT παρουσία των εκχυλισμάτων τσουκνίδας, λαδανιάς και κεδροκούκουτσου από το οξειδωτικό στρες που προκαλεί το υπεροξείδιο του υδρογόνου. Τα κύτταρα υποβλήθηκαν σε οξειδωτικό στρες για 5 ώρες παρουσία των εκχυλισμάτων, και μετρήθηκε η βιωσιμότητά τους 24 ώρες μετά. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε σχέση με τον αρνητικό μάρτυρα (κύτταρα τα οποία δεν υποβλήθηκαν σε οξειδωτικό στρες), ενώ ως δείγμα ελέγχου επιλέχθηκαν κύτταρα τα οποία υποβλήθηκαν σε οξειδωτικό στρες απουσία εκχυλισμάτων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η παρουσία των εκχυλισμάτων προστατεύει τα κύτταρα από το οξειδωτικό στρες αφού στα δείγματα ελέγχου η βιωσιμότητα των κυττάρων HEK-293 και HaCaT υπολογίστηκε 58 ± 2 και $62 \pm 2\%$ αντίστοιχα μετά από 24 ώρες, ενώ παρουσία των εκχυλισμάτων η βιωσιμότητα βρέθηκε ίση με $83 \pm 2\%$ και $88 \pm 2\%$ (παρουσία $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ λαδανιάς), $79 \pm 2\%$ και $80 \pm 2\%$ (παρουσία $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ τσουκνίδας) και $68 \pm 2\%$ και $70 \pm 2\%$ (παρουσία $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ κεδροκούκουτσου) για τα κύτταρα HEK-293 και HaCaT αντίστοιχα. Έπειτα, μελετήθηκε η παραγωγή των ROS μέσα στα κύτταρα ακολουθώντας την παραπάνω +διαδικασία, με τη διαφορά ότι στα κύτταρα μετρήθηκε η συγκέντρωση των ROS στον ενδοκυττάριο χώρο, αμέσως μετά την υποβολή τους σε οξειδωτικό στρες. Από τα αποτελέσματα προέκυψε, πως η παρουσία $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ εκχυλίσματος λαδανιάς μείωσε την παραγωγή των ROS κατά $62 \pm 2\%$ και $64 \pm 2\%$ για τα κύτταρα HEK-293 και HaCaT αντίστοιχα, σε σχέση με τα δείγματα ελέγχου. Το εκχύλισμα της τσουκνίδας σε συγκέντρωση $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ επέφερε μείωση $41 \pm 1\%$ και $42 \pm 2\%$, ενώ το εκχύλισμα κεδροκούκουτσου επέφερε μείωση $26 \pm 1\%$ και $27 \pm 1\%$ για τα κύτταρα HEK-293 και HaCaT αντίστοιχα, σε σχέση με τα δείγματα ελέγχου.



Εικόνα 172: % αριθμός των κυττάρων HaCaT και HEK-293 24 ώρες μετά το οξειδωτικό στρες με H₂O₂. Τα κύτταρα πριν το οξειδωτικό στρες επώαστηκαν με 100 και 150 µg mL⁻¹ τσουκνίδας και κεδροκούκουτσου καθώς και με 100 µg mL⁻¹ λαδανιάς.



Εικόνα 173: % μείωση των παραγόμενων ROS των κυττάρων HaCaT και HEK-293 μετά το οξειδωτικό στρες με H_2O_2 . Τα κύτταρα πριν το οξειδωτικό στρες επώαστηκαν με 100 και 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ τσουκνίδας και κεδροκούκουτσου καθώς και με 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ λαδανιάς.

3.7.4 Ιστοπαθολογική μελέτη δερματικών ιστών στη περιοχή των τραυμάτων

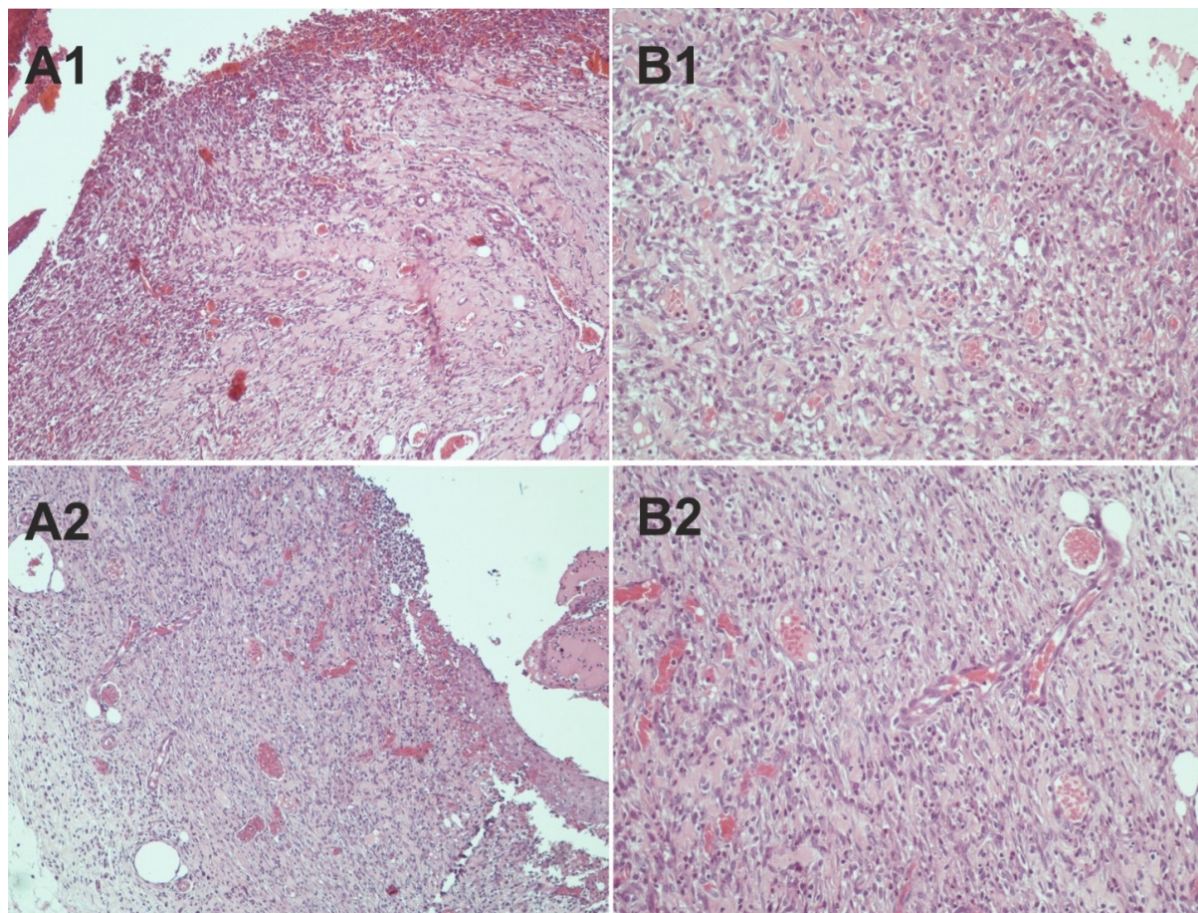
Δεδομένου ότι το εκχύλισμα της τσουκνίδας ήταν αυτό το οποίο προκάλεσε την ταχύτερη επούλωση των τραυμάτων στους επίμυες, έγινε ιστοπαθολογική μελέτη του δερματικού ιστού των τραυμάτων των επιμυών, τα οποία υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή η οποία περιείχε εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 2 mg g^{-1} . Μελετήθηκαν δύο δείγματα από κάθε ομάδα (τραύμα το οποίο υποβλήθηκε σε θεραπεία με αλοιφή μόνο και τραύμα το οποίο υποβλήθηκε σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε εκχύλισμα τσουκνίδας), πέντε και δέκα μέρες μετά τη δημιουργία του τραύματος.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε μακροσκοπική εξέταση και υπολογίστηκε η μέγιστη διάμετρος της εξέλκωσης στο τραύμα το οποίο υποβλήθηκε σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε το εκχύλισμα. Στα δείγματα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε το εκχύλισμα τσουκνίδας, μετά από πέντε μέρες η διάμετρος της εξέλκωσης βρέθηκε ίση με 0,3 και 0,4 εκ., ενώ η διάμετρος της εξέλκωσης για τα δείγματα ελέγχου ήταν 0,6 και 0,7 εκ. Συνεπώς, η διάμετρος της εξέλκωσης ήταν περίπου η μισή σε σχέση με αυτή των τραυμάτων ελέγχου.

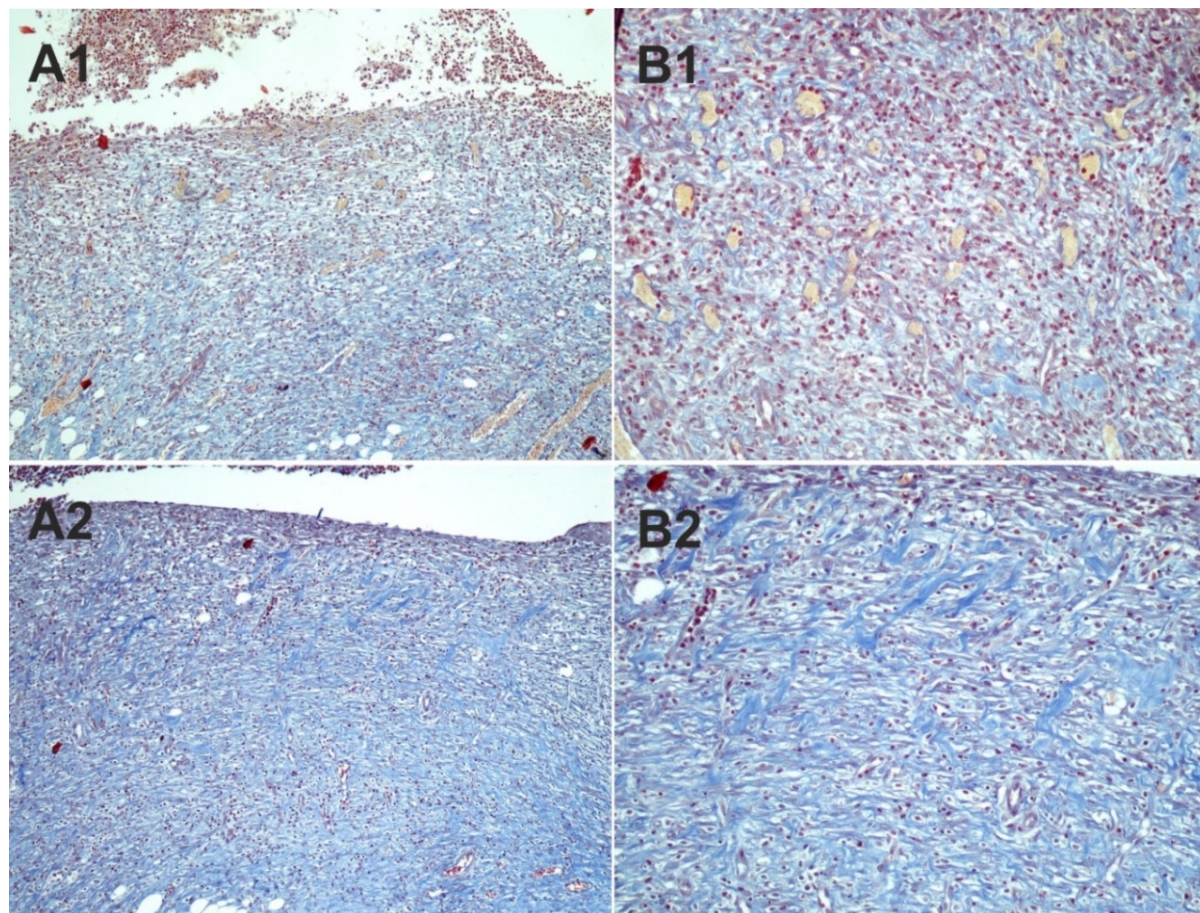
Από τη μικροσκοπική εξέταση προκύπτουν αρκετές διαφορές μεταξύ των τραυμάτων ελέγχου και των τραυμάτων που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε το εκχύλισμα της τσουκνίδας, όπως φαίνεται στις εικόνες 174 και 175. Οι διαφορές αυτές αφορούν κυρίως τη φλεγμονή, την παρουσία και τη διάταξη των ινοβλαστών, το κολλαγόνο, την αγγειογένεση και την επανεπιθηλίωση. Στα τραύματα ελέγχου, πέντε ημέρες μετά την τομή παρατηρείται αγγειοβριθής φλεγμονώδης κοκκιώδης ιστός με άφθονα φλεγμονώδη κύτταρα, λεπτοτοιχωματικά τριχοειδή αιμοφόρα αγγεία με διεγερμένα ενδοθηλιακά κύτταρα εντός οιδηματώδους στρώματος. Παρατηρούνται ελάχιστοι ινοβλάστες και η ωρίμανση αρχίζει από εν τω βάθει θέσεις. Στην περιφέρεια φαίνεται να ξεκινά η επανεπιθηλίωση. Στα τραύματα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε το εκχύλισμα της τσουκνίδας, ο φλεγμονώδης κοκκιώδης ιστός είναι πιο ώριμος με λιγότερα κύτταρα φλεγμονής, σημαντικά ελαττωμένο οίδημα και τριχοειδή αιμοφόρα αγγεία με πιο ώριμα/αποπλατυσμένα ενδοθηλιακά κύτταρα. Επίσης, τα

περισσότερα τριχοειδή αιμοφόρα αγγεία φαίνεται να διατάσσονται κάθετα προς την υπερκείμενη επιδερμίδα. Οι ινοβλάστες είναι περισσότεροι τόσο σε επιπολής όσο και σε εν τω βάθει θέσεις, όπως αναδεικνύεται με την ειδική χρώση Masson's trichrome.

