



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΟΓΝΩΣΙΑΣ ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΑΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Φυτοχημική μελέτη σπερμάτων ελληνικού υβριδίου
Cynara cardunculus L. (Asteraceae)



ΚΟΥΡΤΗ ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ-ΜΑΡΙΑ

ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ,
ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ, ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Αθήνα 2019

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΟΓΝΩΣΙΑΣ ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΑΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

**Φυτοχημική μελέτη σπερμάτων ελληνικού υβριδίου *Cynara
cardunculus* L. (Asteraceae)**

**ΚΟΥΡΤΗ ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ-ΜΑΡΙΑ
ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ, ΑΝΑΠΤΥΞΗ, ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ
ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ**

Αθήνα 2019

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Επιβλέπουσα: **Ι.Β Χήνου**, Καθηγήτρια

Μέλη: Ν. Δαναλάτος, Καθ. Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Π. Μαγιάτης, Αναπλ. Καθ. Φαρμακευτικής ΕΚΠΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά

- Τα μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής που δέχθηκαν να εξετάσουν την εργασία αυτή :
 - Καθ Κα Ιωάννα Χήνου (Επιβλέπουσα)
 - Καθ Νικόλαος Δαναλάτος
 - Αναπλ Καθ Προκόπιος Μαγιάτης
- Την Καθ κα Ιωάννα Χήνου για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, για την ανάθεση του θέματος καθώς και για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας. Οι σημαντικές υποδείξεις της και η συνεχής επιστημονική της καθοδήγηση, διαδραμάτισαν σημαντικό ρόλο στην επιτυχή ολοκλήρωση της διπλωματικής εργασίας
- Την Δρα κα Κωνσταντία Γκραϊκού για την ενθάρρυνση, την αμέριστη συμπαράσταση και υποστήριξη όλο αυτό το διάστημα στο εργαστήριο. Χωρίς την πολύτιμη βοήθεια και καθοδηγησή της δεν θα μπορούσε να περατωθεί αυτή η εργασία.
- Τον Καθ Νικόλαο Δαναλάτο του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την καλλιέργεια, τη συλλογή και την προσφορά των σπερμάτων που μελετήθηκαν
- Τον Καθ G Zengin του Παν/μίου Ικονίου Τουρκίας, για τη διεξαγωγή του μεγαλύτερου μέρους των βιολογικών ελέγχων
- Την μεταπτυχιακή φοιτήτρια Ελισάβετ Βαρβούνη για την βοήθεια της και την υποστήριξη της σε όλη την διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας
- Τους γονείς μου για την ηθική και οικονομική στήριξη που μου παρείχαν κατά την περίοδο των σπουδών μου. Με στήριξαν στις σπουδές μου με διάφορους τρόπους, φροντίζοντας για την καλύτερη δυνατή μόρφωσή μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκε φυτοχημική μελέτη υβριδίου του είδους *Cynara cardunculus* L. (κοινή και εδώδιμη αγκινάρα) ελληνικής καλλιέργειας της οικογένειας Asteraceae, με σκοπό την απομόνωση και τον προσδιορισμό της δομής των μεταβολιτών του. Ως πρώτη ύλη χρησιμοποιήθηκαν τα σπέρματα Ελληνικού υβριδίου που καλλιεργήθηκε και συλλέχθηκε στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (Γεωπονικό Τμήμα) στο Βόλο. Τα σπέρματα του επιλεγμένου υβριδίου μελετήθηκαν φυτοχημικά και απομονώθηκαν χημικές ενώσεις για πρώτη φορά.

Στο θεωρητικό μέρος γίνεται αναφορά, στην ιστορία του φυτού και τις χρήσεις του στη θεραπευτική αλλά και στη διατροφή μας, μέχρι σήμερα. Παράλληλα, πραγματοποιείται μία ανασκόπηση στα μορφολογικά χαρακτηριστικά της οικογένειας Asteraceae και του γένους *Cynara*, στη δρογοχημεία, δρογοφαρμακολογία και τις βιολογικές δράσεις των μεταβολιτών που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα σε άλλα είδη του γένους.

Στο πειραματικό μέρος πραγματοποιήθηκε εκχύλιση του φυτικού υλικού με 3 διαφορετικούς διαλύτες με σειρά αυξανόμενης πολικότητας (κυκλοεξάνιο, διχλωρομεθάνιο και μεθανόλη) ενώ στη συνέχεια ακολούθησαν ξεχωριστές αναλύσεις καθενός εκχυλίσματος.

Στο κυκλοεξανικό εκχύλισμα (ελαιώδες εκχύλισμα- λάδι) πραγματοποιήθηκε σαπωνοποίηση, εστεροποίηση και ανάλυση των προϊόντων της διαδικασίας με αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS).

Το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα αναλύθηκε με την βοήθεια χρωματογραφικών μεθόδων (VLC, TLC και Prep-TLC), με αποτέλεσμα την απομόνωση μεταβολιτών και ταυτοποίηση της δομής τους με την χρήση φασματοσκοπικών μεθόδων. Από το εκχύλισμα αυτό απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν οι παρακάτω μεταβολίτες:

1. Λινελαϊκό οξύ
2. Τριγλυκερίδιο του λινελαϊκού οξέος
3. Αρκτιγενίνη
4. Μείγμα τριγλυκεριδίων λινελαϊκού, ελαϊκού, στεατικού και παλμιτικού οξέος
5. Αιθύλιο της τραχηλογενίνης
6. Τραχηλογενίνη

Στο μεθανολικό εκχύλισμα πραγματοποιήθηκε ανάλυση απομόνωση και καθορισμός δομής των δευτερογενών μεταβολιτών του, με την χρήση αντίστοιχων μεθόδων με το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες που απομονώθηκαν από το μεθανολικό εκχύλισμα ήταν οι εξής:

1. 3,5-δικαφεοϋλκινικό οξύ
2. Τραχηλοσίδης
3. Αρκτιίνη
4. Κυναρινίνη

Το ολικό φαινολικό φορτίο στο υδατικό, μεθανολικό και διχλωρομεθανικό εκχύλισμα προσδιορίστηκε με τη χρήση της μεθόδου Folin-Ciocalteu. Επίσης, στα ίδια εκχυλίσματα πραγματοποιήθηκαν αντιοξειδωτικοί ελέγχοι (TPC, DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP, Metal Chelating, Phosphomolybdenum) και ελέγχοι προσδιορισμού δράσης ενζυμικών αναστολέων (AchE, BchE, Tyrosinase, Amylase, Glycosidase).

ABSTRACT

The subject of the present thesis study is the phytochemical analysis of the seeds of a Greek hybrid cultivar of *Cynara cardunculus* L. (common artichoke) (Asteraceae family). Main purpose of this study was the identification, isolation and structural determination of its secondary metabolites. The seeds of the studied hybrid were cultivated in the experimental field and collected from Prof Danalatos of the Dept of Agriculture of the University of Thessaly, while its metabolites are isolated and structurally determined from the first time, to our knowledge. *Cynara cardunculus* L. (or artichoke) is a well known plant with a long tradition of use as a dietary and medicinal plant, due to its nutritional and pharmacological value respectively.

The plant material has been extracted with three different solvents with increasing polarity (cyclohexane, dichloromethane and methanol) and every extract was studied separately.

The cyclohexane extract was saponified, esterified and then phytochemically studied.

The dichloromethane extract was studied through chromatographic separations such as VLC, prep-TLC afforded to the isolation of :

- Linoleic acid
- Triglyceride of Linoleic acid
- Arctigenin
- Mixture of triglycerides linoleic, oleic, palmitic and stearic acid
- Ethylate of trachelogenin
- Trachelogenin

The methanol extract was studied using similar methods and revealed the presence of:

- 3,5-dicaffeoylquinic acid
- Cynarinine
- Tracheloside
- Arctiin

All metabolites were determined by modern spectral means (1D- and 2D-NMR) and LC-MS.

The antioxidant activity of cyclohexanic, methanolic, and water extracts were evaluated through the determination of total phenolic composition with Folin-Ciocalteu method, as well as DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP, Metal chelating activity and Phosphomolybdenum method and through a panel of enzymatic activities (AchE, BchE, Tyrosinase, Amylase, Glycosidase inhibition).

ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η *Cynara cardunculus* (κν αγκινάρα) είναι ένα πολυετές φυτό που φύεται στη λεκάνη της Μεσογείου και έχει μακρά παράδοση χρήσης ως τρόφιμο, διαιτητικό και φαρμακευτικό φυτό. Έχει χρησιμοποιηθεί στη λαϊκή θεραπευτική έναντι αρκετών ασθενειών όπως ηπατικές νόσους και δυσπεψία. Πρόσφατα έχει ξεκινήσει με επιτυχία καλλιέργεια ενός ελληνικού υβριδίου στα πλαίσια χρήσης των στελεχών του ως βιοκαύσιμο και εναλλακτική πηγή ενέργειας (pellets). Κατά την διάρκεια της διαδικασίας αυτής παράγονται μεγάλες ποσότητες σπερμάτων που ως παραπροϊόντα δεν αξιοποιούνται.

Σκοπός της εργασίας μας ήταν η φυτοχημική ανάλυση των σπερμάτων για την αξιολόγηση τους ως παραπροϊόντα με πιθανή προστιθέμενη θρεπτική ή/και βιολογική αξία. Πιο συγκεκριμένα, για πρώτη φορά πραγματοποιείται απομόνωση χημικών συστατικών από τα σπέρματα αυτά και διερευνάται περαιτέρω η βιολογική τους αξία.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	4
1.1. Οικογένεια Asteraceae	5
1.1.1. Εισαγωγή	5
1.1.2. Μορφολογικά χαρακτηριστικά οικογένειας	5
1.1.3. Γεωγραφική κατανομή	6
1.1.4. Χημεία της οικογένειας Asteraceae	7
1.2. Γένος <i>Cynara</i>	7
1.2.3. Δρογοβοτανική.....	7
1.2.2. Δρογοετυμολογία	13
1.2.1. Δρογοϊστορία	14
1.2.4. Γεωγραφική κατανομή	17
1.2.5. Δρογοχημεία του γένους <i>Cynara</i>	17
1.2.5. Δρογοφαρμακολογία	31
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	50
2.1. Οργανολογία – Τεχνικές διαχωρισμού – Υλικά εργαστηρίου	51
2.1.1. Χρωματογραφικές Τεχνικές.....	51
2.1.2.Τεχνικές επεξεργασίας φυτικού υλικού και εκχυλισμάτων του	52
2.1.3. Όργανα και τεχνικές ταυτοποίησης των φυσικών προϊόντων	53
2.2. Αρχικά εκχυλίσματα	55
2.3. Ανάλυση κυκλοεξανικού εκχύλισματος:	60
2.4. Ανάλυση διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος.....	64
2.4.1. Κλάσματα VLCD1, VLCD2 και VLCD4:	65
2.4.1.1.Χημική ανάλυση κλασμάτων VLCD1, VLCD2 και VLCD4.....	65
2.4.2.1.Κλάσμα D8SS4/D8SS3Z1	69
2.4.2.1.1.Φασματοσκοπική ανάλυση κλάσματος D8SS4/D8SS3Z1	70
2.4.2.2.Κλάσμα D8SS3Z2.....	73
2.4.2.2.1.Φασματοσκοπική ανάλυση κλάσματος D8SS2S1	73
2.4.3.Χρωματογραφικός διαχωρισμός κλάσματος VLCD18	75

2.4.3.1.1.Φασματοσκοπική ανάλυση του κλάσματος CYND1	77
2.4.3.2.Κλάσμα CYND2	78
2.4.3.2.1.Φασματοσκοπική ανάλυση κλάσματος CYND2	79
2.4.3.3. Κλάσμα CYND3	82
2.4.3.3.1. Φασματοσκοπική ανάλυση κλάσματος CYND3	83
2.5.Ανάλυση μεθανολικού εκχυλίσματος	86
2.5.1.Σιλιλίωση αρχικού μεθανολικού εκχυλίσματος.....	86
2.5.2.Χρωματογραφικός διαχωρισμός του μεθανολικού εκχυλίσματος.....	87
2.5.2.1.Κλάσμα MS1S9.....	89
2.5.2.1.1.Φασματοσκοπική ανάλυση κλάσματος MS1S9.....	90
2.5.3.Χρωματογραφικός διαχωρισμόςσε μεθανολικό εκχύλισμα	92
2.5.3.1.Χρωματογραφικός διαχωρισμός κλάσματος MRS3	93
2.5.3.2.Κλάσμα RS2	95
2.5.3.2.1. Φασματοσκοπική μελέτη του κλάσματος RS2	96
2.5.3.3. Χρωματογραφικός διαχωρισμός κλάσματος RS10.....	97
2.5.3.3.1.Κλάσμα RSC2	98
2.5.3.3.1.1.Φασματοσκοπική ανάλυση RSC2	99
2.5.3.4. Χρωματογραφικός διαχωρισμός κλάσματος RS11	104
2.5.3.4.1.Κλάσμα RS11.Z1	105
2.5.3.4.1.1.Φασματοσκοπική ανάλυση RS11.Z1	105
2.5.3.4.2.Κλάσμα RS11.Z2	109
2.5.3.4.2.1 Φασματοσκοπική ανάλυση RS11.Z2	110
3. ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ	115
3.1. Προσδιορισμός ολικού φαινολικού φορτίου.....	115
3.2.Προσδιορισμός ολικών φλαβονοειδών (total flavonoid content – TFC) με τη μέθοδο του χλωριούχου αργιλίου (AlCl ₃).....	116
3.3.Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης.....	118
3.3.1.Εισαγωγή	118
3.3.2.Έλεγχος αντιοξειδωτικής δράσης με αναστολή της ελεύθερης ρίζας DPPH·	118
3.3.3.Έλεγχος αντιοξειδωτικής δράσης με αναστολή της ελεύθερης ρίζας ABTS ⁺	120
3.3.4. Έλεγχος της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο CUPRAC.....	121

3.3.5.Έλεγχος της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο FRAP.....	122
3.3.6.Έλεγχος της αντιοξειδωτικής δράσης με προσδιορισμό του βαθμού χηλικοποίησης μεταλλικών ιόντων (Metal chelating activity).....	124
3.3.7.Έλεγχος της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του φωσφομολυβδαινίου.....	125
3.3.8.Αποτελέσματα αντιοξειδωτικών δράσεων	125
3.4.Προσδιορισμός δράσης ενζυμικού αναστολέα	126
3.4.1.Έλεγχος αναστολής χολινεστερασών.....	126
3.4.2.Έλεγχος αναστολής α-αμυλάσης και α-γλυκοσιδάσης	127
3.4.3.Έλεγχος αναστολής τυροσινάσης	128
4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	131
5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	134

1.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1. Οικογένεια Asteraceae

1.1.1. Εισαγωγή

Η οικογένεια Asteraceae συμπεριλαμβάνει περίπου 1,620 γένη και περισσότερα από 23,000 είδη. Αποτελεί την δεύτερη μεγαλύτερη οικογένεια των Σπερματόφυτων και ανήκει στην τάξη των Asterales. Το όνομα της προέρχεται από το γένος *Aster*, ή από την ελληνική λέξη Αστήρ ή αστέρι και συνδέεται με τη χαρακτηριστική μορφή αστεριού του άνθους των φυτών της οικογένειας. Παλιότερα, η οικογένεια αυτή ήταν γνωστή και ως Compositae, όνομα που είναι ακόμη σε ισχύ και σημαίνει σύνθετος. Το όνομα αυτό αναφέρεται στην σύνθετη ταξιανθία, το κεφάλιο, που είναι χαρακτηριστικό της οικογένειας.

Η τάξη Asterales είναι η κύρια αντιπροσωπευτική τάξη των ανθοφόρων φυτών και συμπεριλαμβάνει 11 οικογένειες και 26,870 είδη. Σύμφωνα με την Angiosperm Phylogeny Group III (APGIII) βοτανική κατάταξη, η τάξη Asterales ανήκει στην ομάδα euasteridII. Κυρίαρχες οικογένειες της τάξης αυτής είναι οι Asteraceae και Campanulaceae, ενώ πολύ μικρότερο ποσοστό ειδών εμφανίζουν οι οικογένειες Goodeniaceae, Stylidiaceae, Menyanthaceae, Calyceraceae, Rousseeaceae, Pentaphragmataceae, Alseuosmiaceae, Phellinaceae και Argophyllaceae. Μεταξύ των μελών των αναφερθέντων οικογενειών παρατηρείται γενετική σύνδεση, αρχικά με βάση των χημικών χαρακτηριστικών τους, όπως είναι η παρουσία ελαγικού οξέος και ινουλίνης, αλλά και βάση μορφολογικών ομοιοτήτων (Xiaoping & Bremer, 1993).

1.1.2. Μορφολογικά χαρακτηριστικά οικογένειας

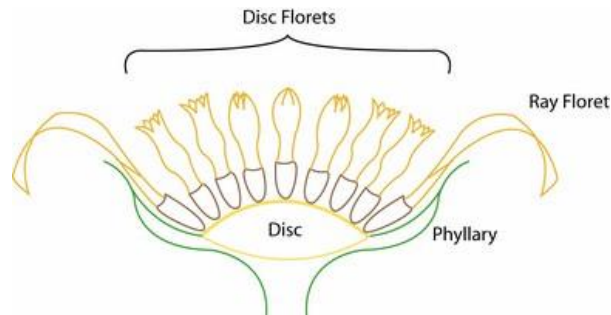
Οι αντιπρόσωποι της οικογένειας εμφανίζουν μεγάλη ποικιλομορφία. Η πλειοψηφία των μελών της είναι ποώδη φυτά, χωρίς να απουσιάζουν πολυετή φυτά με σαρκώδης ρίζες. Σπάνια είναι η παρουσία επίφυτων και υδρόβιων ειδών, ενώ περιορισμένη είναι η παρουσία δενδρωδών φυτών και θάμνων. Επιπρόσθετα, πιθανή είναι και η παρουσία αναρρηχητικών ειδών.

Το πιο ενδεικτικό και χαρακτηριστικό γνώρισμα των αντιπροσώπων της οικογένειας, που προσδίδει και το βοτανικό όνομα της οικογένειας όπως προαναφέρθηκε είναι η ταξιανθία τους. Η ταξιανθία αποτελείται από ένα ή περισσότερα κεφάλια τα οποία αναφέρονται και ως ανθικές κεφαλές. Κάθε κεφαλή περιβάλλεται εξωτερικά με βράκτια φύλλα ή φυλλάρια και συνήθως είναι ανεξάρτητα και τοποθετημένα με την μορφή κεραμιδίων στέγης, ώστε το ένα να επικαλύπτει το άλλο. Το σύνολο των βράκτιων φύλλων που περιβάλλει τις κεφαλές είναι γνωστό και ως κάλυκας. Μετά την γονιμοποίηση ο κάλυκας αναπτύσσεται πάνω στον καρπό και μεταμορφώνεται σε λέπια, άκανθες ή τρίχες. Εσωτερικά της κεφαλής εμφανίζονται πολλά ανεξάρτητα, άμισχα άνθη, τα οποία ονομάζονται ανθίδια. Τα ανθίδια είναι αρρενοθήλα, μονογενή ή άγονα και μπορεί να είναι διατεταγμένα ακτινόμορφα ή ζυγόμορφα. Οι κεφαλές ανάλογα με το τύπο των ανθιδίων που φέρουν μπορούν να διαχωριστούν σε πέντε τύπους: α)δισκοειδή β)δισκόμορφες, γ)ακτινωτές, δ)γλωσσοειδές και ε)ακτινωτές. Ένα άλλο μορφολογικό χαρακτηριστικό που παρατηρείται είναι η παρουσία ωοθήκης υποφυής με δύο

συμφυή καρπόφυλλα, η οποία είναι μονόχωρη. Διάφοροι τύποι υπάρχουν και στα φύλλα, τα οποία μπορεί να είναι απλά, ή διαιρεμένα, κατ'εναλλαγή, αντίθετα ή σε σπόνδλους. Οι στήμονες είναι πέντε στα διγενή άνθη, σπάνια είναι η περίπτωση να είναι τέσσερις. Μορφολογικά είναι επιπέταλοι, με ελεύθερα νήματα και ενωμένους ανθήρες από τον οποίο εξέρχεται ο στύλος με το δισχιδές στίγμα. Ο καρπός είναι τύπου αχαινίου με το ιδιαίτερο γνώρισμα ότι στερείται ενδοσπερμίου (Harris M., 1995; Xiaoping & Bremer, 1993). Η οικογένεια χωρίζεται σε δύο υποοικογένειες, την Asteroideae και την Cichorioideae. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που χρησιμοποιήθηκαν για τον διαχωρισμό των δύο υποοικογενειών είναι οι διαφορές που εμφανίζουν στην ταξιανθία, στον ανθήρα και στο μορφολογικό στύλ. (Penero & Crozier, 2012)



Εικόνα.1: Παράδειγμα ταξιανθίας φυτού που ανήκει στην οικογένεια Asteraceae (Elomaa,2018)



Εικόνα.2: Διευθέτηση ταξιανθίας

1.1.3. Γεωγραφική κατανομή

Τα φυτά της οικογένειας Asteraceae απαντώνται παγκοσμίως με εξαίρεση την Ανταρκτική. Εμφανίζονται σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές, όπως της Μεσογείου, της Νότιας Αμερικής, Ν. Αφρικής, του Μεξικού, των Άνδεων, της Ανατολικής Βραζιλίας, Κεντρικής Ασίας και της Νοτιοδυτικής Κίνας. Συγκεκριμένα, ένας αξιόλογος αριθμός φυτικών ειδών ευδοκούν

σε αρκτικές, άρκτο-αλπικές, εύκρατες και στις ορεινές χλωρίδες σε όλο τον κόσμο. Οι μόνες περιοχές που υστερεί σε αντιπροσώπους είναι αυτές του βροχερού τροπικού δάσους. Γενικά, τα φυτικά είδη της οικογένειας αυτής συναντώνται παντού.

1.1.4. Χημεία της οικογένειας Asteraceae

Οι κυριότεροι δευτερογενείς μεταβολίτες που χαρακτηρίζουν την οικογένεια Asteraceae είναι τα φλαβονοειδή, τα πολυακετυλένια, τα σεσκιτερπένια (σεσκιτερπενικές λακτόνες), τερπενοειδή πτητικά έλαια και ορισμένα είδη αλκαλοειδών. Τα πολυακετυλένια που εμφανίζονται στην οικογένεια μπορεί να είναι κυκλικά, αρωματικά ή ετεροκυκλικά.

1.2. Γένος *Cynara*

1.2.3. Δρογοβοτανική

Το γένος *Cynara* ανήκει στην υποοικογένεια Cynareae, της μεγαλύτερης οικογένειας των Compositae. Το γένος αυτό περιλαμβάνει 8 είδη και 2 καλλιεργητικές ποικιλίες, είναι μόνοφυλετικό και χαρακτηριστικό του γένους είναι τα μεγάλα βράκτια φύλλα και οι στρογγυλοί ανθήρες. Ανήκει στη χλωρίδα της Μεσογείου, με το είδος *Cynara cardunculus* να είναι το πιο διαδεδομένο. Παρατηρείται χρήση των φυτών του γένους ως λαχανικά αλλά και ως διακοσμητικά φυτά.

ΒΟΤΑΝΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ

Πίνακας 1: Βοτανική κατάταξη <i>Cynara cardunculus</i>	
Βασίλειο	Plantae
Φύλο	Spermatophyta (υποδιαίρεση: Angiospermae)
Κλάση	Dicotyledonae
Τάξη	Asterales
Οικογένεια	Asteraceae
Γένος	<i>Cynara</i>
Είδος	<i>Cynara cardunculus</i> L.

Τα φυτά που ανήκουν στο γένος αυτό είναι συνήθως ποώδη και η πλειοψηφία τους είναι ακανθόφυλλα. Τα είδη *Cynara* είναι πολυετή φυτά, ενώ ετήσια είδη έχουν παρατηρηθεί στο είδος *cardunculus* που περιλαμβάνει την άγρια και την καλλιεργούμενη αγκινάρα. Το ύψος των

φυτών του γένους κυμαίνεται από 0.5m μέχρι 2m. Θεωρείται μονοφυλετικό γένος. Χαρακτηριστική είναι η ταξιανθία τους που αποτελείται από ένα ή περισσότερα κεφάλια τα οποία αναφέρονται και ως ανθικές κεφαλές. Οι κεφαλές τους είναι συμπτυκνωμένοι βότρους και έχουν σχήμα ωοειδές ή σφαιρικό. Αποτελούνται από πολλά ανεξάρτητα, άμισχα άνθη, τα οποία μοιράζονται τον ίδιο ταξιανθιακό δίσκο. Ο δίσκος της ταξιανθίας είναι σαρκώδης και τριχωτός. Τα ανθίδια, που απαρτίζουν τις κεφαλές είναι σωληνοειδή, ισομήκη με χρώματα ιώδη, ερυθροϊώδη ή λευκά. Ένα άλλο χαρακτηριστικό του γένους είναι οι στρογγυλοί ανθήρες που παρατηρούνται στις κεφαλές. Κάθε κεφαλή περιβάλλεται εξωτερικά με βράκτια φύλλα τα οποία συνήθως είναι ανεξάρτητα και τοποθετημένα με την μορφή κεραμιδίων στέγης, ώστε το ένα να επικαλύπτει το άλλο. Αυτά τα ισχυρά, επάλληλα βράκτια φύλλα, είναι πλατεία στη βάση τους αλλά στενεύουν στην κορυφή τους με αποτέλεσμα να σχηματίζεται ισχυρό αγκάθι ή μικρή ακίδα. Εξωτερικά σχηματίζουν τον πάππο και στο εσωτερικό του παρατηρούνται μακριές τρίχες που είναι πτεροειδής και συμφυσείς στη βάση. Αυτές οι μακριές τρίχες που αναπτύσσονται από το περικάρπιο στρώμα του πάππου αποτελούν ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά του γένους. Τα φύλλα είναι άκαμπτα, κιτρινωπά και ακανθώδη σε όλα τα γένη. Ο καρπός είναι αχάινιο και έχει σχήμα τετράγωνο.

Τα κυριότερα είδη που ανήκουν στο γένος *Cynara* είναι τα ακόλουθα: (Robba L., *et al.*, 2005), (Wiklund , 1992), (Franco, 1976)

α) Κινάρα η καρδούνκουλος (*Cynara cardunculus*)

Το είδος *Cynara cardunculus* μπορεί να αναφέρεται και με τα ακόλουθα συνώνυμα:

1.	<i>Carduus cardunculus (L.) Baill.</i>
2.	<i>Carduus cynara</i> E. H. L. Krause
3.	<i>Carduus scolymus</i> Baill.
4.	<i>Cnicus communis</i> Lam.
5.	<i>Cynara cardunculus</i> var. <i>Altilis</i> DC.
6.	<i>Cynara cardunculus</i> var. <i>cardunculus</i>
7.	<i>Cynara cardunculus</i> subsp. <i>cardunculus</i>
8.	<i>Cynara cardunculus</i> var. <i>elata</i> Cavara
9.	<i>Cynara cardunculus</i> var. <i>ferocissima</i> Lowe
10.	<i>Cynara cardunculus</i> var. <i>inermis</i> DC.
11.	<i>Cynara cardunculus</i> var. <i>scolymus (L.) Benth.</i>
12.	<i>Cynara cardunculus</i> var. <i>sylvestris (Lam.) Fiori</i>
13.	<i>Cynara Corsica</i> Viv.
14.	<i>Cynara ferox</i> Ten. ex Steud.
15.	<i>Cynara horrida</i> Aiton
16.	<i>Cynara spinosissima</i> J. Presl & C. Presl
17.	<i>Cynara sylvestris</i> Lam.

(Plant List, 2018)

Πολυετές C3 φυτό, με βαθιές ρίζες που εμφανίζεται κυρίως στη λεκάνη της Μεσογείου. Ο βλαστός του φυτού είναι όρθιος, ισχυρός πολυγωνικός και η πόα έχει ύψος 80-150 cm. Χαρακτηριστικό γνώρισμα του είναι ότι έχει κεφαλές μεγάλες, σφαιρικές ή ωοειδής, οι οποίες περιβάλλονται από φύλλα λογχοειδή που καταλήγουν σε ισχυρές ακάνθες. Το φυτό ανταποκρίνεται πολύ καλά στο ξηροθερμικό κλίμα της Ευρώπης και εμφανίζει πολλές χρήσεις. Μπορεί να αξιοποιηθεί ως τροφή αλλά και ως πρώτη ύλη στη βιομηχανία χαρτιού.

Τα σπέρματα που αναλύθηκαν στην παρούσα φυτοχημική μελέτη προέρχονται από υβρίδιο του *Cynara cardunculus* ελληνικής καλλιέργειας. Το υβρίδιο αυτό αναπτύχθηκε για χρήση του ως εναλλακτική πηγή ενέργειας. Στο είδος *C. cardunculus* συμπεριλαμβάνονται οι παρακάτω ποικιλίες:

- ✓ *Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori (γνωστή και ως *C. scolymus* ή edώδιμη globe artichoke)
- ✓ *C. cardunculus* var. *altilis* DC (γνωστή και ως καλλιεργούμενη φυλλώδης leafy cardoon) και
- ✓ *C. cardunculus* var. *sylvestris* Lam (που είναι γνωστό και ως άγριο είδος).

Σε προηγούμενες κατατάξεις του γένους θεωρούσαν την edώδιμη globe artichoke ως ξεχωριστό άγριο είδος το οποίο ονόμαζαν *C. scolymus*. Σύμφωνα όμως με την Wiklund, η globe artichoke, η cultivated cardoon και το άγριο είδος *C. cardunculus* var. *sylvestris* Lam. ανήκουν στο ίδιο είδος, *C. cardunculus* L. Για τον λόγο αυτό δεν υπάρχει πλέον ως είδος το *C. scolymus* και όσες αναφορές υπάρχουν στο *C. scolymus* αφορούν το *C. cardunculus* var. *scolymus* (L.) Fiori (Sonnante, et al., 2007)

Το άγριο είδος *C. cardunculus* var. *sylvestris* Lam. διαχωρίζεται σε περαιτέρω σε δύο υποείδη: α) *C. cardunculus* subsp. *cardunculus* και β) *C. cardunculus* subsp. *flavescens*. Τα δύο αυτά υποείδη διαφέρουν κυρίως στο χρώμα των βράκτιων φύλλων τους και στο σχήμα των στελεχών τους. Το subsp. *cardunculus* εμφανίζει πιο οξεία στελέχη ενώ στο subsp. *flavescens* χαρακτηριστική είναι η παρουσία ενός κίτρινου στίγματος στο κέντρο των βράκτιων φύλλων. Επίσης, το *C. cardunculus* subsp. *cardunculus* εμφανίζεται κυρίως στη Κύπρο, Ελλάδα, κεντρική και Ν. Ιταλία, Σικελία και Σαρδηνία ενώ το *C. cardunculus* subsp. *flavescens* εμφανίζεται στην Ιβηρική χερσόνησο και στα Κανάρια νησιά (Wiklund, 1992).

β) *Cynara cyrenaica* Maire & Weiller

Πολυετές φυτό με βαθιές ρίζες, το οποίο εμφανίζει ελαφριά έως μέτρια διακλάδωση. Το φυτό μπορεί να φτάσει μέχρι 80 cm σε ύψος. Το στέλεχος του έχει πλάτος 6-9 mm, κροκιδωτό με μικρές τρίχες και είναι αδενώδες. Τα φύλλα εμφανίζονται συσσωρευμένα στη βάση τους και είναι τοποθετημένα κατά μήκος του στελέχους. Το περίγραμμα τους είναι λογχοειδές με

πρυμναία βάση και κορυφή πτερυγίου. Φύεται σε περιοχές με ορυκτό έδαφος, ενώ έχει καταγραφεί συλλογή του σε υψόμετρο μεταξύ 25 και 30 m. Εμφανίζεται κυρίως στη περιοχή Cyrenaica της Λιβύης ενώ πιο σπάνια μπορεί εμφανιστεί στη περιοχή της Κρήτης (Wiklund, 1992).

γ) *Cynara humilis* (Κινάρα η ταπεινή)

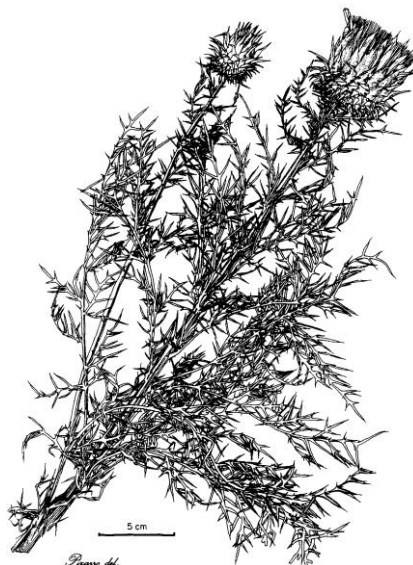


Figure 4. *Cynara humilis*, habit. Cáceres, Casatejada, 1982. Belmonte (MAF).

Εικόνα 3: *Cynara humilis* (Annette Wiklund, 1992)

Για το συγκεκριμένο είδος έχουν καταγραφεί τα παρακάτω συνώνυμα:

1.	<i>Bourgaea humilis</i> (L.) Coss.
2.	<i>Bourgaea humilis</i> var. <i>humilis</i>
3.	<i>Bourgaea humilis</i> var. <i>leucantha</i> Coss.
4.	<i>Cynara humilis</i> var. <i>humilis</i>
5.	<i>Cynara humilis</i> var. <i>leucantha</i> (Coss.) Cout.
6.	<i>Cynara humilis</i> var. <i>reflexa</i> Batt.
7.	<i>Cynara humilis</i> var. <i>walliana</i> Maire.

(ThePlantList, 2018)

Πολυετής πόα με το ύψος της να κυμαίνεται από 15 μέχρι 80 cm και παρουσιάζει μία ελαφριά διακλάδωση. Το στέλεχος του φτάνει τα 3,5-10 mm σε πλάτος. Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό που διακρίνει το είδος *Cynara humilis* από τα υπόλοιπα είδη του γένους *Cynara* είναι τα φύλλα του. Έμφανίζουν ένα χαρακτηριστικό ιώδες χρώμα που μεταπίπτει σε καστανό. Είναι σχετικά μικρό σε μέγεθος και εμφανίζεται σε περιοχές όπως: Ισπανία, Πορτογαλία, Μαρόκο και Αλγερία. (Curci & Sonnante, 2015).

δ) *Cynara syriaca* Boiss.

Πολυετής ποά που μπορεί να φτάνει σε ύψος μέχρι και 70 cm με μέτρια διακλάδωση. Το στέλεχος του φυτού έχει πλάτος 6-13 mm και είναι τριχωτό και αδενώδες, με τα φύλλα εκφυόμενα κατά μήκος του στελέχους (Wiklund, 1992).

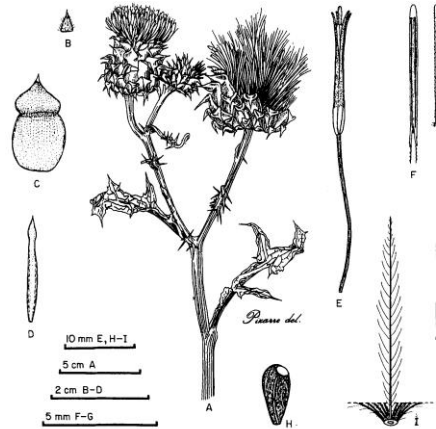


Figure 12 *Cynara syriaca*. A. Habit. B-D. Involucral bracts. E. Corolla with style. F. Stamen. G. Style. H. Cypella. I. Part of pappus. A-I. Syria, Kleopas, artistid, 1963, herb. *Montebl. FT12* (C).

Εικόνα 4: *Cynara syriaca*

ε) *Cynara tournefortii* Boiss. & Reut.

Τα συνώνυμα που έχουν καταγραφεί για το είδος αυτό είναι:

1.	<i>Arcyna tournefortii</i> (Boiss. & Reut.) Wiklund
2.	<i>Bourgaea tournefortii</i> (Boiss. & Reut.) Willk.
3.	<i>Cynara macrocephala</i> Pau.

Βασικό χαρακτηριστικό του φυτού αυτού είναι η έλλειψη βλαστού. Τα κεφάλια που παρουσιάζει είναι ανάλογα με εκείνα των άλλων ειδών κινάρας, τα οποία έχουν στεφάνη κυανή και ακανθώδη βράκτεια φύλλα. Η περίοδος άνθησης του φυτού είναι από Ιούνιο μέχρι Ιούλιο. Είναι από τα σπάνια είδη και η εμφανισή του περιορίζεται στο κεντρικό και νότιο τμήμα της Ισπανίας και της Πορτογαλίας και στο βόρειο Μαρόκο. Θεωρείται ότι το είδος αυτό είναι αρκετά κοντινό με το *Cynara algarbiensis*. (Aaron Rottenberg, 2014)

ζ) *Cynara algarbiensis* Mariz

Πολυετής πόα με βαθιές ρίζες και ύψος 70 cm. Δεν εμφανίζει διακλαδώσεις, με εξαίρεση την παρουσία ελαφριάς διακλάδωσης στις κορυφές της. Διαχωρίζεται από τα υπόλοιπα είδη *Cynara* από τα φύλλα, τα οποία εμφανίζουν οξέα άκρα. Το φυτό αυτό είναι ενδημικό στον νοτιοδυτικό τομέα της Ιβηρικής Χερσονήσου, αλλά εμφανίζεται και σε ορισμένες περιοχές της Ισπανίας και της Πορτογαλίας. Έχει συλλεχθεί σε υψόμετρα που κυμαίνονται από την επιφάνεια της θάλασσας μέχρι και 500 m. Είναι δυνατή η ανάπτυξη του σε ασβεστολιθικά και αργιλώδη υποστρώματα, ενώ μέχρι τώρα έχει βρεθεί σε χωράφια αλλά και κατά μήκος δρόμων (Wiklund, 1992).

η) *Cynara auranitica* Post

Συνώνυμο που έχει καταγραφεί για το συγκεκριμένο είδος είναι:

1.	<i>Cynara kurdica</i> Hand-Mazz
----	---------------------------------

Πολυετής πόα που φτάνει μέχρι ύψος 200 cm και μπορεί να εμφανίζεται είτε με χωρίς διακλαδώσεις είτε με ελάχιστες διακλαδώσεις και παχιά ρίζα. Το στέλεχος του φυτού έχει πλάτος 6-19 mm και τα φύλλα εκφύονται κατά μήκος του στελέχους. Χαρακτηριστικό του είδους αυτού είναι τα πλατιά ενδιάμεσα βράκτια φύλλα και οι μακριές προστατευτικές τρίχες (Wiklund, 1992).



Figure 14. *Cynara auranitica*, habit. Gust 4940 (K).

Εικόνα 5: *Cynara auranitica* Post

θ) *Cynara baetica* (Spreng.) Pau

Για το είδος αυτό έχουν καταγραφεί τα παρακάτω συνώνυμα :

1.	<i>Cirsium baeticum</i> Spreng.
2.	<i>Cirsium horridum</i> (Lag.) Lag.
3.	<i>Cynara alba</i> Boiss. exDC
4.	<i>Cynara baetica</i> subsp. <i>Baetica</i>
5.	<i>Cynara hystrix</i> Ball.

Χαρακτηριστικό αυτού του είδους είναι η παρουσία σκούρου χρώματος στην περιφέρεια των βρακτείων φύλλων της κεφαλής αλλά και το λευκό χρώμα που έχουν οι φλέβες στην κάτω επιφάνεια των φύλλων. Τα άνθη του είναι λευκά και φύεται κυρίως στη νότια Ισπανία και στο βόρειο Μαρόκο. (Aaron Rottenberg, 2014)

ι) *Cynara cornigera* Lindl.

Τα συνώνυμα για το συγκεκριμένο είδος είναι :

1.	<i>Cynara sibthripiana</i> Boiss. & Heldr.
2.	<i>Cynara sibthripiana</i> var. <i>elata</i> Beg &Vacc.
3.	<i>Cynara sibthripiana</i> var. <i>mauginiana</i> Pamp.
4.	<i>Cynara sibthripiana</i> var. <i>sibthripiana</i> .

Ποά πολυετής με παχιά ρίζα και ύψους μέχρι 50 cm, με καθόλου έως ελαφριά διακλάδωση. Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό αναγνώρισης αυτού του είδους είναι η ποικιλομορφία των φύλλων του. Ανήκει στα είδη που εμφανίζονται στην Ανατολική Μεσόγειο. Εμφανίζεται στο ελληνικό αρχιπέλαγος, καθώς και στην Κύπρο και κατά μήκος των ακτών της Λιβύης και της Αιγύπτου. Έχει πραγματοποιηθεί συλλογή του σε υψόμετρα από το επίπεδο της θάλασσας έως και 450 m. Φύεται σε ερημιές, ορεινές, βραχώδεις ή πετρώδεις περιοχές σε ασβεστολιθικά εδάφη (Wiklund, 1992).

1.2.2. Δρογοετυμολογία

Το όνομα του γένους κινάρα περιέχει την ρίζα κιν- που συναντάται σε ακανθώδη φυτά (Χήνου, 1988). Το “kynara” θα μπορούσε επίσης να προέρχεται από το όνομα του από την πρόταση της Collumela για λίπανση του φυτού με στάχτες (Cineres). Παρά τη συμμετοχή των Αράβων στη διασπορά της αγκινάρας παγκοσμίως μόνο τα ονόματα του φυτού στα Ιταλικά, Ισπανικά και Πορτογαλικά (Carciofo, Alcachofa, Alcachofra αντίστοιχα) είναι αυτά που έχουν προέλευση την αραβική ονομασία ‘al harshuff’. Ακόμα και η ονομασία στα Αγγλικά, Γαλλικά, Γερμανικά, στις

βόρειες χώρες και στα ρωσικά προέρχονται από τα λατινικά *Alcocalum*, *Articocalus*, *Articiocco* και *Articocha* που σχετίζονται με το λατινικό *coculum*. Στα ελληνικά η αγκινάρα σχετίζεται με την λέξη κύον που σημαίνει σκύλος, πιθανότατα λόγω των ακανθωτών φύλλων της που προσομοιάζουν δόντια σκύλου (Sonnante, 2007) . Ο Διοσκουρίδης είχε ονομάσει το φυτό αγριοαγκινάρα, άκανθα λευκή, δονακίτις, ερυσίσκηπτρον, ενώ από τον Θεόφραστο είχε ονομαστεί ως Σικελική κάκτος.

Ορισμένες ελληνικές λαϊκές ονομασίες του φυτού *C. cardunculus* είναι: αγριοαγκινάρα, αρκοτσυνάρα, καυκαρούδα, χώστη (στη Κύπρο και Κρήτη), ασκόμπαφλος και κουκούτσα (στην Κέρκυρα). (Χήνου, 1988)

Στα αγγλικά το φυτό ονομάζεται ως: artichoke, Garden Artichoke, artichoke globe, Cordy, Cardoon. Οι γαλλικές ονομασίες του φυτού είναι: artichaut, artichaut commun, Artichaut Cultivé, Chardon, d Espagne, Bérigoule, Artichaut sauvage, Carde, cardonette, chardonett. Στα γερμανικά το φυτό ονομάζεται: Kardone, Scolymon, Artischoke, Gemuse-Artischoke, ενώ η ιταλική του ονομασία είναι είναι: Carciofo, Carducci, alcarxof, Feg a, Khorshef, Kharshuf, Khorshef en, και στα τούρκικα αναφέρεται ως εγκινάρ. (Χήνου, 1988)

1.2.1. Δρογοϊστορία

Το γένος *Cynara* εμφανίζεται κυρίως στην Μεσόγειο. Η αγκινάρα υπάρχει στη διατροφή μας, από την εποχή της αρχαίας Ελλάδας και αρχαίας Ρώμης.

Η αγκινάρα ήταν γνωστή στους αρχαίους και συχνά αναφέρεται με διάφορα ονόματα. Από την αρχαιότητα την χρησιμοποιούσαν για θεραπευτικούς σκοπούς. Την θεωρούσαν όπως και σήμερα, φάρμακο για τις παθήσεις του ήπατος και γενικότερα για προβλήματα του γαστρεντερικού συστήματος.

Σε πολλές ελληνικές περιοχές αρχικά Κινάρα ή Κυνάρα ονομαζόταν είδος ακανθώδους θάμνου και πιθανώς είδος Ροδής (Αθην. Β, 70, a-d Ρόδη η κυνορόδη). Στην Αίγυπτο η *Cynara cardunculus* ήταν ιθαγενής και ονομαζόταν Κινάρα από την εποχή του Μ. Αλεξάνδρου. Αυτό επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι αυτό το όνομα το αναφέρει ο Σώπατρος Πάπιος, ο Πτολεμαίος Ευεργέτης. Αναφέρεται στην αγριαγκινάρα λέγοντας: «πολλής δέ εν τοίς τόποις (τοίς περί Βερενίκην της Λιβύης) κινάρας φυόμενης οί τε συνακολουθούντες ημίν στρατιώται πάντες δρεπόμενοι συνεχρώντο καί ημίν προσέφερον ψιλούντες των ακάνθων» (Αθην. Β, 71, C). (Χήνου, 1988)

Ο Θεόφραστος (371-287 π.Χ) αναφέρεται στην Κυνάρα σκόλυμον (*Cynara scolymus*), την οποία ονομάζει «κάκτον» στο βιβλίο του «Περί φυτών ιστορίας». Αναφέρει ότι καλλιεργούνταν στην Ιταλία και στη Σικελία και ήταν γνωστή στους αρχαίους Έλληνες και στους Ρωμαίους. (Sonnante, *et al.* , 2007). Επίσης, ο Θεόφραστος την περιγράφει ως εξής : «Η δε κάκτος

καλούμενη περί Σικελίαν μόνον, εν τη Ελλάδι δε ουκ εστίν». (Φ. Ι-6,4,10), γεγονός που προδίδει ότι η καλλιέργεια της αγριαγκινάρας δεν έχει αρχίσει από την Ελλάδα. Επίσης, αναφέρει «αφήση γάρ ευθύς από της ρίζης καύλους επίγειους, το δέ φύλλον έχει πλατύ και ακανθώδες» περιγράφοντας τους επίγειους μίσχους που παρατηρούνται απευθείας από τη ρίζα και τα φύλλα του φυτού τα οποία είναι πλατιά και έχουν αγκάθια. Επιπρόσθετα, αποκαλύπτει ότι τα αυτοί οι μίσχοι για να είναι φαγώσιμοι επειδή είναι λίγο πικροί έπρεπε να πραγματοποιηθεί φύλαξη τους σε άλμη και ότι αποκαλούσαν αυτούς τους μίσχους κάκτους, λέγοντας «καλουσι δέ τους καυλούς τούτους κάκτους· Εδώδιμοι δε είσι περιλεπόμενοι μικρόν επίπικροι και θησαυρίζουσιν αυτούς εν άλμη». Ως «πτέρνικα» ονόμαζαν τον ορθό μίσχο του φυτού, ο οποίος ήταν και φαγώσιμος χωρίς να χρειαστεί να φυλαχθεί. Αναφέρεται και για «το περικάρπιο εν ώ τό σπέρμα τήν μέν μορφήν άκανωδες, αφαιρεθέντων δέ των παππώδων σπερμάτων εδώδιμων και τούτο και εμφερές του φοίνικος εγκέφαλω ,καλούσι δέ αυτό σκαλίαν» δηλαδή το περικάρπιο το οποίο περιβάλλει το σπέρμα, που είναι εδώδιμο και αυτό όταν αφαιρεθούν από αυτό τα χνούδια.

Σύμφωνα με τον Διοσκουρίδη, στο βιβλίο του «Περί δηλητηρίων φαρμάκων, 33» αναφέρεται στην «ακάνθης της καλούμενης Κάκτου» και προτείνει την χρήση των νεαρών πάππων του άνθους του φυτού ως αντίδοτο σε περίπτωση εμετού. Επίσης, επιβεβαιώνεται η ύπαρξη της *Cynara scolymus* την εποχή του Διοσκουρίδη. Αναφέρεται σε αυτή ως η σκόλυμος και την περιγράφει να έχει παχύ βλαστό γεμάτο φύλλα, πάνω στον οποίο βρίσκεται ένα ακανθώδες κεφάλι. Η ρίζα του φυτού είναι παχιά και θεωρούσε ότι σε αυτή βρίσκεται η δύναμη του φυτού, δηλαδή η φαρμακευτική του ιδιότητα. Επιπρόσθετα, αναφέρει ότι κάνει καλό σε αυτούς που έχουν πρόβλημα δυσσομίας, αφού ψηθεί/βρασθεί σε κρασί, μπορεί όμως να προκαλέσει πολλά και δύσοσμα ούρα. Η πόα του σκόλυμου μόλις βλαστήσει τρώγεται σαν λαχανικό όπως το σπαράγγι.



Εικόνα 6 :Κινάρα σκόλυμος, όπως απεικονίζεται στο βιβλίο του Διοσκουρίδη, «Περί ύλης ιατρικής»

Ο Πλίνιος επίσης, ονομάζει το φυτό « Κάκτον καλούμενη περί Σικελίαν μόνον» τονίζοντας και αυτός την απουσία του φυτού από την Ελλάδα. Αναφέρεται και στα ακανθώδη φύλλα αλλά και κεφάλια του φυτού.

Στην αρχαία Ρώμη έτρωγαν την αγκινάρα με μέλι και ζύδι και καρυκευμένη με κύμινο. Πιστεύεται ότι το είδος δημιουργήθηκε από καλλιέργεια της αγριαγκινάρας (*C. cardunculus*). Μετά την πτώση της Ρώμης, η αγκινάρα έπεσε σε δυσμένεια, αν και φαίνεται ότι καλλιεργήθηκε από τους Άραβες.

Η αγκινάρα ήταν γνωστή και στους Βυζαντινούς, γεγονός που επιβεβαιώνεται από την αναφορά στην «Παλατινή ανθολογία» στο XIV βιβλίο «περί αριθμητικών και γρίφων» όπου υπάρχει γρίφος αναφερόμενος «εις κινάραν». Επίσης, επί της βασιλείας του Διοκλητιανού (284-305 μ.Χ) το φυτό Κ. Κάκτος ήταν ευρύτερα διαδεδομένο με τα ονόματα σπόμντουλος ή σφόντουλος, σκαλίας ή ασκαλίας. Ακόμα υπάρχουν αναφορές από την εποχή του Collumelle (I μ.Χ.αι.) και Paladius (IV μ.Χ.αι.), για την καλλιέργεια του φυτού σύμφωνα με τις οποίες γνώριζαν και μπορούσαν να ξεχωρίσουν τα διάφορα είδη του γένους Κινάρα. (Χήνου, 1988)

Σύμφωνα με τον Tabernaemontanus (1525-1590 μ.Χ) έχει πραγματοποιηθεί περιγραφή σε τέσσερις ποικιλίες κινάρας :α) *Cynara scolymus Theophrasti* ή *C. Chrysanthemus*, β) *C. Hortensis follilis non aculeatis* ή *C. Non aculeate*, γ) *C. Maxima Anglica* και δ) *C. Scolymus aculeatus*. Επίσης, δίνει διάφορες ονομασίες στο φυτό μεταξύ των οποίων την ελληνική Σκόλυμος και τις λατινικές *Carduus* και *Cinara*. (Χήνου, 1988)

Ο Filippo Strotzi ήταν ο πρώτος που κατέγραψε το εμπόριο της αγκινάρας από την Σικελία στη Φλωρεντία τον 15^ο αιώνα (Sonnante, *et al.* , 2007). Τον 16^ο αιώνα η Αικατερίνη των Μεδίκων θεωρείται ότι έφερε την αγκινάρα στην Γαλλία, όταν έφτασε στην Φλωρεντία για να παντρευτεί τον Ερρίκο ΙΙ. Από την Γαλλία η αγκινάρα εξαπλώθηκε στην Ολλανδία και στην Αγγλία, μέσω του Ερρίκου VIII, ο οποίος είχε δείξει ένα ενδιαφέρον προς το φυτό. Για πολλά χρόνια η κινάρα μαζί με τα σπαράγγια παρέμειναν ως τα πλέον αριστοκρατικά λαχανικά που εμφανίζονταν σε τραπέζια πριγκήπων και πλουσίων. Μέχρι τον 18^ο αιώνα οι αγκινάρα είχε αρχίσει να καλλιεργείται και στην Αμερική. (Rupp, 2014). Η αγκινάρα επίσης εμφανίζεται και σε διάφορους πίνακες του Vincenzo Campi ή και του Giuseppe Arcimboldo κατά την περίοδο της Αναγέννησης. (Sonnante,*et al.* , 2007)



Εικόνα 7: Πίνακας από τον Vincenzo Campi με ξεκάθαρη την παρουσία της αγκινάρας

Αναφορές για παρουσία του φυτού υπάρχουν και στη Κύπρο, όπου οι κάτοικοι αναφέρονται σε αυτό ως «χώστη» γιατί εμφανίζεται μόνο η κορυφή του φυτού στην επιφάνεια του εδάφους ενώ ο βλαστός παραμένει υπόγειος. Ο βλαστός έχει χρώμα υπόλευκο.

