

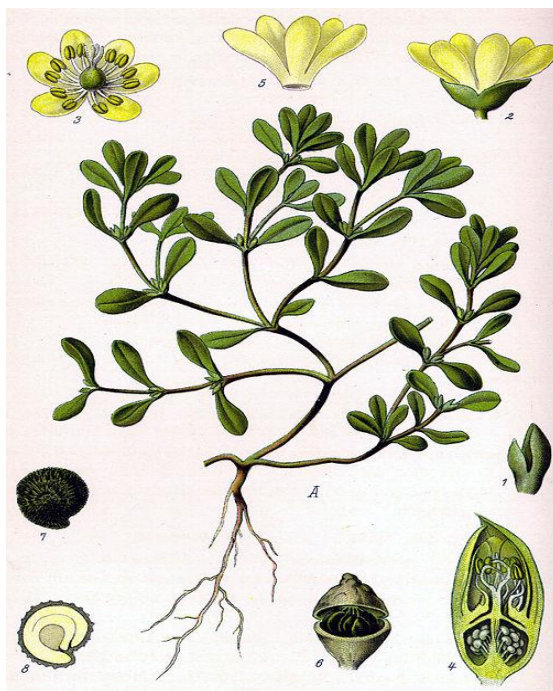


ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

### Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη και αξιολόγηση αντιοξειδωτικών και βιοδραστικών ιδιοτήτων  
εκχυλισμάτων του φυτού *Portulaca oleracea*



Πέτρος Χ. Ευσταθόπουλος

Επιβλέπων καθηγητής:

Νικόλαος Λάμπρου, Καθηγητής ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ  
2023

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Μελέτη και αξιολόγηση αντιοξειδωτικών και βιοδραστικών ιδιοτήτων  
εκχυλισμάτων του φυτού *Portulaca oleracea*

Study and evaluation of antioxidant and bioactive properties  
of portulaca oleracea plant extracts

**Πέτρος Χ. Ευσταθόπουλος**

Εξεταστική Επιτροπή:

Νικόλαος Λάμπρου, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Ευαγγελία Χρονοπούλου, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

Ζέρβα Αναστασία, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

## Μελέτη και αξιολόγηση αντιοξειδωτικών και βιοδραστικών ιδιοτήτων εκχυλισμάτων του φυτού *Portulaca oleracea*

ΠΜΣ Βιολογία Συστημάτων  
Τμήμα Βιοτεχνολογίας  
Εργαστήριο Ενζυμικής Τεχνολογίας

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η *Portulaca oleracea* ή κοινώς γλιστρίδα αποτελεί ένα από τα πιο διαδεδομένα φυτά παγκοσμίως. Παρότι δεν έχει προσδιοριστεί ακριβώς η καταγωγή της (αναφέρεται ως φυτό σε πάνω από 44 χώρες), το είδος είναι γνωστό από την αρχαιότητα και χρησιμοποιείται ανά τους αιώνες, είτε στην γαστρονομία, αξιοποιώντας την υψηλή διατροφικής της αξία, είτε ως φαρμακευτικό φυτό για να αντιμετωπισθούν παθήσεις όπως ο διαβήτης, οι ουρολιθιάσεις, οι νεφρικές και καρδιαγγειακές παθήσεις, το άσθμα, η διάρροια, ο πονοκέφαλος και τα έλκη.

Έχει χαρακτηριστεί από τον παγκόσμιο οργανισμό υγείας με τον όρο “Global panacea” όρο που τον οφείλει στην πλούσια συλλογή της από βιοδραστικές ενώσεις όπως αλκαλοειδή, σαπωνίνες, τανίνες, φλαβονοειδή, καρδιακοί γλυκοζίτες, τερπενοειδή, φαινολικά οξέα, οργανικά οξέα και ω3- λιπαρά οξέα. Η περιεκτικότητά της σε αυτές μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες, τις συνθήκες καλλιέργειας, τον χρόνο συγκομιδής και τους διαφορετικούς διαλύτες εκχύλισης. Για να αποκλείσουμε όλες τις επιδράσεις, εκτός από τον χρόνο συγκομιδής, αναπτύξαμε τα φυτά σε θάλαμο ανάπτυξης με σταθερές την θερμοκρασία και την φωτοπερίοδο.

Σε γενικές γραμμές, η περιεκτικότητα των φυτών σε αντιοξειδωτικά μπορεί να αυξηθεί με την πάροδο του χρόνου καθώς αυτά ωριμάζουν. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι τα αντιοξειδωτικά παράγονται συχνά ως μηχανισμός άμυνας έναντι περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως η υπερβολική ηλιακή ακτινοβολία, τα φυτοπαθογόνα και φυτοφάγα. Καθώς ένα φυτό μεγαλώνει και προετοιμάζεται για να βιώσει αυτούς τους παράγοντες καταπόνησης, μπορεί να αντιδράσει παράγοντας περισσότερα αντιοξειδωτικά για να προστατευτεί.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να προσδιορίσει την επίδραση της ηλικίας του φυτού στην πρωτεϊνική συγκέντρωση και την αντιοξειδωτική του ικανότητα. Τα ευρήματα αυτής της μελέτης είναι σημαντικά για την επιλογή φυτών γλιστρίδας στο κατάλληλο στάδιο ωριμότητας για χρήση ως πηγή πολύτιμων ανόργανων συστατικών και αντιοξειδωτικών, ιδίως για διατροφικές και φαρμακευτικές εφαρμογές.

**Επιστημονική περιοχή:** Ενζυμική Βιοτεχνολογία

**Λέξεις κλειδιά:** Γλιστρίδα, *Portulaca oleracea*, Αντιοξειδωτικά, Υγεία, Φαρμακογνωσία, Αλληλοπάθεια

## **Study and evaluation of antioxidant and bioactive properties of *Portulaca oleracea* plant extracts**

MSc Systems Biology  
Department of Biotechnology  
Laboratory of Enzyme Technology

### **ABSTRACT**

*Portulaca oleracea* or common purslane is one of the most widespread plants in the world. Although its exact origin has not been determined (it is listed in over 44 countries), the plant has been known since ancient times and has been used throughout the centuries, either in gastronomy, taking advantage of its high nutritional value, or as a medicinal plant to treat conditions such as diabetes, urinary tract infections, kidney and cardiovascular diseases, asthma, diarrhea, headache, and ulcers, to name a few.

It has been labeled by the World Health Organization as "Global panacea", due to its rich collection of bioactive compounds such as alkaloids, saponins, tannins, flavonoids, cardiac glycosides, terpenoids, phenolic acids, organic acids and omega-3 fatty acids. Their content can be influenced by various environmental factors, growing conditions, harvest time and different extraction solvents. We grew the plants in a growth chamber with constant temperature and photoperiod to exclude all effects except harvest time.

In general, the antioxidant content of plants can increase over time as they mature. This is likely because antioxidants are often produced as a defense mechanism against environmental factors such as excessive sunlight, phytopathogens and herbivores. As a plant grows and prepares to experience these stressors, it may react by producing more antioxidants to protect itself.

The purpose of this study is to determine the effect of plant age on protein concentration and antioxidant capacity. The findings of this study are important for selecting purslane plants at the appropriate stage of maturity for use as a source of valuable minerals and antioxidants, especially for nutritional and pharmaceutical applications.

**Scientific area:** Enzyme biotechnology

**Keywords:** *Portulaca oleracea*, Antioxidants, Health, Pharmacognosy, Allelopathy

## Ευχαριστίες

*Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Ενζυμικής Τεχνολογίας, στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών “Βιολογία Συστημάτων” του τμήματος Βιοτεχνολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.*

*Καταρχήν θα ήθελα να ευχαριστήσω εκ βάθους ψυχής τον επιβλέποντα και Καθηγητή μου κ. Νικόλαο Λάμπρου για την καθοδήγηση, το ενδιαφέρον και την συνεχή υποστήριξη που μου παρείχε καθ’ όλη την διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών και την εκπόνηση της παρούσας μελέτης.*

*Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω θερμά τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, την Επικ. Καθηγήτρια Ευαγγελία Χρονοπούλου και την Επικ. Καθηγήτρια Αναστασία Ζέρβα που δέχθηκαν πρόθυμα να συμμετάσχουν στην αξιολόγηση της παρούσας εργασίας.*

*Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Ελισάβετ Ιωάννου για την πολύτιμη βοήθεια της στα πρώτα μου βήματα στο εργαστήριο. Την ευχαριστώ για την καθοδήγηση της, την συμπαράσταση και την βοήθεια της κατά την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.*

*Ευχαριστώ τους συναδέλφους Δρ. Νικόλαο Γεωργακή και τους Υπ. Διδάκτορες Γεώργιο Πρεμέτη, Δημήτριο Νόκα, Κώστα Κωσταντινίδη, Μποδουριάν Χαρουτιούν, Παναγιώτα Παντιώρη και Χριστίνα Βαρώτσου για την άψογη συνεργασία, την συνεχή υποστήριξη και την αμέριστη υπομονή τους, στοιχεία που συντέλεσαν στη διατήρηση άριστου συνεργατικού κλίματος στο εργαστήριο. Θα ήταν παράλειψη να μην ευχαριστήσω την κα. Ευαγγελία Παππά για την άριστη συνεργασία αλλά και τους νυν και παλαιότερους προπτυχιακούς φοιτητές του εργαστηρίου. Όλοι μαζί βοήθησαν ώστε να δημιουργηθεί ένα εξαιρετικό και φιλικό εργασιακό περιβάλλον.*

*Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συναδέλφους και φίλους, Υπ. Διδάκτωρ Γεώργιο Λεβέντη και Χριστίνα Νικολάου με τους οποίους μοιραστήκαμε προβληματισμούς και ιδέες και οι οποίοι αποτέλεσαν σημαντικότατο στήριγμα όλο αυτό το διάστημα.*

*Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ χρωστάω στους γονείς μου, στην σύντροφό μου και στον αδερφό μου που είναι πάντα δίπλα μου και στηρίζουν τις επιλογές μου.*

*Ευσταθόπουλος Πέτρος*

---

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της.

Βασίλειο:	Plantae
Συνομοταξία:	Magnoliophyta
Ομοταξία:	Magnoliopsida
Τάξη:	Caryophyllales
Οικογένεια:	Portulacaceae
Γένος:	Portulaca
Είδος:	P. oleracea - Ανδράχνη η ολισθηρή
Κοινές ονομασίες:	Αντράκλα, Ανδράχλη, Αντραχλίδα, Γλιστρίδα, Σκλιμίτσα, Χοιροβότανο, Τρευλό
Αριθμός χρωμοσωμάτων:	2n = 52

## Περιεχόμενα

Ευχαριστίες .....	5
1. Εισαγωγή .....	10
1.1. Καταγωγή .....	10
1.1.1. Βοτανικά χαρακτηριστικά.....	11
1.1.2. Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις .....	12
1.1.3. Συγκομιδή .....	12
1.1.4. Ποικιλίες .....	13
1.1.5. Μετασυλλεκτικές επεξεργασίες.....	13
1.2. Χρήσεις .....	14
1.2.1. Εθνοβοτανικές αναφορές.....	14
1.2.2. Φαρμακολογική δραστηριότητα .....	17
1.2.3. Φαρμακοκινητική.....	30
1.2.4. Κλινικές δοκιμές .....	30
1.3. Φυτοχημική περιγραφή .....	32
2. Υλικά και Μέθοδοι .....	39
2.1. Εξοπλισμός.....	39
2.2. Πλαστικά αναλώσιμα .....	39
2.3. Λογισμικό.....	39
2.4. Φυτικό υλικό .....	40
2.5. Μέθοδοι.....	40
2.5.1. Μέθοδος Bradford.....	41
2.5.2. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων με την μέθοδο Folin – Ciocalteu.....	43
2.5.3. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων μέσω αλληλεπίδρασης με τη ρίζα DPPH.....	45
2.5.4. Υπολογισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων με την μέθοδο FRAP .....	46
2.5.5. Υπολογισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων με την μέθοδο ABTS.....	48
2.5.6. Προσδιορισμός Ολικών Ανθοκυανινών.....	49
2.5.7. Προσδιορισμός Ολικών Φλαβονοειδών.....	50
3. Αποτελέσματα.....	52
3.1. Bradford .....	52
3.2. Folin - Ciocalteu.....	53
3.3. Frap.....	54



3.4. Προσδιορισμός των ολικών Φλαβονοειδών .....	55
3.5. ABTS.....	56
3.6. DPPH.....	63
3.7. Αλληλοπάθεια .....	70
4. Συζήτηση.....	72
Βιβλιογραφία.....	75

## 1. Εισαγωγή

Κανείς μπορεί να τη συναντήσει από τον νότιο Καναδά, την Αργεντινή, την Ευρώπη, την Αφρική και την δυτική Ασία. Να τη βρει σε καλλιεργούμενα χωράφια, κήπους, άκρες ποταμών και δρόμων, σε διαβρωμένες πλαγιές ακόμα και ανάμεσα από πλάκες πεζοδρομίων. Μάλιστα ο Coquillant το 1951 το χαρακτήρισε ως το 8<sup>ο</sup> πιο κοινό ζιζάνιο στον πλανήτη [1]. Το φυτό με την επιστημονική ονομασία *Portulaca oleracea* αποτελεί ένα αρχαίο είδος, ιδιαίτερα κοσμοπολίτικο καθώς εγκλιματίζεται σε εύκρατα, τροπικά και υποτροπικά κλίματα και φύεται άφθονα σε πλήθος περιοχών ανά την υφήλιο αποικίζοντας νέες χώρες με πολύ μεγάλη ευκολία (υπάρχουν αναφορές της παρουσίας της σε πάνω από 80 χώρες) [2][3]. Συναντάται σε συλλογές με ποικίλα μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά (π.χ. φωτοπερίοδος, τρόπος ανάπτυξης) και με πλήθος διαφορετικών ονομάτων. Έχει καταχωρηθεί από τον παγκόσμιο οργανισμό υγείας ως ένα από τα πιο χρησιμοποιούμενα φαρμακευτικά φυτά και του έχει αποδοθεί ο όρος “Global Panacea” [4].

Διεθνώς είναι γνωστό με τα ονόματα: purslane (ΗΠΑ, Αυστραλία), pigweed (Αγγλία), rigla (Αίγυπτος), pourpier (Γαλλία), Ma – Chi – Xian (Κίνα), verdolagas (Μεξικό), Sanhti ή Punarva (Ινδία) [5]. Στον Ελλαδικό χώρο κανείς θα την βρει με τα ονόματα γλιστρίδα, αντράκλα, ανδράχλη, αντραχλίδα, σκλιμίτσα, χοιροβότανο ή τρευλό.

Είναι μέλος της οικογενείας *Portulacaceae* και του γένους *Portulaca*, το οποίο αποτελείται από 150 είδη [6]. Είδη τα οποία είναι αρκετά διαφοροποιημένα λόγω της διπλοειδούς, της τετραπλοειδούς και εξαπλοειδούς τους φύσης [7]. Χωρίζονται σε 9 ταξονομικές ομάδες [8]. Αυτά που ξεχωρίζουν, με βάση το εξωτερικό μέρος του φύλλου, την ανατομία kranz, τα μασχαλιαία τριχίδια, την μορφολογία των σπόρων και τα χαρακτηριστικά του άνθους, είναι τα *Portulaca oleracea*, *P. kinawensis*, *P. pilosa* και *Portulaca grandiflora* [8]. Το είδος *P. oleracea* χωρίζεται σε δύο υποείδη το *P. Oleracea subs sylvestris* και το *P. Oleracea subs. sativa* τα οποία είναι εξαπλοειδή ( $2n = 52$ ), πιο ζωνρά φυτά, με πιο πλατιά φύλλα και μεγαλύτερους σπόρους [9].

### 1.1. Καταγωγή

Παρότι σαν φυτό είναι γνωστό εδώ και πάνω από 4000 χρόνια το ακριβές σημείο προέλευσης του δεν έχει προσδιοριστεί, με αρκετές περιοχές της εύκρατης ζώνης του βόρειου ημισφαιρίου να θεωρούνται ως πιθανές [7]. Μία εκδοχή είναι ότι προέρχεται από την Ασία και μεταφέρθηκε αργότερα στην νότια Ρωσία και στην Βαλκανική χερσόνησο [7] και αργότερα στην Αμερική από τη Βόρεια Ευρώπη [10]. Τα φυτικά χαρακτηριστικά της, δείχνουν ένα φυτό το οποίο προσαρμόστηκε αρχικά στις ερημικές συνθήκες της Μέσης Ανατολής και της Ινδίας. Έχουν υπάρξει αναφορές για την ύπαρξη του από την εποχή των Φαραώ στην Αίγυπτο [11]. Πιθανολογείται ότι η καλλιέργεια του ξεκίνησε το 1400 π.Χ. στην Ευρώπη. Η συστηματική του καλλιέργεια ξεκίνησε παγκοσμίως περί τα μέσα του 17<sup>ου</sup> αιώνα [12]

Σπόροι έχουν βρεθεί σε αρκετούς αρχαιολογικούς χώρους, όπως στην Αιμίλια-Ρομάνα στην Βόρεια Ιταλία (χρονολογούνται από την εποχή του Χαλκού), σε πρωτογεωμετρικό στρώμα (1050 – 900 π.Χ.) στο χωριό Καστανάς της Χαλκηδόνας, στον αρχαιολογικό χώρο του Ηραίου της Σάμου [6], σε αρχαίους κήπους στην Ινδία, σε αρχαιολογικούς χώρους στο Κεντάκι (χρονολογούνται στην πρώτη χιλιετία π.Χ.) και στην βόρεια Λουϊζιάνα, οι οποίοι χρονολογούνται ως σπόροι 1500 χρόνων [2]. Αναφέρεται ότι ανήκει στους κήπους της Αμερικής από το 18<sup>ο</sup> αιώνα μ.Χ.

### 1.1.1. Βοτανικά χαρακτηριστικά

**Φυτό:** χαρακτηρίζεται ως ετήσια, μονοετής, πολύκλαδη πόα ύψους 30 cm με βλαστό κοκκινωπό, λείο, σαρκώδη, καλά διακλαδωμένο, με λίγα δυσδιάκριτα τριχίδια στους μασχαλιαίους κόμβους [13][6]. Αναπτύσσεται όρθιο ή έρπει επί του εδάφους [14]. Τα καλλιεργούμενα φυτά συνήθως είναι πιο ευθυτενή και δραστήρια, με μεγαλύτερο φύλλωμα σε σύγκριση με τα όμοια τους που αναπτύσσονται στην φύση [13]. Η περιεκτικότητα του φυτού σε νερό είναι πάνω από 90%.

**Φύλλα:** χαρακτηρίζονται ως ροπαλοειδή, λεία, με κηρώδη την πάνω επιφάνεια, διατεταγμένα σταυρωτά και αντίθετα πάνω στον βλαστό, κοντό έως δυσδιάκριτο μίσχο και έχουν πλάτος 1-5 cm, μήκος 0,5-2 cm. Ορισμένες φορές παρουσιάζεται μία κόκκινη απόχρωση στις άκρες τους [15].

**Ανθη:** Επιφυή, μασχαλαία ή επάκρια, μονήρη ή κατά ομάδες (βρίσκονται σε συστάδες των 2-5), είναι μικρά (διαμέτρου 0,4-0,5cm) κίτρινου, μωβ ή λευκού χρώματος, που περιβάλλονται από κολπίσκο 2-6 βράκτιων φύλλων και ανοίγουν συνήθως σε πολύ ζεστές και ηλιόλουστες μέρες, τις πρωινές ώρες. Τα σέπαλα είναι άνισα [14] πράσινου χρώματος, με 7 έως 10 στήμονες [7]. Η ανθοφορία της γίνεται από τον Μάιο έως το Σεπτέμβριο [15].

**Στεφάνη:** Έχει χρώμα κίτρινο, αποτελείται από 4-6 χωρισμένα ή συμφυή στη βάση πέταλα τα οποία είναι συνήθως εύπτωτα. Η ωοθήκη είναι υποφυής.

**Καρπός:** χαρακτηρίζεται ως κάψα ωοειδούς σχήματος συνήθως 4-8 mm με πολυάριθμους μικροσκοπικούς, έως και 243000, σπόρους ανά φυτό [16]), μικρότερους του 1 mm, κυκλικού έως ωοειδούς σχήματος, μαύρου χρώματος [7], [15]. Υπό κατάλληλες συνθήκες, το ποσοστό βλαστικότητας των σπόρων ξεπερνάει το ήδη υψηλό 96%, σε εναλλαγή θερμοκρασιών ημέρας και νύχτας 35/20 °C [17]. Οι σπόροι μεταφέρονται από τον αέρα, το νερό και τα πτηνά τα οποία τρέφονται με αυτούς[3]. Όπως όλο το φυτό έτσι και οι σπόροι χαρακτηρίζονται ως βρώσιμοι [14].

**Βιολογικός κύκλος:** ολοκληρώνεται σε δύο με τρεισήμισι μήνες όταν αναπτύσσεται σε συνθήκες με σχετικά υψηλές θερμοκρασίες [12]. Τα νεαρά φυτά βλαστάνουν συνήθως μία μέρα μετά την σπορά όταν οι θερμοκρασίες κυμαίνονται σε φυσιολογικά επίπεδα (20 °C – 30 °C).

### 1.1.2. Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις

**Κλίμα:** Παρουσιάζει ζοηρή ανάπτυξη σε υψηλές θερμοκρασίες καθιστώντας το ως ένα φυτό θερμής εποχής. Είναι ένα από τα ελάχιστα φυτά το οποίο μπορεί να αναπτυχθεί και σε θερμοκρασίες των 42°C - 45 °C. Το φυτό είναι ευπαθές σε συνθήκες παγετού [14].

**Έδαφος:** Κανείς την συναντά σαν ζιζάνιο σε όλους τους τύπους εδάφους και σε όλες τις καλλιέργειες, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως. Στις περιπτώσεις όμως που γίνεται συστηματική καλλιέργεια της, μπορεί να χρησιμοποιηθούν συστήματα με ή και χωρίς χόμα (πλωτά και υδροπονικά) [11]. Συνήθως ως πιο βιώσιμος τρόπος καλλιέργειας, επιλέγεται ένα ελαφρύ αμμοπηλώδες έδαφος, για να διευκολύνεται η συγκομιδή με το τράβηγμα και το ξερίζωμα ολόκληρου του φυτού. Το έδαφος προετοιμάζεται με όργωμα – σβάρνισμα – φρεζάρισμα, ώστε να αποκτήσει μία ψιλοχωματισμένη και αφράτη υφή. Στη συνέχεια σχηματίζονται αλίες μεγέθους 2x3 m ή αναχώματα ανάλογα με τη μέθοδο ποτίσματος που θα επιλεγεί [14].

**Σπορά:** Η σπορά συνήθως ξεκινά τον Μάρτιο και συνεχίζεται κατά διαστήματα μέχρι και τον Αύγουστο. Το βάθος σποράς δεν πρέπει να ξεπερνά το 1 mm, διότι ο σπόρος είναι πολύ μικρός και υπάρχει ο κίνδυνος αν το νεαρό φυτό βρεθεί σε μεγαλύτερο βάθος να μην μπορέσει να προσεγγίσει την επιφάνεια του εδάφους. Υπάρχουν 2 μέθοδοι σποράς:

- i. Σε αλίες και στα «πεταχτά», πετώντας δηλαδή τον σπόρο σε όσο το δυνατόν ίσες αποστάσεις
- ii. Σπορά σε γραμμές με αποστάσεις 15cm μεταξύ των γραμμών και 8cm επί των γραμμών. Με αυτή τη μέθοδο η ποσότητα του σπόρου που χρειάζεται για την κάλυψη ενός στρέμματος ανέρχεται στα 500 g [14]

Οι καλλιεργητικές απαιτήσεις της εμπορικής καλλιέργειας γλιστρίδας είναι η αντιμετώπιση των ζιζανίων, η άρδευση, η λίπανση και η καταπολέμηση εχθρών και ασθενειών εάν εμφανιστούν.

Σαν διάρκεια ζωής της συγκομισμένης γλιστρίδας αναφέρονται οι 10 μέρες στους 5 °C και οι 8 ημέρες στους 10 °C, ενώ η τοποθέτηση σε συσκευασίες από πολυπροπυλένιο και αποθήκευση στους 5 °C δεν αύξησε την διάρκεια ζωής [11].

### 1.1.3. Συγκομιδή

Η συγκομιδή ξεκινάει όταν το φυτό αποκτήσει εμπορεύσιμο μέγεθος. Η συνήθης περίοδος συγκομιδής ξεκινάει τον Μάιο και συνεχίζεται μέχρι και τον Νοέμβριο. Συνήθως πραγματοποιείται με το χέρι με εξαγωγή ολόκληρου του φυτού μαζί με το ριζικό σύστημα, αφού προηγηθεί πότισμα του χωραφιού την προηγούμενη μέρα για να μαλακώσει το έδαφος και να αφαιρεθεί το φυτό με μεγαλύτερη ευκολία. Διαφορετικά αφαιρείται το άνω μέρος του φυτού, με κοπή λίγο πάνω από την επιφάνεια του εδάφους. Αξίζει να σημειωθεί ότι ολόκληρο το φυτό είναι βρώσιμο.

#### 1.1.4. Ποικιλίες

Όλες οι καλλιεργούμενες ποικιλίες ανήκουν στην παραλλαγή *Portulaca oleracea var. sativa*. Σε κάθε χώρα χρησιμοποιούνται παραλλαγές που έχουν εγκλιματιστεί ως κηπευτικό. Στην Ελλάδα και στην Κύπρο συνήθως καλλιεργούνται δύο ποικιλίες: η πλατύφυλλη και η στενόφυλλη γλιστρίδα [14].

#### 1.1.5. Μετασυλλεκτικές επεξεργασίες

Οι συνθήκες αποθήκευσης και θερμοκρασίας παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ποιότητα του φυτού. Αξιολόγηση της ποιότητας του πριν και μετά την αποθήκευση σε διάφορες θερμοκρασίες (0,5 °C και 10 °C) για 17 ημέρες έδειξε σημαντική μείωση της βιταμίνης C, των ολικών φαινολών και αντιοξειδωτικών, η οποία επηρεάστηκε κυρίως από την θερμοκρασία αποθήκευσης, καθώς και μείωση της οπτικής ποιότητας (χρώμα υποβάθμιση και απώλεια χλωροφύλλης).

Φυτά στο ράφι επηρεάστηκαν δυσμενώς από τη θερμοκρασία (13, 10 και 8 ημέρες για 0,5 °C και 10 °C αντίστοιχα). Συσκευασία από πολυπροπυλένιο και η αποθήκευση στους 5 °C δεν αύξησαν τη διατηρησιμότητα των προϊόντων ή τη διάρκεια ζωής των ελάχιστα επεξεργασμένων φύλλων (10 ημέρες και για τις δύο περιπτώσεις). Το πλύσιμο με NaClO πριν από την αποθήκευση ανέστειλε μικροβιακές μολύνσεις.

Οι Amodio, Derossi και Colelli το 2014 χρησιμοποίησαν πειραματικά δεδομένα από την αποθήκευση της, προκειμένου να αναπτύξουν ένα μοντέλο που περιγράφει τις μεταβολές των ολικών φαινολικών των φρέσκο κομμένων φύλλων υπό αποθήκευση και παρατήρησαν μια αρχική αύξηση των ολικών φαινολών μετά από τρεις ημέρες αποθήκευσης στους 0 °C ή 5 °C, ακολουθούμενη από μια ταχεία μείωση μετά από αυτό το χρονικό σημείο, ιδίως σε υψηλότερες θερμοκρασίες (5 °C). Η αρχική αύξηση των ολικών φαινολών υποδηλώνει αύξηση της δραστηριότητας της αμμωνιολιάσης της φαινυλαλανίνης (PAL), η οποία παρατηρείται ανεξάρτητα από την εφαρμοζόμενη θερμοκρασία, ενώ η μεγαλύτερη μείωση των ολικών φαινολών σε υψηλότερες θερμοκρασίες δείχνει μια επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στη δραστηριότητα των οξειδωτικών ενζύμων [18].

Μια ενδιαφέρουσα μετασυλλεκτική επεξεργασία που θα μπορούσε να εφαρμοστεί προκειμένου να αμβλυνθεί η αρνητική επίδραση των υψηλών περιεκτικότητας των φύλλων γλιστρίδας σε μη επιθυμητές ουσίες, όπως τα οξαλικά, είναι η προσθήκη γιαουρτιού σε ωμά φύλλα, η οποία είχε ως αποτέλεσμα μια μείωση της περιεκτικότητας σε διαλυτά οξαλικά από 53,0% σε 10,7%. Το αποτέλεσμα αυτό θα μπορούσε να βρει περαιτέρω εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων και στην παραγωγή "δυναμικών τροφίμων" και έτοιμων προς κατανάλωση προϊόντα. Επιπλέον, το μαγείρεμα και το πάστωμα των φύλλων του φυτού πριν από την κατανάλωση θα μπορούσε να μειώσει σημαντικά τα διαλυτά οξαλικά στους φυτικούς ιστούς κατά 27% και 16%, αντίστοιχα [18], [19].

## 1.2. Χρήσεις

Όπως ήδη προαναφέρθηκε, το φυτό χρησιμοποιείται από αρχαιοτάτων χρόνων. Τα βοτανικά ευρήματα είναι κοινά σε πολλές προϊστορικές τοποθεσίες. Οι παραδοσιακές κοινωνίες το χρησιμοποίησαν σαν ένα βασικό συστατικό της μεσογειακής διατροφής. Είναι χαρακτηριστική η λαϊκή δοξασία «γλιστρίδα έφαγες;», η οποία χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις όπου κάποιος ομιλεί πολύ. Βρώσιμο θεωρείται ολόκληρο το φυτό, αλλά χρησιμοποιούνται κυρίως τα φύλλα και οι νεαροί βλαστοί σε σαλάτες, σούπες και βραστά, συνοδεύοντας το κρέας και το ψάρι. Έχει μια ελαφρώς ξινή ή αλμυρή γεύση. Στην Κίνα παρασκευάζουν το πιάτο *carti choy* με ένα γρήγορο τηγάνισμα της σε πολύ υψηλή φωτιά [7]. Οι ινδιάνοι στην Αμερική και οι Αβορίγινες της Αυστραλίας έτριβαν τους σπόρους και χρησιμοποιούσαν το άλευρο για να παρασκευάσουν χυλό και ψωμί [20]. Σύμφωνα με τον Σιμόπουλο (1995), το φυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μία καλή ζωοτροφή [21], ιδιαίτερα στους χοίρους και στα κουνέλια και οι σπόροι του σαν τροφή για τα πτηνά [9].

### 1.2.1. Εθνοβοτανικές αναφορές

Εκτός από την γαστρονομική χρήση που έχει το φυτό φημίζεται και για τις φαρμακευτικές του ιδιότητες (εικόνα 1). Ο Θεόφραστος το ονομάζει “αδράχνη” και το προτείνει ως θεραπευτικό για την ωτίτιδα, τον πονόλαιμο, τους πόνους στις αρθρώσεις, την ξηροδερμία και την καρδιακή ανεπάρκεια[11].