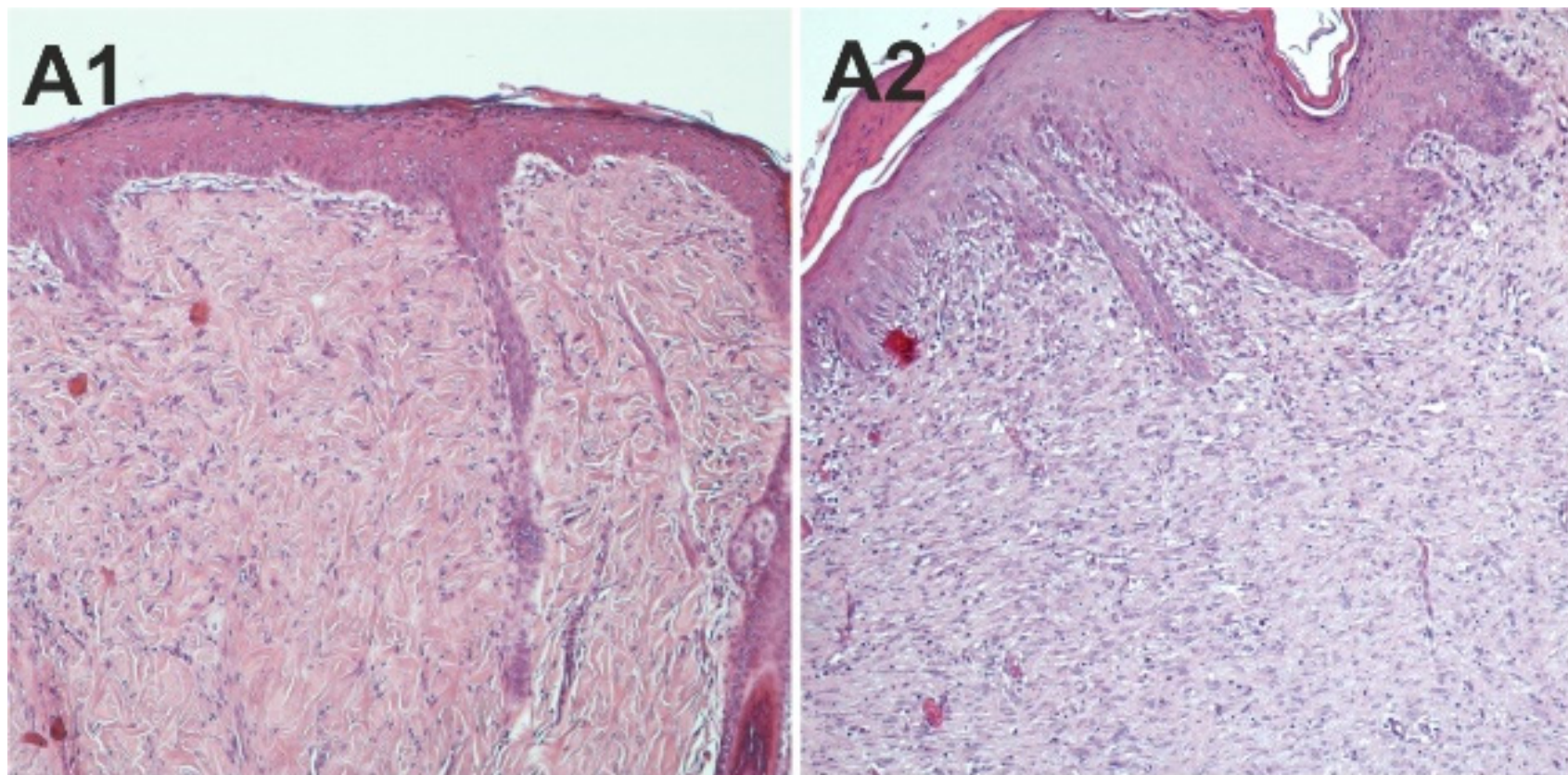
Όσον αφορά τα δείγματα ιστών που μελετήθηκαν 10 ημέρες μετά την αρχική τομή, παρατηρείται πλήρης επαναεπιθηλιοποίηση με συνοδό ανάπτυξη ινώδους συνδετικού ιστού στο χόριο του δέρματος με αρκετές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων ως προς τη διάταξη (Εικόνες 176 και 177). Στα τραύματα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αλοιφή που περιείχε το εκχύλισμα της τσουκνίδας σημειώνεται ανάπτυξη πυκνού συνδετικού ιστού με εμφανώς αναπτυγμένο τριχοειδικό δίκτυο και αρκετά περισσότερους ινοβλάστες. Ο κοκκιώδης ιστός είναι πιο ώριμος με ώριμους ινοβλάστες και είναι εμφανής η πλήρης κάλυψη του τραύματος με κερατινοκύτταρα. Στα τραύματα ελέγχου η επιδερμίδα αποτελείται μόνο από λίγα στρώματα ανώριμων κερατινοκυττάρων, ο συνδετικός ιστός είναι αραιός με ελάχιστους ινοβλάστες και ανώριμα τριχοειδή αγγεία. Αξίζει να σημειωθεί ότι στο δείγμα ελέγχου είναι εμφανής η δημιουργία του ουλώδους ιστού στο χόριο, ενώ στο δείγμα στο οποίο έγινε επάλειψη με αλοιφή που περιείχε το εκχύλισμα τσουκνίδας η περιοχή του τραύματος επαν-εγκαθιδρύεται πλήρως. Ταυτόχρονα η βασική στιβάδα του ιστού του τελευταίου δημιουργεί περισσότερες διηθήσεις σε σχέση με το δείγμα ελέγχου, γεγονός που υποδεικνύει την αυξημένη αντοχή του νέου ιστού.



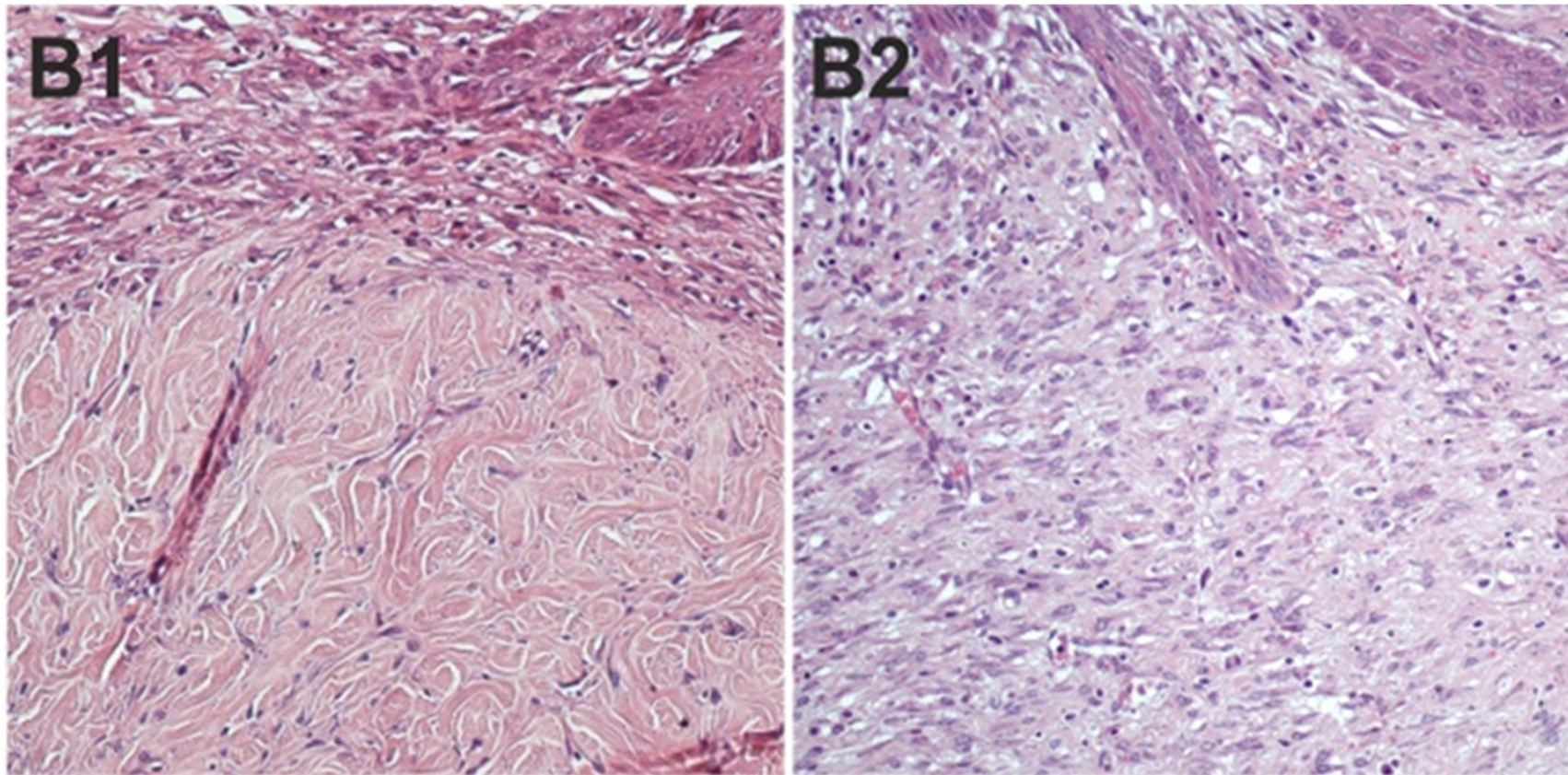
Εικόνα 174: Εγκάρσια τομή τμήματος δέρματος επιμυών μετά από χρώση ΑΕ. Στην πρώτη σειρά φαίνονται οι ιστοί που απομονώθηκαν από τα δείγματα ελέγχου, ενώ στην δεύτερη σειρά φαίνονται οι ιστοί που απομονώθηκαν από τα δείγματα στα οποία έγινε επάλειψη με το εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 2 mg g^{-1} για πέντε ημέρες . A= x 100 μεγέθυνση, B= x200 μεγέθυνση.



Εικόνα 175: Εγκάρσια τομή τμήματος δέρματος επιμυών μετά από τριχρωμική χρώση Masson. Στην πρώτη σειρά φαίνονται οι ιστοί που απομονώθηκαν από τα δείγματα ελέγχου, ενώ στην δεύτερη σειρά φαίνονται οι ιστοί που απομονώθηκαν από τα δείγματα στα οποία έγινε επάλειψη με το εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 2 mg g^{-1} για πέντε ημέρες. A= x 100 μεγέθυνση, B= x200 μεγέθυνση.



Εικόνα 176: Εγκάρσια τομή τμήματος δέρματος επιμυών μετά από χρώση ΑΕ από ιστούς που απομονώθηκαν από τα δείγματα ελέγχου (A1) και ιστούς που απομονώθηκαν από τα δείγματα στα οποία έγινε επάλειψη με το εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 2 mg g^{-1} (A2). Οι ιστοί απομονώθηκαν μετά την επούλωση των τραυμάτων (10 μέρες μετά την αρχική τομή). Α= x 100 μεγέθυνση.