1.2.4. Γεωγραφική κατανομή

Το γένος *Cynara* κατανέμεται κυρίως σε περιοχές στη λεκάνη της Μεσογείου με το είδος *Cynara cardunculus* να είναι το πιο διαδεδομένο. Το *C. cardunculus* εμφανίζεται στις περιοχές της Β. και ΝΔ Μεσογείου αλλά και των Καναρίων Νήσων (Wiklund, 1992). Επίσης, το είδος *C. cardunculus* εμφανίζεται και στη Κύπρο, Πορτογαλία και ΒΔ Αφρική. Τα υπόλοιπα είδη *Cynara* εμφανίζουν περιορισμένη εξάπλωση που είναι κυρίως προς τα ανατολικά ή δυτικά.

- *C. cyrenaica*: Cyrenaica (Λιβύη) και Κρήτη (Ελλάδα)
- *C. algarbiensis*: Ν. Πορτογαλία και ΝΔ Ισπανία
- *C. baetica*: Β.Μαρόκο και Ν. Ισπανία
- *C. syriaca*: Συρία και Λίβανο
- *C. humilis*: ΝΔ μέρος της Ιβηρικής χερσονήσου και Β. Μαρόκο
- *C. cornigera*: ελληνικό αρχιπέλαγο και ΝΑ Αφρικανική ακτή

1.2.5. Δρογοχημεία του γένους *Cynara*

Τα κύρια συστατικά που παρατηρούνται στο γένος *Cynara* είναι : α)οξέα (φαινολικά οξέα όπως καφεϊκό οξύ, μόνο- ή δικαφεοϋλ-παράγωγα κινικού οξέος), β) φλαβονοειδή, γ)σεσκιτερπένια και δ) άλλα παράγωγα όπως φυτοστερόλες, ταννίνες, σάκχαρα (π.χ ινουλίνη) και ένζυμα.

Σπέρματα *C. cardunculus* :

Στη παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε φυτοχημική μελέτη σε σπέρματα του φυτού *Cynara cardunculus*, ελληνικής καλλιέργειας που αποτελεί υβρίδιο. Το συγκεκριμένο φυτό έχει παρουσιάσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της χρήσης του για την παραγωγή βιοκαυσίμων (Fernandez *et al.* , 2006; Angelini *et al.* , 2009). Πλέον, σημαντική ανανεώσιμη πηγή ενέργειας είναι η βιομάζα.

Ως βιομάζα ορίζεται η μάζα βιολογικών υλικών που προέρχονται από ζωντανούς οργανισμούς και από βιολογικούς μετασχηματισμούς της ύλης. Είναι ανανεώσιμη με τη έννοια ότι μετασχηματίζεται, καταστρέφεται και αναπαράγεται.

Το φυτό αυτό χρησιμοποιείται ως εναλλακτική πηγή ενέργειας (Danalatos, *et al.* , 2008) αλλά κατά την διαδικασία αυτή μεγάλες ποσότητες σπερμάτων δεν αξιοποιούνται στην αλυσίδα παραγωγής γιατί θεωρούνται παραπροϊόντα. Η χρήση του φυτού στην παραγωγή ενέργειας έχει προσφέρει πολλά οικονομικά αλλά και οικολογικά πλεονεκτήματα. (Archontoulis *et al.* , 2009; Grammelis *et al.* , 2008).



Εικόνα 8: Στελέχη υβριδίου *Cynara cardunculus*



Εικόνα 9: υβρίδιο *Cynara cardunculus*



Εικόνα 10: σπέρματα υβριδίου *Cynara cardunculus*

Μέχρι σήμερα έχουν πραγματοποιηθεί μόνο ορισμένες μελέτες όσων αφορά τις βιολογικές δράσεις των σπερμάτων *C. cardunculus* του συγκεκριμένου υβριδίου, ενώ δεν έχουν πραγματοποιηθεί απομονώσεις δραστικών συστατικών στο παρελθόν. Απομονώσεις μεταβολιτών σε σπέρματα *C. cardunculus* έχουν πραγματοποιηθεί άλλη μία φορά αλλά διαφέρουν με τα σπέρματα που αναλύθηκαν στην παρούσα εργασία, γιατί αυτά καλλιεργούνται από το Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας στον ερευνητικό τομέα. Μέχρι τώρα έχουν απομονωθεί οι εξής ουσίες από σπέρματα του ίδιου γένους που διαφέρουν όμως από τα σπέρματα που αναλύθηκαν: α) cynarinine, β) tracheloside, γ) arctigenin, δ) arctiin, ε) arctigenin-4'-glucoside (Koubaa, *et al.*, 1999)

Σύμφωνα με τις μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί για τις βιολογικές δράσεις των σπερμάτων έχουν μελετηθεί μέχρι τώρα η αντιοξειδωτική δράση μέσω προσδιορισμού του φαινολικού φορτίου και της περιεκτικότητας σε φλαβονοειδή, ικανότητας απενεργοποίησης της ρίζας DPPH και της ρίζας υπεροξειδίου του οξυγόνου. Η αξιολόγηση των βιολογικών δράσεων όσων αφορά την αναστολή συγκεκριμένων ενζύμων πραγματοποιείται για πρώτη φορά από το εργαστήριό μας.

Επίσης, στο συγκεκριμένο υβρίδιο έχουν πραγματοποιηθεί αναλύσεις σύμφωνα με τις οποίες στα σπέρματα *C. cardunculus* περιέχονται οι παρακάτω μεταβολίτες:

Πίνακας 2: Κυριότεροι δευτερογενείς μεταβολίτες που έχουν απομονωθεί σε σπέρματα του <i>C. cardunculus</i>				
Είδος	Μέρος φυτού	Χημική κατηγορία	Ένωση	Βιβλιογραφία
<i>C. cardunculus</i>	Σπέρματ α	Λιπαρά οξέα	C6:0 (καπροϊκό οξύ, caproic acid) C14:0 (μυριστικό οξύ, myristic acid) C15:0 (πενταδεκανοϊκό οξύ, pentadecanoic acid) C16:0 (παλμιτικό οξύ, palmitic acid) C16:1 (παλμιτολεϊκό οξύ, palmitoleic acid) C17:0 (επταδεκανοϊκό οξύ, heptadecanoic acid) C18:0 (στεατικό οξύ, stearic acid) C18:1n9 (ελαϊκό οξύ, oleic acid) C18:2n6c (λινελαϊκό οξύ, linoleic acid) C18:3n3 (α-λινελαϊκό οξύ, α-linoleic acid) C20:0 (αραχιδονικό οξύ, arachidic acid) C20:1 (εικοσενοϊκό οξύ, eicosenoic acid)	Petrooulos, <i>et al.</i> , 2018

		acid) C20:3n3+C21:0 (cis-11,14,17-εικοσατριενοϊκό οξύ, cis-11,14,17, eicosatrienoic acid) C20:5n3 (εικοσαπεντανοϊκό οξύ, eicosapentaenoic acid) C22:0 (βεχενικό οξύ, behenic acid) C22:1n9 (ερουκικό οξύ, erucic acid) C23:0 (τρικοσανοϊκό οξύ, tricosanoic acid) C24:0 (λιγνοκηρικό οξύ, lignoceric acid)	
	Φαινολοξέα	1)5-O-καφεοϋλκινικό οξύ (5-O-Caffeoylquinic Acid) 2)3,5-O-δικαφεοϋλκινικό οξύ (3,5-O-Dicaffeoylquinic acid)	Petropoulos, <i>et al.</i> , 2018
	Λιγνάνια	1)Arctigenin	Koubaa, <i>et al.</i> , 1999; Han, <i>et al.</i> , 1994; Suzuki, <i>et al.</i> , 1981
		2)arctigenin 4'-glucoside (arctiin)	Hayashi, <i>et al.</i> , 2010
		3)Cynarinine	Koubaa, <i>et al.</i> 2003
		4)Tracheloside	Koubaa, <i>et al.</i> , 2003; Kang, <i>et al.</i> , 2007; Yoo, <i>et al.</i> , 2006; Inagaki, <i>et al.</i> , 1972; Nishibe, <i>et al.</i> , 1972
		5)Trachelogenin	Inagaki <i>et al.</i> , 1972; Harmatha, <i>et al.</i> , 2007

Φύλλα *C. cardunculus*:

Πιο διαδεδομένα είναι τα φύλλα *C. cardunculus* στα οποία έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες όσον αφορά τις βιολογικές τους δράσεις, που ήταν τόσο σημαντικές και είναι γνωστές από την αρχαιότητα. Σημαντικές είναι και οι απομονώσεις μεταβολιτών από τα φύλλα αγκινάρας που έχουν πραγματοποιηθεί σύμφωνα με τις οποίες τα κυριότερα συστατικά που περιέχονται στα φύλλα αγκινάρας είναι:

Μέρος φυτού	Χημική κατηγορία	Ένωση	Βιβλιογραφία
Υπέργεια μέρη	Φαινολοξέα	5-O-καφεοϋλκινικό οξύ (5-O-Caffeoylquinic Acid)	Adjet & Puigmacia, 1985; Chinou, <i>et al.</i> , 1989; Coinu, <i>et al.</i> , 2007; Fritsche, <i>et al.</i> , 2002; Hammouda, <i>et al.</i> , 1993; Lattanzio, <i>et al.</i> , 2009; Negro, <i>et al.</i> , 2012; Pandino, <i>et al.</i> , 2010; Petropoulos, <i>et al.</i> , 2018; Pinelli, <i>et al.</i> , 2011; Sánchez, <i>et al.</i> , 2003; Schütz, <i>et al.</i> , 2004; Zhu, <i>et al.</i> , 2004;
		3,5-O-dicaffeoylquinic acid	Adjet & Puigmacia, 1985; D'Antuono, <i>et al.</i> , 2015; Häusler, <i>et al.</i> , 2002; Lattanzio, <i>et al.</i> , 2000; Llorach, <i>et al.</i> , 2002; Pandino, <i>et al.</i> , 2011; Pereira, <i>et al.</i> , 2015; Schütz, <i>et al.</i> , 2004; Yang, <i>et al.</i> , 2019; Zhu, <i>et al.</i> , 2004
		Καφεϊκό οξύ	Adjet & Puigmacia, 1985; Chinou, <i>et al.</i> , 1989; Coinu, <i>et al.</i> , 2007; D'Antuono, <i>et al.</i> , 2015; Hammouda, <i>et al.</i> , 1991; Llorach, <i>et al.</i> , 2002; Mossi & Echeverrigaray, 1997; Mulinacci, <i>et al.</i> , 2004; Nassar, <i>et al.</i> , 2013; Negro, <i>et al.</i> , 2012; Petropoulos, <i>et al.</i> , 2018; Romani, <i>et al.</i> , 2006; Schütz, <i>et al.</i> , 2004
		4-O-caffeoylquinic acid	Coinu, <i>et al.</i> , 2007; Lombardo, <i>et al.</i> , 2010; D'Antuono, <i>et al.</i> , 2015; Lattanzio, <i>et al.</i> , 2000;

			Llorach, <i>et al.</i> , 2002; Mulinacci, <i>et al.</i> , 2004; Negro, <i>et al.</i> , 2012; Pandino, <i>et al.</i> , 2013; Romani, <i>et al.</i> , 2006; Schütz, <i>et al.</i> , 2004
		1,3-O- dicaffeoylquinic acid	Adzet & Puigmacia, 1985; Fратиanni, <i>et al.</i> , 2014; Fritsche, <i>et al.</i> , 2002; Häusler, <i>et al.</i> , 2002; Lattanzio, <i>et al.</i> , 1994; Llorach, <i>et al.</i> , 2002; Lombardo, <i>et al.</i> , 2010; Ramos, <i>et al.</i> , 2014; Mericli, <i>et al.</i> , 1998; Mossi & Echeverrigaray, 1999; Nasser, 2012; Negro, <i>et al.</i> , 2012; Panizzi & Scarpati, 1954; Petropoulos, <i>et al.</i> , 2018; Schütz, <i>et al.</i> , 2004; Shen, <i>et al.</i> , 2015; Wang, <i>et al.</i> , 2003; Yang, <i>et al.</i> , 2019
		1,4-O- dicaffeoylquinic acid	Häusler, <i>et al.</i> , 2002; Lattanzio, <i>et al.</i> , 2009; Wang, <i>et al.</i> , 2003
		3,4-O- dicaffeoylquinic acid	Adzet & Puigmacia, 1985; Cicco & Linsalata, 2000; Lattanzio, <i>et al.</i> , 2009; Pandino, <i>et al.</i> , 2013; Petropoulos, <i>et al.</i> , 2018a;

			Petropoulos, t al, 2018b; Yang, <i>et al.</i> , 2019
		1,5-O-dicaffeoylquinic acid	Adzet & Puigmacia, 1985; Coinu, <i>et al.</i> , 2007; D'Antuono, <i>et al.</i> , 2015; Garbetta, <i>et al.</i> , 2014; Lattanzio, <i>et al.</i> , 1994; Romani, <i>et al.</i> , 2006; Lattanzio, <i>et al.</i> , 1987; Llorach, <i>et al.</i> , 2002; Lombardo, <i>et al.</i> , 2010; Mulinacci, <i>et al.</i> , 2004; Negro, <i>et al.</i> , 2012; Pandino, <i>et al.</i> , 2013; Pandino, <i>et al.</i> , 2012; Pinelli, <i>et al.</i> , 2007; Senousy, <i>et al.</i> , 2014
		4,5-O-dicaffeoylquinic acid	Adzet & Puigmacia, 1985; Lattazio, <i>et al.</i> , 1987; Llorach, <i>et al.</i> , 2002; Pandino, <i>et al.</i> , 2012; Petropoulos, <i>et al.</i> , 2018b; Petropoulos, <i>et al.</i> , 2018a; Romani, <i>et al.</i> , 2006; Schütz, <i>et al.</i> , 2004; Zhu, <i>et al.</i> , 2004;
	Φλαβονοειδή	luteolin-7-O-rutinoside (scolymoside)	Chinou, <i>et al.</i> , 1997; Chinou, <i>et al.</i> , 1989; Coinu, <i>et al.</i> , 2007; Fritsche, <i>et al.</i> , 2002; Lattanzio, <i>et al.</i> , 2009; Nassar, <i>et al.</i> , 2013; Negro, <i>et al.</i> , 2012; Ramos, <i>et al.</i> , 2013; Romani, <i>et al.</i> , 2006; Pinelli, <i>et al.</i> , 2007; Yang, <i>et al.</i> , 2019
		luteolin-7-O-glucoside (cynaroside)	Chinou, <i>et al.</i> , 1997; Chinou, <i>et al.</i> , 1989; Coinu, <i>et al.</i> , 2007; Fritsche, <i>et al.</i> , 1989;

			Hammouda, <i>et al.</i> , 1993; Lattanzio, 1981; Mericli, <i>et al.</i> , 1998; Nassar, <i>et al.</i> , 2013; Negro, <i>et al.</i> , 2012; Pandino, <i>et al.</i> , 2010; Petropoulos, <i>et al.</i> , 2018; Pinelli, <i>et al.</i> , 2007; Ramos, <i>et al.</i> , 2014; Sánchez-Rabameda, <i>et al.</i> , 2003; Romani, <i>et al.</i> , 2006; Schütz, <i>et al.</i> , 2004; Yang, <i>et al.</i> , 2019; Zhu, <i>et al.</i> , 2004; ;
		luteolin 7-O-glucuronide	Negro, <i>et al.</i> , 2012; Pandino, <i>et al.</i> , 2010; Petropoulos, <i>et al.</i> , 2018; Pinelli, <i>et al.</i> , 2007; Ramos, <i>et al.</i> , 2014; Sánchez-Rabameda, <i>et al.</i> , 2003; Romani, <i>et al.</i> , 2006, Pandino, <i>et al.</i> , 2011; Schütz, <i>et al.</i> , 2004;
		luteolin 7-O-malonylglucoside	Pandino, <i>et al.</i> , 2013; Petropoulos, <i>et al.</i> , 2018; Pinelli, <i>et al.</i> , 2006; Pinelli, <i>et al.</i> , 2007
		apigenin 7-O-glucoside	Chinou, <i>et al.</i> , 1997; Hammouda, <i>et al.</i> , 1993; Lattanzio, <i>et al.</i> , 2009; Mericli, <i>et al.</i> , 1998; Nassar, <i>et al.</i> , 2013; Negro, <i>et al.</i> , 2012; Pandino, <i>et al.</i> , 2010; Ramos, <i>et al.</i> , 2014; Sánchez-Rabameda, <i>et al.</i> , 2003; Schütz, <i>et al.</i> , 2004; Yang, <i>et al.</i> , 2019
		apigenin-7-O-rutinoside	Chinou, <i>et al.</i> , 1997; Lattanzio, <i>et al.</i> , 2009; Nassar, <i>et al.</i> , 2013; Negro, <i>et al.</i> , 2012; Wang, <i>et al.</i> , 2003; Pandino, <i>et al.</i> , 2010; Pinelli,

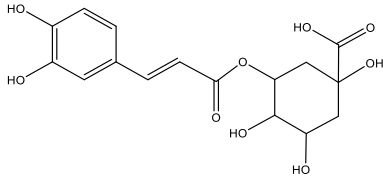
			<i>et al.</i> , 2007; 2004; Ramos, <i>et al.</i> , 2014; Schütz, <i>et al.</i> , Yang, <i>et al.</i> , 2019
		apigenin-7-O-glucuronide	Negro, <i>et al.</i> , 2012; Pandino, <i>et al.</i> , 2010; Pinelli, <i>et al.</i> , 2007; Ramos, <i>et al.</i> , 2014; Romani, <i>et al.</i> , 2006; Sánchez-Rabameda, <i>et al.</i> , 2003; Schütz, <i>et al.</i> , 2004; Yang, <i>et al.</i> , 2019
		Apigenin acetylhexoside	Ramos, <i>et al.</i> , 2014;
		scopoletin	Chinou, <i>et al.</i> , 1989; Ramos, <i>et al.</i> , 2014;
		Narigenin-7-O-rutinoside	Merikli, <i>et al.</i> , 1998; Ramos, <i>et al.</i> , 2014; Schütz, <i>et al.</i> , 2004; Wang, <i>et al.</i> , 2003
		Narigenin-7-O-glucoside	Ramos, <i>et al.</i> , 2014; Sánchez-Rabameda, <i>et al.</i> , 2003; Schütz, <i>et al.</i> , 2004;
		hesperitin	Chinou, <i>et al.</i> , 1989; Chinou, <i>et al.</i> , 1997; Pandino, <i>et al.</i> , 2010;
		maritimein	Chinou, <i>et al.</i> , 1989
		Luteolin-7-gentiobioside	El-Negoumy, <i>et al.</i> , 1987; Hinou, <i>et al.</i> , 1989
		Esculetin-6-O-β-glucoside	Chinou, <i>et al.</i> , 1989
	Σεσκιτερπένια	grosheimin	Barbetti, <i>et al.</i> , 1993; Cravotto, <i>et al.</i> , 2005; Farag, <i>et al.</i> , 2018; Fritsche, <i>et al.</i> , 2002; Li, <i>et al.</i> , 2005; Nasser, 2012; Ramos, <i>et al.</i> , 2013; Samek, <i>et al.</i> , 1971; Shimoda,

			<i>et al.</i> , 2003
		Aguerin A και B	Farag, <i>et al.</i> , 2018; Li, <i>et al.</i> , 2005; Phogat, <i>et al.</i> , 2010; Rial, <i>et al.</i> , 2016; Shimoda, <i>et al.</i> , 2003
		Cynaropicrin	Barbetti, <i>et al.</i> , 1973; Bernhard, <i>et al.</i> , 1979; Cravotto, <i>et al.</i> , 2005; Elsebai, <i>et al.</i> , 2016; Fritsche, <i>et al.</i> , 2002; Koubaa, <i>et al.</i> , 1999; Li, <i>et al.</i> , 2005; Mericli, <i>et al.</i> , 1998; Nasser, 2012; Pieri & Stuppner, 2011; Ramos, <i>et al.</i> , 2013; Samek, <i>et al.</i> , 1971; Shimoda, <i>et al.</i> , 2003; Suchý, <i>et al.</i> , 1960
		dehydrocynaropicrin	Bernhard, <i>et al.</i> , 1979; Barbetti, <i>et al.</i> , 1973; Li, <i>et al.</i> , 2005; Ramos, <i>et al.</i> , 2013; Samek, <i>et al.</i> , 1971;
		cynaratriol	Bernhard, <i>et al.</i> , 1979; Barbetti, <i>et al.</i> , 1973; ELdahmy, <i>et al.</i> , 2014; Fritsche, <i>et al.</i> , 2002; Koubaa, <i>et al.</i> , 1999; Li, <i>et al.</i> , 2005;
		Cynarascoloside A-C	Elsebai, <i>et al.</i> , 2016; Farag, <i>et al.</i> , 2003; Farag, <i>et al.</i> , 2018; Li, <i>et al.</i> , 2005; Phogat, <i>et al.</i> , 2010; Shimoda, <i>et al.</i> , 2003;
		11-H-13 methylsulfonylgrosheimin	Barbetti, <i>et al.</i> , 1993
		8-deoxy-11-hydroxy-13-chlorogrosheimin	Barbetti, <i>et al.</i> , 1993; Fritsche, <i>et al.</i> , 2002
		8-deoxy-11,13-	Barbetti, <i>et al.</i> , 1993; Elsebai,

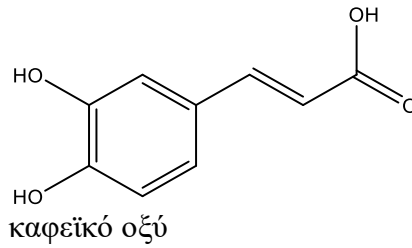
		dihydroxygrosheimin	<i>et al.</i> , 2016; Fritsche, <i>et al.</i> , 2002;
		8-epigrosheimin	Barbetti, <i>et al.</i> , 1993;
	Τριτερπένια	α and β amyrin	Akihisa, <i>et al.</i> , 1996; Ramos, <i>et al.</i> , 2013;
		Cynarasaponins A-J	Elsebai, <i>et al.</i> , 2016; Farag, <i>et al.</i> , 2013; Koubaa, <i>et al.</i> , 1999; Križková, <i>et al.</i> , 2004; Shimizu, <i>et al.</i> , 1998; Yang, <i>et al.</i> , 2019
		α and β amyrin acetate	Ramos, <i>et al.</i> , 2013
		Lupeol	Akihisa, <i>et al.</i> , 1996; Ramos, <i>et al.</i> , 2013; Shakeri & Ahmadian, 2014;
		lupenyl acetate	Ramos, <i>et al.</i> , 2014
		ψ -taraxasterol and ψ -taraxasteryl acetate	Akihisa, <i>et al.</i> , 1996; Atherinos, <i>et al.</i> , 1962; Ramos, <i>et al.</i> , 2014; Shakeri & Ahmadian, 2014
		Taraxasterol and taraxasterol acetate	Akihisa, <i>et al.</i> , 1996; Ramos, <i>et al.</i> , 2013;
	Λιπαρά οξέα	caproic acid	Ramos, <i>et al.</i> , 2013
		myristic acid	
		pentadecanoic acid	
		palmitic acid	
		palmitoleic acid	
		heptadecanoic acid	
		stearic acid	
		oleic acid	

		linoleic acid heneicosanoic acid docosanoic acid eicosenoic acid eicosapentaenoic acid behenic acid erucic acid tricosanoic acid octacosanoic acid nonadecanoic acid	
--	--	---	--

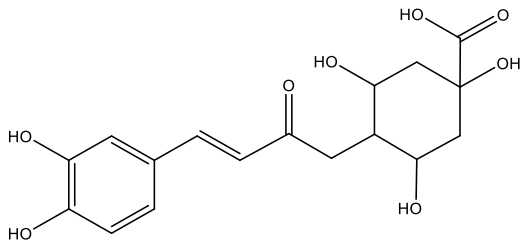
Πίνακας 3: Χημική δομή καφεοϋλ-κινικών οξέων



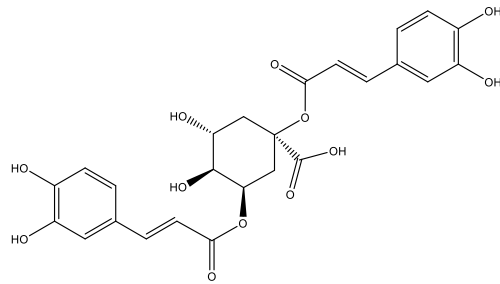
5-O-καφεοϋλκινικό οξύ (χλωρογενικό οξύ)



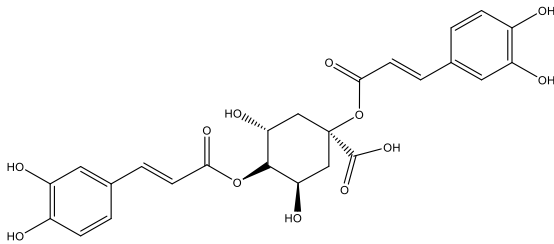
καφεϊκό οξύ



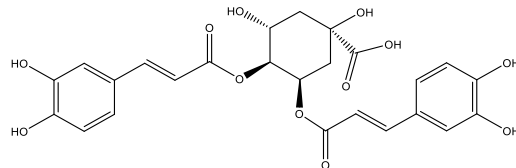
4-O-caffeoylquinic acid



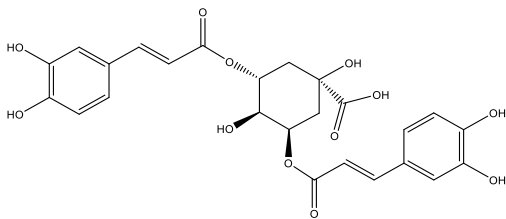
1,3-di-O-caffeoylquinic acid (cynarin)



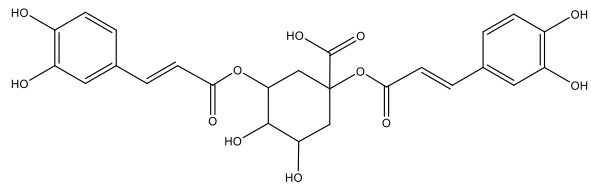
1,4-dicaffeoylquinic acid



3,4-dicaffeoylquinic acid

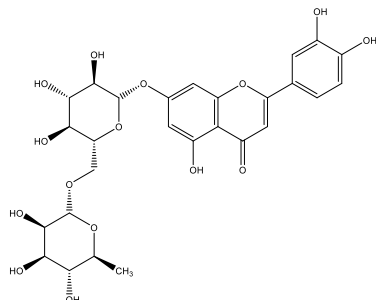


3,5-dicaffeoylquinic acid

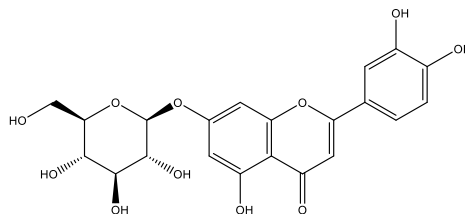


1,5-dicaffeoylquinic acid

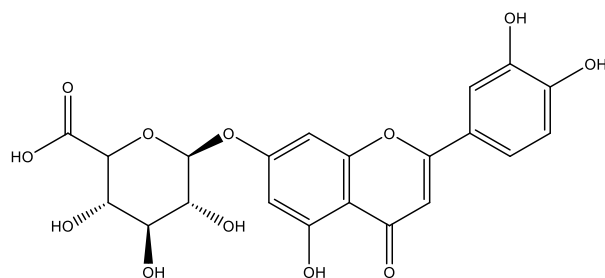
Πίνακας 4: Χημική δομή φλαβονοειδών και κουμαρίνης από φύλλα *Cynara cardunculus*



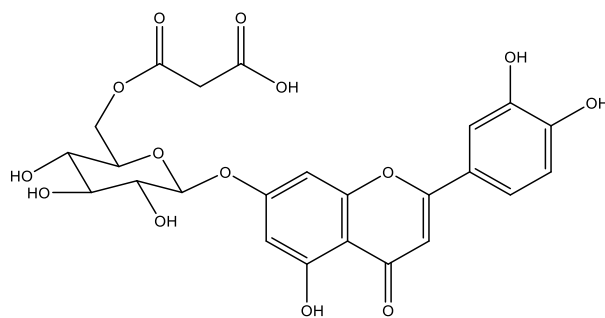
luteolin-7-O-rutinoside (scolymoside)



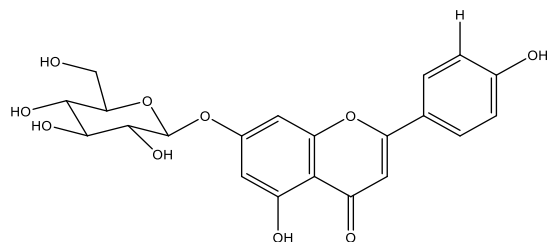
luteolin-7-O-beta-D-glucopyranoside (cynaroside)



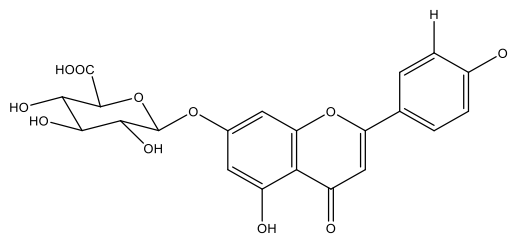
luteolin 7-O-glucuronide



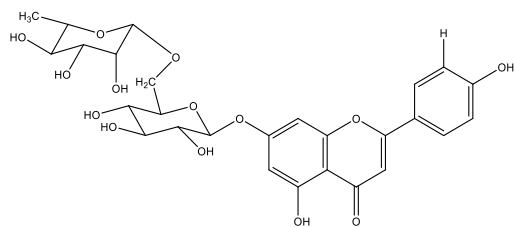
luteolin 7-O-malonylglucoside



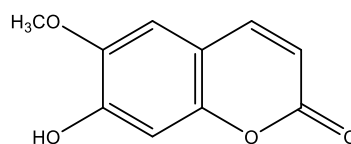
apigenin 7-O-beta-glucopyranoside



apigenin 7-O-glucuronide



apigenin 7-O-rutinoside



scopoletin

1.2.5. Δρογοφαρμακολογία

Σπέρματα

Στα σπέρματα *C. cardunculus* δεν έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι τώρα κλινικές μελέτες, ενώ έχει πραγματοποιηθεί μόνο ένας περιορισμένος αριθμός μελετών που αναφέρουν τις αντιοξειδωτικές τους κυρίως δράσεις, το ολικό φαινολικό τους φορτίο και την περιεκτικότητά τους σε φλαβονοειδή. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών φαίνονται αναλυτικά παρακάτω:

Άρθρο	DPPH (mg/ml)	Ολικό φαινολικό φορτίο(mgGAE/g)	Περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή (mgCE/g)	Υπεροξειδίο O ₂ ·(μg/ml)	FRAP (mg/ml)
Halleh, <i>et al.</i> , 2008	12	14.33	9.78	27.01	-
Sumaya, <i>et al.</i> , 2013	42.83 μg/ml	23.25	8.93	26.75	-
Petropoulos, <i>et al.</i> , 2017	143	-	-	-	87

Εκτός από την αντιοξειδωτική τους δράση, τα σπέρματα εμφάνισαν και σημαντική θρεπτική αξία λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς τους σε πρωτεΐνες και ίνες. (Petropoulos, *et al.*, 2018)

Φύλλα:

Τα φύλλα του φυτού *Cynara cardunculus* είναι γνωστά για την χρήση τους ως διουρητικά, χολαιρετικά, χολαγωγά, αντιδιαβητικά και αντιμικροβιακά. Η κυναρίνη θεωρείται το κύριο βιολογικά δραστικό συστατικό, στο οποίο οφείλεται μεγάλο μέρος των φαρμακολογικών ιδιοτήτων του φυτού. Ορισμένες από τις φαρμακολογικές χρήσεις του φυτού είναι για την ρύθμιση και βελτίωση του μεταβολισμού των λιπιδίων, σε προβλήματα πέψης, σε δυσπεψία, και ως χολαγωγό (EMA, 2018). Εκχυλίσματα ή συστατικά του φυτού σύμφωνα με τη βιβλιογραφία έχουν εμφανίσει ευεγερτική δράση σε ασθένειες της χολής και του ήπατος.

Δράσεις φύλλων αγκινάρας:

Αντιοξειδωτική δράση

Η εμφάνιση αντιοξειδωτικής δράσης εκχυλίσματος φύλλων οφείλεται κυρίως στην παρουσία φαινολικών παραγώγων (φαινολοξέα, φλαβονοειδή) που είναι υπεύθυνα για την εξουδετέρωση ελεύθερων ριζών. Οι ελεύθερες ρίζες και η υπεροξείδωση των λιπιδίων παίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση διάφορων παθολογικών καταστάσεων. (Speroni, *et al.*, 2003). Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου είναι προϊόντα του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού. Με την υπερπαραγωγή όμως των μορίων αυτών, εμφανίζεται οξειδωτικό στρές που με τη σειρά του σε ποικίλες

βιολογικές βλάβες. (Valko, et al, 2007). Οι ελεύθερες ρίζες συμμετέχουν και στην υπεροξειδωση των λιπιδίων, οξειδώνοντας τα λιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών προκαλώντας κυτταρική βλάβη, ενώ τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα είναι πιο ευαίσθητα στη διαδικασία αυτή, λόγω της παρουσίας πολλαπλών διπλών δεσμών.

Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης σε εκχυλίσματα αγκινάρας, χρησιμοποιήθηκαν πρωτογενείς καλλιέργειες ηπατοκυττάρων αρουραίων και πραγματοποιήθηκε έκθεση τους σε tert-butylhydroper-oxide(t-BHP) ή cumenehydroperoxide. Τα δύο αυτά υπεροξειδία ενεργοποιούν την παραγωγή malondialdehyde(MDA), ειδικά όταν έχει προηγηθεί επεξεργασία των κυττάρων με diethylmaleate (DEM), με σκοπό να μειωθούν τα επίπεδα της κυτταρικής γλουταθειόνης. Η γλουταθειόνη συμμετέχει στο σύστημα αποτοξίνωσης του οργανισμού, δεσμεύει τις τοξικές ουσίες με αποτέλεσμα να γίνονται πιο υδατοδιαλυτές και να απομακρύνονται από τον οργανισμό. Με την προσθήκη εκχυλισμάτων αγκινάρας δεν παρατηρήθηκε μεταβολή στη βασική παραγωγή MDA, αλλά υπήρξε μία παρεμπόδιση στην αύξηση του προκαλούμενου από την υπεροξειδάση σχηματισμού της MDA. Η διαδικασία αυτή εξαρτάται από την συγκέντρωση του εκχυλίσματος της αγκινάρας, όταν αυτό χορηγείται ταυτόχρονα ή πριν από την υπεροξειδάση. Η δραστική συγκέντρωση του εκχυλίσματος (0,001 mg/ml) ήταν πολύ χαμηλότερη από τα επίπεδα κυτταροτοξικότητας του εκχυλίσματος, που ξεκινούσαν σε πολύ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (1mg/ml). Επίσης, τα εκχυλίσματα δεν επηρέασαν τα επίπεδα της κυτταρικής γλουταθειόνης, αλλά μείωσαν την απώλεια της ολικής γλουταθειόνης. Το χλωρογενικό οξύ και η κυναρίνη ήταν υπεύθυνα μόνο για ένα μέρος της αντιοξειδωτικής δράσης του ολικού εκχυλίσματος. Οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι τα εκχυλίσματα αγκινάρας εμφανίζουν μία καλή προοπτική για χρήση τους ως ισχυρά αντιοξειδωτικά. (Gebhardt, 1997; Kujic et al, 2008)

Χολαιρετική δράση

Με την πάροδο του χρόνου το ήπαρ σταδιακά παράγει μικρότερη ποσότητα χολής. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση της αποτελεσματικής διάσπασης και εύκολης απομάκρυνσης των λιπιδίων και της LDL χοληστερόλης. Επίσης, περιορίζεται και η αύξηση της HDL χοληστερόλης. Για τον λόγο αυτό η χολαιρετική δράση των εκχυλισμάτων της αγκινάρας είναι πολύ σημαντική.

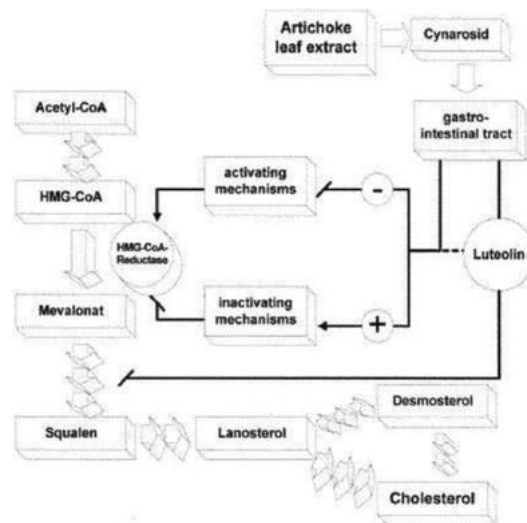
Για την μελέτη της αντιχολοστατικής δράσης των εκχυλισμάτων, αρχικά πραγματοποιήθηκε έκθεση της καλλιέργειας σε ταυρολιθοχολικό με αποτέλεσμα να παρατηρείται μείωση στην έκκριση χολής. Με την προσθήκη των εκχυλισμάτων αγκινάρας ήταν δυνατή η επαναφορά της αρχικής έκκρισης της χολής κατά 90%.(Gebhardt, 2005; Falco , et al. , 2015)

Ηπατοπροστατευτική δράση

Κατά την είσοδο των τοξινών στο σώμα, αυτές μεταφέρονται στο ήπαρ ως υπεύθυνο όργανο για τον μεταβολισμό και την απομακρυνσή τους. Αρκετές *in vivo* και *in vitro* μελέτες έχουν αποδείξει τις αντιοξειδωτικές και ηπατοπροστατευτικές ιδιότητες των εκχυλισμάτων φύλλων αγκινάρας και των ενεργών συστατικών τους, έπειτα από ηπατική κυτταρική βλάβη που προκαλείται από διάφορες ηπατοτοξίνες. Τα ηπατοπροστατευτικά αποτελέσματα των πολυφαινολικών ενώσεων *Cynara scolymus* έναντι τοξικότητας προκαλούμενης από έκθεση σε CCl₄ σε ηπατοκύτταρα αρουραίων υποστηρίζονται από εργαστηριακές δοκιμές (Gebhardt, 2002). Ο Gebhardt απέδειξε ότι τα υδατικά εκχυλίσματα αγκινάρας μειώνουν τα επίπεδα της λιπιδικής υπεροξειδάσης αλλά και της κυτταροτοξικότητας σε καλλιέργειες πρωτογενών ηπατοκυττάρων αρουραίων εκτεθειμένων σε τριτοβουτυλ υδροϋπεροξειδίο (t-BHP). Επιπλέον, τα εκχυλίσματα αγκινάρας εμπόδισαν την απώλεια ενδοκυτταρικής γλουταθειόνης που προκαλείται παρουσία του t-BHP, η οποία με τη σειρά της συμμετέχει στο σύστημα αποτοξίνωσης του οργανισμού και απομάκρυνσης των τοξινών από το σώμα. (Adzet *et al.* , 1987; Gebhardt, 1997; Lattanzio, *et al.* , 2009)

Αντιυπερλιπιδαιμική δράση (Μείωση επιπέδων χοληστερόλης)

Αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης έχουν συνδεθεί άμεσα με αυξημένο ρίσκο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου και αθηροσκλήρυνσης. Σύμφωνα με πρόσφατα ευρήματα τα εκχυλίσματα φύλλων αγκινάρας έχουν αποδειχτεί ότι μειώνουν τα επίπεδα χοληστερόλης και αυτό θεωρείται ότι οφείλεται στην παρουσία κυρίως του φλαβονοειδούς λουτεολίνης. Το μόριο αυτό όπως έχει αποδειχτεί διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανασταλτική δράση που εμφάνισαν τα εκχυλίσματα φύλλων αγκινάρας στη σύνθεση χοληστερόλης. Συγκεκριμένα, η λουτεολίνη αναστέλει έμμεσα την σύνθεση χοληστερόλης μέσω παρεμπόδισης της διαδικασίας ενεργοποίησης της HMG-CoA ρεδουκτάσης, ενζύμου υπεύθυνου για την ενεργοποίηση της HMG-CoA. (Salem *et al.* , 2015; Falco *et al.* , 2015)



Εικόνα 11: Πιθανός Μηχανισμός αναστολής σύνθεσης χοληστερόλης από εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας

Δράση έναντι της αθηροσκλήρυνσης

Πρόσφατες μελέτες απέδειξαν ότι τα φύλλα αγκινάρας έχουν ευνοϊκή επίδραση στις αθηρωματικές πλάκες στις αρτηρίες. Επίσης, η χορήγηση εκχυλίσματος αγκινάρας *in vivo* σε ποντίκια που ακολουθούσαν δίαιτα υψηλή σε λιπαρά, παρεμπόδισε την αύξηση επιπέδων χοληστερόλης στον ορό αλλά και τον σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας. Ο πιθανός μηχανισμός που τα εκχυλίσματα αγκινάρας ασκούν την καρδιοπροστατευτική και αγγειοδιασταλτική τους δράση είναι μέσω της επίδρασής τους στην έκφραση του γονιδίου της ενδοθηλιακής συνθετάσης νιτρικού οξειδίου (endothelial nitric oxide synthase, eNOS). Μελέτες έδειξαν ότι χορήγηση εκχυλισμάτων αγκινάρας αύξησε την έκφραση και την δραστηριότητα του eNOS γονιδίου με αποτέλεσμα να παρατηρείται αυξημένη παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου, που έχει αγγειοδιασταλτική δράση. Επιπρόσθετα, τα εκχυλίσματα αυτά μπορούν να παρέχουν ένα πρόσθετο βαθμό καρδιαγγειακής προστασίας μέσω της συνολικής θετικής επίδρασης στη λειτουργία του ενδοθηλίου. (Salem, *et al.*, 2015)

Προστατευτική δράση έναντι του καρκίνου

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο Πανεπιστήμιο Comenius στη Σλοβακία, μελετήθηκαν εκχυλίσματα φύλλων αγκινάρας για την ικανότητά τους να αναστέλλουν την ανάπτυξη των κυττάρων λευχαιμίας. Σε περίοδο 24 ωρών, τα κύτταρα λευχαιμίας υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ποικιλία

συγκεντρώσεων των εκχυλισμάτων, με τα αποτελέσματα να υποδηλώνουν ότι εμφάνισαν εκλεκτική αντιπολλαπλασιαστική δράση μέσω της διαδικασίας απόπτωσης. Επιπλέον, ερευνητές στο Πανεπιστήμιο Georg-August στη Γερμανία θεωρούν ότι πολλά δραστικά

συστατικά που περιέχονται στην αγκινάρα διαδραμάτισαν σημαντικό ρόλο στην παρεμπόδιση έκκρισης καρκινογόνων παραγόντων, αναστέλλοντας έτσι την αγγειογένεση που σχετίζεται με τον καρκίνο. (Salem *et al.* , 2015)

Επίδραση στη διαδικασία πέψης

Τα υψηλά επίπεδα κυναρίνης που περιέχουν τα εκχυλίσματα φύλλων αγκινάρας, δεν επηρεάζουν μόνο τα επίπεδα χοληστερόλης αλλά συμβάλουν και στη διατήρηση της υγείας του πεπτικού συστήματος. Η κυναρίνη είναι γνωστό ότι διεγείρει την έκκριση χολής, όπου με την βοήθεια της γίνεται εφικτή η διάσπαση των λιπαρών και η απορρόφηση βιταμινών από την τροφή μας. Μέσω αυτού του μηχανισμού επίδρασης στην έκκριση χολής, μελέτες έδειξαν ότι τα εκχυλίσματα αγκινάρας μπορούν να βοηθήσουν όσους υποφέρουν από σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου αλλά και δυσπεψία. (Salem., et al, 2015; Lattanzio, *et al.* , 2009)

Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS)

Το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου χαρακτηρίζεται από έντονο κοιλιακό πόνο και μεταβολές στις συνηθισμένες λειτουργίες του εντέρου, συμπτώματα που συνήθως αλληλεπικαλύπτονται με εκείνα της δυσπεψίας. Για τον λόγο αυτό, αφού σύμφωνα με την βιβλιογραφία εκχυλίσματα του φυτού έχουν χρησιμοποιηθεί για θεραπεία της δυσπεψίας, ενώ παράλληλα πραγματοποιήθηκε μελέτη για την επίδραση που έχει και στο σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (Bundy *et al.* , 2004). Η μελέτη αυτή αξιολόγησε την θεραπευτική αξία εκχυλισμάτων φύλλων αγκινάρας σε ασθενείς με δυσπεψία που πάσχουν από IBS. Η ανάλυση διεξήχθη σε μία υποομάδα ασθενών από μια προηγούμενη μελέτη σε ασθενείς με δυσπεψία και έδειξε ότι το εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας μπορεί να έχει θετική επίδραση σε ασθενείς με IBS για τα συμπτώματα που αποδίδονται στη δυσπεψία. Ειδικά η κατάσταση της εναλλασσόμενης δυσκοιλιότητας / διάρροιας ανταποκρίθηκε καλά στη θεραπεία του εκχυλίσματος αγκινάρας. Αν και δεν πραγματοποιήθηκε έλεγχος της αποτελεσματικότητας με εικονικό φάρμακο (placebo), αυτή η μελέτη υποομάδας αποδίδει στοιχεία για πιθανή αξία εκχυλίσματος φύλλων αγκινάρας στο IBS, που επί του παρόντος δεν αποτελεί εγκεκριμένη ένδειξη προϊόντων αγκινάρας.

Μονογραφία EMA φύλλων *C. cardunculus*: EMA/HMPC/194014/2017

Σύμφωνα με την τελευταία δημοσίευση του EMA (EMA, 2018), στα **φύλλα αγκινάρας** έχουν πραγματοποιηθεί και κλινικές μελετές σε ανθρώπους αλλά και *in vivo* και *in vitro* πειράματα, επιβεβαιώνοντας έτσι φαρμακολογικές δράσεις που εμφανίζει το φυτό και την ορθότητα της χρήσης του ως φάρμακο φυτικής προέλευσης για τόσα χρόνια.

Πίνακας 5: Κλινικές μελέτες εκχυλισμάτων φύλλων αγκινάρας σε ανθρώπους				
Τύπος και αντικείμενο μελέτης	Έλεγχος προϊόντος : Προετοιμασία εκχυλίσματος , φαρμακευτική μορφή, δοσολογία, οδός χορήγησης και διάρκεια θεραπείας	Διάγνωση ασθενών	Αποτελέσματα	Βιβλιογραφία
Αποτελεσματικότητα και ασφάλεια	Ημερήσια χορήγηση 900 mg, εκχυλίσματος αγκινάρας, μεγ. Περιεκτικότητα σε πολυφαινολικά οξέα 5.5%	Μείωση επιπέδων χοληστερόλης	Σημαντική μείωση επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα, ελεύθερων λιπαρών οξέων. φωσφολιπιδίων και ολικών λιπιδίων	Wojcicki & Winter 1975
Συγκριτική κλινική μελέτη	Μη προσδιορισμένο εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας (9 δισκία, από 5 mg σε πολυφαινολικά οξέα, n=25, ή 0.75 g ή 1.5 g κυναρίνη <i>per os</i>)	Μείωση επιπέδων λιπιδίων	Το εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας προκάλεσε σημαντική μείωση στα επίπεδα τριγλυκεριδίων και φωσφολιπιδίων στο 56% των ασθενών και τα 0.75 g ή 1.5 g κυναρίνης βελτίωσαν τα επίπεδα των λιπιδίων σε 61% ή 45% των ασθενών	Wojcicki <i>et al.</i> 1982
Κλινική μελέτη με χρήση διπλού τυφλού εικονικού φαρμάκου Αποτελεσματικότητα,	Κάψουλες των 320 mg σε 50 mL H ₂ O ή χορήγηση		Μετά από 60 λεπτά εμφανίσε το μέγιστο αποτέλεσμα, μετά από 90 λεπτά	Kirschhoff <i>et al.</i> 1994

ασφάλεια	εικονικού φαρμάκου μέσω διαδερμικού καθετήρα		εμφάνισε το 94% του αποτελέσματος και μετά από 120 και 150 λεπτά τα επίπεδα ήταν σημαντικά υψηλά. Στη χορήγηση placebo η μέγιστη αποτελεσματικότη τα ήταν 39% μετά από 30 λεπτά	
Multicentre open study, Πολυκεντρική ανοικτή κλινική μελέτη Ασφάλεια και αποτελεσματικότητα	Ημερήσια δόση: 3-6 κάψουλες υδατικού ξηρού εκχύλισματος εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας, (3.8-5.5:1, 320 mg ανά κάψουλα) <i>per os</i> για 43.5 μέρες	Προβλήματ α στη διαδικασία πέψης	Τα παράπονα για προβλήματα στη διαδικασία πέψης μειώθηκαν μέσα σε 6 βδομάδες θεραπείας. Όλα τα συμπτώματα βελτιώθηκαν κατά 71% περίπου.	Fintelmann 1996
post-marketing surveillance studies	Ημερήσια δόση 3-6 κάψουλες εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας, υδατικό ξηρό εκχύλισμα(3.8 -5.5:1, 320 ανά κάψουλα) <i>per os</i> 4 με 6 βδομάδες	Δυσπεψία και/ή ασθένειες του ήπατος ή του χοληφόρου αγωγού	Σημαντική μείωση των συμπτωμάτων (π.χ κοιλιακός πόνος, φούσκωμα και ναυτία)	Kraft 1997
Τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη με χρήση διπλού τυφλού εικονικού φαρμάκου Αποτελεσματικότητα, Ασφάλεια	640 mg ξηρού υδατικού εκχύλισματος, 640 mg x3 καθημερινά <i>per os</i>	Εθελοντές με αρχικά επίπεδα χοληστερόλ ης >230 mg/dl(n-	Μείωση επιπέδων λιπιδίων, μείωση συγκέντρωσης ολικής χοληστερόλης (p=0.015) και	Petrowicz <i>et al.</i> , 1997

	εικονικό φάρμακο για 12 βδομάδες	n _p =3)	τριγλυκεριδίων (p=0.01). Τα επίπεδα χοληστερόλης >220 mg/dl (n _v -n _p =5), διαφέρουν σημαντικά από τα τριγλυκερίδια (p=0.012)	
Multicentre open study, Αποτελεσματικότητα, ασφάλεια	Ημερήσια δόση 3-6 κάψουλες εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας ξηρού υδατικού εκχυλίσματος (3.8-5.5:1, 320 mg ανά κάψουλα) <i>per os</i> 6 μήνες	Προβλήματα στη διαδικασία πέψης	Βελτίωση συμπτωμάτων μετά από 21 βδομάδες θεραπείας κατά 66%, μείωση επιπέδων χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων στο αίμα κατά 10.9% σε 171 ασθενείς και μείωση HDL-χοληστερόλης κατά 6.3%	Fintelmann & Petrowicz 1998,
Πολυκεντρική τυχαιοποιημένη μελέτη με χρήση διπλού τυφλού εικονικού φαρμάκου Αποτελεσματικότητα, ασφάλεια	Υδατικό εκχύλισμα φρέσκων φύλλων αγκινάρας (25-35:1) Ημερήσια δόση 1800 mg (n=71) ή εικονικό φάρμακο (n=72) ως επικαλυμμένα δισκία <i>per os</i> 6 βδομάδες	Μείωση επιπέδων λιπιδίων	Στην ομάδα που έλαβε το εκχύλισμα μειώθηκε η ολική χοληστερόλη (18,5%) και η LDL- (22,9%) από την έναρξη έως το τέλος της θεραπείας. (p = 0,0001) ενώ σε αυτούς που έλαβαν εικονικό φάρμακο (8,6% και 6,3% αντίστοιχα) η αναλογία LDL / HDL μειώθηκε κατά 20,2% σε ομάδα <i>verum</i> και 7,2% στην ομάδα του εικονικού	Englisch <i>et al.</i> 2000

			φαρμάκου	
Τυχαιοποιημένη μελέτη με χρήση διπλού τυφλού εικονικού φαρμάκου	1280mg (320 x 4) τυποποιημένο υ εκχυλίσματος φύλλων αγκινάρας ή αντίστοιχο εικονικό φάρμακο, καθημερινά για 12 βδομάδες	Μείωση επιπέδων λιπιδίων	Μείωση ολικής χοληστερόλης πλάσματος στην ομάδα θεραπείας κατά 4.2% και μείωση στην ομάδα ελέγχου κατά 1.9%	Bundy <i>et al.</i> , 2008;
Open, dose-ranging postal study	320 or 640 mg εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας καθημερινά Για 2 μήνες	Δυσπεψία	Σημαντική μείωση των συμπτωμάτων δυσπεψίας, το εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας βελτίωσε τα συμπτώματα του ανώτερου γαστρεντερικού συστήματος και την υγεία σε άτομα που υποφέρουν από δυσπεψία.	Marakis <i>et al.</i> , 2003
Τυχαιοποιημένη μελέτη με χρήση διπλού τυφλού εικονικού φαρμάκου	εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας [(water > 80° C DER 4-6:1), Hepar SL κάψουλες, 2x 320 mg t.i.d], 6 βδομάδες	Θεραπεία 247 ασθενών με λειτουργική δυσπεψία	Όλα τα συμπτώματα δυσπεψίας βελτιώθηκαν σημαντικά στις περιπτώσεις χορήγησης εκχυλίσματος φύλλων αγκινάρας σε σχέση με την χορήγηση εικονικού φαρμάκου	Holtmann <i>et al.</i> , 2003
Open, postal study subset analysis of a previous dose-	εκχύλισμα φύλλων	Σύνδρομο ευερέθιστου	Σημαντική μείωση συμπτωμάτων	Bundy <i>et al.</i> , 2004

ranging	αγκινάρας (διαλύτης έκλουσης: νερό; DER 1:5) 5:1) 320 ή 640 mg/ανά ημέρα για 2 μήνες	εντέρου και δυσπεψία	κατά 41% και βελτίωση ποιότητας ζωής κατά 20%	
---------	---	-------------------------	--	--

Συμπεράσματα κλινικών μελετών:

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα ελάχιστα αποτελέσματα ήταν εκτός των επιθυμητών ορίων, για αυτό και όλες οι φαρμακευτικές μορφές των σκευασμάτων που χρησιμοποιήθηκαν είναι αποδεκτές και σύμφωνες με την κλινική ασφάλεια. Η χρήση όμως των σκευασμάτων αυτών σε παιδιά κάτω των 12 ετών δεν συνιστάται λόγω έλλειψης δεδομένων. Επίσης, μπορεί να προκύψουν αλλεργικές αντιδράσεις των οποίων η συχνότητα δεν είναι γνωστή.