Ο Πλίνιος ο Πρεσβύτερος (23 – 79 μ.Χ.) αναφέρει την γλιστρίδα με το όνομα “porcilaca” (= το βότανο που αρέσει στους χοίρους) την οποία επίσης χαρακτηρίζει ως μία πραγματική πανάκεια στο έργο του “*Naturalis Historia – Book 20*” και είναι ο πρώτος που της αποδίδει αυτό τον όρο [22]. Λόγω του ότι το φυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πλήθος ασθενειών τον οδηγεί στο συμπέρασμα ότι έχει μαγικές ιδιότητες και φορώντας το ως φυλαχτό απομακρύνει το κακό [6]. Ο όρος πανάκεια θα χρησιμοποιηθεί αργότερα από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, όπου θα χαρακτηρίσει το φυτό ως “Global Panacea” [6].

Ο Διοσκουρίδης (10 – 90 μ.Χ.) την αναφέρει ως αδράχνη περιγράφοντας τις φαρμακευτικές της ιδιότητες στο βιβλίο του “*Περί ύλης Ιατρική - De Materia Medica*”. Το περιγράφει ως ένα αιμοστατικό φυτό, ένα ηρεμιστικό για τους πονοκεφάλους, προκαλεί μούδιασμα των δοντιών, ως θεραπευτικό για τις φλεγμονές των ματιών και άλλων οργάνων, τις φλύκταινες της κεφαλής, τις διαταραχές της ουροδόχου κύστης, τα εντερικά προβλήματα και τις αιμορροΐδες [6], [23]. Επίσης αναφέρει ότι είναι θεραπευτικό για τα τσιμπήματα των ερπετών και των σαυρών, ενώ μειώνει την σεξουαλική επιθυμία [11].

Ο Γαληνός (129 – 199 μ.Χ.) στο βιβλίο του “*Περί των εν ταις τροφαίς δυνάμεων – On the Properties of Foodstuffs*” αναφέρει: «Όσον αφορά τη μη ερεθιστική οξύτητα του, η γλιστρίδα θεραπεύει τη φλεγμονή των ούλων»[22].

Σε παραδοσιακά κείμενα με περιγραφές της Γιουνάνι (Unani), αραβο-περσικής μεθόδου ομοιοπαθητικής ιατρικής, αναφέρεται η χρήση ολόκληρου του φυτού και των σπόρων του για την θεραπεία διαφόρων ασθενειών. Οι χυμοί του φυτού, συνοδεία ζάχαρης χορηγούνται δια του στόματος για να καταπολεμηθεί η προσβολή από εντερικά παράσιτα, η γαστρίτιδα, η δυσουρία και διάφορα έλκη [6]. Μία πάστα ολόκληρου του φυτού σε συνδυασμό με λάδι τριανταφυλλιάς απαλύνει από τους πονοκεφάλους, ενώ τεμαχισμένα

φύλλα δίνονται εκ του στόματος για την καταπολέμηση του πυρετού, ενώ εάν χρησιμοποιηθούν σαν έμπλαστρα πάνω σε κονδυλώματα τα εξαφανίζουν [6]. Παρουσιάζει αιμοστατικές ιδιότητες και για αυτό χρησιμοποιείται στην πολυμηνόρροια, στην αιμορραγία των αιμορροΐδων και στην αιμόπτυση [6]. Θεραπευτικές ιδιότητες παρουσιάζουν και οι σπόροι, με μικρότερη βέβαια δραστικότητα. Ψημένοι χρησιμοποιούνται ως καθαρτικό για την καταπολέμηση της δυσκοιλιότητας. Σε αντίθεση με το ίδιο το φυτό, οι σπόροι του σε συνδυασμό με μέλι αποτελούν αφροδισιακό. Μία πάστα από αυτούς χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση των ουλών στο δέρμα, ενώ κλύσματα με νερό και σπόρους δρουν ως διουρητικά και αποτρέπουν την νεφρολιθίαση [6].

Στην Κίνα οι πρώτες αναφορές του φυτού βρίσκονται γύρω στο 500 μ.Χ. και συγκεκριμένα στην *Bencao Jing jizhu*, μία συλλογή κειμένων του Κινέζικου φαρμακευτικού κανόνα, που έθεσε τις βάσεις για την κοινή Κινέζικη *materia medica* όπως επιμελήθηκε από τον *Tao Hongjing* [24]. Αναφέρει την γλιστρίδα έως ένα φυτό με αντιοξειδωτικές και αιμοστατικές ικανότητες. Συναντάμε πάλι αναφορές για την χρήση ολόκληρου του φυτού στην αντιμετώπιση μητρορραγιών, αιμορροϊδικών αιμορραγιών, βακτηριακών δυσεντεριών, καταπολέμηση του πυρετού, στην λευκόρροια και στην αποτοξίνωση του οργανισμού [6]. Ένας ακόμα χαρακτηρισμός που του αποδίδεται είναι αυτός του "λαχανικού της μακροζωίας" [22].

Στην Ισπανία σπόροι χρησιμοποιούνται από του στόματος για την θεραπεία αναπνευστικών προβλημάτων, την ανορεξία, στην σπερματόρροια, και τους υψηλούς πυρετούς. Το υπέργειο μέρος του φυτού χρησιμοποιείται για την θεραπεία του βήχα, σε εντερικά έλκη, την πολυουρία, τον πονοκέφαλο, την μηνιγγίτιδα, την επίσταξη, την αφασία, την ουρική αρθρίτιδα και την αρθραλγία. Οι σπόροι χρησιμοποιήθηκαν εξωτερικά για την άφθα, την ανοσμία και την βραχνάδα. Κονιορτοποιημένο τμήμα του φυτού εφαρμόζεται για την διευκόλυνση της γέννας [22].

Στην Ιταλία, έχει χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία ποικίλων ασθενειών όπως πόνους στο κεφάλι, στο στομάχι, στο έντερο και στα νεφρά, εντερικούς σκώληκες, δυσεντερία, ουρογεννητικές λοιμώξεις, φλεγμονές των ούρων, σκορβούτο, πυρετό, αιμορροΐδες, αιμόπτυση, έλκη του στόματος και των ούλων, πονόδοντους, κοκκινισμένα ούλα, δερματικά εξανθήματα, σπυράκια και φλεγμονές των ματιών, τσιμπήματα σαυρών και ως διουρητικό, σε συνδυασμό με τα φυτά *Allium ampeloprasum* (άγριο πράσο) και *Urtica sp.* (τσουκνίδα). Το υπέργειο τμήμα της γλιστρίδας χρησιμοποιείται για την ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης [22].

Στην Ελλάδα το φυτό χρησιμοποιείται ως σαλατικό, μέρος σε πίτες, σούπες. Χρησιμοποιείται επίσης ως τσάι για τον ερεθισμένο λαιμό και για πόνο στο αυτί. Προτείνεται σε ασθενείς με διαβήτη. Μπορεί να καταναλωθεί κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης [25]. Χρησιμοποιείται επίσης για το ουροποιητικό σύστημα, για την υψηλή χοληστερόλη και την καταπολέμηση φλεγμονών και μυοσκελετικών διαταραχών [22].

Country	Part used	Dosage form/Route of administration	Medicinal use/ disease treated	Reference (s)
Persia	Aerial parts, Seeds	Oral	hemoptysis, gastritis, liver inflammation, intestinal ulcers, kidneys and bladder ulcers, hemorrhagic vomiting, fevers, insomnia, cough, tonsillitis, asphyxia, nocturnal emissions. As an anti-thirst, food digestive, anti-parasite, depurative, anti-hemorrhoids and diuretic medicine.	(Aqli Khorasani, 2007, 1992; Razi, 1968; Jorjani, 1976; Ibn Sina, 1987; Amiri and Joharchi, 2013; Ghasemi Pirbalouti et al., 2013; Mosaddegh et al., 2012)
	Aerial parts, seeds	External	severe inflammations, erysipelas, pulsatile headaches caused by hot temperament, eye pain, teeth sensitivity, blepharitis, mouth ulcers, testicular swelling	
	Roots seed's milky aqueous extract	Poultice/ external Oral	To eliminate warts Headaches, meningitis, encephalitis, thirst, melancholia, conjunctivitis, epistaxis, mouth ulcers, suffocation, tonsillitis, pleurisy, palpitation	(Aqli Khorasani, 2007) Chashti (1884)
China	Leaves	Oral	Dysentery with bloody stools, colitis, acute appendicitis, diabetes, bacterial infections, as a diuretic, cooling in fever, antitoxins	(Chen et al., 2009)
	Leaves	Poultice/external	Sores, eczema, erysipelas, dermatitis, shingles, snake- and insect-bite, pain and swelling, abnormal uterine bleeding, hemorrhoid bleeding, fever, tumors, ulcer, wounds	(Belcheff, 2012; Chen, J. et al., 2003; Yao and Zhang, 1995)
Nepal	leaves and seeds	Oral/external	For blood purification and to cure cardiovascular complaints, circulatory diseases, dental problems and toothache	(Joshi and Joshi, 2000)
Philippines	Aerial parts	-	Wound healer, mild diuretic, anti-scorbutic, refrigerant	(Belcheff, 2012)
Albania	Aerial parts, fresh	External use on the legs/ oral	Anti-rheumatic, to cure musculoskeletal disorders and as a nutritional food	(Pieron et al., 2005; Gonzalez-Tejero et al., 2008)
Cyprus	Leaf juice	Drunk with milk and sugar	Anti-rheumatic	
	Aerial parts	Oral	For alleviating mental disorders, musculoskeletal, CNS and cardiovascular diseases	(Della et al., 2006; Gonzalez-Tejero et al., 2008)
Spain	Seeds	Oral	Respiratory problems, cough, anorexia, spermatorrhea, hot fevers	(Al-Zahravi, 2004; Carrio and Valles, 2012)
	Seeds Aerial parts	External Oral	Aphtha, anosmia, hoarseness Cough, intestinal ulcers, polyuria, infertility caused by excessive heat, regulating blood pressure	
United Arab Emirates (UAE)	Aerial parts	External	Headache, meningitis, epistaxis, aphasia, gout, arthralgia	
	Aerial parts	-	Febrifuge	(El-Ghonemy, 1993)
Oman	Aerial parts	-	Febrifuge	(El-Ghonemy, 1993)
Saudi Arabia	Aerial parts	Oral, topical	For the treatment of liver, gastrointestinal and inflammatory diseases	(Al-Asmari, 2014)
Jordan	seeds	Oral	as a blood purifier and an aphrodisiac	(Lev and Amar, 2002)
Egypt	Aerial parts, seeds	Oral	Curing hemoptysis, obsession, madness, bilious vomiting, inflammation of the stomach and liver, pain and stones of kidney and bladder, uterine and intestinal ulcers, nocturnal emissions, diabetes, worms, hypertension	(al-Nafis, 1999)
	Aerial parts, seeds	External/poultice	Headaches caused by heat, toothache, tooth numbness, epistaxis, hot fevers, inflammations, hemorrhoids, excessive heat in chest organs, excessive thirst, warts, urticaria, erysipelas, anthrax and to prevent gangrene	
Somalia	Whole plant	Oral, topical	Curing abdominal complaints, dysmenorrhea, intestinal wounds, sinusitis, spastic paralysis, leprosy	(Samuelsson et al., 1993)
Nigeria			Muscular pains	(Parry et al., 1987)
west Africa	Juice and aqueous extract of the whole plant	External Oral	Earache, toothache, swelling, boils and abscesses Vermifuge, diuretic	(Habtariam et al., 1993)
Benin	Leaves	-	Leprosy	(Bello et al., 2013)
North Cameroon	Aerial parts	Mastication	induce salivation	(Malzy, 1954a, 1954b)
Ivory Coast	Grinded twigs and leaves	-	To facilitate childbirth	(Béné et al., 2016)
Morocco	Aerial parts	Oral	As an energizing food and salad and gastric tonic	(Bachar et al., 2016; Tanji and Nassif, 1995; Benkniguel et al., 2010)
Greece	Aerial parts	Oral	Curing high cholesterol	(Albala, 2011)
	Aerial parts	Tea/ oral	Curing sore throat, earache, diabetes, inflammations of the urinary system and high cholesterol level. Safe during pregnancy and lactation	(Simopoulos, 2004; Brussell, 2004; Megaloudi, 2005; Albala, 2011)
Italy	Aerial parts	Infusion, fresh leaves/ oral	Head and stomach illnesses, intestinal worms, urinary inflammations, lizard bites, diuretic, reddened gums, scurvy, analgesic for gastric, intestinal and kidney pain, hemorrhoids, haemoptysis, mouth and gum ulcers, toothaches, raspy voice. As a febrifuge, anaphrodisiac, detoxifying and emollient agent	(Iserin et al., 2001; Guarrera and Savo, 2013; Guarrera, 2003; De Feo, 1992)
		Infusion/external	Skin rashes and pimples or boils	
	Leaves Seeds and leaves	Poultice Infusion, oral	headaches, gastric acid, eye inflammations, gangrene prevention Dysentery and urogenital infections	(Bosi et al., 2009)
India	-	Oral	Diseases of the lungs, liver, kidneys, bladder and bowels, scurvy, asthma, leprosy, hemorrhoids, spitting of the blood and gastric inflammation and as a vegetable.	(Nadkarni (1996); Anusha et al. (2011); Belcheff (2012);
	-	External	Erysipelas, burns, scalds and various skin diseases	
Pakistan	fresh aerial parts/ juice	Oral/external	For the treatment of urinary and gastrointestinal problems (such as diarrhea and dysentery), swelling joints, burning sensation, coughs, earache, skin infections, sores and burns. PA is believed to be depurative, febrifuge and cardiac stimulant. demulcent, diuretic and vermifuge	(Ullah et al., 2013; Abbasi et al., 2015).
Afghanistan	Seeds	Oral	As an antidiarrheal and for throat infection	(Younos et al., 1987)
Turkey	leaves	Oral	To cure diarrhea, diabetes, headache, ulcers, urinary disorders and wounds.	(Cakicioglu and Turkoglu, 2010)
Australia	Aerial parts		Curing scurvy, alleviating irritations and inflammations and as a diuretic and antibiotic	(Belcheff, 2012)
America	Aerial parts		Curing cold, gout, headache, stomachache, excessive menstrual flow, cough	(Belcheff, 2012; Chapman et al., 1973; Liu et al., 2000)
	Leaves	Juice	Inflammation of the male genitalia, as a vegetable	
	Aerial parts	Poultice	Burns	
	Leaves	Infusion/liniment Decoction	Stiff neck Gonorrhoea	
Dominica	Seeds	Boiled Oral	Curing worms intestinal worms	(Quinlan et al., 2002)
Trinidad and Tobago	Aerial parts	Oral	High blood cholesterol, shortness of breath	(Lans, 2006)
Columbia	-	External	As an emollient, to cure tumors, callosities	(Belcheff, 2012)

Εικόνα 1: Εθνοβοτανικές χρήσεις της *Portulaca oleracea*. Πηγή: [19]



Στην Αφρική ολόκληρο το φυτό χρησιμοποιείται στην βακτηριακή δυσεντερία, στην διάρροια, στην εντερορραγία αλλά και στον διαβήτη. Χρησιμοποιείται εξωτερικά ως κατάπλασμα για την ωρίμανση αποστημάτων. Αφέψημα του φυτού χρησιμοποιείται ως βοηθητικό για το τρέμουλο [6]. Άλλες εφαρμογές βρίσκονται στην υπερχοληστερολαιμία, γαστρικά προβλήματα, την υπέρταση, την σπαστική παράλυση, την λέπρα, τον πονόδοντο, την κνίδωση, τα αποστήματα και σε προσβολές από τον άνθρακα [22].

Στο Μαρόκο ετοιμάζονται γεύματα μαζί με πράσινες ελιές, σκόρδο, ελαιόλαδο και μυρωδικά στην προετοιμασία σαλάτας, ως ενεργειακό φυτό και ως τονωτικό για το γαστρικό σύστημα σε συνδυασμό με τα φύλλα από το *Malva sylvestris L.* (=Μολόχα) [26].

Στην Ινδία χρησιμοποιείται ως λαχανικό για την παρασκευή κάρυ. Επιπλέον, χρησιμοποιείται στην Ayurvedic ιατρική (θεωρείται ένα από τα αρχαιότερα συστήματα παραδοσιακής ιατρικής στην ινδική υποήπειρο, η οποία ασκείται ως εναλλακτική μέθοδος θεραπείας και σε άλλα σημεία του κόσμου) για να θεραπεύσει ασθένειες των πνευμόνων, του ήπατος, των νεφρών, της ουροδόχου κύστης και των εντέρων, σκορβούτο, άσθμα, λέπρα, αιμορροΐδες, αιμοπτύσεις και γαστρικές φλεγμονές. Το φυτό και οι σπόροι χρησιμοποιούνται σε ασθένειες των νεφρών, της ουροδόχου κύστης και των πνευμόνων. Χρησιμοποιείται εξωτερικά για να ανακουφίσει εγκαύματα και δερματοπάθειες [27].

Οι ινδιάνοι στην Αμερική χρησιμοποιούσαν την γλιστρίδα για τη θεραπεία των κρυολογημάτων και κατασκεύαζαν ένα αφέψημα, χρήσιμο στην ουρική αρθρίτιδα και τον πονοκέφαλο. Ο χυμός του φυτού είναι ευεργετικός στην φλεγμονή των αρσενικών γεννητικών οργάνων. Οι Ινδοί χρησιμοποιούν αυτό το φυτό για τη θεραπεία της υπερβολικής εμμήνου ρύσεως, στομαχόπονο, αιμόπτυση και φλεγμονών στο στομάχι [28]. Τα φύλλα χρησιμοποιούνται ως έμπλαστρα για την καταπράυνση από το ανεμοπύρωμα (= erysipelas), ενώ εκχυλίζονται μαζί με λινέλαιο και χρησιμοποιούνται για την βελτίωση ενοχλήσεων του λαιμού [6]. Ο χυμός του στελέχους έχει καταπραϋντικό αποτέλεσμα στην αίσθηση καψίματος των χεριών και των ποδιών [28].

### 1.2.2. Φαρμακολογική δραστηριότητα

Χρησιμοποιώντας τις εθνοβοτανικές αναφορές, οι επιστήμονες εξέτασαν την αποτελεσματικότητα της γλιστρίδας ως φαρμακευτικού φυτού χρησιμοποιώντας *in vitro* καθώς και *in vivo* μελέτες και διαπίστωσαν εντυπωσιακά αποτελέσματα σχετικά με το φαρμακολογική δυναμική της.

#### Αντισπασμωδική ικανότητα

Δοκιμάστηκε η αντιεπιληπτική δράση υδατικού εκχυλίσματος από τα φύλλα γλιστρίδας σε υγιή αλμπίνο ποντίκια. Το εκχύλισμα μείωσε σημαντικά τη διάρκεια των σπασμών που προκλήθηκαν από ηλεκτροσόκ στα οπίσθια άκρα, ενώ καθυστέρησε την έναρξη και μείωσε την διάρκεια των κλονικών σπασμών που προκλήθηκαν από την πεντυλοτετραζόλη (PTZ) κατά τρόπο δοσο-εξαρτώμενο [6].

## Αντιμικροβιακή δραστηριότητα

Αξιολογήθηκε η αντιμικροβιακή επίδραση εκχυλισμάτων γλιστρίδας εναντίων παθογόνων παραγόντων που μεταδίδονται από τρόφιμα. Βρέθηκε ότι το εκχύλισμα με οξικό αιθυλεστέρα είχε την καλύτερη αντιμικροβιακή δραστηριότητα εναντίων των παθογόνων *Staphylococcus aureus* και *Shigella dysenterica*, σε σύγκριση με εκχυλίσματα πετρελαϊκού αιθέρα, γλωροφορμίου και μεθανόλης. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε καθυστέρηση της ανάπτυξης για περισσότερες από 24 ώρες του *S. aureus* σε συγκέντρωση 4000 ppm και έως 12 ώρες της *S. dysenterica* στους 37 °C [29].

Ελέγχθηκαν υδατικά και αιθανολικά εκχυλίσματα της ρίζας και των φύλλων της για αντιμικροβιακή δράση κατά δύο Gram θετικών βακτηρίων, του *Bacillus subtilis* και του *Staphylococcus aureus*, και ενός Gram αρνητικού βακτηρίου, της *Pseudomonas aeruginosa*, καθώς και του *Aspergillus niger*, μέσω της μεθόδου διάχυσης δίσκων αντιβιοτικών σε άγαρ. Η υψηλότερη αντιμικροβιακή και αντιμυκητιασική δράση παρατηρήθηκε στη συγκέντρωση των 750 µg/ml. Το αιθανολικό εκχύλισμα ρίζας ήταν αποτελεσματικότερο στην αναστολή της ανάπτυξης της *Pseudomonas aeruginosa*, ενώ το υδατικό εκχύλισμα ήταν συγκριτικά αποτελεσματικότερο στα άλλα τρία [30].

Φαίνεται ότι μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη των μυκήτων όπως οι *Penicillium sp.*, *Rhizopus sp.*, και *Mucor racemosus*. Ωστόσο, δεν μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη του *Candida tropicalis* και του *Saccharomyces cerevisiae*. Μια άλλη μελέτη ανέφερε την αντιμυκητιακή δράση των εκχυλισμάτων γλιστρίδας κατά της φυσιολογικής ανάπτυξης του *Aspergillus* και του *Trichophyton* και της ζύμης *Candida*. Το φυτό θα μπορούσε να αναστείλει αποτελεσματικά την ανάπτυξη των βακτηρίων όπως η *Neisseria gonorrhoea*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* [22].

## Αντιικές ιδιότητες

Μόνο λίγες μελέτες έχουν αναφέρει την αντιϊκή δυναμική του φυτού. Το υδατικό εκχύλισμα γλιστρίδας έδειξε αντιϊκή δράση κατά της λοίμωξης από τον ιό της γρίπης Α (IAV). Οι Dong et al. έδειξαν ότι ο πηκτικός πολυσακχαρίτης που απομονώθηκε από το φυτό παρουσίασε δράση κατά του ιού του απλού έρπητα τύπου 2 (HSV-2) [31].

## Αντιβηχικά αποτελέσματα

Προκειμένου να δοκιμαστούν οι αντιβηχικές ιδιότητες του φυτού, δημιουργήθηκαν 2 αεροζόλ με διαφορετικές συγκεντρώσεις (2,5% και 5%), από βρασμένο εκχύλισμα. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν πάνω σε ινδικά χοιρίδια στα οποία προκλήθηκε βήχας μέσω της χρήσης κιτρικού οξέος. Η σύγκριση έγινε μεταξύ των αποτελεσμάτων της επίδρασης της γλιστρίδας, της κωδεΐνης (0,03 g/ml) και αλατούχου διαλύματος. Τα διαλύματα της κωδεΐνης και της γλιστρίδας είχαν στατιστικά σημαντική βελτίωση της κατάστασης σε σύγκριση με το αλατούχο διάλυμα. Ωστόσο το διάλυμα με 5% συγκέντρωση ήταν αποτελεσματικότερο, παρέχοντας 54,7% προστασία, ενώ αυτό με συγκέντρωση 2,5% είχε τα ίδια αποτελέσματα με την κωδεΐνη παρέχοντας ένα ποσοστό κοντά στο 30% [32].

Βρασμένο και υδατικό διάλυμα από το φυτό έδειξε μια ισχυρή βρογχοδιασταλτική επίδραση κατά δόσοεξαρτώμενο τρόπο στην τραχεία ινδικών χοιριδίων, η οποία μπορούσε να συγκριθεί με την καταστολή από την θεοφυλλίνη [33].

### Αντιοξειδωτικές ιδιότητες

Τα αντιοξειδωτικά είναι πολύ σημαντικά για την ανθρώπινη υγεία, καθώς μειώνουν τον κίνδυνο κυτταρικής βλάβης από τις ελεύθερες ρίζες. Η φυτοχημική σύνθεση του φυτού υποδεικνύει την αντιοξειδωτική του δυναμική. Φαινολικά αλκαλοειδή όπως η ολερασεΐνη Α, η ολερασεΐνη Β και η ολερασεΐνη Ε έδειξαν αντιοξειδωτικές δραστηριότητες [31].

Μελετήθηκε η ικανότητα του φυτού να μειώνει την οξειδωτική καταπόνηση, η οποία προκαλείται από την ανεπάρκεια της βιταμίνης Α σε αρσενικά άτομα Wistar αρουραίων. Οι ουσίες που αντιδρούν στο θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), η μειωμένη (GSH) και οξειδωμένη (GSSG) γλουταθειόνη και η αντιοξειδωτική δράση ενζύμων, προσδιορίστηκαν στην καρδιά και στο ήπαρ. Οι αρουραίοι που τρέφονταν με δίαιτα καθαρού β-καροτενίου και συμπληρώματα διατροφής με φύλλα γλιστρίδας, έδειξαν χαμηλότερες τιμές σε TBARS και GSH σε σχέση με αρουραίους οι οποίοι είχαν δίαιτα φτωχή σε βιταμίνη Α. Η συγκέντρωση της GSSG στην καρδιά ήταν σημαντικά χαμηλότερη στους αρουραίους που τρέφονταν με συμπληρώματα γλιστρίδας. Η δράση της ηπατικής και της καρδιακής καταλάσης δεν επηρεάστηκε μεταξύ των δύο ομάδων ούτε και η δράση της καρδιακής υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPX), ωστόσο οι αρουραίοι που τρέφονταν με β-καροτένιο εμφάνισαν υψηλότερη δραστηριότητα της ηπατικής GPX. Μεταξύ των ομάδων δεν παρατηρήθηκε διαφορά στο επίπεδο της ηπατικής S-τρασνφεράσης της γλουταθειόνης, ενώ η καρδιακή δραστηριότητα ήταν υψηλότερη σε αρουραίους που τρέφονταν με φύλλα του φυτού. Αποτελέσματα τα οποία αποδεικνύουν ότι η κατάποση φύλλων γλιστρίδας μπορεί να έχει προστατευτική δράση κατά της οξειδωτικής καταπόνησης που προκαλείται από την ανεπάρκεια βιταμίνης Α [34].

### Ηπατο-προστατευτική δράση

Η γλιστρίδα έχει χρησιμοποιηθεί εδώ και καιρό ως φάρμακο κατά της ηπατικής βλάβης. Σε μια μελέτη των Abd El-Azime et al. (2014), έχει αποδειχθεί ότι μια εφάπαξ δόση των 6 Gy ακτίνων γ μπορεί να αυξήσει την LDL-C, την ολική χοληστερόλη, την TG, την τρανσαμινάση του ασπαραγινικού και αλανίνης (AST, ALT), την ALP, την κρεατινίνη, τη χολερυθρίνη, την ουρία και το ουρικό οξύ. Επιπλέον, το MDA στο ήπαρ, τους νεφρούς και την καρδιά ήταν σημαντικά αυξημένο, αλλά στους ακτινοβολημένους αρουραίους μειώθηκαν το μονοξειδίο του αζώτου, η καταλάση, η SOD και η HDL-C. Η συχορήγηση υδατικού εκχυλίσματος PA (400 mg/kg) και ιχθυελαίου (60 mg/kg σωματικού βάρους) μέσω γαστρικής διασωλήνωσης για 15 ημέρες μείωσε σημαντικά τη μεταβολή των λιπιδίων, τις λειτουργίες του ήπατος και των νεφρών, καθώς και το οξειδωτικό στρες σε ακτινοβολημένους αρσενικούς αλμπίνους αρουραίους [35].

Αξιολογήθηκαν τα εναιωρήματα της μεθανόλης και εκχυλίσματα πετρελαϊκού αιθέρα ολόκληρου του φυτού σε καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη, για την ηπατοπροστατευτική τους δράση σε Wistar αρουραίους στους οποίους είχε προκληθεί ηπατική βλάβη με D-

γαλακτοζαμίνη (400 mg/kg). Οι αλλοιωμένες βιοχημικές παράμετροι αποκαταστάθηκαν σημαντικά στα επίπεδα δόσης των 200 και 400 mg/kg σε σύγκριση με τις ομάδες που έλαβαν d-γαλακτοζαμίνη και Silymarin.

Η ιστολογία των ηπατικών τμημάτων των αλμπίνων αρουραίων έδειξε επίσης να αποτρέπεται σημαντικά η τοξικότητα της d - γαλακτοζαμίνης όπως αποκαλύπτεται από τα ηπατικά κύτταρα με καλά διατηρημένη κυτταρική αρχιτεκτονική. Βιοχημικά και ιστολογικά δεδομένα επιβεβαίωσαν σημαντική ηπατοπροστατευτική δράση αυτών των εκχυλισμάτων [36].

Εκχύλισμα από αποξηραμένο χυμό γλιστρίδας δοκιμάστηκε σε αρουραίους κατά του τετραχλωράνθρακα (CCl<sub>4</sub>), μία από τις ισχυρότερες ηπατοτοξίνες. Η χορήγηση 150 και 300 mg/kg γλιστρίδας για 10 συνεχόμενες μέρες πριν την χορήγηση του CCl<sub>4</sub> απέτρεψε σημαντικά την αύξηση στα επίπεδα ορού των ηπατικών ενζύμων, την γλουταμινική οξυαλοξική τρανσαμινάση (GOT – glutamate oxaloacetate transaminase), της γλουταμινικής πυροσταφυλικής τρανσαμινάσης (GPT – glutamate pyruvate transaminase), της γ-γλουταμυλοτρανσφεράσης (γ-GT – gamma glutamyl transferase), της αλκαλικής φωσφατάσης (ALP – alkaline phosphatase) και της χολερυθρίνης (bilirubin). Το εκχύλισμα φέρεται ότι έχει την ικανότητα να αναπληρώνει το επαγόμενο από τον CCl<sub>4</sub> μειωμένο επίπεδο συγκέντρωσης του σουλφωδρυλίου και της μαλονδιαλδεΐδης (MDA – malondialdehyde) στον ηπατικό ιστό. Από τα ευρήματα αυτά προκύπτει η επίδραση της γλιστρίδας στην αποτροπή της οξείας ηπατικής βλάβης μέσω των εγγενών αντιοξειδωτικών χημικών συστατικών τα οποία δρουν ως ισχυρά αντιοξειδωτικά [6].

Ο Ahmida και οι συνεργάτες του διερεύνησαν την επίδραση του φρέσκου χυμού γλιστρίδας στο οξειδωτικό στρες στην επαγόμενη από την παρακεταμόλη ηπατική τοξικότητα σε αρσενικούς αρουραίους. Η μελέτη περιελάμβανε βιοδείκτες ηπατικής τοξικότητας όπως η ιστοπαθολογική μελέτη και δραστηριότητα των AST, ALT, ALP και γ-GT στον ορό αίματος. Το οξειδωτικό στρες και τα αντιοξειδωτικά του ήπατος μελετήθηκαν με τον προσδιορισμό της μειωμένης γλουταθειόνης (GSH - glutathione), της δισμουτάσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου (SOD - Dismutase Superoxide) και της δράσης της καταλάσης (CAT - catalase) και της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων. Η χορήγηση χυμού γλιστρίδας μαζί με την παρακεταμόλη, βελτίωσε σημαντικά τους δείκτες ηπατοτοξικότητας. Επιπλέον, καταπραΰνονται οι οξειδωτικές αλλαγές, που προκαλούνται από την παρακεταμόλη, στο ήπαρ με αποτέλεσμα ο χυμός να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προστατευτικός παράγοντας και να περιορίσει την ηπατική βλάβη που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες [37].

Τέλος η ουσία Clerodene diterpene portulene, η οποία εξάχθηκε πρόσφατα από το φυτό φέρεται να έχει ηπατοπροστατευτικά αποτελέσματα [38].