Εικόνα 177: Εγκάρσια τομή τμήματος δέρματος επιμυών μετά από χρώση ΑΕ από ιστούς που απομονώθηκαν από τα δείγματα ελέγχου (Α1) και ιστούς που απομονώθηκαν από τα δείγματα στα οποία έγινε επάλειψη με το εκχύλισμα τσουκνίδας σε συγκέντρωση 2 mg g^{-1} (Α2). Οι ιστοί απομονώθηκαν μετά την επούλωση των τραυμάτων (10 μέρες μετά την αρχική τομή). Β= x 200 μεγέθυνση

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το αντικείμενο της διδακτορικής διατριβής είναι η μελέτη της χημικής σύστασης και της βιολογικής δράσης 20 εκχυλισμάτων από φυτά της Ηπείρου. Τα φυτά επιλέχθηκαν είτε επειδή έως τώρα έχουν διεξαχθεί ελάχιστες έως καθόλου μελέτες σχετικά με τις βιολογικές τους δράσεις, είτε επειδή ακόμα και για φυτά, των οποίων εκχυλίσματα έχουν μελετηθεί για βιολογικές δράσεις, είναι δυνατό να περιέχουν άλλα βιοδραστικά συστατικά που να εμφανίζουν κάποια νέα βιολογική δράση. Η παρασκευή των εκχυλισμάτων βασίζεται στο γνωσιολογικό υπόστρωμα του Εργαστηρίου Φυσικοχημικών Μελετών, με το οποίο τίθεται μια νέα βάση για τη μελέτη των φυτικών εκχυλισμάτων. Λόγω της απομάκρυνσης συστατικών, πριν τη λήψη του τελικού εκχυλίσματος είναι ευκολότερη η ανάδειξη νέων βιολογικών δράσεων, οι οποίες μπορεί να παρεμποδίζονται ή να αναστέλλονται από άλλα βιοδραστικά συστατικά. Έπειτα από πειράματα τοξικότητας των εκχυλισμάτων σε ευκαρυωτικά κύτταρα προέκυψε ότι τα περισσότερα από τα δοκιμαζόμενα εκχυλίσματα, όχι μόνο δεν είναι τοξικά για τα κύτταρα αλλά αυξάνουν και το ρυθμό πολλαπλασιασμού τους. Τα καλύτερα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στην περίπτωση που τα κύτταρα επώαστηκαν με το εκχύλισμα τσουκνίδας. Το γεγονός αυτό διαδραμάτισε καθοριστικότατο ρόλο στη διαμόρφωση της διδακτορικής διατριβής, καθώς έγινε περεταίρω μελέτη των εκχυλισμάτων για την επούλωση των δερματικών τραυμάτων.

Στο πλαίσιο αυτό, μετά από μελέτη της ικανότητας των εκχυλισμάτων να αυξάνουν το ρυθμό μετανάστευσης των ευκαρυωτικών κυττάρων προέκυψε ότι αρκετά από τα εκχυλίσματα είναι ικανά να αυξάνουν το ρυθμό μετανάστευσης, με τα καλύτερα αποτελέσματα να παρατηρούνται επίσης στη περίπτωση του εκχυλίσματος τσουκνίδας. Επιπλέον, μελετήθηκε η αντιβακτηριακή δράση των εκχυλισμάτων, η οποία βρέθηκε αμελητέα. Στη συνέχεια μελετήθηκε η αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης δράση των φυτών. Από τη μελέτη αυτή ξεχώρισαν τα εκχυλίσματα της λαδανιάς και του κεδροκούκουτσου. Βασισμένοι στα αποτελέσματα αυτά, διεξήχθησαν πειράματα επούλωσης δερματικών τραυμάτων σε επίμυες, προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα των 3 εκχυλισμάτων (τσουκνίδας, λαδανιάς και κεδροκούκουτσου) στην επούλωση τραυμάτων. Η διεξαγωγή των *in vitro* πειραμάτων κρίθηκε αναγκαία,

καθώς οι επίμυες είναι ένα πολύπλοκο μοντέλο στο οποίο οι δράσεις ενός εκχυλίσματος να μην είναι μόνο άμεσες αλλά να προκύπτουν και περεταίρω επιθυμητές ή ανεπιθύμητες δράσεις από την ενίσχυση διαφόρων βιοχημικών διεργασιών. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι το εκχύλισμα τσουκνίδας είναι το πλέον αποτελεσματικό, καθώς η ικανότητα του να επιταχύνει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ευκαρυωτικών κυττάρων (υποβοηθούμενη πάντα από την ήπια αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και αντιβακτηριακή του δράση) υπερτερεί σε σχέση με την εξαιρετική αντιοξειδωτική ή αντιφλεγμονώδη δράση των άλλων δύο εκχυλισμάτων και επιτυγχάνει ταχύτερη επούλωση των τραυμάτων. Από την ιστοπαθολογική μελέτη που διεξήχθη στα τραύματα προκύπτει ότι ο νέος ιστός που σχηματίζεται στις πληγές που τοποθετήθηκε το εκχύλισμα τσουκνίδας είναι πιο ανθεκτικός, με εμφανώς λιγότερη φλεγμονή και ταυτόχρονα το ποσοστό του ουλώδους ιστού μικρότερο σε σχέση με το δείγμα ελέγχου. Το γεγονός αυτό ανοίγει τεράστιες προοπτικές για τη μετέπειτα χρήση του εκχυλίσματος για ιατρικές και κοσμητολογικές εφαρμογές.

Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων στο σύνολό τους οδηγεί στην προσπόριση νέας γνώσης σχετικά με την ικανότητα των φυτών της Ηπείρου να υποβοηθούν την επούλωση των τραυμάτων. Παρόλο που είναι γνωστό ότι τα φυτά είναι μια τεράστια πηγή βιοδραστικών ενώσεων, η μελέτη των Ελληνικών ειδών είναι πολύ μικρή σε σχέση με τη διεθνή βιβλιογραφία. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στην παρούσα διδακτορική διατριβή είναι εξαιρετικά ενθαρρυντικά για την ενδεχόμενη αξιοποίηση των εκχυλισμάτων για την ταχύτερη επούλωση τραυμάτων. Η παρούσα μελέτη θα συνεχιστεί σε επίπεδο μεταδιδακτορικής διατριβής όπου θα γίνει προσπάθεια απομόνωσης και ταυτοποίησης των βιοδραστικών συστατικών από τα υπό μελέτη εκχυλίσματα και ταυτόχρονα θα γίνει προσπάθεια ανάπτυξης ενός μίγματος με διάφορα εκχυλίσματα σε κατάλληλες αναλογίες, προκειμένου να συνδυαστούν οι ευεργετικές δράσεις των εκχυλισμάτων για να μπορεί να επιτευχθεί ακόμα ταχύτερη επούλωση των δερματικών τραυμάτων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] A. Gurib-Fakim, Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow, 2006. doi:10.1016/j.mam.2005.07.008.
- [2] L. Winslow, D.J. Kroll, Herbs as medicines, Arch. Intern. Med. 158 (1998) 2192–2199. doi:10.1001/archinte.158.20.2192.
- [3] M.H.H. Roby, M.H.H. Roby, M.A. Sarhan, K.A.-H. Selim, K.I. Khalel, Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts, Ind. Crops Prod. v. 43 (2013) 827–831–2013 v.43. doi:10.1016/j.indcrop.2012.08.029.
- [4] F. Firenzuoli, L. Gori, Herbal Medicine Today: Clinical and Research Issues, 2007. doi:10.1093/ecam/nem096.
- [5] M. Malamas, M. Marselos, The tradition of medicinal plants in Zagori, Epirus (northwestern Greece), J. Ethnopharmacol. 37 (1992) 197–203. doi:10.1016/0378-8741(92)90034-O.
- [6] U. Schippmann, Leaman, D. J., A.B. Cunningham, Impact of Cultivation and Gathering of Medicinal Plants on Biodiversity, in: Inter-Departmental Work. Gr. Biol. Divers. Food Agric., 2017: pp. 142–167.
<http://www.fao.org/docrep/005/AA010E/AA010e02.htm>.
- [7] A. Kalia, B. Joshi, M. Mukhija, Pharmacognostical review of *Urtica dioica* L., Int. J. Green Pharm. 8 (2014) 201. doi:10.4103/0973-8258.142669.
- [8] S.B. and N.S.B. Shivani Bisht, *Urtica dioica* (L): an undervalued, economically important plant, Agric. Sci. Res. Journals. 2 (2012) 250–252.
- [9] B.M. Adhikari, A. Bajracharya, A.K. Shrestha, Comparison of nutritional properties of Stinging nettle (*Urtica dioica*) flour with wheat and barley flours, Food Sci. Nutr. 4 (2016) 119–124. doi:10.1002/fsn3.259.
- [10] S.H. and A. Sharma, A REVIEW ON *URTICA DIOICA* L, WORLD J. Pharm. Pharm. Sci. 6 (2017) 405–421.

- [11] Urtica: The genus Urtica, CRC Press , London, 2004.
<https://books.google.com/books?id=W9pHDnYmM2UC&pgis=1>.
- [12] A. Ahangarpour, M. Mohammadian, M. Dianat, Antidiabetic effect of hydroalcoholic urtica dioica leaf extract in male rats with fructose-induced insulin resistance, Iran. J. Med. Sci. 37 (2012) 181–186.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3470082/>.
- [13] İ. Gülçin, Ö.İ. Küfrevioğlu, M. Oktay, M.E. Büyükokuroğlu, Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (Urtica dioica L.), J. Ethnopharmacol. 90 (2004) 205–215. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.028>.
- [14] B. M., M. pour A.H., E. M., A. F.J., T. G.A., S. M., Efficacy of supportive therapy of allergic rhinitis by stinging nettle (Urtica dioica) root extract: A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial, Iran. J. Pharm. Res. 16 (2017) 112–118.
http://ijpr.sbmu.ac.ir/article_1997_1e0dfcfa35f5ced7ad0c36ce0e90ed16.pdf%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emex&NEWS=N&AN=614723163.
- [15] A.A.H. Said, I.S. El Otmani, S. Derfoufi, A. Benmoussa, HIGHLIGHTS ON NUTRITIONAL AND THERAPEUTIC VALUE OF STINGING NETTLE (URTICA DIOICA), Int. J. Pharm. Pharm. Sci. Vol 7, Issue 10, 2015. (2015).
<https://innovareacademics.in/journals/index.php/ijpps/article/view/8165/6165>.
- [16] M. Kk, S. Parasuraman, Urtica dioica L., (Urticaceae): A Stinging Nettle, 2016. doi:10.5530/srp.2014.1.3.
- [17] D. J Baumgardner, Stinging Nettle: the Bad, the Good, the Unknown, 2016. doi:10.17294/2330-0698.1216.
- [18] L. Konrad, H.H. Müller, C. Lenz, H. Laubinger, G. Aumüller, J.J. Lichius, Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle root (Urtica dioica) extract, 2000. doi:10.1055/s-2000-11117.
- [19] A. Łukomska, I. Baranowska-Bosiacka, K. Jakubczyk, J. Wolska, K. Piotrowska, K. Janda, M. Banaszczak, B. Bosiacka, I. Gutowska, D. Chlubek, Extract from nettle seeds (Urtica dioica L.) decreases the synthesis of lipoxin A4 through inhibition of the development of fluoride-induced inflammation in thp1 monocytes/macrophages, 2017.

- [20] K.N. Jan, K. zarafshan, S. Singh, Stinging nettle (*Urtica dioica* L.): a reservoir of nutrition and bioactive components with great functional potential, 2017. doi:10.1007/s11694-016-9410-4.
- [21] V. Dimitrijevic, N. Krstic, M. Stankovic, I. Arsic, R. Nikolic, Biometal and heavy metal content in the soil-nettle (*Urtica dioica* L.): System from different localities in Serbia, 2016. doi:10.5937/savteh1601017d.
- [22] M. Francišković, R. Gonzalez-Pérez, D. Orčić, F. Sánchez de Medina, O. Martínez-Augustin, E. Svirčev, N. Simin, N. Mimica-Dukić, Chemical Composition and Immuno-Modulatory Effects of *Urtica dioica* L. (Stinging Nettle) Extracts, *Phyther. Res.* 31 (2017) 1183–1191. doi:10.1002/ptr.5836.
- [23] B.M. Adhikari, A. Bajracharya, A.K. Shrestha, Comparison of nutritional properties of Stinging nettle (*Urtica dioica*) flour with wheat and barley flours, *Food Sci. Nutr.* 4 (2016) 119–124. doi:10.1002/fsn3.259.
- [24] D. Kregiel, E. Pawlikowska, H. Antolak, *Urtica* spp.: Ordinary plants with extraordinary properties, *Molecules.* 23 (2018) 1–21. doi:10.3390/molecules23071664.
- [25] F. Sidaoui, S.B. Iguel, D. Barth, M. Trabelsi-Ayadi, J.K. Cherif, Study of tunisian nettle leaves (*Urtica dioica* L.): Mineral composition and antioxidant capacity of their extracts obtained by maceration and supercritical fluid extraction, *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.* 7 (2015) 707–713.
- [26] D. Papaefthimiou, A. Papanikolaou, V. Falara, S. Givanoudi, S. Kostas, A. Kanellis, Genus *Cistus*: a model for exploring labdane-type diterpenes' biosynthesis and a natural source of high value products with biological, aromatic, and pharmacological properties, 2014. doi:10.3389/fchem.2014.00035.
- [27] A. Viapiana, A. Konopacka, K. Waleron, M. Wesolowski, *Cistus incanus* L. commercial products as a good source of polyphenols in human diet, *Ind. Crops Prod.* 107 (2017) 297–304. doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.066.
- [28] E. Barrajón-Catalán, S. Fernández-Arroyo, D. Saura, E. Guillén, A. Fernández-Gutiérrez, A. Segura-Carretero, V. Micol, Cistaceae aqueous extracts containing

ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity, and cytotoxic activity against human cancer cells, 2010. doi:10.1016/j.fct.2010.05.060.

[29] G. Attaguile, A. Russo, A. Campisi, F. Savoca, R. Acquaviva, N. Ragusa, A. Vanella, Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of extracts from *Cistus incanus* L. and *Cistus monspeliensis* L., 2000. doi:10.1023/A:1007633824948.