Πίνακας 6: <i>In vivo</i> και <i>in vitro</i> μελέτες που πραγματοποιήθηκαν για τα φύλλα αγκινάρας				
Φυτικό παρασκεύασμα που ελέγχθηκε	Δύναμη Δοσολογία Οδός χορήγησης	Πειραματικό μοντέλο <i>In vivo/in vitro</i>	Αναφορές και έτος δημοσίευσης	Συμπεράσματα
Φρέσκος χυμός από φρέσκα φύλλα αγκινάρας	Pressed juice, αδιάλυτος και διαλυμένος 1:3 και 1:5 παραγόμενη δόση	<i>In vitro</i> πείραμα σε ήπαρ αρουραίων	Gebhardt, 1996	Χολοστατικό
Φρέσκος χυμός φύλλων αγκινάρας και ξηρό υδατικό εκχύλισμα (4:1) από φύλλα αγκινάρας	Διάφορες συγκεντρώσεις	<i>In vitro</i> δράση στο ήπαρ αρουραίων	Matuschowski, <i>et al.</i> , 2005	Χολαιρετική δράση που ανιχνεύεται 20 λεπτά μετά την προσθήκη των εκχυλισμάτων και φτάνει τη μέγιστη τιμή 10 λεπτά αργότερα Καμία σύνδεση με την περιεκτικότητα

				σε καφεοϋλκινικά οξέα δεν ήταν εμφανής
Υδατικό εκχύλισμα φύλλων	Εκχυλίσματα αγκινάρας σε συγκεντρώσεις μεταξύ 0.08 και 0.5 mg/ml	<i>In vitro</i>	Gebhardt 2002	Επίδραση στη διαδικασία έκκρισης χολής
Εκχυλίσματα φύλλων αγκινάρας, κυναρίνη και το καφεϊκό οξύ εμφάνισαν κυτταροπροστατευτική δράση	Θεραπεία αρουραίων με 3 συνεχόμενες δόσεις των 500 mg/kg ανά βάρος σώματος εκχυλίσματος, χορηγούμενο μέσω σίτισης 48, 24 και 1 h πριν την δηλητηρίαση με CCl ₄	<i>In vivo</i> σε αρουραίους	Adzet 1987	Ηπατοπροστατευτική δράση κυναρίνης έναντι του τοξικού CCl ₄
Εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας		<i>In vitro</i>	Gebhardt and Fausel 1997	Ηπατοπροστατευτικές δράσεις αγκινάρας
Δύο υδατικά αλκοολικά εκχυλίσματα φρέσκων φύλλων	Σε δόση 200 mg/kg βάρους σώματος	<i>In vivo</i>	Lietti 1977	Διέγερση έκκρισης χολής και σημαντική αύξηση χολής
Κονιοποιημένα υπέργεια μέρη αγκινάρας	Χορήγηση από το στόμα σε δόση 110 mg/kg βάρους σώματος για 120 μέρες σε αρουραίους	<i>In vivo</i>	Samochowicz 1959	Μείωση επιπέδων χοληστερόλης στο ήπαρ και στον ορό, πρόληψη έναντι σχηματισμού αθηρωματικών πλάκων

Συμπεράσματα *in vivo* και *in vitro* μελετών:

Τα αποτελέσματα από τις *in vivo* και *in vitro* μελέτες σε ζώα των εκχυλισμάτων αγκινάρας υποστηρίζουν και συμφωνούν με την παραδοσιακή του χρήση ως διεγερτικό πέψης αλλά και σε προβλήματα της διαδικασίας, όπως δυσπεψία με αίσθημα πληρότητας και φούσκωμα.

Άλλες φαρμακολογικές δράσεις των εκχυλισμάτων αγκινάρας, όπως αντιμικροβιακή, αντιοξειδωτική, κυτταροπροστατευτική, αντιαθηροσκληρωματικές και αντιυπερχοληστερολαιμικές ιδιότητες με αυξημένη μείωση επιπέδων χοληστερόλης μέσω αναστολής της ηπατοκυτταρικής de novo βιοσύνθεσης της χοληστερόλης έχουν παρατηρηθεί σε διάφορα *in vivo* και *in vitro* tests.

Η παραδοσιακή χρήση των φύλλων αγκινάρας για την ανακούφιση των συμπτωμάτων από διαταραχές στη διαδικασία της πέψης όπως δυσπεψία με αίσθημα πληρότητας και φούσκωμα υποστηρίζεται από τα πολλά χρόνια χρήσης τους αλλά και τα φαρμακολογικά δεδομένα και αποτελέσματα από τα *in vivo* και *in vitro* tests που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Τοξικότητα:

Λόγω της χρήσης των εκχυλισμάτων φύλλων αγκινάρας σε κλινικές μελέτες καθώς και *in vitro* και *in vivo* μελέτες, καθώς και της ευρείας χρήσης ως παραδοσιακού φαρμάκου φυτικής προέλευσης θεωρείται απαραίτητη και η αξιολόγηση της τοξικότητας τους. Πραγματοποιήθηκαν διάφορες μελέτες για ανίχνευση της τοξικότητας των φύλλων αγκινάρας, για οξεία και υπο-οξεία τοξικότητα, καρκινογένεση και γονοτοξικότητα.

- **Οξεία τοξικότητα:**

Σε από το στόμα λήψη (LD₃₀) και ενδοπεριτοναϊκή LD₁₀ σε αρσενικά ποντίκια των υδροξυαλκοολικών ολικών εκχυλισμάτων φύλλων αγκινάρας (19% καφεοϋλκινικά οξέα) προσδιορίστηκαν αντίστοιχα ως >2000 mg/kg και >1000 mg/kg βάρους σώματος αντίστοιχα. Σε ένα καθαρό εκχύλισμα (46% καφεοϋλκινικά οξέα) η από το στόμα LD₄₀ και ενδοπεριτοναϊκή LD₅₀ ήταν 2000 mg/kg και 265 mg/kg αντίστοιχα.

Σε πρωτογενής καλλιέργιες ηπατοκυττάρων ποντικών δεν παρατηρήθηκαν τοξικά φαινόμενα από τα υδατικά ξηρά εκχυλίσματα φύλλων αγκινάρας σε συγκεντρώσεις μέχρι και 1 mg ανά ml καλλιέργειας.

Κυναρίνη: Το LD₅₀ της κυναρίνης σε ποντίκια προσδιορίστηκε στα 1900 mg/kg βάρους σώματος. Μετά από χορήγηση ενδοπεριτοναϊκά σε ποντίκια σε 800 mg/kg ή ενδοφλεβίως σε

κουνέλια σε 1000 mg/kg/ώρα, η κυναρίνη δεν παρουσίασε καθόλου παρενέργειες ή σημάδια τοξικότητας.

- **Υπο-οξεία τοξικότητα:**

Κυναρίνη χορηγούμενη ενδοπεριτοναϊκά σε ενήλικα ποντίκια για 15 ημέρες σε δόσεις από 50-400 mg/kg/ημέρα δεν προκάλεσε καθόλου μακροσκοπικές ή ιστολογικές ανωμαλίες ή αλλαγές στα επίπεδα αίματος.

Σε ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση και χορήγηση από το στόμα σε ποντίκια οι θανατηφόρες δόσεις των υδροξυαλκοολικών εκχυλίσματα των φύλλων ήταν 2 g/kg και 1 g/kg σε βάρος σώματος αντίστοιχα.

Εξωτερική εφαρμογή εκχυλισμάτων φύλλων στο δέρμα λευκών ποντικίων σε δόσεις 1-3 g/kg βάρους σώματος για 21 ημέρες, δεν προκάλεσε κανένα τοξικό φαινόμενο και δεν επηρέασε βιοχημικές παραμέτρους των ποντικίων. Δεν παρατηρήθηκε ούτε ερεθισμός δέρματος, ούτε ματιών.

- **Γονοτοξικότητα:**

Πρόσφατες μελέτες διερεύνησαν την γονοτοξικότητα των εκχυλισμάτων φύλλων αγκινάρας. Γονοτοξικά και αντιγονοτοξικά φαινόμενα παρατηρήθηκαν ανάλογα με τις συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων. Υψηλές δόσεις εκχυλισμάτων αγκινάρας (5 mg/ml και 2 g/kg αντίστοιχα) εμφάνισαν μεταλλαξιγόνο αποτέλεσμα, ενώ χαμηλές δόσεις εμφάνισαν προστατευτικές αντιοξειδωτικές δράσεις. Στόχος της μελέτης ήταν η αξιολόγηση της περιεκτικότητας των εκχυλισμάτων των φύλλων *Cynara* που θα προκαλούσαν χρωμοσωμική αστάθεια και κυτταροτοξικότητα σε κύτταρα κινέζικου χάμστερ ακολουθώντας την CBMN διαδικασία (cytokinesis-block micronucleus cytome). Στα κύτταρα προστέθηκαν 4 διαφορετικές συγκεντρώσεις εκχυλισμάτων *Cynara* σε 2 χρόνους έκθεσης : 1h και 24h. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι τα εκχυλίσματα δεν εμφάνισαν κυτταροτοξικά αποτελέσματα. Εμφάνισαν όμως την ικανότητα των συστατικών που περιέχονται στα εκχυλίσματα να προάγουν την μετάλλαξη χρωμοσωμάτων, η οποία είναι αποτέλεσμα της προ-οξειδωτικής δράσης των συστατικών αυτών , όπως είναι τα φλαβονοειδή και τα χλωρογενικά οξέα.

- **Καρκινογένεση:**

Καφεϊκό και γλωρογενικό οξύ

Το IARC (International Agency for Research on Cancer) αξιολόγησε τις πιθανότητες καρκινογένεσης του καφεϊκού οξέος . Μετά από χορήγηση καφεϊκού οξέος μέσω διατροφής (δοσολογία 2-3 g/kg βάρους σώματος), υπήρχαν αυξημένα περιστατικά υπερπλασίας μυών στο στομάχι και νεφρική υπερπλασία σωληνοειδών κυττάρων σε ποντίκια και των δύο φύλων. Σε αρουραίους αυξημένη χορήγηση μέσω της διατροφής (περίπου 0.7-0.8 g/kg) καφεϊκού οξέος προκάλεσε την παραγωγή καρκινωμάτων στους μύς του στομαχιού ζώων και των δύο φύλων.

Χορήγηση από το στόμα καφεϊκού οξέος σε συνδυασμό με γνωστές καρκινογόνες ουσίες είχε ως αποτέλεσμα την ενίσχυση ή την αναστολή των φαινομένων καρκινογένεσης ανάλογα με την καρκινογόνο ουσία και την ώρα χορήγησης. Η ομάδα της IARC αποφάσισε ότι το καφεϊκό οξύ είναι πιθανά καρκινογόνος ουσία για τους ανθρώπους σε υψηλές δόσεις.

Συμπεράσματα τοξικότητας:

Διάφορες *in vivo* και *in vitro* μελέτες γονοτοξικότητας ήταν σε γενικά πλαίσια αρνητικές, εκτός από τις αυξημένες μεταλλάξεις γονιδίων και χρωμοσωμικές ανωμαλίες σε καλλιέργειες κυττάρων τρωκτικών με υψηλή έκθεση (δεν πραγματοποιήθηκε καμία αξιολόγηση όσον αφορά αυτά τα θετικά αποτελέσματα γονοτοξικότητας). Λόγω έλλειψης δεδομένων η χρήση των εκχυλισμάτων αγκινάρας σε κύηση και θηλασμό δεν συνίσταται.

Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι όλες οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί όσον αφορά την καρκινογένεση των εκχυλισμάτων δεν ανταποκρίνονται στα δεδομένα που ισχύουν σήμερα. Τα δεδομένα είναι ότι οι όγκοι στο στομάχι τρωκτικών μετά από υψηλή έκθεση σχετίζονται λιγότερο με τον κίνδυνο εμφάνισης τους στον άνθρωπο. Επίσης, δεν υπάρχουν καθόλου δεδομένα για τερατογένεση ή καρκινογένεση.

Γενικό συμπέρασμα

Η αγκινάρα χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε παράγωγα φαινολικών οξέων. Πειραματικές μελέτες (*in vitro* και *in vivo*) υποστηρίζουν και επαληθεύουν διάφορες από τις παραδοσιακές χρήσεις της αγκινάρας. Παραδοσιακά, η χολαιρετική δράση και η ικανότητα μείωσης των επιπέδων χοληστερόλης της αγκινάρας έχει αποδοθεί στη κυναρίνη. Μελέτες σε ζώα και ανθρώπους υποδεικνύουν ότι αυτές οι δράσεις μπορεί να οφείλονται στη παρουσία μονοκαφεοϋλκινικών οξέων και στη κυναρίνη στην αγκινάρα. Κλινικές μελέτες που ερευνούσαν την χρήση της αγκινάρας στην υπερλιπιδαιμία τα αποτελέσματα τους υποδεικνύουν ότι έχει πολλές προοπτικές, αλλά απαιτούνται περαιτέρω κλινικές μελέτες για επιβεβαίωση της θεωρίας αυτής.

Οι υπάρχουσες κλινικές μελέτες υποδεικνύουν ότι τα **εκχυλίσματα αγκινάρας είναι αποτελεσματικά έναντι δυσπεψίας αλλά και μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη μείωση των επιπέδων λιπιδίων και αυτή θεωρείται ότι είναι η ένδειξη της χρήσης σκευασμάτων που περιέχουν εκχυλίσματα φύλλων αγκινάρας.**

Πίνακας 7: Πληροφορίες για τα φύλλα αγκινάρας σύμφωνα με τη μονογραφία του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων (EMA) EMA/HMPC/194014/2017

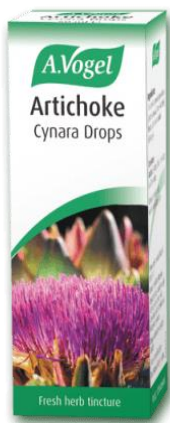
<p>Φαρμακευτική μορφή</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Τεμαχισμένη δρόγη ως φυτικό έγχυμα για χρήση <i>per os</i> • Φυτικά παρασκευάσματα σε στερεή ή υγρή δοσολογική μορφή για <i>per os</i> χρήση <p>Η φαρμακευτική μορφή θα πρέπει να περιγράφεται από τα πρότυπα της Ελληνικής Φαρμακοποιίας</p>
<p>Ένδειξη</p>	<p>Παραδοσιακό φάρμακο φυτικής προέλευσης για τη συμπτωματική ανακούφιση των πεπτικών διαταραχών όπως η δυσπεψία με αίσθηση πληρότητας, φούσκωμα και μετεωρισμός.</p> <p>Το προϊόν είναι παραδοσιακό φάρμακο φυτικής προέλευσης για χρήση στην καθορισμένη ένδειξη η οποία βασίζεται αποκλειστικά στη μακροχρόνια χρήση</p>
<p>Δοσολογία και μέθοδος χορήγησης</p>	<p>Δοσολογία Έφηβοι, ενήλικες και ηλικιωμένοι: Α) Τεμαχισμένα αποξηραμένα φύλλα για παρασκευή φυτικού εγχύματος: 1,5 g της τεμαχισμένης δρόγης σε 150 ml ζεστού νερού ως φυτική έγχυση 4 φορές την ημέρα ή 3 g της τεμαχισμένης δρόγης σε 150 ml ζεστού νερού ως φυτική έγχυση 1-2 φορές την ημέρα Ημερήσια δόση 3-6 g</p> <p>Β) Κονιοποιημένα ξηρά φύλλα: Ημερήσια δόση 600-1500 mg (σε διηρημένες δόσεις, 2-4 φορές την ημέρα)</p> <p>Γ) Ξηρό εκχύλισμα αποξηραμένων φύλλων (DER 2-7,5: 1), διαλύτης έκλουσης: νερό</p>

	<p>Μία δόση 200-640 mg Ημερήσια δόση 400-1320 mg</p> <p>Δ) Ξηρό εκχύλισμα από φρέσκα φύλλα (DER 15-35: 1), διαλύτης έκλουσης: νερό Μία δόση 200-900 mg Ημερήσια δόση 600-2700 mg</p> <p>Ε) Μαλακό εκχύλισμα από φρέσκα φύλλα (DER 15-30: 1), διαλύτης έκλουσης: νερό Μία δόση 600 mg Ημερήσια δόση 1800 mg</p> <p>ΣΤ) Μαλακό εκχύλισμα αποξηραμένων φύλλων (DER 2,5-3,5: 1), διαλύτης έκλουσης: αιθανόλη 20% (V / V) Μία δόση 0,7 g 3 φορές την ημέρα Ημερήσια δόση 2,1 g</p> <p>Η χρήση σε παιδιά κάτω των 12 ετών δεν είναι συνιστάται</p> <p>Διάρκεια χορήγησης: Εάν τα συμπτώματα επιμένουν περισσότερο από 2 εβδομάδες κατά τη διάρκεια της χρήσης του φαρμάκου, θα πρέπει να συμβουλευτείτε τον γιατρό ή κάποιον εξειδικευμένο επαγγελματία υγείας</p>
Αντενδείξεις	<p>Υπερευαισθησία στη δραστική ουσία ή στα φυτά που ανήκουν στην οικογένεια Asteraceae (Compositae).</p> <p>Απόφραξη του χοληφόρου αγωγού, ηπατική νόσος, χολολιθίαση και άλλες διαταραχές της χολής που απαιτούν ιατρική επίβλεψη</p>
Ειδικές προειδοποιήσεις και προφυλάξεις κατά τη χρήση	<p>Δεν χρησιμοποιείται σε παιδιά κάτω των 12 ετών</p> <p>Η χρήση κατά την κύηση και των θηλασμό δεν ενδείκνυται</p>

Αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα	Δεν έχουν καταγραφεί
Ανεπιθύμητες ενέργειες	Ελαφρά διάρροια με κοιλιακούς σπασμούς, επιγαστρικές διαταραχές όπως η ναυτία και η καούρα έχουν αναφερθεί. Η συχνότητα δεν είναι γνωστή. Μπορεί να εμφανιστούν αλλεργικές αντιδράσεις των οποίων η συχνότητα δεν είναι γνωστή Εάν εμφανιστούν άλλες ανεπιθύμητες ενέργειες που δεν αναφέρονται παραπάνω θα πρέπει να συμβουλευτείτε τον γιατρό ή κάποιον εξειδικευμένο επαγγελματία υγείας
Υπερδοσολογία	Δεν έχει καταγραφεί κανένα περιστατικό υπερδοσολογίας

Τα φύλλα αγκινάρας λόγω της ευρείας χρήση τους στη θεραπευτική, συντελούν στο να χρησιμοποιούνται τόνοι φύλλων αγκινάρας για φαρμακευτικά σκευάσματα αλλά και συμπληρώματα διατροφής. Εκτός από το αφέψημα αγκινάρας που παρασκευάζεται από ξηρά φύλλα, υπάρχουν και τα ακόλουθα σκευάσματα :

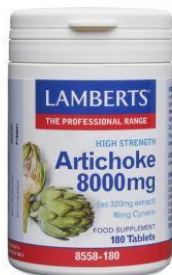
Πίνακας 8: Σκευάσματα που κυκλοφορούν στην αγορά και περιέχουν εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας



Εικόνα 12: Βάμμα αγκινάρας



Εικόνα 13 : Καψάκια που περιέχουν εκχυλίσματα φύλλων αγκινάρας



Εικόνα 14 : Δισκία εκχυλίσματος αγκινάρας



Εικόνα 15: Καψάκια που περιέχουν εκχύλισμα φύλλων αγκινάρας



Εικόνα 16: Δισκία που περιέχουν εκχύλισμα αγκινάρας

Τα φύλλα αγκινάρας δεν χρησιμοποιούνται μόνο στην Ελλάδα αλλά σύμφωνα με τον EMA εμφανίζονται και παγκόσμια εθνοφαρμακολογική χρήση σε διάφορες χώρες όπως:

Πίνακας 9: Εθνοφαρμακολογική χρήση φύλλων αγκινάρας	
Χώρα	Ένδειξη
Ευρώπη	Ανεπαρκής έκκριση χολής, αποτοξίνωση, δυσπεψία, διαταραχές χοληδόχου κύστης, υψηλά επίπεδα χοληστερόλης, υπεργλυκαιμία, ίκτερος, δυσλειτουργίες του ήπατος, ναυτία
Βραζιλία	Ακμή, αναιμία, αρθρίτιδα, αθηροσκλήρωση, άσθμα, ανεπαρκής έκκριση χολής, βρογχίτιδα, διαβήτης, διάρροια, δυσπεψία, διαταραχές στη διαδικασία πέψης, πυρετός, αιμορραγία, αιμορροΐδες, υψηλά επίπεδα χοληστερόλης, υπερένταση, υπεργλυκαιμία, φλεγμονή, ανεπάρκεια νεφρών, δυσλειτουργία ήπατος, νεφρίτιδα, παχυσαρκία, προστάτης, έλκη, διαταραχές στο ουροποιητικό σύστημα
Δομινικανή Δημοκρατία	Ανεπαρκής έκκριση χολής, προβλήματα πέψης
Αϊτή	Οίδημα, υπερένταση, διαταραχές νεφρών, προβλήματα στο ήπαρ,
Μεξικό	Κυστίτιδα, υπερένταση, διαταραχές στο ήπαρ

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. Οργανολογία – Τεχνικές διαχωρισμού – Υλικά εργαστηρίου :

2.1.1. Χρωματογραφικές Τεχνικές

Υγρή χρωματογραφία στήλης (CC)

- Ανοικτού τύπου υπό κενό με στατική φάση οξείδιο του πυριτίου 60H (<45 μm, Merck). (VLC, Vacuum Liquid Chromatography)
- Ανοικτού τύπου με στατική φάση οξείδιο του πυριτίου 60(0.040-0.063 mm, Merck).
- Ανοικτού τύπου με στατική φάση πολυυδροξυπροπυλωμένη δεξτράνη, Sephadex LH-20 (25-100 μm, Pharmacia).
- Ανοικτού τύπου με στατική φάση κυτταρίνη (Cellulose, Merck).

Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC)

- Πλάκες αλουμινίου με επίστρωση οξείδιο του πυριτίου με δείκτη φθορισμού (Kieselgel 60 F₂₅₄) διαστάσεων 20 x 20 cm (αναλυτική χρωματογραφία).
- Γυάλινες πλάκες με επίστρωση οξείδιο του πυριτίου με δείκτη φθορισμού (Kieselgel 60 F₂₅₄) διαστάσεων 20 x 20 cm (παρασκευαστική χρωματογραφία).
- Πλάκες αλουμινίου με επίστρωση οξείδιο του πυριτίου RP-18 με δείκτη φθορισμού (silica gel RP-18 F₂₅₄) διαστάσεων 20 x 20 cm (αναλυτική χρωματογραφία).
- Γυάλινες πλάκες αλουμινίου με επίστρωση οξείδιο του πυριτίου RP-18 με δείκτη φθορισμού (silica gel RP-18 F₂₅₄) διαστάσεων 20 x 20 cm (παρασκευαστική χρωματογραφία).
- Πλάκες αλουμινίου με επίστρωση κυτταρίνης (χωρίς δείκτη φθορισμού) διαστάσεων 20 x 20 cm (αναλυτική χρωματογραφία).
- Γυάλινες πλάκες με επίστρωση κυτταρίνης (χωρίς δείκτη φθορισμού) διαστάσεων 20 x 20 cm (παρασκευαστική χρωματογραφία).// Όλα τα παραπάνω είδη πλακών ήταν της εταιρίας Merck.

Χρωματογραφικά αντιδραστήρια

- *Διάλυμα θεϊκής βανιλίνης*: Για την παραγωγή 200 mL μεθανολικού διαλύματος θεϊκής βανιλίνης έγινε ανάμειξη διαλύματος 5 g βανιλίνης (καθαρότητας 99%) διαλυμένης σε 95 mL MeOH, με διάλυμα 5 mL θεϊκού οξέος διαλυμένο σε 95 mL MeOH.
- *Διάλυμα Naturstoff*: 1% διάλυμα συμπλόκου αιθανολαμίνης-διφαινυλο βορικού οξέος (Aldrich) σε MeOH.

2.1.2. Τεχνικές επεξεργασίας φυτικού υλικού και εκχυλισμάτων του

Εκχύλιση

Το φυτικό υλικό εκχυλίστηκε διαδοχικά με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας: **κυκλοεξάνιο**, **διχλωρομεθάνιο** και **μεθανόλη**. Η διαδικασία της εκχύλισης εκτελέστηκε 3 φορές, με εμβάπτιση σε 1.5 L διαλύτη για 24 h κάθε φορά, σε θερμοκρασία δωματίου, με σκοπό να παραληφθεί το σύνολο των συστατικών του φυτού. Επιπρόσθετα, παρασκευάστηκε και υδατικό εκχύλισμα. Για την παρασκευή υδατικού εκχυλίσματος, προστέθηκαν στη κονιοποιημένη δρόγη 200 mL ζεστού νερού. Το μίγμα θερμάνθηκε για 5 min, διηθήθηκε υπό κενό και λήφθηκε το **υδατικό εκχύλισμα**.

Συμπύκνωση υπό κενό

Όλες οι συμπυκνώσεις πραγματοποιήθηκαν με εξάτμιση μέχρι ξηρού, με χρήση συμπυκνωτή κενού Rotavapor Büchi R-200 σε θερμαινόμενο υδατόλουτρο Büchi Heating Bath B-490 στους 35-50°C.

Λυοφιλοποίηση

Μετά από κατάψυξη του δείγματος, πραγματοποιήθηκε θέρμανση του στον λυοφιλοποιητή της εταιρίας Zirbus, VaCo 5 series σε θερμοκρασία -50°C με σύστημα ψύξης δύο σταδίων. Ως υγρό ψύξης χρησιμοποιήθηκε το Isceon 89.

Σαπωνοποίηση

Η διαδικασία της σαπωνοποίησης πραγματοποιήθηκε με προσθήκη 50mL NaOH (50% β/ο) και 60mL απόλυτης αιθανόλης και θέρμανση. Το μίγμα μεταφέρθηκε σε σφαιρική φιάλη και θερμάνθηκε σε ελαιόλουτρο στους 72°C για 1h υπό κάθετο ψυκτήρα. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης προστέθηκαν 30mL απόλυτης αιθανόλης και το μίγμα μεταφέρθηκε σε διαχωριστική χοάνη. Για την μεταφορά χρησιμοποιήθηκαν 100mL H₂O, αρχικά 50mL ζεστό H₂O και στη συνέχεια 50mL ψυχρού. Ακολούθησε ψύξη του μίγματος και στη συνέχεια εκχύλιση με πετρελαϊκό αιθέρα τρεις φορές (1x50mL, 1x100mL, 1x50mL). η πάνω στιβάδα (οργανική στιβάδα) αποτελείται από το πετρελαϊκοαιθερικό εκχύλισμα (**εκχύλισμα Α**) που περιέχει τα **ασαπωνοποιήτα** συστατικά και η κάτω στιβάδα είναι η υδατική στιβάδα (**εκχύλισμα Β**) που περιέχει τα **σαπωνοποιημένα**. Μετά το τέλος της εκχύλισης το σύνολο των πετρελαϊκοαιθερικών εκχυλισμάτων (εκχ.Α) μεταφέρθηκαν σε διαφορετική διαχωριστική χοάνη και πραγματοποιήθηκε έκπλυση τους τρεις φορές με 25mL αιθανόλης 10°. Πραγματοποιήθηκε συλλογή της οργανικής στιβάδας που συνεχίζει να περιέχει τα ασαπωνοποιήτα συστατικά ενώ η υδατική απορρίφθηκε. Στη συνέχεια, στα

πετρελαϊκοαιθερικά εκχυλίσματα προστέθηκε άνυδροθειϊκό νάτριο για την απομάκρυνσή της υγρασίας και ακολούθησε διήθηση, εξάτμιση του διαλύτη σε περιστροφικό συμπυκνωτή στους 40°C και ξήρανση. Στο τελικό προϊόν περιέχονται τα ασαπωνοποιήτα συστατικά. **(προϊόν Α)**

Στη συνέχεια, στο δεύτερο στάδιο της διαδικασίας πραγματοποιήθηκε διάσπαση των σαπώνων που περιέχονται στην υδατική στιβάδα (**εκχύλισμα Β**) για λήψη των λιπαρών οξέων με θερμάνση σε υδατόλουτρο. Το διάλυμα οξινίστηκε με π.ΗCl μέχρι pH=3 και μεταφέρθηκε σε διαχωριστική χοάνη όπου εκχυλίστηκε με πετρελαϊκό αιθέρα (1x100mL, 1x50mL, 1x50mL), μέχρι να παραληφθεί όλη η ποσότητα των λιπαρών οξέων. Η υδατική στιβάδα γίνεται **διαυγής** ενώ η αιθερική (οργανική) **κίτρινη**. Στην οργανική στιβάδα περιέχονται τα λιπάρα οξέα που διασπάστηκαν από τους σάπωνες. Στα συνενωμένα οργανικά εκπλύματα προστέθηκε άνυδροθειϊκό νάτριο, ακολούθησε διήθηση και εξάτμιση του διαλύτη σε περιστροφικό συμπυκνωτή στους 40°C μέχρι ξηρού. **(προϊόν Β)**

Εστεροποίηση

Στη συνέχεια, στο **προϊόν Β** πραγματοποιήθηκε εστεροποίηση των συστατικών του. Η διαδικασία εστεροποίησης πραγματοποιήθηκε με προσθήκη άνυδρης μεθανόλης, π.Η₂SO₄ και θέρμανση για 1h υπό κάθετο ψυκτήρα. Μετά το τέλος της αντίδρασης και την ψύξη του μίγματος πραγματοποιήθηκε εκχύλιση με ψυχρό H₂O (100mL) και πετρελαϊκό αιθέρα (3x50mL). Τα πετρελαϊκοαιθερικά εκχυλίσματα συνενώθηκαν και εκπλύθηκαν με H₂O μέχρι ουδέτερης αντίδρασης (pH=7). Στα πετρελαϊκοαιθερικά εκχυλίσματα προστέθηκε άνυδροθειϊκό νάτριο και ακολούθησε εξάτμιση του διαλύτη. **(προϊόν Β_{εστ})**

2.1.3. Όργανα και τεχνικές ταυτοποίησης των φυσικών προϊόντων

Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)

Στη φασματοσκοπία NMR χρησιμοποιήθηκαν δευτεριωμένοι διαλύτες (CDCl₃, CD₃OH, D₂O). Φάσματα ¹H-NMR καθώς και φάσματα δύο διαστάσεων COSY (Correlation Spectroscopy), HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Coherence), HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence) και NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) λήφθηκαν σε όργανο Bruker DRX 400 (400 MHz). Φάσματα ¹³C-NMR και DEPT λήφθηκαν σε όργανο Bruker AC 200 (50 MHz). Οι χημικές μετατοπίσεις δίνονται σε τιμές δ (ppm) με εσωτερικό πρότυπο TMS, ενώ οι σταθερές σύζευξης *J* σε Hz. Η πολλαπλότητα των κορυφών των φασμάτων αποδίδεται εν συντομία ως εξής: s = μονή, d = διπλή, t = τριπλή, q = τετραπλή, q = πενταπλή, sept = επταπλή και m = πολλαπλή.

Αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS)

Η ανάλυση πραγματοποιείται σε αέριο χρωματογράφο Hewlett-Packard 6890 συνδεδεμένο με σύστημα φασματογράφου μάζας Hewlett-Packard 5973 που λειτουργεί με βομβαρδισμό ηλεκτρονίων (electron impact) και με ενέργεια ιονισμού 70 eV. Ο αέριος χρωματογράφος είναι εξοπλισμένος με έναν split / splitless εγχυτήρα με λόγο διαχωρισμού 1/10 και μια τριχοειδή στήλη HP 5MS και με μήκος 30 m, εσωτερική διάμετρο 0.25 mm και πάχος μεμβράνης 0.25 μm. Η θερμοκρασία στο θάλαμο εισαγωγής του δείγματος ήταν 250°C. Η αρχική θερμοκρασία της στήλης ήταν 60°C για 5 λεπτά και με αύξηση 3°C / λεπτό έφτανε στους 280°C, όπου παρέμενε για 15 λεπτά. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης ήταν 93 λεπτά. Το φέρον αέριο ήταν He. Η μελέτη των χρωματογραφημάτων γίνεται με βάση την επεξεργασία των κορυφών, το φάσμα μάζας της κάθε ουσίας και τα βιβλιογραφικά δεδομένα.

Σιλιλίωση

Ως σιλιλίωση ορίζεται η διαδικασία σχηματισμού πτητικών παραγώγων μη πτητικών ενώσεων με αέρια χρωματογραφία GC που επιτυγχάνεται με εισαγωγή ομάδων $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$, ή $-\text{SiH}(\text{CH}_3)_2$ σε ενεργά H (-OH, -COOH, -NH₂, -NH, -SH)



Σε ποσότητα 5 mg ξηρού εκχυλίσματος προστίθεται ποσότητα 40 μL άνυδρης πυριδίνης και 50 μL του αντιδραστήριου BTFA [bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide]. Ακολουθεί θέρμανση στους 80°C για 20 min και στη συνέχεια τα δείγματα που έχουν πλέον σιλιανοποιηθεί υποβάλλονται σε αέρια χρωματογραφία συνδεδεμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS). Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που χρησιμοποιείται είναι: αρχική θερμοκρασία στους 100°C όπου παραμένει σταθερή για 2min, έπειτα αυξάνεται με ρυθμό 5°C/min έως τους 280°C, όπου και παραμένει σταθερή για 10min. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης είναι 48min. Mode split και ταχύτητα φέροντος αερίου He 1,8mL/min.

Φασματομετρία μάζας (LC-MS/MS)

Πραγματοποιήθηκε λήψη φάσματος μάζας ESI-MS χρησιμοποιώντας αναλυτή 3200 QTRAP-LC/MS/MS system της Applied Biosystems. Έγινε απευθείας ένεση των δειγμάτων στο σημείο εισαγωγής τους και το όργανο ήταν εξοπλισμένο με πηγή ιόντων (ESI) ηλεκτρονιοψεκασμού, θετικού ή αρνητικού ιονισμού (Ion spray voltage (IS)):-4500 V (ή +4500 V). Περαιτέρω ρυθμίσεις του οργάνου: Declustering potential: 50 V και entrance potencial:10 V, desolvation gas (GS1): 10.00 au, curtain gas (CUR): 10.00 au, interface heater (ihe): ON.

Μέτρηση στροφικής ικανότητας

Η μέτρηση της γωνίας στροφής έγινε σε πολωσίμετρο Perkin Elmer 341 με κυψελίδα 1 mL σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (~20°C) και με βάση τη σχέση $[\alpha]=\beta \cdot 100/\mu \cdot d$, όπου β η ένδειξη του πολωσιμέτρου (γωνία στροφής, deg), d η συγκέντρωση σε g/100 mL και μ το μήκος της κυψελίδας σε dm, σε μήκος κύματος 521 nm.

2.2. Αρχικά εκχυλίσματα

Ζυγίσθηκαν 506 g σπερμάτων που κονιοποιήθηκαν και 500 g κονιοποιημένης δρόγης εκχυλίσθηκε διαδοχικά με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας: **κυκλοεξάνιο**, **διχλωρομεθάνιο** και **μεθανόλη**. Επιπρόσθετα, παραλήφθηκε και υδατικό εκχύλισμα από τα υπόλοιπα 6 g της δρόγης.

Τα εκχυλίσματα όλων των οργανικών διαλυτών συμπυκνώθηκαν μέχρι ξηρού, ενώ το υδατικό εκχύλισμα υποβλήθηκε σε λυοφιλοποίηση.

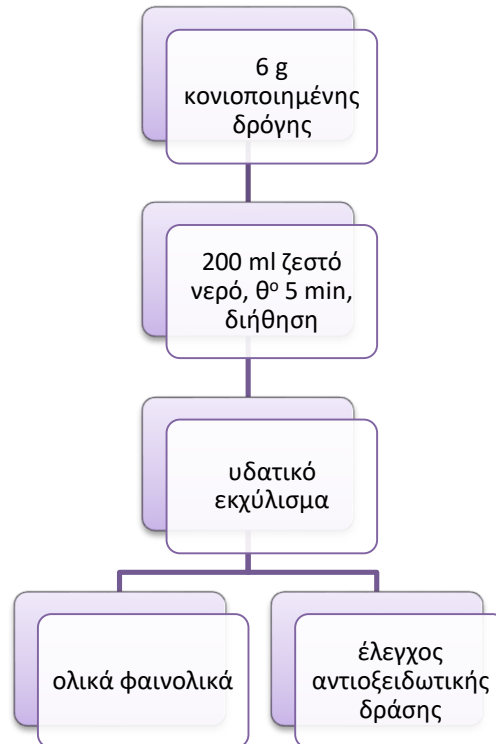
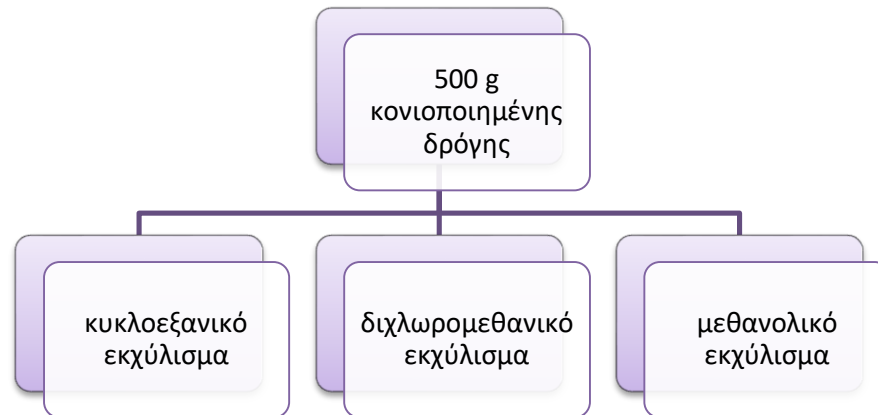
Τα βάρη τους φαίνονται στον πίνακα που ακολουθεί:

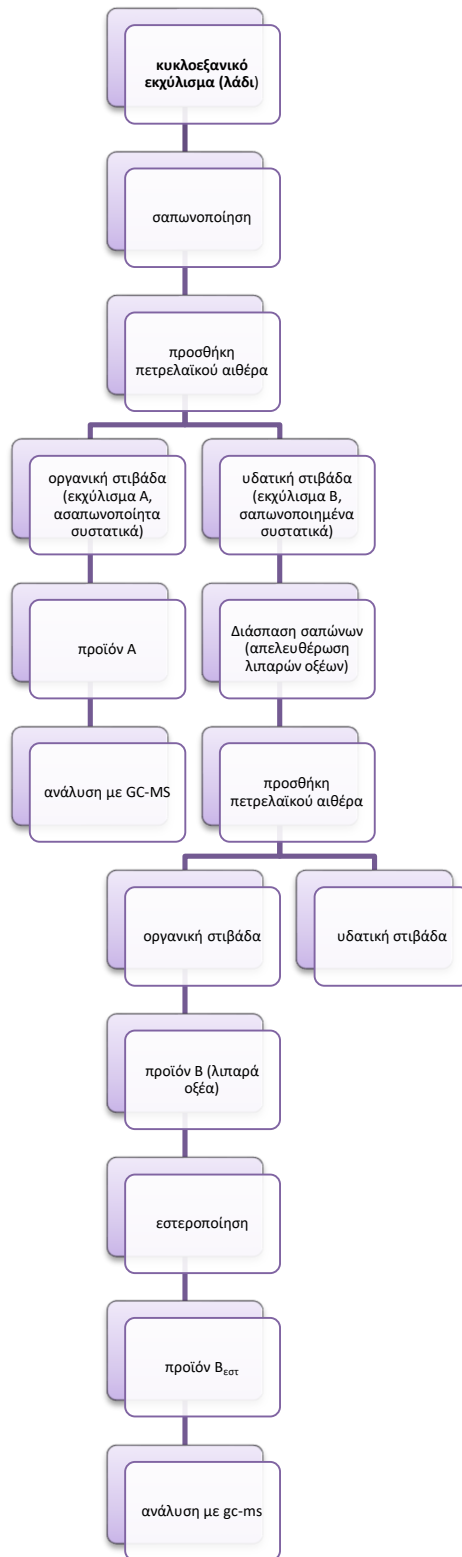
Πίνακας 10 :Βάρη αρχικών εκχυλισμάτων		
Εκχύλισμα	Όνομα δείγματος	Βάρος (g)
κυκλοεξανικό	CynC-6	97,4911 g
διχλωρομεθανικό	CynCH ₂ Cl ₂	15,1350 g
μεθανολικό	CynMeOH	60,0076 g
υδατικό	CynH ₂ O	1,0347 g

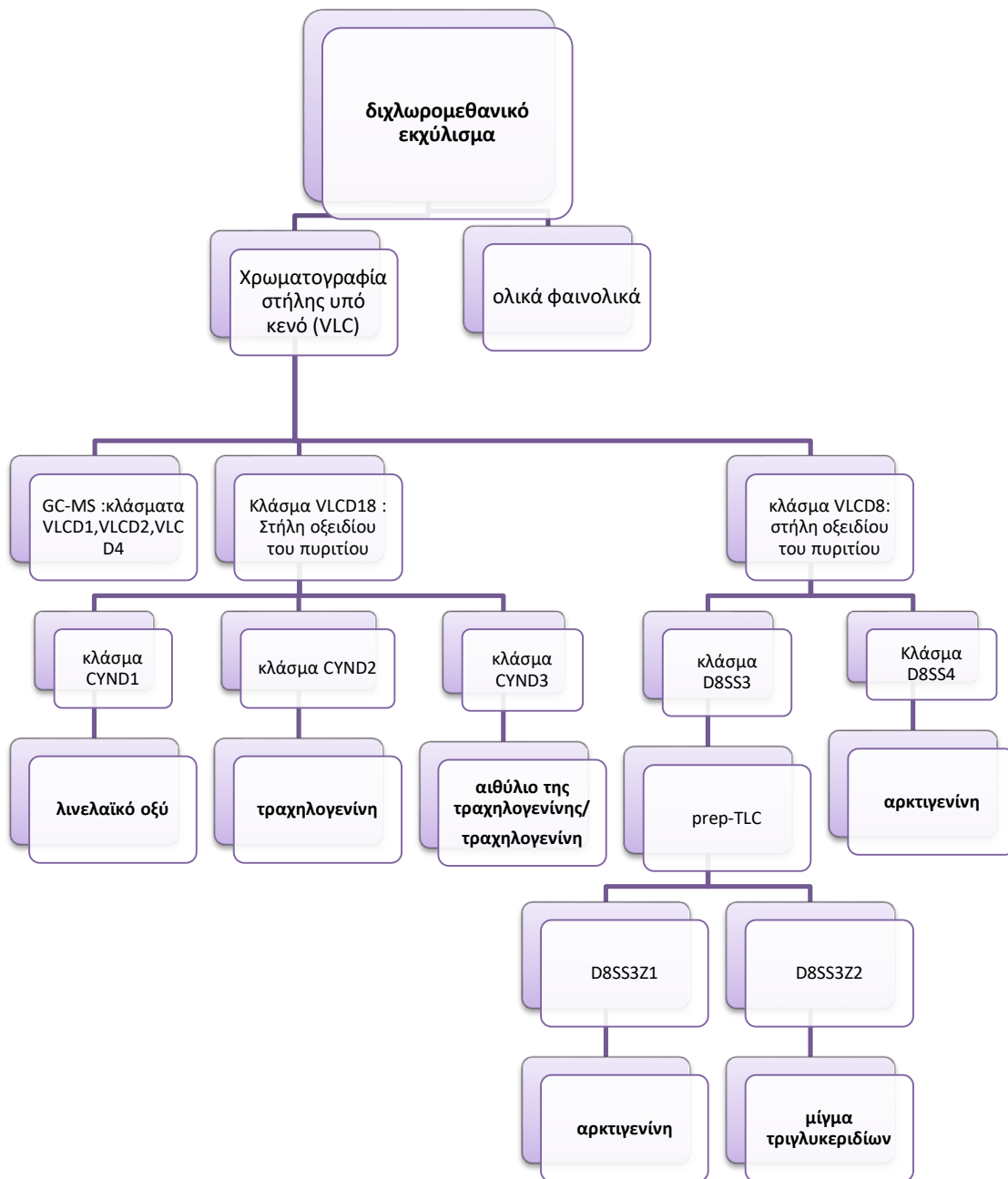


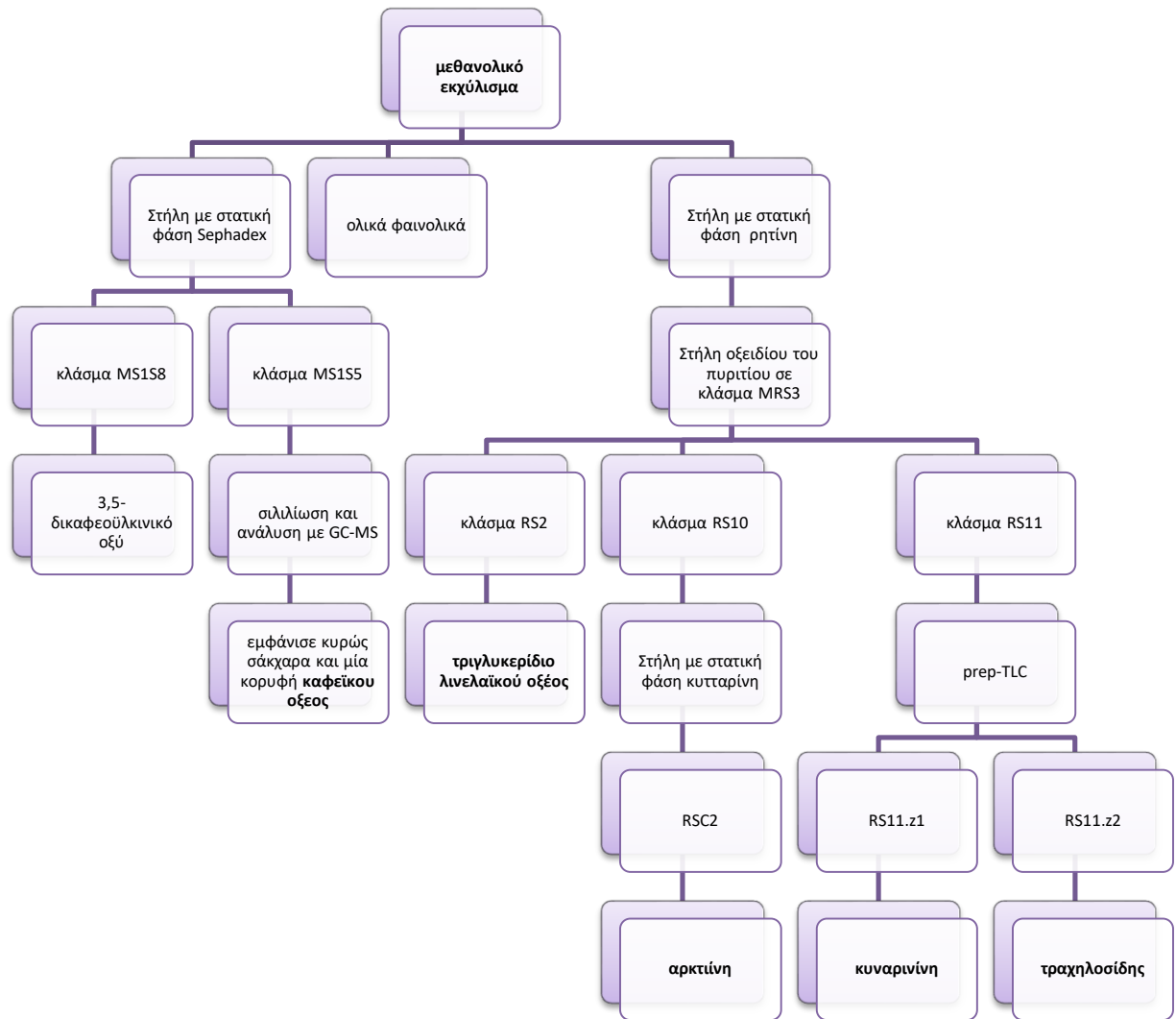
Εικόνες 17,18,19: TLC αρχικών εκχυλισμάτων με συστήματα ανάπτυξης D/C-6 (50.50), D/MeOH (90.10) και MeOH/H₂O (50.50) αντίστοιχα

Διάγραμμα φυτοχημικής ανάλυσης σπερμάτων *Cynara cardunculus*









2.3. Ανάλυση κυκλοεξανικού εκχύλισματος

Στο κυκλοεξανικό εκχύλισμα πραγματοποιήθηκε σαπωνοποίηση, παραλαβή σαπωνοποιημένων και ασαπωνοποίητων συστατικών και περαιτέρω ανάλυση τους με αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας (GC-MS).

Σαπωνοποίηση συστατικών:

Ποσότητα ίση με **10,1 g** κυκλοεξανικού εκχυλίσματος υποβλήθηκε σε σαπωνοποίηση (Κεφ.2.1.2) όπου λήφθηκε το υποκίτρινο ξηρό **προϊόν Α** (50 mg), το οποίο περιείχε τα ασαπωνοποίητα συστατικά και αναλύθηκε με GC-MS (Βλ. Σύσταση του υπολείμματος Α).