### Νεφρο-προστατευτική δράση

Υπάρχουν αρκετά στοιχεία σχετικά με την παραδοσιακή χρήση του φυτού σε νεφροπάθειες. Η γενταμικίνη είναι μία αμινογλυκοσίδη, η οποία χρησιμοποιείται για την θεραπεία διαφόρων τύπων βακτηριακών λοιμώξεων. Παρά τις πολύ σημαντικές ιατρικές ιδιότητες παρουσιάζει μία δόσοεξαρτώμενη νεφροτοξικότητα, προκαλώντας βλάβες στην ψυκτροειδή παρυφή του νεφρικού σωληναριακού επιθηλίου (BBM) και στην

πλαγιοβασική μεμβράνη του νεφρικού σωληναριακού επιθηλίου BLM, στα λυσοσώματα, αλλά και οξειδωτικό στρες στους ιστούς του νεφρού. Σε έρευνα η οποία πραγματοποιήθηκε σε δύο διαφορετικές ομάδες αρσενικών αλμπίνων αρουραίων χορηγήθηκε για 15 ημέρες, μέσω γαστρικής διασωλήνωσης, υδατικού εκχυλίσματος γλιστρίδας (400mg/kg/ημερησίως) και ιχθυελαίου (5 mg/kg/ημερησίως). Στους αρουραίους είχε προκληθεί νεφροτοξικότητα χορηγώντας 80 mg/kg/ημερησίως γενταμικίνη. Τα αυξημένα επίπεδα της ουρίας, του ουρικού οξέος και της κρεατινίνης στο πλάσμα της γενταμικίνης μειώθηκαν σημαντικά μετά τη χορήγηση του υδατικού διαλύματος, υποστηρίζοντας οι αντιοξειδωτικές ενώσεις του φυτού δρουν κατά της οξειδωτικής καταπόνησης στους νεφρικούς ιστούς [39].

Σε άλλη μελέτη υδατικό (0,2, 0,4 και 0,8 g/kg ενδοπεριτοναϊκά) και αιθανολικό εκχύλισμα (0,5, 1 και 2 g/kg) γλιστρίδας χρησιμοποιήθηκε σε αρσενικούς Wistar αρουραίους για την καταπολέμηση της νεφρικής τοξικότητας που προκαλείται από την cisplatin. Η θεραπεία με υδατικά και αιθανολικά εκχυλίσματα στην υψηλότερη δόση (0,8 και 2 g/kg), 6 και 12 ώρες πριν από την έγχυση cisplatin (4 mg/kg) μείωσε το άζωτο της ουρίας και την κρεατινίνη ορού και δεν παρατηρήθηκε οξεία σωληναριακή νέκρωση. Αντιθέτως σε ομάδα αρουραίων στους οποίους χορηγήθηκε υδατικό και αιθανολικό εκχύλισμα, 6 και 12 ώρες μετά την έγχυση cisplatin, παρατηρήθηκαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα αζώτου ουρίας αίματος και κρεατινίνης ορού, σε σύγκριση με άτομα που έλαβαν μόνο cisplatin, αλλά παρατηρήθηκε ήπια έως μέτρια κυτταρική βλάβη. Ο προτεινόμενος μηχανισμός δράσης είναι σχεδόν παρόμοιος με αυτούς που συζητήθηκαν για τη γενταμικίνη. Ωστόσο, η ενεργοποίηση των παραγόντων προφλεγμονής είναι ένας άλλος μηχανισμός νεφροτοξικότητας που προκαλείται από τη cisplatin και οι αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις της γλιστρίδας μπορεί να αποτελούν έναν πρόσθετο μηχανισμό προστασίας [40]. Το πρόβλημα που παρουσιάζεται και στις δύο μελέτες είναι ότι χρειάζονται υψηλές δόσεις για να επιτευχθεί προστασία, καθώς και το γεγονός ότι δεν αξιολογήθηκε η τοξικότητα των εκχυλισμάτων στους νεφρούς [22].

Μία από τις συνηθέστερες μικροαγγειακές επιπλοκές του διαβήτη και η κύρια αιτία της νεφροπάθειας τελικού σταδίου είναι η διαβητική νεφροπάθεια. Η χορήγηση υδατικού εκχυλίσματος (300 mg/kg/ημέρα, p.o.) γλιστρίδας για δέκα εβδομάδες σε db/db ποντικών μείωσε τη διαβητική νεφροπάθεια λόγω αναστολής της νεφρικής ίνωσης και φλεγμονής. Επιπλέον, θα μπορούσε να μειώσει σημαντικά την πρόσληψη νερού, τον όγκο των ούρων και τα επίπεδα της γλυκόζης και της κρεατινίνης στο πλάσμα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (control group). Πιο λεπτομερείς μελέτες αποκάλυψαν ότι η χορήγηση γλιστρίδας, καταστέλλει σημαντικά ( $p < 0,01$ ) την ενεργοποίηση του NF-κB p65 που παρατηρείται κανονικά σε db/db ποντίκια. Η ροσιγλιταζόνη, εκλεκτικός αγωνιστής του πυρηνικού υποδοχέα PPAR –  $\gamma$  (the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  agonist), σε δόση 10 mg/kg/ημέρα, επιλέχθηκε ως ο μάρτυρας [41].

Η αξιολόγηση της αντινεφρολιθιακής δράσης του αιθανολικού εκχυλίσματος γλιστρίδας (100, 200 και 400 mg/kg/ημέρα για 15 ημέρες, από του στόματος) σε αρουραίους, έδειξε ότι το εκχύλισμα θα μπορούσε να αποτρέψει τη δημιουργία ουρολιθίας από αιθυλενογλυκόλη (0,75% v/v) και χλωριούχο αμμώνιο (2% w/v) που προκαλείται από τον σχηματισμό οξαλικού ασβεστίου με αναστολή της κρυστάλλωσης και τις διουρητικές ιδιότητες του. Η γλιστρίδα θα μπορούσε επίσης να αποκαταστήσει τα αυξημένα επίπεδα ασβεστίου, κρεατινίνης, ουρίας και BUN στο πλάσμα. Η δραστική

αγωγή άλλαξε τα ούρα σε φυσιολογικά επίπεδα (από 6 σε 8) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Η αντισπασμωδική δράση οδήγησε στη μείωση των συμπτωμάτων των νεφρικών λίθων. Η αντιουρολιθική δράση μπορεί να οφείλεται στην παρουσία αλάτων καλίου, φλαβονοειδών, φαινολικών ενώσεων και σαπωνινών σε εναέρια μέρη του φυτού. Οι επιδράσεις του αιθανολικού εκχυλίσματος PA στα 400 mg/kg ήταν συγκρίσιμες με αυτές του Cystone (700 mg/kg) που χρησιμοποιείται συνήθως ως φαρμακευτικό σκεύασμα [22].

### Νευρο-προστατευτική δράση

Αξιολογήθηκαν οι επιδράσεις των φλαβονών, που εξάγονται από την γλιστρίδα, στην ικανότητα ανοχής των ποντικών σε συνθήκες υποξίας. Βρέθηκε ότι ο χρόνος επιβίωσης της ομάδας που υποβλήθηκε σε θεραπεία ήταν σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με την ομάδα που δεν χορηγήθηκαν φλαβόνες. Τα επίπεδα των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC – red blood cells), της αιμοσφαιρίνης (Hb – hemoglobin), του αιματοκρίτη (HCT - hematocrit test), της ερυθροποιητίνης ( EPO – erythropoietin) και σχετικές τιμές του EPO mRNA στο νεφρικό ιστό και στον εγκεφαλικό φλοιό των ποντικών ήταν σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα υπό θεραπεία [42].

Ο Wang και η ομάδα του διερεύνησαν την υποξική νευροπροστατευτική δράση εκχυλισμάτων γλιστρίδας σε BALB/c ποντικούς. Έγινε σύγκριση μεταξύ ατόμων στα οποία για 7 ημέρες δέχθηκαν εκ του στόματος χορήγηση εκχυλισμάτων γλιστρίδας (0,25, 0,5 και 1 g/kg/ημέρα) και ατόμων που χορηγήθηκε απεσταγμένο νερό. Διατηρήθηκαν σε περιβάλλον με σταθερά χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου (10% οξυγόνο, 90% άζωτο). Οι εγκεφαλικοί φλοιοί των ποντικών χρησιμοποιήθηκαν για ιστολογική ανάλυση. Ανιχνεύθηκαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα της πυροσταφυλικής κινάσης (PK – pyruvate kinase), της φωσφοφρουκτοκινάσης (PKF – phosphofructokinase), του γαλακτικού οξέος καθώς και τα επίπεδα της γαλακτικής δεϋδρογονάσης (LDH – lactate dehydrogenase) και του ATP, των υποξικών εγκεφαλικών φλοιών σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, ενώ αναλύθηκαν το mRNA και τα επίπεδα της ερυθροποιητίνης στου ιστούς. Τα κύτταρα PC-12 και τα ανεπτυγμένα νευρικά κύτταρα χρησιμοποιήθηκαν για την δοκιμασία βρωμιούχου 3-(4,5-διμεθυλοθειαζόλη-2-υλο) 2,5 διφαινυλοτετραζολίου (MTT analysis). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα εκχυλίσματα γλιστρίδας ενίσχυσαν την EPO mRNA και την πρωτεϊνική έκφραση στους εγκεφαλικούς ιστούς των ποντικών. Σε σύγκριση με το control, τα ποντίκια της ομάδας που δέχτηκαν αγωγή 1 g/ημέρα παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερη δραστηριότητα PFK, LDH, PF και υψηλότερα επίπεδα ATP στους φλοιούς ιδιαίτερα μετά την παραμονή τους στο υποξικό περιβάλλον για 24 ώρες. Η ιστολογική ανάλυση ανέδειξε λιγότερες φλεγμονώδεις βλάβες στον εγκεφαλικό ιστό των ποντικών. Στην MTT ανάλυση φάνηκε ότι τα εκχυλίσματα αύξησαν την βιωσιμότητα των κυττάρων στις υποξικές συνθήκες και μείωσαν τα ποσοστά LDH στο μέσο της καλλιέργειας κατά δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Οι συγγραφείς πρότειναν ότι η αύξηση μπορεί να είναι το αποτέλεσμα της ενίσχυσης της έκφρασης παράγοντα - 1 της υποξίας (HIF- 1) [43]. Το αιθανολικό εκχύλισμα γλιστρίδας (0,5, 1 ή 2 mg/kg, από του στόματος, 7 ημέρες) σε υψηλές δόσεις διέγειρε την ενδογενή έκφραση της ερυθροποιητίνης τόσο σε mRNA όσο και σε πρωτεϊνικό επίπεδο, σταθεροποιώντας τα HIFs, HIF-1α, στον εγκεφαλο ποντικών με ICR. Επιπλέον, το εκχύλισμα μείωσε τα επίπεδα της ειδικής νευρωνικής ενόλασης (NSE) του ορού σε υποξικά ποντίκια και τη δραστηριότητα της κασπάση - 3 στους νευρώνες, μειώνοντας τις παθολογικές βλάβες που προκαλούνται από την κατάσταση υποξίας.

Επίσης, η PA θα μπορούσε να αυξήσει τη βιωσιμότητα των νευρώνων σε συνθήκες υποξίας [44].

Δόσεις 2,5, 5 και 10 mg (/kg/μέρα) εκχυλισμάτων γλιστρίδας χορηγήθηκαν σε SD ποντίκια στα οποία γινόταν καθημερινή χορήγηση D-γαλακτόζης σε δόση 50 mg/kg/μέρα. Τα ποντίκια που δέχονταν τα εκχυλίσματα παρουσίασαν υψηλότερη δραστηριότητα κατά την επαγωγή από νέα περιβαλλοντικά ερεθίσματα, χαμηλότερο άγχος και σημαντικά

βελτιωμένη ικανότητα μάθησης και μνήμης σε σύγκριση με τα ποντίκια που θεραπεύονταν με μόνο με D-γαλακτόζης. Το εκχύλισμα αύξησε σημαντικά την δράση της δισμουτάσης του υπεροξειδίου - SOD και μείωσε το επίπεδο της μαλονδιαλδεϋδης. Επιπλέον, το μήκος των τελομερών ήταν μεγαλύτερο στην ομάδα που υποβλήθηκε σε θεραπεία με γλιστρίδα σε σύγκριση με την ομάδα στην οποία χορηγήθηκε D-γαλακτόζη. Βρέθηκε ότι το p21 waf1 ήταν υποεκφραζόμενο χωρίς να επηρεάζεται η έκφραση του p53. Τα αποτελέσματα οδήγησαν τους ερευνητές στο συμπέρασμα ότι τα εκχυλίσματα χρησιμοποιούν ένα μονοπάτι σχετιζόμενο με το p21 waf1 αλλά ανεξάρτητο από το p53 [45].

Σε μια άλλη μελέτη, οι Moneim et al. κατέδειξαν ότι η χορήγηση υδατικού διαλύματος γλιστρίδας αύξησε σημαντικά τις διάφορες μονοαμίνες, τη δράση της ακετυλοχολινεστεράσης λόγω της περιεκτικότητάς της σε μελατονίνη, ω-3 λιπαρά οξέα, φαινολικές και φλαβονοειδείς ενώσεις και άλλα δραστικά συστατικά στους αρουραίους, υποδηλώνοντας έτσι την δυναμική επίδραση της γλιστρίδας στους νευροδιαβιβαστές, οι οποίοι αποτελούν αναπόσπαστο μέρος πολλών νευροεκφυλιστικών διαταραχών. Η από του στόματος χορήγηση του υδατικού εκχυλίσματος φύλλων και στελεχών γλιστρίδας (1,5 mL/kg) για 12 ημέρες σε αρουραίους μείωσε σημαντικά τη συγκέντρωση ασβεστίου στον εγκεφαλικό φλοιό. Το εκχύλισμα αύξησε το επίπεδο ντοπαμίνης στην παρεγκεφαλίδα, τον εγκεφαλικό φλοιό, θάλαμο και υποθάλαμο. Αύξησε τα επίπεδα νορεπινεφρίνης και σεροτονίνης στην παρεγκεφαλίδα, στον προμήκη μυελό, στην γέφυρα, στον εγκεφαλικό φλοιό, τον θάλαμο και τον υποθάλαμο. Ωστόσο, η χορήγηση υδατικού εκχυλίσματος μείωσε τα επίπεδα ντοπαμίνης, νορεπινεφρίνης και σεροτονίνης στο νωτιαίο μυελό. Η ακετυλοχολινεστεράση αυξήθηκε σε όλες τις περιοχές του εγκεφάλου εκτός από την παρεγκεφαλίδα [46].

Το 2013 οι ίδιοι ερευνητές αξιολόγησαν τη νευροπροστατευτική δράση ενός υδατικού εκχυλίσματος γλιστρίδας (1,5 mL/kg, 12 ημέρες) στην εγκεφαλική βλάβη που προκλήθηκε από τη χορήγηση ροτενόνης σε αρσενικούς Wister αλμπίνο αρουραίους. Το φυτικό εκχύλισμα θα μπορούσε να αναστείλει το μεταβολισμό της ντοπαμίνης και την επαγωγή της απόπτωσης στο ραβδωτό σώμα (πυρήνας του τελικού εγκεφάλου, ανήκει στα βασικά γάγγλια) των αρουραίων. Πρότειναν μάλιστα ότι μπορεί να θεωρηθεί ως καλός υποψήφιος για μελλοντική ερευνητική θεραπεία της νόσου του Πάρκινσον ή των άλλων νευροαγγειακών εγκεφαλικών βλαβών. Η ροτενόνη είναι ένας ισχυρός αναστολέας του μιτοχονδριακού συμπλέγματος I. Η αναστολή αυτού του συμπλέγματος οδηγεί στην παραγωγή των ελεύθερων ριζών O<sub>2</sub> που στη συνέχεια προκαλεί οξειδωτικό στρες στους νευρώνες. Επίσης, στη νόσο του Πάρκινσον το οξειδωτικό στρες είναι η κύρια αιτία της απόπτωσης που προκαλείται στους νευρώνες. Προ - και ταυτόχρονη θεραπεία με γλιστρίδα μείωσε την παραγωγή νιτρωδών/νιτρικών, τις εκφράσεις επαγωγίμης συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου (iNOS) και υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, τα επίπεδα γλουταθειόνης, και τα επίπεδα LDH. Ο αριθμός των νευρώνων NF-κB αυξήθηκε κανονικά

μετά τη χορήγηση ροτενόνης. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι η προστατευτική δράση του φυτού οφείλεται κυρίως στην αντιοξειδωτική του δράση [47].

### Μυοχαλαρωτική δράση

Αξιολογήθηκε η μυοχαλαρωτική δράση, υδατικών εκχυλισμάτων, εκχυλισμάτων μεθανόλης και HCl, στους σκελετικούς μύες Sprague-Dawley ποντικών. Η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση ήταν ποιο αποτελεσματική από την στοματική χορήγηση. Το εκχύλισμα (200-1000 mg/kg) έδειξε αποτελεσματικότερη δραστηριότητα μυοχαλαρωτικού των σκελετικών μυών σε σύγκριση με τη διαζεπάμη (40 mg/kg), τη χλωροδιαζεποξείδη (20 mg/kg) και το νατριούχο δαντρολένιο (30 mg/kg, από του στόματος). Βρέθηκε ότι το εκχύλισμα ανέστειλε την σύσπαση του ημιδιαφράγματος μετά από τεχνητή διέγερσή του μέσω του φρενικού νεύρου. Σημειώνεται επίσης ότι οι επιδράσεις του εκχυλίσματος μιμούνται ποιοτικά την δράση του οξαλικού καλίου. Στο εκχύλισμα μεθανόλης απομακρύνθηκαν τα ιόντα  $K^+$  και παρατηρήθηκε μείωση της ανασταλτικής τους δράσης. Υπήρξε θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των ιόντων  $K^+$  και των επιδράσεων χλωριούχου καλίου παρόμοιας συγκέντρωσης. Συμπεραίνεται ότι η περιεκτικότητα της γλιστρίδας σε ιόντα καλίου είναι τουλάχιστον εν μέρει υπεύθυνη για την χαλαρωτική επίδραση που παρατηρείται στο απομονωμένο διάφραγμα αρουραίων [48].

### Επίδραση στις λείες μυϊκές ίνες

Υδατικό εκχύλισμα φύλλων και στελεχών γλιστρίδας παρήγαγε μία δοσοεξαρτώμενη χαλάρωση του βυθού σε ινδικά χοιρίδια, των λείων μυών του παχέος εντέρου και της νήσιδας σε κουνέλια και μία δοσοεξαρτώμενη συστολή της αορτής σε κουνέλια. Μετά από αυτόματα και ηλεκτρική διέγερση δεξιού και αριστερού κόλπου κουνελιών, το εκχύλισμα παρήγαγε δοσοεξαρτώμενη αρνητική ινότροπο και χρονότροπο δράση. Ακόμη παρατηρήθηκε δοσοεξαρτώμενη επίδραση στην αρτηριακή πίεση των αρουραίων από το εκχύλισμα. Η φαιτολαμίνη μείωσε τη χαλαρωτική επίδραση του εκχυλίσματος στους λείους μύες του εντέρου και κατήργησαν την συσταλτική δράση στην αορτή, καθώς και την απόκριση στην αρτηριακή πίεση. Αντιθέτως η γουανεθιδίνη και η τετροδοτοξίνη δεν είχαν καμία επίδραση στην αποτελεσματικότητα του εκχυλίσματος. Η ατροπίνη και η κυπροεπταδίνη δεν είχαν καμία επίδραση στην μείωση της αρτηριακής πίεσης που προκαλείται από το εκχύλισμα γλιστρίδας, ενώ η προπρανολόλη μείωσε ελαφρώς την ανταπόκριση στην πίεση. Αύξηση του εξωκυττάριου ασβεστίου ανέστρεψε την ανασταλτική δράση του εκχυλίσματος στον κόλπο της καρδιάς του κουνελιού. Συνεπώς το εκχύλισμα μπορεί να δράσει εν μέρει σε μετασυναπτικούς άλφα - αδρενεργικούς υποδοχείς καθώς και μέσω παρεμβολής στην διαμεμβρανική εισροή ασβεστίου [49].

### Αντιδιαβητική δράση

Για πρώτη φορά, έχει αποδειχθεί από τον Al, Chalabi (2009) ότι μια ενιαία ενδοπεριτοναϊκή ένεση δύο πρωτεϊνικών ενώσεων (σε δόση 77,5 mg/kg) του υδατικού



εκχυλίσματος PA σε ενήλικους αρσενικούς ποντικούς, προκάλεσε σημαντική μείωση στη γλυκόζη ορού, τη χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια (TGs) και τα επίπεδα ολικών λιπιδίων καθώς και τα επίπεδα γλυκογόνου στο ήπαρ [22].

Έχει αναφερθεί ότι το υδατικό εκχύλισμα γλιστρίδας (300 mg/kg/ημέρα) μπορεί να βελτιώσει τις διαβητικές αγγειακές επιπλοκές σε αρσενικά ποντίκια C57BL/6 J μετά από θεραπεία 10 εβδομάδων. Υπερέκφραση του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης – 1 (ICAM-1), του μορίου αγγειακής προσκόλλησης – 1 (VCAM -1), της σελεκτίνης-E, της μεταλλοπρωτεϊνάσης- 2 της μεσοκυττάριας ουσίας (MMP- 2) και της ενδοθηλίνης- 1 (ET- 1) παρατηρήθηκαν σε αορτικούς ιστούς ποντικών στους οποίους δεν χορηγήθηκε θεραπευτική αγωγή, οι οποίοι καταστάθηκαν σημαντικά από τη χορήγηση υδατικού διαλύματος γλιστρίδας. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι οι διαβητικοί ποντικοί στους οποίους χορηγήθηκε δόση 300 mg/kg/ημέρα, εμφάνισαν μείωση στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων του πλάσματος, στη συστολική αρτηριακή πίεση, στη γλυκόζη του αίματος και στα επίπεδα της LDL-C στο πλάσμα. Επιπλέον, η γλιστρίδα θα μπορούσε να αυξήσει τα επίπεδα της HDL-C και της ινσουλίνης στο πλάσμα. Ως εκ τούτου, αποτρέπει τη δυσλειτουργία και τη φλεγμονή σε διαβητικές αγγειακές παθήσεις [50].

Σε μια άλλη μελέτη, έχει προταθεί ότι το μείγμα των σπόρων γλιστρίδας και κολοκύθας έχει υπολιπιδαιμικές, υποτριγλυκεριδικές και υποχοληστερολαιμικές επιδράσεις μετά από 6 εβδομάδες στο ήπαρ και το πλάσμα των ενήλικων αρσενικών αλμπίνων αρουραίων (Sprague- Dawley), με μείωση στη χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα (LDL-C) και μια αύξηση στα επίπεδα της χοληστερόλης λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας (HDL). Επιπλέον, είχε αντιαθηρογόνο δράση λόγω σημαντικής μείωσης του λόγου LDL/HDL. Ανακάλυψαν ότι αυτές οι λειτουργίες μπορεί να έχουν μεσολαβηθεί από άκορεστα λιπαρά οξέα όπως το άλφα λινολενικό οξύ που παρουσιάζεται στο μείγμα σπόρων [51].

Εκτιμήθηκε η επίδραση του πολυσακχαρίτη της γλιστρίδας σε πειραματικά προκαλούμενο διαβήτη, μετά από χορήγηση αλλοζάνης, σε αρουραίους. Η έρευνα έδειξε ότι η θεραπεία με πολυσακχαρίτες γλιστρίδας μειώνει τη γλυκόζη νηστείας του αίματος, την ολική χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια. Ακόμη έδειξε βελτίωση στην αύξηση του σωματικού βάρους σε διαβητικούς αρουραίους, καθώς επίσης και αύξηση των επιπέδων ινσουλίνης στον ορό με δόσοεξαρτώμενη σχέση σε σύγκριση με το control group. Σύμφωνα με το SCGE (single cell gel electrophoresis) assay και την LD analysis ο πολυσακχαρίτης αποδείχθηκε μη τοξικός για τα ζώα. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι ο πολυσακχαρίτης αμβλύνει την αύξηση της γλυκόζης και των λιπιδίων στο αίμα που σχετίζεται με το διαβήτη, βελτιώνει το μη φυσιολογικό μεταβολισμό της γλυκόζης και αυξάνει την έκκριση ινσουλίνης, αποκαθιστώντας έτσι τη διαταραγμένη λειτουργία των παγκρεατικών κυττάρων σε αρουραίους με προκαλούμενο από αλλοζάνη διαβήτη, υπαινίσσοντας με αυτό τον τρόπο την χρησιμότητά του στη θεραπεία του διαβήτη [52].

Η Gong et al. αξιολόγησε επίσης τις επιδράσεις του ακατέργαστου πολυσακχαρίτη από τη γλιστρίδα στη γλυκόζη του αίματος, το σωματικό βάρος, την ολική χοληστερόλη, την HDL ( high - density lipoprotein), τα τριγλυκερίδια και τα επίπεδα της ινσουλίνης στον ορό σε ποντίκια με σακχαρώδη διαβήτη. Η αγωγή με ακατέργαστο πολυσακχαρίτη γλιστρίδας σε δόση 200-400 mg/kg για 28 ημέρες, οδήγησε σε σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων γλυκόζης, χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων νηστείας στο αίμα. Επιπλέον, αυτός ο πολυσακχαρίτης αύξησε σημαντικά τη συγκέντρωση της HDL, το

σωματικό βάρος και τα επίπεδα της ινσουλίνης στον ορό στα ποντίκια. Σύμφωνα με μελέτες δεν προκάλεσε καμία τοξική επίδραση, ενώ τα βέλτιστα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν σε δόση 400mg/kg [53].

Μελετήθηκε ακόμη η επίδραση εκχυλίσματος γλιστρίδας (άνω μέρος) στα επίπεδα γλυκόζης του αίματος, στην υπεροξειδωση των λιπιδίων και στην αντιοξειδωτική δράση σε διαβητικούς αρουραίους. Η θεραπεία με εκχύλισμα φύλλων γλιστρίδας σε δόση 100 και 250 mg/kg για τρεις εβδομάδες έδειξε σημαντική μείωση στις δραστικές ουσίες του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBRAS – thiobarbituric acid reactive substances) και αύξηση στη ρεδοκτάση της γλουταθειόνης (GSH-R – glutathione reductase), τόσο στο ήπαρ όσο και στους νεφρούς STZ (streptozotocin) διαβητικών αρουραίων, τόσο ώστε να είναι συγκρίσιμα με την ομάδα control. Επίσης, η θεραπεία με γλιστρίδα και τολβουταμίδη έδειξε μειωμένη υπεροξειδωση των λιπιδίων, η οποία συσχετίζεται με αυξημένη δραστηριότητα της SOD και της CAT. Μελέτη έδειξε ότι αν και το εκχύλισμα γλιστρίδας έχει μέτρια αντιδιαβητική δραστηριότητα, παρουσιάζει πάραυτα ισχυρή αντιοξειδωτική δράση σε διαβητικούς [54].

### Τοξικές επιδράσεις

Μελέτες για την τοξική επίδραση διενεργήθηκαν από τον Musa et al. με ενδοπεριτοναϊκή έγχυση εκχυλίσματος μεθανόλης γλιστρίδας σε ποντίκια. Η LD 50 (lethal dose 50%) με τη μέθοδο Miller και Tainter ήταν 1853,5 mg/kg-1, την Reed και Muench 1871 mg/kg-1 και τη μέθοδο Karber 1875 mg/kg-1, ευρήματα τα οποία δείχνουν ότι το φυτό έχει μέτρια τοξικότητα. Ιστοπαθολογικά ευρήματα έδειξαν επίσης την τοξική επίδραση σε νεφρούς, πνεύμονες και ήπαρ με δοσοεξαρτώμενο τρόπο, ενώ η καρδιά και ο σπλήνας δεν έδειξαν ιστοπαθολογικά κάποια βλάβη [6].

### Αντιφλεγμονώδης δράση

Ένα εκχύλισμα από τα εναέρια μέρη του φυτού και 10% αιθανόλη έδειξε σημαντική αντιφλεγμονώδη δράση σε οίδημα οπίσθιου ποδιού που προκλήθηκε από την καραγενάνη (Carrageenan) και σε κοκκιώματα που προκαλούνται από σφαιρίδια βαμβακιού σε αρουραίους και σημαντική αναλγητική δραστηριότητα στα μοντέλα θερμής πλάκας και κίνησης ουράς (σε ποντίκια και αρουραίους, αντίστοιχα) μετά από ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση [55].

### Επούλωση τραυμάτων

Η δραστηριότητα του φυτού στην προκαταρκτική επούλωση πληγών μελετήθηκε χρησιμοποιώντας JVI-1 μοντέλα ποντικών (*Mus musculus*). Για αυτό τον σκοπό χρησιμοποιήθηκε φρέσκο ομογενοποιημένο ακατέργαστο εναέριο γλιστρίδας, εφαρμόστηκε τοπικά στην επιφάνεια του τραύματος ως μονή και ως διπλή δόση σε διαφορετικές ποσότητες. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν έδειξαν ότι επιταχύνεται η διαδικασία επούλωσης των πληγών μειώνοντας την επιφάνεια του τραύματος, με την μεγαλύτερη συστολή να επιτυγχάνεται σε μια εφάπαξ δόση των 50 mg και η δεύτερη

μεγαλύτερη κατά δύο δόσεις των 25 mg [56]. Η τοπική εφαρμογή ακατέργαστου εκχυλίσματος των εναέριων τμημάτων του φυτού σε εκκοκκισμένες πληγές ποντικού (JVI-1) έδειξε επουλωτική δράση υποδηλώνοντας το ρόλο του στην επούλωση [31].

### Δράση κατά των ελκών στο γαστρεντερικό

Η γαστροπροστατευτική δράση με την χρήση 50% αιθανολικού εκχυλίσματος (50, 100 και 150 mg/kg σωματικού βάρους BD, εκτός του στόματος χρήση), αξιολογήθηκε σε διαφορετικά μοντέλα γαστρικού έλκους (δηλ. έλκη που προκαλούνται από αιθανόλη, ασπιρίνη, στρες ψυχρής συγκράτησης και απολίνωση πυλωρού) σε αρουραίους. Η μελέτη έδειξε δοσοεξαρτώμενη αναστολή του δείκτη του έλκους με μέγιστη μείωση του δείκτη από το αιθανολικό εκχύλισμα και ελάχιστη αναστολή του έλκους που προκαλείται από ασπιρίνη. Το εκχύλισμα αποτρέπει επίσης την οξειδωτική βλάβη του γαστρικού βλεννογόνου εμποδίζοντας την υπεροξειδωση των λιπιδίων και με σημαντική μείωση της δισμουτάσης του υπεροξειδίου και αύξηση της δραστηριότητας της καταλάσης [57].