[30] A. Šarić, T. Balog, S. Sobocanec, B. Kusić, V. šverko, G. Rusak, S. Likic, D. Bubalo, B. Pinto, D. Reali, T. Marotti, Antioxidant effects of flavonoid from Croatian *Cystus incanus* L. rich bee pollen, 2009. doi:10.1016/j.fct.2008.12.007.

[31] P. Riehle, M. Vollmer, S. Rohn, Phenolic compounds in *Cistus incanus* herbal infusions — Antioxidant capacity and thermal stability during the brewing process, 2013. doi:10.1016/j.foodres.2012.09.020.

[32] H. Bouamama, J. Villard, a Benharref, M. Jana, Antibacterial and antifungal activities of *Cistus incanus* and *C. monspeliensis* leaf extracts., 1999.

[33] K. Droebner, C. Ehrhardt, A. Poetter, S. Ludwig, O. Planz, CYSTUS052, a polyphenol-rich plant extract, exerts anti-influenza virus activity in mice, 2007. doi:10.1016/j.antiviral.2007.04.001.

[34] S. Hatziantoniou, K. Dimas, A. Georgopoulos, N. Sotiriadou, C. Demetzos, Cytotoxic and antitumor activity of liposome-incorporated sclareol against cancer cell lines and human colon cancer xenografts, 2006. doi:10.1016/j.phrs.2005.09.008.

[35] Z. H, E. M, A. F, T. A, W. J, S. M, E. A, Chemical composition and antioxidant activity of essential oil, various organic extracts of *Cistus ladanifer* and *Cistus libanotis* growing in Eastern Morocco, 2016. doi:10.5897/ajb2013.12868.

[36] G. Wittpahl, I. Kölling-Speer, S. Basche, E. Herrmann, M. Hannig, K. Speer, C. Hannig, The Polyphenolic Composition of *Cistus incanus* Herbal Tea and Its Antibacterial and Anti-adherent Activity against *Streptococcus mutans*, 2015. doi:10.1055/s-0035-1557822.

[37] E. Barrajón-Catalán, S. Fernández-Arroyo, C. Roldán, E. Guillén, D. Saura, A. Segura-Carretero, V. Micol, A systematic study of the polyphenolic composition of

aqueous extracts deriving from several *Cistus* genus species: Evolutionary relationship, 2011. doi:10.1002/pca.1281.

[38] S. Bais, N.S. Gill, N. Rana, S. Shandil, A Phytopharmacological Review on a Medicinal Plant: *Juniperus communis*, Int. Sch. Res. Not. (2014). doi:10.1155/2014/634723.

[39] N. Gumral, D.D. Kumbul, F. Aylak, M. Saygin, E. Savik, *Juniperus communis* Linn oil decreases oxidative stress and increases antioxidant enzymes in the heart of rats administered a diet rich in cholesterol, Toxicol. Ind. Health. (2015). doi:10.1177/0748233712469995.

[40] I. Mahmutović-Dizdarević, S. Dahija, R. Bešta-Gajević, E. Karalija, Biological activity of *Juniperus communis* L. extracts, 2017.

[41] S.B. Glišić, S.Ž. Milojević, S.I. Dimitrijević, A.M. Orlović, D.U. Skala, Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of *Juniperus communis* L. and a comparison with some commercial antibiotics, J. Serbian Chem. Soc. (2007). doi:10.2298/JSC0704311G.

[42] X. Han, T.L. Parker, Anti-inflammatory activity of Juniper (*Juniperus communis*) berry essential oil in human dermal fibroblasts, Cogent Med. (2017). doi:10.1080/2331205x.2017.1306200.

[43] I. Tatyana Vasilevna, G. Olga Volodymyrivna, T. Erica Leonidivna, K. Irina Aleksandrovna, K. Alla Mihaylovna, Antimicrobial Activity of the Genus *Galium* L., 2016. doi:10.5530/pc.2016.1.8.

[44] J. Bradic, A. Petkovic, M. Tomovic, Phytochemical and Pharmacological Properties of Some Species of the Genus *Galium* L. *Galium Verum* and *Mollugo*, Serbian J. Exp. Clin. Res. 0 (2018). doi:10.1515/sjecr-2017-0057.

[45] A. Al-Snafi, GALIUM VERUM-A REVIEW, 2018. doi:10.5281/zenodo.1214980.

[46] P. Akbay, A.A. Basaran, U. Undeger, N. Basaran, In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L., Phyther. Res. 17 (2003) 34–37. doi:10.1002/ptr.1068.

- [47] K.H.C. Baser, T. Özek, N. Kirimer, D. Deliorman, F. Ergun, Composition of the essential oils of *galium aparine* L. and *galium odoratum* (L.) scop. from Turkey, 2004. doi:10.1080/10412905.2004.9698728.
- [48] A. Mocan, G. Crişan, L. Vlase, B. Ivănescu, A.S. Bădăraş, A.L. Arsene, Phytochemical investigations on four *Galium* species (Rubiaceae) from Romania, 2016.
- [49] S. Cvitanović, Allergy to *Parietaria officinalis* pollen, 1999.
- [50] <http://greenapple.gr/2016/07/18/τα-φαρμακευτικά-φυτά-της-ακρόπολης/>, (n.d.). ημερομηνία επίσκεψης 13/7/2019.
- [51] <https://www.botanical-online.com/en/medicinal-plants/pellitory-properties>, (n.d.). ημερομηνία επίσκεψης 13/7/2019.
- [52] J. Budzianowski, L. Skrzypczak, D. Walkowiak, Flavonoids of *Parietaria officinalis*, J. Nat. Prod. 48 (1985) 336–337. doi:10.1021/np50038a033.
- [53] V. Papandreou, P. Magiatis, I. Chinou, E. Kalpoutzakis, A.-L. Skaltsounis, A. Tsarbopoulos, Volatiles with antimicrobial activity from the roots of Greek *Paeonia taxa*, 2002. doi:10.1016/S0378-8741(02)00056-9.
- [54] W.J. Kim, Y. Ji, G. Choi, Y.M. Kang, S. Yang, B.C. Moon, Molecular identification and phylogenetic analysis of important medicinal plant species in genus *Paeonia* based on rDNA-ITS, matK, and rbcL DNA barcode sequences, 2016. doi:10.4238/gmr.15038472.
- [55] A. F., T. N., R. S., Medicinal uses and phytoconstituents of *Paeonia officinalis*, 2012.
http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L365322577%5Cnhttp://www.irjponline.com/admin/php/uploads/977_pdf.pdf%5Cnhttp://elvis.uvu.vu.nl:9003/vulink?sid=EMBASE&issn=22308407&id=doi:&atitle=Medicinal+uses+and+phytoconstitue.
- [56] D.Y. He, S.M. Dai, Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Paeonia lactiflora* Pall., a traditional Chinese herbal medicine, 2011. doi:10.3389/fphar.2011.00010.

- [57] N. Yaylı, A. Yaşar, N. Kahriman, M. Albay, K. Coskuncelebi, Essential Oil Analysis and Antimicrobial Activity of *Paeonia mascula* from Turkey, 2008.
- [58] A. Selahvarzian, A. Alizadeh, P. Amanolahi Baharvand, O. Eldahshan, B. Rasoulion, Medicinal Properties of *Rosa canina* L., 2018. doi:10.22087/hmj.v0i0.615.
- [59] K. Winther, J. Campbell-Tofte, A. Sophie Vinther Hansen, Bioactive ingredients of rose hips (*Rosa canina* L) with special reference to antioxidative and anti-inflammatory properties: in vitro studies, 2016. doi:10.2147/BTAT.S91385.
- [60] K. Marstrand, J. Campbell-Tofte, The role of rose hip (*Rosa canina* L) powder in alleviating arthritis pain and inflammation – part II animal and human studies, 2016. doi:10.2147/BTAT.S55573.
- [61] G. Bashri, A Review on Nutritional and Antioxidant Values, and Medicinal Properties of *Trigonella foenum-graecum*, 2013. doi:10.4172/2167-0501.1000118.
- [62] N. Moradi-Kor, K. Moradi, Physiological and Pharmaceutical Effects of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) as a Multipurpose and Valuable Medicinal Plant, 2013.
- [63] K. Pundarikakshudu, D.H. Shah, A.H. Panchal, G.C. Bhavsar, Anti-inflammatory activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* Linn) seed petroleum ether extract, Indian J. Pharmacol. 48 (2016) 441–444. doi:10.4103/0253-7613.186195.
- [64] S.M. Man, A. Păucean, I.D. Călian, V. Mureşan, M.S. Chiş, A. Pop, A.E. Mureşan, M. Bota, S. Muste, Influence of Fenugreek Flour (*Trigonella foenum-graecum* L.) Addition on the Technofunctional Properties of Dark Wheat Flour , J. Food Qual. (2019). doi:10.1155/2019/8635806.
- [65] H. Ostrovska, O. Oleshchuk, S. Vannini, S. Cataldi, E. Albi, M. Codini, A. Moulas, S. Marchyshyn, T. Beccari, M.R. Ceccarini, *Epilobium angustifolium* L.: A medicinal plant with therapeutic properties, EuroBiotech J. 1 (2017) 126–131. doi:https://doi.org/10.24190/ISSN2564-615X/2017/02.03.
- [66] P. Kadam, M. Patil, K. Yadav, A Review on Phytopharmacopial Potential of *Epilobium angustifolium*, Pharmacogn. J. 10 (2018).

- [67] A.N. Shikov, E.A. Poltanov, H.J.D. Dorman, V.G. Makarov, V.P. Tikhonov, R. Hiltunen, Chemical Composition and in Vitro Antioxidant Evaluation of Commercial Water-Soluble Willow Herb (*Epilobium angustifolium* L.) Extracts, *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 3617–3624. doi:10.1021/jf052606i.
- [68] D. Kumar, V. Arya, Z. Bhat, N. Khan, D. Prasad, The genus *Crataegus*: Chemical and pharmacological perspectives, 2012. doi:10.1590/S0102-695X2012005000094.
- [69] J. Wang, X. Xiong, B. Feng, Effect of *Crataegus* Usage in Cardiovascular Disease Prevention: An Evidence-Based Approach , Evidence-Based Complement. Altern. Med. (2013). doi:10.1155/2013/149363.
- [70] V. Tadic, S. Dobric, G. M Marković, S. M Dordević, I. A Arsić, N. R Menković, T. Stević, Anti-inflammatory, Gastroprotective, Free-Radical-Scavenging, and Antimicrobial Activities of Hawthorn Berries Ethanol Extract, 2008. doi:10.1021/jf801668c.
- [71] D. Wyspiańska, A.Z. Kucharska, A. Sokół-Łętowska, J. Kolniak-Ostek, Physico-chemical, antioxidant, and anti-inflammatory properties and stability of hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) procyanidins microcapsules with inulin and maltodextrin, *J. Sci. Food Agric.* 97 (2017) 669–678. doi:10.1002/jsfa.7787.
- [72] M. Sagharjoghi Farahani, R. Azadkhah, The Effects of *Frangula Alnus miller* on HEK Cells in Cell culture, 2016.
- [73] Effects of *Rhamnus frangula* Extract on MCF7 Cells in Cell Culture, in: 2015. doi:10.15242/iicbe.c0615089.
- [74] <http://www.haniotika-nea.gr/128333-ugeia-botana/>, (n.d.). ημέρα επίσκεψης 14/7/2019.
- [75] S.J. Roudbaraki, D. Nori-Shargh, Analysis of the volatile constituents of *Frangula alnus* Mill. from Iran, *Russ. Chem. Bull.* (2016). doi:10.1007/s11172-016-1652-0.
- [76] Ž. Maleš, D. Kremer, Z.G. Randić, M. Randić, K.H. Pilepić, M. Bojić, Quantitative analysis of glucofrangulins and phenolic compounds in Croatian *Rhamnus* and *Frangula* species, *Acta Biol. Cracoviensia Ser. Bot.* (2010). doi:10.2478/v10182-010-0032-6.

[77] C.C. Liolios, K. Graikou, E. Skaltsa, I. Chinou, Dittany of Crete: A botanical and ethnopharmacological review, *J. Ethnopharmacol.* (2010). doi:10.1016/j.jep.2010.06.005.

[78] M. Maietta, R. Colombo, F. Corana, A. Papetti, Cretan tea (*Origanum dictamnus* L.) as a functional beverage: An investigation on antiglycative and carbonyl trapping activities, *Food Funct.* (2018). doi:10.1039/c7fo01930k.

[79] G. Mitropoulou, E. Fitsiou, E. Stavropoulou, E. Papavassilopoulou, M. Vamvakias, A. Pappa, A. Oreopoulou, Y. Kourkoutas, Composition, antimicrobial, antioxidant, and antiproliferative activity of *Origanum dictamnus* (dittany) essential oil , *Microb. Ecol. Heal. Dis.* (2015). doi:10.3402/mehd.v26.26543.

[80] C.C. Liolios, O. Gortzi, S. Lalas, J. Tsaknis, I. Chinou, Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity, *Food Chem.* (2009). doi:10.1016/j.foodchem.2008.05.060.

[81] R.C. Fierascu, I. Fierascu, A. Ortan, I.C. Fierascu, V. Anuta, B.S. Velescu, S.M. Pituru, C.E. Dinu-Pirvu, *Leonurus cardiaca* L. as a Source of Bioactive Compounds: An Update of the European Medicines Agency Assessment Report (2010) , *Biomed Res. Int.* (2019). doi:10.1155/2019/4303215.