Εικόνα 20: Σαπωνοποίηση δείγματος σε ελαιόλουτρο



Εικόνα 21: Παρατηρείται πιο αναλυτικά η διαδικασία σαπωνοποίησης

Διάσπαση των σαπώνων και παραλαβή των λιπαρών οξέων:

Πραγματοποιήθηκε διάσπαση των σαπώνων που περιέχονται στο εκχύλισμα Β και απελευθέρωση των λιπαρών οξέων με αποτέλεσμα να προκύψει το **προϊόν Β** (όπως αναφέρεται και στο Κεφ.2.1.2.). Το **προϊόν Β** είχε υπόλευκο χρώμα (6,1115 g)

Εστεροποίηση προϊόντος Β:

Ακολούθησε εστεροποίηση του προϊόντος Β και λήφθηκε το κίτρινο προϊόν **B_{εστ}** (**1,1704g**).

Χρωματογραφική εικόνα δειγμάτων A,B,B_{εστ}:

Τα κλάσματα A,B και B_{εστ} ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκα οξειδίου του πυριτίου σε συστήματα ανάπτυξης διαλυτών 100% D και 98/2 CH₂Cl₂/MeOH όπως φαίνεται παρακάτω.



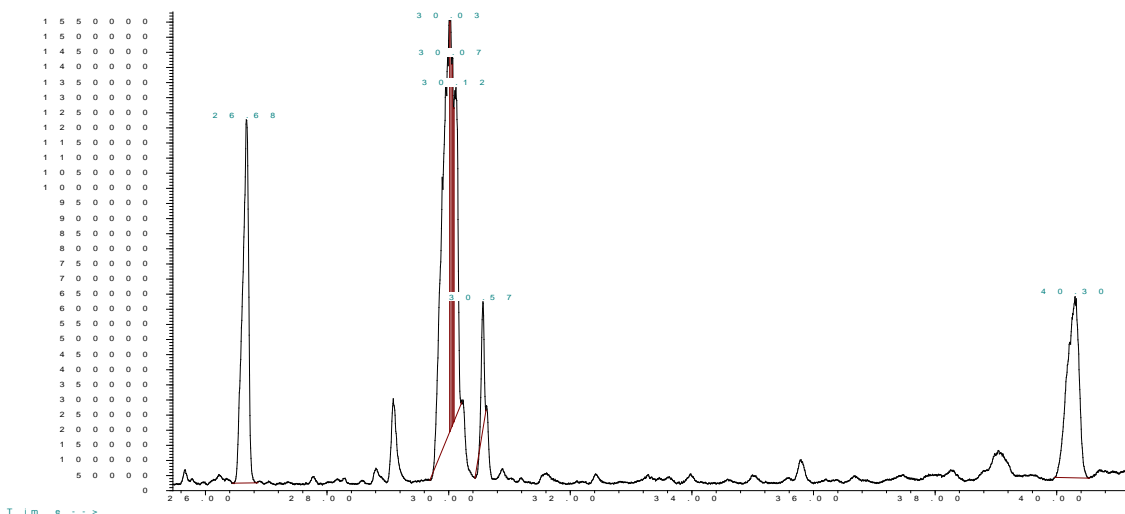
Εικόνα 22: TLC σε δείγματα A,B,B_{εστ} σε σύστημα 100% D



Εικόνα 23: TLC σε δείγματα A και B_{εστ} σε σύστημα 98.2, D/MeOH

Χημική ανάλυση:

Σύσταση προϊόντος Α:

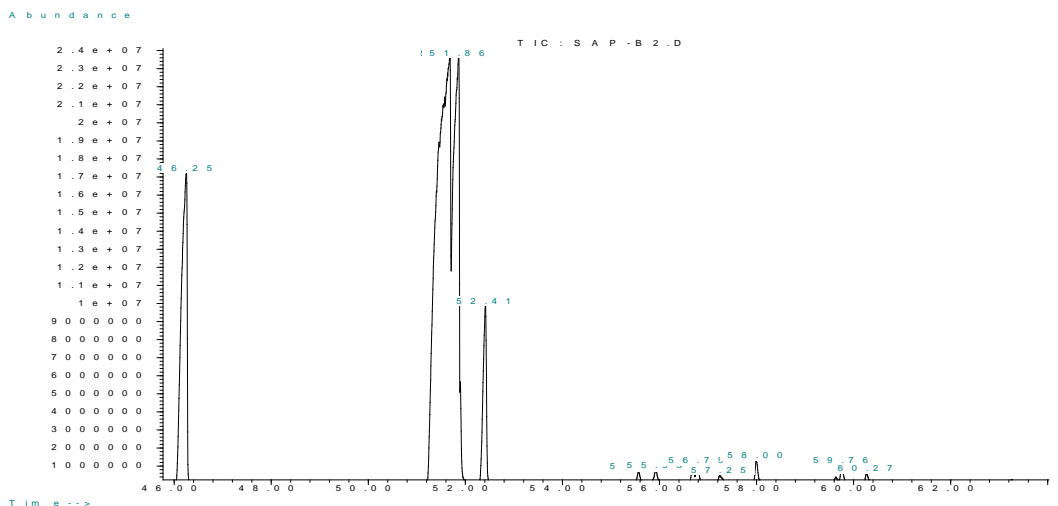


	Rt	Συστατικό	Ποσοστό (%)
1)	26.68	Παλμιτικό οξύ	20.60
2)	29.10	β-σιτοστερόλη	18.45
3)	32.03	Ελαϊκό οξύ	33.33
4)	30.56	Στεατικό οξύ	2.84
5)	40.30	Σκουαλένιο	19.87
6)	42.01	Εικοσιεννιάνιο	2.59
ΣΥΝΟΛΟ			97.68

Περίπου το 70% του ασαπωνωπίητου κλάσματος αποτελείται από λιπαρά οξέα ενώ σε μεγάλο ποσοστό απαντάται το σκουαλένιο που αποτελεί πρόδρομο μόριο στεροειδών. Συγκεκριμένα, αποτελεί ενδιάμεσο μεταβολίτη στη διαδικασία σύνθεσης χοληστερόλης. Μελέτες έδειξαν ότι το σκουαλένιο δρα ως χημειοπροστατευτικός παράγοντας κατά τη διάρκεια θεραπείας έναντι καρκίνου παχέος εντέρου. (Smith, 2000). Επίσης, σημαντική είναι και η παρουσία β-σιτοστερόλης, μορίου με ποικίλες δράσεις όπως αντιφλεγμονώδεις (Gupta, *et al.*, 1980 και αντιμικροβιακές (Sen, *et al.*, 2012).

Όλα τα συστατικά που έχουν ανιχνευθεί στο συγκεκριμένο δείγμα έχουν αναφερθεί ξανά σε λιπόφιλα εκχυλίσματα από διάφορα μέρη (φύλλα, κεφαλές, σπέρματα) του φυτού *C. cardunculus* σύμφωνα με την βιβλιογραφία (Ramos, *et al.*, 2013; Raccuia, *et al.*, 2011)

Σύσταση προϊόντος Β_{εστ}:



	Rt	Συστατικό	Ποσοστό (%)
1.	46.25	Παλμιτικό οξύ	15.29
2.	51.67	Λινελαϊκό οξύ	50.56
3.	51.86	Ελαϊκό οξύ	23.04
4.	52.41	Στεατικό οξύ	5.23
5.	58.00	Αραχιδονικό οξύ	0.58
Σύνολο			94.7

Το εστεροποιημένο κλάσμα αποτελείται απο λιπαρά οξέα με το λινελαϊκό οξύ σε ποσοστό 50%.

Το λινελαϊκό οξύ είναι ένα από τα σημαντικότερα ω -6 λιπαρά οξέα που χρειάζεται ο ανθρώπινος οργανισμός και πρέπει να λαμβάνεται μέσω της τροφής αφού δεν είναι δυνατή η σύνθεσή του από τον οργανισμό.

Η παρουσία αυτών των λιπαρών οξέων στα σπέρματα του φυτού έχει αναφερθεί επίσης με ανάλυση LC/MS στα σπέρματα του ίδιου υβριδίου, όπως αναφέρεται στην βιβλιογραφία (Petrooulos, *et al.*, 2018).

Συμπερασματικά τα σπέρματα αποτελούνται απο λιπαρά οξέα με κυρίαρχο το λινελαϊκό οξύ και το σκουαλένιο, σημαντικό πρόδρομο μόριο για τη σύνθεση πολλών στερολών καθώς και της β-σιτοστερόλης. Λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας των σπερμάτων στους παραπάνω μεταβολίτες που εμφανίζουν μεγάλη θρεπτική αξία, τεκμηριώνεται η επωφελής παραλαβή στην ανθρώπινη διατροφή.

2.4. Ανάλυση διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος:

Χρωματογραφικός διαχωρισμός διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος

Σε μέρος του ξηρού διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος (4g) πραγματοποιήθηκε χρωματογραφικός διαχωρισμός σε στήλη υπό κενό (VLC) διαμέτρου 10 cm με πληρωτικό υλικό γέλη οξειδίου του πυριτίου. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν οι διαλύτες C-6, DCM και MeOH σε μίγματα αυξανόμενης πολικότητας και λήφθηκαν 56 κλάσματα όγκου 250 mL. Στον πίνακα που ακολουθεί αναγράφονται τα στοιχεία της έκλυσης.

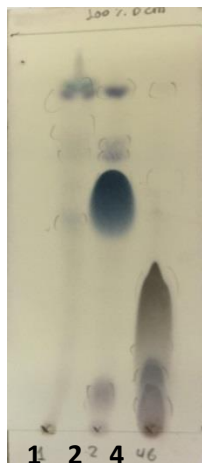
Πίνακας 11: Συστήματα και όγκος διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν	
Σύστημα διαλυτών	Όγκος διαλυτών (mL)
100 % C-6	250
C-6/ CH ₂ Cl ₂ , 50:50	250
100 % CH ₂ Cl ₂	1500
99:1, CH ₂ Cl ₂ :MeOH	3500
98:2, CH ₂ Cl ₂ :MeOH	1000
95:5, CH ₂ Cl ₂ :MeOH	4000
92:8, CH ₂ Cl ₂ :MeOH	1000
90:10, CH ₂ Cl ₂ :MeOH	1500
85:15, CH ₂ Cl ₂ :MeOH	1000

Πίνακας 12: Συνενωμένα κλάσματα και βάρος κλασμάτων	
Συνενωμένα κλάσματα	Βάρος (mg)
1 (VLCD1)	6
2 (VLCD2)	1675
3	25
4 (VLC4)	82
5-7	213
8(VLCD8)	177
9-13	110
14-16	200
17	216
18 (VLCD18)	416
19-27	191
28-35	59,2
36-47	259
48-56	33

Κατόπιν ελέγχου με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας ενδιαφέρον παρουσίασαν τα κλάσματα **1 (VLCD1 6 mg)**, **2 (VLCD2 1,6752 g)**, **4 (VLC4 82 mg)**, **8 (VLCD8 177 mg)**, **18 VLCD18 416 mg)**. Η απόδοση της στήλης υπολογίσθηκε ως $\alpha=91$ %.

2.4.1. Κλάσματα VLCD1, VLCD2 και VLCD4:

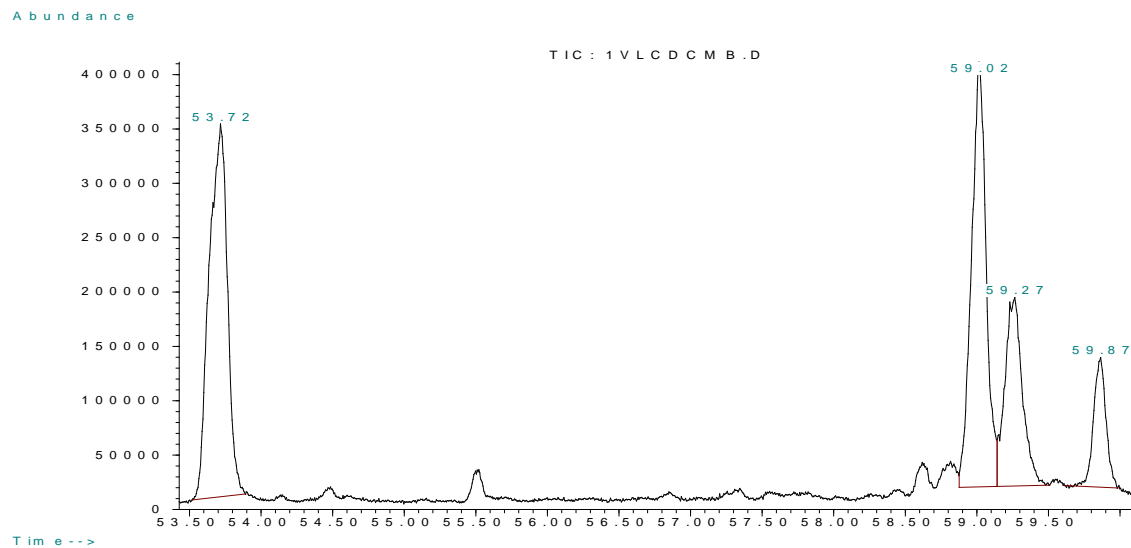
Τα κλάσματα VLCD1, VLCD2 και VLCD4 αναλύθηκαν με την βοήθεια του GC-MS και τα αποτελέσματα της ανάλυσης συνοψίζονται στους παρακάτω πίνακες.



Εικόνα 24: Χρωματογραφική εικόνα κλασμάτων VLCD1, VLCD2, VLCD4

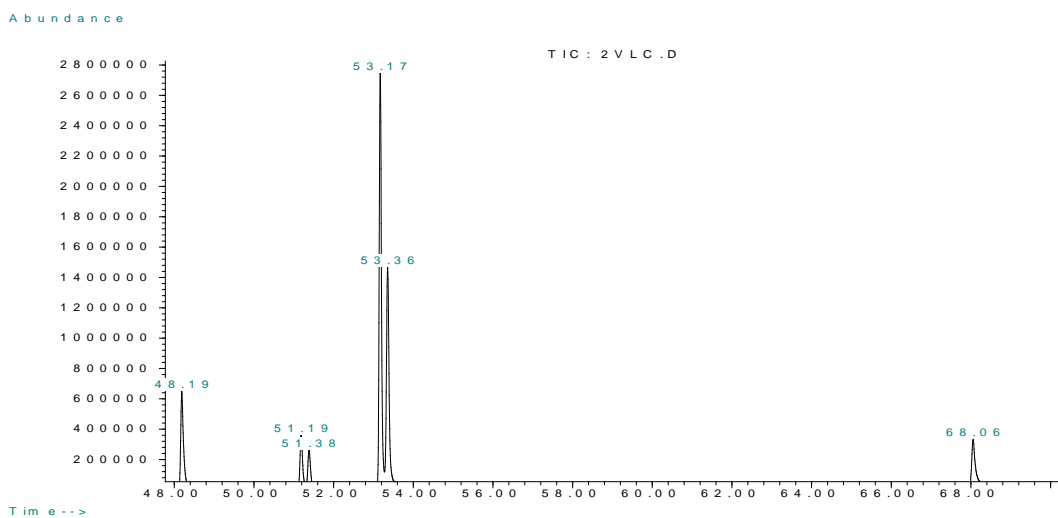
2.4.1.1. Χημική ανάλυση κλασμάτων VLCD1, VLCD2 και VLCD4:

Δείγμα VLCD1 :



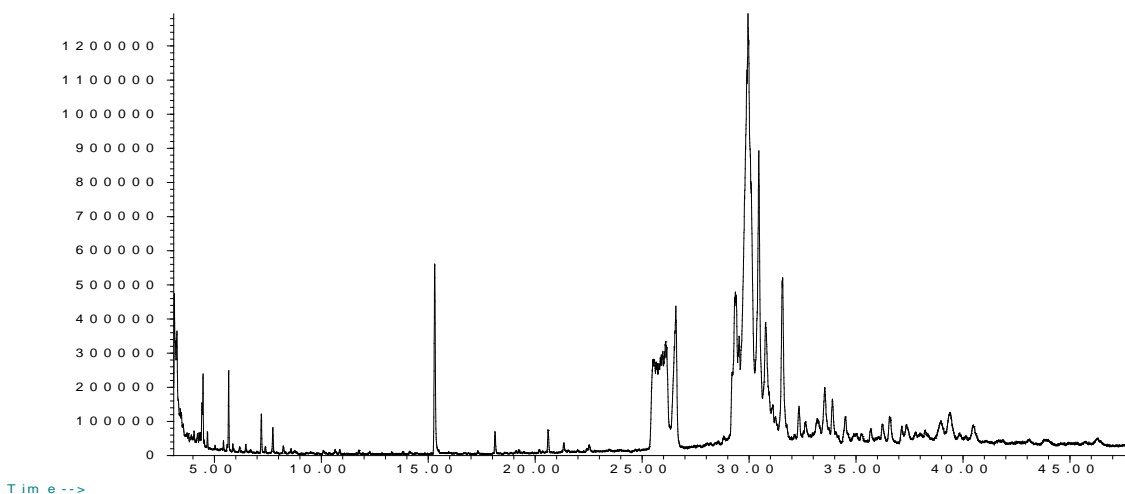
	Rt	Συστατικό	Ποσοστό (%)
1	53.72	Παλμιτικό οξύ	37.82
2	59.01	Ελαϊκό οξύ	53.27
3	59.87	Στεατικό οξύ	6.81
ΣΥΝΟΛΟ			97.9

Δείγμα VLCD2 :



	Rt	Συστατικό	Ποσοστό (%)
1	48.19	Παλμιτικό οξύ	12.26
2	53.17	Λινελαϊκό οξύ	48.27
3	53.36	Ελαϊκό οξύ	26.95
4	68.06	Τετρακοσανοϊκό οξύ (λιγνοκηρικό οξύ)	7.70
ΣΥΝΟΛΟ			95.18

Δείγμα VLCD4 :



	Rt	Συστατικό	Ποσοστό (%)
1	25.58	Παλμιτικό οξύ	8.26
2	29.36-29.95	Ελαϊκό οξύ	65.86
3	30.46	Στεατικό οξύ	12.89
4	31.57	Λινελαϊκό οξύ	5.04
5	36.97	Μονογλυκερίδιο του λινελαϊκού οξέος	0.89
6	40.49	Τετρακοσανοϊκό οξύ (λιγνοκηρικό οξύ)	0.73
ΣΥΝΟΛΟ			93.67

Τα κλάσματα αυτά περιέχουν στο μεγαλύτερο ποσοστό τους λιπαρά οξέα (λινελαϊκό, παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό) ενώ παρατηρείται και η παρουσία του λιγνοκηρικού οξέος και του μονογλυκεριδίου του λινελαϊκού οξέος τα οποία έχουν ανιχνευθεί ξανά σε σπέρματα *C. cardunculus* σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Petrooulos, *et al.*, 2018; Ramos, *et al.*, 2013).

2.4.2.Χρωματογραφικός διαχωρισμός κλάσματος VLCD8:

Το δείγμα **VLCD8 (177 mg)** διαλύθηκε σε διχλωρομεθάνιο και υποβλήθηκε σε χρωματογραφική στήλη, διαμέτρου 2 cm με στατική φάση 7g γέλη οξειδίου του πυριτίου και κινητή φάση μίγμα διαλυτών αυξανόμενης πολικότητας. Όλα τα κλάσματα ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκα οξειδίου του πυριτίου και σύστημα ανάπτυξης διαλυτών 98/2 CH₂Cl₂:MeOH. Συλλέχθηκαν 58 κλάσματα και ακολούθησε συνένωση των

κλασμάτων που εμφάνιζαν την ίδια χρωματογραφική εικόνα. Παρακάτω παρατίθεται η χρωματογραφική εικόνα του αρχικού δείγματος, τα στοιχεία έκλουσης, τα βάρη και οι συνενώσεις (πίνακας 4, 5) . Η απόδοση της στήλης υπολογίσθηκε ως $\alpha=80,79\%$.

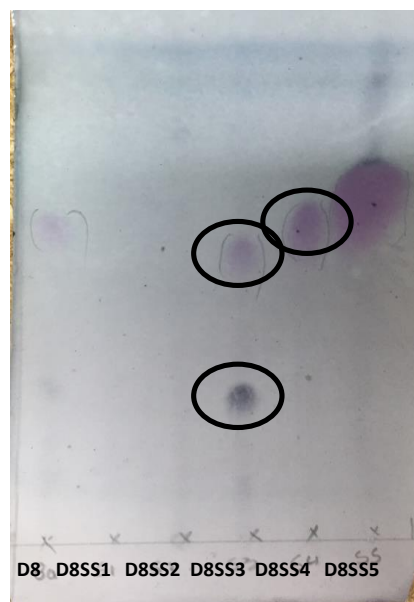


Εικόνα 25: TLC σε αρχικό δείγμα VLCD8, σύστημα ανάπτυξης, 98.2,D/MeOH

Πίνακας 13: Κλάσματα, συστήματα διαλυτών και όγκος διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών	Όγκος διαλυτών (mL)
1	50/50 (C-Hex:DCM)	100
2-18	100% DCM	200
19-55	99/1 (DCM:EtOAc)	300
56	98/2 (DCM:EtOAc)	100
57-58	95/5 (DCM:EtOAc)	200

Πίνακας 14: Συνενώσεις και βάρη κλασμάτων	
Συνενώσεις κλασμάτων	Συνολική ποσότητα (mg)
1-6	5
7-10	2
11-21	2
22-43(D8SS3)	54
44-56(D8SS4)	35
57-58	45



Εικόνα 26: Συνενώσεις κλασμάτων στήλης VLCD8 σε οξείδιο του πυριτίου σε σύστημα 98.2(DCM/MeOH)

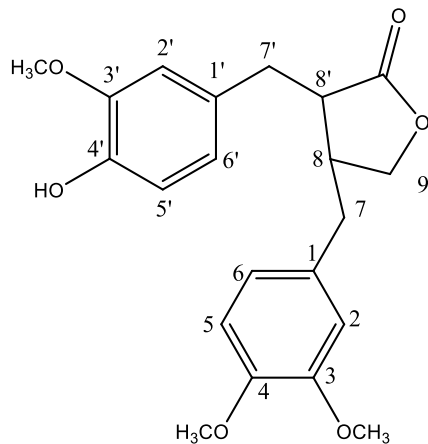
Στο κλάσμα **D8SS3** πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική χρωματογραφία σε πλάκα οξειδίου του πυριτίου σε σύστημα 98/2 (DCM/MeOH) από την οποία λήφθηκαν οι ζώνες **D8SS3Z1** και **D8SS3Z2** και ταυτοποιήθηκαν με $^1\text{H-NMR}$. Επίσης, φάσμα $^1\text{H-NMR}$ λήφθηκε και από το κλάσμα **D8SS4** (35 mg) και επιβεβαιώθηκε ότι είναι το ίδιο μόριο που ταυτοποιήθηκε από την ζώνη **D8SS3Z1**.



Εικόνα 27: TLC σε πλάκα οξειδίου του πυρίτου σε σύστημα 98/2 (DCM/MeOH)

2.4.2.1.Κλάσμα D8SS4/D8SS3Z1 :

Το κλάσμα D8AS4 απομονώθηκε υπό την μορφή κίτρινου υπολείμματος (35mg) και μετά από λήψη φάσματος NMR σε CDCl_3 και σύγκριση με βιβλιογραφικά δεδομένα (Koubaa, *et al.*, 1999; Han, *et al.*, 1994; Suzuki, *et al.*, 1981) ταυτοποιήθηκε ως το λιγνάνιο **αρκτιγενίνη**.



Εικόνα 28: Χημική δομή arctigenin

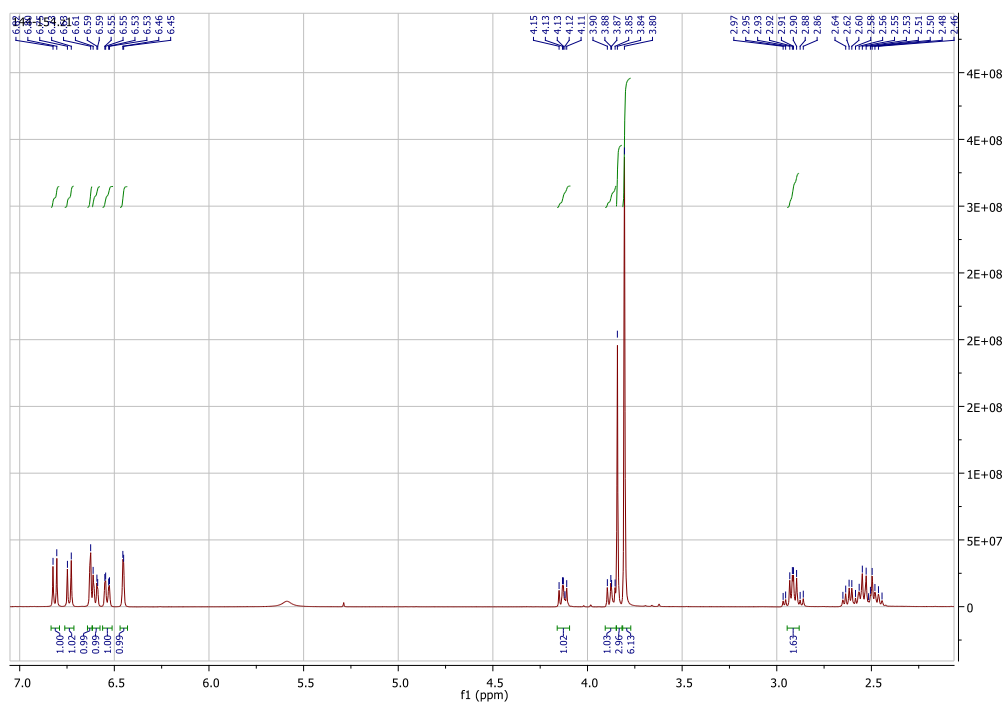
2.4.2.1.1. Φασματοσκοπική ανάλυση κλάσματος D8SS4/D8SS3Z1:

Το μόριο αυτό ανήκει στα λιγνάνια και συγκεκριμένα στις διβενζυλ-βουτυρυλο-λακτόνες. Στην αρωματική περιοχή του φάσματος παρατηρούνται δυο ABX συστήματα. Οι δυο διπλές κορυφές στα 6.74 και 6.81 ppm με σύζευξη $J=8$ Hz, οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια των θέσεων H-5 και H-5' των αρωματικών δακτυλίων. Οι δύο διπλές κορυφές στα 6.45 και 6.62 ppm με σύζευξη $J=2$ Hz αντιστοιχούν στα αρωματικά πρωτόνια H-2 και H-2' ενώ οι δύο διπλές διπλών κορυφές, με σύζευξη $J=8$ Hz και 1.5 Hz, αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-6 και H-6'. Η πολλαπλότητα αυτή προκύπτει λόγω της αλληλεπίδρασης τους με τα πρωτόνια H-5 και H-5' που βρίσκονται σε ορθο-θέση ($J=8$ Hz) και τα πρωτόνια H-2 και H-2' που βρίσκονται σε μέτα-θέση ($J=1.5$ Hz). Επίσης, παρατηρείται η παρουσία δύο απλών κορυφών στα 3.84 ppm (3H) και στα 3.80 ppm (6H) που αντιστοιχούν σε τρεις μεθόξυ ομάδες. Αυτή η διαφοροποίηση στη χημική μετατόπιση των τριών μεθόξυ ομάδων προκαλείται λόγω του διαφορετικού χημικού περιβάλλοντος που σχηματίζεται από τη παρουσία της υδροξυλομάδας στη θέση 4'. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα πρωτόνια της μεθόξυ ομάδας στη θέση 3' να συντονίζονται σε μεγαλύτερες τιμές πεδίου. Τέλος, χαρακτηριστική του δακτύλιου ολιδίου (λακτόνης) είναι η χημική μετατόπιση που εμφανίζουν τα H-9 με διπλές διπλών κορυφές στα 3.88 ppm (dd, $J=9/7$ Hz) και 4.13 ppm (dd, $J=9/7$ Hz). Η παρουσία λακτονικού δακτυλίου και φαινυλπροπανικών ομάδων είναι χαρακτηριστικά στα λιγνάνια. Η μεγάλη διαφορά στη χημική μετατόπιση των πρωτονίων H-9 μεταξύ τους επιβεβαιώνει ότι ο προσανατολισμός των πρωτονίων στις θέσεις 8 και 8' του λακτονικού δακτυλίου είναι *trans*.

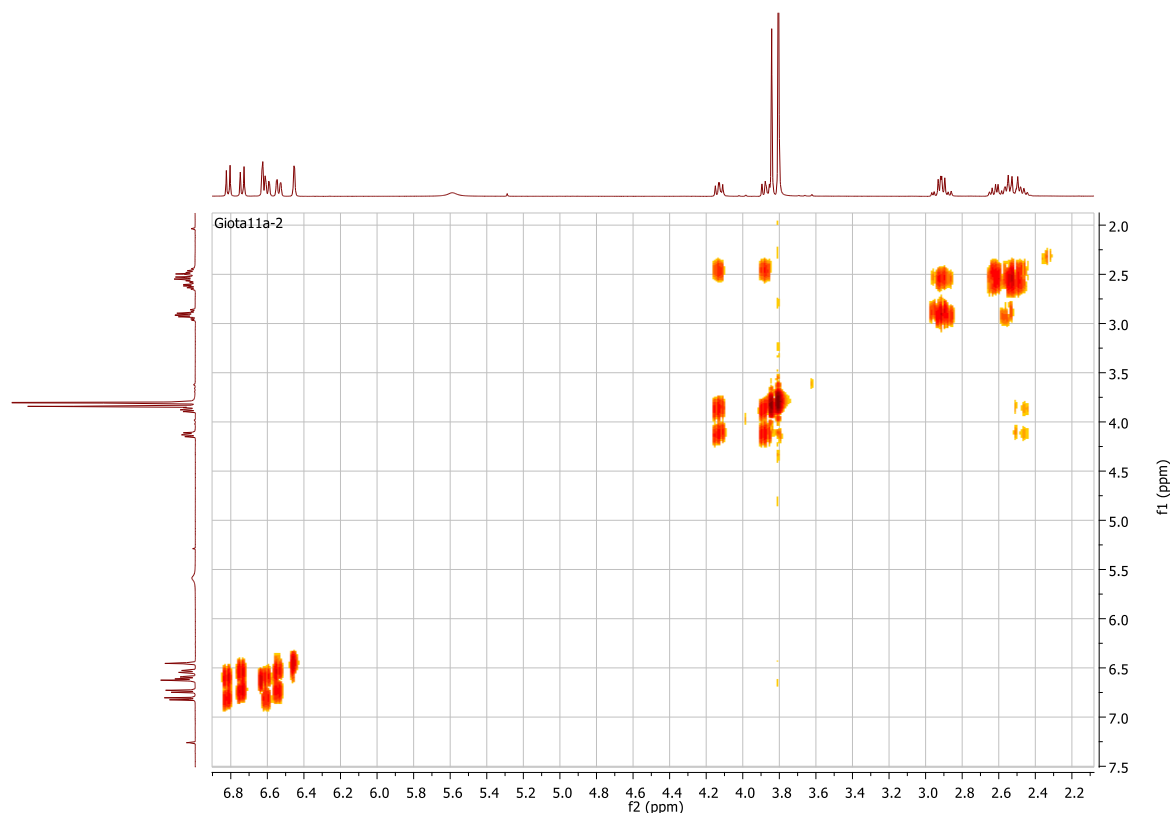
Στο φάσμα δύο διαστάσεων COSY παρατηρούμε τις συζεύξεις των γειτονικών πρωτονίων των αρωματικών δακτυλίων, το H-5' (6.81) εμφάνισε σύζευξη με το πρωτόνιο H-6' (6.60 ppm) και το H-5 (6.74) με το H-6 (6.54). Συζεύξεις παρατηρούμε και ανάμεσα στα H-9 με τα πρωτόνια H-

8,(πολλαπλή κορυφή, 2.50 ppm) . Η πολλαπλή κορυφή στα 2.55 ppm αντιστοιχεί στα H-8' γιατί εμφανίζει σύζευξη με τα πρωτόνια H-8 και H-7', ενώ η πολλαπλή κορυφή στα 2.62 αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-7 γιατί εμφανίζει σύζευξη μόνο με τα πρωτόνια H-8.

ΠΡΩΤΟΝΙΑ	Χημική μετατόπιση, δ (ppm)	Πολλαπλότητα
H-8	2.50	m
H-8'	2.55	m
H-7	2.62	m
H-7'	2.92	dd, $J=6/2.5$ Hz
OCH ₃ -3/ OCH ₃ -4	3.80	s
OCH ₃ -3'	3.84	s
H-9	3.88	dd, $J=9/7$ Hz
	4.13	dd, $J=9/7$ Hz
H-2	6.45	d, $J=2$ Hz
H-6	6.54	dd, $J=8/1.5$ Hz
H-6'	6.60	dd, $J=8/1.5$ Hz
H-2'	6.62	d, $J=2$ Hz
H-5	6.74	d, $J=8$ Hz
H-5'	6.81	d, $J=8$ Hz



Εικόνα 29: Φάσμα ¹H-NMR στο κλάσμα D8SS4/D8SS3ZI



Εικόνα 30: Φάσμα COSY στο κλάσμα D8SS4/D8SS3Z1

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία το μόριο της αρκτιγενίνης (arctigenin) έχει απομονωθεί ξανά από τις ρίζες του φυτού *Forsythia viridissima* (Oleaceae) (Huh, *et al.*, 2019), *Forsythia koreana* (Oleaceae) (Kim, *et al.*, 2006) και από καρπούς και σπέρματα *Arctium lappa* L. (Asteraceae) (Hayashi, *et al.*, 2010; Han, *et al.*, 1994) αλλά και σπέρματα *Cynara cardunculus* (Koubaa, *et al.*, 1999). Συνεπώς απομονώνεται για δεύτερη φορά από σπέρματα *Cynara cardunculus* ενώ για πρώτη φορά από το συγκεκριμένο Ελληνικό υβρίδιο.

Η αρκτιγενίνη έχει εμφανίσει *in vivo* αντιφλεγμονώδεις (Kang, *et al.*, 2008; Zhao, *et al.*, 2009) και αναλγητικές ιδιότητες. Ο μηχανισμός δράσης της αποδίδεται στην αναστολή της σύνθεσης μορίων που λειτουργούν ως μεσολαβητές της φλεγμονής, όπως του αραχιδονικού οξέος και στην παρεμπόδιση μεταφοράς τους μέσω των τριχοειδών αγγείων.

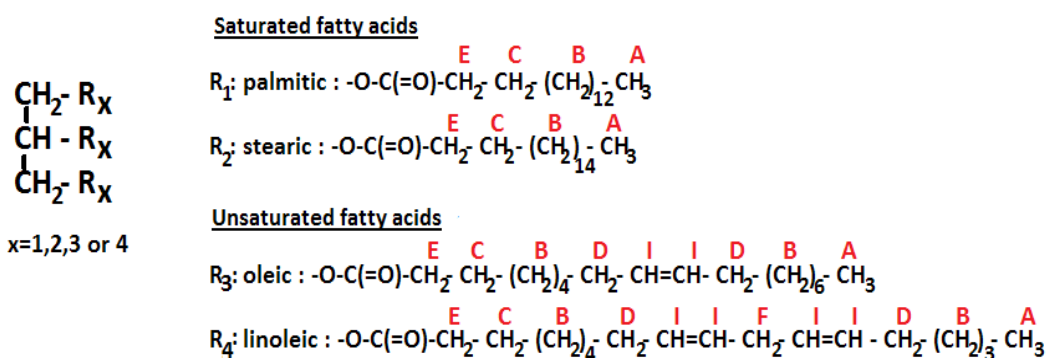
Επίσης, παρουσιάζει ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες, όπως το Alzheimer (Lee, *et al.*, 2011), βελτιώνοντας την χολινεργική νευροδιαβίβαση.

Μέλετες έδειξαν (Sussanti, *et al.*, 2012) ότι η αρκτιγενίνη εμφάνισε στοχευμένη δραστηριότητα έναντι των καρκινικών κυττάρων A549 πνεύμονα, HepG2 ήπατος και KATO III στομάχου. Η

δραστικότητα αυτή φαίνεται να οφείλεται στην αναστολή του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων και επαγωγή της απόπτωσης τους. Το μόριο εμφάνισε επίσης αντικαρκινική δράση και σε άλλους τύπους καρκίνου όπως: μελάνωμα δέρματος και καρκίνο παχέος εντέρου (Ryu, *et al.*, 1995). Σημαντική είναι και η αντιγηραντική δράση της (Su, *et al.*, 2015). Οι ακριβείς βιολογικοί και κυτταρικοί μηχανισμοί της γήρανσης δεν είναι ξεκάθαροι, αλλά θεωρείται ότι σημαντικό ρόλο στη γήρανση και σε εκφυλιστικές νόσους που τη συνοδεύουν διαδραματίζουν οι ελεύθερες ρίζες, λόγω των οξειδωτικών βλαβών που προκαλούν στα κύτταρα. Η αρκτιγενίνη δρώντας ως ισχυρός αντιοξειδωτικός παράγοντας αναστέλει τη δημιουργία ελεύθερων ριζών με αποτέλεσμα να προστατεύει τα κύτταρα, και τη πρόληψη και επέκταση ασθενειών που σχετίζονται με τη γήρανση.

2.4.2.2. Κλάσμα D8SS3Z2:

Με τη βοήθεια βιβλιογραφικών δεδομένων το παρακάτω φάσμα αποδόθηκε σε ένα **μείγμα τριγλυκεριδίων**. Πιο συγκεκριμένα αντιστοιχεί σε μείγμα τριεστέρων γλυκερόλης με τα εξής λιπαρά οξέα: **παλμιτικό** και **στεατικό** από την ομάδα των κορεσμένων και **ελαϊκό** (ω9) και **λινελαϊκό** (ω6) από την ομάδα των ακόρεστων. (Ruiz-Aracama, *et al.*, 2017).

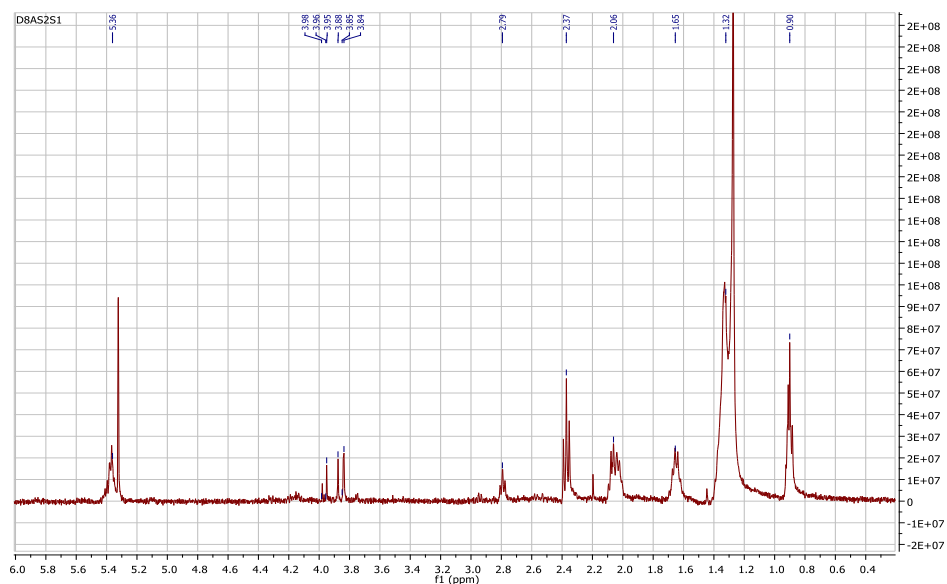


Εικόνα 31: Οι δομές των τριεστέρων γλυκερόλης με λιπαρά οξέα

2.4.2.2.1. Φασματοσκοπική ανάλυση κλάσματος D8SS2S1:

Στα 0.86 ppm παρατηρείται μία τριπλή κορυφή που αντιστοιχεί στην ομάδα πρωτονίων A είτε των κορεσμένων είτε των ακόρεστων λιπαρών οξέων. Στα 2.01 ppm χαρακτηριστική είναι η παρουσία των πρωτονίων στη θέση D, που είναι τα πρωτόνια των αλκυλίων των ακόρεστων λιπαρών οξέων (λινελαϊκό, ελαϊκό και παλμιτικό). Στα 2.75 εμφανίζεται μία τριπλή κορυφή που αντιστοιχεί στα πρωτόνια στη θέση F, τα οποία εμφανίζονται μόνο στο λινελαϊκό οξύ. Τέλος, χαρακτηριστικές είναι οι κορυφές στα 4.13 (G1 glycerol) και 4.28 ppm (G3 glycerol) που αντιστοιχούν στα πρωτόνια της γλυκερόλης (G).

ΠΡΩΤΟΝΙΑ	Χημική μετατόπιση, δ (ppm)	Πολλαπλότητα	Χημικά ισοδύναμα πρωτόνια	Χημική ένωση
A	0.86	t	-CH ₃	Saturated, ω-6, ω-7 or/and ω-9 acyl groups
B	1.26	m	-(CH ₂) _n -	Acyl groups
C	1.59	m	-OCO-CH ₂ -CH ₂ -	Acyl groups
D	2.01	m	-CH ₂ -CH=CH-	Unsaturated acyl groups (linoleic, oleic, palmitic acyl groups)
E	2.30	dt	-OCO-CH ₂ -	Acyl groups
F	2.75	t	=CH-CH ₂ -CH=	Linoleic Acyl group
G	4.13, 4.28	dd, dd	-CH ₂ -OCO-R	Glycerol group of triglycerides (C1, C3 of glycerol)
I	5.33	m	-CH=CH-	Unsaturated acyl groups (linoleic, oleic, palmitic acyl groups)

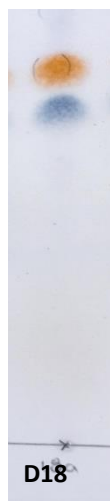


Εικόνα 32: Φάσμα ¹H-NMR D8SS3Z2

Το μίγμα αυτών των τριγλυκεριδίων έχει ανιχνευθεί ξανά σε σπέρματα του *C. cardunculus* σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα (Hassanein, *et al.*, 2011), αλλά είναι πρώτη φορά που πραγματοποιείται απομόνωση τους από το συγκεκριμένο Ελληνικό υβρίδιο.

2.4.3.Χρωματογραφικός διαχωρισμός κλάσματος VLCD18:

Το δείγμα **VLCD18** (416 mg) υποβλήθηκε σε χρωματογραφικό διαχωρισμό σε στήλη διαμέτρου 2 cm με στατική φάση 11 g οξειδίου του πυριτίου και κινητή φάση μίγμα διαλυτών αυξανόμενης πολικότητας (DCM /EtOAc). Όλα τα κλάσματα ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκα οξειδίου του πυριτίου και σύστημα ανάπτυξης διαλυτών 100% D, 90/10 και 85/15 (DCM:EtOAc). Συλλέχθηκαν συνολικά 411 κλάσματα όγκου περίπου 3-5 ml. Ακολούθησε συνένωση των κλασμάτων που εμφάνιζαν την ίδια χρωματογραφική εικόνα. Τα στοιχεία έκλυσης, τα βάρη και οι συνενώσεις παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες. Η απόδοση της στήλης υπολογίστηκε ως $\alpha=90\%$.

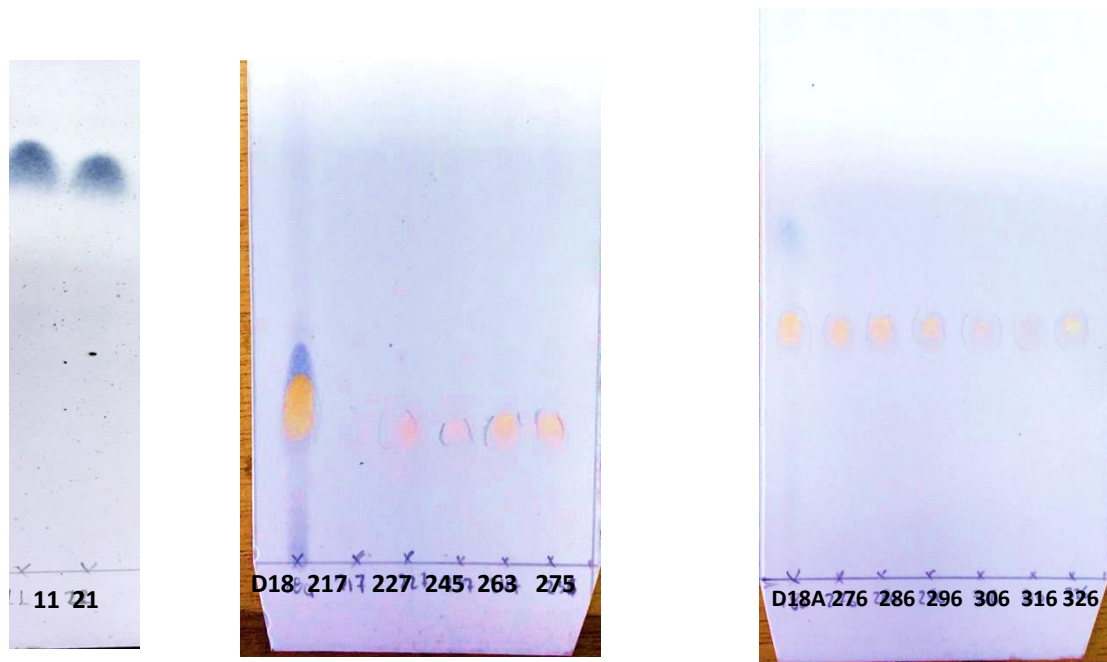


Εικόνα 33: TLC οξειδίου του πυριτίου σε δείγμα VLCD18, σύστημα 95.5(DCM/MeOH)

Πίνακας 15: Κλάσματα, συστήματα διαλυτών και όγκος διαλυτών στήλης σε κλάσμα VLCD18		
Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών	Όγκος διαλύτη (ml)
1-89	100% D	300
89-110	98/2 (CH ₂ Cl ₂ :EtOAc)	100
111-238	95/5 (CH ₂ Cl ₂ :EtOAc)	700
239-368	92/8 (CH ₂ Cl ₂ :EtOAc)	600
369-405	90/10 (CH ₂ Cl ₂ :EtOAc)	200
406-411	80/20 (CH ₂ Cl ₂ :EtOAc)	100

Πίνακας 16: Συνενώσεις και βάρη κλασμάτων	
Συνενώσεις κλασμάτων	Συνολική ποσότητα (mg)
5-10	3
11-21 (CYND1)	7
22-31	2
32-210	27
211-275 (CYND2)	46
276-326(CYND3)	123
327-340	26
341-411	140

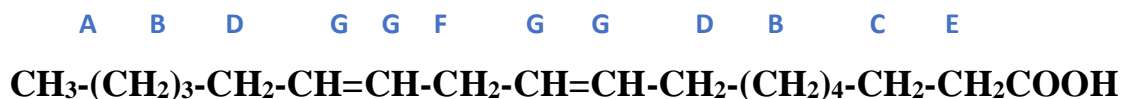
Ενδιαφέρον παρουσίασαν οι συνενώσεις των κλάσματος 11-21 (CYND1, 7 mg), 211-275 (CYND2, 46 mg), 276-326 (CYND3, 123 mg) από τα οποία λήφθηκαν και φάσματα $^1\text{H-NMR}$.



Εικόνα 34: TLC σε κλάσματα 11-21 (CYND1, σύστημα ανάπτυξης 100% DCM), 217-275 (CYND2, σύστημα ανάπτυξης 85.15,DCM/EtOAc) και 276-326 (CYND3, σύστημα ανάπτυξης 85.15,DCM/EtOAc)

2.4.3.1.Κλάσμα CYND1:

Το κλάσμα **CYND1** (11-21) μελετήθηκε φασματοσκοπικά σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3) και σε σύγκριση και με την βιβλιογραφία (Barisson, *et al.*, 2010; Marwah, *et al.*, 2007; Kim, *et al.*, 2016) ταυτοποιήθηκε ως **λινελαϊκό οξύ**.

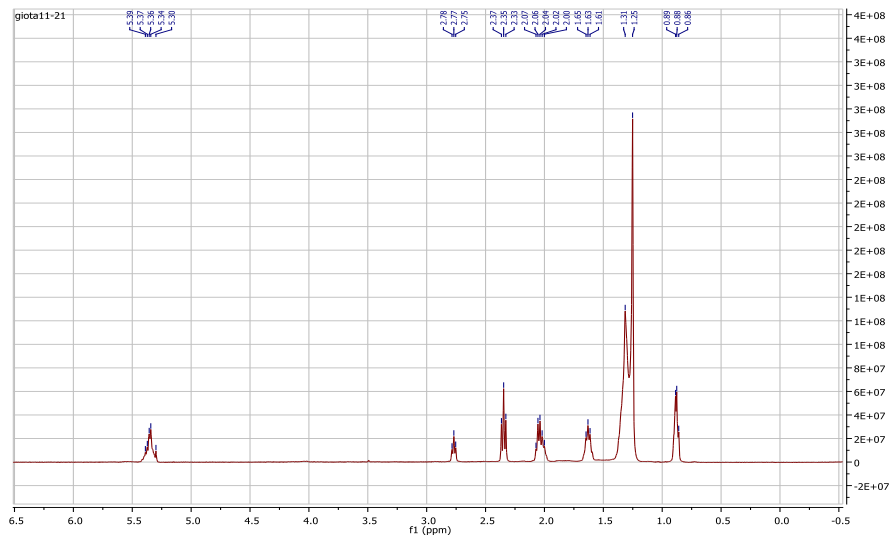


Εικόνα 35: Χημική δομή λινελαϊκού οξέος

2.4.3.1.1.Φασματοσκοπική ανάλυση του κλάσματος CYND1:

Είναι χαρακτηριστική η παρουσία πολλαπλής κορυφής στα 5.33 ppm, που αντιστοιχεί στα 4 πρωτόνια που συμμετέχουν στους διπλούς δεσμούς. Στα 2.77 ppm παρατηρείται μία τριπλή κορυφή, με σύζευξη $J=7.5$ Hz και αντιστοιχεί στα πρωτόνια στη θέση F, που είναι τα πρωτόνια που βρίσκονται ανάμεσα στους δύο διπλούς δεσμούς, με αποτέλεσμα λόγω συζυγιακού φαινομένου να δικαιολογείται η μεγάλη χημική τους μετατόπιση. Στα 2.35 ppm εμφανίζεται μία τριπλή κορυφή με σύζευξη $J=6.5$ Hz και αντιστοιχεί στα πρωτόνια E που είναι γειτονικά στο καρβοξυλικό οξύ. Τα πρωτόνια C εμφανίζονται ως πολλαπλή κορυφή στα 1.63 ppm, τα πρωτόνια στη θέση B εμφανίζονται ως πολλαπλή κορυφή στα 1.28 ppm, ενώ τα πρωτόνια του τελικού μεθυλίου εμφανίζονται στα 0.88 ppm ως τριπλή κορυφή με σύζευξη $J=7.5$ Hz

ΠΡΩΤΟΝΙΑ	Χημική μετατόπιση, δ (ppm)	Πολλαπλότητα	Χημικά ισοδύναμα πρωτόνια
A	0.88	t	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3$
B	1.28	m	$-\text{CH}_2-$
C	1.63	m	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$
D	2.04	m	$-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$
E	2.35	t	$\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$
F	2.77	t	$=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$
G	5.36	m	$\text{CH}=\text{CH}$



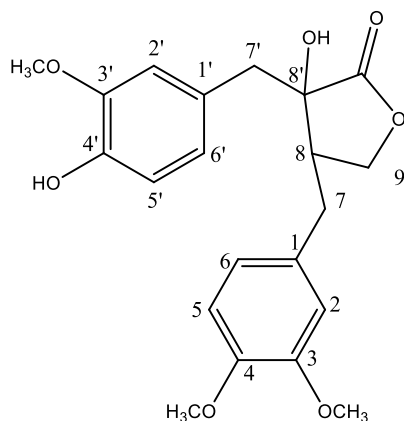
Εικόνα 36: Φάσμα ¹H-NMR στο κλάσμα CYND1

Το λινελαϊκό οξύ έχει ανιχνευθεί στα σπέρματα του συγκεκριμένου υβρίδιου *C. cardunculus* (Petrooulos, *et al.*, 2018), ενώ πραγματοποιείται απομόνωση του για πρώτη φορά.