Οι Karimi et al. μελέτησαν επίσης το υδατικό και αιθανολικό εκχύλισμα ολόκληρων φυτών σε ποντίκια για την ικανότητά τους να αναστέλλουν τις βλάβες που προκαλούνται από το HCl στο γαστρεντερικό σύστημα, την απόλυτη αιθανόλη και την απολίνωση πυλόρου, και να το συγκρίνουν με το σουκραλφάτη. Επιπλέον, μέτρησαν τις επιδράσεις στην έκκριση γαστρικού οξέος, όπου και τα δύο εκχυλίσματα έδειξαν δοσοεξαρτώμενη μείωση της σοβαρότητας των ελκών. Η υψηλότερη δόση εκχυλισμάτων ασκούσε παρόμοια δραστηριότητα με τη σουκραλφάτη. Η από του στόματος και η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση εκχυλισμάτων μείωσε τη γαστρική οξύτητα σε μύες που σχηματίζουν πυλόρους. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι το *P. oleracea* έχει σημαντική γαστροπροστατευτική δράση η οποία θα μπορούσε να οφείλεται σε παράγοντες γαστρικής άμυνας και να επικυρώσει τη χρήση του στη λαϊκή ιατρική για γαστρεντερικές παθήσεις [58].

### Δράση έναντι της εμφύτευσης στο ενδομήτριο και αποβολές

Σε μια μελέτη χορηγήθηκαν σε Albino αρουραίους από του στόματος ακατέργαστα εκχυλίσματα γλιστρίδας (από τον άνω μέρος) με πετρελαϊκό αιθέρα, χλωροφόρμιο και αιθανόλη σε δόση 250 και 500 mg/kg/μέρα, για 7 ημέρες και διερευνήθηκε η επίδραση αυτών έναντι της εμφύτευσης στο ενδομήτριο και στις αποβολές. Η θεραπεία με ακατέργαστο εκχύλισμα πετρελαϊκού αιθέρα έδειξε μείωση κατά 20% και 30% στην ικανότητα εμφύτευσης σε χαμηλές (250) και υψηλές δόσεις (500mg/kg) αντίστοιχα. Ακολούθως, η χορήγηση ακατέργαστου εκχυλίσματος αιθανόλης έδειξε 40% και 50% μείωση στην εμφυτευτική δραστηριότητα στις ίδιες δόσεις, ενώ το εκχύλισμα χλωροφορμίου ανέδειξε την μεγαλύτερη αντιεμφυτευτική επίδραση με μείωση κατά 50% και 60% σε χαμηλές και υψηλές δόσεις αντίστοιχα. Η χορήγηση ακατέργαστου εκχυλίσματος αιθανόλης σε εγκύους αρουραίους παρουσίασε επεισόδια αποβολών, δράση η οποία δεν παρατηρήθηκε με την θεραπεία με τα άλλα δύο εκχυλίσματα [59].

Παρόμοια αποτελέσματα είχε και η χορήγηση απεξηραμένου φυτικού υλικού σε υψηλές δόσεις (500 mg/kg) σε θηλυκούς αρουραίους. Η περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή μπορεί να αλλάξει τον οιστρικό κύκλο με μια παρατεταμένη δίαιτα. Θα μπορούσε να

αυξήσει το βάρος των ωοθηκών και το βάρος των μυών της μήτρας. Αυτές οι ορμονικές αλλαγές στο σώμα, οδηγούν στην αντιγονικότητα [60].

### Κυτταροτοξική δράση

Γενικά, οι μελέτες έδειξαν δεν είναι ένα αξιοσημείωτο κυτταροτοξικό φυτό. Τέσσερις μελέτες έδειξαν καμία ή ασθενή κυτταροτοξική δράση για το εκχύλισμα μεθανόλης PA. Δύο καινοτόμα τριτερπενοειδή που απομονώθηκαν έδειξαν ασθενή κυτταροτοξικότητα στη δοκιμασία MTT. Τα θειωμένα παράγωγα των πολυσακχαριτών που απομονώθηκαν από υδατοδιαλυτό εκχύλισμα έδειξαν ασθενείς κυτταροτοξικές δράσεις σε μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκίνου του ήπατος (HepG2) με τιμές IC50 που κυμαίνονται από 100 έως 2000 µg/mL. Τέσσερα αλκαλοειδή (6,7) ήταν ελαφρώς κυτταροτοξικά εναντίον μιας ανθρώπινης μακράς καρκινικής γραμμής (A549) [22].

Διαπιστώθηκε ότι το εκχύλισμα του έχει ανασταλτική επίδραση στο σχηματισμό οξιδίων σε βλαστικά κύτταρα καρκίνου του παχέος εντέρου. Η χρήση ενός μοναδικού συστατικού πολυσακχαρίτη (POP) έδειξε αντικαρκινικά αποτελέσματα σε *in vivo* μοντέλα. Το υδατοδιαλυτό εκχύλισμα έδειξε ανασταλτικό ρόλο κατά της ανάπτυξης των κυττάρων του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας σε μοντέλα *in vitro* και *in vivo*. Έχει επίσης αποδειχθεί αποτελεσματικό κατά του γαστρικού καρκίνου. Το έλαιο των σπόρων της, έδειξε σημαντική κυτταροτοξικότητα κατά των κυτταρικών σειρών ανθρώπινου καρκίνου του ήπατος (HepG2) και ανθρώπινου καρκίνου του πνεύμονα (A-549) και ανέστειλε την ανάπτυξη των κυττάρων. Η πορτουλακερεβροσίδη A (PCA) που απομονώθηκε από το φυτό έδειξε αποτελεσματικότητα κατά της οξείας μυελοειδούς λευχαιμίας. Η Rahimi έδειξε ανασταλτική δράση του NF-κB από το εκχύλισμα του purslane. Το εκχύλισμα έδειξε επίσης κυτταροτοξικότητα και αποπρωτογόνο δράση σε ανθρώπινη καρκινική κυτταρική σειρά γλοιοβλαστώματος (U-87). Οι αντικαρκινικές δραστηριότητες της *P. oleracea* αποδεικνύουν τη δυναμική του στην ανάπτυξη μελλοντικών φαρμάκων κατά διάφορων τύπων καρκίνου [31].

### Αντιγηραντική δράση

Η επίδραση της αύξησης του προσδόκιμου ζωής έχει πλέον καταγραφεί σε πειράματα σε πειραματόζωα. Συγκεκριμένα, μια συγκέντρωση 2,5% εκχυλίσματος *P. oleracea* αύξησε τη μέγιστη διάρκεια ζωής της *Drosophila melanogaster* κατά 67,1% σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Παράλληλα, παρατηρήθηκε και αύξηση της γονιμότητας των θηλυκών κατά 43%. Αλλαγές στην αναλογία θηλυκών και αρσενικών δεν παρατηρήθηκαν. Ένα πείραμα στον ελεύθερα διαβιούντα νηματώδη *Caenorhabditis elegans* Maupas, το οποίο είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο μοντέλο σε μελέτες βιολογίας της γήρανσης, έδειξε ότι το οξικό αιθυλικό εκχύλισμα γλιστρίδας σε συγκέντρωση 1000 µg/mL αύξησε τη διάρκεια ζωής κατά 16,5% [61].

Παράλληλα, παρατηρήθηκε αύξηση της δραστηριότητας της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD) και της καταλάσης, καθώς και μείωση της περιεκτικότητας σε δραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS) και MDA. Η έκφραση των γονιδίων *daf-12*, *daf-16*, *sod-3*, *skn-1*, *cat-1*, *mev-1*, *akt-1* και *sek-1* αυξήθηκε. Οι συγγραφείς αυτής της δημοσίευσης

πιστεύουν ότι ο κύριος μηχανισμός της αντιγηραντικής δράσης αυτού του φυτού σχετίζεται με την καταστολή του συστήματος αυξητικής ορμόνης (GH)/Ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1 (IGF - 1)/Ινσουλίνης (GH/IGF-1/Ινσουλίνη), το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια πολλών ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία, όπως ο καρκίνος, η άνοια, τα καρδιαγγειακά και μεταβολικά νοσήματα. Οι μελέτες που διεξήχθησαν με βάση το *Caenorhabditis elegans* Maupas στο Πανεπιστήμιο Dankook, το Πανεπιστήμιο CHA και το Πανεπιστήμιο Woosuk (Νότια Κορέα) έδειξαν ότι η αντιγηραντική δράση του φυτού καθορίζεται εν μέρει από τα συγκεκριμένα φλαβονοειδή, τις ολερακεΐνες E,F και D. Η διαφορική επίδραση αυτών των ενώσεων σε συγκέντρωση 20  $\mu$ M σε *Caenorhabditis elegant* Maupas που καλλιεργήθηκαν υπό σταθερές συνθήκες οδήγησε σε αύξηση της διάρκειας ζωής αυτών των ζώων κατά 13,8%, 11,8% και 4,3% αντίστοιχα. Είναι ενδιαφέρον ότι η επίδραση παράτασης της μακροζωίας αυτών των φλαβονοειδών δεν παρουσίασε καμία συσχέτιση με τη δραστηριότητα καθαρισμού των ελεύθερων ριζών τους [61].

### Φωτογήρανση του δέρματος

Μία από τις εκδηλώσεις της γήρανσης του ανθρώπου είναι η διαδικασία φωτογήρανσης του δέρματος. Μετά τα 60 έτη, μπορούν να αναπτυχθούν "καταστροφικές" εκδηλώσεις αυτής της διαδικασίας, που χαρακτηρίζονται από πολλαπλά στίγματα (καφέ ή ανοιχτές καφέ κηλίδες που υψώνονται ελαφρώς πάνω από την επιφάνεια του δέρματος, κυρίως στο πρόσωπο και τα χέρια), ρυτίδες σε ολόκληρη την επιφάνεια, και πολλαπλές εστίες κερατώσεων. Μεταξύ των αποχρωματιστικών παραγόντων, οι αναστολείς της τυροσινάσης, ενός ενζύμου που καταλύει τη σύνθεση της μελανίνης, θεωρούνται οι πιο αποτελεσματικοί. Σε ένα πείραμα σε κύτταρα εξαιρετικά μεταστατικού μελανώματος ποντικού (B16-F10), το αιθανολικό εκχύλισμα γλιστρίδας ανέστειλε την έκφραση της τυροσινάσης, αλλά δεν κατέστειλε την έκφραση της πρωτεΐνης TYRP-1. Η υπεριώδης ακτινοβολία οδηγεί επίσης σε διαταραχή της δομικής ακεραιότητας της μήτρας κολλαγόνου και την αναστολή του σχηματισμού κολλαγόνου, η οποία είναι η αιτία των ρυτίδων και της πρόωρης γήρανσης του δέρματος. Μια μελέτη σχετικά με κύτταρα NIH3T3 (άγριου τύπου) έδειξε ότι ένα αιθανολικό εκχύλισμα αυτού του φυτού αύξησε τη σύνθεση κολλαγόνου. Το εκχύλισμα σε ένα πείραμα με κυτταρική καλλιέργεια επιθηλιακών κερατινοκυττάρων και ανθρώπινων ινοβλαστών τα προστάτευε από την υπεριώδη ακτινοβολία [61].

### Ενεργοποίηση τελομεράσης και επίδραση στο μήκος των τελομερών

Το μήκος των τελομερών θεωρείται σήμερα ο σημαντικότερος δείκτης της διαδικασίας γήρανσης, δεδομένου ότι έχει διαπιστωθεί αντίστροφη συσχέτιση του μήκους τους με τη διαδικασία γήρανσης των κυττάρων και την ανθρώπινη ηλικία. Η επίδραση της ενεργοποίησης του ενζύμου τελομεράση και η αύξηση του μήκους των τελομερών έχει καταγραφεί πειραματικά μέχρι σήμερα μόνο σε λίγες συνθετικές ενώσεις και σε φυσικές ενώσεις από διάφορα φυτικά είδη. Το εκχύλισμα γλιστρίδας έχει δείξει αποτελέσματα αύξησης του μέσου μήκους των τελομερών και ενεργοποίησης της τελομεράσης. Το πείραμα διεξήχθη σε αρσενικά ποντίκια ηλικίας τριών μηνών. Η πειραματική ομάδα έλαβε

εκχύλισμα σε δόσεις 2,5, 5 και 10 mg/kg ημερησίως. Απομονώθηκε DNA από 50 mg εγκεφαλικού ιστού ποντικού και προσδιορίστηκε το μέσο μήκος του τμήματος περιορισμού του τελομερούς (TRF). Το μήκος του TRF προσδιορίστηκε με παλμική ηλεκτροφόρηση σε πηκτή και στη συνέχεια με Southern υβριδισμό. Παράλληλα, προσδιορίστηκε η δραστηριότητα της τελομεράσης, η οποία μετρήθηκε με τη χρήση του κιτ PCR-TRAP ELISA (Roche Applied Science, Ηνωμένες Πολιτείες). Η ομάδα που υποβλήθηκε σε θεραπεία με το εκχύλισμα του εν λόγω φυτού είχε σημαντική αύξηση του μέσου μήκους των τελομερών σε δόση 10 mg/kg ημερησίως (28 kp έναντι 22 kp στην ομάδα ελέγχου,  $p < 0,05$ ). Παρατηρήθηκε επίσης σημαντική αύξηση της δραστηριότητας της τελομεράσης ( $p < 0,05$ ) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου [61].

### 1.2.3. Φαρμακοκινητική

Φαρμακοκινητικά προφίλ της εσπεριδίνης, του καφεϊκού οξέος, του φερουλικού οξέος και του π-κουμαρικού οξέος αξιολογήθηκαν μετά από ενδοφλέβια χορήγηση εκχυλίσματος γλιστρίδας σε αρουραίους. Οι όγκοι κατανομής για αυτές τις ενώσεις ήταν 0,044, 0,041, 0,077 και 0,044 L/kg, ενώ οι τελικοί χρόνοι ημιζωής ήταν 99,6, 40,7, 65,5 και 39,9 λεπτά, αντίστοιχα. 2,0, 0,33 και 0,25 h μετά την από του στόματος χορήγηση, η εσπεριδίνη, το φερουλικό οξύ και το π-κουμαρικό οξύ έφθασαν στη μέγιστη συγκέντρωση τους στο πλάσμα. Οι τιμές του  $C_{max}$  ήταν 0,196, 0,988 και 1,24  $\mu\text{g/mL}$ , αντίστοιχα [62], [63].

Μελετήθηκε επίσης το φαρμακοκινητικό προφίλ του αντιφλεγμονώδους αλκαλοειδούς, της ανεκόνης. Τα αποτελέσματα έδειξαν την ακόλουθη εικόνα για αυτήν την ένωση: χρόνος ημιζωής της κατανομής, IV 0,22 min και από του στόματος 5,23 min, χρόνος ημιζωής της αποβολής, IV 15,28 min και από του στόματος 61,34 min, κάθαρση, IV 0,042 L/min/kg και από του στόματος 0,056 L/min/kg [64].

Σε μια πιο πρόσφατη μελέτη φαρμακοκινητικής και βιοκατανομής της aurantiamide και της οξικής aurantiamide, δύο αλκαλοειδή που μελετήθηκαν μετά από χορήγηση από το στόμα σε αρουραίο, τα αποτελέσματα δίνονται ως ακολούθως: ο πρώτος χρόνος αιχμής (peak time) - 0,18 και 21 h - ο δεύτερος χρόνος αιχμής - 2,67 και 0,75 h - ο χρόνος ημιζωής, 25,34 και 36,49 h, το  $C_{max}$  3,50 και 1,61  $\mu\text{g/L}$ , αντίστοιχα [65].

### 1.2.4. Κλινικές δοκιμές

#### Βρογχοδιασταλτικό αποτέλεσμα

Εξετάστηκε το βρογχοδιασταλτικό αποτέλεσμα βρασμένου εκχυλίσματος γλιστρίδας 5% σε δόση 0,25ml/kg σε σύγκριση με από του στόματος θεοφυλλίνης, δόσης 3mg/kg και εισπνεόμενη σαλβουταμόλη σε δόση 200  $\mu\text{g}$  σε ασθματικούς ασθενείς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το βρασμένο εκχύλισμα γλιστρίδας προκάλεσε σημαντική αύξηση σε όλες τις μετρήσιμες δοκιμές πνευμονικής λειτουργίας (PFTs – Pulmonary function tests), ( $P < 0,05$  έως  $P < 0,01$ ). Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ των PFTs σε ασθενείς με χορήγηση βρασμένου εκχυλίσματος γλιστρίδας και θεοφυλλίνης.

Ωστόσο τα εκχυλίσματα γλιστρίδας σε σύγκριση με τη χορήγηση σαλβουταμόλης παρατηρήθηκε να έχουν λιγότερο ισχυρή ( $P < 0.05$  και για τις δύο περιπτώσεις). Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η γλιστρίδα έχει σχετικά ισχυρή αλλά παροδική βρογχοδιασταλτική επίδραση στον ασθματικό αεραγωγό [66]

### Υπολιπιδαιμική δράση

Μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα λυοφιλιωμένων συμπληρωμάτων γλιστρίδας στην μείωση των λιπιδίων του αίματος σε 11 ενήλικες εθελοντές με υπερχοληστερολαιμία και των δύο φύλων. Τα άτομα αυτά τέθηκαν στην δίαιτα σταδίου 1, σύμφωνα με την Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία (AHA – American Heart Association), με προσθήκη 3 g αποξηραμένων φύλλων γλιστρίδας για 2 εβδομάδες (περίοδος εγκλιματισμού) και εν συνεχεία ακολούθησαν την ίδια δίαιτα σταδίου 1 με αύξηση της προσθήκης αποξηραμένων φύλλων γλιστρίδας σε 6 g/μέρα για ακόμη 4 εβδομάδες. Αναλύθηκαν δείγματα αίματος στο τέλος της περιόδου εγκλιματισμού σε σύγκριση με δείγματα μετά από 4 εβδομάδες θεραπεία, ως προς τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης πλάσματος, τη συγκέντρωση της LDL χοληστερόλης, της HDL χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων. Θεραπεία 4 εβδομάδων μείωσε ( $P < 0.05$ ) την ολική χοληστερόλη και την LDL χοληστερόλη στο πλάσμα. Τα επίπεδα της HDL αυξήθηκαν ( $P < 0.05$ ), ενώ η συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων δεν επηρεάστηκε. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι τα συμπληρώματα γλιστρίδας έχουν τη δυνατότητα να μεταβάλλουν το μεταβολισμό των λιπιδίων στο αίμα σε άτομα με υπερχοληστερολαιμία, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο καρδιακής νόσου [67].

### Αντιδιαβητική Δράση

Σε μια τυχαιοποιημένη, placebo κλινική δοκιμή, μελετήθηκε η επίδραση του εκχυλίσματος γλιστρίδας (180 mg/ημέρα) στον έλεγχο της γλυκόζης, της αρτηριακής πίεσης και του προφίλ των λιπιδίων σε 63 ενήλικες με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Μετά από 12 εβδομάδες θεραπείας, η συστολική αρτηριακή πίεση και η HbA1c μειώθηκαν σημαντικά σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι η γλιστρίδα μπορεί να είναι μια καλή επικουρική θεραπεία σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 [68].

### Μείωση μη φυσιολογικής αιμορραγίας της μήτρας (AUB)

Σε μια μελέτη των Shobeiri et al., η PA χρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία της μη φυσιολογικής αιμορραγίας της μήτρας (AUB) (Shobeiri et al., 2009). Σε αυτήν τη μελέτη, δέκα προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με AUB, συμπεριλαμβανομένων της μητρορραγίας, της μηνορραγίας, της πολυμηνόρροιας και της διαμεσικής αιμορραγίας, οι οποίες δεν είχαν ανταποκριθεί σε τυπικά φάρμακα, έλαβαν 5 g σκόνης σπόρων PA σε ένα ποτήρι νερό από το στόμα. Οκτώ (80%) ασθενείς ανέφεραν ότι ο όγκος και η διάρκεια της αιμορραγίας είχαν μειωθεί και τα πρότυπα των περιόδων τους είχαν ομαλοποιηθεί. Ωστόσο, ήταν αναποτελεσματικό σε δύο (20%) ασθενείς. Δεν είχε ανεπιθύμητες ενέργειες και το AUB δεν επανεμφανίστηκε στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία [69].

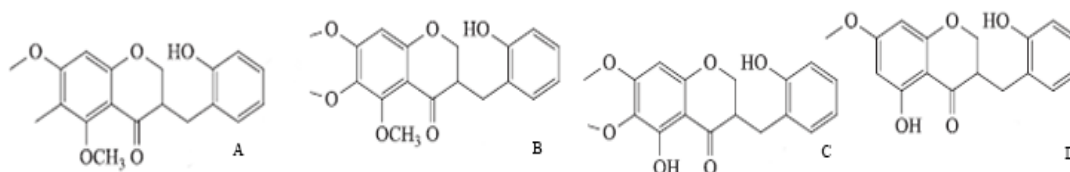
### 1.3. Φυτοχημική περιγραφή

Το φυτό παρουσιάζει πλούσια ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων. Η περιεκτικότητα των βιοδραστικών ενώσεων μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες, τις συνθήκες καλλιέργειας, τον χρόνο συγκομιδής και την προέλευση του είδους, την διαθεσιμότητα βασικών θρεπτικών συστατικών στο έδαφος συμπεριλαμβανομένης και της ρύπανσης. Το υψηλότερο ποσοστό πρωτεΐνης παρατηρήθηκε στο φύλλωμα του φυτού [20]. Σημαντικό ρόλο στην τελική χημική σύνθεση της γλιστρίδας παίζει και το είδος των διαφόρων διαλυτών εκχύλισης που θα χρησιμοποιηθούν [18], [22].

Τα κυρίως υπαντώμενα χημικά συστατικά ανήκουν κυρίως στην οικογένεια των φλαβονοειδών, αλκαλοειδών, των οργανικών οξέων, των τερπενοειδών, λιπαρών οξέων, πολυσακχαριτών, βιταμινών, στερολών, πρωτεϊνών και μετάλλων [22].

#### Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή είναι μία από τις κυριότερες ομάδες δραστικών συστατικών της γλιστρίδας. Είναι οι ουσίες που αναφέρεται ότι προσδίδουν στο φυτό τις αντιοξειδωτικές, αντιβακτηριακές, αντιϊκές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Τα φλαβονοειδή παίζουν επίσης προστατευτικό ρόλο κατά των στεφανιαίων νόσων και βοηθούν στην αγγειακή δραστηριότητα. Οι συγκεντρώσεις τους ποικίλλουν στα διάφορα μέρη του φυτού. Η υψηλότερη ποσότητα βρίσκεται στη ρίζα ακολουθούμενη από το στέλεχος και το φύλλο. Η καμφερόλη, η απιγενίνη, η λουτεολίνη, η μυρικετίνη και η κουερσετίνη είναι σημαντικά φλαβονοειδή τα οποία συναντώνται στο φυτό [70]. Από το υπέργειο μέρος του φυτού έχουν απομονωθεί ομο-ισοφλαβονοειδή (HIF) με μοναδική χημική δομή και φέρουν την ονομασία Portulacanonones A – D (A:  $C_{18}H_{18}O_5$ , B:  $C_{19}H_{20}O_6$ , C:  $C_{18}H_{18}O_6$ , D:  $C_{17}H_{14}O_5$ ) (Εικόνα: 2) [71]. Οι ενώσεις B, C, D έχουν μάλιστα χρησιμοποιηθεί σε κυτοτοξικές μελέτες.



Εικόνα 2: Χημικές δομές των Portulacanonones A, B, C, D

Άλλο σημαντικό ομο-ισοφλαβονοειδές γνωστό ως (E)-5- υδροξυ-7-μεθοξυ-3-(20-υδροξυβενζυλ)-4-χρωμανόνη (HM-χρωμανόνη – (E)-5- hydroxy-7- methoxy-3-(20-hydroxybenzyl)-4- chromanone) που απομονώθηκε από το φυτό έδειξε προστατευτική δράση έναντι της απόπτωσης των  $\beta$  κυττάρων του παγκρέατος που προκαλείται από τη γλυκόζη, υποδηλώνοντας τις αντιδιαβητικές του ιδιότητες [72]. Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι οι HIFs παρουσιάζουν ανασταλτική δράση έναντι του ενζύμου 5-λιποξυγενάση, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη φλεγμονή σε ασθενείς με άσθμα, αλλεργική ρινίτιδα και οστεοαρθρίτιδα [73].



Οι μέθοδοι προσδιορισμού των φλαβονοειδών που αναφέρονται, είναι οι εξής: η υπεριώδης φασματοφωτομετρία, η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας, η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης. Ωστόσο, λόγω της εγγενούς δομικής ομοιότητας των περισσότερων φλαβονοειδών και των σύνθετων χαρακτηριστικών των μητρών των δειγμάτων, καμία από τις παραπάνω μεθόδους δεν έχει αποδειχθεί επαρκής για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό των επιμέρους φλαβονοειδών στα φαρμακευτικά φυτά [70].

### Φαινολικά οξέα

Τα φαινολικά οξέα είναι σημαντικοί εξειδικευμένοι μεταβολίτες που βρίσκονται στα φυτά και αποτελούν παράγωγα του βενζοϊκού και του κινναμικού οξέος. Πρόκειται για ομάδες καρβοξυλικών οξέων που διαθέτουν φαινολικές ενώσεις. Αριθμός φαινολικών οξέων όπως το καφεϊκό οξύ, το π-κουμαρικό οξύ, το φερουλικό οξύ, το γαλλικό οξύ, το γεντισικό οξύ, το βενζοϊκό οξύ και το ανισικό οξύ έχουν αναφερθεί από την γλιστρίδα. Έχει διαπιστωθεί ότι το υδατικό εκχύλισμα των ανθέων του φυτού έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινόλες από το στέλεχος και τα φύλλα [31].

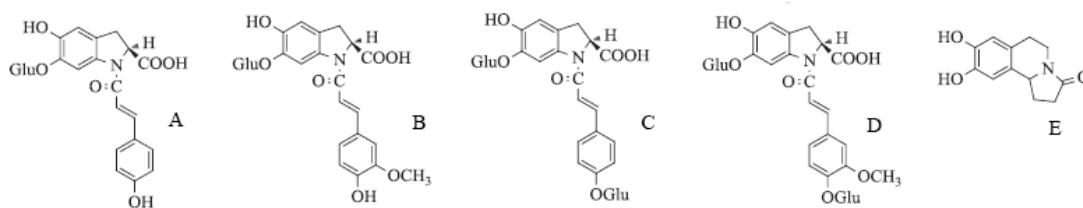
Οι λιγνάνες είναι πολυφαινόλες που σχηματίζονται από τον διμερισμό των μονολιγνολών και παίζουν αμυντικό ρόλο στα φυτά έναντι των μικροοργανισμών. Έχουν εντοπιστεί τέσσερις λιγνάνες, η ολεραλιγνάνη (oleralignan), την (β) συριγγορεσινόλη ((β) syringaresinol), την (β)-λιριορεσινόλη Α ((β)-lirioresinol A) και τη μονομεθυλική 3,30 ,4,40 -τετραϋδροξυ-δ-τροξινάση (monomethyl 3,30 ,4,40 -tetrahydroxy-δ-truxinate) και διαπιστώθηκε ότι η ολεραλιγνάνη ήταν συνολικά μία νέα λιγνάνη. που απομονώθηκε.

### Αλκαλοειδή

Τα αλκαλοειδή είναι μία από τις σημαντικότερες ομάδες φυσικών οργανικών ενώσεων με πολυάριθμες φαρμακευτικές χρήσεις.

Στην γλιστρίδα έχουν αναγνωριστεί διαφορετικοί τύποι αλκαλοειδών, όπως των N-trans - φερουλοϋλτυραμίνης, της ντόπα, της ντοπαμίνης και υψηλής συγκέντρωσης νοραδρεναλίνης [18] καθώς και ένα νέο λακταμικό αλκαλοειδές την ολερασιμίδη-D (oleraciamide D) η οποία διαθέτει κυτταροτοξική δράση σε ανθρώπινα SH-SY5Y κύτταρα νευροβλαστώματος [31].

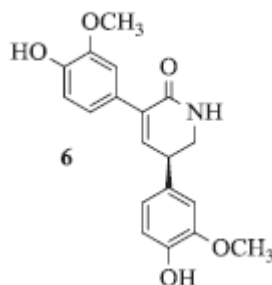
Νέα αλκαλοειδή που βρέθηκαν στο φυτό είναι οι ολερακεΐνες Α έως Ε (Oleracein A-E) (εικόνα 2) [74], οι οποίες παρουσίασαν αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Οι ολερακεΐνες Ε και L παρουσίασαν υπογλυκαιμικές και αντιδιαβητικές ιδιότητες [31]. Οι Sun et al. κατέδειξαν το νευροπροστατευτικό δυναμικό της ολερακεΐνης Ε χρησιμοποιώντας μοντέλα in vitro και in vivo [75].



Εικόνα 2: Χημικές δομές των ολερακεΐνων A, B, C, D, E

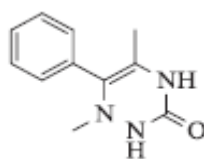
Δέκα νέες ολερακεΐνες (H, I, K, L, N, O, P, Q, R, S), δύο νέα κυκλοντόπα αμίδια οι ολερακεΐνες X και Y καθώς και τέσσερα ινδολινικά αμιδιακά γλυκοσΐδια [31].

Από τους Tian et al. χαρακτηρίστηκαν οι ουσίες (3 R)-3,5-δισ(3-μεθοξυ-4 υδροξυφαινυλ)-2,3-διυδρο-2(1 H)-πυριδινόνη ((3 R)-3,5-bis(3-methoxy-4 hydroxyphenyl)-2,3-dihydro-2(1 H)- pyridinone (Εικόνα 3)



Εικόνα 3: Χημική δομή της (3 R)-3,5-δισ(3-μεθοξυ-4 υδροξυφαινυλ)-2,3-διυδρο-2(1 H)-πυριδινόνης

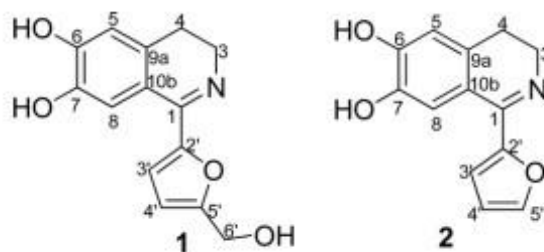
και 1,5-διμεθυλ-6-φαινυλ-1,2-διυδρο-1,2,4-τριαζιν-3(2 H)-όνη (1,5 dimethyl-6-phenyl-1,2-dihydro-1,2,4-triazin-3(2 H)-one) (Εικόνα 4) και ανέφεραν τη μέτρια έως υψηλή κυτταροτοξική τους δράση έναντι διαφόρων ανθρώπινων καρκινικών κυτταρικών σειρών [76].



Εικόνα 4: Χημική δομή της 1,5-διμεθυλ-6-φαινυλ-1,2-διυδρο-1,2,4-τριαζιν-3(2 H)-όνης

Εκτός από διάφορες γνωστές ενώσεις, οι Xiu et al. ανέφεραν ένα νέο αλκαλοειδές με την ονομασία oleraurea και είναι ενδιαφέρον ότι διαθέτει αντιχολινεστερασική δράση, γεγονός που υποδηλώνει τον σημαντικό ρόλο του στη νόσο Alzheimer ως αναστολέας της χολινεστεράσης [77].

Οι Jin et al. απομόνωσαν τρία νέα αλκαλοειδή ισοκινολίνης και συγκεκριμένα 1-(5'-υδροξυμεθυλο-φουραν-2-υλ)-6,7-διυδροξυ-3,4-διυδροισοκινολίνη, 1-(φουραν-2-υλ)-6,7-διυδροξυ-3,4-διυδροισοκινολίνη και 2-(φουραν-2-υλμεθυλ)-6,7-διυδροξυ-3,4-διυδροισοκινολίνη-2-ιου (Εικόνα 5) [78].