[82] Y. Dong, J. Liao, K. Yao, W. Jiang, J. Wang, Application of Traditional Chinese Medicine in Treatment of Atrial Fibrillation, *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* 2017 (2017) 1381732. doi:10.1155/2017/1381732.

[83] O. V Sermukhamedova, Z. B Sakipova, I. I Ternynko, N. G Gemedzhieva, Representatives of motherwort genus (*Leonurus* spp.): Aspects of pharmacognostic features and relevance of new species application, 2017.

[84] K. Wojtyniak, M. Szymański, I. Matławska, *Leonurus cardiaca* L. (Motherwort): A Review of its Phytochemistry and Pharmacology, 2013. doi:10.1002/ptr.4850.

[85] C.J. Van Den Heede, R.L.L. Viane, M.W. Chase, Phylogenetic analysis of *Asplenium* subgenus *Ceterach* (Pteridophyta: Aspleniaceae) based on plastid and nuclear ribosomal ITS DNA sequences, *Am. J. Bot.* (2003). doi:10.3732/ajb.90.3.481.

[86] R. Ho, T. Teai, J.-P. Bianchini, R. Lafont, P. Raharivelomanana, Ferns: From

Traditional Uses to Pharmaceutical Development, Chemical Identification of Active Principles, in: Work. with Ferns Issues Appl., 2010: pp. 321–346. doi:10.1007/978-1-4419-7162-3_23.

[87] E. Hanlidou, R. Karousou, V. Kleftoyanni, S. Kokkini, The herbal market of Thessaloniki (N Greece) and its relation to the ethnobotanical tradition, J. Ethnopharmacol. (2004). doi:10.1016/j.jep.2004.01.007.

[88] P.D.A.E. Al-Snafi, The pharmacology of Equisetum arvense- A review, IOSR J. Pharm. (2017). doi:10.9790/3013-0702013142.

[89] A. Pallag, G.A. Filip, D. Olteanu, S. Clichici, I. Baldea, T. Jurca, O. Micle, L. Vicas, E. Marian, O. Sorițău, M. Cenariu, M. Mureșan, Equisetum arvense L. extract induces antibacterial activity and modulates oxidative stress, inflammation, and apoptosis in endothelial vascular cells exposed to hyperosmotic stress, Oxid. Med. Cell. Longev. (2018). doi:10.1155/2018/3060525.

[90] N. Rani, N. Vasudeva, S.K. Sharma, Pharmacognostical and quality control parameters of Stellaria media Linn., 2012. doi:10.1016/S2222-1808(12)60128-5.

[91] N. Rani, N. Vasudeva, S.K. Sharma, Quality assessment and anti-obesity activity of Stellaria media (Linn.) Vill, 2012. doi:10.1186/1472-6882-12-145.

[92] L. Ma, J. Song, Y. Shi, C. Wang, B. Chen, D. Xie, X. Jia, Anti-hepatitis B virus activity of chickweed [stellaria media (L.) Vill.] extracts in hepG2.2.15 cells, 2012. doi:10.3390/molecules17078633.

[93] M.E. Abu-Ziada, G.A. El Sherbeny, H.M. Al-Jubawy, Autecology and bioactive metabolites of stellaria pallida growing in north east Nile delta, Egypt, 2015. doi:10.3923/jbs.2015.25.32.

[94] M. Pieszak, P.L. Mikolajczak, K. Manikowska, Borage (Borago officinalis L.)-a valuable medicinal plant used in herbal medicine, Herba Pol. (2012).

[95] M.D. Lozano-Baena, I. Tasset, A. Muñoz-Serrano, Á. Alonso-Moraga, A. de Haro-Bailón, Cancer prevention and health benefices of traditionally consumed Borago Officinalis plants, Nutrients. (2016). doi:10.3390/nu8010048.

- [96] F. Segovia, B. Lupo, S. Peiró, M. Gordon, M. Almajano, Extraction of Antioxidants from Borage (*Borago officinalis* L.) Leaves—Optimization by Response Surface Method and Application in Oil-in-Water Emulsions, *Antioxidants*. (2014). doi:10.3390/antiox3020339.
- [97] M. Asadi-Samani, M. Bahmani, M. Rafieian-Kopaei, The chemical composition, botanical characteristic and biological activities of *Borago officinalis*: a review, *Asian Pac. J. Trop. Med.* 7 (2014) S22–S28. doi:https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60199-1.
- [98] A.E. Al-Snafi, THE PHARMACOLOGICAL AND THERAPEUTIC IMPORTANCE OF *AGRIMONIA EUPATORIA*-A REVIEW, *Asian J. Pharm. Sci. Technol.* (2015).
- [99] T.N. Santos, G. Costa, J.P. Ferreira, J. Liberal, V. Francisco, A. Paranhos, M.T. Cruz, M. Castelo-Branco, I.V. Figueiredo, M.T. Batista, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Analgesic Activities of *Agrimonia eupatoria* L. Infusion, *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* 2017 (2017) 8309894. doi:10.1155/2017/8309894.
- [100] D. Ivanova, O. Tasinov, D. Vankova, Y. Kiselova-Kaneva, Antioxidative potential of *Agrimonia eupatoria* L, 2011.
- [101] Pot marigold (*Calendula officinalis*) medicinal usage and cultivation, *Sci. Res. Essays*. (2012). doi:10.5897/SRE11.630.
- [102] V.D. Ashwlayan, A. Kumar, M. Verma, V.K. Garg, S. Gupta, Therapeutic Potential of *Calendula officinalis*, *Pharm. Pharmacol. Int. J.* (2018). doi:10.15406/ppij.2018.06.00171.
- [103] E. Jiménez-Medina, A. Garcia-Lora, L. Paco, I. Algarra, A. Collado, F. Garrido, A new extract of the plant *calendula officinalis* produces a dual in vitro effect: Cytotoxic anti-tumor activity and lymphocyte activation, *BMC Cancer*. (2006). doi:10.1186/1471-2407-6-119.
- [104] R. John, N. Jan, *Calendula Officinalis*-An Important Medicinal Plant with Potential Biological Properties, *Proc. Indian Natl. Sci. Acad.* (2017). doi:10.16943/ptinsa/2017/49126.
- [105] S. Zielinska, A. Jezierska-Domaradzka, M. Wójciak-Kosior, I. Sowa, A. Junka,

A.M. Matkowski, Greater celandine's ups and downs-21 centuries of medicinal uses of *Chelidonium majus* from the viewpoint of today's pharmacology, *Front. Pharmacol.* (2018). doi:10.3389/fphar.2018.00299.

[106] M. Gilca, L. Gaman, E. Panait (Torac, I. Stoian, V. Atanasiu, *Chelidonium majus* - an Integrative Review: Traditional Knowledge versus Modern Findings, 2010. doi:10.1159/000321397.

[107] D. Arora, A. Sharma, A review on phytochemical and pharmacological potential of genus *Chelidonium*, *Pharmacogn. J.* (2013). doi:10.1016/j.phcgj.2013.07.006.

[108] M. Parvu, L. Vlase, L. Fodorpataki, O. Parvu, O. Rosca-Casian, C. Bartha, L. Barbu-Tudoran, A.E. Parvu, Chemical composition of celandine (*chelidonium majus* L.) Extract and its effects on *botrytis tulipae* (lib.) Lind fungus and the tulip, *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca.* (2013).

[109] J.A. Philips, M.J. Blaser, Introduction to Bacteria and Bacterial Diseases, in: Mand. Douglas, Bennett's Princ. Pract. Infect. Dis., 2014. doi:10.1016/B978-1-4557-4801-3.00195-8.

[110] S.O. Udegbumam, R.I. Udegbumam, C.C. Muogbo, M.U. Anyanwu, C.O. Nwaehujor, Wound healing and antibacterial properties of methanolic extract of *Pupalia lappacea* Juss in rats, *BMC Complement. Altern. Med.* 14 (2014) 157. doi:10.1186/1472-6882-14-157.

[111] O. Sarheed, A. Ahmed, D. Shouqair, J. Boateng, Antimicrobial Dressings for Improving Wound Healing, in: *Wound Heal. - New Insights into Anc. Challenges*, 2016. doi:10.5772/63961.

[112] H.J.D. Dorman, S.G. Deans, Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils, *J. Appl. Microbiol.* (2000). doi:10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x.

[113] M.M. Cowan, Plant products as antimicrobial agents, *Clin. Microbiol. Rev.* 12 (1999) 564–582. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10515903>.

[114] R. Barbieri, E. Coppo, A. Marchese, M. Daglia, E. Sobarzo-Sánchez, S.F. Nabavi, S.M. Nabavi, Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity, *Microbiol. Res.* 196 (2017) 44–68.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.12.003>.

[115] T.P.T. Cushnie, A.J. Lamb, Antimicrobial activity of flavonoids., *Int. J. Antimicrob. Agents.* (2005).

[116] M. Boskovic, N. Zdravkovic, J. Ivanovic, J. Janjic, J. Djordjevic, M. Starcevic, M.Z. Baltic, Antimicrobial Activity of Thyme (*Tymus vulgaris*) and Oregano (*Origanum vulgare*) Essential Oils against Some Food-borne Microorganisms, *Procedia Food Sci.* (2015). doi:10.1016/j.profoo.2015.09.005.

[117] T.A. GEISSMAN, Chapter X - Flavonoid Compounds, Tannins, Lignins and, Related Compounds, in: M. FLORKIN, E.H.B.T.-C.B. STOTZ (Eds.), *Pyrrole Pigment. Isoprenoid Compd. Phenolic Plant Const.*, Elsevier, 1963: pp. 213–250.

doi:<https://doi.org/10.1016/B978-1-4831-9718-0.50018-7>.

[118] M.H. Kazmi, A. Malik, S. Hameed, N. Akhtar, S. Noor Ali, An anthraquinone derivative from *Cassia italica*, *Phytochemistry.* 36 (1994) 761–763.

doi:[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)89812-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)89812-X).

[119] Z. Saddiqe, I. Naeem, A. Maimoona, A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L., *J. Ethnopharmacol.* (2010). doi:10.1016/j.jep.2010.07.034.

[120] R.A. Dixon, P.M. Dey, C.J. Lamb, Phytoalexins: Enzymology and Molecular Biology, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* (1983) 1–136.

doi:doi:10.1002/9780470123010.ch1.

[121] K. Nakahara, S. Kawabata, H. Ono, K. Ogura, T. Tanaka, T. Ooshima, S. Hamada, Inhibitory effect of oolong tea polyphenols on glucosyltransferases of mutans streptococci, *Appl. Environ. Microbiol.* (1993).

[122] A. Scalbert, Antimicrobial properties of tannins, *Phytochemistry.* 30 (1991) 3875–3883. doi:[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83426-L](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83426-L).

- [123] G. Saxena, S.S. Kalra, N. Gupta, Antimicrobial activity pattern of certain terpenoids, *Int. J. Pharma Bio Sci.* (2011).
- [124] D. Savoia, Plant-derived antimicrobial compounds: Alternatives to antibiotics, *Future Microbiol.* (2012). doi:10.2217/fmb.12.68.
- [125] R. Sowjanya, M. Shankar, B. Sireesha, E.A. Naik, P. Yudharaj, R.J. Priyadarshini, *an Overview on Inflammation and Plant Having Anti- Inflammatory Activity*, 2017.
- [126] F. Maione, R. Russo, H. Khan, N. Mascolo, Medicinal plants with anti-inflammatory activities, *Nat. Prod. Res.* 30 (2016) 1343–1352. doi:10.1080/14786419.2015.1062761.
- [127] T. C. King, Inflammation, Inflammatory Mediators, and Immune-Mediated Disease, in: 2007: pp. 21–57. doi:10.1016/B978-0-323-04328-1.50008-5.
- [128] R. Medzhitov, Origin and physiological roles of inflammation, 2008. doi:10.1038/nature07201.
- [129] R.M. Clancy, A.R. Amin, S.B. Abramson, The role of nitric oxide in inflammation and immunity, *Arthritis Rheum.* 41 (1998) 1141–1151. doi:10.1002/1529-0131(199807)41:7<1141::AID-ART2>3.0.CO;2-S.
- [130] A. Azab, A. Nassar, A.N. Azab, Anti-inflammatory activity of natural products, *Molecules.* 21 (2016) 1321. doi:10.3390/molecules21101321.
- [131] S. Ganesh, G. Mukesh, B. Ranjan, V. Vishal, *A review on some plants having anti-inflammatory activity*, 2014.
- [132] L. Pompermaier, S. Marzocco, S. Adesso, M. Monizi, S. Schwaiger, C. Neinhuis, H. Stuppner, T. Lautenschläger, Medicinal plants of northern Angola and their anti-inflammatory properties, 2018. doi:10.1016/j.jep.2018.01.019.
- [133] O. Fawole, A. Ndhlala, S. Amoo, J. Finnie, J. Van Staden, Anti-inflammatory and phytochemical properties of twelve medicinal plants used for treating gastro-intestinal ailments in South Africa, *J. Ethnopharmacol.* 123 (2009) 237–243. doi:10.1016/j.jep.2009.03.012.