Το λινελαϊκό οξύ αποτελεί κοινό μεταβολίτη και έχει απομονωθεί προηγουμένως από πολλά φυτά, όπως: φύλλα *Helichrysum pedunculatum* (Dilika, *et al.*, 2000), ρίζες *Echinops transiliensis* και υπέργεια μέρη *Artemisia integrifolia* L. (Xu, *et al.*, 2019) που όλα ανήκουν στην οικογένεια Asteraceae, όπως και τα σπέρματα που αναλύθηκαν στην παρούσα φυτοχημική μελέτη. Έχει εμφανίσει αντιβακτηριακή (Dilika, *et al.*, 2000) και αντιυπερλιπιδαιμική (Xu, *et al.*, 2019) δράση, ενώ αποτελεί ένα σημαντικό ω-6 λιπαρό οξύ απαραίτητο για την ομαλή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού.

2.4.3.2.Κλάσμα CYND2:

Το κλάσμα CYND2 (συνένωση των επιμέρους 217-275 κλασμάτων) ταυτοποιήθηκε με την λήψη φάσματος NMR σε CDCl₃ και σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Inagaki *et al.*, 1972; Harmatha, *et al.*, 2007) ως τραχηλογενίνη.



Εικόνα 37: Χημική δομή τραχηλογενίνης

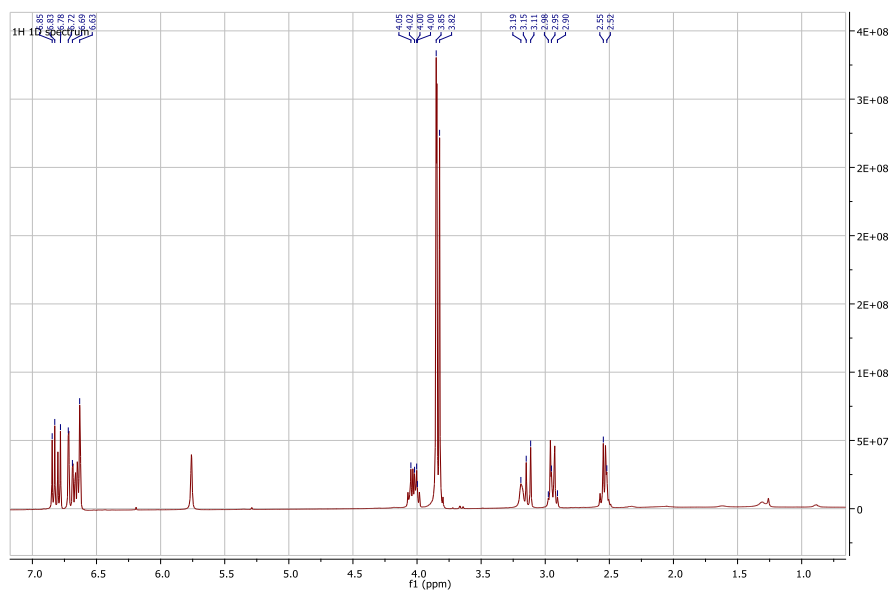
2.4.3.2.1. Φασματοσκοπική ανάλυση κλάσματος CYND2:

Παρατηρούμε ότι το μόριο **τραχηλογενίνη** μοιάζει δομικά με το μόριο **αρктиγενίνη** που απομονώθηκε και έχει ήδη περιγραφεί. Η μόνη διαφορά που εμφανίζουν τα μόρια είναι ότι στη τραχηλογενίνη εμφανίζεται μία **υδροξυλομάδα στον C-8'** η οποία **απουσιάζει** από το μόριο αρктиγενίνη. Όπως φαίνεται και από το φάσμα πρωτονίου της τραχηλογενίνης οι χημικές μετατοπίσεις των αρωματικών πρωτονίων είναι ίδιες με της αρктиγενίνης, κάτι που ήταν αναμενόμενο αφού δεν παρατηρούνται διαφορές στην υποκατάσταση των αρωματικών δακτυλίων. Επίσης, παρατηρείται παρόμοια χημική μετατόπιση και στα πρωτόνια των μεθόξυ ομάδων. Η μόνη διαφορά που παρατηρείται είναι ότι τα πρωτόνια του μεθυλενίου του λακτονικού δακτυλίου (H-9) εμφανίζονται σαν μία πολλαπλή κορυφή, σε αντίθεση με τη αρктиγενίνη όπου τα πρωτόνια αυτά εμφανίζονται ως δυο ξεχωριστές διπλές διπλών κορυφές με μεγάλη διαφορά στη χημική τους μετατόπιση. Η διαφοροποίηση αυτή οφείλεται στη παρουσία υδροξυλομάδας στον άνθρακα C-8' με αποτέλεσμα να προκύπτει 8-hydroxy-*trans*-8,8' ολίδιο.

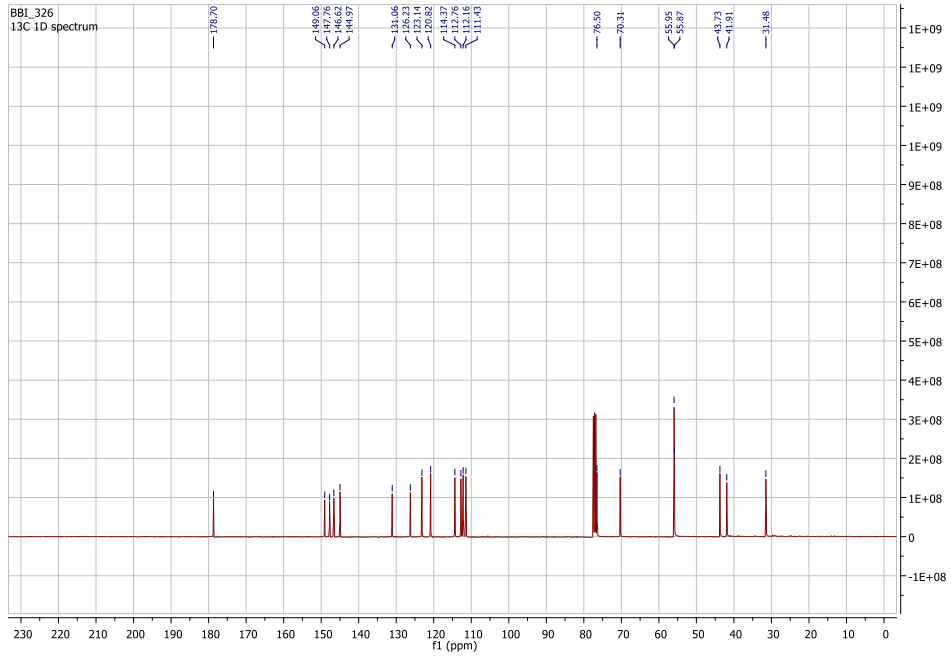
Σύμφωνα με το φάσμα HMQC στο μόριο εμφανίζονται πολλοί τεταρτοταγείς άνθρακες, με χαρακτηριστικό αυτόν του καρβονυλίου του λακτονικού δακτυλίου στα 178.70 ppm. Με τη βοήθεια του φάσματος HMQC αντιστοιχίστηκαν τα πρωτόνια με τους άνθρακες στους οποίους είναι άμεσα συνδεδεμένοι και παρουσιάζονται στον πίνακα. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι ο άνθρακας στη θέση 43.90 εμφάνιζε μόνο μία σύζευξη με τα πρωτόνια στα 2.53 ppm, ενώ ο άνθρακας στα 31.45 εμφάνιζε δύο συζεύξεις, με τα πρωτόνια στα 2.53 και στα 2.88 ppm. Τέλος, ο άνθρακας στα 41.70 ppm εμφάνιζε σύζευξη και με την κορυφή στα 3.11 ppm που αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-7' και στα 2.88 που πάλι εμφανίζονται τα H-7. Σύμφωνα με αυτές τις συζεύξεις οδηγηθήκαμε στο συμπέρασμα ότι ο άνθρακας στα 31.45 ppm αντιστοιχεί στα H-7 πρωτόνια, ο άνθρακας στα 41.70 ppm αντιστοιχεί στα H-7' πρωτόνια και ο άνθρακας στα 43.90 ppm αντιστοιχεί στα H-8 πρωτόνια.

Σύμφωνα με το φάσμα HMBC ο άνθρακας στα 178.70 ppm αντιστοιχίστηκε στον άνθρακα του καρβονυλίου του λακτονικού δακτύλιου και εμφανίστηκε σύζευξη με τα πρωτόνια H-9, H-7, H-7' και H-8.

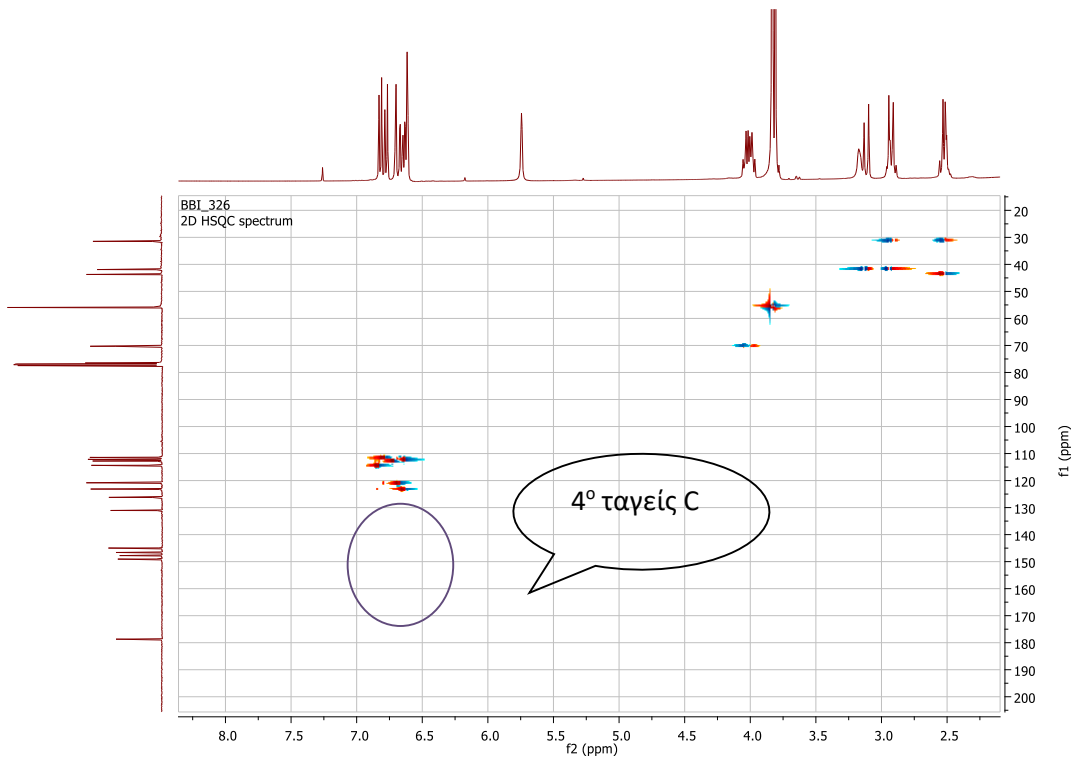
ΠΡΩΤΟΝΙΑ	Χημική μετατόπιση, δ (ppm)	Πολλαπλότητα	^{13}C
H-8/H-7	2.53	m	43.90/31.45
H-7'/H-7	2.88-2.93	m	41.70/31.45
H-7'	3.11	d, $J=14$ Hz	41.70
OCH ₃ -3/ OCH ₃ -4	3.80	s	55.95
OCH ₃ -3'	3.83	s	55.87
H-9	4.01	m	70.30
OH-8'	5.74	s	76.41
H-2	6.61	d, $J=2$ Hz	112.16
H-6'	6.62	dd, $J=8/2$ Hz	123.14
H-6	6.66	dd, $J=8/2$ Hz	120.82
H-2'	6.70	d, $J=2$ Hz	112.76
H-5	6.78	d, $J=8$ Hz	111.43
H-5'	6.82	d, $J=8$ Hz	114.37
H-3	-	-	149.06
H-3'	-	-	147.76
H-4'	-	-	146.62
H-4	-	-	144.97
H-1	-	-	131.06
H-1'	-	-	131.06
H-8'	-	-	76.51
C=O	-	-	178.70



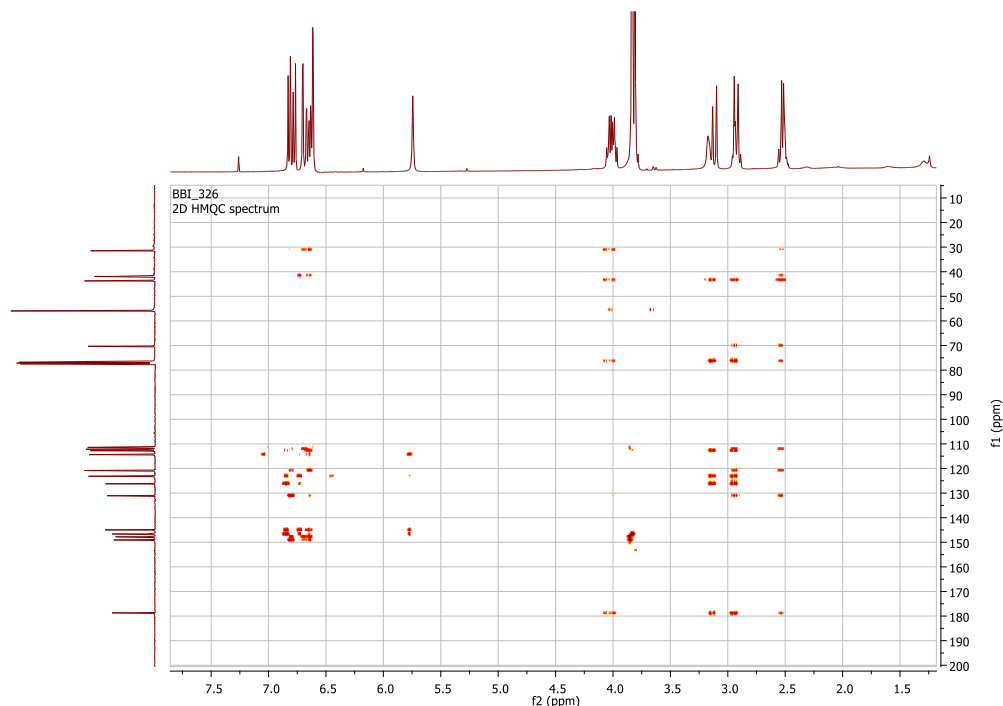
Εικόνα : Φάσμα ^1H -NMR στο κλάσμα CYND2



Εικόνα 39: Φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$ στο κλάσμα D2



Εικόνα 40: Φάσμα HMQC-NMR στο κλάσμα CYND2



Εικόνα 41: Φάσμα HMBC-NMR στο κλάσμα CYND2

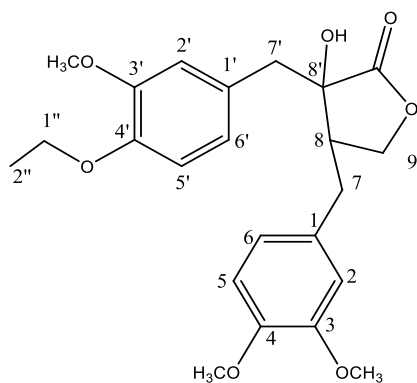
Επιπροσθέτως για περαιτέρω επιβεβαίωση της δομής του μορίου μετρήθηκε και η στροφική ικανότητα ($[\alpha] = -45.2$, τιμή που συμφωνεί πλήρως με την βιβλιογραφία (Inagaki *et al.*, 1972)).

Ο δευτερογενής μεταβολίτης **τραχηλογενίνη απομονώνεται για πρώτη φορά στο γένος *Cynara*** και φυσικά στο Ελληνικό υβρίδιο του *Cynara cardunculus*. Έχει απομονωθεί ξανά από άλλα φυτά, όπως από: μίσχους *Combretum fruticosum* (Combretaceae) (Moura, *et al.*, 2018), *Centaurea jacea* (Asteraceae) (Forgo, *et al.*, 2012), στελέχη *Trachelospermum asiaticum* (Aprocynaceae) (Shin, *et al.*, 2015) και από σπέρματα *Rhaponticum carthamoides* (Asteraceae) (Harmatha, *et al.*, 2007).

Το μόριο αυτό εμφανίζεται σύμφωνα με την βιβλιογραφία, να δρα ως ανταγωνιστής διαύλων ασβεστίου με πιθανή αντιυπερτασική δράση (Ichikawa, *et al.*, 1986) ενώ έχει εμφανίσει δράση έναντι λευχαιμίας, ιού HIV (Shroder, *et al.*, 1990; Trumm & Eich, 1989), ιού ηπατίτιδας C (Qian, *et al.*, 2016), ενώ παράλληλα έχει μελετηθεί για κυτταροτοξική (Moura, *et al.*, 2018) χημειοπροστατευτική και αντιπολλαπλασιαστική ικανότητά του (Mervai, *et al.*, 2015)

2.4.3.3. Κλάσμα CYND3

Το κλάσμα CYND3 αποτελεί συνένωση των επιμέρους κλασμάτων 276-326 και ταυτοποιήθηκε με τη λήψη φασμάτων NMR σε $CDCl_3$ ως μίγμα δύο μορίων του **αιθυλίου της τραχηλογενίνης και της τραχηλογενίνης** (Inagaki, *et al.*, 1972)



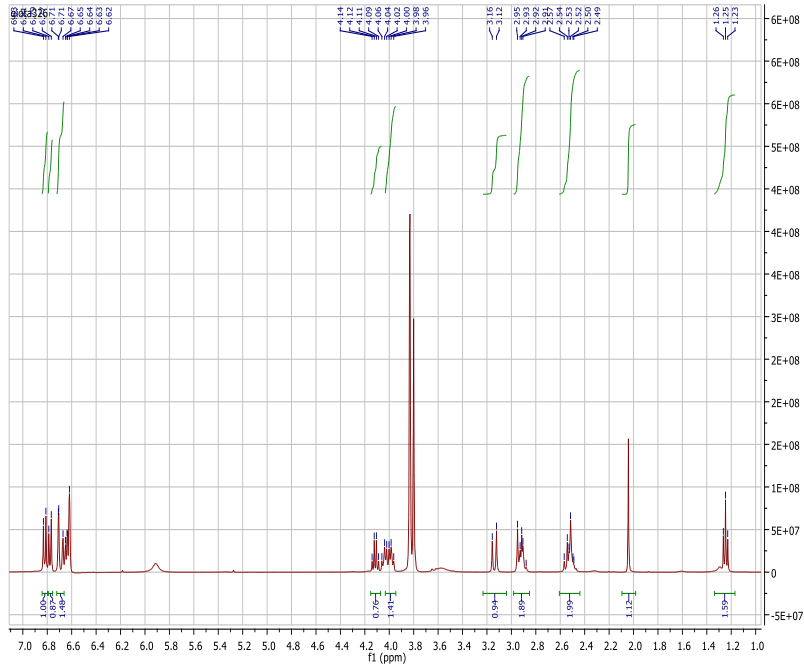
Εικόνα 42: Χημική δομή αιθύλιο τραχηλογενίνης

2.4.3.3.1. Φασματοσκοπική ανάλυση κλάσματος CYND3

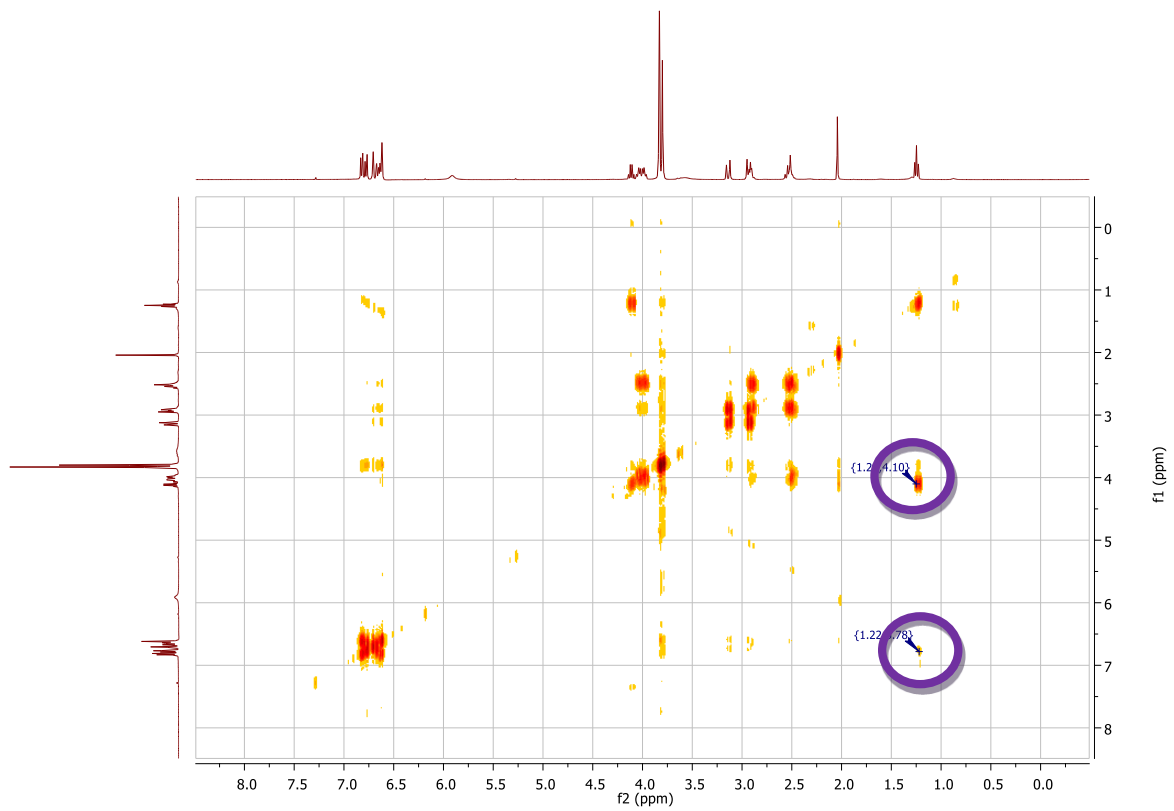
Το φάσμα παρουσιάζει όλες τις κορυφές του μορίου **τραχηλογενίνη** αλλά και κορυφές που αφορούν το αιθύλιο και αποδίδονται στο μόριο του αιθυλίου της τραχηλογενίνης.

Στα 1.25 ppm εμφανίζεται μία τριπλή κορυφή που αντιστοιχεί στα πρωτόνια στη θέση H-2'' του αιθυλίου και στα 4.11 ppm μία τετραπλή κορυφή που αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-1''. Τα πρωτόνια αυτά είναι η μόνη διαφορά που παρατηρείται μεταξύ του φάσματος του μεταβολίτη τραχηλογενίνη και του αιθυλίου της τραχηλογενίνης. Στον πίνακα παρουσιάζονται οι χημικές μετατοπίσεις του μορίου **αιθύλιο της τραχηλογενίνης**.

ΠΡΩΤΟΝΙΑ	Χημική μετατόπιση, δ (ppm)	Πολλαπλότητα
H-2''	1.25	t, $J=8$ Hz
H-8/H-7	2.53	m
H-7'/H-7	2.88-2.93	m
H-7'	3.14	d, $J=14$ Hz
OCH₃-3/ OCH₃-4	3.80	s
OCH₃-3'	3.82	s
H-9	4.01	m
H-1''	4.11	q, $J=8$ Hz
H-2	6.60	d, $J=2$ Hz
H-6'	6.62	dd, $J=8/2$ Hz
H-6	6.64	dd, $J=8/2$ Hz
H-2	6.67	d, $J=2$ Hz
H-5	6.75	d, $J=8$ Hz
H-5'	6.80	d, $J=8$ Hz



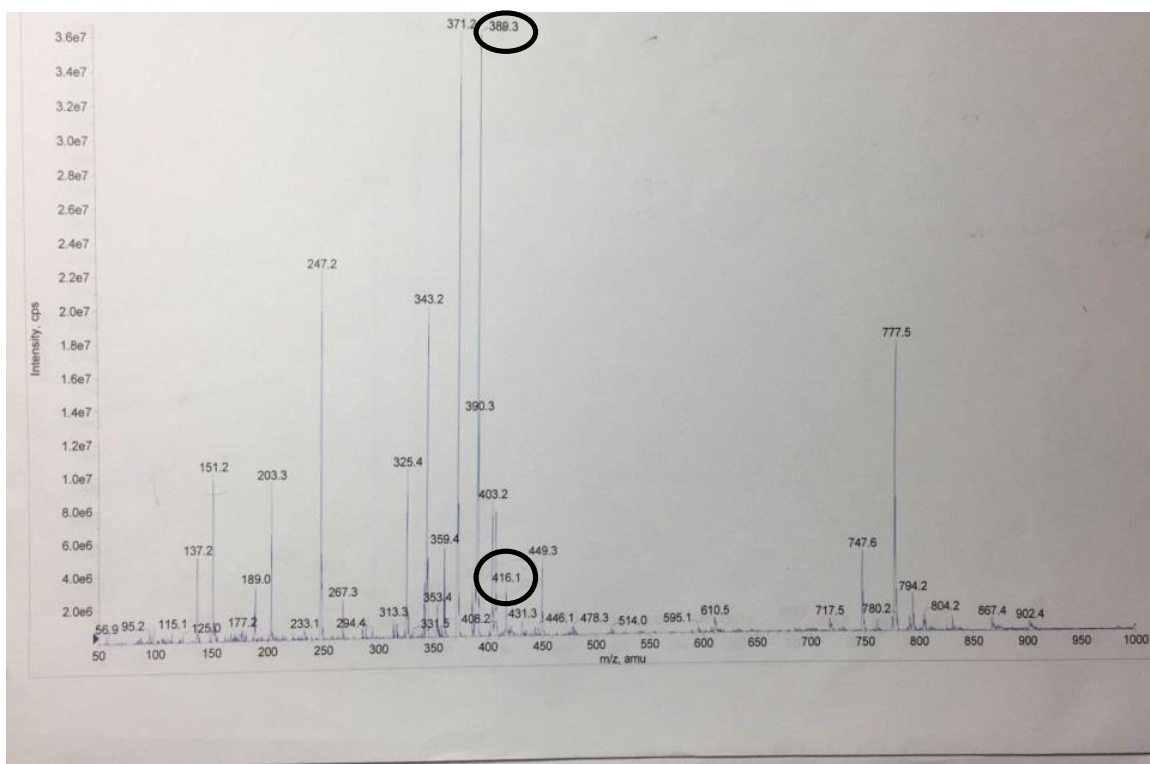
Εικόνα 43: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ στο κλάσμα CYND3



Εικόνα 44: Φάσμα COSY στο κλάσμα CYND3

Στο φάσμα COSY χαρακτηριστική είναι η σύζευξη των πρωτονίων H-1'' (4.11) και H-2'' (1.25) του αιθυλίου μεταξύ τους, αλλά και με τα πρωτόνια του αρωματικού δακτυλίου, επιβεβαιώνοντας ότι το σημείο σύζευξης του αιθυλίου είναι ο C-4' της trachelogenin.

Η χημική δομή του αιθυλίου της τραχηλογενίνης επιβεβαιώθηκε και από το φάσμα μάζας, με την εμφάνιση μιάς κορυφής στα 416 m/z και αντιστοιχεί στο μοριακό βάρος του μεταβολίτη, ενώ η κορυφή στα 388 m/z αντιστοιχεί στο μοριακό βάρος του μεταβολίτη της τραχηλογενίνης.



Εικόνα 45: Φάσμα MS αιθυλίου τραχηλογενίνης

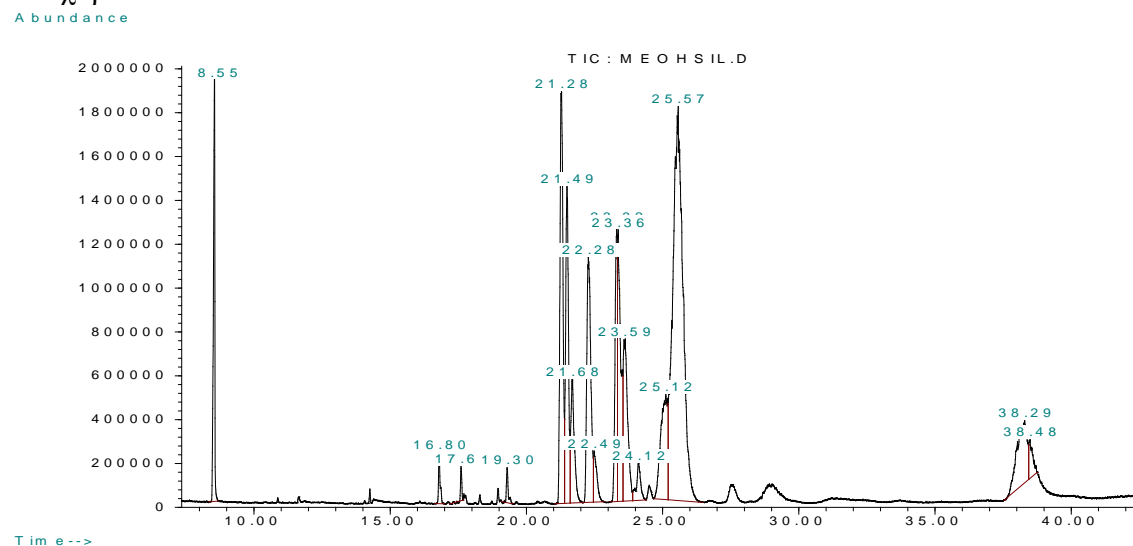
Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι το **αιθύλιο της τραχηλογενίνης** απομονώνεται για **πρώτη φορά ως φυσικό προϊόν**.

Η στροφική ικανότητα $[\alpha] = -45.8$, σύμφωνα με την βιβλιογραφία (Inagaki *et al.*, 1972). Μέχρι σήμερα, η ένωση αυτή έχει παραληφθεί από χημική επεξεργασία του μεταβολίτη τραχηλοσίδη (Inagaki, *et al.*, 1972) Στόχος της μελέτης είχε αποτελέσει η αξιολόγηση των διαφορών στις χημικές και φυσικές ιδιότητες των μορίων που προέκυπταν μέσω χημικής επεξεργασίας (υδρόλυση, μεθυλίωση) του μεταβολίτη τραχηλοσίδη. Δεν υπάρχουν δεδομένα για βιολογικές δράσεις του μορίου.

2.5. Ανάλυση μεθανολικού εκχυλίσματος

2.5.1. Σιλιλίωση αρχικού μεθανολικού εκχυλίσματος

Στο αρχικό μεθανολικό εκχύλισμα πραγματοποιήθηκε σιλιλίωση και αναλύθηκε με GC-MS. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης έδειξαν ότι το μεθανολικό κλάσμα περιλαμβάνει μεγάλο ποσοστό σακχάρων.

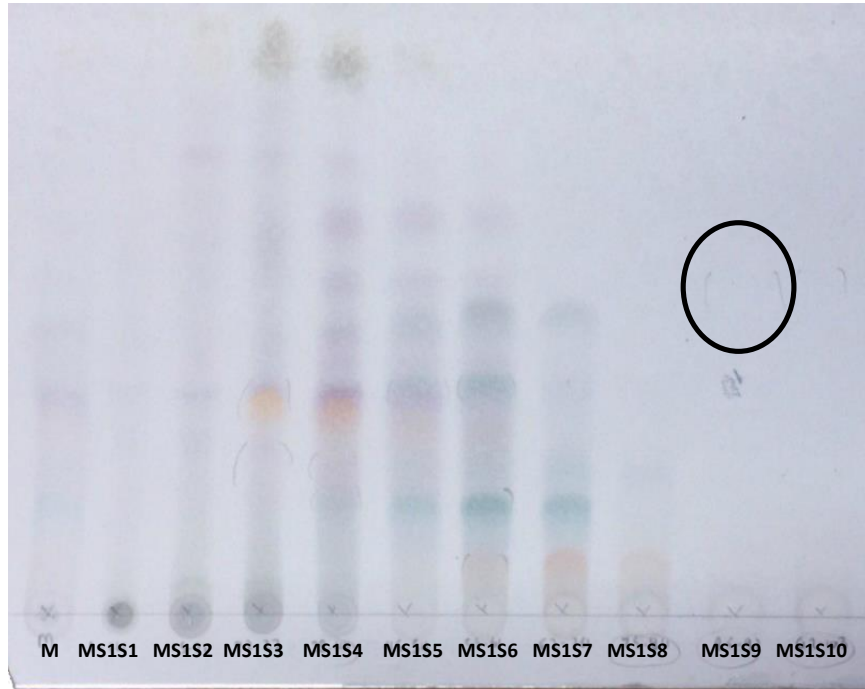


Γεγονός αναμενόμενο, αφού τα σάκχαρα αποτελούν πρωτογενείς μεταβολίτες κυρίαρχους στα σπέρματα για την ανάπτυξη του νέου φυτού.

2.5.2.Χρωματογραφικός διαχωρισμός του μεθανολικού εκχυλίσματος

3 g μεθανολικού εκχυλίσματος υποβλήθηκαν σε χρωματογραφικό διαχωρισμό ανοικτής στήλης διαμέτρου 4 cm, με στατική φάση Sephadex LH-20, ύψους περίπου 28 cm. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκε 100% MeOH, ενώ συλλέχθηκαν 105 κλάσματα όγκου περί τα 5 ml που ελέγχθηκαν με πλάκες αντίστροφης φάσης RP-18. Τα κλάσματα με παρόμοια χρωματογραφική εικόνα συνενώθηκαν και προέκυψαν 14 συνενώσεις. Ο συνολικός όγκος MeOH που καταναλώθηκε ήταν 600 ml. Η απόδοση της στήλης υπολογίσθηκε ως $\alpha=96\%$

Πίνακας 17: Συνενώσεις και βάρη στήλης Sephadex		
Κλάσματα	Όνομα κλάσματος	Βάρος (mg)
1-14	MS1S1	40
15-21	MS2S2	147
22-27	MS1S3	500
28-44	MS1S4	1200
45-61	MS1S5	65600
62-74	MS1S6	136
75-84	MS1S7	100
85-92	MS1S8	58
93-103	MS1S9	47
104-105	MS1S10	5



Εικόνα 46 : Συνενωμένα κλάσματα στήλης Sephadex (RP-18, MeOH:H₂O, 50:50)



Εικόνα 47 : Συνενωμένα κλάσματα στήλης Sephadex (RP-18, MeOH:H₂O, 50:50)

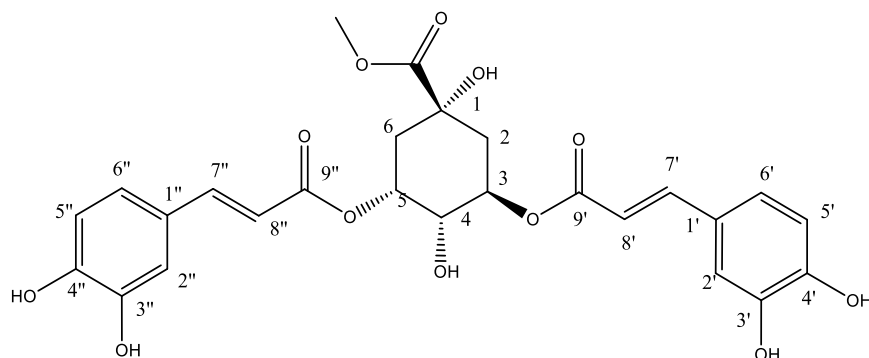
Ενδιαφέρον παρουσίασε το κλάσμα **MS1S9** το οποίο μελετήθηκε με φάσμασκοπία NMR.



Εικόνα 48: Χρωματογραφική εικόνα κλάσματος MS1S9, 50.50, MeOH/H₂O

2.5.2.1.Κλάσμα MS1S9

Το κλάσμα MS1S9 απομονώθηκε ως σκούρο καφέ υπόλειμμα (47mg) και μετά από λήψη φάσματος ¹H-NMR (σε δευτεριωμένη MeOH), ταυτοποιήθηκε ως 3,5-δικαφεοϋλ κινικό οξύ (Zhu, *et al.*, 2009).



Εικόνα 49: Χημική δομή 3,5-δικαφεοϋλ κινικό οξύ

2.5.2.1.1. Φασματοσκοπική ανάλυση κλάσματος MS1S9

Στην αρωματική περιοχή οι χαρακτηριστικές συζεύξεις των αρωματικών πρωτονίων (H-2'/H-2'',d; H-5'/H-5'',d; H-6'/H-6'',dd) υποδεικνύουν την παρουσία δυο τριύποκατεστημένων αρωματικών δακτυλίων.

Στα 7.58, 7.56, 6.38 και 6.28 ppm εμφανίζονται 4 διπλές κορυφές με μεγάλη σταθερά σύζευξης $J=16\text{Hz}$, χαρακτηριστικές στα καφεοϋλ-κινικά παράγωγα, που υποδηλώνουν την παρουσία δυο *trans* εξωκυκλικών διπλών δεσμών και αφορούν τα πρωτόνια H-7', H-7'', H-8' και H-8'' αντίστοιχα.

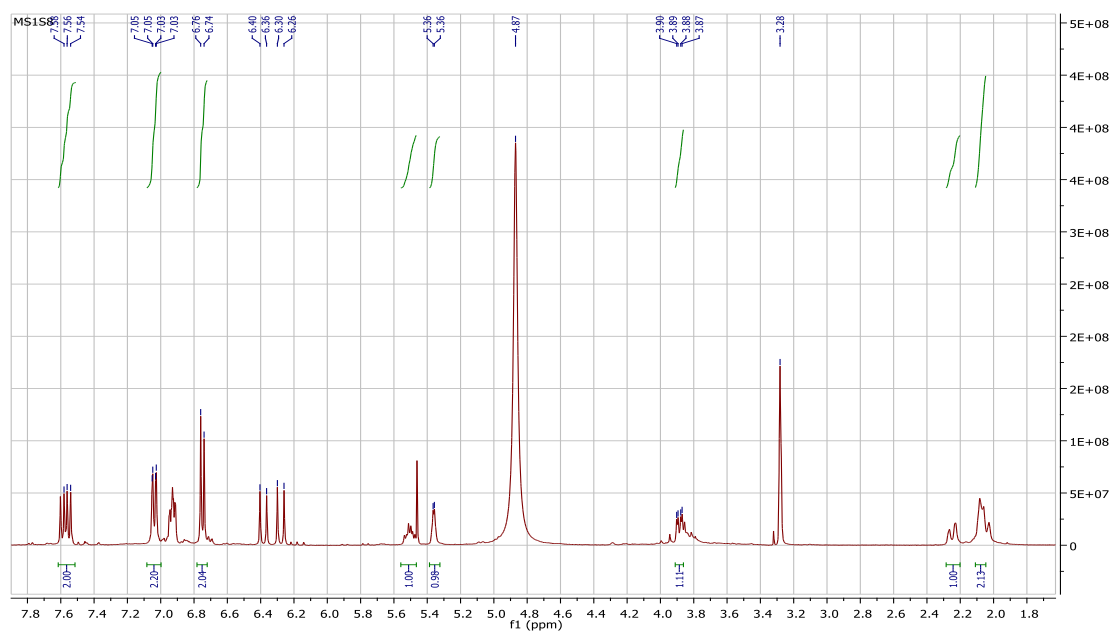
Η χαρακτηριστική διαφορά που έχει το 3,5-δικαφεοϋλ-κινικό παράγωγο από τα υπόλοιπα δικαφεοϋλκινικά παράγωγα είναι στις χημικές μετατοπίσεις στη περιοχή 2.00-5.50 ppm που αφορούν τα οξυγονωμένα μεθίνια και τα αλειφατικά μεθυλένια. Ανάλογα με το που είναι η υποκατάσταση του κινικού παραγώγου εμφανίζονται σημαντικές διαφορές στις χημικές μετατοπίσεις στη περιοχή αυτή.

Στα 1,3-δικαφεοϋλ-κινικά παράγωγα τα πρωτόνια H-2 συντονίζονται σε υψηλότερες τιμές πεδίου λόγω του ότι βρίσκονται σε γειτονικούς άνθρακες οι καφεοϋλ-υποκαταστάτες, ενώ στα 4,5-δικαφεοϋλ-κινικά παράγωγα συντονίζονται σε χαμηλότερες τιμές πεδίου επειδή οι καφεοϋλ-υποκαταστάτες είναι πιο απομακρυσμένοι. Χαρακτηριστική είναι και η διαφορά στη χημική μετατόπιση των πρωτονίων H-4 και H-5 όπου στα 4,5-δικαφεοϋλ-κινικά παράγωγα συντονίζονται σε πολύ υψηλότερες τιμές πεδίου επειδή οι καφεοϋλ-υποκαταστάτες συνδέονται στον ίδιο άνθρακα με τα πρωτόνια αυτά, ενώ στα 1,3-δικαφεοϋλ-κινικά παράγωγα τα πρωτόνια αυτά συντονίζονται σε χαμηλότερες τιμές πεδίου γιατί οι καφεοϋλ-υποκαταστάτες είναι πολύ απομακρυσμένοι. Στα 3,5-δικαφεοϋλ-κινικά παράγωγα τα πρωτόνια H-4 και H-5 συντονίζονται σε τιμές ενδιάμεσες σε σχέση με τα πρωτόνια των 1,3 και 4,5-δικαφεοϋλ-κινικών παραγώγων. Σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Zhu, *et al.*, 2009) οι χημικές μετατοπίσεις του κλάσματος MS1S9 ταυτίζονται πλήρως με το 3,5-δικαφεοϋλ-κινικό οξύ.

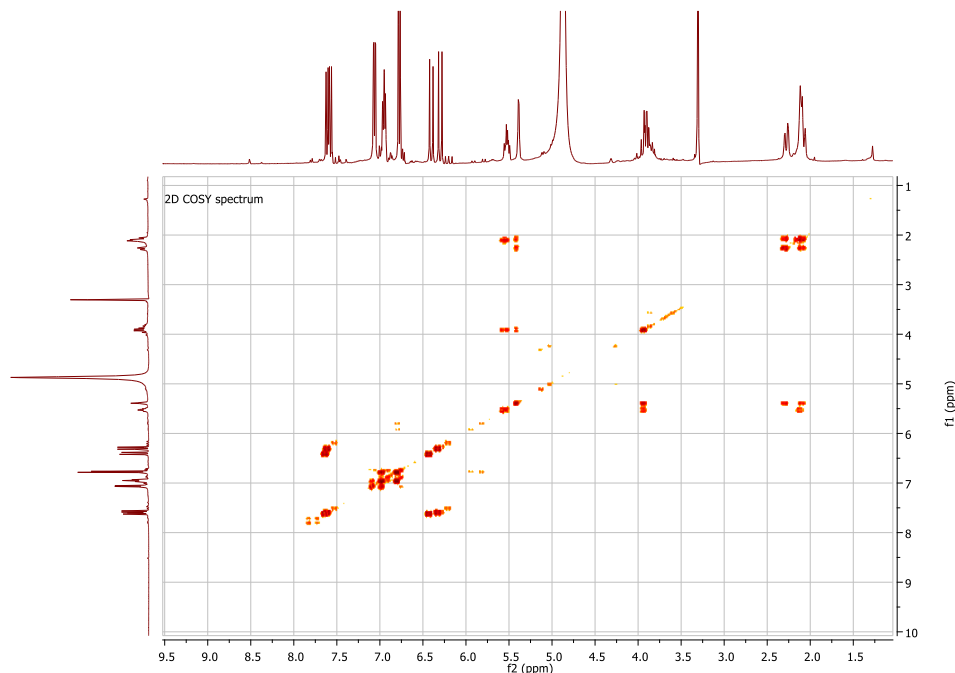
Στο φάσμα δύο διαστάσεων COSY εμφανίζονται οι εξής συζεύξεις: στις καφεοϋλ-ομάδες παρατηρείται η σύζευξη των πρωτονίων στους διπλούς δεσμούς H-7'/H-7'' με τα πρωτόνια H-8'/H-8'', καθώς επίσης και η σύζευξη των πρωτονίων H-6'/H-6'' με τα πρωτόνια H-5'/H-5''. Επίσης, τα H-3 πρωτόνια εμφάνισαν σύζευξη και με τα H-2 και H-4 πρωτόνια, το H-5 εμφανίζει σύζευξη με το H-4 αλλά και με τα πρωτόνια H-6. Σύζευξη εμφανίζεται και μεταξύ των πρωτονίων H-2 και H-6.

ΠΡΩΤΟΝΙΑ	Χημική μετατόπιση, δ (ppm)	Πολλαπλότητα
H-2	2.00-2.25	m
H-6	2.00-2.25	m

H-4	3.89	dd, $J=9/4$ Hz
H-5	5.36	m
H-3	5.50	m
H-8''	6.28	d, $J= 16$ Hz
H-8'	6.38	d, $J= 16$ Hz
H-5'/H-5''	6.75	d, $J=8$ Hz
H-6'/H-6''	6.92	dd, $J= 8/2$ Hz
H-2'	7.02	d, $J= 2$ Hz
H-2''	7.04	d, $J= 2$ Hz
H-7''	7.56	d, $J= 16$ Hz
H-7'	7.58	d, $J= 16$ Hz



Εικόνα 50: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ στο κλάσμα MS1S9



Εικόνα 51: Φάσμα COSY στο κλάσμα MS1S9

Το 3,5-δικαφεοϋλ-κινικό οξύ έχει απομονωθεί προηγουμένως από φυτά της οικογένειας Asteraceae *Artemisia argyi* (Zhang, *et al.*, 2012), *Ligularia fischeri* (Hong, *et al.*, 2015), *Eupatorium perfoliatum* L. *Chrysothamnus paniculatus* (Timmerman & Hoffmann, 1983) αλλά και από το φυτό *Cynara cardunculus* (Zhu, *et al.*, 2009) Απομονώνεται για πρώτη φορά από τα σπέρματα του ελληνικού υβριδίου.

Τα καφεοϋλ-κινικά παράγωγα, ή υδροξυκινναμωμικά οξέα, είναι μόρια που εμφανίζουν ποικιλία ευεγερτικών δράσεων, με κύρια την ισχυρή αντιοξειδωτική τους δράση έναντι της ρίζας DPPH (Fritsche, *et al.*, 2002). Οι ελεύθερες ρίζες είναι προϊόντα μεταβολισμού, που σε υψηλές συγκεντρώσεις έχουν βλαβερές επιπτώσεις στις φυσιολογικές διεργασίες του οργανισμού. Η απομάκρυνση τους γίνεται με την βοήθεια αντιοξειδωτικών παραγόντων όπως τα καφεοϋλ-κινικά παράγωγα.

2.5.3.Χρωματογραφικός διαχωρισμός σε μεθανολικό εκχύλισμα

Λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας του δείγματος σε σάκχαρα θεωρήθηκε απαραίτητη η απομάκρυνση τους μέσω στήλης ρητίνης. Περίπου 5g μεθανολικού εκχυλίσματος υποβλήθηκαν σε χρωματογραφικό διαχωρισμό μέσω χρωματογραφίας ανοικτής στήλης διαμέτρου 5 cm και

στατική φάση 20 mL ρητίνης (XAD4). Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκε αρχικά H₂O (400 ml) μέχρι να πραγματοποιηθεί αποχρωματισμός του λαμβανόμενου κλάσματος και στη συνέχεια προστέθηκε MeOH. Λήφθηκαν συνολικά 15 κλάσματα όγκου 25 ml από τα οποία συνενώθηκαν όσα είχαν παρόμοια χρωματογραφική εικόνα. Η χρωματογραφική τους εικόνα ελέγχθηκε σε πλάκες οξειδίου του πυριτίου RP-18 αντίστροφης φάσης. Από τα κλάσματα αυτά ενδιαφέρον παρουσίασε το κλάσμα **MRS3** (2g). H₂O. Η απόδοση της στήλης υπολογίστηκε ως α=96,30 %

Πίνακας 18: Συνενώσεις και βάρη κλασμάτων χρωματογραφικού διαχωρισμού

Συνενωμένα κλάσματα	Βάρος (mg)
1-7	2300
8-10	150
11-13 (MRS3)	2000
14	365



Εικόνα 52: TLC MRS3, σε πλάκα οξειδίου, 90.10, D/MeOH

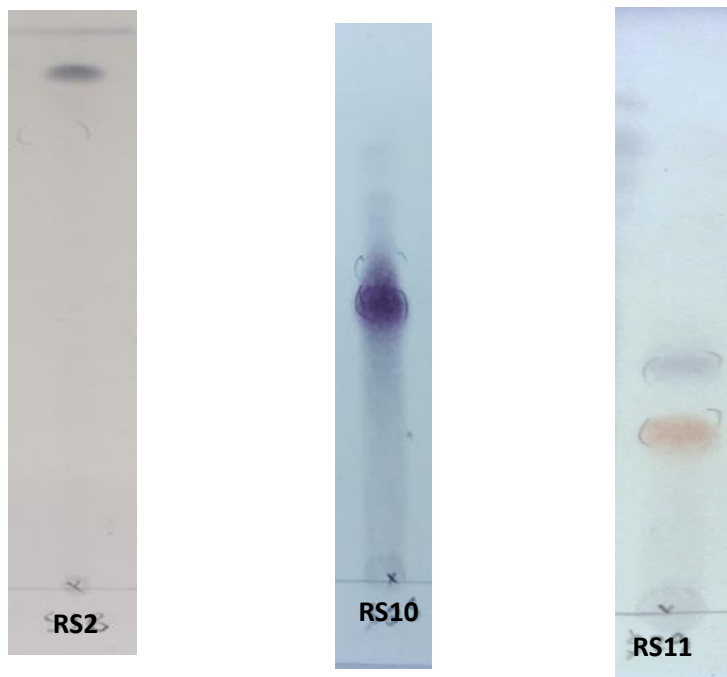
2.5.3.1. Χρωματογραφικός διαχωρισμός κλάσματος MRS3

Το κλάσμα MRS3 (1.5 g) διαλύθηκε σε MeOH και στη συνέχεια με προσθήκη 1g οξειδίου του πυριτίου δημιουργήθηκε ξηρό depot και υποβλήθηκε σε χρωματογραφικό διαχωρισμό μέσω χρωματογραφία ανοιχτής στήλης διαμέτρου 3cm και στατική φάση 65g οξειδίου του πυριτίου.

Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκε σύστημα διαλυτών C-6, DCM και MeOH, ενώ συλλέχθηκαν 927 κλάσματα (τα κλάσματα 1 και 2 συλλέχθηκαν ανά 100 mL, ενώ τα υπόλοιπα ανά 5 mL). Όσα κλάσματα εμφάνισαν παρόμοια χρωματογραφική εικόνα συνενώθηκαν. Τα συστήματα των διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν οι συνενώσεις και τα βάρη, αναφέρονται στους κατωθι πίνακες. Η απόδοση υπολογίσθηκε ως $\alpha=94.2\%$

Πίνακας 19: Κλάσματα, σύστημα διαλυτών και όγκος διαλύτη στήλης MRS3		
Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών	Όγκος διαλύτη (mL)
1	C-Hexane 100%	100
2	c-Hexane/DCM (50.50)	100
3-86	DCM 100%	450
87-344	DCM/MeOH (99.1)	1300
345-428	DCM/MeOH (98.2)	500
429-540	DCM/MeOH (97.3)	500
541-629	DCM/MeOH (96.4)	500
630-835	DCM/MeOH (90.10)	1000
836-895	DCM/MeOH (80.20)	100
897-927	DCM/MeOH (70.30)	150

Πίνακας 20: Συνενώσεις και βάρος συνενώσεων	
Συνένωση	Βάρος (mg)
RS1(1-34)	1,2
RS2(35-67)	20,8
RS3(68-113)	3,5
RS4(114-257)	3,3
RS5(258-475)	32,2
RS6(476-513)	14,6
RS7(514-580)	21,0
RS8(581-620)	299,6
RS9(621-750)	113,8
RS10(751-820)	136,4
RS11(821-890)	54,3
RS12(891-927)	731,2

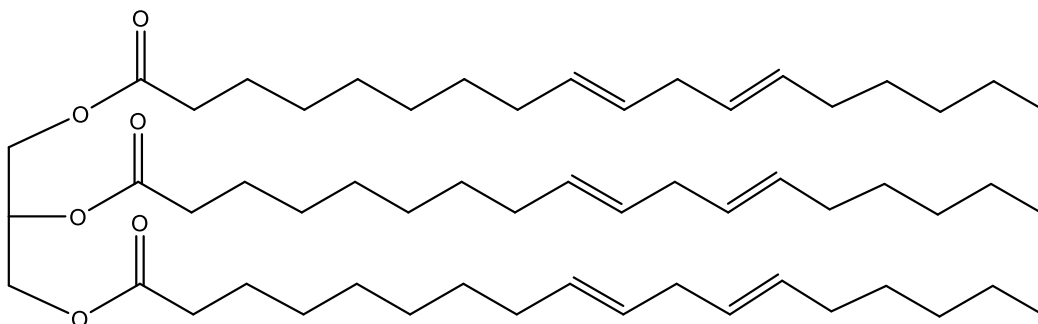


Εικόνα 53: TLC συνενώσεων στήλης MRS3 σε σύστημα DCM 100% (RS2) και 90.10 (DCM/MeOH, RS10 και RS11)

Από τα παραπάνω κλάσματα ενδιαφέρον παρουσίασαν τα κλάσματα: **RS2 (20,8 mg)**, **RS10 (113 mg)** και **RS11 (54,3 mg)**. Από το κλάσμα **RS2** λήφθηκε φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ενώ τα **RS10**, **RS11** διαχωρίστηκαν περαιτέρω με χρωματογραφία στήλης κυτταρίνης και παρασκευαστική χρωματογραφία, αντίστοιχα.