Εικόνα 5: Οι ισοκινόλες 1: 1-(5'-υδροξυμεθυλο-φουραν-2-υλ)-6,7-διυδροξυ-3,4-διυδροισοκινολίνη και 2: 2-(φουραν-2-υλμεθυλ)-6,7-διυδροξυ-3,4-διυδροισοκινολίνη-2-ιου. Πηγή: [78]

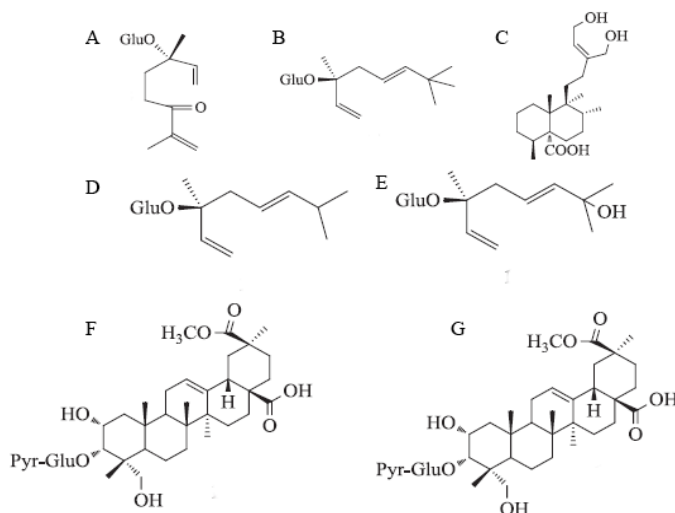
### Κατεχολαμίνες (CAs)

Οι κατεχολαμίνες είναι μια ομάδα αμινών που παράγονται στον άνθρωπο ως νευροδιαβιβαστές. Συντίθενται επίσης στα φυτά υπό συνθήκες καταπόνησης και έχουν ποικίλους ρόλους, συμπεριλαμβανομένης της αύξησης και της ανάπτυξης τους. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η γλιστρίδα αποτελεί πλούσια πηγή Cas με την ντοπαμίνη να είναι μία από τις σημαντικότερες [31].

Το περιεχόμενο της ντοπαμίνης και της νοραδρεναλίνης είναι διαφορετικό στους σπόρους, στον βλαστό και στα φύλλα όπου παρατηρείται η υψηλότερη συγκέντρωση. Επιπλέον, η διαδικασία εκχύλισης με απεσταγμένο νερό δίνει την υψηλότερη περιεκτικότητα νοραδρεναλίνης, ενώ η εκχύλιση μεθανόλης παρέχει την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ντοπαμίνη [79]. Παλαιότερες μελέτες έχουν δείξει πολλαπλά οφέλη της ντοπαμίνης έναντι νευροεκφυλιστικών ασθενειών όπως η νόσος του Πάρκινσον, η σχιζοφρένεια και η νόσος του Huntington. Είναι ενδιαφέρον ότι η ντοπαμίνη και η νοραδρεναλίνη ανιχνεύθηκαν στα εκχυλίσματα γλιστρίδας που χορηγήθηκαν στους αρουραίους που εμφάνισαν νευροπροστατευτικά αποτελέσματα, γεγονός που υποδηλώνει το ρόλο του ως σημαντικό νευροπροστατευτικό μέσο. Η ύπαρξη κατεχολαμινών παρέχει στοιχεία υπέρ των νευροπροστατευτικών δραστηριοτήτων του και υποδηλώνει τις πιθανές εφαρμογές του κατά των νευροεκφυλιστικών ασθενειών. Ωστόσο, πρέπει να γίνουν περαιτέρω κλινικές μελέτες για να κατανοηθούν σαφώς οι νευροπροστατευτικές επιδράσεις και η εφαρμογή του για διάφορες νευροεκφυλιστικές ασθένειες στον άνθρωπο [31].

## Τερπενοειδή

Στη γλιστρίδα έχουν απομονωθεί τα μονοτερπένια πορτουλοσίδη A και B και άλλοι γλυκοζίτες μονοτερπενίων, το διτερπένιο portulene, καθώς και τριτερπένια (Εικόνα 6) [22][80].



Εικόνα 6: Χημικές δομές τερπενοειδών που απομονώθηκαν από την γλιστρίδα  
A:Portuloside A B:Portuloside B C:Portulene D,E: Γλυκοζίτες μονοτερπενίων F,G:  
Τριτερπένια

## Ανθοκυανίνες

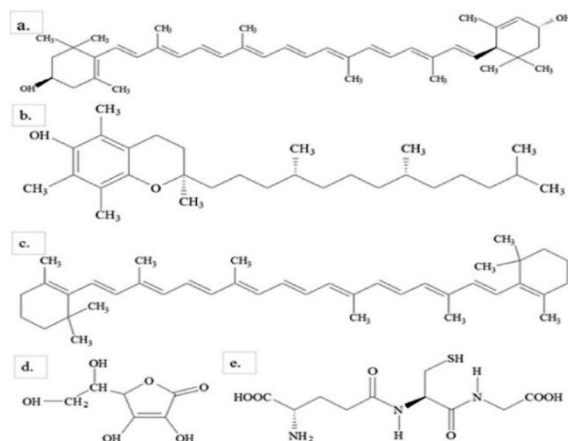
Οι ανθοκυανίνες είναι πολυφαινολικές ενώσεις που βρίσκονται στα φυτά ως κόκκινες, μοβ ή μπλε χρωστικές. Είναι επίσης πολύ σημαντικές για την ανθρώπινη υγεία και έχει βρεθεί ότι παίζουν διάφορους ευεργετικούς ρόλους έναντι πολλών ασθενειών. Οι ανθοκυανίνες που έχουν αναφερθεί στο φυτό είναι οι δελφινιδίνη-3, 5-γλυκοσίδη, κυανιδίνη-3,5-γλυκοσίδη, πελαργονιδίνη-3,5-γλυκοσίδη, δελφινιδίνη-3-γλυκοσίδη, κυανιδίνη-3-γλυκοσίδη και πελαργονιδίνη-3-γλυκοσίδη [31].

## Λιπαρά οξέα

Η γλιστρίδα έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί μία από τις σημαντικότερες φυτικές πηγές ωμέγα-3 λιπαρών οξέων, ιδιαίτερα α-λινολενικό οξύ (έως 30%), για το οποίο θεωρείται μία από τις πλουσιότερες φυτικές πηγές [18], και άλλα απαραίτητα λιπαρά οξέα όπως παλμιτολεϊκό (20,96%), παλμιτικό (17,40%), λινολεϊκό (16,82%), ελαϊκό (5,89%), στεατικό (3,46%) εικοσαπενταενοϊκό (EPA) και δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA). Επιπλέον, πρόκειται για ένα λαχανικό με πολύ ενδιαφέρουσα αναλογία ω-6/ω-3 (μικρότερη από 2), η οποία έχει επιβεβαιωθεί ότι είναι μείζονος σημασίας για τη διασφάλιση της σωστής ισορροπίας μεταξύ αυτών των δύο τύπων απαραίτητων λιπαρών οξέων στον ανθρώπινο οργανισμό (FA) και, κατά συνέπεια, για τη συμβολή στην καλή λειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος [81].

## Καροτονοειδή

Εκτός από την έντονη περιεκτικότητα σε βασικές λιπαρά οξέα, στην γλιστρίδα υπάρχουν και άλλα εξαιρετικά σημαντικά βιοενεργά μόρια, όπως τα καροτενοειδή. Μέχρι στιγμής έχουν εντοπιστεί διάφοροι τύποι καροτενοειδών, όπως η λουτεΐνη, το α-καροτένιο το β-καροτένιο (υψηλή περιεκτικότητα στα φύλλα) και η ζεαξανθίνη (Εικόνα 7). Η ποσότητα των καροτονοειδών εμφανίζει μείωση όταν το φυτό αναπτύσσεται σε αλατούχα εδάφη [18].



Εικόνα 7: Δομές των κύριων δραστικών συστατικών της *Portulaca oleracea*: α) λουτεΐνη ( $C_{40}H_{56}O_2$ ), β) α-τοκοφερόλη ( $C_{29}H_{50}O_2$ ), γ) β-καροτένιο ( $C_{40}H_{56}$ ), δ) ασκορβικό οξύ ( $C_6H_8O_6$ ) και ε) γλουταθειόνη

## Βιταμίνες

Υψηλά επίπεδα τοκοφερολών (α-τοκοφερόλη), ασκορβικό οξύ, βιταμίνης C και ορισμένων βιταμινών του συμπλέγματος B (B1 θειαμίνη, B2 ριβοφλαβίνη, B3 νιασίνη, B5 παντοθενικό οξύ, B6 πυριδοξίνη και B9 φυλλικά άλατα) έχουν επίσης εντοπιστεί στο φυτό. Αξίζει να αναφερθεί όμως ότι ανάλογα με τον τόπο προέλευσης, τον χρόνο συγκομιδής, τον γονότυπο και τις συνθήκες καλλιέργειας, παρατηρείται μεγάλη διακύμανση στην περιεκτικότητα αυτών των βιταμινών [18].

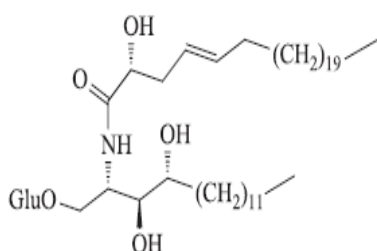
## Διατροφικά Ιχνοστοιχεία – Μέταλλα

Διατροφικά μέταλλα όπως ο σίδηρος (Fe), ο ψευδάργυρος (Zn), το κάλιο (K), το βόριο (B), το άζωτο (N), το μαγγάνιο (Mn), το ασβέστιο (Ca), ο χαλκός (Cu), το μαγνήσιο (Mg) είναι τα πιο άφθονα στο φυτό. Άλλα μέταλλα (π.χ. φώσφορος (P), θείο (S), νάτριο (Na)) που υπάρχουν σε σχετικά μικρότερες ποσότητες, συμβάλλουν επίσης στο πολύτιμο θρεπτικό προφίλ του [18], [22].

Συγκρίνοντας τη σύνθεση των ανόργανων συστατικών μεταξύ των φύλλων και των σπόρων, θα μπορούσε να προταθεί ότι τα φύλλα αποτελούν το φυτικό μέρος του φυτού με την υψηλότερη περιεκτικότητα σε δραστικές ουσίες και, κατά συνέπεια, μπορεί να παρέχουν τις πιο έντονες βιολειτουργικές λειτουργίες. Τα επίπεδα Ca, Mg, K, Fe και Zn εξαρτώνται άμεσα από την ωριμότητα του και το Ca συσχετίζεται αρνητικά με το Na ενώ συσχετίζεται θετικά με το Mg, K, Fe και Zn [18].

## Άλλες βιοδραστικές ενώσεις

Πλήθος άλλων βιοδραστικών ενώσεων συναντώνται στο φυτό. Περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις γλουταθειόνης, εξαιρετικά σημαντικό αντιοξειδωτικό ένζυμο. Δύο αλκαλοειδείς χρωστικές βηταλαΐνης, οι κοκκινωπές βητακυανίνες και οι κίτρινες βηταξανθίνες, που είναι υπεύθυνες για τον χρωματισμό των στελεχών, των φύλλων και των ανθέων. Υπάρχουν επίσης βλεννώδεις ουσίες και πηκτίνες, καθώς και οξαλικά άλατα, κουμαρίνες, ουρία και συνένζυμο Q10. Τα φαινολικά οξέα (δηλ. καφεϊκό, χλωρογενικό, p-κουμαρικό, φερουλικό και ροσμαρινικό οξύ), λιγνίνες, στυλβένια, σαπωνίνες, τανίνες, χλωροφύλλη, μελατονίνη, βεργαπένιο και ρουβιδίνη, με τα περισσότερα από αυτά να υπάρχουν στα εναέρια μέρη του φυτού. Άλλες ενώσεις, όπως η πορτουλακερεβροσίδη



Εικόνα 8: Πορτουλακερεβροσίδη (*portulacerebroside*)

(Εικόνα 8), η κατεχόλη, η βεργαπτένη, προλίνη (σημαντική για ως οσμοπροστατευτικό σε αλατούχα περιβάλλοντα) και η μελατονίνη, ανθρακινόνες αλλά και πολυσακχαρίτες με πιθανή θεραπευτική επίδραση στον διαβήτη έχουν επίσης απομονωθεί [18], [22], [82]. Τέλος στο φυτό βρέθηκαν οι ουσίες λουπεόλη, β-σιτοστερόλη (στην οποία μπορεί να οφείλει τις ανοσορυθμιστικές του ιδιότητες), και το στεροειδές δαυκοστερόλη [80].

## 2. Υλικά και Μέθοδοι

### 2.1. Εξοπλισμός

- Για τις μετρήσεις βάρους, χρησιμοποιήθηκαν ο φαρμακευτικός ζυγός METTLER PM2500 και ο αναλυτικός ζυγός METTLER AT261
- Για την μηχανική ανάδευση των διαλυμάτων, χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Vortex mixer της εταιρείας Stuart, μοντέλο SA8.
- Για τις μετρήσεις pH των διαλυμάτων, χρησιμοποιήθηκε το pH-μετρο ORION μοντέλο 410A.
- Οι φυγόκεντροι που χρησιμοποιήθηκαν είναι της εταιρείας Biofuge και τα μοντέλα Heraeus primo και Eppendorf 5804R
- Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους -80 °C σε ψυγείο της Thermo - TSE Series
- Για την διεξαγωγή των φωτομετρήσεων, χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης Perkin Elmer UV/Vis Lambda
- Η αποστείρωση πραγματοποιήθηκε σε αυτόκαυστο (Αφοί Ανδριανόπουλοι)

### 2.2. Πλαστικά αναλώσιμα

Τα πλαστικά αναλώσιμα που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα ακόλουθα:

- Μικροσωληνίσκοι erpendorf των 1,5 και 2 mL, (Greiner)
- Πλαστικοί σωλήνες (Falcon), των 15 mL και 20 mL (SPL Life science)
- Πλαστικά ακρορύγχια (Greiner Bio-one)
- Πλαστικές κυψελίδες μιας χρήσεως (Greiner Bio-one)
- Petri dish 9 και 12\*12 cm

### 2.3. Λογισμικό

Για την συγγραφή της μελέτης, την επεξεργασία των αποτελεσμάτων, την πραγματοποίηση των υπολογισμών και την σχεδίαση των γραφικών παραστάσεων χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα λογισμικά:

- Microsoft Office (Word, Excel, Powerpoint)
- Graphad Prism 8

## 2.4. Φυτικό υλικό

Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε είναι σπόροι *Portulaca oleracea* της εταιρείας Zorzi. Η βλαστικότητα των σπόρων μετρήθηκε στο 100% (Εικόνα 9).



Εικόνα 9: Αξιολόγηση της βλαστικότητας των σπόρων

## 2.5. Μέθοδοι

Η καλλιέργεια έγινε σε θάλαμο ανάπτυξης φυτών του Εργαστηρίου Μοριακής Βιολογίας με συνθήκες ανάπτυξης τους 23°C με φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα : 8 ώρες νύχτα. Ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε αποστειρωμένο φυτόχωμα για φυτά εξωτερικού χώρου με σύσταση:

- Ξανθιά Τύρφη
- Κομπόστ
- Ηφαιστειογενή πετρώματα (ελαφρόπετρα - περλίτης)
- Ποταμίσια άμμος

και χαρακτηριστικά:

- pH 7.0-7.5
- Οργανική ουσία 30%-40%
- Υγρασία 30%-40%

Το δείγμα ζυγίστηκε στον φαρμακευτικό ζυγό και στην συνέχεια αλέσθηκε σε πορσελάνινο γουδί. Ακολούθησε η εκχύλιση του με την χρήση διαλύματος 50% γλυκερόλη - 50% ddH<sub>2</sub>O, σε αναλογία 1:3. Το μείγμα που δημιουργήθηκε αφέθηκε σε ηρεμία στους -20°C για 24 ώρες. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 11000 rpm για μία ώρα στους 4°C και το υπερκείμενο μεταφέρθηκε σε νέα Eppendorf των 2 ml τα οποία εξωτερικά καλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο. Η διατήρηση του τελικού προϊόντος έγινε στους -20°C.

Για την αξιολόγηση της βλαστικότητας δημιουργήθηκε υπόστρωμα με 1% άγαρ το οποίο και στρώθηκε σε Petri dish των 9 cm. Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε η απολύμανση των σπόρων για την οποία ακολουθήθηκαν τα εξής βήματα σε ασηπτικές συνθήκες:



- Μοίρασμα των σπερμάτων σε erpendorfs (γέμισμα περίπου μέχρι λίγο κάτω από τη μέση, με σκοπό την καλύτερη απολύμανση)
- Προσθήκη 1 ml διαλύματος χλωρίνης 1% (1 % από την εμπορική χλωρίνη σε απιονισμένο νερο) σε κάθε erpendorf
- Ανάδευση για 10 με 15 λεπτά
- 5 με 6 φορές ξέπλυμα με αποστειρωμένο νερό
- Στρώσιμο σε petri dish

### 2.5.1. Μέθοδος Bradford

Η χρωματομετρική μέθοδος κατά Bradford βασίζεται στην ιδιότητα της χρωστικής **Coomassie Brilliant Blue G-250** να αλλάζει χρώμα υπό την επίδραση πρωτεϊνών σε όξινο περιβάλλον και χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό πρωτεϊνών σε ποικίλα δείγματα.

Πριν την αλληλεπίδραση η χρωστική έχει χρώμα καστανό και μέγιστο απορρόφησης στα 465 nm ενώ στο στάδιο του συμπλόκου πρωτεΐνης-χρωστικής (ανιοντική) μετατρέπεται σε κυανό και απορροφά στα 595 nm. Η πρωτεϊνική συγκέντρωση στην οποία θεωρείται η μέθοδος γενικά αξιόπιστη είναι αυτή των 0,04-0,20 mg/mL. Η μέθοδος είναι ευαίσθητη, γρήγορη και σχετικά ακριβής και για αυτό χρησιμοποιείτε ευρέως.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της πρωτεΐνης αγνώστου δείγματος απαιτείται πρότυπη καμπύλη αναφοράς, η οποία σχεδιάζεται έχοντας σαν πρότυπο γνωστές συγκεντρώσεις αλβουμίνης (2-10 mg) από ορό μόσχου. Έπειτα μέσω της σχέσης του Beer και Lambert μπορεί να υπολογιστεί η συγκέντρωση της πρωτεΐνης του δείγματος.

$$A = c \varepsilon d$$

Όπου,

A: απορρόφηση

c: συγκέντρωση (mg/mL)

ε: συντελεστής μοριακής απόσβεσης (η κλίση της ευθείας του γραμμικού τμήματος της καμπύλης αναφοράς)

d: μήκος κυψελίδας 1 cm

Τα διαλύματα που χρησιμοποιούνται είναι τα ακόλουθα:

#### Stock solution Χρωστικής

1) 100 mg Χρωστικής Coomassie Brilliant Blue G-250

2) 100 ml πυκνού φωσφορικού οξέος ( H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> - 85% w/v)

3) 100 ml υδατικού διαλύματος μεθανόλης (CH<sub>4</sub>O - 50 % v/v)

Όλα τα παραπάνω συστατικά προστίθενται εντός σκοτεινού δοχείου και το διάλυμα που δημιουργείται αφού απαερωθεί διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου.

### ASSAY Solution

Για τον προσδιορισμό της πρωτεΐνης, το stock solution χρωστικής αραιώνεται με νερό σε αναλογία  $\frac{1}{4}$  (1 μέρος stock solution προς 4 μέρη νερού). Το διάλυμα που δημιουργείται διατηρείται σε σκοτεινό δοχείο και σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες.

### BSA Stock Solution

2mg BSA (αλβουμίνη από ορό μόσχου) διαλύονται σε 10 ml νερό και το διάλυμα διατηρείται στους 4°C.

Η αρχική συγκέντρωση υδατικού διαλύματος αλβουμίνης, που χρησιμοποιείται για τον σχεδιασμό της πρότυπης καμπύλης είναι 0,2 mg/mL και το διάλυμα Bradford αποτελείται από ένα μέρος πυκνού διαλύματος χρωστικής και τέσσερα μέρη νερού (assay solution). Το πυκνό διάλυμα χρωστικής (stock solution) αποτελείται από 100 mg χρωστικής Coomassie Brilliant Blue G-250, 100 mL πυκνού φωσφορικού οξέος (85 % w/v) και 100 mL υδατικού διαλύματος μεθανόλης (50% v/v). Το διάλυμα που δημιουργείται, απαερώθηκε για 20 min και διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου και σκοτεινό μέρος. Για τον σχεδιασμό της καμπύλης αναφοράς και τον υπολογισμό της σταθεράς ε, σε κυβέτες του 1 mL προστέθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια σύμφωνα με τον Πίνακα 1. Η πραγματική ποσότητα αλβουμίνης στις κυψελίδες είναι είκοσι φορές μικρότερη, προκειμένου να αυξηθεί η ευαισθησία της μεθόδου, γεγονός όμως που συμπεριλαμβάνεται στην τελικό υπολογισμό.

Πίνακας 1: Ποσότητες αντιδραστηρίων προς παρασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς.

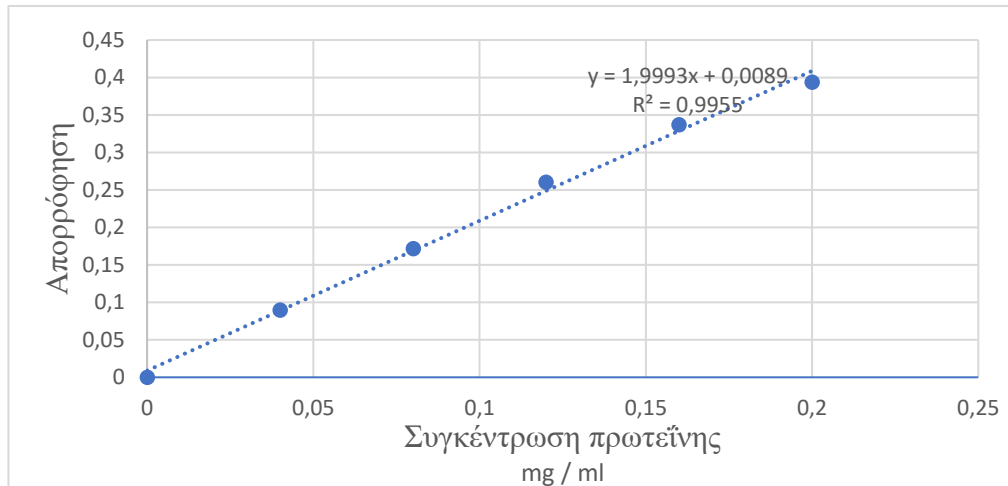
<i>a/a</i>	Assay solution (μL)	Νερό (μL)	BSA - stock (μL)	mg πρωτεΐνης/ mL δείγματος
1	950	40	10	0,04
2	950	30	20	0,08
3	950	20	30	0,12
4	950	10	40	0,16
5	950	0	50	0,2
Control	950	50	0	0

Τα δείγματα αναδεύονται και έπειτα επωάζονται σε σκότος και θερμοκρασία δωματίου για 20-35 min. Ακολούθως λαμβάνεται η απορρόφηση για την κάθε κυψελίδα στα 595 nm. Για τις ανάγκες του συγκεκριμένου πειράματος ο χρόνος αναμονής στο σκοτάδι μειώθηκε από τα 20 στα 5 λεπτά.

Δημιουργείτε η καμπύλη αναφοράς με την βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή και λαμβάνεται η τιμή του συντελεστή συσχέτισης της καμπύλης αναφοράς (r), η οποία θα πρέπει να προσεγγίζει την τιμή 1, καθώς και η κλίση της καμπύλης αναφοράς, η τιμή της οποίας αντιστοιχεί στον συντελεστή απόσβεσης (ε). Για την παρατιθέμενη καμπύλη αναφοράς (Εικόνα 11) οι τιμές των δύο παραμέτρων είναι οι ακόλουθες:

- Συντελεστής συσχέτισης (  $r$  ) = 0,9955
- Κλίση καμπύλης αναφοράς = 1,9993

Εικόνα 10: Πρότυπη καμπύλη Bradford. Χρόνος αναμονής 5 λεπτά



Το άγνωστο δείγμα πρωτεϊνών προσδιορίζεται με την ανάμειξη 950  $\mu\text{L}$  του αραιωμένου διαλύματος της χρωστικής και από 1-50  $\mu\text{L}$  δείγματος κατάλληλης συγκέντρωσης, ώστε στην κυψελίδα να περιέχονται 2–10  $\mu\text{g}$  πρωτεΐνης. Σε περίπτωση μεγάλης συγκέντρωσης πρωτεΐνης το δείγμα αραιώνεται και στη συνέχεια συμπληρώνουμε με νερό μέχρι τελικό όγκο 1 mL.

Ο υπολογισμός της συνολικής πρωτεΐνης γίνεται χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο:

$$C = \frac{A \times Vt}{\varepsilon \times d \times Vs} \times \text{αραίωση}$$

Όπου,

A: απορρόφηση στα 595 nm

c: συγκέντρωση πρωτεΐνης (mg/mL)

$\varepsilon$ : συντελεστής μοριακής απόσβεσης (η κλίση της ευθείας του γραμμικού τμήματος της καμπύλης αναφοράς) ( $\text{mL mg}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )

Vt: 50  $\mu\text{L}$  (αντί για 1000  $\mu\text{L}$  τελικού όγκου, επειδή χρησιμοποιούνται 20 φορές μικρότερες συγκεντρώσεις αλβουμίνης στην πρότυπη, δηλαδή  $1000/20=50$ )

Vs: όγκος του πρωτεϊνικού δείγματος που προστέθηκε ( $\mu\text{L}$ )

d: μήκος κυψελίδας 1 cm

### 2.5.2. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων με την μέθοδο Folin – Ciocalteu

Ο προσδιορισμός των φαινολικών αντιοξειδωτικών πραγματοποιείται με την μέθοδο Folin – Ciocalteu [83]. Αυτή βασίζεται στην μεταφορά ηλεκτρονίων από

φαινολικές ενώσεις (οξειδωση) σε σύμπλοκα του φωσφομολυβδαινικού ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) / φωσφοροβολφραμικού οξέως ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) (αναγωγή). Σε αλκαλικό pH οι φαινολικές ενώσεις οξειδώνονται και τα οξέα μετατρέπονται σε οξείδια του βολφραμίου και μολυβδαινίου δίνοντας στο διάλυμα ένα μπλε χρώμα το οποίο και προσδιορίζεται φωτομετρικά στα 725 nm. Επιπλέον, το αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu αντιδρά και με άλλους αναγωγικούς παράγοντες εκτός των φαινολικών ενώσεων με αποτέλεσμα να μπορεί να υπολογιστεί η συνολική αναγωγική ικανότητα ενός δείγματος. Η συγκέντρωση σε ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκφράζεται ως ισοδύναμο γαλλικού οξέως (mg GAEs)/(g) ιστού και υπολογίζεται από πρότυπη καμπύλη.

Οι όγκοι που προστέθηκαν στις κυψελίδες για τον προσδιορισμό ήταν:

Πίνακας 2: Όγκοι στις κυψελίδες κατά τον προσδιορισμό με την μέθοδο Folin-Ciocalteu.

Αντιδραστήρια	Control ( $\mu$ L)	Δείγμα ( $\mu$ L)	Blank ( $\mu$ L)
Folin - Ciocalteu	50	50	-
ddH <sub>2</sub> O	900	900 - x	950 - x
Δείγμα	-	x	x

Μετά από ανάδευση, οι κυψελίδες αφέθηκαν στο σκοτάδι για 5min. Έπειτα προστέθηκαν 50  $\mu$ L  $Na_2CO_3$  (25% w/v) και ακολούθησε ανάδευση και επώαση για μια ώρα.

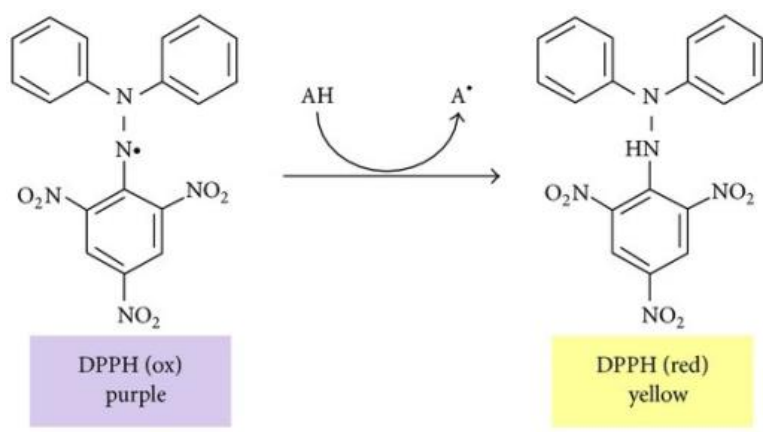
Για τον σχεδιασμό της πρότυπης καμπύλης και τον υπολογισμό της σταθεράς  $\epsilon$ , προστίθενται τα αντιδραστήρια σύμφωνα με τον Πίνακα 2. Η αρχική συγκέντρωση του διαλύματος γαλλικού οξέος που χρησιμοποιείται για τον σχεδιασμό της καμπύλης αναφοράς είναι 0,1 mg/mL.

Πίνακας 3: Όγκοι στις κυψελίδες για τον σχεδιασμό της πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος.

Αντιδρασ τήριο	Control ( $\mu$ L)	1 ( $\mu$ L)	2 ( $\mu$ L)	3 ( $\mu$ L)	4 ( $\mu$ L)	5 ( $\mu$ L)	6 ( $\mu$ L)	7 ( $\mu$ L)
Folin - Ciocalteu	50	50	50	50	50	50	50	50
ddH <sub>2</sub> O	900	895	890	880	860	850	840	820
Δείγμα	-	5	10	20	40	50	60	80

### 2.5.3. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων μέσω αλληλεπίδρασης με τη ρίζα DPPH

Το DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) αποτελεί μια από τις λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες ρίζες αζώτου. Χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός εκχυλίσματος μέσω εξουδετέρωσης του παρουσία αντιοξειδωτικών ουσιών, ελέγχοντας αν τα αντιοξειδωτικά συστατικά ενός εκχυλίσματος λειτουργούν ως απενεργοποιητές ελεύθερων ριζών ή ως δότες κατιόντων υδρογόνου [84]. Το χρώμα του διαλύματος μετατρέπεται από κυανό σε κίτρινο κατά την διάρκεια της αντίδρασης, ανάλογα με την αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος. Η διαδικασία βασίζεται στον οπτικό αποχρωματισμό του DPPH, η οποία εκφράζεται ως % εξουδετέρωση, προκειμένου να γίνει ο υπολογισμός της τιμής IC50, δηλαδή της ποσότητας δείγματος που προκαλεί 50% μείωση του χρώματος, και προσδιορίζεται φωτομετρικά. Η μέτρηση της απορρόφησης πραγματοποιείται στα 517 nm. Ο βαθμός αναγωγής εξαρτάται από την συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών ενώσεων που υπάρχουν στο δείγμα.



Εικόνα 11: Αναγωγή του DPPH παρουσία αντιοξειδωτικού παράγοντα.