- [134] T.-P. Lee, M.L. Matteliano, E. Middleton, Effect of quercetin on human polymorphonuclear leukocyte lysosomal enzyme release and phospholipid metabolism, *Life Sci.* 31 (1982) 2765–2774. doi:[https://doi.org/10.1016/0024-3205\(82\)90723-8](https://doi.org/10.1016/0024-3205(82)90723-8).
- [135] R.M. Perez, Anti-inflammatory activity of compounds isolated from plants., *ScientificWorldJournal*. (2001). doi:10.1100/tsw.2001.77.
- [136] O.O. Oguntibeju, Medicinal plants with anti-inflammatory activities from selected countries and regions of Africa, *J. Inflamm. Res.* 11 (2018) 307–317. doi:10.2147/JIR.S167789.
- [137] T. Thring, P. Hili, D. Naughton, Antioxidant and potential anti-inflammatory activity of extracts and formulations of white tea, rose, and witch hazel on primary human dermal fibroblast cells, *J. Inflamm. (Lond)*. 8 (2011) 27. doi:10.1186/1476-9255-8-27.
- [138] S. Agnihotri, S. Wakode, A. Agnihotri, An overview on anti-inflammatory properties and chemo-profiles of plants used in traditional medicine, *Indian J. Nat. Prod. Resour.* (2010).
- [139] R. Bodîrlău, I. Spiridon, C.A. Teacă, N. Anghel, M. Ichim, S. Colceru, A. Armatu, Anti-inflammatory constituents from different plant species, in: *Environ. Eng. Manag. J.*, 2009. doi:10.30638/eemj.2009.110.
- [140] A. Bounihi, G. Hajjaj, R. Alnamer, Y. Cherrah, A. Zellou, In Vivo Potential Anti-Inflammatory Activity of *Melissa officinalis* L. Essential Oil, *Adv. Pharmacol. Sci.* 2013 (2013) 101759. doi:10.1155/2013/101759.
- [141] Z. Sun, H. Wang, J. Wang, L. Zhou, P. Yang, Chemical Composition and Anti-Inflammatory, Cytotoxic and Antioxidant Activities of Essential Oil from Leaves of *Mentha piperita* Grown in China, *PLoS One*. 9 (2014) e114767–e114767. doi:10.1371/journal.pone.0114767.
- [142] F. Lattanzio, E. Greco, D. Carretta, R. Cervellati, P. Govoni, E. Speroni, In vivo anti-inflammatory effect of *Rosa canina* L. extract, *J. Ethnopharmacol.* 137 (2011) 880–885. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.07.006>.

- [143] E. Cadirci, H. Suleyman, P. Gurbuz, A. Kuruüzüm-Uz, Z. Guvenalp, L.Ö. Demirezer, Anti-inflammatory effects of different extracts from three *Salvia* species, 2012. doi:10.3906/biy-1001-17.
- [144] A. Abeshi, V. Precone, T. Beccari, M. Dundar, B. Falsini, M. Bertelli, Pharmacologically active fractions of *Sideritis* spp. and their use in inherited eye diseases, *EuroBiotech J.* 1 (2017) 6–10. doi:https://doi.org/10.24190/ISSN2564-615X/2017/S1.02.
- [145] M.K. Al-Hindawi, I.H.S. Al-Deen, M.H.A. Nabi, M.A. Ismail, Anti-inflammatory activity of some Iraqi plants using intact rats, *J. Ethnopharmacol.* 26 (1989) 163–168. doi:https://doi.org/10.1016/0378-8741(89)90063-9.
- [146] V. Hajhashemi, V. Klooshani, Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Urtica dioica* leaf extract in animal models, *Avicenna J. Phytomedicine.* 3 (2013) 193–200. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25050274.
- [147] D. Smith, B. Jacobson, Effect of a blend of comfrey root extract (*Symphytum officinale* L.) and tannic acid creams in the treatment of osteoarthritis of the knee: Randomized, placebo-controlled, double-blind, multiclinical trials, 2011. doi:10.1016/j.jcm.2011.01.003.
- [148] K. Yoshino, N. Higashi, K. Koga, Antioxidant and Antiinflammatory Activities of *Oregano* Extract, 2006. doi:10.1248/jhs.52.169.
- [149] S. Ahmad, S. Gul, H. Gul, M. Hanif Bangash, Anti-Inflammatory and Anti-Platelet Activities of *Avena Sativa* are Mediated through the Inhibition of Cyclooxygenase and Lipoxygenase Enzymes, 2013. doi:10.29052/IJEHSR.v1.i2.2013.62-65.
- [150] M. Zuzarte, M.J. Gonçalves, C. Cavaleiro, M.T. Cruz, A. Benzarti, B. Marongiu, A. Maxia, A. Piras, L. Salgueiro, Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils, *Ind. Crops Prod.* 44 (2013) 97–103. doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.11.002.
- [151] K. Chandran Preethi, G. Kuttan, R. Kuttan, Anti-inflammatory activity of flower extract of *Calendula officinalis* Linn. and its possible mechanism of action, 2009.

- [152] B. Fiebich, E. Muñoz, T. Rose, G. Weiss, G. McGregor, Molecular Targets of the Antiinflammatory Harpagophytum procumbens (Devil's claw): Inhibition of TNF α and COX-2 Gene Expression by Preventing Activation of AP-1, 2012. doi:10.1002/ptr.3636.
- [153] S. Sahranavard, M. Kamalinejad, M. Faizi, Evaluation of Anti-Inflammatory and Anti-Nociceptive Effects of Defatted Fruit Extract of Olea europaea, Iran. J. Pharm. Res. IJPR. 13 (2014) 119–123. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24711837>.
- [154] Anti-inflammatory activity of Elaeagnus angustifolia fruit extract on rat paw edema , J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol. . 28 (2017) 377. doi:10.1515/jbcpp-2015-0154.
- [155] N. Brihi, Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of Paeonia mascula extract, 2018.
- [156] P. Chirag J, S. Tyagi, N. Halligudi, J. Yadav, S. Pathak, S. Prakash Singh, A. Pandey, D. Kamboj, P. Shankar, ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HERBAL PLANTS: A RECENT REVIEW, 2013.
- [157] V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, N. Chandra, Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health., Pharmacogn. Rev. (2010). doi:10.4103/0973-7847.70902.
- [158] L.J. Marnett, Lipid peroxidation - DNA damage by malondialdehyde, Mutat. Res. - Fundam. Mol. Mech. Mutagen. (1999). doi:10.1016/S0027-5107(99)00010-X.
- [159] T.G. Nam, Lipid peroxidation and its toxicological implications, Toxicol. Res. (2011). doi:10.5487/TR.2011.27.1.001.
- [160] E. Birben, U.M. Sahiner, C. Sackesen, S. Erzurum, O. Kalayci, Oxidative stress and antioxidant defense, 2012. doi:10.1097/WOX.0b013e3182439613.
- [161] P. Schuler, Natural Antioxidants Exploited Commercially, in: B.J.F. Hudson (Ed.), Food Antioxidants, Springer Netherlands, Dordrecht, 1990: pp. 99–170. doi:10.1007/978-94-009-0753-9_4.
- [162] M.S. Brewer, Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications, Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. (2011). doi:10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x.

- [163] A. Karagöz, F.T. Artun, G. Özcan, G. Melikoğlu, S. Anıl, Ş. Kültür, N. Sütlüpinar, In vitro evaluation of antioxidant activity of some plant methanol extracts, *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 29 (2015) 1184–1189. doi:10.1080/13102818.2015.1080600.
- [164] S.E. Lee, H.J. Hwang, J.-S. Ha, H.-S. Jeong, J.H. Kim, Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity, *Life Sci.* 73 (2003) 167–179. doi:https://doi.org/10.1016/S0024-3205(03)00259-5.
- [165] T.H.E. Journal, O.F. Pharmacy, R. Bharti, T. Oxford, E. Institutions, G. Ahuja, T. Oxford, E. Institutions, A review on medicinal plants having Antioxidant potential, 2012. <https://www.researchgate.net/publication/233950638>.
- [166] H.A. Moharram, M.M. Youssef, Methods for Determining the Antioxidant Activity : A Review = مرجعي استعراض : للأكسدة المضاد النشاط تقدير طرق , 2016. doi:10.12816/0025348.
- [167] M.N. Alam, N.J. Bristi, M. Rafiquzzaman, Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity, 2013. doi:10.1016/j.jsps.2012.05.002.
- [168] V.A. Kostyuk, A.I. Potapovich, Mechanisms of the suppression of free radical overproduction by antioxidants., 2009. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19482635>.
- [169] J. Alamed, W. Chaiyasit, D.J. McClements, E.A. Decker, Relationships between free radical scavenging and antioxidant activity in foods, 2009. doi:10.1021/jf803436c.
- [170] J. Xie, K.M. Schaich, Re-evaluation of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH[•]) assay for antioxidant activity, 2014. doi:10.1021/jf500180u.
- [171] F. Yamaguchi, T. Ariga, Y. Yoshimura, H. Nakazawa, Antioxidative and Anti-Glycation Activity of Garcinol from *Garcinia indica* Fruit Rind, *J. Agric. Food Chem.* 48 (2000) 180–185. doi:10.1021/jf990845y.
- [172] H.I. Kohn, M. Liversedge, On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, ergotamine, epinephrine, and menadione, *J Pharmacol Exp Ther.* 82 (1944) 292–300.

- [173] M.A. Ghani, C. Barril, D.R. Bedgood, P.D. Prenzler, Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay, 2017. doi:10.1016/j.foodchem.2017.02.127.
- [174] W. Zhang, S. Xiao, D.U. Ahn, Protein Oxidation: Basic Principles and Implications for Meat Quality, 2013. doi:10.1080/10408398.2011.577540.
- [175] Y. Cetinkaya, H. Göçer, A. Menzek, I. Gülçin, Synthesis and Antioxidant Properties of (3,4-Dihydroxyphenyl)(2,3,4-trihydroxyphenyl)methanone and Its Derivatives, 2012. doi:10.1002/ardp.201100272.
- [176] I. Gülçin, H. Alici, M. Cesur, Determination of in Vitro Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Propofol, Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). 53 (2005) 281–285. doi:10.1248/cpb.53.281.
- [177] K. Järbrink, G. Ni, H. Sönnegren, A. Schmidtchen, C. Pang, R. Bajpai, J. Car, The humanistic and economic burden of chronic wounds: a protocol for a systematic review, Syst. Rev. 6 (2017) 15. doi:10.1186/s13643-016-0400-8.
- [178] C. K Sen, G. Gordillo, S. Roy, R. Kirsner, L. Lambert, T. Hunt, F. Gottrup, G. Gurtner, M. T Longaker, Human skin wounds: A major and snowballing threat to public health and the economy: PERSPECTIVE ARTICLE, 2009. doi:10.1111/j.1524-475X.2009.00543.x.
- [179] K. Ridhanya, Rajakumari, Skin Wound Healing: An update on the Current knowledge and Concepts, Res. J. Pharm. Technol. 12 (2019) 1448. doi:10.5958/0974-360X.2019.00240.3.
- [180] S. Dhivya, V.V. Padma, E. Santhini, Wound dressings - a review, BioMedicine. 5 (2015) 22. doi:10.7603/s40681-015-0022-9.
- [181] T. Velnar, T. Bailey, V. Smrkolj, The wound healing process: An overview of the cellular and molecular mechanisms, J. Int. Med. Res. (2009). doi:10.1177/147323000903700531.
- [182] S. Singh, A. Young, C.E. McNaught, The physiology of wound healing, Surg. (United Kingdom). (2017). doi:10.1016/j.mpsur.2017.06.004.

[183] S. Rawat, R. Singh, P. Thakur, S. Kaur, A. Semwal, Wound healing Agents from Medicinal Plants: A Review, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2 (2012) S1910–S1917. doi:10.1016/S2221-1691(12)60520-6.

[184] B. Behm, P. Babilas, M. Landthaler, S. Schreml, Cytokines, chemokines and growth factors in wound healing, *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol.* 26 (2012) 812–820. doi:10.1111/j.1468-3083.2011.04415.x.

[185] D. Kasote, A. Ahmad, A. Viljoen, Chapter 6 - Proangiogenic Potential of Medicinal Plants in Wound Healing, in: P.K. Mukherjee (Ed.), *Evidence-Based Valid. Herb. Med.*, Elsevier, Boston, 2015: pp. 149–164. doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800874-4.00006-4.

[186] G.N. Zyuz'kov, A. V. Krapivin, Y. V. Nesterova, T.N. Povetieva, V. V. Zhdanov, N.I. Suslov, T.I. Fomina, E. V. Udut, L.A. Miroshnichenko, E. V. Simanina, A.A. Semenov, S.S. Kravtsova, A.M. Dygai, Mechanisms of regenerative effects of Baikal aconite diterpene alkaloids, *Bull. Exp. Biol. Med.* (2012). doi:10.1007/s10517-012-1841-2.

[187] Y. Dong, L. He, F. Chen, Enhancement of wound healing by taspine and its effect on fibroblast, *Zhong Yao Cai.* (2005).