2.5.3.2.Κλάσμα RS2

Το κλάσμα RS2 απομονώθηκε ως **υποκίτρινο υπόλειμμα** (20,8mg) και με φασματοσκοπία NMR σε σύγκριση με βιβλιογραφικά δεδομένα (Guillen & Ruiz, 2003) το μόριο ταυτοποιήθηκε ως το **τριγλυκερίδιο του λινελαϊκού οξέος**.



Εικόνα 54: Χημική δομή τριγλυκεριδίου του λινελαϊκού οξέος

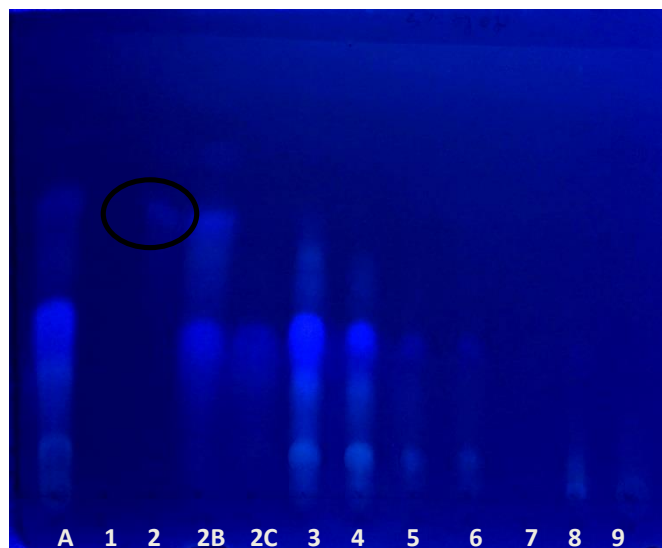
2.5.3.2.1. Φασματοσκοπική μελέτη του κλάσματος RS2

Στα 5.34 ppm παρατηρείται μία πολλαπλή κορυφή, η οποία αντιστοιχεί στα πρωτόνια που συμμετέχουν στους διπλούς δεσμούς. Χαρακτηριστική είναι η παρουσία των δύο διπλών διπλών κορυφών στα 4.29 και 4.14 ppm όταν αναφερόμαστε σε τριγλυκερίδια γιατί αντιστοιχεί στα μεθυλένια στις θέσεις 1 και 3 της ομάδας της γλυκερόλης. Στα 2.79 ppm εμφανίζεται το μεθυλένιο μεταξύ των δύο διπλών δεσμών ως τριπλή κορυφή. Στα 2.37 ppm παρατηρείται μία πολλαπλή κορυφή η οποία αντιστοιχεί στα πρωτόνια που είναι γειτονικά με το καρβονύλιο του καρβοξυλικού οξέος, ενώ στα 2.05 η πολλαπλή κορυφή που εμφανίζεται αντιστοιχεί στα πρωτόνια που είναι γειτονικά στους διπλούς δεσμούς. Όλα τα αλειφατικά πρωτόνια, που έχουν το ίδιο χημικό περιβάλλον, εμφανίζονται στα 1.30 ppm ενώ τα πρωτόνια του τελικού μεθυλίου εμφανίζονται ως τριπλή κορυφή στα 0.90 ppm.

Χημική μετατόπιση, δ (ppm)	Πολλαπλότητα	Χημικά ισοδύναμα πρωτόνια
0.90	t	-CH ₃
1.30	m	-(CH ₂) _n -
1.64	m	-OCO-CH ₂ -CH ₂ -
2.05	m	-CH ₂ -CH=CH-
2.37	m	-OCO-CH ₂ -CH ₂ -
2.79	m	=CH-CH ₂ -CH=
4.29 and 4.14	dd, dd	ROCH ₂ -CH(OR')- CH ₂ OR''
5.34	m	-CH=CH-

Πίνακας 21: Συνενώσεις, κλάσματα και βάρη συνενώσεων στήλης RS10

Όνομα συνένωσης	Κλάσματα	Βάρος (mg)
RSC1	1-4	2,2
RSC2	5-7	30,0
RSC2B	8-10	23,0
RSC2C	11-20	28,0
RSC3	21-36	11,4
RSC4	37-53	8,0
RSC5	54-59	1,4
RSC6	60-77	3,0
RSC7	78-80	0,7
RSC8	81-104	0,5
RSC9	105-111	2,0

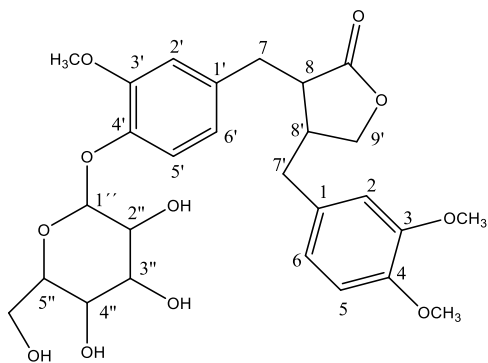


Εικόνα 56: Συνενώσεις κλάσματος στήλης RS10 σε πλάκα cellulose (σύστημα ανάπτυξης 5% οξ.οξύ)

Από τα κλάσματα αυτά ενδιαφέρον παρουσίασε το κλάσμα **RSC2**.

2.5.3.3.1.Κλάσμα RSC2

Το κλάσμα RSC2 απομονώθηκε ως κίτρινη σκόνη (30 mg) και με την βοήθεια φάσματος NMR και βιβλιογραφικά δεδομένα (Hayashi, *et al.*, 2010), 2010) ταυτοποιήθηκε ως το λιγνάνιο αρκτιίνη.



Εικόνα 57: Χημική δομή αρκτινίνη (4-Ο-β-γλυκοσίδης της αρκτιγενίνης)

2.5.3.3.1.1. Φασματοσκοπική ανάλυση RSC2

Το μόριο αυτό είναι ο γλυκοσίδης της αρκτιγενίνης και εμφανίζει πολλές ομοιότητες με το φάσμα της αρκτιγενίνης με μόνη διαφορά την υποκατάσταση του C-4' με β-D-γλυκόζη.

Στην αρωματική περιοχή τα πρωτόνια εμφανίζουν αντίστοιχη χημική μετατόπιση και πολλαπλότητα με τα αρωματικά πρωτόνια της αρκτιγενίνης όπως φαίνεται και στον πίνακα παρακάτω. Παρατηρείται επίσης και ο διαχωρισμός των πρωτονίων H-9' σε δύο διπλές διπλών κορυφές με μεγάλη διαφορά στη χημική τους μετατόπιση (3.91 και 4.16ppm), όπως είχε παρατηρηθεί και στο μόριο αρκτιγενίνη και υποδηλώνει την παρουσία του 8',8-*trans* δακτυλίου ολιδίου.

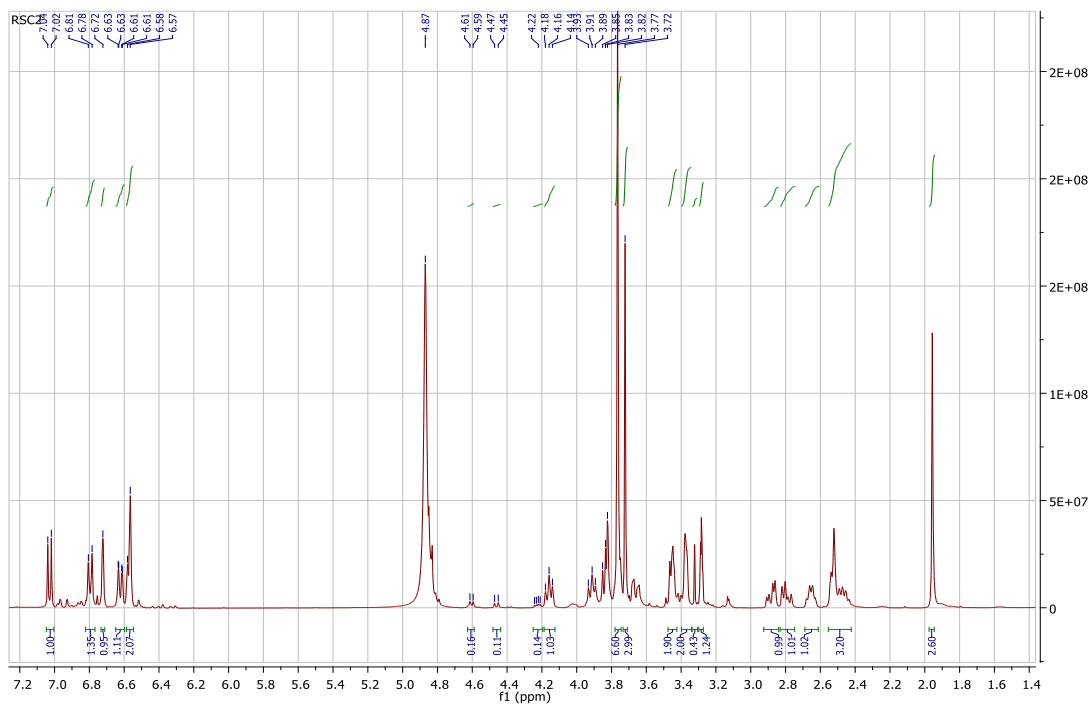
Η μόνη διαφορά που εμφανίζεται στα δύο μόρια είναι η παρουσία των χημικών μετατοπίσεων των πρωτονίων του δακτυλίου της γλυκόζης στην περιοχή 2.8-3.9 ppm.

Στα 4.85 ppm παρατηρείται η κορυφή του ανωμερικού πρωτονίου H-1'', και επιβεβαιώνεται από το φάσμα COSY λόγω της σύζευξης που παρουσιάζει με τα υπόλοιπα πρωτόνια του δακτυλίου της γλυκόζης. Επίσης, στο φάσμα ¹³C εμφανίζεται ο άνθρακας που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-1'' με χημική μετατόπιση 102.85 ppm.

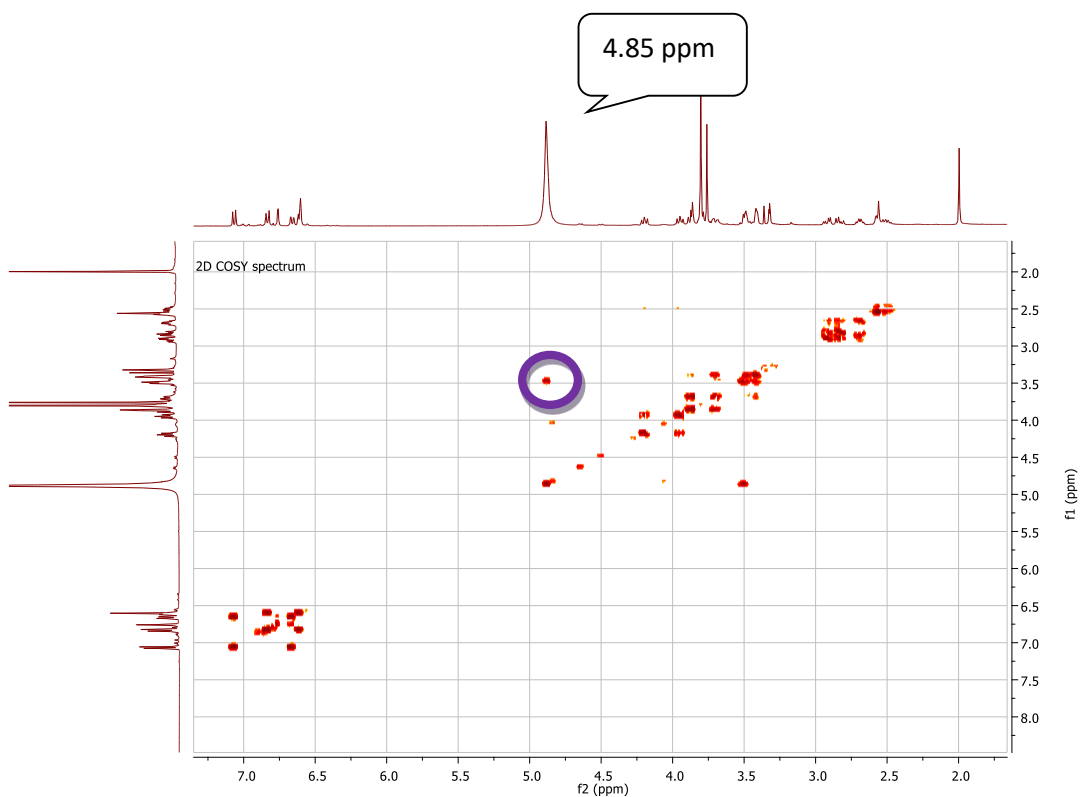
Με το φάσμα HMBC ήταν δυνατή η ταυτοποίηση των τεταρτοταγών ανθράκων. Επίσης, οι συζεύξεις στο φάσμα HMBC του H-7 με τους άνθρακες C-9, C-8 και C-8', του H-7' με τους άνθρακες C-9, C-2 και C-6, του H-8' με τους άνθρακες C-9 και C-1 και του H-9' με τους άνθρακες C-9, C-7' και C-8 υποδηλώνει την παρουσία διβενζυλβουτυρο-λακτονικού δακτυλίου.

Επιβεβαιώσαμε ότι η υποκατάσταση είναι στον C-4' γιατί ο άνθρακας αυτός στο φάσμα HMBC εμφανίζει σύζευξη με το ανωμερικό H (H-1'') στη θέση 4.85.

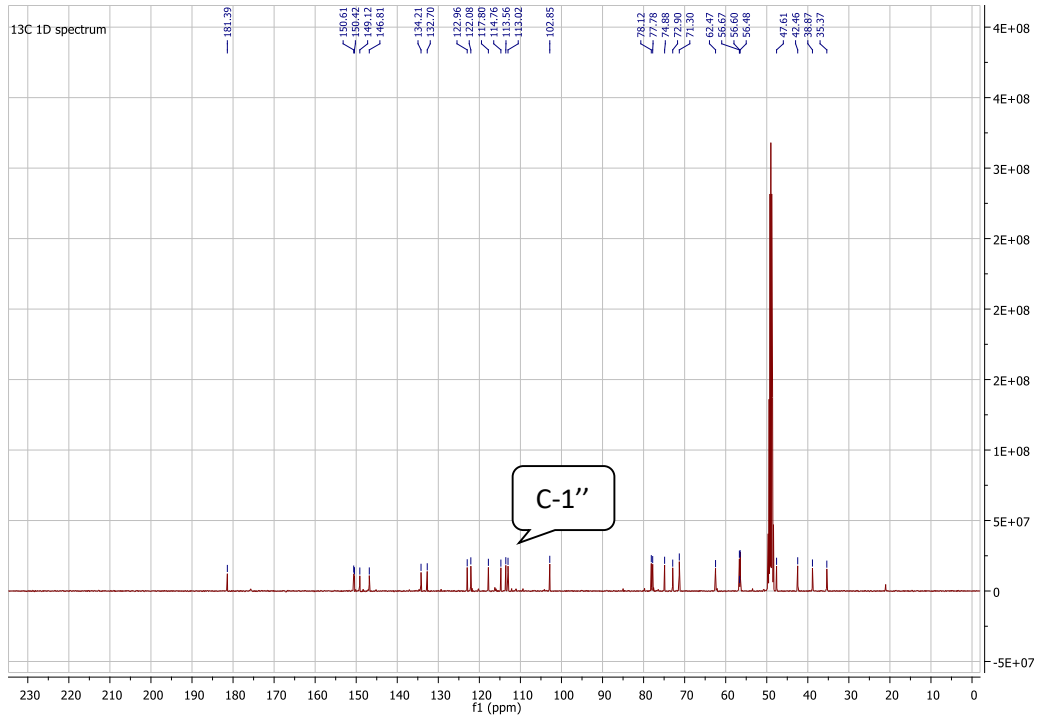
Πρωτόνια	Χημική μετατόπιση, δ (ppm)	Πολλαπλότητα	¹³ C
H-7/H-8/H-8'	2.52	m	35.37/47.61/42.46
H-7'	2.68	dd, <i>J</i> = 6/2.5 Hz	38.87
H-2'',H-3'',H-4'',H-5''	3.38-3.45	m	74.88/78.12/71.30/76.42
OCH ₃ -3'	3.75	s	56.67/56.48/56.43
OCH ₃ -3/ OCH ₃ -4	3.78	s	
H-6''	3.85	s	62.47
	3.86	s	
H-9'	3.91	dd, <i>J</i> = 9/7 Hz	72.90
	4.16	dd, <i>J</i> = 9/7 Hz	
H-1''	4.85	d, <i>J</i> =8 Hz	102.85
H-2	6.59	d, <i>J</i> =2 Hz	116.44
H-6	6.60	dd, <i>J</i> =8/2 Hz	120.71
H-6'	6.62	dd, <i>J</i> =8/2 Hz	121.60
H-2'	6.72	d, <i>J</i> =2 Hz	113.39
H-5	6.80	d, <i>J</i> =8 Hz	111.65
H-5'	7.03	d, <i>J</i> =8 Hz	112.20
H-3	-	-	150.6
H-3'	-	-	150.4
H-4'	-	-	149.1
H-4	-	-	146.8
H-1	-	-	134.21
H-1'	-	-	132.70
C=O	-	-	180.0



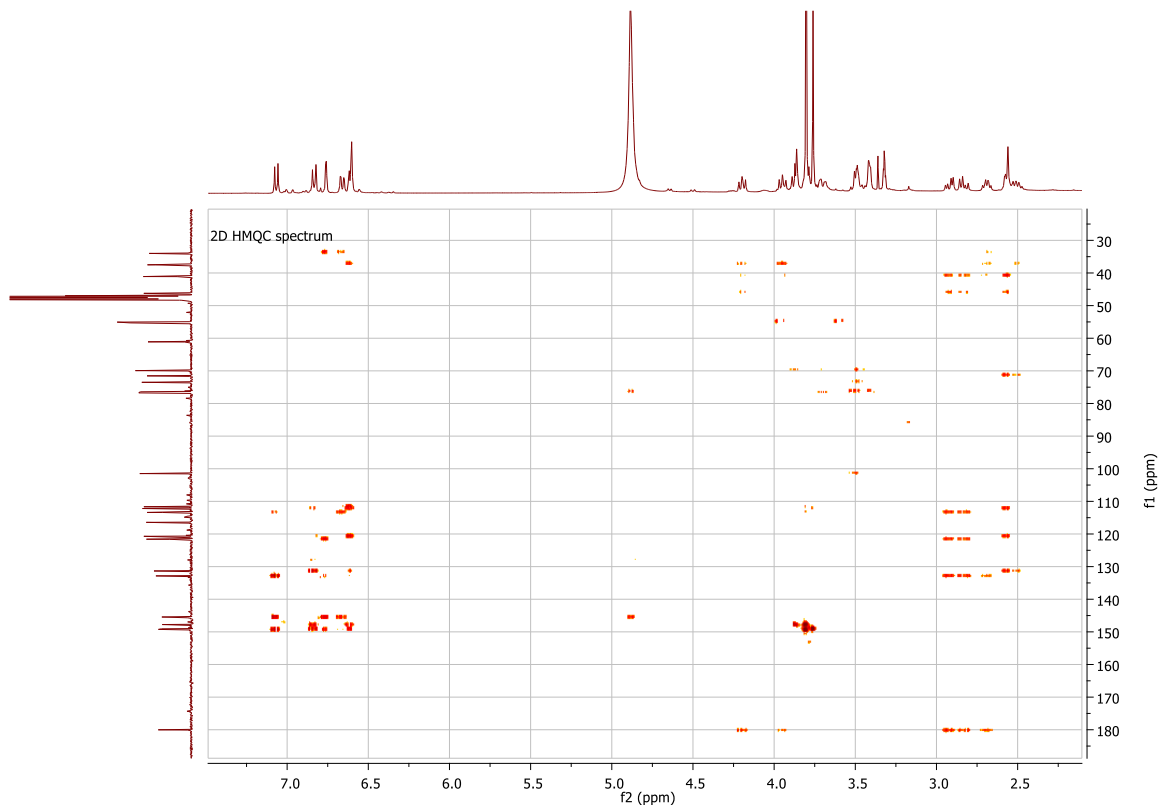
Εικόνα 58: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ στο κλάσμα RSC2



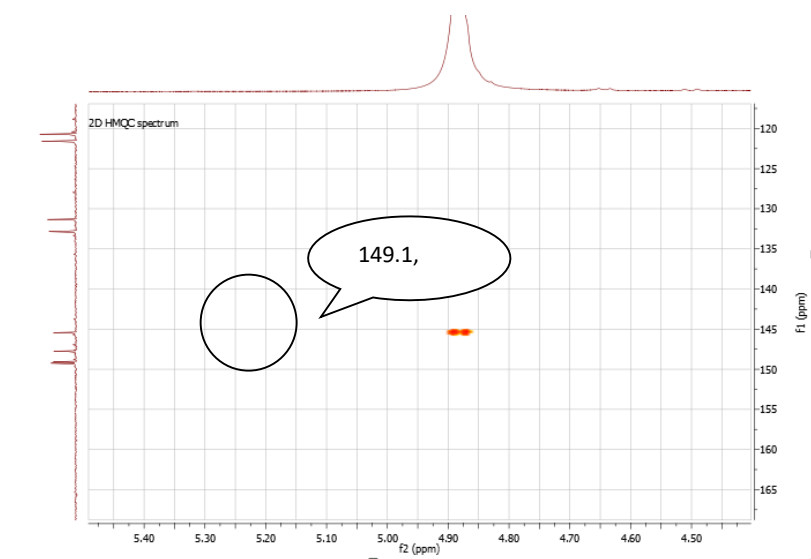
Εικόνα 59: Φάσμα COSY στο κλάσμα RSC2



Εικόνα 60: Φάσμα ^{13}C στο κλάσμα RSC2



Εικόνα 61: Φάσμα HMBC στο κλάσμα RSC2



Εικόνα 62: Φάσμα HMBC σε μεγένθυση στο κλάσμα RSC2

Το μόριο αυτό έχει απομονωθεί ξανά από φύλλα, καρπούς και σπέρματα του *Arctium lappa* (Asteraceae) (Liu, *et al.*, 2005; Guo, *et al.*, 2010 και Han, *et al.*, 1994) και είναι η **δεύτερη φορά** που απομονώνεται από σπέρματα *C. cardunculus* (Koubaa, *et al.*, 1999) και πρώτη φορά από το παρόν υβρίδιο.

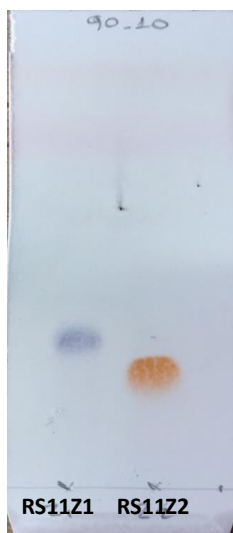
Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η κύρια βιολογική δράση της αρκτίνης είναι η αντιφλεγμονώδης, μέσω αναστολής του ενζύμου κυκλοξυγενάση-2(COX-2). Το ένζυμο αυτό είναι υπεύθυνο για τον μεταβολισμό αραχιδονικού οξέος και σχηματισμού χημικών μεταβολιτών που έχουν ως τελικό στόχο την παραγωγή φλεγμονής (Lee, *et al.*, 2011), Επίσης, μελέτες έδειξαν ανασταλτική δράση στην ενεργοποίηση κυττάρων που οδηγούσαν τελικά σε μυελογενή λευχαιμία σε *in vitro* καλλιέργειες κυττάρων ποντικών (Umehara, *et al.*, 1993), όπως και αντιβακτηριακή δράση έναντι 20 διαφορετικών παθογόνων μικροοργανισμών (π.χ. *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, κ.α) (Ryu, *et al.*, 1995).

2.5.3.4. Χρωματογραφικός διαχωρισμός κλάσματος RS11



Εικόνα 63: TLC κλάσματος RS11, σε πλάκα οξειδίου και σύστημα 80.20 D/MeOH

Το κλάσμα RS11 (54,3 mg) υποβλήθηκε σε παρασκευαστική χρωματογραφία σε πλάκες οξειδίου του πυριτίου σε σύστημα 80/20 (DCM/MeOH) και λήφθηκαν οι ζώνες **RS11.Z1** και **RS11.Z2**, οι οποίες ταυτοποιήθηκαν με $^1\text{H-NMR}$.

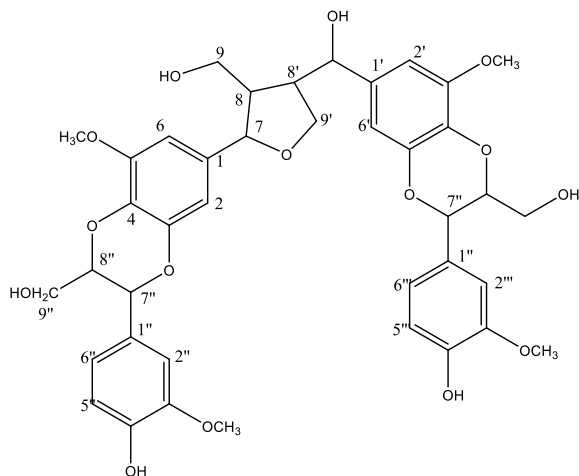


Εικόνα 64 : TLC απομονωμένα κλάσματα RS11.Z1 και RS11.Z2

σε πλάκα οξειδίου, σύστημα 90.10, D/MeOH

2.5.3.4.1.Κλάσμα RS11.Z1

Η ουσία RS11.Z1 απομονώθηκε ως λευκή κόνις (13 mg) και ταυτοποιήθηκε ως ο δευτερογενής μεταβολίτης κυναρινίνη (Koubaa, *et al.*, 2003).



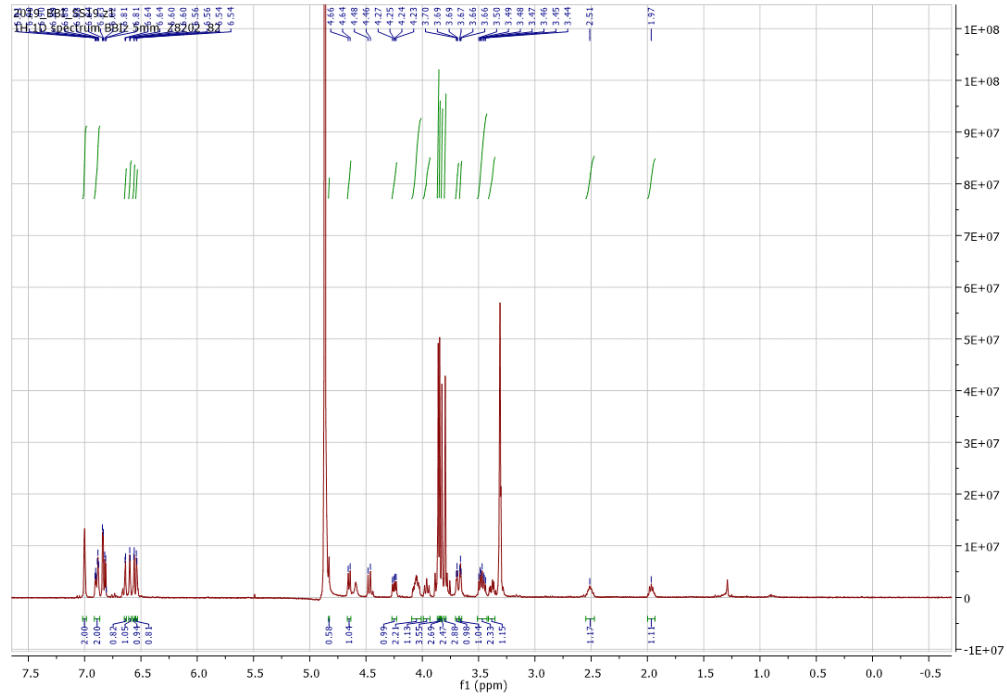
Εικόνα 65: Χημική δομή κυναρινίνη

2.5.3.4.1.1.Φασματοσκοπική ανάλυση RS11.Z1

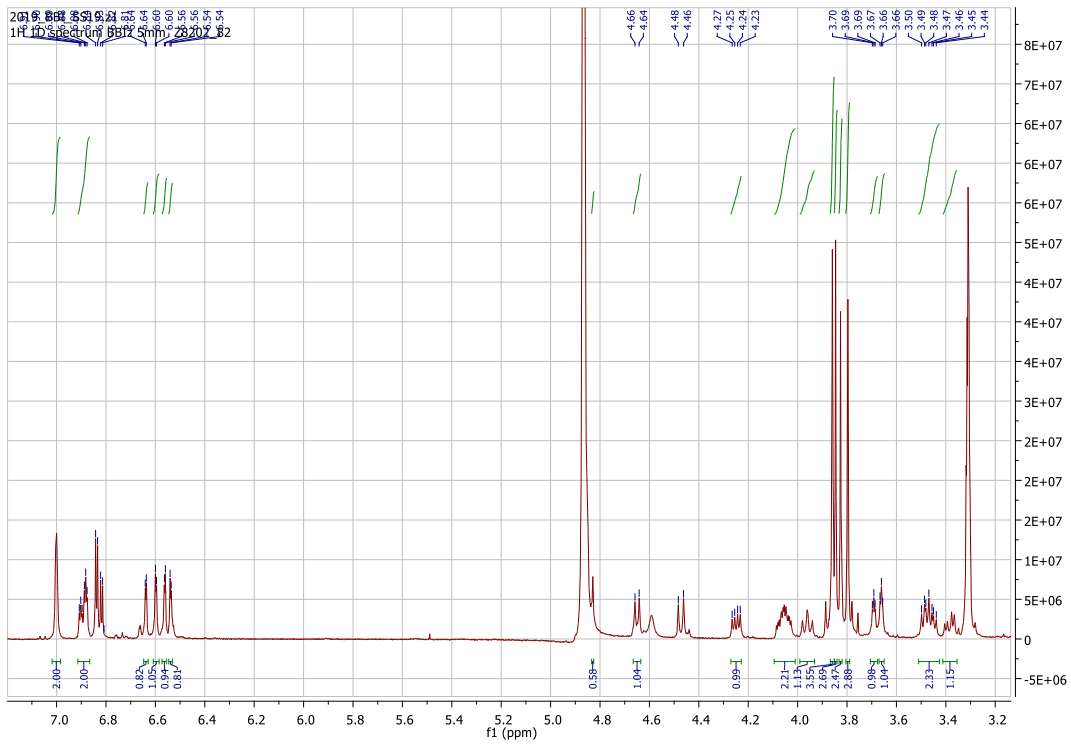
Η κυναρινίνη ανήκει και αυτό στα λιγνάνια αλλά διαφέρει δομικά από τα υπόλοιπα λιγνάνια που έχουν απομονωθεί γιατί ανήκει στα διλιγνάνια. Εμφανίζονται 4 αρωματικοί δακτύλιοι, 1 λακτονικός και 2 τετραϊδροφουρανικοί δακτύλιοι. Στην περιοχή 6.50-7.00 ppm εμφανίζονται όλα τα αρωματικά πρωτόνια του μορίου ως πολλαπλές κορυφές, με εξαίρεση την κορυφή στα 7.00 ppm που εμφανίζεται ως απλή κορυφή και αντιστοιχεί στα H-2'' και H-2'''. Στα 4.04- 4.84 ppm εμφανίζονται διπλές κορυφές με σύζευξη $J=7.5$ Hz ή πολλαπλές και αντιστοιχούν στα ογγονωμένα μεθίλια. Στα 3.80-3.86 ppm εμφανίζονται 4 απλές κορυφές που αντιστοιχούν στα πρωτόνια των μεθόξυ ομάδων. Χαρακτηριστική είναι η παρουσία μίας διπλής διπλών κορυφής με σύζευξη $J=12/4$ Hz και μίας πολλαπλής κορυφής στα 3.67 ppm που αντιστοιχούν στα H-9'' και H-9''' . Τα πρωτόνια H-9 εμφανίζονται ως πολλαπλή κορυφή στα 3.38 ppm.

Το φάσμα HMBC του μορίου παρατηρήθηκαν συζεύξεις μεταξύ των πρωτονίων στα 4.84 ppm (H-7''/H-7''') με τους άνθρακες στα 129.36 (C-1'',1'''), στα 112.17 (C-2''/C-2'''), στα 121.80 (C-6''-C-6'''), στα 79.82 (C-8''/C-8''') και στα 61 (C-9''/C-9'''), επιβεβαιώνοντας έτσι τη θέση του H-7 αφού ήταν αναμενόμενο να εμφανίσει σύζευξη με τους άνθρακες στις θέσεις αυτές.

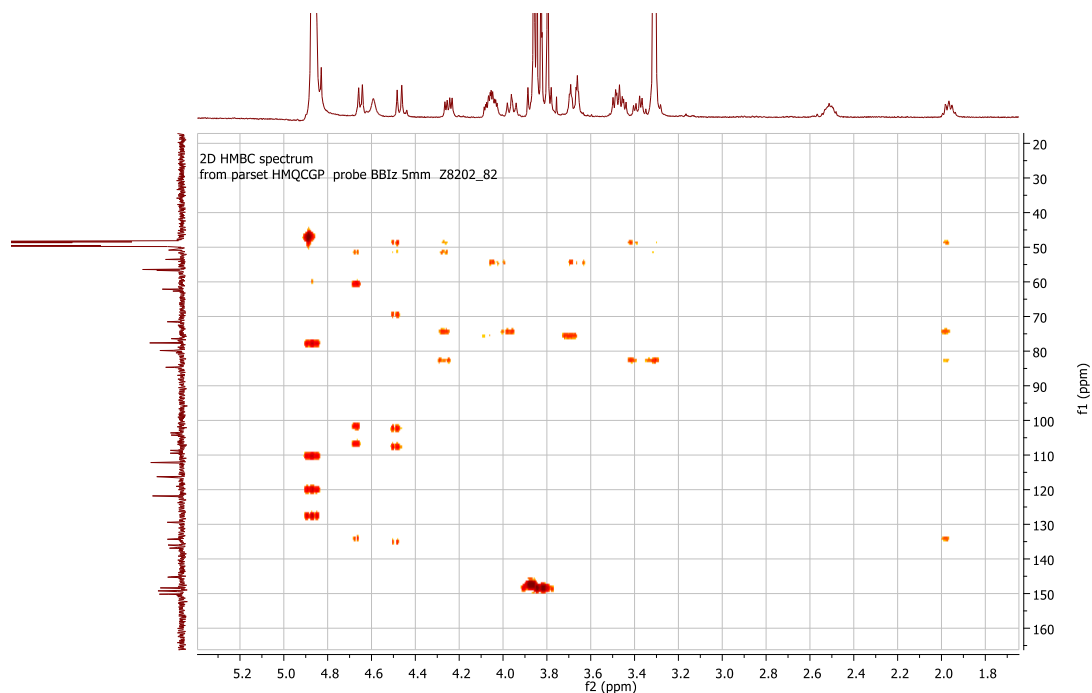
ΠΡΩΤΟΝΙΑ	Χημική μετατόπιση, δ (ppm)	Πολλαπλότητα	¹³ C
H-8	1.96	m	52.0
H-8'	2.50	m	50.0
H-9	3.38	m	62.0
H-9''/H-9'''	3.47	dd, <i>J</i> =12/4 Hz	61.0
	3.67	m	61.0
OCH₃	3.80	s	56.3
OCH₃	3.83	s	56.3
OCH₃	3.85	s	56.1
OCH₃	3.86	s	56.1
H-9'	3.95	m	70.6
H-8''''/H-8'''	4.04	m	79.8
H-9'	4.25	m	70.6
H-7'	4.45	d, <i>J</i> =7.5 Hz	75.1
H-7	4.64	d, <i>J</i> =7.5 Hz	83.6
H-7''/H-7'''	4.84	d, <i>J</i> =7.5 Hz	76.7
H-2	6.54	m	107.9
H-6'	6.57	m	108.7
H-2'	6.61	m	103.2
H-6	6.64	m	102.8
H-5''/H-5'''	6.83	m	115.4
H-6''/H-6'''	6.89	m	121.8
H-2''/H-2'''	7.00	s	112.8
H-1	-	-	134.5
H-5	-	-	148.35
H-4	-	-	133.2
H-3	-	-	144.1
H-1'	-	-	135.6
H-3'	-	-	150.1
H-4'	-	-	133.2
H-1''/H-1'''	-	-	129.3
H-5'''	-	-	148.0
H-4'''	-	-	146.9



Εικόνα 66: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ στο κλάσμα RS11.ZI



Εικόνα 67: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ στο κλάσμα RS11.ZI (μεγέθυνση στη περιοχή 3-7 ppm)

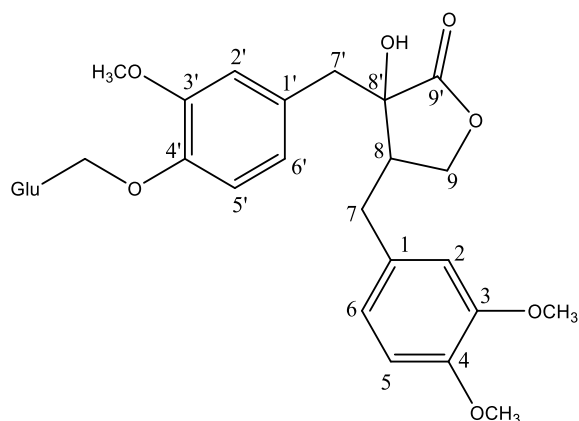


Εικόνα 70: Φάσμα HMBC στο κλάσμα RS11.Z1

Είναι η δεύτερη φορά που απομονώνεται η κυναρινίνη από σπέρματα *C. cardunculus.*, ενώ δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με τη όποια βιολογική δράση του μεταβολίτη

2.5.3.4.2.Κλάσμα RS11.Z2

Το μόριο **RS11.Z2** απομονώθηκε ως υποκίτρινη κόνις (22 mg) και ταυτοποιήθηκε μετά από φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με βιβλιογραφικά δεδομένα (Koubaa, *et al.*, 2003; Kang, *et al.*, 2007; Yoo, *et al.*, 2006; Inagaki, *et al.*, 1972; Nishibe, *et al.*, 1972) ως τραχηλοσίδης.



Εικόνα 71: Χημική δομή τραχηλοσίδη

2.5.3.4.2.1 Φασματοσκοπική ανάλυση RS11.Z2

Το μόριο αυτό ανήκει επίσης στα λιγνάνια και αποτελεί τον γλυκοσίδη της τραχηλογενίνης και η παρουσία της β-D-γλυκόζης αποτελεί τη μόνη διαφορά μεταξύ αυτού και της τραχηλογενίνης ενώ προσομοιάζει επίσης δομικά και με το μόριο αρκτιίνη με διαφορά την παρουσία υδροξυλομάδας στη θέση-8' του μορίου.

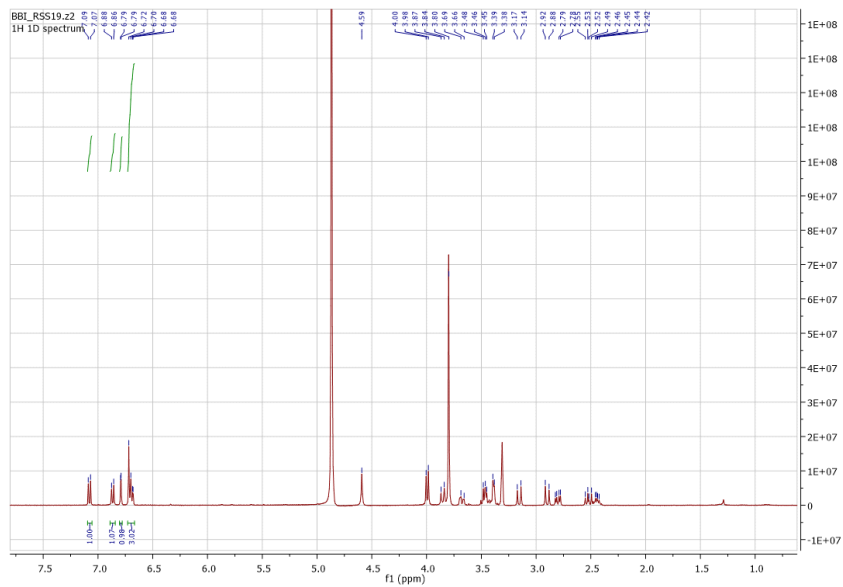
Όπως και στα υπόλοιπα παράγωγα λιγνάνων που έχουν απομονωθεί (arctigenin, trachelogenin, arctiin) στην αρωματική περιοχή 6.70-7.08 εμφανίζονται τα πρωτόνια των δυο αρωματικών δακτυλίων.

Στα 4.00 ppm είναι χαρακτηριστική η παρουσία μίας διπλής κορυφής με σύζευξη $J=8$ Hz και αντιστοιχεί στα πρωτόνια του μεθυλενίου του λακτονικού δακτυλίου (H-9). Όπως και στο μόριο trachelogenin, λόγω της παρουσίας υδροξυλομάδας στον άνθρακα C-8' τα πρωτόνια H-9 εμφανίζονται στην ίδια κορυφή. Σε αντίθεση στο μόριο arctiin που παρατηρείται 8',8-*trans* δακτυλίου ολιδίου τα πρωτόνια αυτά διαχωρίζονταν μεταξύ τους και εμφανίζονταν ως δύο ξεχωριστές διπλές διπλών κορυφές. Τα πρωτόνια των μεθόξυ ομάδων εμφανίζονται στα 3.80 ppm ως απλή κορυφή που ολοκληρώνει για 9H. Επίσης, στα 3.15 και 2.90 ppm παρατηρούνται δύο διπλές κορυφές με σύζευξη $J=13.7$ Hz και αντιστοιχούν στα μεθυλενικά πρωτόνια της θέσεως 7'. Αντίστοιχα, στα 2.80 και 2.54 ppm εμφανίζονται μία διπλή διπλών κορυφή με σύζευξη $J=13.5/5$ Hz και μία πολλαπλή κορυφή που αντιστοιχεί στα μεθυλενικά πρωτόνια της θέσεως 7.

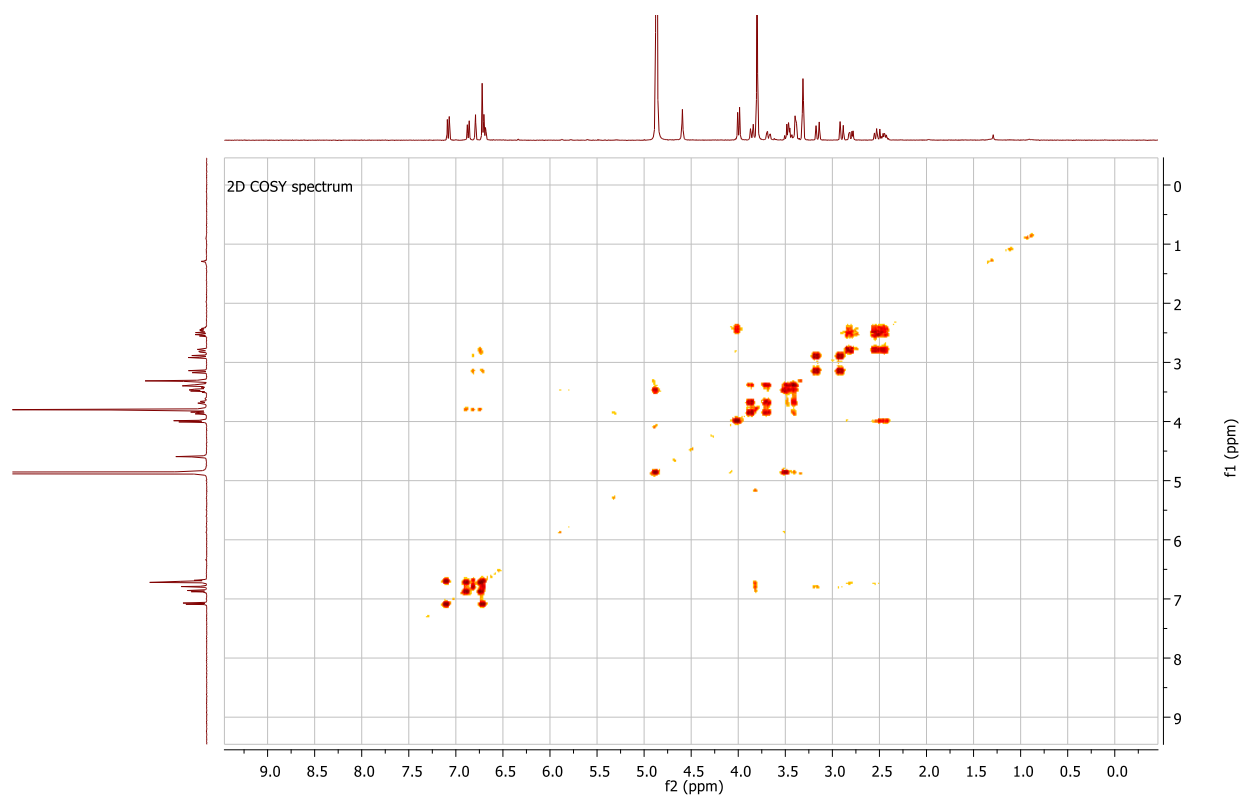
Η χημική δομή του μορίου επιβεβαιώθηκε περαιτέρω με φάσμα HMBC. Τα πρωτόνια στη θέση 7.08 (H-5') του αρωματικού δακτυλίου εμφάνισαν σύζευξη με τους άνθρακες στα 131.7, 115.5, 149.15 και 150.52 που αντιστοιχούν στις θέσεις 1', 2', 4' και 3' και το πρωτόνιο H-2' εμφάνισε σύζευξη με τους άνθρακες στις θέσεις 7', 6', 4' και 3' (41.5, 123.8, 149.15 και 150.52). Τα πρωτόνια στη θέση 5 (6.87) εμφάνισαν σύζευξη με τους άνθρακες των θέσεων 2, 6 και 1 (113.8, 122.0 και 133.32) που ορίζουν τον δεύτερο αρωματικό δακτύλιο. Τα πρωτόνια H-2 εμφάνισαν σύζευξη με τους άνθρακες στα 31.7, 122.0 και 149.5 (H-7, H-6 και H-3/H-4 αντίστοιχα). Τα πρωτόνια H-9 εμφάνισαν σύζευξη στο φάσμα HMBC με τους άνθρακες στις θέσεις 31.7, 44.2,

77.2 και 180 που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-7, H-8, H-8 και H-9', επιβεβαιώνοντας έτσι ότι πρόκειται για τα πρωτόνια του μεθυλενίου του λακτονικού δακτυλίου. Επίσης, σύμφωνα με το φάσμα HMBC μπορέσαμε να ταυτοποιήσουμε όλους τους τεταρτοταγείς άνθρακες.