Η προετοιμασία του διαλύματος πραγματοποιείται την ημέρα του πειράματος. Σε δοχείο σκούρου χρώματος, για να μην επηρεάζεται το αντιδραστήριο από το φως, διαλύεται το DPPH σε 80% (v/v) μεθανόλης, προκειμένου να προκύψει διάλυμα συγκέντρωσης 400 μM.

Οι όγκοι των αντιδραστηρίων που προστίθενται στις κυψελίδες (1000 μL) αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα. Οι κυψελίδες καλύπτονται με parafilm για να αποφευχθεί η εξάτμιση του διαλύματος. Επειδή υπάρχει η πιθανότητα τα συστατικά του δείγματος να απορροφούν στα 517 nm χρησιμοποιούμε ένα blanc διάλυμα σε κάθε συγκέντρωση, στο οποίο δεν έχουμε χρησιμοποιήσει την ρίζα.

Έπειτα ακολουθεί επώαση για 10 min στο σκοτάδι, σε θερμοκρασία δωματίου, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Στην συνέχεια ακολουθεί η φωτομέτρηση στα 517 nm. Η απορρόφηση στον μάρτυρα - control θα πρέπει να φροντίσουμε να βρίσκεται στο 0,7-0,8.

Πίνακας 4: Όγκοι στις κυψελίδες για την μέθοδο υπολογισμού αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω DPPH.

Αντιδραστήρια	Control ( $\mu\text{L}$ )	Δείγμα ( $\mu\text{L}$ )	Blank ( $\mu\text{L}$ )
MeOH 80%	100	100 - x	1000 - x
ddH <sub>2</sub> O	900	900	-
Δείγμα	-	x	x

Ο υπολογισμός του ποσοστού εξουδετέρωσης του DPPH (%) κατά την αντίδραση της αναγωγής πραγματοποιείται σύμφωνα με την εξίσωση (όπου  $ABS_{\text{sample}} = ABS_{\text{δείγματος}} - ABS_{\text{blank}}$ ):

$$\text{Εξουδετέρωση \%} = [(ABS_{\text{control}} - ABS_{\text{sample}}) / ABS_{\text{control}}] \times 100$$

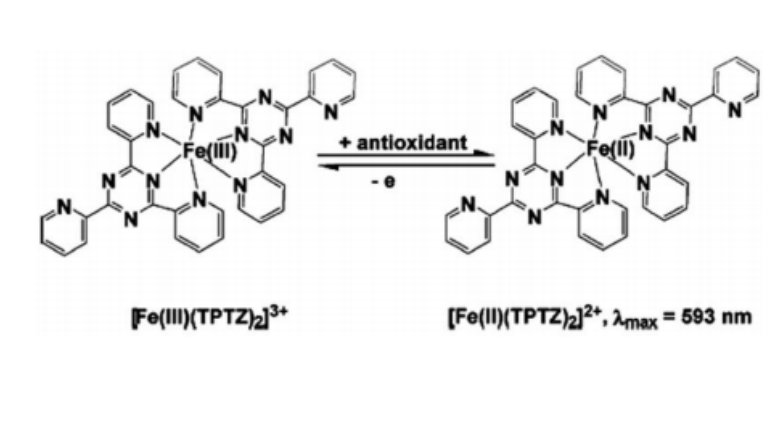
#### 2.5.4. Υπολογισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων με την μέθοδο FRAP

Η μέθοδος FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) αποτελεί μία φασματοφωτομετρική μέθοδο προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός δείγματος. Με την μέθοδο αυτή αξιολογείται η αναγωγική ικανότητα των συστατικών ενός διαλύματος ακολουθώντας τον μηχανισμό SET [85], όπου το άλας του τρισθενούς σιδήρου  $\text{Fe(III)-(TPTZ)}_2\text{Cl}_3$  (TPZT: 2,4,6-τριπυδιλο-s-τριαζίνη) χρησιμοποιείται ως οξειδωτικό [86]. Η παρουσία αντιοξειδωτικών παραγόντων, σε όξινες συνθήκες, προκαλεί την αναγωγή του συμπλόκου του τρισθενούς σιδήρου με το TPTZ στην δισθενή του μορφή (Fe(II)-TPTZ). Η μεταβολή αυτή παρουσιάζει κυανό χρώμα, του οποίου η ένταση υποδηλώνει και την αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος και παρακολουθείται με μέτρηση της απορρόφησης στα 593 nm.

Η εφαρμογή της μεθόδου FRAP στο εργαστήριο περιλαμβάνει την παρασκευή των παρακάτω διαλυμάτων:

- 300 mM οξικού νατρίου ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ), pH 3,6 (Σημείωση: για 300 mL διαλύονται 0,93 g οξικού νατρίου σε νερό και προστίθενται 4,8 mL οξικού οξέος με σκοπό την ρύθμιση του pH του)
- 20 mM τριχλωριούχου σιδήρου ( $\text{FeCl}_3$ ) και
- 10 mM διαλύματος TBTZ διαλυμένου σε 40 mM HCl.

Έτσι, το οξειδωτικό διάλυμα FRAP παρασκευάζεται με ανάμιξη των παραπάνω διαλυμάτων κατά σειρά σε αναλογία 10:1:1. Δηλαδή για κάθε 10 mL διαλύματος  $\text{CH}_3\text{COONa} - \text{CH}_3\text{COOH}$ , προστίθενται 1 mL διαλύματος  $\text{FeCl}_3$  και 1 mL διαλύματος TPTZ. Το αντιδραστήριο που προκύπτει έχει ελαφρώς χρώμα πορτοκαλί.



Εικόνα 12: Η αντίδραση παρουσία αντιοξειδωτικού κατά την μέθοδο FRAP.

Σε κυψελίδες με τελικό όγκο 1 mL προστέθηκαν τα παρακάτω σύμφωνα με τον Πίνακα 5:

Πίνακας 5: Όγκοι αντιδραστηρίων στις κυψελίδες κατά την μέθοδο FRAP.

Αντιδραστήρια	Control ( $\mu\text{L}$ )	Δείγμα ( $\mu\text{L}$ )	Blank ( $\mu\text{L}$ )
Frap	950	950	-
ddH <sub>2</sub> O	50	50 - x	1000 - x
Δείγμα	-	x	x

Η αντίδραση πραγματοποιείται στο σκοτάδι, στους 25 °C για 10 min και έπειτα λαμβάνεται η απορρόφηση στα 593 nm. Για τον υπολογισμό την αντιοξειδωτικής ικανότητας του εκχυλίσματος σχεδιάστηκε πρότυπη καμπύλη με βάση το ασκορβικό οξύ (Stock: 1 mM ασκορβικού οξέος) ( $\epsilon=0,265 \mu\text{g}$  ασκορβικού/mL).

Αντιδραστήριο	Control ( $\mu\text{L}$ )	1 ( $\mu\text{L}$ )	2 ( $\mu\text{L}$ )	3 ( $\mu\text{L}$ )	4 ( $\mu\text{L}$ )	5 ( $\mu\text{L}$ )	6 ( $\mu\text{L}$ )
Frap	980	980	980	980	980	980	980
ddH <sub>2</sub> O	20	18	16	14	10	6	2
Ασκορβικό οξύ	-	2	4	6	10	14	18

Η τιμή της Frap μπορεί να υπολογιστεί με τον ακόλουθο τύπο:

$$\text{Τιμή } Frap = \frac{ABS \times Vt}{\varepsilon \times d \times Vs} \times \text{αραίωση}$$

Όπου,

ABS: απορρόφηση στα 593 nm

Τιμή Frap: mg Ασκορβικού ανά mL δείγματος

$\varepsilon$ : συντελεστής μοριακής απόσβεσης (η κλίση της ευθείας του γραμμικού τμήματος της καμπύλης αναφοράς) ( $\text{mL mg}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )

Vt: 1000  $\mu\text{L}$  τελικού όγκου

Vs: όγκος του πρωτεϊνικού δείγματος που προστέθηκε ( $\mu\text{L}$ )

d: μήκος κυψελίδας 1 cm

### 2.5.5. Υπολογισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων με την μέθοδο ABTS

Η μέθοδος όπου χρησιμοποιείται η ελεύθερη ρίζα ABTS για να δεσμευθούν τα αντιοξειδωτικά ενός δείγματος χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά από τους Miller και Rice το 1993 [87]. Στην πορεία η μέθοδος βελτιώθηκε και παρουσιάζει πολυάριθμα πλεονεκτήματα, όπως το γεγονός ότι είναι γρήγορη, ακριβής, και αποτελεσματική σε μία ευρεία περιοχή τιμών pH, έχει καλή επαναληψιμότητα, σε υδατικά και οργανικά συστήματα διαλυτών. Επίσης αποφεύγονται οι ανεπιθύμητες παράπλευρες αντιδράσεις και δεν απαιτούνται υψηλές θερμοκρασίες για την παραγωγή της ρίζας ABTS.

Όπως και στην μέθοδο DPPH, η κινητική της αντιδράσεως μεταξύ ABTS και αντιοξειδωτικών δεν είναι γραμμική, οπότε η αντιοξειδωτική ικανότητα εκφράζεται χρησιμοποιώντας το συντελεστή ανασταλτικής ισχύος IC50.

Το οξειδωτικό  $\text{ABTS}^+$  παράγεται από την οξείδωση του 2,2'-αζινοδι(3-αιθυλβενζοδιαζολινο-6-σουλφονικό οξύ) ( $\text{ABTS}^{2-}$ ) με υπερθεϊκά ιόντα. Συγκεκριμένα, 7mmol του αμμωνιακού άλατος ABTS διαλύονται σε νερό με 2,45 mmol υπερθεϊκού καλίου, σε ίσες αναλογίες και το μείγμα διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου για 12 – 16 ώρες, όπου αποκτά ένα βαθύ κυανό χρώμα. Αυτό το διάλυμα αραιώνεται με αιθανόλη ώστε να έχει απορρόφηση  $ABS = 0,7$  στα 734 nm.



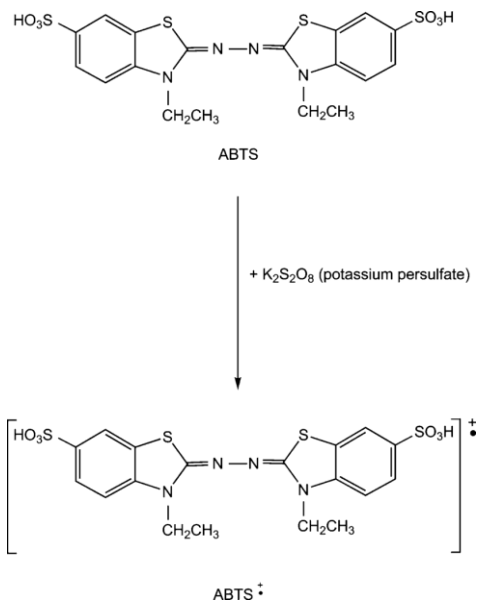


Figure 1: Η αντίδραση παραγωγής ABTS<sup>2-</sup> με την χρήση υπερθειικού καλλίου

Οι όγκοι που θα χρησιμοποιηθούν ακολουθούν τις τιμές στον πίνακα:

Αντιδραστήρια	ABTS	Αιθανόλη	Δείγμα
Blanc	-	1000ml - x	x
Control	y	1000ml - y	-
Μέτρηση	y	1000ml - x - y	x

Ο υπολογισμός του ποσοστού εξουδετέρωσης του ABTS (%) κατά την πραγματοποιείται σύμφωνα με την εξίσωση (όπου  $ABS_{sample} = ABS_{\text{δείγματος}} - ABS_{\text{blank}}$ ):

$$\text{Εξουδετέρωση \%} = [(ABS_{\text{control}} - ABS_{\text{sample}}) / ABS_{\text{control}}] \times 100$$

### 2.5.6. Προσδιορισμός Ολικών Ανθοκυανινών

Για τον προσδιορισμό των ολικών ανθοκυανινών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του διαφορικού pH. Σύμφωνα με την μέθοδο αυτή, η χημική δομή των ανθοκυανινών αλλάζει ανάλογα με το pH και εκδηλώνεται με απορρόφηση σε διαφορετικά φάσματα. Τα δείγματα αραιώνονται σε υδατικά ρυθμιστικά διαλύματα με pH=1 (0,0025M KCl) και pH=4,5 (0,4M CH<sub>3</sub>COONa) και λαμβάνονται οι μετρήσεις της μέγιστης απορρόφησης στο μήκος κύματος που αντιστοιχεί σε αυτή του διαλύματος με pH=1. Στο διάλυμα με pH=1 κυριαρχεί η δομή οξονίου των ανθοκυανινών και εμφανίζεται έντονος χρωματισμός, ενώ στο pH=4,5 εντοπίζεται η άχρωμη ημικεταλής μορφή τους [88].

Η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο:

$$A = [A_{\max} - A_{700\text{nm}; \text{pH}=1}] - [A_{\max} - A_{700\text{nm}; \text{pH}=4,5}]$$

όπου:

$A_{\max}$  = η μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 510nm

$A_{700\text{nm}}$  = η απορρόφηση του δείγματος στα 700nm

Οι ολικές μονομερείς ανθοκυανίνες εκφράζονται σε mg γλυκοζίτη-3 της κυανιδίνης ανά L εκχυλίσματος σύμφωνα με τον τύπο:

$$\text{mg/L} = (A \times \text{MB} \times \text{Df} \times 1000) / \epsilon \times d$$

όπου:

MB = το μοριακό βάρος του γλυκοζίτη-3 της κυανιδίνης (484,4g/mol)

Df = βαθμός αραίωσης του δείγματος

$\epsilon$  = μοριακός συντελεστής απόσβεσης του γλυκοζίτη-3 της κυανιδίνης ( $\epsilon=26900$ )

d = οπτική διαδρομή (πλάτος κυβέτας)

### 2.5.7. Προσδιορισμός Ολικών Φλαβονοειδών

Για τον προσδιορισμό των ολικών φλαβονοειδών προετοιμάστηκαν τα ακόλουθα αντιδραστήρια:

10% v/v Aluminum chloride ( $\text{AlCl}_3$ )

1 M  $\text{CH}_3\text{COONa}$  Mr=82.3 g/mol

Στην συνέχεια αναμείχθηκαν σε κυβέτες του 1 ml τα αντιδραστήρια μαζί με το δείγμα στις ακόλουθες αναλογίες:

Αντιδραστήρια	Control	Blanc	Δείγμα
ddH <sub>2</sub> O	660	580	560
Αιθανόλη	300	300	300
CH <sub>3</sub> COONa	20	20	20
AlCl <sub>3</sub>	20	-	20
Δείγμα	-	100	100

Αξιοποιώντας πρότυπη καμπύλη Quercetin που είχε κατασκευαστεί κάνουμε τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων με βάση τον τύπο:

$$F.C.= [(A_{\delta}-A_c-A_B) * V_t] / (V*\epsilon)$$

Όπου:

F.C. = Η συγκέντρωση των ολικών φλαβονοειδών μετρημένη σε  $\mu\text{g}$  quercetin/ml δείγματος

$A_{\delta}$  = Η απορρόφηση του δείγματος

$A_c$  = Η απορρόφηση του control

$A_b$  = Η απορρόφηση του blanc

$V_t$  = Ο τελικός όγκος ίσος με 1000ml

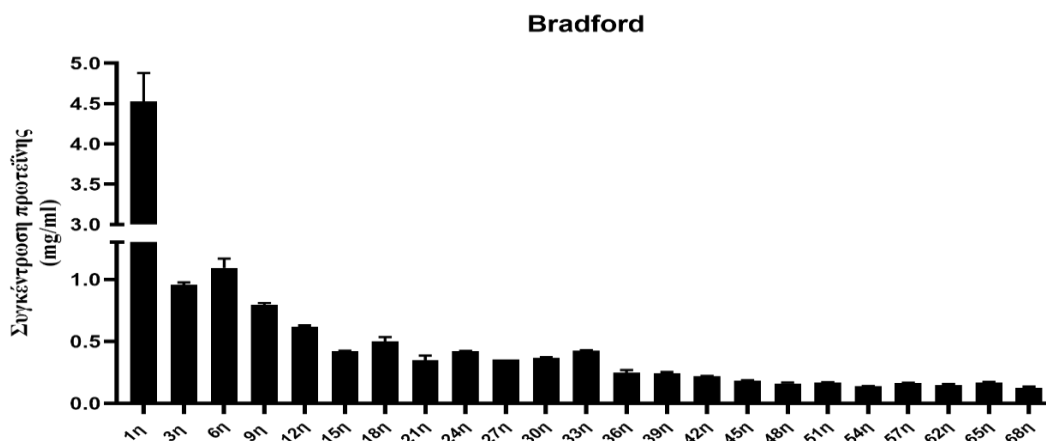
$V$  = Ο όγκος του δείγματος

$\epsilon$  = συντελεστής μοριακής απόσβεσης (η κλίση της ευθείας του γραμμικού τμήματος της καμπύλης αναφοράς)

### 3. Αποτελέσματα

#### 3.1. Bradford

Με βάση την προαναφερθείσα διαδικασία και την χρήση του συντελεστή μοριακής απόσβεσης  $\epsilon = 1,9993$ , υπολογίστηκαν τα mg πρωτεΐνης ανά ml για το κάθε εκύλισμα του πειράματος. Στην εικόνα 13 και στον πίνακα 6 φαίνονται τα αποτελέσματα στα οποία παρατηρούμε την σταδιακή μείωση στη συγκέντρωση των πρωτεϊνών.



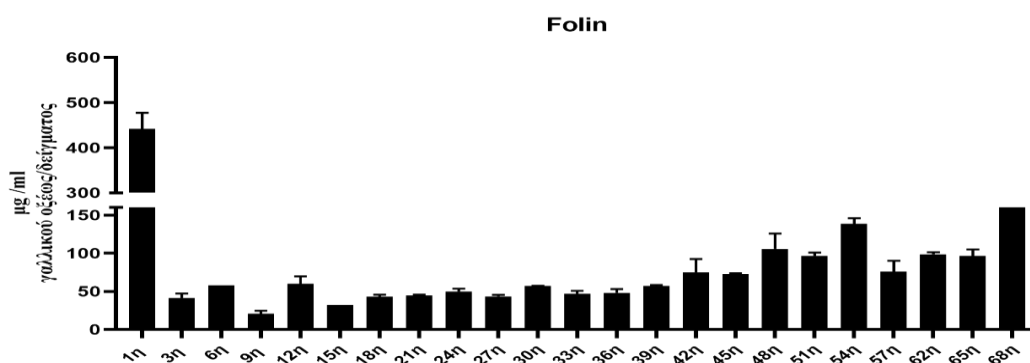
Εικόνα 13: Η σταδιακή μείωση της συγκέντρωσης πρωτεΐνης στο φυτό.

Πίνακας 6: Αποτελέσματα Bradford

Δείγματα (ημέρα)	Mean	SD
1η	4,5266	0,3537
3η	0,9578	0,0177
6η	1,0929	0,0743
9η	0,7953	0,0141
12η	0,6171	0,0115
15η	0,4233	0,0027
18η	0,5002	0,0354
21η	0,3476	0,0389
24η	0,4201	0,0018
27η	0,3539	0,0000
30η	0,3676	0,0053
33η	0,4258	0,0027
36η	0,2482	0,0203
39η	0,2438	0,0088
42η	0,2192	0,0024
45η	0,1846	0,0018
48η	0,1592	0,0094
51η	0,1676	0,0035
54η	0,1380	0,0029
57η	0,1642	0,0024
62η	0,1501	0,0059
65η	0,1680	0,0053
68η	0,127	0,008

### 3.2. Folin - Ciocalteu

Η μέθοδος Folin - Ciocalteu χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των συνολικών φαινολικών ενώσεων στο διάλυμα. Η αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίων από τις ενώσεις σε σύμπλοκα φωσφομολυβδαινικού/φωσφοροβολφραμικού οξέως σε αλκαλικό pH και προσδιορίστηκε φωτομετρικά στα 765 nm. Επειδή το αντιδραστήριο δεν αντιδρά μόνο με τις φαινολικές ενώσεις, αλλά και με άλλους αναγωγικούς παράγοντες και μπορεί να υπολογιστεί η συνολική αναγωγική ικανότητα του κάθε δείγματος. Η συγκέντρωση των εκχυλισμάτων σε ολικές φαινόλες στα δείγματα εκφράστηκαν ως mg γαλλικού οξέος ανά ml. Παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση τους αυξάνεται σταδιακά με την πάροδο του χρόνου (Εικόνα 14, Πίνακας 7).



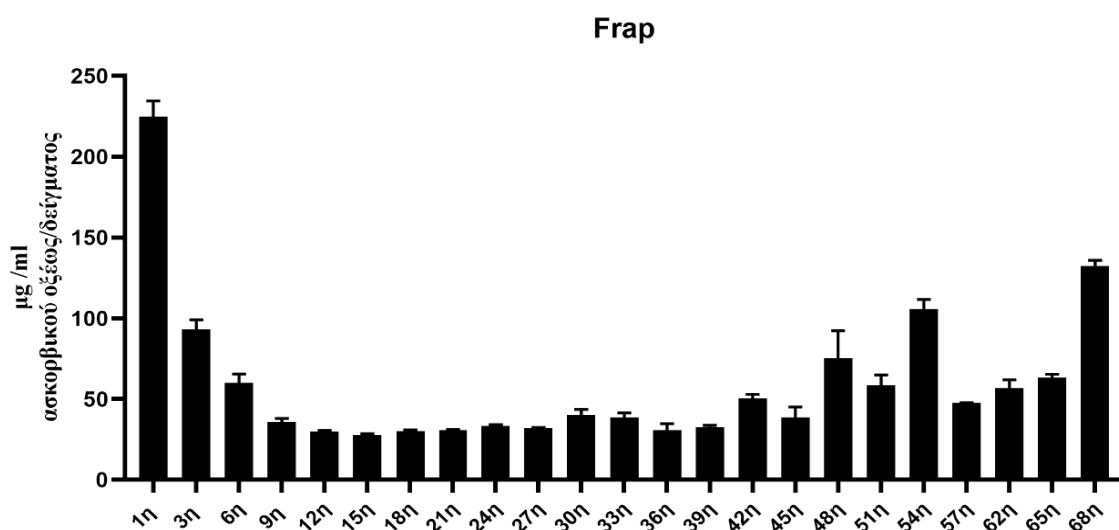
Εικόνα 14: Η σταδιακή αύξηση της αναγωγικής ικανότητας εκφρασμένη σε mg γαλλικού οξέος ανά ml δείγματος

Πίνακας 7: Αποτελέσματα Folin - Ciocalteu

Δείγματα (ημέρα)	Mean	SD
1η	442,1488	35,0631
3η	41,3223	5,8439
6η	57,8512	0,0000
9η	20,6612	3,8959
12η	59,9174	9,7398
15η	32,3691	0,0000
18η	43,0441	2,4349
21η	44,7658	0,9740
24η	49,9311	3,4089
27η	43,3884	1,9480
30η	56,8182	0,4870
33η	46,8320	3,8959
36η	48,2094	4,8699
39η	56,8182	1,4610
42η	74,8393	17,5316
45η	72,5436	1,2986
48η	105,6015	20,1288
51η	96,6483	4,2206
54η	138,4298	7,4672
57η	75,9871	13,9603
62η	98,7144	2,5973
65η	96,4187	8,4411
68η	166,208	12,337

### 3.3. Frap

Με την μέθοδο Frap προσδιορίστηκε η ικανότητα του διαλύματος να μετατρέπει το σύμπλοκο του τρισθενές σιδήρου με το TPTZ στη διασθενή του μορφή. Η ποσοτικοποίηση της ικανότητας αυτής έγινε με μέτρηση της απορρόφησης στα 593 nm. Τα αποτελέσματα της μεθόδου παρατίθενται στο ακολουθούμενο διάγραμμα και το πίνακα. Παρατηρούμε στην αρχή μία ομαλή μείωση μέχρι την 9<sup>η</sup> ημέρα, η οποία ακολουθείται από μία σταθερή αύξηση που εμφανίζεται κυρίως μετά την 30<sup>η</sup> ημέρα (Εικόνα 15, Πίνακας 8).



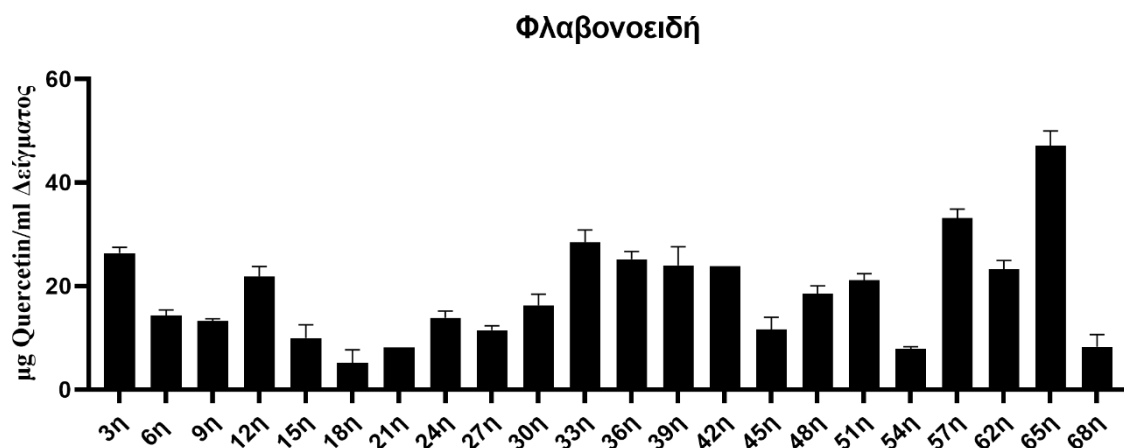
Εικόνα 15: Η μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας εκφρασμένη σε mg ασκορβικού οξέως ανά ml δείγματος

Πίνακας 8: Αποτελέσματα της μεθόδου Frap

Δείγματα (ημέρα)	Mean	SD
1η	224,9057	9,6060
3η	93,0189	6,1372
6η	59,8113	5,6035
9η	35,6604	2,4015
12η	29,9057	0,6671
15η	27,6415	0,9339
18η	30,1887	0,8005
21η	30,7547	0,2668
24η	33,4906	0,6671
27η	31,7925	0,6671
30η	40,1887	3,4688
33η	38,6792	2,6683
36η	30,7547	4,0025
39η	32,4528	1,3342
42η	50,5031	2,4015
45η	38,7421	6,4040
48η	75,1572	17,1662
51η	58,3019	6,4929
54η	105,7233	5,9593
57η	47,5472	0,1779
62η	56,5409	5,4256
65η	63,2075	2,0457
68η	132,4528	3,3799

### 3.4. Προσδιορισμός των ολικών Φλαβονοειδών

Παρατηρούμε μία διακύμανση στα ολικά φλαβονοειδή με τις μεγαλύτερες τιμές να εκφράζονται στις αρχικές ημέρες και μετά την 33<sup>η</sup> ημέρα ανάπτυξης. Οι μεγαλύτερες τιμές φαίνονται στα δείγματα της 57<sup>ης</sup> και 65<sup>ης</sup> ημέρας ανάπτυξης (Εικόνα 16, Πίνακας 9).



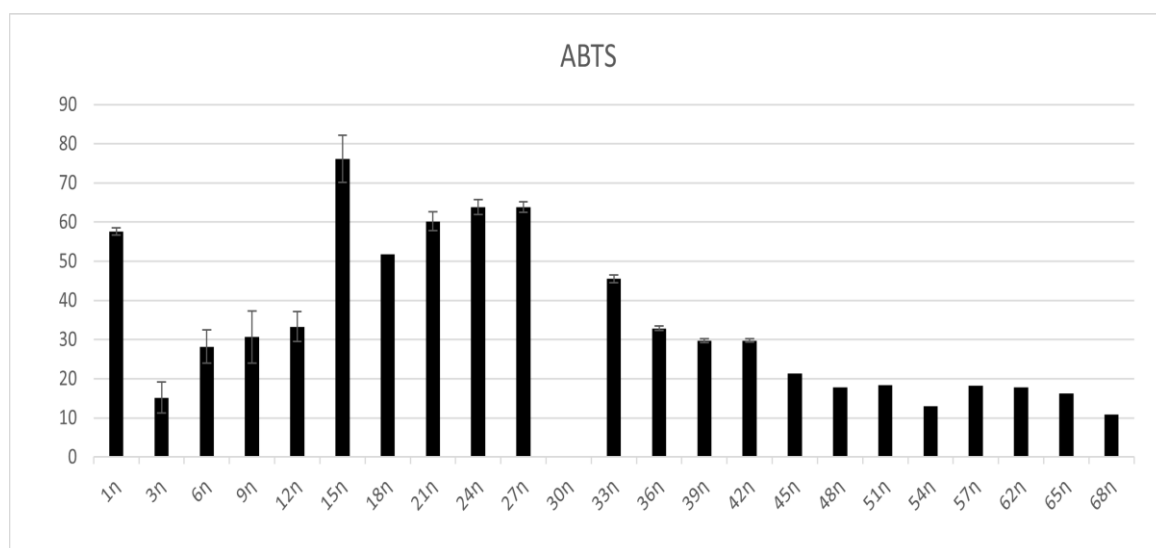
Εικόνα 16: Η κυματοειδής μεταβολή των Φλαβονοειδών στο φυτό

Πίνακας 9: Τα αποτελέσματα προσδιορισμού των Φλαβονοειδών

Δείγματα (ημέρα)	Mean	SD
3η	26,387	1,066
6η	14,324	1,066
9η	13,269	0,426
12η	21,864	1,919
15η	9,952	2,559
18η	5,127	2,559
21η	8,142	0
24η	13,872	1,279
27η	11,460	0,853
30η	16,285	2,132
33η	28,498	2,346
36η	25,181	1,493
39η	23,975	3,625
42η	23,824	0
45η	11,610	2,346
48η	18,546	1,493
51η	21,110	1,279
54η	7,841	0,426
57η	33,172	1,706
62η	23,221	1,706
65η	47,195	2,772
68η	8,293124	2,346

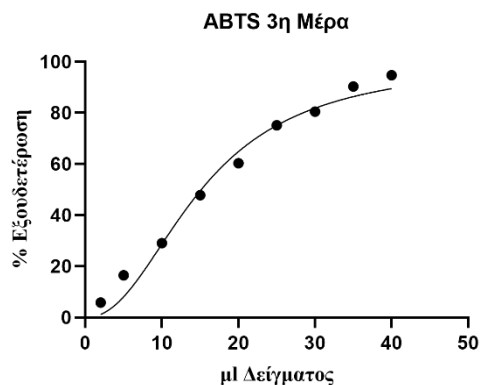
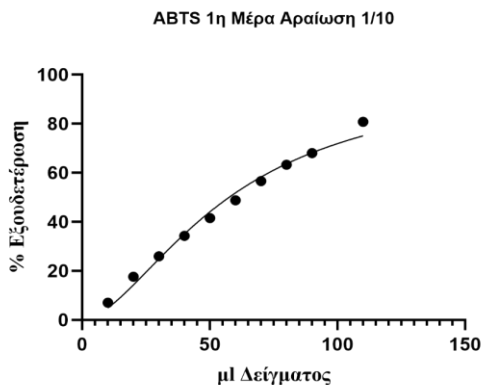
### 3.5. ABTS

Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιήθηκε η ελεύθερη ρίζα ABTS για να δεσμευθούν τα αντιοξειδωτικά κάθε δείγματος. Η κινητική της αντιδράσεως μεταξύ ABTS και αντιοξειδωτικών δεν είναι γραμμική, οπότε η αντιοξειδωτική ικανότητα εκφράζεται χρησιμοποιώντας το συντελεστή ανασταλτικής ισχύος IC50. Το αμμωνιακό άλας ABTS (7mmol) διαλύονται σε νερό με υπερθειικό καλίο (2,45 mmol), σε ίσες αναλογίες και το μείγμα διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου για 12 – 16 ώρες, όπου αποκτά ένα βαθύ κυανό χρώμα. Αυτό το διάλυμα αραιώνεται με αιθανόλη ώστε να έχει απορρόφηση ABS = 0,7 στα 734nm. Στο διάγραμμα απουσιάζει η τιμή της 30<sup>ης</sup> ημέρας λόγω φθοράς του δείγματος. Παρατηρούμε στα αρχικά στάδια μία μεγαλύτερη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών η οποία σταδιακά μειώνεται μέχρι να φθάσουμε στην καμπή περίπου της 33<sup>ης</sup> ημέρας ανάπτυξης όπου αρχίζει σταδιακά πάλι να αυξάνεται η παραγωγή αντιοξειδωτικών (Εικόνα 17). Ακολουθούν αναλυτικά τα αποτελέσματα στις επόμενες σελίδες.