[188] A.A. Muhammad, N.A.S. Pauzi, P. Arulselvan, F. Abas, S. Fakurazi, In vitro wound healing potential and identification of bioactive compounds from *Moringa oleifera* Lam, *Biomed Res. Int.* (2013). doi:10.1155/2013/974580.

[189] N.T. Bui, M.T. Ho, Y.M. Kim, Y. Lim, M. Cho, Flavonoids promoting HaCaT migration: II. Molecular mechanism of 4',6,7-trimethoxyisoflavone via NOX2 activation, *Phytomedicine.* (2014). doi:10.1016/j.phymed.2013.10.010.

[190] K. Gomathi, D. Gopinath, M.R. Ahmed, R. Jayakumar, Quercetin incorporated collagen matrices for dermal wound healing processes in rat, *Biomaterials.* (2003). doi:10.1016/S0142-9612(03)00059-0.

[191] M. Clericuzio, S. Tinello, B. Burlando, E. Ranzato, S. Martinotti, L. Cornara, A. La Rocca, Flavonoid oligoglycosides from *Ophioglossum vulgatum* L. Having wound healing properties, *Planta Med.* (2012). doi:10.1055/s-0032-1315149.

- [192] N. Öztürk, S. Korkmaz, Y. Öztürk, K.H.C. Başer, Effects of gentiopicroside, sweroside and swertiamarine, secoiridoids from Gentian (*Gentiana lutea* ssp. *symphyandra*), on cultured chicken embryonic fibroblasts, *Planta Med.* (2006). doi:10.1055/s-2005-916198.
- [193] H.A. Azis, M. Taher, A.S. Ahmed, W.M.A.W. Sulaiman, D. Susanti, S.R. Chowdhury, Z.A. Zakaria, In vitro and In vivo wound healing studies of methanolic fraction of *Centella asiatica* extract, *South African J. Bot.* 108 (2017) 163–174. doi:https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.10.022.
- [194] K. Annan, P.J. Houghton, Two novel lupane triterpenoids from *Paullinia pinnata* L. with fibroblast stimulatory activity, *J. Pharm. Pharmacol.* (2010). doi:10.1211/jpp.62.05.0016.
- [195] K. Mahmood, K.M. Zia, M. Zuber, M. Salman, M.N. Anjum, Recent developments in curcumin and curcumin based polymeric materials for biomedical applications: A review, *Int. J. Biol. Macromol.* (2015). doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.09.026.
- [196] D.J. Yang, S.H. Moh, D.H. Son, S. You, A.W. Kinyua, C.M. Ko, M. Song, J. Yeo, Y.H. Choi, K.W. Kim, Gallic Acid Promotes Wound Healing in Normal and Hyperglucidic Conditions, *Molecules.* (2016). doi:10.3390/molecules21070899.
- [197] R. Kuonen, U. Weissenstein, K. Urech, M. Kunz, K. Hostanska, M. Estko, P. Heusser, S. Baumgartner, Effects of lipophilic extract of *Viscum album* L. and oleanolic acid on migratory activity of NIH/3T3 fibroblasts and on HaCat keratinocytes, Evidence-Based Complement. Altern. Med. (2013). doi:10.1155/2013/718105.
- [198] K. Wright, N. Rooney, M. Feeney, J. Tate, D. Robertson, M. Welham, S. Ward, Differential expression of cannabinoid receptors in the human colon: Cannabinoids promote epithelial wound healing, *Gastroenterology.* (2005). doi:10.1016/j.gastro.2005.05.026.
- [199] M. Czemplik, A. Kulma, K. Bazela, J. Szopa, The biomedical potential of genetically modified flax seeds overexpressing the glucosyltransferase gene, *BMC Complement. Altern. Med.* (2012). doi:10.1186/1472-6882-12-251.

- [200] M. Kurisu, R. Nakasone, Y. Miyamae, D. Matsuura, H. Kanatani, S. Yano, H. Shigemori, Induction of hepatocyte growth factor production in human dermal fibroblasts by caffeic acid derivatives, *Biol. Pharm. Bull.* (2013). doi:10.1248/bpb.b13-00596.
- [201] J. Kim, Y.-K. Shin, K.-Y. Kim, Promotion of Keratinocyte Proliferation by Tracheloside through ERK1/2 Stimulation, *Evidence-Based Complement. Altern. Med.* 2018 (2018) 1–5. doi:10.1155/2018/4580627.
- [202] D. Naka, *Wound Healing Activity of Aqueous Extract*, 2009.
- [203] R. Aftab, M. Tahir, A. Raza, S. Noreen, M. Adnan, *Therapeutic Potential of Trigonella foenum-graecum for Chronic Wound Healing*, 2018.
- [204] I.P. Süntar, E.K. Akkol, D. Yilmazer, T. Baykal, H. Kirmizibekmez, M. Alper, E. Yeşilada, Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L., 2010. doi:10.1016/j.jep.2009.10.011.
- [205] M. Reza Farahpour, *Histological evaluation of Plantago lanceolata L. extract in accelerating wound healing*, 2012. doi:10.5897/jmpr11.516.
- [206] S. Nirmala, T. Karthiyayini, *Wound healing activity on the leaves of Achillea millefolium L. by excision, incision, and dead space model on adult wistar albino rats*, 2011. <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L364704590%5Cnhttp://www.irjponline.com/admin/php/uploads/vol-issue3/43.pdf%5Cnhttp://sfxhosted.exlibrisgroup.com/galway?sid=EMBASE&issn=22308407&id=doi:&atitle=Wound+healing+activit>.
- [207] M. Jarrahi, A.A. Vafaei, A.A. Taherian, H. Miladi, A. Rashidi Pour, *Evaluation of topical Matricaria chamomilla extract activity on linear incisional wound healing in albino rats*, 2010. doi:10.1080/14786410701654875.
- [208] L.M.L. Parente, R. de S. Lino Júnior, L.M.F. Tresvenzol, M.C. Vinaud, J.R. de Paula, N.M. Paulo, *Wound Healing and Anti-Inflammatory Effect in Animal Models of Calendula officinalis L. Growing in Brazil*, *Evidence-Based Complement. Altern. Med.* 2012 (2012) 1–7. doi:10.1155/2012/375671.

- [209] M. Marzotto, C. Bonafini, D. Oliosio, A. Baruzzi, L. Bettinetti, F. Di Leva, E. Galbiati, P. Bellavite, *Arnica montana* stimulates extracellular matrix gene expression in a macrophage cell line differentiated to wound-healing phenotype, *PLoS One*. 11 (2016) e0166340–e0166340. doi:10.1371/journal.pone.0166340.
- [210] N. Hanafi, F. Talebpour Amiri, S. Shahani, R. Enayatifard, M. Ghasemi, A.A. Karimpour, *Licorice cream promotes full-thickness wound healing in Guinea pigs*, 2018. doi:10.12991/jrp.2018.81.
- [211] R. Sharifi, H. Rastegar, M. Kamalinejad, A.R. Dehpour, S.M. Tavangar, M. Paknejad, M. Mehrabani Natanzi, N. Ghannadian, M. Akbari, P. Pasalar, Effect of topical application of silymarin (*Silybum marianum*) on excision wound healing in albino rats., 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23165806>.
- [212] Y. Ozay, M. Kasim Cayci, S. Guzel-Ozay, A. Cimbiz, E. Gurlek-Olgun, M. Sabri Ozyurt, *Effects of Equisetum arvense Ointment on Diabetic Wound Healing in Rats.*, 2013.
- [213] S. Samadi, T. Khadivzadeh, A. Emami, N.S. Moosavi, M. Tafaghodi, H.R. Behnam, *The Effect of Hypericum perforatum on the Wound Healing and Scar of Cesarean* , 2010. doi:10.1089/acm.2009.0317.
- [214] I. Sowa, R. Paduch, M. Strzemeski, S. Zielińska, E. Rydzik-Strzemska, J. Sawicki, R. Kocjan, J. Polkowski, A. Matkowski, M. Latański, M. Wójciak-Kosior, Proliferative and antioxidant activity of *Symphytum officinale* root extract, *Nat. Prod. Res.* 32 (2018) 605–609. doi:10.1080/14786419.2017.1326492.
- [215] R. Valizadeh, A.A. Hemmati, G. Houshmand, S. Bayat, M. Bahadoram, *Wound healing potential of Althaea officinalis flower mucilage in rabbit full thickness wounds*, 2015. doi:10.1016/j.apjtb.2015.07.018.
- [216] R.J.R. S, M. Muthukumar Nadar, M.S. Paulraj, *Plant-Derived Compounds for Wound Healing-A Review*, 2018. doi:10.19080/OMCIJ.2018.04.555653.
- [217] M. Boxi, Y. Rajesh, V. Raja Kumar, B. Praveen, K. Mangamma, *Extraction, phytochemical screening and in-vitro evaluation of anti-oxidant properties of Commicarpus chinesis (Aqueous leaf extract)*, 2010.

[218] S. Kumar, C. Venkateshwar, G. Samuel, S. Gangadhar Rao, Phytochemical Screening of some compounds from plant leaf extracts of *Holoptelea integrifolia* (Planch.) and *Celestrus emarginata* (Grah.) used by Gondu tribes at Adilabad District, Andhrapradesh, India. R. Suman Kumar¹, C. Venkateshwar ², G. Samuel³, S. Ga, 2013.

[219] T. Chatzimitakos, A. Kasouni, L. Sygellou, A. Avgeropoulos, A. Troganis, C. Stalikas, Two of a kind but different: Luminescent carbon quantum dots from Citrus peels for iron and tartrazine sensing and cell imaging, *Talanta*. 175 (2017) 305–312.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.07.053>.

[220] T. Chatzimitakos, A. Kasouni, L. Sygellou, I. Leonardos, A. Troganis, C. Stalikas, Human fingernails as an intriguing precursor for the synthesis of nitrogen and sulfur-doped carbon dots with strong fluorescent properties: Analytical and bioimaging applications, *Sensors Actuators B Chem.* 267 (2018) 494–501.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.04.059>.

[221] T.G. Chatzimitakos, A.I. Kasouni, A.N. Troganis, C.D. Stalikas, Carbonization of Human Fingernails: Toward the Sustainable Production of Multifunctional Nitrogen and Sulfur Codoped Carbon Nanodots with Highly Luminescent Probing and Cell Proliferative/Migration Properties, *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 10 (2018) 16024–16032.
doi:10.1021/acsami.8b03263.

[222] A. Chatzimarkou, T. Chatzimitakos, A. Kasouni, L. Sygellou, A. Avgeropoulos, C. D. Stalikas, Selective FRET-based sensing of 4-nitrophenol and cell imaging capitalizing on the fluorescent properties of carbon nanodots from apple seeds, 2017.
doi:10.1016/j.snb.2017.11.182.

[223] M. Chen, J. Huang, X. Yang, B. Liu, W. Zhang, L. Huang, F. Deng, J. Ma, Y. Bai, R. Lu, B. Huang, Q. Gao, Y. Zhuo, J. Ge, Serum Starvation Induced Cell Cycle Synchronization Facilitates Human Somatic Cells Reprogramming, *PLoS One*. 7 (2012) e28203.
doi:10.1371/journal.pone.0028203.

[224] Z. Darzynkiewicz, E. Bedner, P. Smolewski, Flow cytometry in analysis of cell cycle and apoptosis, *Semin. Hematol.* 38 (2001) 179–193.
doi:[https://doi.org/10.1016/S0037-1963\(01\)90051-4](https://doi.org/10.1016/S0037-1963(01)90051-4).

- [225] N.I. Osman, N.J. Sidik, A. Awal, N.A.M. Adam, N.I. Rezali, In vitro xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis, *J. Intercult. Ethnopharmacol.* 5 (2016) 343–349. doi:10.5455/jice.20160731025522.
- [226] G. Leelaprakash, S.M. Dass, In vitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*, 2011.
- [227] T. Chatzimitakos, A. Kallimanis, A. Avgeropoulos, C.D. Stalikas, Antibacterial, Anti-Biofouling, and Antioxidant Prospects of Metal-Based Nanomaterials, *Clean - Soil, Air, Water.* 44 (2016) 794–802. doi:10.1002/clen.201500366.
- [228] E.M. Gioti, Y.C. Fiamegos, D.C. Skalkos, C.D. Stalikas, Antioxidant activity and bioactive components of the aerial parts of *Hypericum perforatum* L. from Epirus, Greece, *Food Chem.* 117 (2009) 398–404. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.016.
- [229] A.A. Al-Amiery, Y.K. Al-Majedy, A.A.H. Kadhum, A.B. Mohamad, Hydrogen peroxide scavenging activity of novel coumarins synthesized using different approaches, *PLoS One.* (2015). doi:10.1371/journal.pone.0132175.
- [230] C. Park, H.J. Cha, S.H. Hong, G.Y. Kim, S. Kim, H.S. Kim, B.W. Kim, Y.J. Jeon, Y.H. Choi, Protective effect of phloroglucinol on oxidative stress-induced DNA damage and apoptosis through activation of the Nrf2/HO-1 signaling pathway in HaCaT human keratinocytes, *Mar. Drugs.* (2019). doi:10.3390/md17040225.
- [231] Y.H. Liu, Y.S. Lin, Y.W. Huang, S.U. Fang, S.Y. Lin, W.C. Hou, Protective Effects of Minor Components of Curcuminoids on Hydrogen Peroxide-Treated Human HaCaT Keratinocytes, *J. Agric. Food Chem.* (2016). doi:10.1021/acs.jafc.6b01196.
- [232] Y.W. Kim, S.R. Baek, E.S. Lee, S.H. Lee, S.H. Moh, S.Y. Kim, J.H. Moh, C. Kondo, Y.W. Cheon, Wound healing effects of rose placenta in a mouse model of full-thickness wounds, *Arch. Plast. Surg.* 42 (2015) 686–694. doi:10.5999/aps.2015.42.6.686.
- [233] J.Y. Park, J.H. Kwak, K.S. Kang, E.B. Jung, D.S. Lee, S. Lee, Y. Jung, K.H. Kim, G.S. Hwang, H.L. Lee, N. Yamabe, S.N. Kim, Wound healing effects of deoxyshikonin isolated from *Jawoongo*: In vitro and in vivo studies, *J. Ethnopharmacol.* 199 (2017) 128–137. doi:10.1016/j.jep.2016.10.031.