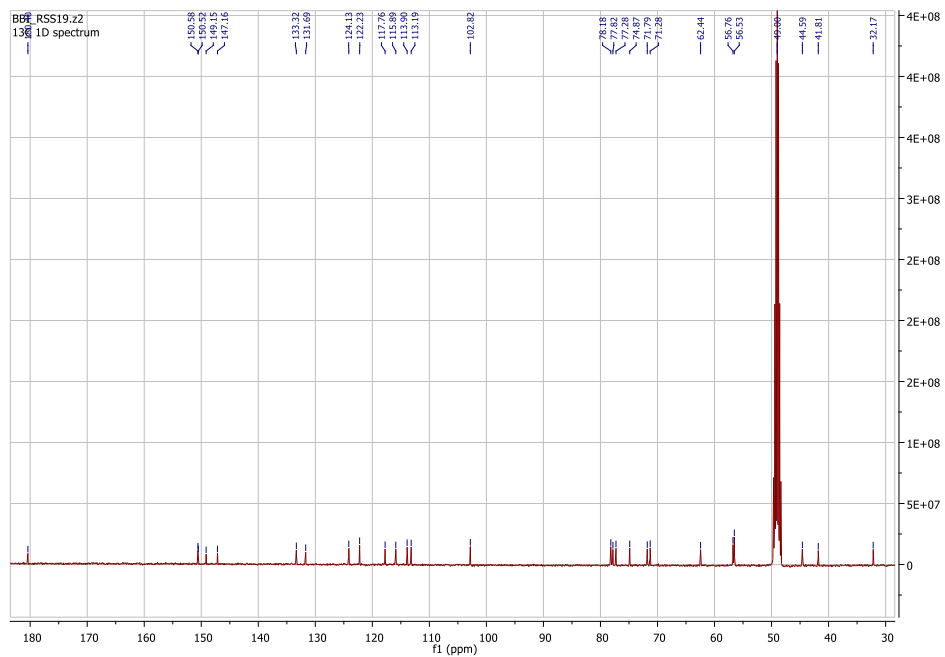
ΠΡΩΤΟΝΙΑ	Χημική μετατόπιση, δ (ppm)	Πολλαπλότητα	^{13}C
H-8	2.44	m	44.2
H-7	2.54	m	31.7
H-7	2.80	dd, $J=13.5/5$ Hz	31.7
H-7'	2.90	d, $J=13.7$ Hz	41.5
H-7''	3.15	d, $J=13.7$ Hz	41.5
H-2''/H-3''/H-4''/H-5''	3.39	d, $J=5$ Hz	77.28/77.82/74.87/78.18
H-2''/H-3''/H-4''/H-5''	3.46	dd, $J=13/7$ Hz	77.28/77.82/74.87/78.18
H-6''	3.68	dd, $J=12/4$ Hz	62.44
-OCH ₃	3.80	s	56.1
H-6''	3.86	d, $J=12$ Hz	62.44
H-9	4.00	d, $J=8$ Hz	71.4
H-1''	4.86	-	102.82
H-6'	6.70	dd, $J= 8/2$ Hz	123.8
H-6	6.71	dd, $J= 8/2$ Hz	122.0
H-2	6.72	s	113.8
H-2'	6.79	d, $J=2$ Hz	115.5
H-5	6.87	d, $J=8$ Hz	112.8
H-5'	7.08	d, $J=8$ Hz	117.5
H-3	-	-	150.58
H-3'	-	-	150.52
H-4'	-	-	149.15
H-4	-	-	147.16
H-1	-	-	133.32
H-1'	-	-	131.70
C=O	-	-	180.40



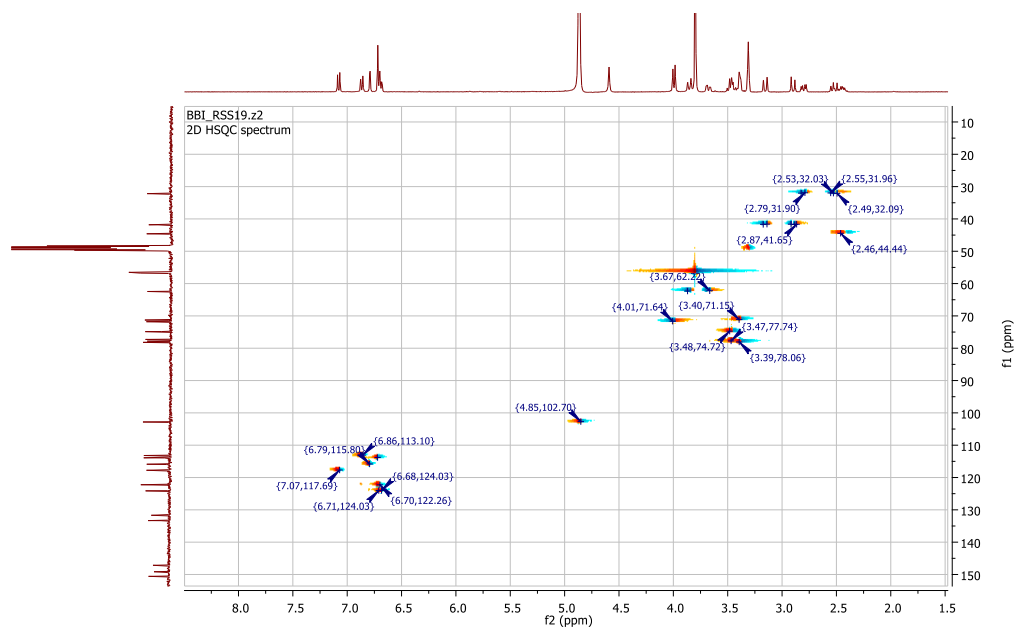
Εικόνα 72: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ στο κλάσμα RS11.Z2



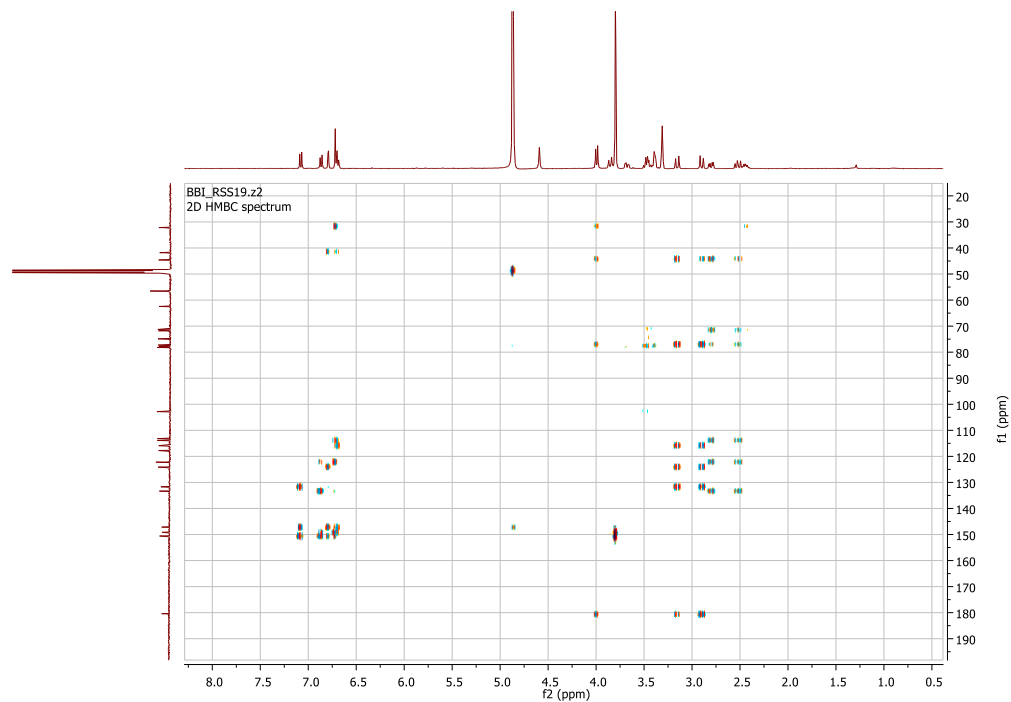
Εικόνα 73: Φάσμα COSY στο κλάσμα RS11.Z2



Εικόνα 74: Φάσμα ^{13}C στο κλάσμα RS11.Z2



Εικόνα 75: Φάσμα HMQC στο κλάσμα RS11.Z2



Εικόνα 76: Φάσμα HMBC στο κλάσμα RS11.Z2

Το μόριο τραχηλοσίδης racheloside έχει απομονωθεί από τα φυτά : *Trachelospermum asiaticum* (Asteraceae) (Inagaki, *et al.*, 1972; Nishibe, *et al.*, 1972), *Carthamus tinctorius* (Yoo, *et al.*, 2006; Takahashi, *et al.*, 2012) και *Saussurea salicifolia* (Asteraceae) (Kang, *et al.*, 2007), καθώς και από σπέρματα *C. cardunculus* (Koubaa, *et al.*, 2003) ενώ είναι η πρώτη φορά που απομονώνεται από τα σπέρματα του Ελληνικού υβριδίου. Σύμφωνα από με την βιβλιογραφία ο τραχηλοσίδης έχει εμφανίσει αντι-οιστρογονική δράση έναντι καλλιεργούμενων κυττάρων Ishikawa (ανθρώπινα κύτταρα οιστρογονοεξαρτώμενου ενδοθηλιακού αδενοκαρκινώματος) (Yoo, *et al.*, 2006)

3. ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ

3.1. Προσδιορισμός ολικού φαινολικού φορτίου

Ο προσδιορισμός των ολικών φαινολικών πραγματοποιήθηκε στο μεθανολικό, κυκλοεξανικό και υδατικό εκχύλισμα, καθώς σε αυτά αναμένεται η μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων.

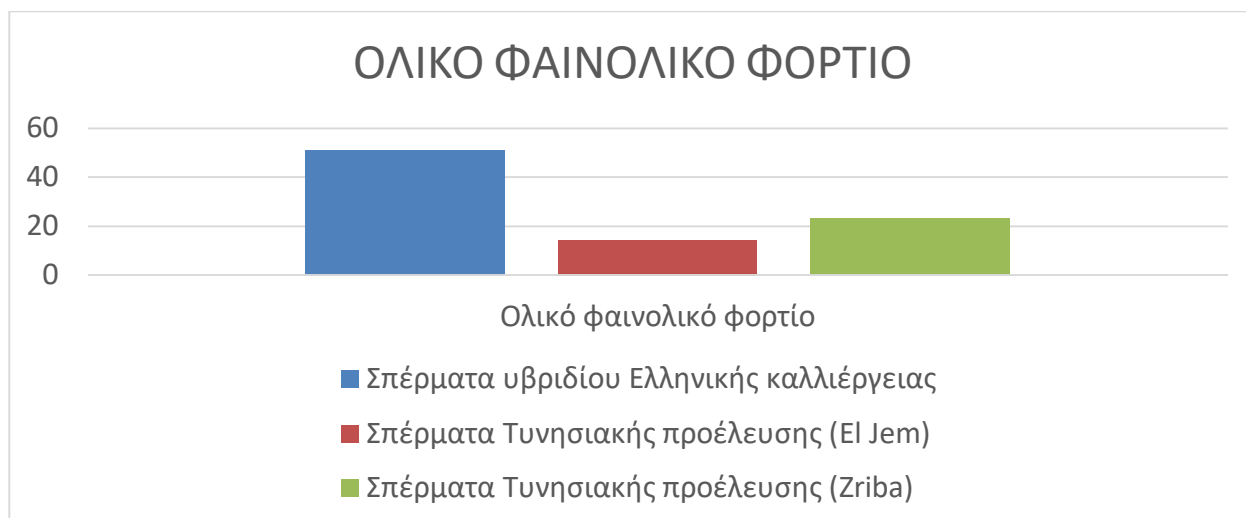
Προσδιορισμός ολικών φαινολικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu:

Το ολικό φαινολικό φορτίο προσδιορίστηκε με την μέθοδο Folin-Ciocalteu σύμφωνα με τους Slinkard and Singleton (1977) με μικρές τροποποιήσεις. Αρχικά, ποσότητα από το διάλυμα του δείγματος (120 μL) αναμίχθηκε με διάλυμα αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu (600 μL) και διάλυμα Na_2CO_3 (480 μL) και ακολούθησε έντονη ανάδευσή τους (vortex). Στη συνέχεια, το διάλυμα αφέθηκε σε ηρεμία ¹στο σκοτάδι για 30min (θερμοκρασία δωματίου, 25°C) και μετρήθηκε η απορρόφηση του στα 765 nm, αφού πραγματοποιήθηκε πρώτα φυγοκέντρηση του στις 3600 στροφές για 5 min. Το ολικό φαινολικό φορτίο εκφράζεται ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (mgGAE/g εκχυλίσματος).

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 22: Αποτελέσματα ολικού φαινολικού φορτίου για το μεθανολικό, διχλωρομεθανικό και κυκλοεξανικό εκχύλισμα	
Εκχύλισμα <i>C. cardunculus</i>	Ολικά φαινολικά (mgGAE/g)
Μεθανολικό εκχύλισμα	51.22±0.63
Κυκλοεξανικό εκχύλισμα	11.13±0.14
Υδατικό εκχύλισμα	54.51±0.52

Αξίζει να σημειωθεί έχει πραγματοποιηθεί ξανά αξιολόγηση φαινολικού φορτίου σε σπέρματα *C. cardunculus* (Halleh, *et al.*, 2008; Soumaya, *et al.*, 2013) και είναι η πρώτη φορά που αξιολογείται το ολικό φαινολικό φορτίο στα σπέρματα του συγκεκριμένου υβριδίου *C. cardunculus* Ελληνικής καλλιέργειας.



Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα μεταξύ του ολικού φαινολικού φορτίου των σπερμάτων ελληνικού υβριδίου *C. cardunculus* και σπερμάτων **Τυνησιακής** προέλευσης παρατηρήθηκε διαφορά στην περιεκτικότητα τους σε φαινολικά. Στα σπέρματα Ελληνικού υβριδίου παρατηρήθηκε μεγαλύτερη συγκέντρωση σε φαινολικά σε σχέση με τα σπέρματα Τυνησίας, επομένως τα σπέρματα αυτά εμφανίζουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση. Το ολικό φαινολικό φορτίο των σπερμάτων Ελληνικού υβριδίου *C. cardunculus* προσδιορίζεται για πρώτη φορά.

3.2. Προσδιορισμός ολικών φλαβονοειδών (total flavonoid content – TFC) με τη μέθοδο του χλωριούχου αργιλίου (AlCl₃)

Η μέθοδος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας ενός δείγματος σε φλαβονοειδή (συγκεκριμένα φλαβόνες και φλαβονόλες) και βασίζεται στο σχηματισμό έγχρωμων συμπλόκων μεταξύ των καρβονυλικών και υδροξυλικών ομάδων των φλαβονοειδών και των ιόντων Al³⁺, που απορροφούν στην περιοχή του ορατού (415 nm). Το αντιδραστήριο αποτελεί το διάλυμα AlCl₃ 2-10% (w/v) και μπορεί να εφαρμοστεί παρουσία διαλύματος οξέων ή οξικών αλάτων.

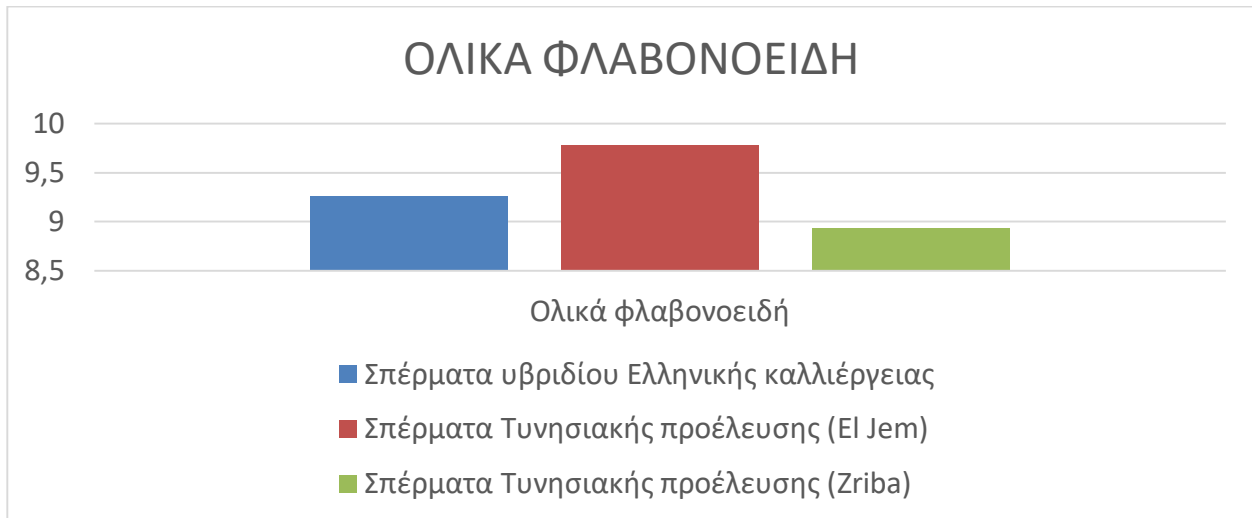
Τα ολικά φλαβονοειδή υπολογίζονται από την καμπύλη αναφοράς της κερκετίνης (πρότυπη ουσία) και εκφράζονται σε ισοδύναμα κερκετίνης (mg/g εκχυλίσματος).

Για τη μέτρηση των απορροφήσεων των διαλυμάτων στα 415 nm, χρησιμοποιήθηκε η συσκευή InfiniteM200 PROTECANreader.

Πίνακας 23 : Ολικά φλαβονοειδή σε mg κερκετίνης /g εκχυλίσματος

Κυκλοεξανικό εκχύλισμα	0.04±0.01
Μεθανολικό εκχύλισμα	9.26±0.04
Υδατικό εκχύλισμα	6.61±0.57

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μας, στο **μεθανολικό εκχύλισμα** παρατηρείται μεγαλύτερη συγκέντρωση σε φλαβονοειδή σε σχέση με τα άλλα δύο εκχυλίσματα. Παρόλα αυτά παρατηρείται ότι η συγκέντρωση σε φλαβονοειδή είναι πολύ μικρή, γεγονός που ήταν αναμενόμενο αφού δεν έχουν απομονωθεί φλαβονοειδή. Ο προσδιορισμός ολικών φλαβονοειδών σε σπέρματα *C. cardunculus* πραγματοποιείται για δεύτερη φορά, ενώ είναι η πρώτη φορά που πραγματοποιείται στα σπέρματα Ελληνικού υβριδίου.



Συγκρίνοντας την περιεκτικότητα των σπερμάτων υβριδίου ελληνικής καλλιέργειας με άλλα σπέρματα *C. cardunculus* σε ολικά φλαβονοειδή (Soumaya, et al.,2013; Halleh, et al.,2008) παρατηρήθηκε ότι έχουν πολύ παρόμοιο φορτίο σε φλαβονοειδή.

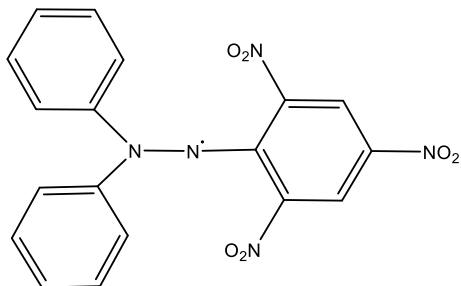
3.3.Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης

3.3.1.Εισαγωγή

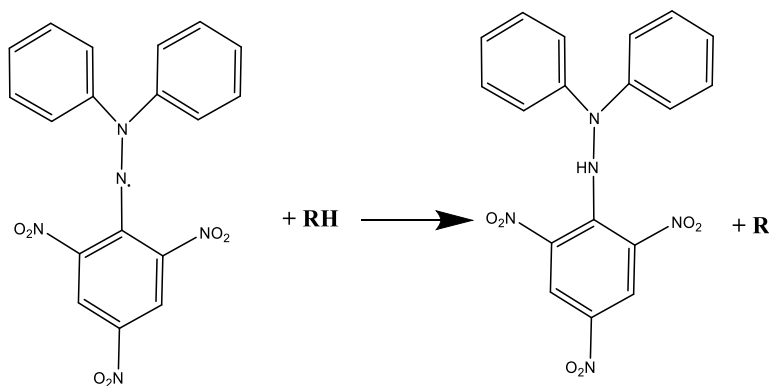
Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου είναι προϊόντα του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού. Με την υπερπαραγωγή όμως των μορίων αυτών, παρατηρείται οξειδωτικό στρές. Συγκεκριμένα, σε αυξημένες συγκεντρώσεις ελεύθερων ριζών σε συνδυασμό με μειώμενα επίπεδα ενζυματικών και μη-ενζυματικών αντιοξειδωτικών, παρατηρείται η βλαβερή επίδραση των ελευθέρων ριζών που οδηγεί σε βιολογικές βλάβες. Για τον λόγο αυτό είναι σημαντική η χρήση αντιοξειδωτικών και η άμεση αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρές. Η τελική ισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών καθορίζει την υγεία ενός οργανισμού. (Valko, etal, 2007).

3.3.2.Έλεγχος αντιοξειδωτικής δράσης με αναστολή της ελεύθερης ρίζας DPPH·

Η 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλυδραζυλική ρίζα (DPPH·) είναι μία σταθερή ελεύθερη ρίζα, η οποία παρουσιάζει ισχυρή ζώνη απορρόφησης στα 515 nm. Κατά την διάρκεια αναγωγής της ρίζας, παρουσία αντιοξειδωτικών ενώσεων, παρατηρείται μία χαρακτηριστική μείωση του μήκους κύματος της απορρόφησης του προϊόντος που σχηματίζεται. Όταν είναι υπό την μορφή ρίζας, το DPPH απορροφάει στα 515 nm, παρουσία όμως αντιοξειδωτικού ή άλλης ρίζας σχηματίζεται η πιο σταθερή 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλυδραζίνη και αυτή η απορρόφηση μειώνεται.



Εικόνα 77 : Χημική δομή DPPH·



Εικόνα 78: Αντίδραση αναγωγής της 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλυδραζυλικής ρίζας σε 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλυδραζίνη

Η μέθοδος αναπτύχθηκε από τον Blois το 1958 και είναι εφικτός ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ιδιότητας μίας ουσίας ή ενός μίγματος ουσιών μετρώντας την αλλαγή του χρώματος φασματοφωτομετρικά, καθώς η 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλυδραζίνη έχει ωχροκίτρινο χρώμα, ενώ το χρώμα της 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλυδραζυλικής ρίζας είναι ιώδες. Όσο μεγαλύτερη είναι η ικανότητα εξουδετέρωσης των ελεύθερων ριζών των αντιοξειδωτικών ενώσεων, τόσο μεγαλύτερος είναι ο αποχρωματισμός του διαλύματος. Τα αποτελέσματα εκφράζονται συνήθως ως το ποσοστό % αναστολής (ή δείκτης αναστολής) της ελεύθερης ρίζας DPPH·.

Η παραπάνω μέθοδος πρόκειται για μία απλή, φθηνή και ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο για τη μέτρηση της ικανότητας των ενώσεων να δρουν ως σαρωτές ελεύθερων ριζών ή για δότες υδρογόνου και για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των τροφίμων.

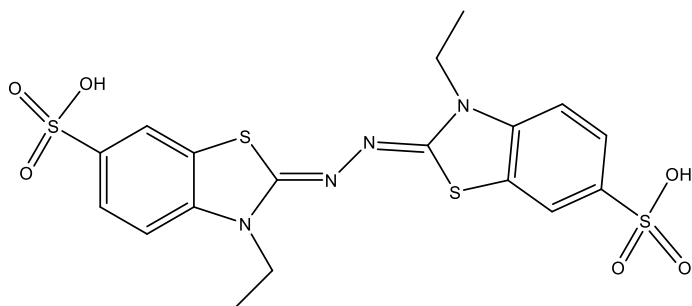
Τα πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι ότι η DPPH αφήνεται να αντιδράσει με όλο το δείγμα και ο επαρκής χρόνος που δίδεται στη μέθοδο επιτρέπει στην DPPH να αντιδρά βραδέως ακόμη και με τα πιο ασθενή αντιοξειδωτικά (Prakash, 2010). Αυτή η μέθοδος είναι εφικτό να χρησιμοποιηθεί σε υδατικούς και μη πολικούς οργανικούς διαλύτες και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξέταση τόσο των υδρόφιλων όσο και των λιπόφιλων αντιοξειδωτικών (Prior *et al.*, 2005; Kedare & Singh, 2011).

Πρωτόκολλο μεθόδου: Το διάλυμα του δείγματος (1mL) προστίθεται σε 4 MI μεθανολικού διαλύματος DPPH· 0.004%. Κατόπιν, το δείγμα αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου, σε σκοτεινό μέρος για 30 λεπτά, και στη συνέχεια η απορρόφηση του μετρείται στα 517nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox ανά γραμμάριο ξηρού εκχυλίσματος (TE/gextract) (Zengin *et al.*, 2015).

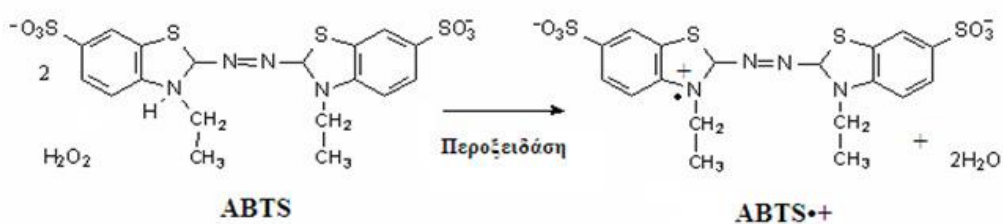
3.3.3. Έλεγχος αντιοξειδωτικής δράσης με αναστολή της ελεύθερης ρίζας ABTS^{•+}

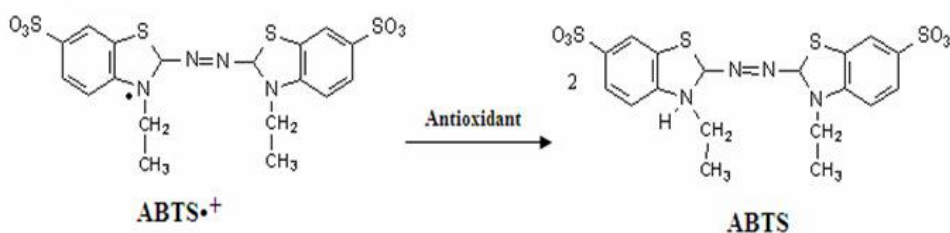
Η μέθοδος βασίζεται στην ικανότητα των αντιοξειδωτικών ουσιών να αντιδρούν με την ρίζα ABTS^{•+}, η οποία έχει χαρακτηριστικό μπλέ χρώμα και παρουσιάζει χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης με μέγιστα στα 414, 645, 734 και 815 nm, προκαλώντας αποχρωματισμό του διαλύματος αυτής. Ο βαθμός του αποχρωματισμού, που αποτελεί ποσοστό της αναστολής της ρίζας ABTS^{•+}, προσδιορίζεται ως μία συνάρτηση της συγκέντρωσης της αντιοξειδωτικής ουσίας και του χρόνου της επώασης. Η ρίζα ABTS^{•+} παράγεται με οξείδωση του αντιδραστήριου 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphoricacid) (ABTS) από το υπερθειικό κάλιο (K₂S₂O₈).

Το ριζικό κατιόν ABTS εμφανίζει δραστικότητα έναντι ποικιλίας αντιοξειδωτικών συμπεριλαμβανομένων των φαινολών και της βιταμίνης C (Roberta *et al.*, 1999). Κατά τη διάρκεια αυτής της αντίδρασης, το κυανό ριζικό κατιόν ABTS μετατρέπεται πάλι στην άχρωμη ουδέτερη μορφή του. Η αντίδραση μπορεί να παρακολουθηθεί φασματοφωτομετρικά. Ο προσδιορισμός αναφέρεται συχνά ως δοκιμασία ισοδύναμης αντιοξειδωτικής ικανότητας Trolox (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity=TEAC). Η δραστικότητα των διάφορων αντιοξειδωτικών που ελέγχονται συγκρίνεται με αυτή του Trolox, που είναι προϊόν υδατοδιαλυτό και ανάλογο της βιταμίνης E (Walker and Everette, 2009).



Εικόνα 79: Δομή ABTS





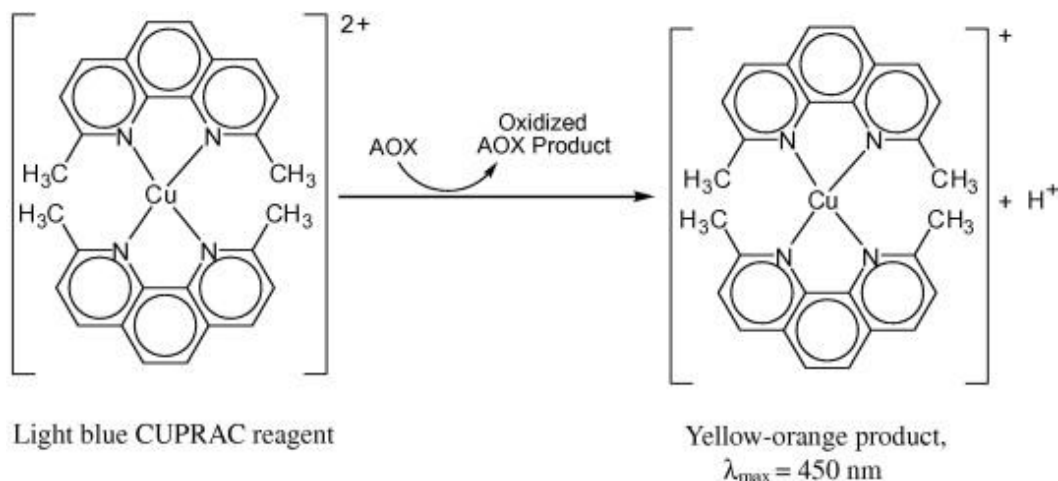
Με σκοπό την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων προσδιορίζεται η μεταβολή της απορρόφησης διαλύματος της ρίζας, συνήθως στα 734 nm, ενώ οι υπολογισμοί γίνονται σε σχέση με τη δραστηριότητα του Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) ως πρότυπη ουσία αναφοράς, στις ίδιες συνθήκες.

Πρωτόκολλο μεθόδου: Το ριζικό κατιόν ABTS είναι διαλυτό τόσο σε υδατικούς όσο και σε οργανικούς διαλύτες, συνεπώς επιτρέπει τον προσδιορισμό υδρόφιλων αλλά και λιπόφιλων αντιοξειδωτικών παραγόντων. Το κατιόν ABTS (ABTS⁺) παρασκευάζεται με απευθείας αντίδραση διαλύματος ABTS 7mM με υπερθειικό κάλιο 2.45mM. Το μείγμα αφήνεται στο σκοτάδι, σε θερμοκρασία δωματίου για 12-16 λεπτά. Το διάλυμα ABTS αραιώνεται με μεθανόλη μέχρι να δώσει απορρόφηση 0.700 ± 0.02 στα 734nm. Το διάλυμα του εξεταζόμενου δείγματος (1mL) προστίθεται και αναμιγνύεται με το διάλυμα ABTS (2mL). Κατόπιν, το μίγμα αφήνεται για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια φωτομετρείται στα 734nm. Το Trolox χρησιμοποιείται σαν θετικό control και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμο Trolox ανά γραμμάριο ξηρού εκχυλίσματος (TE/gextract) (Marini *et.al.*, 2018).

3.3.4. Έλεγχος της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο CUPRAC

Αυτή η μέθοδος υπολογισμού της αντιοξειδωτικής δράσης, βασίζεται στη μέτρηση της απορρόφησης του συμπλόκου Cu(I)-νεοκουπροΐνη στα 450 nm. Το σύμπλοκο αυτό σχηματίζεται ως αποτέλεσμα της αναγωγής του Cu(II) σε Cu(I) παρουσία των αναγωγικών ουσιών (αντιοξειδωτικά) στο δείγμα. Ο χρόνος που απαιτείται μέχρι το πέρας της αναγωγής αυτής κυμαίνεται από 10-30min. Η μέθοδος CUPRAC περιλαμβάνει την ανάμιξη διαλύματος ιόντων Cu(II) με διάλυμα νεοκουπροΐνης (Nc) και διάλυμα οξικού αμμωνίου για το σχηματισμό του συμπλόκου $[\text{Cu}(\text{Nc})_2]^2$. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε pH=7, γι' αυτό γίνεται χρήση του ρυθμιστικού διαλύματος οξικού αμμωνίου. Η προσθήκη αναγωγικών ουσιών προκαλεί μέσα από μεταφορά ηλεκτρονίου από το αναγωγικό σύμπλοκο, την αναγωγή των ιόντων χαλκού και το σχηματισμό του συμπλόκου $[\text{Cu}(\text{Nc})_2]^1$, που έχει πορτοκαλοκίτρινο χρώμα και εμφανίζει απορρόφηση στα 450 nm. Είναι προφανές ότι όσο μεγαλύτερη είναι η αντιοξειδωτική δράση του

εξεταζόμενου δείγματος, τόσο πιο έντονο πορτοκαλί χρώμα εμφανίζεται, μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης



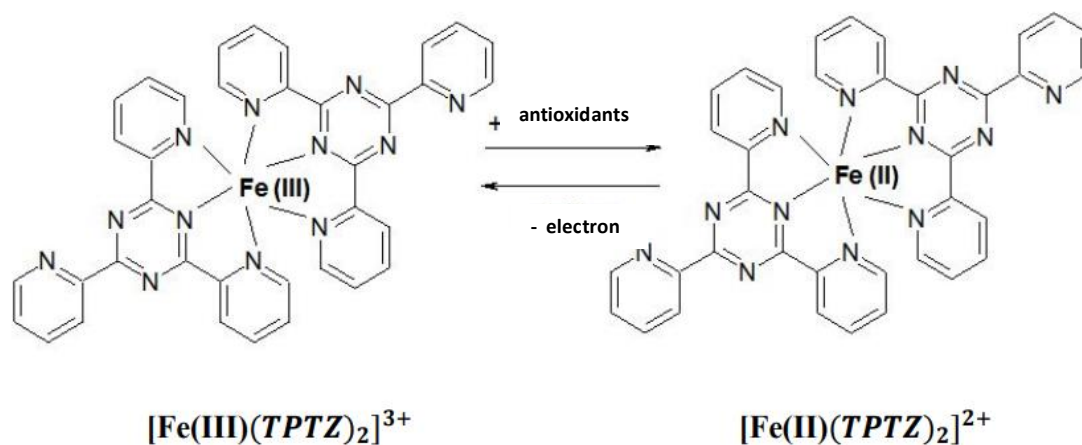
Εικόνα 80: Η αντίδραση της μεθόδου CUPRAC

Πρωτόκολλο μεθόδου: Κατά τη μέθοδο CUPRAC, το αντιδραστήριο Cu(II)-νεοκουπροΐνης (2,9-διμεθυλο-1,10-φαινανθρολίνη) μπορεί να οξειδώσει αντιοξειδωτικούς παράγοντες που είναι διαλυτοί τόσο σε έλαιο όσο και σε νερό, επιτρέποντας τον ταυτόχρονο προσδιορισμό υδρόφιλων και λιπόφιλων παραγόντων. Το διάλυμα του δείγματος (0.5mL) προστίθεται σε προπαρασκευασμένο μίγμα που περιέχει CuCl_2 (1mL, 10mM), νεοκουπροΐνη (1mL, 7.5mM) και NH_4Ac buffer (1mL, 1M, pH 7.0). Ομοίως παρασκευάζεται το τυφλό δείγμα, όπου 0.5 mL του εξεταζόμενου δείγματος προστίθενται στο προπαρασκευασμένο μίγμα (3mL), το οποίο όμως δεν περιέχει CuCl_2 . Τα διαλύματα αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά και στη συνέχεια φωτομετρούνται στα 450nm. Το Trolox χρησιμοποιείται σαν θετικό control και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox ανά γραμμάριο ξηρού εκχυλίσματος (TE/g extract) (Marini *et.al.*, 2018).

3.3.5. Έλεγχος της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο FRAP

Η μέθοδος FRAP (Ferric reducing antioxidant power) βασίζεται στην αναγωγή του Fe(III) σε Fe(II) σε χαμηλές τιμές pH και παρουσία των αντιοξειδωτικών του εξεταζόμενου δείγματος. Η αναγωγή αυτή οδηγεί σε σχηματισμό του Fe(III)-TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) και στη μετατροπή του στο Fe(II)-TPTZ. Το σύμπλοκο Fe(II)-TPTZ που σχηματίζεται εμφανίζει έντονο

μπλε χρώμα και μέγιστη απορρόφηση στα 593nm. Είναι προφανές ότι όσο μεγαλύτερη είναι η αντιοξειδωτική δράση του δείγματος, τόσο πιο έντονο μπλε χρώμα εμφανίζει μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης. Τα κυριότερα πλεονεκτήματα που εμφανίζει αυτή η μέθοδος αξιολόγησης της αντιοξειδωτικής δράσης είναι ότι: είναι οικονομική, απαιτεί τη χρήση αντιδραστηρίων που παρασκευάζονται εύκολα και παρέχει ταχέως αξιόπιστα και επαναλήψιμα αποτελέσματα (Benzie and Strain, 1996).



Εικόνα 81: Η αντίδραση της μεθόδου FRAP

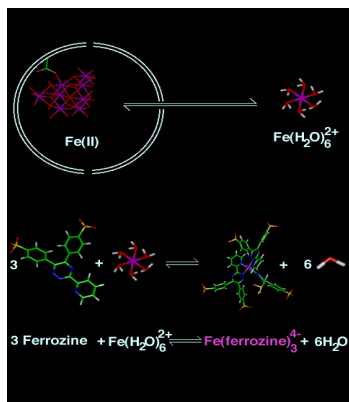
Πρωτόκολλο μεθόδου: Το εξεταζόμενο δείγμα (0.1mL) προστίθεται σε έτοιμο αντιδραστήριο FRAP (2mL), το οποίο περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα οξικού (0.3M, pH 3.6), 2,4,6tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) (10mM) σε 40mM HCl και χλωριούχο σίδηρο (20mM) σε αναλογία 10:1:1 (v/v/v). Κατόπιν, το δείγμα αφήνεται για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια φωτομετρείται στα 593 nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox ανά γραμμάριο ξηρού εκχυλίσματος (TE/g extract) (Zengin et.al, 2015 b).

3.3.6. Έλεγχος της αντιοξειδωτικής δράσης με προσδιορισμό του βαθμού χηλικοποίησης μεταλλικών ιόντων (Metal chelating activity)

Ο σίδηρος είναι ένα χημικό στοιχείο που έχει την ικανότητα να δρά ως καταλύτης στην υπεροξειδωση των λιπιδίων, τα οποία είναι βασικά δομικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών των ζώντων οργανισμών (Schafer *et al.*, 2000). Πιο συγκεκριμένα, ο Fe^{2+} αντιδρά με το υπεροξείδιο του υδρογόνου, παράγοντας ιδιαίτερα δραστικές ρίζες υδροξυλίου ($OH\cdot$) (αντίδραση Fenton) (Zengin *et al.*, 2015a). Συνεπώς, η κύρια στρατηγική για την αποφυγή σχηματισμού δραστικών ελευθέρων ριζών από την οξειδοαναγωγή μεταλλικών ιόντων βασίζεται στην χηλικοποίηση των τελευταίων.

Η φερροζίνη είναι ένας χηλικός παράγοντας που μπορεί ποσοτικά να σχηματίσει ερυθροϊώδες σύμπλοκα με τον Fe^{2+} . Ωστόσο, παρουσία άλλων χηλικών παραγόντων, ο σχηματισμός του συμπλόκου φερροζίνη- Fe^{2+} ελαττώνεται, με αποτέλεσμα το ερυθροϊώδες χρώμα να εξασθενεί. Στην τεχνική αυτή επομένως, αξιολογείται έμμεσα η αντιοξειδωτική δράση του εξεταζόμενου δείγματος, δηλαδή η ικανότητά του να συμπλοκοποιεί τον Fe^{2+} , αποτρέποντας τον σχηματισμό δραστικών ελευθέρων ριζών (Alam *et al.*, 2013). Η φερροζίνη σχηματίζει σύμπλοκο με τον **ελεύθερο** Fe^{2+} , αλλά όχι με τον σίδηρο που έχει ήδη συμπλοκοποιηθεί από τον χηλικό παράγοντα του εξεταζόμενου δείγματος. Το ερυθροϊώδες σύμπλοκο φερροζίνης- Fe^{2+} μπορεί να προσδιοριστεί φασματοφωτομετρικά στα 562 nm (Zengin *et al.*, 2015a).

Πρωτόκολλο τεχνικής: Το διάλυμα του εξεταζόμενου δείγματος (2 mL) προστίθεται σε διάλυμα $FeCl_2$ (0.05 mL, 2 mM). Η αντίδραση ξεκινάει με την προσθήκη φερροζίνης 5 mM (0.2 mL). Ομοίως, παρασκευάζεται το τυφλό, με την προσθήκη του εξεταζόμενου δείγματος (2 mL) σε διάλυμα $FeCl_2$ (0.05 mL, 2 mM) και νερό (0.2 mL), χωρίς φερροζίνη. Κατόπιν, τυφλό και άγνωστο δείγμα αφήνονται για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια φωτομετρούνται στα 562 nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα EDTA (Zengin *et al.*, 2015a).



Εικόνα 82: Η φερροζίνη σχηματίζει σύμπλοκο με τον Fe^{2+}

3.3.7. Έλεγχος της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του φωσφομολυβδαινίου

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη αναγωγή του Mo (VI) σε Mo (V) από τους αναγωγικούς (αντιοξειδωτικούς) παράγοντες του δείγματος που μελετάται και στο σύγχρονο σχηματισμό σε όξινο pH ενός πράσινου συμπλόκου του Mo (V) με τα φωσφορικά. Το σύμπλοκο εμφανίζει μέγιστη απορρόφηση στα 695 nm (Alam *et al.*, 2013).

Πρωτόκολλο μεθόδου: Το διάλυμα του δείγματος (0.3mL) αναμιγνύεται με 3mL διαλύματος αντιδραστήριου που περιέχει 0.6M θειικό οξύ, 28mM φωσφορικό νάτριο και 4Mm μολυβδαινικό αμμώνιο. Το μίγμα επωάζεται για 90 λεπτά στους 95°C και στη συνέχεια μετρείται η απορρόφηση του στα 695 nm. Το αντιδραστήριο Trolox χρησιμοποιείται σαν πρότυπο θετικού ελέγχου και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox (mmolTE/g ξηρού εκχυλίσματος) (Marini *et al.*, 2018).

3.3.8. Αποτελέσματα αντιοξειδωτικών δράσεων

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα όλων των αντιοξειδωτικών ελέγχων που διενεργήθηκαν σε συνεργασία με τον Καθ. Zengin.

Πίνακας 24: Αποτελέσματα αντιοξειδωτικών δράσεων για το κυκλοεξανικό, μεθανολικό και υδατικό εκχύλισμα					
Δείγμα	DPPH (mgTE/g)	ABTS (mgTE/g)	CUPRAC (mgTE/g)	FRAP (mgTE/g)	Metal chelating (mgEDTAE/g)
Κυκλοεξανικό εκχύλισμα	0.31±0.07	na	33.06±4.21	10.38±0.23	10.46±0.15
Μεθανολικό εκχύλισμα	97.78±0.25	186.58±0.56	516.81±9.55	261.07±4.13	5.80±0.66
Υδατικό εκχύλισμα	89.77±2.28	44.42±3.93	44.42±3.93	149.66±7.46	14.79±0.04

*Οι τιμές είναι ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση ($\pm S.D$) τριών πειραμάτων. GAE: Ισοδύναμα γαλλικού οξέος TE; ισοδύναμα Trolox; EDTAE: ισοδύναμα EDTA

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτά , το **μεθανολικό εκχύλισμα** των σπερμάτων παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές σε όλες τις μεθόδους ελέγχου, με μόνη εξαίρεση την μέθοδο προσδιορισμού του βαθμού σχηματισμού συμπλόκων μεταλλικών ιόντων. Αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το **μεθανολικό εκχύλισμα** παρουσιάζει **συνολικά καλύτερη αντιοξειδωτική δράση** σε σχέση με το υδατικό και το κυκλοεξανικό.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Soumaya, *et al.*, 2013; Halleh, *et al.*, 2008) το μεθανολικό εκχύλισμα σπέρματος *C. cardunculus* Τυνησίας έχει εξεταστεί ως προς την αναστολή της ελεύθερης ρίζας DPPH. Σύμφωνα με τους Petropoulos, *et al.*, 2018 έχει πραγματοποιηθεί έλεγχος αναστολής ελεύθερης ρίζας DPPH και των σπερμάτων που αναλύθηκαν στη παρούσα φυτοχημική μελέτη και στα αποτελέσματα τους παρατηρείται αυξημένη αναστολή. Τα αποτελέσματα των μελέτων που πραγματοποιήθηκαν δόθηκαν σε τιμές IC₅₀, για αυτό και όσο μικρότερη η τιμή τόσο ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση είχαν τα σπέρματα. Τα σπέρματα που αναλύθηκαν είχαν μικρή τιμή IC₅₀ γεγονός που υποδεικνύει την ισχυρή αντιοξειδωτική τους δράση. Τα δικά μας αποτελέσματα δόθηκαν σε mg TE/g εκχυλίσματος, για αυτό και όσο μεγαλύτερη η τιμή τόσο πιο ισχυρή η αντιοξειδωτική δράση των σπερμάτων. Τα σπέρματα *C. cardunculus* που μελετήθηκαν είχαν αρκετά υψηλή τιμή άρα και ισχυρή αντιοξειδωτική δράση (97.78 mg TE/g εκχυλίσματος). Ο έλεγχος της αντιοξειδωτικής δράσης των σπερμάτων με τη χρήση μεθόδου σχηματισμού συμπλόκων μεταλλικών ιόντων, CUPRAC και ABTS πραγματοποιείται για πρώτη φορά.

3.4.Προσδιορισμός δράσης ενζυμικού αναστολέα

Η αναστολή ορισμένων ενζύμων όπως είναι η ακετυλοχολινεστεράση, η βουτυρυλοχολινεστεράση, η τυροσινάση, η αμυλάση και η γλυκοσιδάση είναι άμεσα συσχετιζόμενη με την θεραπεία παθολογικών καταστάσεων όπως το Alzheimer, η μυασθένεια, ο διαβήτης και η υπεργλυκαιμία. Σήμερα, λόγω των αυξημένων ανεπιθύμητων ενεργειών αλλά και τοξικότητας που εμφανίζουν οι χημικές δραστικές ουσίες παρατηρείται μία στροφή προς τη χρήση φυτικών δραστικών ουσιών. Για τον λόγο αυτό ήταν σημαντικό να μελετηθεί η δραστικότητα εκχυλισμάτων φυτικής προέλευσης ως αναστολείς αυτών των ενζύμων.

3.4.1.Έλεγχος αναστολής χολινεστερασών

Η AchE και η BchE είναι δύο χολινεστεράσες που εμφανίζονται στο ανθρώπινο σώμα. Υπάρχουν μεγάλες δομικές ομοιότητες μεταξύ των δύο ενζύμων, αλλά η βιολογική τους δράση είναι πολύ διαφορετική. Η AchE είναι υπεύθυνη για την υδρόλυση του νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη με τελικό αποτέλεσμα τον τερματισμό της νευροδιαβίβασης. Είναι δυνατή η μέτρηση των επιπέδων AchE στο σώμα και μπορεί να αποτελέσει βιοχημικό δείκτη ορισμένων παθολογικών καταστάσεων. Έρευνες έχουν δείξει ότι χαμηλά επίπεδα AchE μπορεί να υποδεικνύουν δηλητηρίαση με κάποιον νευροτοξικό αναστολέα. Μόρια τα οποία δρουν ως αναστολείς του συγκεκριμένου ενζύμου μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία παθολογικών καταστάσεων όπως είναι το Alzheimer και η μυασθένεια. Η BchE δεν έχει κάποιο συγκεκριμένο ενδογενές υπόστρωμα, για αυτό και είναι δύσκολο να προσδιοριστεί ο βιολογικός

της ρόλος. Κύρια δράση της είναι η αποικοδόμηση τοξικών ουσιών φυσικής προέλευσης αλλά και φαρμάκων. Έχει μεγαλύτερη διαγνωστική εφαρμογή από την AchE και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε τεστ ελέγχου λειτουργίας του ήπατος (Pohanka,2015)

Πρωτόκολλο μεθόδου: Η ανασταλτική δράση έναντι των χολινεστερασών (ChE) προσδιορίζεται χρησιμοποιώντας την μέθοδο Ellman. Αρχικά, διάλυμα δείγματος (50 μ L) αναμιγνύεται με διάλυμα DNTB (125 μ L) και διάλυμα AchE (ή BChE) σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (pH 8.0) σε μικροπλάκα πολυστυρενίου 96 φρεατίων και επώαζεται για 15 λεπτά στους 25°C. Η έναρξη της αντίδρασης πραγματοποιείται με προσθήκη διαλύματος ιωδιούχου ακετυλ-θειοχολίνης (ATCI) ή αντίστοιχα χλωριούχου βουτυρυλ-θειοχολίνης (BTCl) (25 μ L). Κατά τον ίδιο τρόπο, παρασκευάζεται τυφλό δείγμα με την προσθήκη διαλύματος δείγματος και ανάμιξη του με όλα τα αντιδραστήρια εξαιρώντας το διάλυμα του ενζύμου (AchE ή BChE). Οι απορροφήσεις μετρούνται στα 405 nm, αφού προηγηθεί επώαση τους για 10 λεπτά στους 25°C. Σε κάθε μέτρηση αφαιρείται η απορρόφηση του τυφλού δείγματος. Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιείται η γαλανθαμίνη, γι' αυτό και η ικανότητα αναστολής χολινεστερασών εκφράζεται σε ισοδύναμα γαλανθαμίνης (mgGALAE/g εκχυλίσματος) (Zengin 2016).

3.4.2. Έλεγχος αναστολής α -αμυλάσης και α -γλυκοσιδάσης

Η α -αμυλάση και α -γλυκοσιδάση είναι δύο ένζυμα που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη πέψη των υδατανθράκων στους ανθρώπους. Τα δύο αυτά ένζυμα καταλύουν την αντίδραση υδρόλυσης του γλυκοσιδικού δεσμού (α -1,4) σε σύνθετους πολυσακχαρίτες. Επιπλέον, η α -γλυκοσιδάση καταλύει το τελικό στάδιο υδρόλυσης των υδατανθράκων που έχει ως τελικό προϊόν την γλυκόζη. Μόρια που δρουν ως αναστολείς αυτών των ενζύμων είναι αποτελεσματικά στη καθυστέρηση της πέψης των υδατανθράκων και απορρόφηση γλυκόζης με τελικό αποτέλεσμα την καταστολή της μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας. Λόγω της δράσης τους αυτής τα μόρια αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο επιπέδων γλυκόζης σε διαβητικούς ασθενείς. (Tadera *et al.*, 2006)

Πρωτόκολλο τεχνικής για την α -αμυλάση: Η ανασταλτική δράση που έχουν τα δείγματα μας έναντι της α -αμυλάσης ελέγχεται με τη μέθοδο Cavanaugh/Somogyi ιωδίου/ιωδιούχου καλίου (I/IK) (Zengin, 2016). Αρχικά, διάλυμα δείγματος (25 μ L) αναμιγνύεται με διάλυμα α -αμυλάσης σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού (pH 6.9 με 6mM χλωριούχου καλίου) σε μικροπλάκα πολυστυρενίου 96-φρεατίων και επώαζεται για δέκα λεπτά στους 37°C. Στη συνέχεια, η αντίδραση ξεκινά με την προσθήκη διαλύματος υδροχλωρίου (HCl, 25 μ L, 1M). Ακολουθώντας την ίδια διαδικασία, παρασκευάζεται τυφλό δείγμα με την προσθήκη διαλύματος δείγματος και ανάμιξη του με όλα τα αντιδραστήρια, εξαιρώντας το διάλυμα α -αμυλάσης. Κατόπιν γίνεται διακοπή της αντίδρασης με την προσθήκη HCl (25 μ L, 1M). Έπειτα ακολουθεί

η προσθήκη διαλύματος ιωδίου/ιωδιούχου καλίου (100 μL) και οι απορροφήσεις των δειγμάτων μετρούνται στα 630 nm. Από κάθε μέτρηση αφαιρείται η απορρόφηση του τυφλού δείγματος. Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιείται η ακαρβόζη και η ικανότητα αναστολής της α -αμυλάσης εκφράζεται σε ισοδύναμα ακαρβόζης (mmolACAEs/g εκχυλίσματος).

Πρωτόκολλο τεχνικής για την α -γλυκοσιδάση: Η ικανότητα αναστολής της α -γλυκοσιδάσης ελέγχεται με χρήση του 4-νιτροφαινυλ- β -D-γλυκοκυρανοσίδης (PNPG) ως υποστρώματος (Zengin, 2016). Εν συντομία, διάλυμα δείγματος (50 μL), διάλυμα α -γλυκοσιδάσης σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού (pH 6.8) και διάλυμα PNPG (50 μL) αναμιγνύονται σε μικροπλάκα πολυστυρενίου και επωάζονται για 15 λεπτά στους 37°C. Ακολουθώντας την ίδια διαδικασία, παρασκευάζεται τυφλό δείγμα με την προσθήκη διαλύματος δείγματος και ανάμιξη του με όλα τα αντιδραστήρια, εξαιρώντας το διάλυμα α -γλυκοσιδάσης. Κατόπιν, η αντίδραση διακόπτεται με την προσθήκη διαλύματος ανθρακικού νατρίου (50 μL , 0.2M). Οι απορροφήσεις μετρούνται στα 400 nm και από κάθε μέτρηση αφαιρείται η απορρόφηση του τυφλού δείγματος. Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιείται η ακαρβόζη και η ανασταλτική δράση έναντι της α -γλυκοσιδάσης εκφράζεται ως ισοδύναμα ακαρβόζης (mmolACAEs/g εκχυλίσματος).

3.4.3. Έλεγχος αναστολής τυροσινάσης

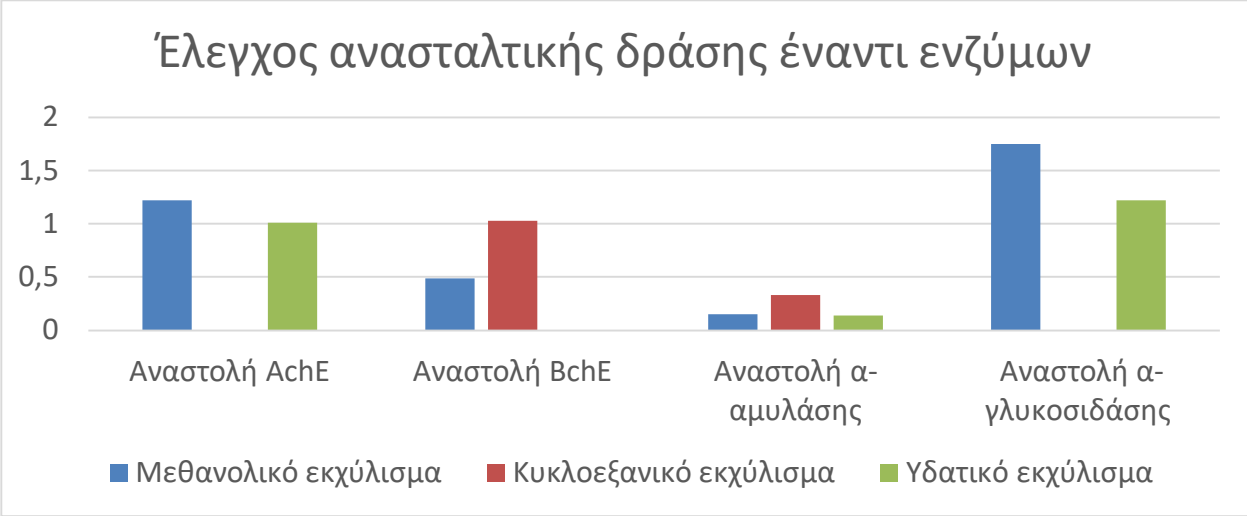
Η τυροσινάση είναι ένα διλειτουργικό σύμπλοκο πρωτεϊνών χαλκού και είναι υπεύθυνη για την οξείδωση φαινολών, του αμινοξέος τυροσίνη και του νευροδιαβιβαστή ντοπαμίνη. Το ένζυμο αυτό καταλύει δύο αντιδράσεις, την υδροξυλίωση μονοφαινολών σε ο-διφαινόλες και την οξείδωση ο-διφαινολών σε ο-κινόνες. Στα ζώα και στον άνθρωπο, η τυροσινάση είναι υπεύθυνη για τη σύνθεση της μελανίνης, χρωστικής του δέρματος που βοηθά στην προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία του ήλιου. Δυσλειτουργίες της τυροσινάσης είτε λόγω εγγενών γενετικών παραγόντων είτε λόγω εξωγενών παραγόντων (π.χ χημικές ουσίες όπως πολυφαινόλες), σχετίζονται κυρίως με δερματικές παθήσεις. Ο αλβινισμός είναι η πλέον γνωστή γενετική πάθηση που σχετίζεται με μειωμένη παραγωγή ή και πλήρη απουσία μελανίνης στο δέρμα, τα μαλλιά και στην ίριδα των ματιών και προκαλείται από μετάλλαξη στο γονίδιο του DNA που κωδικοποιεί τη σύνθεση της τυροσινάσης (Cabanés *et al.*, 1994).