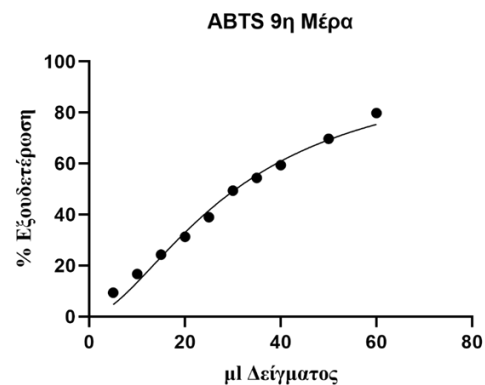
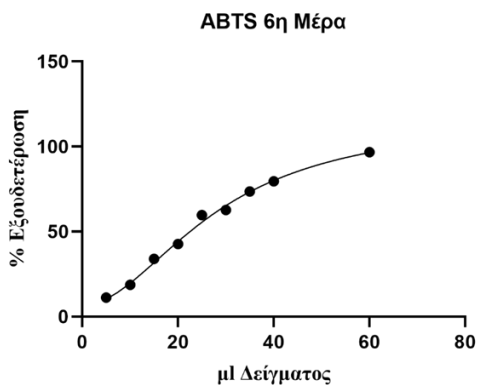


Εικόνα 17: Η μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας του φυτού όπως αυτή φαίνεται γραφικά από την δοκιμασία ABTS

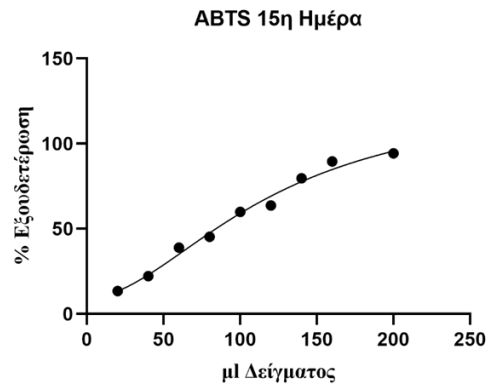
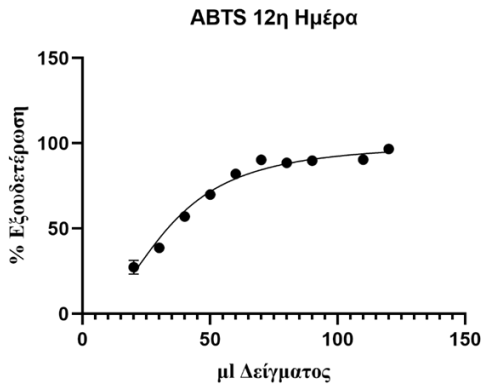




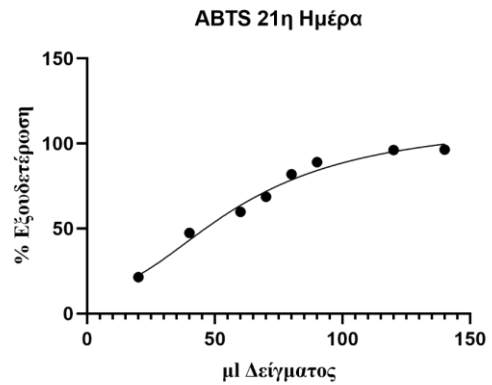
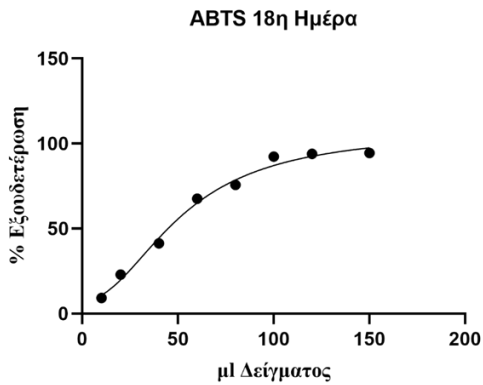
IC 50	57,54	IC 50	15,16
STD error	1,092	STD error	0,5794
Degrees of Freedom	16	Degrees of Freedom	10
R squared	0,9847	R squared	0,9814



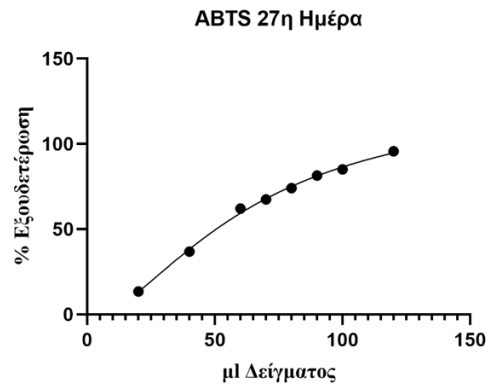
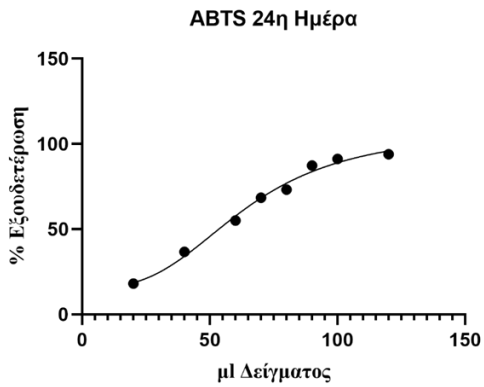
IC 50	28,19	IC 50	30,66
STD error	1,751	STD error	0,5439
Degrees of Freedom	10	Degrees of Freedom	17
R squared	0,9961	R squared	0,9855



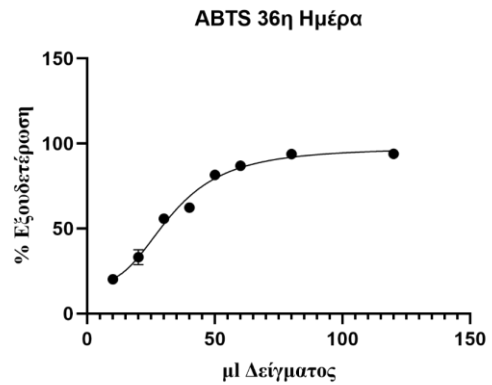
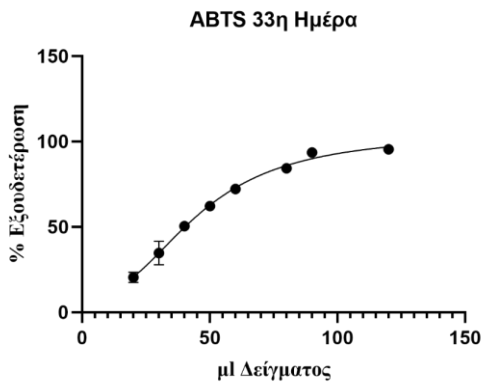
IC 50	33,30	IC 50	76,12
STD error	0,9150	STD error	3,995
Degrees of Freedom	13	Degrees of Freedom	8
R squared	0,9808	R squared	0,9925



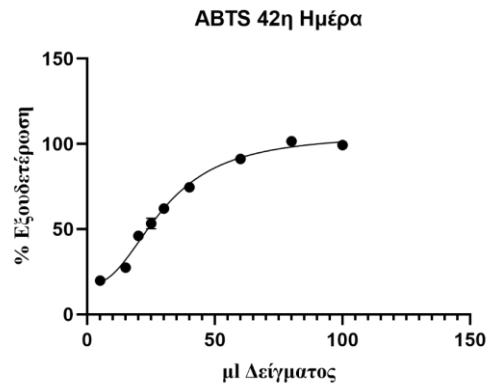
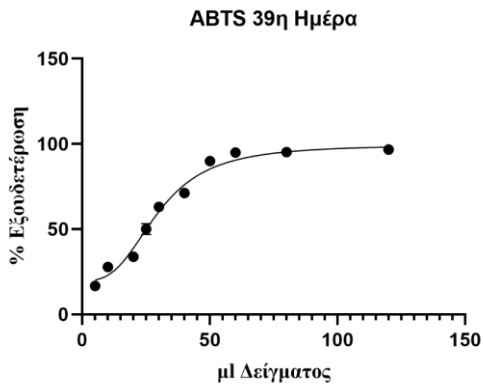
IC 50	51,84	IC 50	60,20
STD error	4,270	STD error	6,622
Degrees of Freedom	9	Degrees of Freedom	6
R squared	0,9901	R squared	0,9816



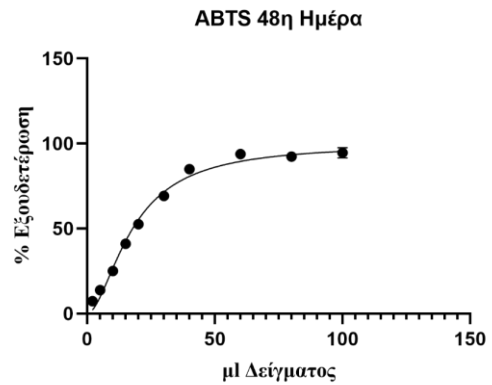
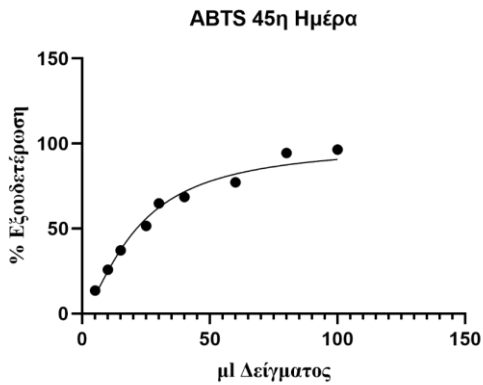
IC 50	63,82	IC 50	63,84
STD error	3,842	STD error	6,001
Degrees of Freedom	7	Degrees of Freedom	12
R squared	0,9930	R squared	0,9960



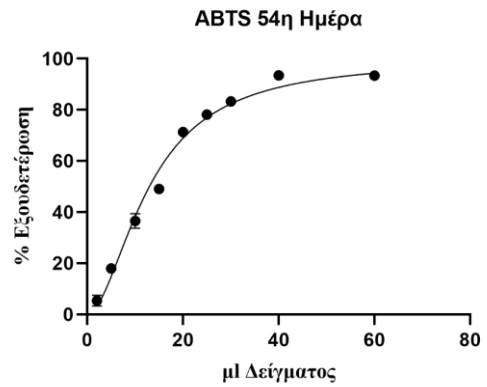
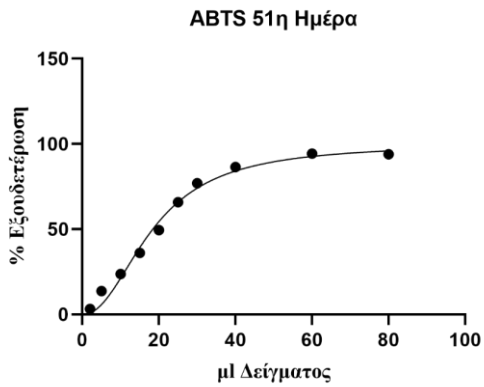
IC 50	45,48	IC 50	32,86
STD error	2,376	STD error	1,863
Degrees of Freedom	12	Degrees of Freedom	8
R squared	0,9909	R squared	0,9903



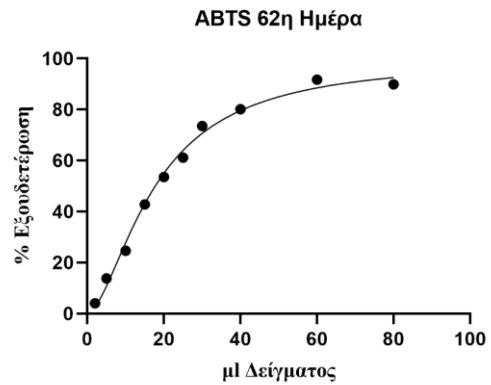
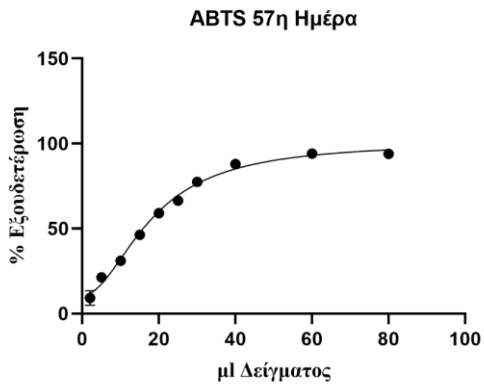
IC 50	29,70	IC 50	29,72
STD error	1,363	STD error	1,987
Degrees of Freedom	13	Degrees of Freedom	6
R squared	0,9843	R squared	0,9909



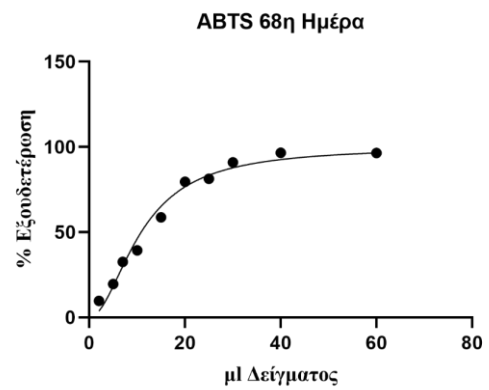
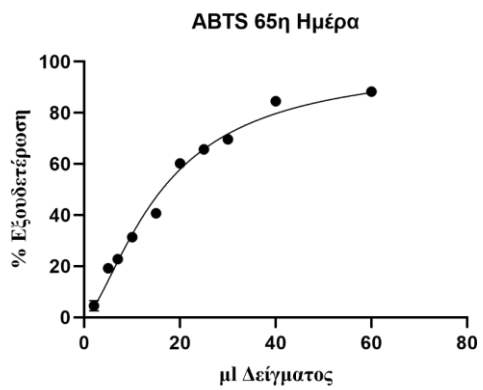
IC 50	21,30	IC 50	17,78
STD error	0,9590	STD error	0,5808
Degrees of Freedom	9	Degrees of Freedom	15
R squared	0,9812	R squared	0,9903



IC 50	18,43	IC 50	12,98
STD error	0,4659	STD error	0,4153
Degrees of Freedom	13	Degrees of Freedom	12
R squared	0,9892	R squared	0,9901



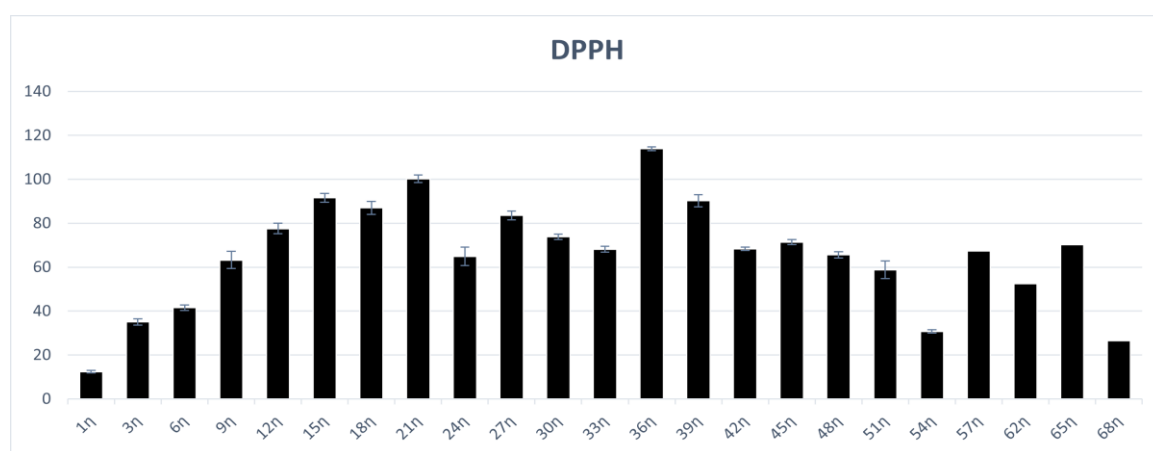
IC 50	18,18	IC 50	17,75
STD error	1,088	STD error	0,4452
Degrees of Freedom	11	Degrees of Freedom	13
R squared	0,9931	R squared	0,9935



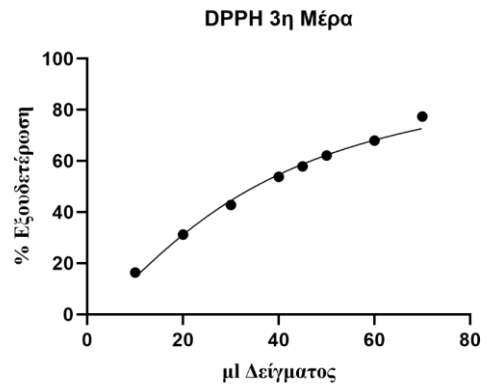
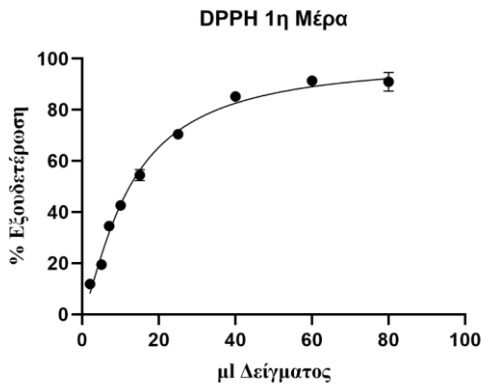
IC 50	16,23	IC 50	10,85
STD error	0,5838	STD error	0,3997
Degrees of Freedom	10	Degrees of Freedom	13
R squared	0,9907	R squared	0,9860

### 3.6. DPPH

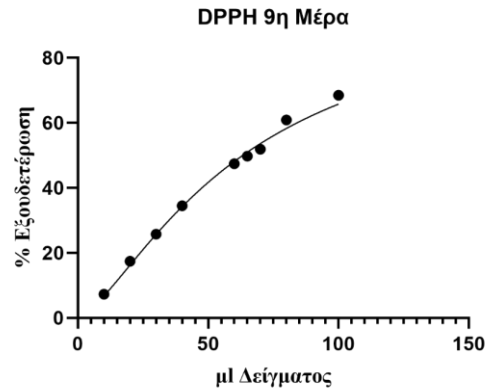
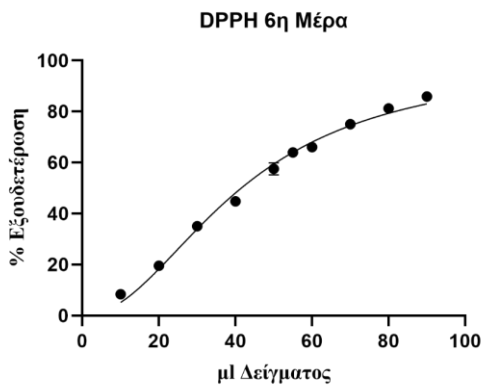
Με τη μέθοδο DPPH έγινε ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας όπως περιγράφεται στην παράγραφο 2.5.3. Συγκεκριμένα, υπολογίζεται το επί τοις εκατό ποσοστό εξουδετέρωσης της ρίζας DPPH, με μετρήσεις διαφορετικών συγκεντρώσεων διαλύματος στα 517 nm, με την βοήθεια του GraphPad Prism 8. Όσο υψηλότερη είναι η κατανάλωση κατά την αντίδραση τόσο ισχυρότερα αντιοξειδωτικό είναι το δείγμα. Με αυτό τον τρόπο μπορεί να συγκριθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα διαφορετικών εκχυλισμάτων. Παρατηρούμε στα αρχικά στάδια μία μεγαλύτερη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών η οποία σταδιακά μειώνεται μέχρι να σταθεροποιηθούν περίπου μετά την 24 ημέρα (Εικόνα 18). Ακολουθούν αναλυτικά τα αποτελέσματα στις επόμενες σελίδες.



Εικόνα 18: Η μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας του φυτού όπως αυτή φαίνεται γραφικά από την δοκιμασία DPPH

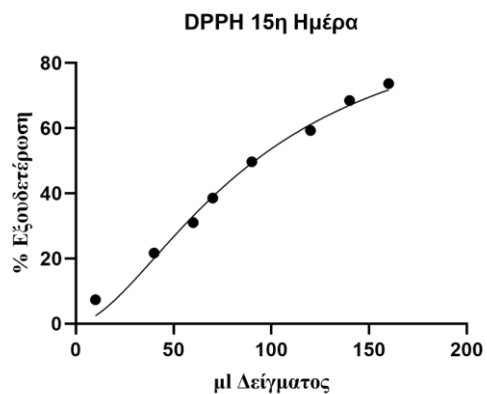
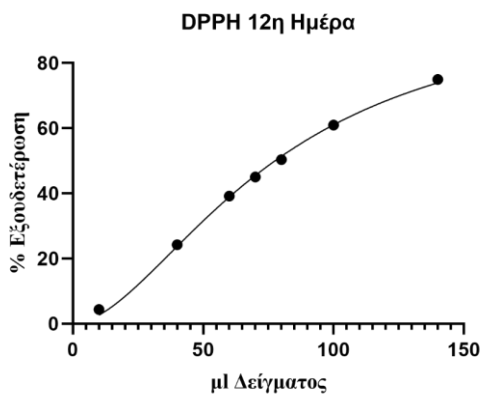


IC 50	12,40	IC 50	35,07
STD error	0,3913	STD error	0,6446
Degrees of Freedom	14	Degrees of Freedom	11
R squared	0,9912	R squared	0,9907

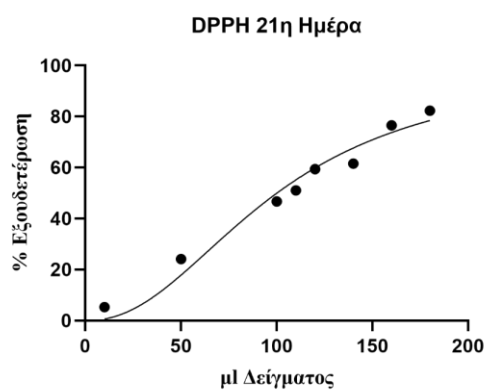
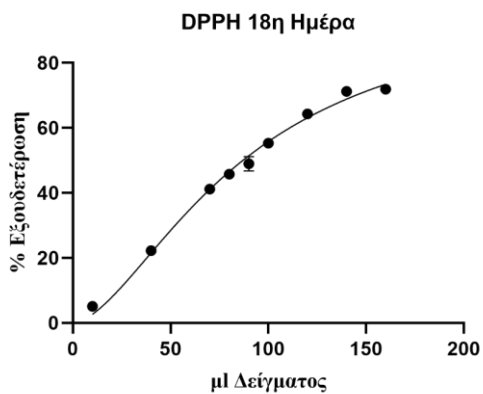


IC 50	41,56	IC 50	63,27
STD error	0,6140	STD error	1,008
Degrees of Freedom	17	Degrees of Freedom	10
R squared	0,9918	R squared	0,9921

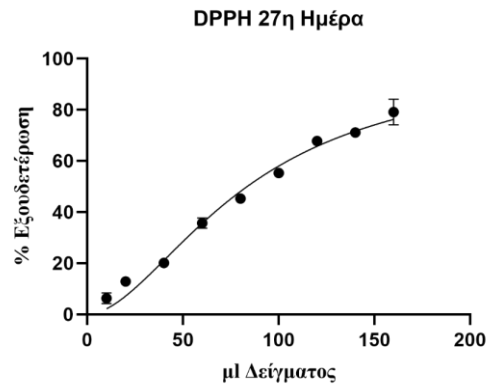
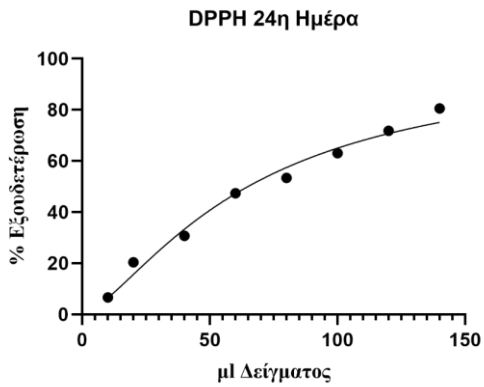




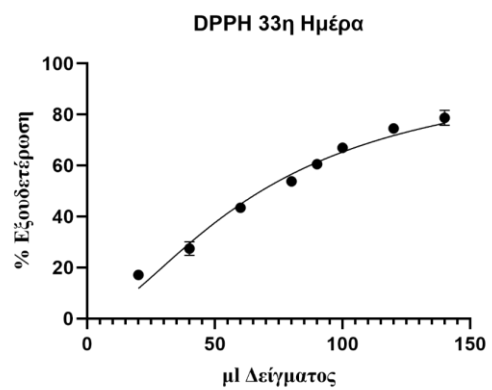
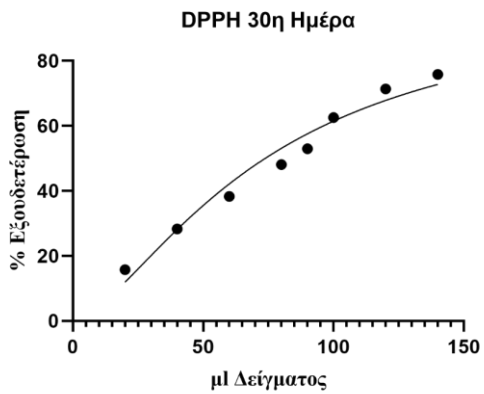
IC 50	77,58	IC 50	91,58
STD error	0,6019	STD error	1,450
Degrees of Freedom	10	Degrees of Freedom	12
R squared	0,9979	R squared	0,9901



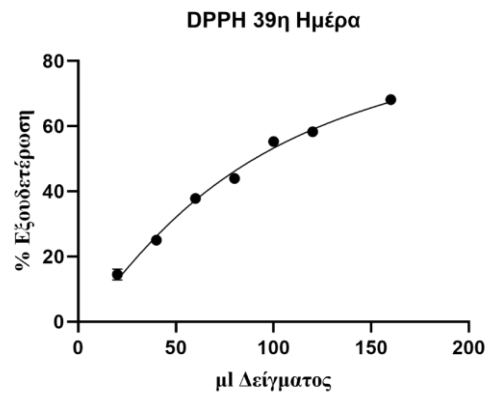
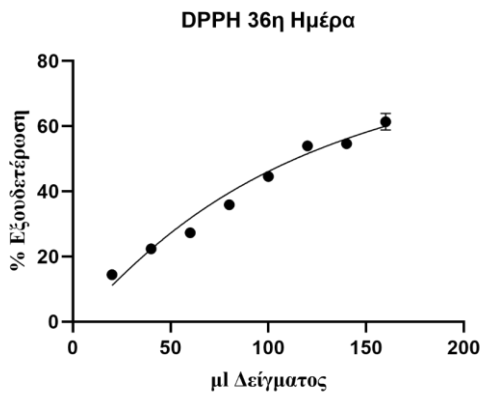
IC 50	87,00	IC 50	100,2
STD error	1,293	STD error	3,843
Degrees of Freedom	13	Degrees of Freedom	9
R squared	0,9929	R squared	0,9703



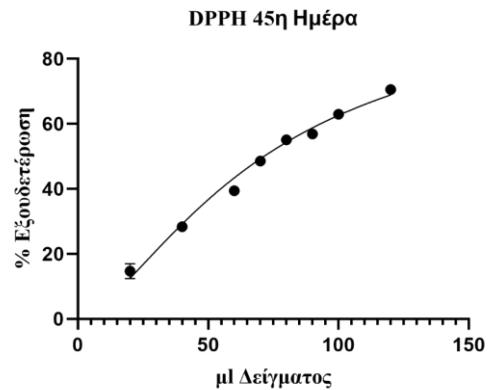
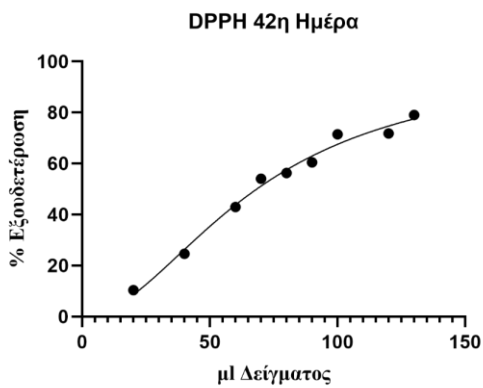
IC 50	64,94	IC 50	83,53
STD error	2,399	STD error	2,056
Degrees of Freedom	8	Degrees of Freedom	14
R squared	0,9859	R squared	0,9851



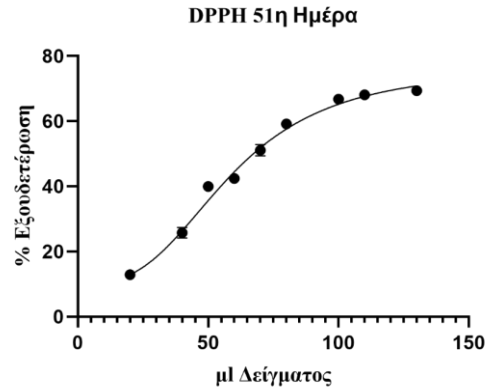
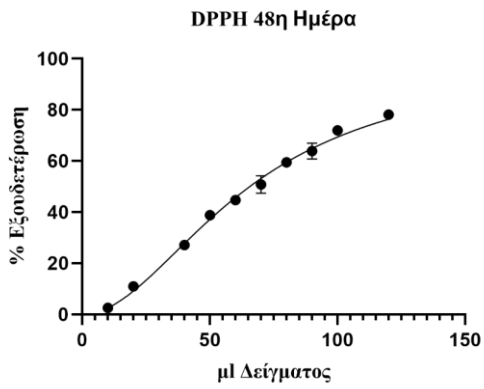
IC 50	73,81	IC 50	68,09
STD error	2,977	STD error	1,661
Degrees of Freedom	8	Degrees of Freedom	13
R squared	0,9725	R squared	0,9791



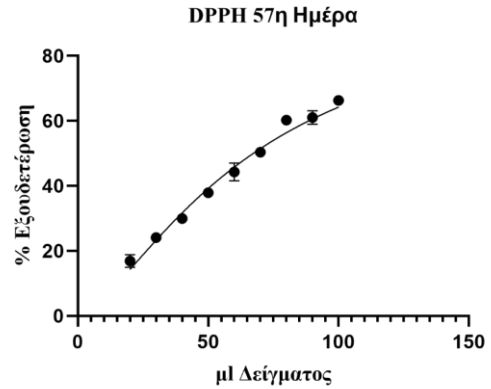
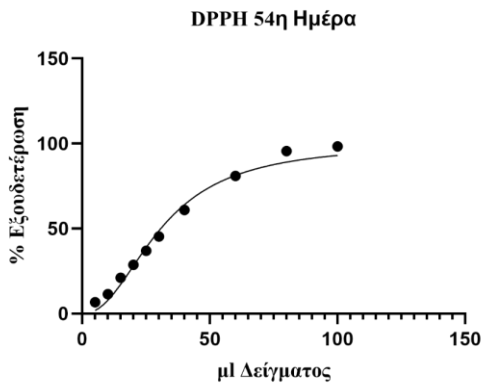
IC 50	113,9	IC 50	90,25
STD error	4,174	STD error	2,054
Degrees of Freedom	9	Degrees of Freedom	9
R squared	0,9750	R squared	0,9896



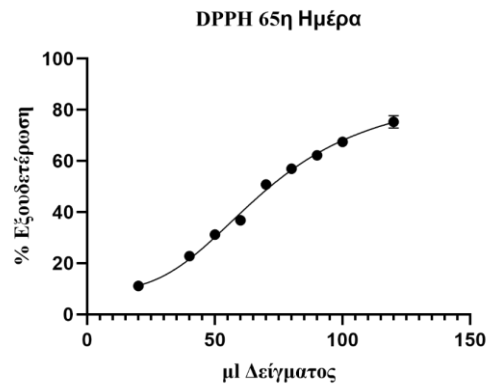
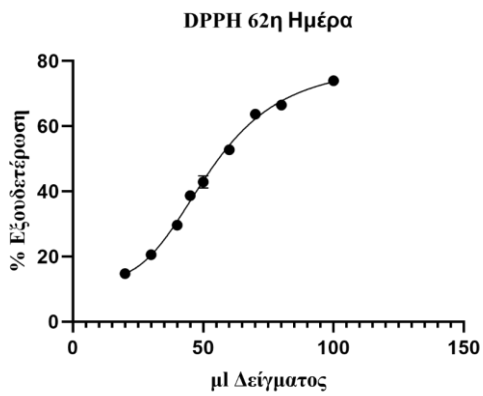
IC 50	68,38	IC 50	71,42
STD error	1,175	STD error	1,313
Degrees of Freedom	11	Degrees of Freedom	10
R squared	0,9909	R squared	0,9899



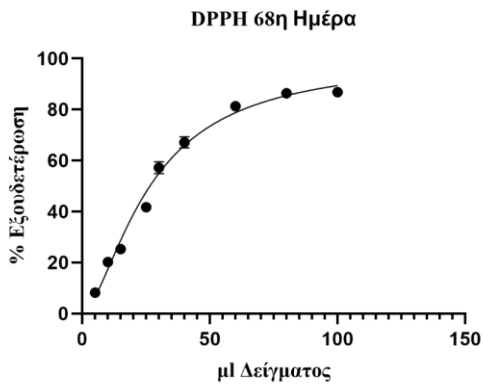
IC 50	65,63	IC 50	58,75
STD error	0,7794	STD error	2,723
Degrees of Freedom	17	Degrees of Freedom	10
R squared	0,9935	R squared	0,9890



IC 50	30,78	IC 50	67,32
STD error	0,7762	STD error	1,212
Degrees of Freedom	18	Degrees of Freedom	14
R squared	0,9854	R squared	0,9831



IC 50	52,45	IC 50	70,28
STD error	1,391	STD error	3,998
Degrees of Freedom	9	Degrees of Freedom	10
R squared	0,9955	R squared	0,9929



IC 50	26,51
STD error	0,7223
Degrees of Freedom	14
R squared	0,9904

### 3.7. Αλληλοπάθεια

Η αλληλοπάθεια χαρακτηρίζεται ως μία διαδικασία που περιλαμβάνει βιοχημικές ενώσεις, γνωστές ως δευτερογενείς μεταβολίτες, οι οποίες παράγονται από φυτά, φαιοφύκη, βακτήρια και μύκητες και διαχέονται από αυτούς σε καλλιεργήσιμα ή μη περιβάλλοντα επηρεάζοντας την ανάπτυξη άλλων γειτονικών οργανισμών. Η λέξη έχει ελληνική ρίζα και αποτελείται από δύο συνθετικά: τη λέξη άλληλος και το ρήμα πάθω.