[234] G. Dow, A. Browne, R.G. Sibbald, Infection in chronic wounds: controversies in diagnosis and treatment, *Ostomy. Wound. Manage.* 45 (1999) 22-29,23-27.
<http://europepmc.org/abstract/MED/10655866>.

[235] P. Stephens, I.B. Wall, M.J. Wilson, K.E. Hill, C.E. Davies, C.M. Hill, K.G. Harding, D.W. Thomas, Anaerobic cocci populating the deep tissues of chronic wounds impair cellular wound healing responses in vitro, *Br. J. Dermatol.* (2003). doi:10.1046/j.1365-2133.2003.05232.x.

[236] O.O. Olajuyigbe, A.J. Afolayan, In Vitro antibacterial and time-kill evaluation of the *Erythrina caffra* thunb. Extract against bacteria associated with diarrhoea, *Sci. World J.* (2012). doi:10.1100/2012/738314.

[237] V.A. NICU A.I., PÎRVU L., ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACTS FROM *Agrimonia eupatoria* L. AND *Epilobium hirsutum* L. HERBA, *Sci. Bull. Ser. F. Biotechnol.* XXI (2017) 127-132.

[238] D. Kremer, I. Kosalec, M. Locatelli, F. Epifano, S. Genovese, G. Carlucci, M. Zovko Končić, Anthraquinone profiles, antioxidant and antimicrobial properties of *Frangula rupestris* (Scop.) Schur and *Frangula alnus* Mill. bark, *Food Chem.* (2012). doi:10.1016/j.foodchem.2011.09.094.

[239] S. Berk, B. Tepe, S. Arslan, Screening of the antioxidant , antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of *Asplenium ceterach* DC, *African J. Biotechnol.* (2011). doi:10.5897/AJB11.1011.

[240] A. Miceli, A. Aleo, O. Corona, M.T. Sardina, C. Mammina, L. Settanni, Antibacterial activity of *Borago officinalis* and *Brassica juncea* aqueous extracts evaluated invitro and in situ using different food model systems, *Food Control.* (2014). doi:10.1016/j.foodcont.2013.12.006.

[241] A.M.A. Sadegh Fattahi Ebrahim Zabihi, Zeinab Abedian, Amrollah Mostafazadeh, Roghayeh Pourbagher, Haleh Akhavan-Niaki, Antioxidant and Apoptotic Effects of an Aqueous Extract of *Urtica dioica* on the MCF-7 Human Breast Cancer Cell Line, *Asian Pac. j. Cancer Prev.* 14 (2013) 5317-5323.

- [242] I. Durak, H. Biri, E. Devrim, S. Sözen, A. Avci, Aqueous extract of *urtica dioica* makes significant inhibition on adenosine deaminase activity in prostate tissue from patients with prostate cancer, *Cancer Biol. Ther.* 3 (2004) 855–857.
doi:10.4161/cbt.3.9.1038.
- [243] K. Zouari Bouassida, S. Bardaa, M. Khimiri, T. Rebai, S. Tounsi, L. Jlaiel, M. Trigui, Exploring the *Urtica dioica* Leaves Hemostatic and Wound-Healing Potential, 2017.
doi:10.1155/2017/1047523.
- [244] M. Hormozi, M. Gholami, A. Babaniazi, A.M. Gharravi, *Calendula officinalis* stimulate proliferation of mouse embryonic fibroblasts via expression of growth factors TGF β 1 and bFGF, *Inflamm. Regen.* (2019). doi:10.1186/s41232-019-0097-x.
- [245] G.R. Wang, W.Z. Tang, Q.Q. Yao, H. Zhong, Y.J. Liu, New flavonoids with 2BS cell proliferation promoting effect from the seeds of *Trigonella foenum-graecum* L, *J. Nat. Med.* (2010). doi:10.1007/s11418-010-0407-8.
- [246] P. Boukamp, R.T. Petrussevska, D. Breitkreutz, J. Hornung, A. Markham, N.E. Fusenig, Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line, *J. Cell Biol.* 106 (1988) 761–771. doi:10.1083/jcb.106.3.761.
- [247] I. Kovesdi, S.J. Hedley, Adenoviral producer cells, *Viruses.* 2 (2010) 1681–1703.
doi:10.3390/v2081681.
- [248] G.M. Cooper, R.E. Hausman, The Development and Causes of Cancer, *Cell A Mol. Approach.* (2007). doi:10.1016/j.pbb.2009.09.001.
- [249] A. Taherian, X. Li, Y. Liu, T.A. Haas, Differences in integrin expression and signaling within human breast cancer cells, *BMC Cancer.* 11 (2011) 293.
doi:10.1186/1471-2407-11-293.
- [250] M. Moriyama, H. Moriyama, J. Uda, H. Kubo, Y. Nakajima, A. Goto, J. Akaki, I. Yoshida, N. Matsuoka, T. Hayakawa, Beneficial effects of the genus *Aloe* on wound healing, cell proliferation, and differentiation of epidermal keratinocytes, *PLoS One.* (2016). doi:10.1371/journal.pone.0164799.

- [251] B. Zhao, X. Zhang, W. Han, J. Cheng, Y. Qin, Wound healing effect of an *Astragalus membranaceus* polysaccharide and its mechanism, *Mol. Med. Rep.* (2017). doi:10.3892/mmr.2017.6488.
- [252] A. Mohammadi, B. Mansoori, S. Goldar, D. Shanehbandi, V. Khaze, L. Mohammadnejad, E. Baghbani, B. Baradaran, Effects of *Urtica dioica* dichloromethane extract on cell apoptosis and related gene expression in human breast cancer cell line (MDA-MB-468), *Cell. Mol. Biol.* (2016). doi:10.14715/cmb/2016.62.2.11.
- [253] M. Arun, S. Satish, P. Anima, Herbal boon for wounds, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* (2013).
- [254] C.A. Anosike, O. Obidoa, L.U. Ezeanyika, Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of methanol extract of garden egg (*Solanum aethiopicum*), 2012. doi:10.1186/2008-2231-20-76.
- [255] I. Fierascu, C. Ungureanu, S.M. Avramescu, C. Cimpeanu, M.I. Georgescu, R.C. Fierascu, A. Ortan, A.N. Sutan, V. Anuta, A. Zangfirescu, C.E. Dinu-Pirvu, B.S. Velescu, Genoprotective, antioxidant, antifungal and anti-inflammatory evaluation of hydroalcoholic extract of wild-growing *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) native to Romanian southern sub-Carpathian hills, *BMC Complement. Altern. Med.* 18 (2018) 3. doi:10.1186/s12906-017-2066-8.
- [256] K. Sayah, L. Chemlal, I. Marmouzi, M. El Jemli, Y. Cherrah, M.E.A. Faouzi, In vivo anti-inflammatory and analgesic activities of *Cistus salvifolius* (L.) and *Cistus monspeliensis* (L.) aqueous extracts, *South African J. Bot.* (2017). doi:10.1016/j.sajb.2017.08.015.
- [257] C. Demetzos, K. Dimas, S. Hatziantoniou, T. Anastasaki, D. Angelopoulou, Cytotoxic and anti-inflammatory activity of labdane and cis-clerodane type diterpenes, *Planta Med.* (2001). doi:10.1055/s-2001-17362.
- [258] N. Gañan, F. Bombaldi, A. Alexandre, A. Dias, I. Seabra, J. Zygodlo, E. Brignole, M.E. Braga, H. De Sousa, Anti-inflammatory activity of *Chelidonium majus* extracts obtained by sc-CO₂, 2012.

- [259] I. Süntar, E.K. Akkol, L. Nahar, S.D. Sarker, Wound healing and antioxidant properties: do they coexist in plants?, *Free Radicals Antioxidants*. 2 (2012) 1–7. doi:10.5530/ax.2012.2.2.1.
- [260] P. Tamri, A. Hemmati, M.G. Boroujerdnia, Wound healing properties of quince seed mucilage: In vivo evaluation in rabbit full-thickness wound model, 2014. doi:10.1016/j.ijsu.2014.06.016.
- [261] M. Irshad, M. Zafaryab, M. Singh, M. Rizvi, Comparative Analysis of the Antioxidant Activity of Cassia fistula Extracts, 2012. doi:10.1155/2012/157125.
- [262] M. Cano Sanchez, S. Lancel, E. Boulanger, R. Neviere, Targeting Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in the Treatment of Impaired Wound Healing: A Systematic Review, *Antioxidants*. 7 (2018). doi:10.3390/antiox7080098.
- [263] D.P. Makris, J.T. Rossiter, Heat-induced, metal-catalyzed oxidative degradation of quercetin and rutin (quercetin 3-O-rhamnosylglucoside) in aqueous model systems, *J. Agric. Food Chem.* (2000). doi:10.1021/jf0001280.
- [264] A. Moure, J.M. Cruz Freire, D. Franco Ruiz, J.M. Domínguez, J. Sineiro, H. Domínguez, M. José Núñez, J.C. Parajó, Natural antioxidants from residual sources, *Food Chem.* 72 (2001) 145–171. doi:10.1016/S0308-8146(00)00223-5.
- [265] M. Mohammadpour, M. Behjati, A. Sadeghi, A. Fassihi, Wound healing by topical application of antioxidant iron chelators: Kojic acid and deferiprone, *Int. Wound J.* 10 (2013) 260–264. doi:10.1111/j.1742-481X.2012.00971.x.
- [266] J.A. Wright, T. Richards, S.K.S. Srail, The role of iron in the skin and cutaneous wound healing, *Front. Pharmacol.* 5 (2014) 156. doi:10.3389/fphar.2014.00156.
- [267] C. Proestos, K. Lytoudi, O. Mavromelanidou, P. Zoumpoulakis, V. Sinanoglou, Antioxidant Capacity of Selected Plant Extracts and Their Essential Oils, *Antioxidants*. (2013). doi:10.3390/antiox2010011.
- [268] M.P. Kähkönen, A.I. Hopia, H.J. Vuorela, J.-P. Rauha, K. Pihlaja, T.S. Kujala, M. Heinonen, Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds, *J. Agric. Food Chem.* 47 (1999) 3954–3962. doi:10.1021/jf990146l.

- [269] O.E. Adebiyi, F.O. Olayemi, T. Ning-Hua, Z. Guang-Zhi, In vitro antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of ethanol extract of stem and leaf of *Grewia carpinifolia*, Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci. 6 (2017) 10–14. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2016.12.003>.
- [270] W.A. Dorsett-Martin, Rat models of skin wound healing: A review, Wound Repair Regen. 12 (2004) 591–599. doi:[10.1111/j.1067-1927.2004.12601.x](https://doi.org/10.1111/j.1067-1927.2004.12601.x).
- [271] M.E. Okur, Ş. Ayla, Ş. Batur, A. Yoltaş, E. Genç, S. Pertek, N. Üstündağ Okur, Evaluation of In Situ Gel Containing Pycnogenol for Cutaneous Wound Healing, Medeni. Med. J. (2019). doi:[10.5222/mmj.2019.29053](https://doi.org/10.5222/mmj.2019.29053).
- [272] B.M. Yalcin, H. Pirdal, The carbon monoxide measurements' effect on smokers to give cessation decision in primary care, J. Exp. Clin. Med. (2017). doi:[10.5835/jecm.omu.33.04.010](https://doi.org/10.5835/jecm.omu.33.04.010).
- [273] U. auf dem Keller, A. Kümin, S. Braun, S. Werner, Reactive Oxygen Species and Their Detoxification in Healing Skin Wounds, J. Investig. Dermatology Symp. Proc. 11 (2006) 106–111. doi:<https://doi.org/10.1038/sj.jidsymp.5650001>.
- [274] V.D. Kancheva, L. Saso, S.E. Angelova, M.C. Foti, A. Slavova-Kasakova, C. Daquino, V. Enchev, O. Firuzi, J. Nechev, Antiradical and antioxidant activities of new bio-antioxidants, Biochimie. (2012). doi:[10.1016/j.biochi.2011.08.008](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2011.08.008).