Πρωτόκολλο μεθόδου: Η ικανότητα αναστολής της τυροσινάσης υπολογίζεται με χρήση της μεθόδου dopachrome με την L-ντοπαμίνη (L-DOPA) ως υποστρώματος (Zengin, 2016). Εν συντομία, διάλυμα δείγματος (25 μL) αναμιγνύεται με διάλυμα τυροσινάσης (40 μL) και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού (100 μL , pH 6.8) σε μικροπλάκα πολυστυρενίου 96-φρεατίων και επωάζεται για 15 λεπτά στους 25°C. Η έναρξη της αντίδρασης πραγματοποιείται με προσθήκη διαλύματος L-DOPA (40 μL). Ομοίως, προετοιμάζεται τυφλό δείγμα με την

προσθήκη διαλύματος δείγματος και ανάμιξη του με όλα τα αντιδραστήρια εξαιρώντας το διάλυμα τυροσινάσης. Οι απορροφήσεις μετρούνται στα 492 nm αφού προηγηθεί επώαση τους για 10 λεπτά στους 25°C. Από κάθε μέτρηση αφαιρείται η απορρόφηση του τυφλού δείγματος. Ως δείκτη για τον βαθμό της αναστολής χρησιμοποιείται το kojic acid και η ικανότητα αναστολής του δείγματος εκφράζεται σε ισοδύναμα kojic acid (mgKAEs/g εκχυλίσματος).

Πίνακας 25: Αποτελέσματα ελέγχων ανασταλτικής δράσης έναντι ενζύμων			
Ελέγχοι αναστολής ενζύμων	Μεθανολικό	Υδατικό	Κυκλοεξανικό
AchE (mgGALAE/g extract)	1.22±0.02	1.01±0.02	na
BChE (mgGALAE/g extract)	0.49±0.06	Na	1.03±0.01
Amylase (mmolACAE/g extract)	0.15±0.01	0.14±0.01	0.33±0.02
Glucosidase (mmolACAE/g extract)	1.75±0.22	1.22±0.01	na
Tyrosinase (mgKAE/g extract)	20.45±0.17	16.95±0.32	27.16±3.87

Ο έλεγχος ανασταλτικής δράσης έναντι ενζύμων πραγματοποιείται για πρώτη φορά στα σπέρματα του συγκεκριμένου υβριδίου *C. cardunculus*. Σύμφωνα με τα αποτελεσματά μας το κυκλοεξανικό εκχύλισμα εμφάνισε καλύτερη δράση όσον αφορά την αναστολή της τυροσινάσης, BChE και αμυλάσης, ενώ το μεθανολικό εκχύλισμα εμφάνισε πιο αποτελεσματική αναστολή έναντι της AchE και γλυκοσιδάσης. Το υδατικό εκχύλισμα εμφάνισε τη χαμηλότερη δράση από όλα τα εκχυλίσματα.



4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στη παρούσα εργασία μελετήθηκαν φυτοχημικά τα σπέρματα υβριδίου ελληνικής καλλιέργειας *Cynara cardunculus* με τη χρήση σύγχρονων αναλυτικών μεθόδων (GC-MS, LC-MS) και χρωματογραφικούς διαχωρισμούς (χρωματογραφίες στήλης ανοικτού τύπου, VLC και prep-TLC). . Επίσης, μελετήθηκε και η βιολογική δράση όλων των εκχυλισμάτων (μεθανολικό, υδατικό, διχλωρομεθανικό και κυκλοεξανικό) με χημικές και ενζυμικές διεργασίες.

Πραγματοποιήθηκε απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών από τα σπέρματα του συγκεκριμένου υβριδίου **για πρώτη φορά, αφού** προηγουμένως είχε πραγματοποιηθεί μια φορά ανάλυση των συστατικών του με τη μέθοδο LC-MS. Τα λιπαρά συστατικά που ανιχνεύθηκαν ταυτίζονται με τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα (Petrooulos, *et al.*, 2018).

Στο κυκλοεξανικό ελαιώδες εκχύλισμα των σπερμάτων τα τέσσερα (4) κυριότερα λιπαρά οξέα που ταυτοποιήθηκαν ήταν τα: λινελαϊκό οξύ, ελαϊκό οξύ, παλμιτικό οξύ και στεατικό οξύ. Το λινελαϊκό οξύ εμφανίζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό (50.56%) σε συμφωνία με την βιβλιογραφία, ακολουθούμενο από τα : ελαϊκό οξύ (23.04%), παλμιτικό οξύ (15.29%) και στεατικό οξύ (5.23%).

Απομονώθηκαν για πρώτη φορά δέκα (10) δευτερογενείς μεταβολίτες, 6 Λιγνάκια, 1 φαινολοξύ και 3 λιπαρά. Το λιγνάκιο αιθύλιο της τραχηλογενίνης (**ethylate of trachelogenin**) αποτελεί **νέο φυσικό προϊόν** αφού απομονώνεται για πρώτη φορά από φυτικό υλικό, προηγούμενα είχε περιγραφεί μόνο ως προϊόν χημικής σύνθεσης .

Συνολικά απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν φασματοπικά τα παρακάτω μόρια:

Λιγνάκια (5):

- Αρκτηγενίνη
- Αιθύλιο τραχηλογενίνης
- Τραχηλογενίνη
- Τραχηλοσίδης
- Αρκτίνη

Διλιγνάκιο(1):

- Κουναρινίνη

Λιπαρά οξέα και τριγλυκερίδια (3):

- Λινελαϊκό οξύ
- Τριγλυκερίδιο λινελαϊκού οξέος
- Μίγμα τριγλυκεριδίων

Φαινολοξύ Καφεοϋλκινικό οξύ(1):

- 3,5-δικαφεούλ-κινικό οξύ

Σημαντική ήταν επίσης η αξιολόγηση της βιολογικής δράσης των μελετηθέντων εκχυλισμάτων των σπερμάτων. Η αντιοξειδωτική τους δράση έναντι της ελεύθερης ρίζας DPPH και σύμφωνα με την μέθοδο FRAP και η αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε φλαβονοειδή πραγματοποιείται για δεύτερη φορά όσον αφορά το συγκεκριμένο υβρίδιο.

Το **μεθανολικό εκχύλισμα** των σπερμάτων παρουσίασε **συνολικά υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση** συγκρινόμενο με το υδατικό και κυκλοεξανικό εκχύλισμα, με τις υψηλότερες τιμές σε όλες τις μεθόδους ελέγχου, με μόνη εξαίρεση την μέθοδο προσδιορισμού του βαθμού σχηματισμού συμπλόκων μεταλλικών ιόντων. Το αποτέλεσμα αυτό είναι σύμφωνο και με την βιβλιογραφία (Petrooulos, *et al.*, 2018)

Όσον αφορά τους ελέγχους ανασταλτικής δράσης έναντι ενζύμων (AChE, BChE, Amylase, Glucosidase και Tyrosinase) πραγματοποιούνται **για πρώτη φορά**. Το κυκλοεξανικό εκχύλισμα εμφάνισε σημαντική δράση έναντι της αμυλάσης, τυροσινάσης και BChE, ενώ το μεθανολικό εκχύλισμα εμφάνισε την υψηλότερη ανασταλτική δράση έναντι της α-γλυκοσιδάσης και AChE, σε αντίθεση με το υδατικό εκχύλισμα που εμφάνισε την χαμηλότερη ανασταλτική δράση σε όλα τα πειράματα. Η ανασταλτική δράση των εκχυλισμάτων έναντι της α-αμυλάσης και α-γλυκοσιδάσης είναι πολύ σημαντική γιατί συνεπάγεται θετική επίδραση τους στη μείωση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα. Παράλληλα, η δράση τους έναντι των ενζύμων AChE και BChE συνδέεται άμεσα με την νευροδιαβίβαση και πιθανή χρήση τους σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως Alzheimer και Parkinson, όπου βασικός τρόπος αντιμετώπισης των συμπτωμάτων είναι η χορήγηση μορίων που αναστέλλουν τη δράση των χολινεστερασών. Η αναστολή της τυροσινάσης έχει συνδεθεί, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία με την εμφάνιση λευκαντικής δράσης στο δέρμα.

Το υδατικό εκχύλισμα ήταν πλούσιο σε σάκχαρα και σε μεγάλο ποσοστό περιείχε τα ίδια συστατικά με το μεθανολικό εκχύλισμα. Το κυκλοεξανικό εκχύλισμα ήταν κατά κύριο λόγο πλούσιο σε ωφέλιμα λιπαρά και το μεθανολικό και διχλωρομεθανικό εκχύλισμα περιείχαν τα βιοδραστικά λιγνάνια.

Η μελέτη αυτή ήταν σημαντική γιατί μας δίνεται η ευκαιρία να αξιοποιηθεί δυνητικά μία φυσική πρώτη ύλη παράγεται μέσω καλλιέργειας αποκλειστικά στην Ελλάδα, είναι πλούσιο σε βιοδραστικά μόρια αλλά και θρεπτικά συστατικά και μέχρι σήμερα δεν είχε τύχει επιστημονικής ή/και εμπορικής αξιολόγησης αφού κατά βάση αποτελούσε παραπροϊόν της καλλιέργειας *Cynara cardunculus* ως βιοκαυσίμου. Τα μελετηθέντα σπέρματα πληρούν όλες τις προϋποθέσεις για περαιτέρω χρήση τους ως πρώτης ύλης στη κοσμετολογία ή και σε συμπληρώματα διατροφής λόγω της υψηλής διαθρεπτικής τους αξίας αλλά και της πολλά υποσχόμενης βιοδραστικότητάς τους.

5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adzet T., Camarasa J., Laguna J. C., “Hepatoprotective activity of phenolic compounds from *Cynara scolymus* against CCl₄ toxicity on isolated rat hepatocytes”, *J Nat Products*, **1987**, 50 (4).612-617
- Akihisa, T., Yasukawa, K., Oinuma, H., Kasahara, Y., Yamanouchi, S., Takido, M., ... & Tamura, T. Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects. *Phytochem*, **1996**, 43(6), 1255-1260.
- Alam, M. N., Bristi, N. J. & Rafiquzzaman, M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm J*, **2013**, 21, 143-152.
- Angelini L. G., Ceccarinia L., Nasso N., Bonari E.,” Long-term evaluation of biomass production and quality of two cardoon (*Cynara cardunculus* L.) cultivars for energy use”, *Biomass bioener* **2009**, 33, 810-816
- Archontoulis S. V., Struik P. C., Vos J., Danalatos N. G., “Phenological growth stages of *Cynara cardunculus*: codification and description according to the BBCH scale”, *Annals Appl Biol* ISSN 0003-4746, **2009**
- Asghari, B., Zengin, G., Bahadori, M. B., Abbas-Mohammadi, M., & Dinparast, L. Amylase, glucosidase, tyrosinase, and cholinesterases inhibitory, antioxidant effects, and GC-MS analysis of wild mint (*Mentha longifolia* var. *calliantha*) essential oil: A natural remedy. *Eur J Integr Med*, **2018**, 22, 44-49.
- Atherinos, A. E., El-Kholy, I. E. S., & Soliman, G. 324. Chemical investigation of *Cynara scolymus*, L. Part I. The steroids of the receptacles and leaves. *J Chem Soc (Resumed)*, **1962**, 1700-1704.
- Barbetti, P., Chiappini, I., Fardella, G., & Grandolini, G. Grosulfheimin and new related guaianolides from *Cynara scolymus* L. *Nat Prod Lett*, **1993**, 3(1), 21-30.
- Barison, A., Pereira da Silva, C. W., Campos, F. R., Simonelli, F., Lenz, C. A., & Ferreira, A. G. A simple methodology for the determination of fatty acid composition in edible oils through ¹H NMR spectroscopy. *Magn Reson Chem*, **2010**, 48(8), 642-650.
- Baskar, A. A., Ignacimuthu, S., Paulraj, G. M., & Al Numair, K. S. Chemopreventive potential of β-sitosterol in experimental colon cancer model-an in vitro and in vivo study. *BMC complement altern med*, **2010**, 10(1), 24.
- Bayer, R. J. and J. R. Starr. “Tribal phylogeny of the Asteraceae based on two noncoding chloro plast sequences, the trnL intron and the trnL-F intergenic spacer”. *Ann. Missouri Bot. Gard.* **1998**.85: 242-256.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal biochem*, **1996**, 239(1), 70-76.
- Berk, S., Tepe, B., Arslan, S., Sarikurkcü, C. Screening of the antioxidant, antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of *Asplenium ceterach* DC. *Afr. J. Biotechnol.* **2011**, 10, 8902–8908.

- Bernhard, H. O., Thiele, K., & Pretsch, E. Cynatriol, ein neues Guajanolid aus der Kardone *Cynara cardunculus* L. und der Artischocke *C. scolymus* L.(Compositae). *Helv Chim Acta*, **1979**, 62(4), 1288-1297.
- Bremer K., “Asteraceae: Cladistics and Classification” Timber Press, **1994**.
- Bundy R, Walker AF, Middleton RW, Marakis G, Booth JC. “Artichoke leaf extract reduces symptoms of irritable bowel syndrome and improves quality of life in otherwise healthy volunteers suffering from concomitant dyspepsia: a subset analysis”. *J Altern Complement Med* **2004**; 10(4):667-669
- Cabanes, J., Chazarra, S., & Garcia-Carmona, F. Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. *J Phar Pharmacol*, **1994**, 46(12), 982-985.
- Chan, P., & Tomlinson, B. Antioxidant effects of Chinese traditional medicine: focus on trilinolein isolated from the Chinese herb sanchi (*Panax pseudoginseng*). *J Clin Pharmacol*, **2000**, 40(5), 457-461.
- Chan, P., Thomas, G. N., & Tomlinson, B. Protective effects of trilinolein extracted from *Panax notoginseng* against cardiovascular disease. *Acta Pharmacologica Sinica*, **2002**, 23(12), 1157-1162.
- Chaturvedula, V. S. P., & Prakash, I. Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*. *Int Curr Pharm J*, **2012**, 1(9), 239-242.
- Chinou, I., & Harvala, C., Polyphenolic constituents from the leaves of two *Cynara* species growing in Greece. *Planta med*, **1997**, 63(05), 469-470.
- Chinou, J., Harvala, C., & Philianos, S. Polyphenolic substances of *Cynara scolymus* L. leaves. In *Annales pharmaceutiques francaises* ,**1989**, (Vol. 47, No. 2, pp. 95-98).
- Christianson D.W., “Structural Biology and Chemistry of the Terpenoid Cyclases”, *Chem Rev*, **2006**, : 106, 3412–3442
- Coinu, R., Carta, S., Urgghe, P. P., Mulinacci, N., Pinelli, P., Franconi, F., & Romani, A. Dose-effect study on the antioxidant properties of leaves and outer bracts of extracts obtained from Violetto di Toscana artichoke. *Food Chem*, **2007**, 101(2), 524-531.
- Cravotto, G., Nano, G. M., Binello, A., Spagliardi, P., & Seu, G. Chemical and biological modification of cynaropicrin and grosheimin: a structure–bitterness relationship study. *J Science of Food Agricult*, **2005**, 85(10), 1757-1764.
- Curt M.D., Sanchez G., Fernandez J.,”The potential of *Cynara cardunculus* L. for seed oil production in a perennial cultivation system”, *Biomass Bioener* 23 **2002**, 33 – 46
- Danalatos, N. G., Skoufogianni, E., Giannoulis, K. G., & Archontoulis, S. V. “Responses of *Cynara cardunculus* to irrigation and N-fertilization in central Greece”. *Emergence*, **2006**.
- D'Antuono, I., Garbetta, A., Linsalata, V., Minervini, F., & Cardinali, A. Polyphenols from artichoke heads (*Cynara cardunculus* (L.) subsp. *scolymus* Hayek): *In vivo* *In vitro* bio-accessibility, intestinal uptake and bioavailability. *Food & funct*, **2015**, 6(4), 1268-1277.

- El Senousy, A. S., Farag, M. A., Al-Mahdy, D. A., & Wessjohann, L. A. Developmental changes in leaf phenolics composition from three artichoke cvs. (*Cynara scolymus*) as determined via UHPLC–MS and chemometrics. *Phytochem*, **2014**, *108*, 67-76.
- ELdahmy, S., & El-Derwish, S. (2014). Phytochemical Study of *Cynara cadunculus* L. Growing in Libya. *Biomed & Pharmacol J*, **2014**, *7*(1), 117-119.
- El-Negoumy, S. I., El-Sayed, N. H., & Saleh, N. A. M. Flavonoid glycosides of *Cynara scolymus*. *Fitoterapia*, **1987**, *58*(3), 178-180.
- Elsebai, M. F., Abass, K., Hakkola, J., Atawia, A. R., & Farag, M. A. The wild Egyptian artichoke as a promising functional food for the treatment of hepatitis C virus as revealed via UPLC-MS and clinical trials. *Food & function*, **2016**, *7*(7), 3006-3016.
- EMA/HMPC/194014/2017 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) European Union herbal monograph on *Cynara cardunculus* L. (syn. *Cynara scolymus* L.), folium
- Falco B., Incerti G., Amato M., Lanzotti V., “Artichoke: Botanical, agronomical, phytochemical and pharmacological overview”, *Phytochem Rev*, **2015**, *14*(6), 993-1018.
- Falleh H., Riadh Ksouri R., Chaieb K., Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., “Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities, *C. R. Biolog* 331 **2008**, 372–379
- Farag, M. A., El-Ahmady, S. H., Elian, F. S., & Wessjohann, L. A. Metabolomics driven analysis of artichoke leaf and its commercial products via UHPLC–q-TOF-MS and chemometrics. *Phytochem*, **2013**, *95*, 177-187.
- Farag, M. A., Elsebai, M. F., & Khattab, A. R. Metabolome based classification of artichoke leaf: A prospect for phyto-equivalency of its different leaf origins and commercial preparations. *J pharm Biomed Anals*, **2018**, *158*, 151-159.
- Fernandez J., Curt M.D., Aguado P. L., “Industrial applications of *Cynara cardunculus* L. for energy and other uses”, *Industr Crops Prod* 24 **2006**, 222–229
- Fratianni, F., Pepe, R., & Nazzaro, F. Polyphenol composition, antioxidant, antimicrobial and quorum quenching activity of the “Carciofo di Montoro”(*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) global artichoke of the Campania Region, Southern Italy. *Food Nutr Sci*, **2014**, *5*(21), 2053.
- Fritsche, J., Beindorff, C. M., Dachtler, M., Zhang, H., & Lammers, J. G. Isolation, characterization and determination of minor artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaf extract compounds. *Eur Food Res Techn*, **2002**, *215*(2), 149-157.
- Garbetta, A., Capotorto, I., Cardinali, A., D'Antuono, I., Linsalata, V., Pizzi, F., & Minervini, F. “Antioxidant activity induced by main polyphenols present in edible artichoke heads: influence of *in vivo in vitro* gastro-intestinal digestion”. *J funct foods*, **2014**, *10*, 456-464.
- Gebhardt R., “Choleretic and Anticholestatic Activities of Flavonoids of Artichoke (*Cynara cardunculus* L. *subsp. scolymus* (L.) Hayek)”, **2005**, *IV International Congress on Artichoke* 681 ,429-436
- Gebhardt R., “Prevention of taurolythate-induced hepatic bile canalicular distortions by HPLC-characterized extracts of artichoke (*Cynara scolymus*) leaves”, *Planta Med.*, **2002**, *68*(9): 776-79.

- Gebhardt, R., “Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes.” *Toxicol Appl Pharm*, **1997**, 144: 279–286
- Gomes, A., Saha, A., Chatterjee, I., & Chakravarty, A. K. Viper and cobra venom neutralization by β -sitosterol and stigmasterol isolated from the root extract of *Pluchea indica* Less.(Asteraceae). *Phytomed*, **2007**, 14(9), 637-643.
- Grammelis P., Malliopoulou A., Basinas P., Danalatos N. G., “Cultivation and Characterization of *Cynara Cardunculus* for Solid Biofuels Production in the Mediterranean Region”, *Mol Sci*, **2008**, ISSN 1422-0067
- Grancai, D.; Nagy, M.; Suchy, V.; Ubik, K. Constituents of *Cynara cardunculus* L. I: sterols and pentacyclic triterpenes. *Farm. Obz.* **1992**, 61, 577–580
- Guo, M., Liang, J., & Wu, S. (2010). On-line coupling of counter-current chromatography and macroporous resin chromatography for continuous isolation of arctiin from the fruit of *Arctium lappa* L. *J Chromatogr A*, 1217(33), 5398-5406.
- Gupta, M. B., Nath, R., Srivastava, N., Shanker, K., Kishor, K., & Bhargava, K. P. Anti-inflammatory and antipyretic activities of β -sitosterol. *Planta med*, **1980**, 39(06), 157-163.
- Hammouda, F. M., El-Nasr, M. S., & Shahat, A. A. Flavonoids of *Cynara scolymus* L. cultivated in Egypt. *Plant Foods for Human Nutrition*, **1993**, 44(2), 163-169.
- Hammouda, F. M., El-Nesr, M. S., Ismail, S. I., & Shahat, A. A. HPLC evaluation of the active constituents in the newly introduced Romanian strain of *Cynara scolymus* cultivated in Egypt. *Planta Medica*, **1991**, 57(S 2), A119-A120.
- Harmatha, J., Buděšínský, M., Vokáč, K., Pavlík, M., Grüner, K., & Laudová, V. Lignan glucosides and serotonin phenylpropanoids from the seeds of *Leuzea carthamoides*. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, **2007**, 72(3), 334-346.
- Harris E. M., “Inflorescence and floral ontogeny in Asteraceae: a synthesis of historical and current concepts”, *Bot Rev*, **1995**, 61: 93-278
- Häusler, M., Ganzera, M., Abel, G., Popp, M., & Stuppner, H. Determination of caffeoylquinic acids and flavonoids in *Cynara scolymus* L. by high performance liquid chromatography. *Chromatographia*, **2002**, 56(7-8), 407-411.
- Hayashi, K., Narutaki, K., Nagaoka, Y., Hayashi, T., & Uesato, S. Therapeutic effect of arctiin and arctigenin in immunocompetent and immunocompromised mice infected with influenza A virus. *Biol Pharm Bull*, **2010**, 33(7), 1199-1205.
- Hong, S., Joo, T., & Jhoo, J. W. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activities of 3, 5-dicaffeoylquinic acid isolated from *Ligularia fischeri* leaves. *Food Sci Biotechnol*, 24(1), 257-263
- Hoon, H. B., Hwa, K. Y., Ok, Y. H., & Park, M. K. A butyrolactone lignan dimer from *Arctium lappa*. *Phytochem*, **1994**, 37(4), 1161-1163.
- Ichikawa, K., Kinoshita, T., Nishibe, S., & Sankawa, U. The Ca²⁺ antagonist activity of lignans. *Chem and pharm bull*, **1986**, 34(8), 3514-3517.
- Kamboj, A., & Saluja, A. K. Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *Ageratum conyzoides* (Asteraceae). *Int. J. Pharm. Sci*, **2011**, 3(1), 94-96.

- Kang, H. S., Lee, J. Y., & Kim, C. J. Anti-inflammatory activity of arctigenin from *Forsythiae Fructus*. *Journal of ethnopharmacol*, **2008**, *116*(2), 305-312.
- Kang, K., Lee, H. J., Kim, C. Y., Lee, S. B., Tunsag, J., Batsuren, D., & Nho, C. W. The chemopreventive effects of *Saussurea salicifolia* through induction of apoptosis and phase II detoxification enzyme. *Biol Pharm Bull*, **2007**, *30*(12), 2352-2359.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J food sci technol*, **2011**, *48*(4), 412-422.
- Kim, C. Y., Ahn, M. J., & Kim, J. A preparative isolation and purification of arctigenin and matairesinol from *Forsythia koreana* by centrifugal partition chromatography. *J sep sci*, **2006**, *29*(5), 656-659.
- Kim, H. J., Kim, H. M., Ryu, B., Lee, W. S., Shin, J. S., Lee, K. T., & Jang, D. S. Constituents of PG201 (Layla®), a multi-component phytopharmaceutical, with inhibitory activity on LPS-induced nitric oxide and prostaglandin E₂ productions in macrophages. *Arch pharmacol res*, **2016**, *39*(2), 231-239.
- Kim, J. A., Lau, E., Tay, D., & De Blanco, E. J. C. Antioxidant and NF- κ B inhibitory constituents isolated from *Morchella esculenta*. *Nat prod res*, **2011**, *25*(15), 1412-1417.
- Kim, J. Y., Cho, J. Y., Ma, Y. K., Park, K. Y., Lee, S. H., Ham, K. S. & Moon, J. H. Dicafeoylquinic acid derivatives and flavonoid glucosides from glasswort (*Salicornia herbacea* L.) and their antioxidative activity. *Food Chem*, **2011**, *125*(1), 55-62.
- Konovalov, D. A. "Polyacetylene compounds of plants of the Asteraceae family". *Pharm Chem J*, **2014**, *48*(9), 613-631.
- Koubaa, I., & Damak, M. A new dilignan from *Cynara cardunculus*. *Fitoterapia*, **2003**, *74*(1-2), 18-22.
- Križková, L., Mučaji, P., Nagy, M., & Krajčovič, J. "Triterpenoid cynarasaponins from *Cynara cardunculus* L. reduce chemically induced mutagenesis *in vitro*" *Phytomed*, 2004 *11*(7-8), 673-678.
- Križková, L., Mučaji, P., Nagy, M., & Krajčovič, J. Triterpenoid cynarasaponins from *Cynara cardunculus* L. reduce chemically induced mutagenesis *in vitro*. *Phytomed*, **2004**, *11*(7-8), 673-678.
- Kukic J., Popovic' V., Petrovic' S., Mucaji P., Ciric A., Stojkovic' D., Sokovic' M., "Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts", *Food Chem* **2008** 107 861–868
- Kumar S., Pandey A.K., "Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview", *Scie World J*, **2013**
- Kumar, A., Chand, G., & Agnihotri, V. K. A new oxo-sterol derivative from the rhizomes of *Costus speciosus*. *Nat prod res*, **2018**, *32*(1), 18-22.
- Lattanzio V., Kroon P. A., Linsalata V., Cardinali A., "Globe Artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients", *J funct foods* **2009**:131-144
- Lattanzio, V. Attuali conoscenze sui polifenoli del carciofo. In *3 Congresso Internazionale sul Carciofo* , **1981**, (Vol. 3, pp. 13-32). Laterza.
- Lattanzio, V., & van Sumere, C. F. Changes in phenolic compounds during the development and cold storage of artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. *Food Chem*, **1987**, *24*(1), 37-50.

- Lattanzio, V., Cardinali, A., Di Venere, D., Linsalata, V., & Palmieri, S. Browning phenomena in stored artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads: enzymic or chemical reactions?. *Food Chem*, **1994**, 50(1), 1-7.
- Lattanzio, V., Cicco, N., & Linsalata, V. Antioxidant activities of artichoke phenolics. In *IV International Congress on Artichoke 681*, **2000**, (pp. 421-428).
- Lattanzio, V., Kroon, P. A., Linsalata, V., & Cardinali, A. Globe artichoke: a functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal funct foods*, **2009**, 1(2), 131-144.
- Lee, C. K., & Chang, M. H. The chemical constituents from the heartwood of *Eucalyptus citriodora*. *J Chin Chem Soc*, **2000**, 47(3), 555-560.
- Lee, I. A., Joh, E. H., & Kim, D. H. Arctigenin isolated from the seeds of *Arctium lappa* ameliorates memory deficits in mice. *Planta med*, **2011**, 77(13), 1525-1527.
- Lee, S., Shin, S., Kim, H., Han, S., Kim, K., Kwon, J., ... & Kim, K. Anti-inflammatory function of arctiin by inhibiting COX-2 expression via NF- κ B pathways. *J Inflamm*, **2011**, 8(1), 16.
- Liu, J. C., Cheng, T. H., Lee, H. M., Lee, W. S., Shih, N. L., Chen, Y. L., ... & Chan, P. Inhibitory effect of trilinolein on angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy. *Eur J pharmacol*, **2004**, 484(1), 1-8.
- Liu, S., Chen, K., Schliemann, W., & Strack, D. Isolation and identification of arctiin and arctigenin in leaves of burdock (*Arctium lappa* L.) by polyamide column chromatography in combination with HPLC-ESI [sol] MS. *Phytochem Anal: Int J Plant Chem Biochem Techn*, **2005**, 16(2), 86-89.
- Llorach, R., Espin, J. C., Tomas-Barberan, F. A., & Ferreres, F. (2002). Artichoke (*Cynara scolymus* L.) byproducts as a potential source of health-promoting antioxidant phenolics. *J Agricult and Food Chem*, **2002**, 50(12), 3458-3464.
- Lombardo, S., Pandino, G., Mauromicale, G., Knödler, M., Carle, R., & Schieber, A. "Influence of genotype, harvest time and plant part on polyphenolic composition of globe artichoke [*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori]. *Food Chem*, **2010**, 119(3), 1175-1181.
- Lombardo, S., Pandino, G., Mauromicale, G., Knödler, M., Carle, R., & Schieber, A. Influence of genotype, harvest time and plant part on polyphenolic composition of globe artichoke [*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori]. *Food Chem*, **2010**, 119(3), 1175-1181.
- Lutz M. C. Henriquez C., Escobar M., "Chemical composition and antioxidant properties of mature and baby artichokes (*Cynara scolymus* L.), raw and cooked", *J Food Comp Anal* **2011** 49-54
- Maas, M., Petereit, F., & Hensel, A. Caffeic acid derivatives from *Eupatorium perfoliatum* L. *Molecules*, **2009**, 14(1), 36-45.
- Marini, G., Graikou, K., Zengin, G., Karikas, G. A., Gupta, M. P., & Chinou, I. Phytochemical analysis and biological evaluation of three selected *Cordia* species from Panama. *Industr Crops Prod*, **2018**, 120, 84-89.
- Marini, G., Graikou, K., Zengin, G., Karikas, G. A., Gupta, M. P., & Chinou, I. Phytochemical analysis and biological evaluation of three selected *Cordia* species from Panama. *Industr Crops Prod*, **2018**, 120, 84-89.

- Marwah, R. G., Fatope, M. O., Deadman, M. L., Al-Maqbali, Y. M., & Husband, J. Musanahol: a new aureonitol-related metabolite from a *Chaetomium* sp. *Tetrahedron*, **2007**, 63(34), 8174-8180.
- Mericli, A. H., & Seyan, G. V. Constituents of the leaves of *Cynara cardunculus* L. naturalized around Sinop. *ACTA Pharmaceutica Scientia*, **1998**, 40(3).
- Mervai, Z., Sólyomváry, A., Tóth, G., Noszál, B., Molnár-Perl, I., Baghy, K., Kovalszky, I., Boldizsár, I., Endogenous enzyme-hydrolyzed fruit of *Cirsium brachycephalum*: optimal source of the antiproliferative lignan trachelogenin regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway in the SW480 colon adenocarcinoma cell line. *Fitoterapia*, **2015**, 100, 19–26.
- Mossi, A. J., & Echeverrigaray, S. Identification and characterization of antimicrobial components in leaf extracts of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). In *II WOCMAP Congress Medicinal and Aromatic Plants, Part 2: Pharmacognosy, Pharmacology, Phytomedicine, Toxicology 501*, **1997**, (pp. 111-114).
- Moura, A. F., Lima, K. S. B., Sousa, T. S., Marinho-Filho, J. D. B., Pessoa, C., Silveira, E. R., & Araújo, A. J. (2018). In vitro antitumor effect of a lignan isolated from *Combretum fruticosum*, trachelogenin, in HCT-116 human colon cancer cells. *Toxicol in Vitro*, 47, 129-136.
- Mulinacci, N., Prucher, D., Peruzzi, M., Romani, A., Pinelli, P., Giaccherini, C., & Vincieri, F. Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compounds content. *J Pharm Biomed Anal*, **2004**, 34(2), 349-357.
- Nakano, H., Cantrell, C. L., Mamonov, L. K., Osbrink, W. L., & Ross, S. A. Echinopsacetylenes A and B, new thiophenes from *Echinops transiliensis*. *Organic letters*, **2011**, 13(23), 6228-6231.
- Nassar, M. I., Mohamed, T. K., Elshamy, A. I., El-Toumy, S. A., Lateef, A. M. A., & Farrag, A. R. H. Chemical constituents and anti-ulcerogenic potential of the scales of *Cynara scolymus* (artichoke) heads. *J Science of Food and Agricult*, (**2013**). 93(10), 2494-2501.
- Nassar, M. I., Mohamed, T. K., Elshamy, A. I., El-Toumy, S. A., Lateef, A. M. A., & Farrag, A. R. H. Chemical constituents and anti-ulcerogenic potential of the scales of *Cynara scolymus* (artichoke) heads. *J Science Food Agricult*, **2013**, 93(10), 2494-2501.
- Nasser, A. M. A. Phytochemical study of *Cynara scolymus* L. (Artichoke) (Asteraceae) cultivated in Iraq, detection and identification of phenolic acid compounds cynarin and chlorogenic acid. *Iraqi J Pharma Sciences*, **2012**, (P-ISSN: 1683-3597, E-ISSN: 2521-3512), 21(1), 6-13.
- Nirmal, Sunil A., Subodh C. Pal, Subhash C. Mandal, and Anuja N. Patil. Analgesic and anti-inflammatory activity of β -sitosterol isolated from *Nyctanthes arbortristis* leaves. *Inflamm pharmacology*, **2012**, 20, no. 4: 219-224.
- Nishibe, S., Hisada, S., & Inagaki, I. Lignans of *Trachelospermum asiaticum* var. *intermedium*. II. Structures of Tracheloside and Nortracheloside. *Chem Pharm Bull*, **1973**, 21(5), 1108-1113.

- Pandino G., Lombardo S., Mauromicale G.,” Globe artichoke leaves and floral stems as a source of bioactive compounds”, *Industr Crops Prod* 44 (2013) 44– 49
- Pandino G., Lombardo S., Mauromicale G., Williamson G., “Phenolic acids and flavonoids in leaf and floral stem of cultivated and wild *Cynara cardunculus* L. genotypes”, *Food Chem* 126 2011 417–422
- Pandino, G., Lombardo, S., & Mauromicale, G. “Globe artichoke leaves and floral stems as a source of bioactive compounds”. *Industr Crops Prod*, 2013, 44, 44-49.
- Pandino, G., Lombardo, S., Mauromicale, G., & Williamson, G. . “Phenolic acids and flavonoids in leaf and floral stem of cultivated and wild *Cynara cardunculus* L. genotypes”. *Food Chem*, 2011, 126(2), 417-422.
- Pandino, G., Lombardo, S., Mauromicale, G., & Williamson, G. “Profile of polyphenols and phenolic acids in bracts and receptacles of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) germplasm”. *J Food Comp Anal*, 2011, 24(2), 148-153.
- Panizzi, L., & Scarpati, M. L. Constitution of cynarine, the active principle of the artichoke. *Nature*, 1954, 174(4440), 1062.
- Petropoulos S. A., Pereira C., Ntatsi G., Danalatos N., Barros L.,e, Ferreira I.C. F. R., “Nutritional value and chemical composition of Greek artichoke genotypes”, *Food Chem*, 2017, 267, 296-302.
- Petropoulos S. A., Pereira C., Tzortzakis N., Barros L., Ferreira I. C. F. R., “Nutritional value and bioactive compounds characterization of plant parts from *Cynara cardunculus* L. (Asteraceae) cultivated in Central Greece”, *Front Plant sci*, 2018, 9, 459.
- Phogat, P., Deep, A., Sharma, P. C., Mittal, S. K., Kakkar, S., Goyal, R., & Thakral, K. Introduction to Hyperlipidemia and Its Management: A Review. *Pharmacologyonline*, 2010, 2, 251-266.
- Picman A.K., “Biological Activities of Sesquiterpene Lactones”, *Biochem Syst Ecol*, 1986, 14(3), 255-281
- Pieri, V., & Stuppner, H. Quantification of cynaropicrin in artichoke leaf extracts by 1H NMR spectroscopy, *Planta medica*, 2011, 77(15), 1756-1758.
- Pinelli, P., Agostini, F., Comino, C., Lanteri, S., Portis, E., & Romani, A. Simultaneous quantification of caffeoyl esters and flavonoids in wild and cultivated cardoon leaves. *Food chem.*, 2007, 105(4), 1695-1701.
- Piscioneri I., Sharma N., Baviello G., Orlandini S., “Promising industrial energy crop, *Cynara cardunculus*: a potential source for biomass production and alternative energy” *Energ Convers Manag* 2000, 41, 1091–1105.
- Pohanka, M. Determination of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activity without dilution of biological samples. *Chemical Papers*, 2015, 69(8), 1044-1049.
- -Prakash, B., Shukla, R., Singh, P., Kumar, A., Mishira, P. K. & Dubey, N. K. Efficacy of chemically characterized Piper betle L. essential oil against fungal and aflatoxin contamination of some edible commodities and its antioxidant activity. *Int J Food Microbiol*, 2010, 142, 114-119.
- Prakash, J. Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). *J Med Plants Res*, 2010, 4(24), 2674-2679.

- -Prior, R. L., Wu, X. & Schaich, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J Agricult Food Chem*, **2005**, 53, 4290-4302.
- Qian, X.J., Jin, Y.S., Chen, H.S., Xu, Q.Q., Ren, H., Zhu, S.Y., Tang, H.L., Wang, Y., Zhao, P., Qi, Z.T., Zhu, Y.Z., Trachelogenin, a novel inhibitor of hepatitis C virus entry through CD81. *J. Gen. Virol.*, **2016**, 97 (5), 1134–1144.
- Raccuia S.A, Melilli M.G.,” Biomass and grain oil yields in *Cynara cardunculus* L. Genotypes grown in a Mediterranean environment”, *Field Crop Res* **2007**, 101, 187–197
- Raccuia, S. A., Piscioneri, I., Sharma, N., & Melilli, M. G. Genetic variability in *Cynara cardunculus* L. domestic and wild types for grain oil production and fatty acids composition. *Biomass bioenergy*, 35(7),**2011**, 3167-3173.
- Ramos P. A.B., Santos S., Guerra A. , Guerreiro O., Freire C.S.R., Rocha S., Duarte M. F., , Silvestre A., “Phenolic composition and antioxidant activity of different morphological parts of *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* (DC)”, *Industr Crops Prod* **2014**, 61: 460–471
- Ramos, P. A., Guerra, A. R., Guerreiro, O., Freire, C. S., Silva, A. M., Duarte, M. F., & Silvestre, A. J. . “Lipophilic extracts of *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* (DC): a source of valuable bioactive terpenic compounds”. *J Agricult Food Chem*, **2013**, 61(35), 8420-8429.
- Ramos, P. A., Guerra, A. R., Guerreiro, O., Freire, C. S., Silva, A. M., Duarte, M. F., & Silvestre, A. J. Lipophilic extracts of *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* (DC): a source of valuable bioactive terpenic compounds. *J agricult food chem*, **2013**, 61(35), 8420-8429.
- Ramos, P. A., Santos, S. A., Guerra, Â. R., Guerreiro, O., Freire, C. S., Rocha, S. M., & Silvestre, A. J. . Phenolic composition and antioxidant activity of different morphological parts of *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* (DC). *Industr Crops Prod*, **2014**, 61, 460-471.
- Ramos, P. A., Santos, S. A., Guerra, Â. R., Guerreiro, O., Freire, C. S., Rocha, S. M. & Silvestre, A. J. Phenolic composition and antioxidant activity of different morphological parts of *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* (DC). *Industr Crops Prod*, **2014**, 61, 460-471.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biol med*, **1999**, 26(9-10), 1231-1237.
- Robba L., Carine M.A., Russell S. J., Raimondo F. M., “The monophyly and evolution of *Cynara* L. (Asteraceae) sensu lato:evidence from the Internal Transcribed Spacer region of nrDNA”, *Plant Syst Evol*, **2005**, 253: 53–64
- Romani, A., Pinelli, P., Cantini, C., Cimato, A., & Heimler, D. Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Food Chem*, 95(2), 221-225.
- Rottenberg A., Zohary D., “The wild ancestry of the cultivated artichoke”, *Gen Res Crop Evol*, **1996**, 43: 53–58.
- Ryu, S. Y., Ahn, J. W., Kang, Y. H., & Han, B. H. Antiproliferative effect of arctigenin and arctiin. *Arch Pharmacol Res*, **1995**, 18(6), 462-463.
- Salem M. B., Affes H., Ksouda K., Dhouibi R., Sahnoun Z., Hammami S., Zeghal K. M., “Pharmacological Studies of Artichoke leaf extract and their health benefits”, *Plant Foods Hum Nutr* **2015** 70:441-443

- Samek, Z., Holub, M., Drożdż, B., Iommi, G., Corbella, A., & Gariboldi, P. Sesquiterpenic lactones of the *Cynara scolymus* L. species. *Tetrahedron Letters*, **1971**, 12(50), 4775-4778.
- Sánchez-Rabáneda, F., Jauregui, O., Lamuela-Raventós, R. M., Bastida, J., Viladomat, F., & Codina, C. Identification of phenolic compounds in artichoke waste by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*, **2003**, 1008(1), 57-72.
- Scano, P., Anedda, R., Melis, M. P., Dessì, M. A., Lai, A., & Roggio, T. ¹H- and ¹³C-NMR Characterization of the Molecular Components of the Lipid Fraction of Pecorino Sardo Cheese. *J Am Oil Chem Soc*, **2011**, 88(9), 1305-1316.
- Schroder, H.C., Merz, H., Steffen, R., Müller, W.E.G., Differential in vitro anti-HIV activity of natural lignans. *Z. Naturforschung*, **1990**, 45, 1215–1221.
- Schütz, K., Kammerer, D., Carle, R., & Schieber, A. Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads, juice, and pomace by HPLC-DAD-ESI/MS. *J Agricult and Food Chem*, **2014**, 52(13), 4090-4096.
- Sen, A., Dhavan, P., Shukla, K. K., Singh, S., & Tejovathi, G. Analysis of IR, NMR and antimicrobial activity of β -sitosterol isolated from *Momordica charantia*. *Sci Secure J Biotechnol*, **2012**, 1(1), 9-13.
- Shakeri, A., & Ahmadian, M. Phytochemical studies of Some Terpene compounds in roots of *Cynara scolymus*. *Intl J Farm & Alli Sci*, **2014**, 10, 1065-1068.
- Shen, Q., Lu, Y., Dai, Z., & Cheung, H. Y. Precursor ion scan driven fast untargeted screening and semi-determination of caffeoylquinic acid derivatives in *Cynara scolymus* L. *Food chem*, **2015**, 166, 442-447.
- Shimizu, S., Isihara, N., Umehara, K., Miyase, T., & Ueno, A. Sesquiterpene glycosides and saponins from *Cynara cardunculus* L. *Chem Pharm Bull*, **1988**, 36(7), 2466-2474.
- Shimoda, H., Ninomiya, K., Nishida, N., Yoshino, T., Morikawa, T., Matsuda, H., & Yoshikawa, M. Anti-hyperlipidemic sesquiterpenes and new sesquiterpene glycosides from the leaves of artichoke (*Cynara scolymus* L.): structure requirement and mode of action. *Bioorg Med Chem Lett*, **2003**, 13(2), 223-228.
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *Am J enol vitic*, **1977**, 28(1), 49-55.
- Sólyomváry, A., Mervai, Z., Molnár-Perl, I., Boldizsár, I., Specific hydrolysis and accumulation of antiproliferative lignans in the fruit of *Leuzea carthimoides* (Willd.) DC. *Nat Prod Res*, **2014**, 28, 732–739.
- Sonnante G., Carluccio A. V., Vilatersana R., Pignone D., “On the origin of artichoke and cardoon from the *Cynara* gene pool as revealed by rDNA sequence variation”, *Gen Res Crop Evol*, **2007**, 54:483–495
- Sonnante G., Pignone D., Hammer K., “The Domestication of Artichoke and Cardoon: From Roman Times to the Genomic Age”, *Annals Bot* 100, **2007**, : 1095–1100

- Sonnante, G., Morgese, A., Sonnante, G., & Pignone, D. The evolution of *Cynara*: diversity and domestication of artichoke and cardoon. *VII International Symposium on Artichoke, Cardoon and Their Wild Relatives*, **2009**, 942 (pp. 61-66).
- Speroni E., Cervellati R., Govoni P., Guizzardi S., Renzulli C., Guerra M. C., “Efficacy of different *Cynara scolymus* preparations on liver complaints”, *J Ethnopharmacol* **86**, **2003**, 203-211
- Suchý, M., Herout, V., & Šorm, F. On terpenes. CVI. On hydrogenation products of cynaropicrin, the bitter principle of artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, **1960**, 25(2), 507-514.
- Suchý, M., Herout, V., & Šorm, F. On terpenes. CXVI. Structure of cynaropicrin. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, **1960**, 25(11), 2777-2782.
- Susanti, S., Iwasaki, H., Itokazu, Y., Nago, M., Taira, N., Saitoh, S., & Oku, H. Tumor specific cytotoxicity of arctigenin isolated from herbal plant *Arctium lappa* L. *J Nat Med*, **2012**, 66(4), 614-621.
- Suzuki, H., Lee, K. H., Haruna, M., Iida, T., Ito, K., & Huang, H. C. (+)-Arctigenin, a lignan from *Wikstroemia indica*. *Phytochemistry*, **1982**, 21(7), 1824-1825.
- Tadera, K., Minami Y., Takamatsu, K. & Matsuoka, T. Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, **2006**, 52, 149-53.
- Takahashi, T., & Miyazawa, M. Potent α -Glucosidase Inhibitors from Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seed. *Phytotherapy res*, **2012**, 26(5), 722-726.
- Timmermann, B. N., Hoffmann, J. J., Jolad, S. D., Schram, K. H., Klenck, R. E., & Bates, R. B. Constituents of *Chrysothamnus paniculatus* 3: 3, 4, 5-tricaffeoylquinic acid (a new shikimate prearomatic) and 3, 4-, 3, 5- and 4, 5-dicaffeoylquinic acids. *J Nat Prod*, **1983**, 46(3), 365-368.
- Tokar, M., & Klimek, B. Isolation and identification of biologically active compounds from *Forsythia viridissima* flowers. *Acta poloniae pharmaceutica*, **2004**, 61(3), 191-197.(arctiin)
- Trumm, S., Eich, E., Cytostatic activities of lignanolides from *Ipomoea cairica*. *Planta Med.*, **1989**, 55, 658–659.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M., Mazur M., Telser J., “Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease”, *Intern J Biochem & Cell Biol* **39** **2007** 44–84
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The Int J Biochem & cell biol*, **2007**, 39(1), 44-84.
- Villaseñor, I. M., Angelada, J., Canlas, A. P., & Echegoyen, D. Bioactivity studies on β -sitosterol and its glucoside. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, **2002**, 16(5), 417-421.
- Wald, B., Wray, V., Galensa, R., & Herrmann, K. Malonated flavonol glycosides and 3, 5-dicaffeoylquinic acid from pears. *Phytochemistry*, **1989**, 28(2), 663-664.
- Walker, R. B., & Everette, J. D. Comparative reaction rates of various antioxidants with ABTS radical cation. *J Agricult Food Chem*, **2009**, 57(4), 1156-1161.

- Wang, M., Simon, J. E., Aviles, I. F., He, K., Zheng, Q. Y., & Tadmor, Y. Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus* L.). *J Agricult Food Chem*, **2003**,51(3), 601-608.
- Wang, Y., & Liu, B. Preparative isolation and purification of dicaffeoylquinic acids from the *Ainsliaea fragrans* champ by high-speed counter-current chromatography. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, **2007**, 18(5), 436-440.
- Wiklund A., “The genus *Cynara* L. (Asteraceae-Cardueae)” , *Bot J Linn Soc*, **1992**, 109:75-123
- Wu, C., Chen, F., Wang, X., Wu, Y., Dong, M., He, G. & Huang, G. Identification of antioxidant phenolic compounds in feverfew (*Tanacetum parthenium*) by HPLC-ESI-MS/MS and NMR. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, **2007**, 18(5), 401-410.
- Xiaoping, Z., & Bremer, K.. A cladistic analysis of the tribeAstereae (Asteraceae) with notes on their evolution and subtribal classification. *Plant Syst and Evol*, **1993**, 184(3-4), 259-283.
- Xu, Y., Wang, Q., Bao, W., & Pa, B. Antihyperlipidemic Effect, Identification and Isolation of the Lipophilic Components from *Artemisia integrifolia*. *Molecules*, **2019**, 24(4), 725.
- Yang, M., Ma, Y., Wang, Z., Khan, A., Zhou, W., Zhao, T., ... & Cai, S. Phenolic constituents, antioxidant and cytoprotective activities of crude extract and fractions from cultivated artichoke inflorescence. *Industr Crops Prod*, **2019**
- Yoo, H. H., Park, J. H., & Kwon, S. W. An anti-estrogenic lignan glycoside, tracheloside, from seeds of *Carthamus tinctorius*. *Biosci, biotechnol, biochem*, **2006**, 70(11), 2783-2785.
- Zengin, G. 2016. A study on in vitro enzyme inhibitory properties of *Asphodeline anatolica*: New sources of natural inhibitors for public health problems. *Industr Crops Prod*, 83, 39-43
- -Zengin, G., Sarikurkcu, C., Gunes, E., Uysal, A., Ceylan, R., Uysal, S., Gungor, H. & Aktumsek, A. Two *Ganoderma* species: profiling of phenolic compounds by HPLC-DAD, antioxidant, antimicrobial and inhibitory activities on key enzymes linked to diabetes mellitus, Alzheimer's disease and skin disorders. *Food Function*, **2015a**, 6, 2794-802.
- -Zengin, G., Uysal, S., Ceylan, R. & Aktumsek, A. 2015b. Phenolic constituent, antioxidative and tyrosinase inhibitory activity of *Ornithogalum narbonense* L. from Turkey: A phytochemical study. *Industr Crops Prod*, **2015b**, 70, 1-6.
- Zhang, Y. H., Xue, M. Q., Bai, Y. C., Yuan, H. H., Zhao, H. L., & Lan, M. B. 3, 5-Dicaffeoylquinic acid isolated from *Artemisia argyi* and its ester derivatives exert anti-Leucyl-tRNA synthetase of *Giardia lamblia* (GILeuRS) and potential anti-giardial effects. *Fitoterapia*, **2012**, 83(7), 1281-1285.
- Zhu, C., Jing, L., Yu, N., Yang, X., Zhao, Y., A new lignan and active compounds inhibiting NF-κB signaling pathway from *Caulis Trachelospermi*. *Acta Pharm. Sin*, **2013**, B 3, 109–112.
- Zhu, X. F., Zhang, H. X., & Lo, R. Three di-O-caffeoylquinic acid derivatives from the heads of *Cynara scolymus* L. *Nat Prod Res*, **2009**, 23(6), 527-532.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Χήνου Ι. ΄Συμβολή στη μελέτη των χημικών συστατικών των φύλλων του φυτού *Cynara scolymus* L. Διδακτορική διατριβή, **1988**,ΕΚΠΑ, Τμήμα Φαρμακευτικής.

Διαδικτυακές πηγές:

1. <https://www.nationalgeographic.com/people-and-culture/food/the-plate/2014/11/12/artichokes/>
 2. Peneo and Crozier B. S.” Asteraceae. Sunflowers, daisies” Version 27 January 2012. <http://tolweb.org/Asteraceae/20780/2012.01.27> in The Tree of Life Web Project, <http://tolweb.org/>
-