Οι αλληλοπαθητικές ή αλληλοχημικές αυτές ενώσεις έχουν θετικές επιπτώσεις δρώντας ως θετικά αλληλοπαθητικά διεγερτικά (θετική αλληλοπάθεια) ή αρνητικές επιπτώσεις δρώντας ως αλληλοπαθητικοί αναστολείς ή αλληλοχημικές τοξίνες (αρνητική αλληλοπάθεια) σε έναν οργανισμό που βρίσκεται κοντά στην πηγή τους. Επηρεάζουν την αύξηση, την φωτοσύνθεση, την εξατμισοδιαπνοή, την πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών και νερού, την πρωτεϊνοσύνθεση και πολλές άλλες λειτουργίες. Απελευθερώνονται στο περιβάλλον μέσω της εξαέρωσης, της έκλυσης από το φυτό και της αποσύνθεσης φυτικών ιστών στο έδαφος.



Εικόνα 19: Τα ανεπτυγμένα φytάρια 24 ωρών κατά σειρά: 1η απόσταση 4cm, 2η απόσταση 2,5cm, 3η απόσταση 1 cm και στην τελευταία σειρά απομονωμένοι σπόροι.

Η αλληλοπάθεια μπορεί να εμφανιστεί μεταξύ φυτών του ίδιου είδους (ενδοειδική αλληλοπάθεια) ή μεταξύ διαφορετικών φυτικών ειδών (διαειδική αλληλοπάθεια). Σε ορισμένες περιπτώσεις, η αλληλοπάθεια μπορεί να αποτελεί προσαρμοστική στρατηγική ενός φυτικού είδους για την απόκτηση ανταγωνιστικού πλεονεκτήματος έναντι άλλων φυτών, αναστέλλοντας την ανάπτυξή τους ή μειώνοντας τον ανταγωνισμό για πόρους όπως νερό, θρεπτικά συστατικά ή φως.

Τα αποτελέσματα της μπορούν να εκδηλωθούν με διάφορους τρόπους, όπως η αναστολή της βλάστησης των σπόρων, η μείωση της ανάπτυξης των ριζών ή των βλαστών, η διαταραχή της πρόσληψης θρεπτικών συστατικών, η παρέμβαση στην ορμονική ρύθμιση ή η μεταβολή των φυσιολογικών διεργασιών. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μελέτη της αλληλοπάθειας είναι πολύπλοκη και περιλαμβάνει διάφορους παράγοντες, όπως ο τύπος και η συγκέντρωση των αλληλοχημικών ουσιών, η ευαισθησία των φυτών υποδοχής, οι περιβαλλοντικές συνθήκες και οι συγκεκριμένες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φυτικών ειδών. Η συνεχιζόμενη έρευνα στον τομέα της αλληλοπάθειας αποσκοπεί στην εμβάθυνση της κατανόησης αυτών των αλληλεπιδράσεων και των οικολογικών επιπτώσεών τους.

Στο παρόν πείραμα αξιολογήθηκε το εάν οι σπόροι του φυτού παρουσιάζουν αλληλοπάθεια (εικόνα 19).

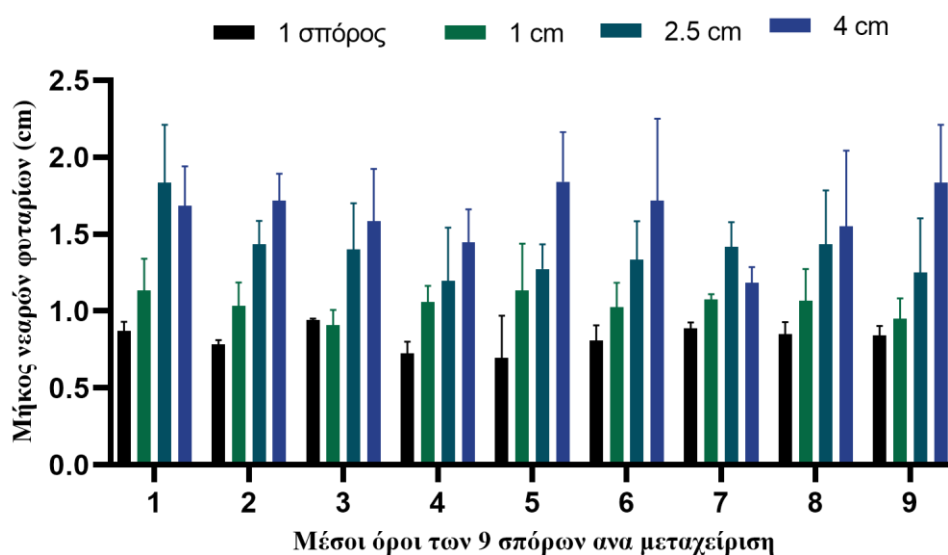
Τοποθετήθηκαν εννέα απολυμασμένοι σπόροι, απομονωμένοι και σε σταθερές αποστάσεις των 4\*4cm, 2,5\*2,5cm και 1\*1cm. Στο πείραμα έγιναν 3 βιολογικές επαναλήψεις. Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά με ANOVA και έχουν ως εξής:

Πίνακας 10: Ανονα της δοκιμασίας για την αλληλοπάθεια των σπόρων.

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value	R square
Treatment (between columns)	3,404	3	1,135	F (3, 32) = 50,99	P<0,0001	0,8270
Residual (within columns)	0,7120	32	0,02225			
Total	4,116	35				

Actual mean	1 σπόρος	1*1 cm	2.5*2.5 cm	4*4 cm
Cm	0,8226	1,043	1,397	1,617



## 4. Συζήτηση

Τα φυτά παράγουν έναν μεγάλο αριθμό διαφορετικών οργανικών ενώσεων που δεν φαίνεται να έχουν άμεση συμμετοχή στην αύξηση και την ανάπτυξη τους. Αυτές οι ενώσεις χαρακτηρίζονται ως δευτερογενείς μεταβολίτες, δευτερογενή ή φυσικά προϊόντα. Οι ρόλοι τους μέσα στο φυτό, για τις δραστηριότητες της φωτοσύνθεσης, της αναπνοής, της μεταφοράς διαλυμένων ουσιών, της σύνθεσης πρωτεϊνών, της αφομοίωσης θρεπτικών ή του σχηματισμού πρωτογενών μεταβολιτών, δεν είναι άμεσα αναγνωρίσιμοι. Διαφέρουν από τους πρωτογενείς μεταβολίτες, στο γεγονός ότι δεν συναντώνται σε όλο το φυτικό βασίλειο, αλλά σε ομάδες συγγενικών ειδών ή σε διαφορετικά είδη. Συνήθως διαιρούνται σε 3 διακριτές χημικές ομάδες: τα τερπένια, τις φαινολικές ουσίες και τις αζωτούχες ενώσεις [89].

Από τις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα και μετά, όπου ξεκίνησε πιο μεθοδικά οι μελέτη τους αναγνωρίστηκαν σημαντικές οικολογικές λειτουργίες των μεταβολιτών στα φυτά. Μερικοί από τους ρόλους ύπαρξης τους, που έχουν περιγραφεί μέχρι στιγμής, είναι η προστασία του φυτού έναντι φυτοφάγων οργανισμών ή φυτοπαθογόνων, η προσέλκυση επικονιαστών ή ζώων που συμβάλλουν στην διασπορά των σπερμάτων καθώς και η έκλυση παραγόντων ανταγωνισμού ή συμβίωσης μεταξύ άλλων φυτών ή μικροοργανισμών. Η ικανότητα επιβίωσης των φυτών, ως οργανισμοί που δεν έχουν την δυνατότητα μετακίνησης, επηρεάζεται πολύ από τις οικολογικές λειτουργίες των δευτερογενών μεταβολιτών που τα ίδια παράγουν [89].

Το αποτέλεσμα τους στην συμβίωση των φυτών γλιστρίδας εμφανίζεται στο πείραμα αλληλοπάθειας που πραγματοποιήθηκε στη παρούσα μελέτη. Οι σπόροι οι οποίοι τοποθετήθηκαν απομονωμένοι από τους υπόλοιπους εμφάνισαν την μικρότερη ανάπτυξη με ένα μέσο όρο τα 0,82 cm και ακολουθούσαν αυτοί που τοποθετήθηκαν σε αποστάσεις 1\*1 cm (1,04 cm), 2,5\*2,5 cm (1,40 cm) και τέλος αυτοί στα 4\*4 cm (1,62 cm) μεταξύ τους που εμφάνισαν και την μεγαλύτερη ανάπτυξη. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν την αλληλοπαθητική δυναμική της γλιστρίδας. Εμφανίζει θετική αλληλοπάθεια όταν υπάρχει αρκετός χώρος ανάπτυξης και το φυτό θεωρεί ότι έχει αρκετά θρεπτικά συστατικά, ενώ εμφανίζεται αρνητική αλληλοπάθεια όταν υπάρχει απουσία συγγενούς είδους κοντά ή μεγάλη πληθυσμιακή συγκέντρωση σε στενό χώρο, με αποτέλεσμα τον μεγαλύτερο ανταγωνισμό. Η εμφάνιση αλληλοπάθειας στο στάδιο του σπόρου είναι κρίσιμης σημασίας για την ανάπτυξη των φυτών, καθώς η απελευθέρωση ανασταλτικών παραγόντων, μπορεί να επηρεάσει την ανταγωνιστική ικανότητα των γειτονικών φυτών ή καλλιεργούμενων ειδών κατά το στάδιο της εγκατάστασης τους.

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία τα φύλλα και οι μίσχοι των φυτών αποτελούν καλή πηγή ανόργανων συστατικών και δευτερογενών μεταβολιτών. Ωστόσο η γενετική σύσταση, τα στάδια ανάπτυξης, οι ημερομηνίες φύτευσης και άρα οι συνθήκες ανάπτυξης, τα επίπεδα αλατότητας και θρεπτικών συστατικών στα οποία έχει πρόσβαση το φυτό είναι μερικές μόνο από τις καταστάσεις οι οποίες μπορούν να τροποποιήσουν την βιοχημική του σύσταση. Προκειμένου να αποκλείσουμε αυτές τις παραμέτρους, και να παρατηρήσουμε την επίδραση της ηλικίας, αναπτύξαμε τα φυτά σε σταθερές συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας και χωρίς εδαφικές παρεμβάσεις.

Αξίζει να αναφερθεί ότι σύμφωνα με τα αποτελέσματα στις αναλύσεις των δειγμάτων και των 68 ημερών που έγιναν σε αυτό το πείραμα, δεν εντοπίστηκαν στο φυτό



ανθοκυανίνες, σε αντίθεση με την βιβλιογραφία που χαρακτηρίζει τον βλαστό ως πλούσιο σε αυτές. Το κόκκινο χρώμα που παρουσιάστηκε στον βλαστό του, εικάζεται ότι προέρχεται από την παρουσία ανθρακινονών, κάτι το οποίο συμφωνεί επίσης με βιβλιογραφικές αναφορές.

Η συνολική συγκέντρωση των πρωτεϊνών ξεκινάει με την μέγιστη τιμή της στο στάδιο του σπόρου, όπου είναι συγκεντρωμένο το σύνολο των απαραίτητων συστατικών που χρειάζεται το φυτό για να επιζήσει στα πρώτα στάδια της ζωής του μέχρι να αρχίσουν να λειτουργούν οι διαδικασίες που θα το καταστήσουν αυτότροφο. Σταδιακά η τιμή αυτή μειώνεται περίπου κατά 87%. Η μείωση αυτή μπορεί ίσως να οφείλεται στην αύξηση των φυτικών ινών και των δομικών υδατανθρακών. Υπάρχει πάντα και το ενδεχόμενο όσο μεγαλώνει το φυτό να πραγματοποιείται και μεγαλύτερη κατανάλωση των πρωτεϊνών με αποτέλεσμα να απεικονίζονται μικρότερες συγκεντρώσεις από αυτές που όντως παράγονται.

Οι φαινολικές ενώσεις παρουσιάζουν μεγάλη χημική ποικιλότητα. Έχουν κυρίως φυτοπροστατευτικό ρόλο αλλά δεν περιορίζονται μόνο σε αυτόν καθώς λαμβάνουν μέρος και στην μηχανική υποστήριξη (π.χ η λιγνίνη - ένα φαινολικό μακρομόριο το οποίο αποτελείται από διακλαδισμένες φαινυλοπροπανοειδείς ομάδες, βρίσκεται στα κυτταρικά τοιχώματα ποικίλων κυττάρων και σχηματίζει στηρικτικούς και αγωγούς ιστούς) , στην προσέλκυση επικονιαστών, την διασπορά των καρπών και στην απορρόφηση της επιβλαβούς υπεριώδους ακτινοβολίας. Η απελευθέρωση φαινολικών ενώσεων στο έδαφος μπορεί να περιορίζει την ανάπτυξη άλλων φυτών. Θα μπορούσε κανείς να υποθέσει ότι η γλιστρίδα είναι ικανή να παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φαινολικών στα νεαρά στάδια, όπου τα φυτά είναι μεταβολικά πιο ενεργά και αξιοποιούν βασικές ενώσεις για την προστασία τους κατά την ανάπτυξη τους, συναντάμε τις υψηλότερες τιμές στα ώριμα φυτά και ειδικά μετά την 48<sup>η</sup> ημέρα ανάπτυξης, αποτελέσματα που συμφωνούν και με άλλες μελέτες. Πιθανόν αυτή η συμπεριφορά να εμφανίζεται γιατί το φυτό αφιερώνει τα αρχικά του στάδια κυρίως στην ανάπτυξη του και λιγότερο σε αυτή καθαυτή την προστασία του. Σταδιακά όσο μεγαλώνει σε φυτικό όγκο και εκτίθεται σε περισσότερους εξωτερικούς κινδύνους, αλλά και όσο πλησιάζει προς τα στάδια της γονιμοποίησης και της σποροπαραγωγής και άρα την διαίωσιση του, το φυτό παράγει φαινολικές ενώσεις για να επιτύχει τα αποτελέσματα που προαναφέρονται, δηλαδή να αποκτήσει καλύτερη μηχανική στήριξη, να προστατευτεί από φυτοπαθογόνα και φυτοφάγα αλλά και να προσελκύσει ωφέλιμους οργανισμούς που θα του επιτρέψουν την επιβίωση και εξάπλωση του.

Τα φλαβονοειδή είναι μία από τις μεγαλύτερες κατηγορίες φαινολικών ενώσεων. Συγκρίνοντας τον συνολικό αριθμό τους με αυτόν των φαινολικών παρατηρούμε ότι δεν αυξάνονται σταδιακά με την αύξηση της ηλικίας αλλά ακολουθούν μία κυματοειδή συμπεριφορά. Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκαν μεταξύ 57<sup>ης</sup> και 65<sup>ης</sup> ημέρας και ακολουθεί το διάστημα της 33<sup>ης</sup> με την 42<sup>η</sup>. Η περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή θα μπορούσε επίσης να αλλάξει με άλλους κύριους παράγοντες, όπως η γενετική παραλλακτικότητα και οι εδαφοκλιματικές συνθήκες.

Στις μεθόδους που μετρήθηκε η συνολική αντιοξειδωτική δραστηριότητα (Frap, ABTS, DPPH) η τάση των αποτελεσμάτων ακολουθεί πανομοιότυπη πορεία. Εμφανίζεται στην αρχή αντιοξειδωτική δραστηριότητα η οποία μειώνεται σταδιακά μέχρι την 9<sup>η</sup> – 12<sup>η</sup> ημέρα ανάπτυξης. Στην συνέχεια ακολουθεί ένα διάστημα στο οποίο η αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσιάζεται σημαντικά μειωμένη, στην FRAP σχεδόν σταθερή μέχρι την 39<sup>η</sup>

ημέρα, στην δοκιμασία του DPPH με μικρές αυξομειώσεις πάλι περίπου μέχρι την ίδια ημέρα ανάπτυξης όπου αρχίζει να αυξάνεται η αντιοξειδωτική ικανότητα, ενώ στην διαδικασία του ABTS υπάρχει μία σταδιακή μείωση της δραστηριότητας μέχρι περίπου την 27<sup>η</sup> – 30<sup>η</sup> ημέρα ανάπτυξης και ύστερα αρχίζει πάλι η αύξηση της όπου θα φτάσουμε στο αποκορύφωμα περίπου την 54<sup>η</sup>.

Συνοψίζοντας, βλέπουμε την εξελικτική επιλογή ενός από τα ποιο διαδεδομένα φυτά στον κόσμο, να προστατέψει με την παραγωγή δευτερογενών μεταβολικών όπως τα αντιοξειδωτικά, τις αρχικές στάδια έκπτυξης και εδραίωσης του νεαρού φυτού, στην συνέχεια να δώσει προτεραιότητα στην ανάπτυξη του και να ξαναρχίσει την παραγωγή αντιοξειδωτικών λίγο πριν μπει στην διαδικασία της σποροπαραγωγής και άρα της ολοκλήρωσης του βιολογικού του κύκλου. Τα δεδομένα αυτής της μελέτης είναι αρκετά σημαντικά για τον καθορισμό της καλύτερης περιόδου συγκομιδής του φυτού, εφόσον αυτό πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για την αξιοποίηση των αντιοξειδωτικών του ουσιών είτε στην γαστρονομία, είτε στη φαρμακευτική είτε στην κοσμετολογία. Αυτή μπορεί να οριστεί η περίοδος μετά την 48<sup>η</sup> ημέρα ανάπτυξης.

## Βιβλιογραφία

- [1] P. Oleracea and C. A. Zimmerman, “GROWTH CHARACTERISTICS OF WEEDINESS IN,” 1976.
- [2] S. F. Gorske, A. M. Rhodes, and H. J. Hopen, “ A Numerical Taxonomic Study of *Portulaca oleracea*,” *Weed Sci*, vol. 27, no. 1, pp. 96–102, Jan. 1979, doi: 10.1017/s0043174500043575.
- [3] LeRoy G. Holm, *The World’s Worst Weeds: Distribution and Biology*. Michigan: East-West Center, 1977.
- [4] Y. X. Zhou, H. L. Xin, K. Rahman, S. J. Wang, C. Peng, and H. Zhang, “*Portulaca oleracea* L.: A review of phytochemistry and pharmacological effects,” *BioMed Research International*, vol. 2015. Hindawi Limited, 2015. doi: 10.1155/2015/925631.
- [5] M. Ozturk, V. Altay, and A. Güvensen, “*Portulaca oleracea*: A Vegetable from Saline Habitats,” in *Handbook of Halophytes*, Springer International Publishing, 2021, pp. 2319–2332. doi: 10.1007/978-3-030-57635-6\_96.
- [6] A. Sultana, K. Raheman, and K. Rahman, “*Portulaca oleracea* Linn: A global panacea with ethnomedicinal and pharmacological potential Assessment of mizaj in amenorrhoea View project Dysmenorrhoea View project PORTULACA OLERACEA LINN: A GLOBAL PANACEA WITH ETHNOMEDICINAL AND PHARMACOLOGICAL POTENTIAL,” 2013. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/285933558>
- [7] Dr. M.K. Rana, *Vegetable Crops Science*, 1st ed. CRC Press, 2017. doi: <https://doi.org/10.1201/9781315116204>.
- [8] Y.P.S. Bajaj, *Biotechnology in Agriculture and Forestry 37 Medicinal and Aromatic Plants IX*. Springer, 1996.
- [9] R. Rinaldi, “Ethnobotany of purslane (*Portulaca oleracea* L.) in Italy and morphobiometric analyses of seeds from archaeological sites in the Emilia Romagna Region (Northern Italy). BRAIN-Botanical Records of Archaeobotany Italian Network View project,” 2009. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/257433802>
- [10] L. W. Mitich, “Common purslane (*Portulaca oleracea*),” *Weed Technology*, vol. 11, no. 2. Weed Science Society of America, pp. 394–397, 1997. doi: 10.1017/s0890037x00043128.
- [11] Μόσχου Ελένη, “*Portulaca oleracea* (Ανδράχλη η ολησθηρίς ή Πορτουλάκη η λαχανάδης): Ανασκόπηση στη σύσταση και στη χρήση της ως πηγή αντιοξειδωτικών και βιοδραστικών ουσιών,” Αθήνα, Jun. 2021.
- [12] Ζώτου Αναστασία and Στέφου Ελπίς, “Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας σε φυτά της *Portulaca oleracea* που καλλιεργήθηκαν σε συνθήκες σκίασης,” Άρτα, 2019.

- [13] Λάμπρος Π. Σπύρου, *Τα βότανα και οι θεραπευτικές τους ιδιότητες*. Αθήνα: Αγροτικός εκδοτικός οίκος Σπύρος Σπύρου, 1984.
- [14] ΟΛΥΜΠΙΟΣ ΧΡΙΣΤΟΣ, *Η Τεχνική της Καλλιέργειας των Υπαίθριων Κηπευτικών*. UNIBOOKS IKE, 2015.
- [15] M. K. Uddin, A. S. Juraimi, M. S. Hossain, M. A. U. Nahar, M. E. Ali, and M. M. Rahman, "Purslane weed (*Portulaca oleracea*): A prospective plant source of nutrition, omega-3 fatty acid, and antioxidant attributes," *The Scientific World Journal*, vol. 2014. ScientificWorld Ltd., 2014. doi: 10.1155/2014/951019.
- [16] A. Dadkhah, "Allelopathic effect of sugar beet (*Beta vulgaris*) and eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) on seed germination and growth of *Portulaca oleracea*," *Russ Agric Sci*, vol. 39, no. 2, pp. 117–123, Mar. 2013, doi: 10.3103/s1068367413020043.
- [17] B. S. Chauhan and D. E. Johnson, "Seed germination ecology of *Portulaca oleracea* L.: An important weed of rice and upland crops," *Annals of Applied Biology*, vol. 155, no. 1, pp. 61–69, Aug. 2009, doi: 10.1111/j.1744-7348.2009.00320.x.
- [18] S. Petropoulos, A. Karkanis, N. Martins, and I. C. F. R. Ferreira, "Phytochemical composition and bioactive compounds of common purslane (*Portulaca oleracea* L.) as affected by crop management practices," *Trends in Food Science and Technology*, vol. 55. Elsevier Ltd, pp. 1–10, Sep. 01, 2016. doi: 10.1016/j.tifs.2016.06.010.
- [19] G. Y. Poeydomenge and G. P. Savage, "Oxalate content of raw and cooked purslane," 2005. [Online]. Available: [www.world-food.net](http://www.world-food.net)
- [20] Mohamed Ali and Hussein Ahmed, "Chemical composition of purslane (*Portulaca oleracea*)," 1994.
- [21] M. A. Dkhil, A. E. A. Moniem, S. Al-Quraishy, and R. A. Saleh, "Antioxidant effect of purslane (*Portulaca oleracea*) and its mechanism of action," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 5, no. 9, pp. 1589–1563, 2011, [Online]. Available: <http://www.academicjournals.org/JMPR>
- [22] M. Iranshahy *et al.*, "A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Portulaca oleracea* L.," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 205. Elsevier Ireland Ltd, pp. 158–172, Jun. 09, 2017. doi: 10.1016/j.jep.2017.05.004.
- [23] Tessa A. Osbaldeston, "Dioscorides. De materia medica," *IBIDIS press*, pp. 272–275, 2000.
- [24] Mayanagi Makoto and Translated by Sumiyo Umekawa, "The three juan edition of Bencao jizhu." <https://square.umin.ac.jp/mayanagi/paper01/Bencao%20jizhu.html> (accessed Apr. 07, 2023).
- [25] A. P. Simopoulos, "The traditional diet of Greece and cancer," in *European Journal of Cancer Prevention*, Jun. 2004, pp. 219–230. doi: 10.1097/01.cej.0000130011.99148.07.
- [26] M. Bachar, L. Zidane, and A. Rochdi, "Ethno-medicinal and traditional Phytotherapy of plants used in Bouhachem Natural Regional Park 'Rif of Morocco'-case of

- Tazroute district-Plantes Médicinales et Phytothérapie Traditionnelle utilisées au niveau du Parc Naturel Régional de Bouhachem «Rif du Maroc»-cas de la commune rurale de Tazroute,” *Bachar et al. J. Mater. Environ. Sci*, vol. 7, no. 11, pp. 4175–4204, 2016.
- [27] Elsie Belcheff, *The Wonders of Purslane: A Medical Intuitive Reveals Answers to Many Illnesses*. Polished Publishing Group, 2012.
- [28] K. M. Nadkarni, *Indian Materia Medica*, Revised Edition. Bombay Popular Prakashan, 2019.
- [29] J.-H. Bae, “Antimicrobial Effect of *Portulaca oleracea* Extracts on Food-Borne Pathogens,” *J Food Science and Nutrition*, p. 306, 2004.
- [30] D. Ja, D. Na, L. Kd, and B. Ss, “Preliminary Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of Some Weeds collected from Marathwada Region,” 2011. [Online]. Available: [www.ficuspress.comwww.jresearchbiology.comhttp://jresearchbiology.com/](http://www.ficuspress.comwww.jresearchbiology.comhttp://jresearchbiology.com/)
- [31] A. Kumar, S. Sreedharan, A. K. Kashyap, P. Singh, and N. Ramchiary, “A review on bioactive phytochemicals and ethnopharmacological potential of purslane (*Portulaca oleracea* L.),” *Heliyon*, vol. 8, no. 1. Elsevier Ltd, Jan. 01, 2022. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e08669.
- [32] Mohammad Taher Boroushaki, Mohammad Hosein Boskabady, and Farhad Malek, “Antitussive effect of *Portulaca oleracea* L. in guinea pigs,” *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 3, pp. 187–190, 2004.
- [33] M. R. Aslani, M. H. Boskabady, M. H. Boskabady, M. T. Broushaki, M. R. Aslani, and M. H. Boskabady, “Relaxant effect of *Portulaca oleracea* on guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s) of action,” 2004. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/272484774>
- [34] SD Sanja, NR Sheth, NK Patel, Dhavel Patel, and Biraju Patel, “Characterization and evaluation of antioxidant activity of *Portulaca oleracea*,” *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, vol. 1, no. 1, pp. 74–84, 1009.
- [35] A. S. H. Abd El-Azime, E. M. Hussein, and O. M. Ashry, “Synergistic effect of aqueous purslane (*Portulaca oleracea* L.) extract and fish oil on radiation-induced damage in rats,” *Int J Radiat Biol*, vol. 90, no. 12, pp. 1184–1190, Dec. 2014, doi: 10.3109/09553002.2014.926040.
- [36] Vunta PRABHAKARAN, Bagepalli Srinivas ASHOK KUMAR, Devangam SHESHADRI SHEKAR, Rudrappa NANDEESH, Peta SUBRAMANYAM, and Divati RANGANAYAKULU, “Evaluation of the hepatoprotective activity of *Portulaca oleracea* L. on D-galactosamine-induced hepatic injury in rats,” *Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat*, vol. 9, pp. 199–205, 2010, [Online]. Available: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85615232006>
- [37] M.H. Ahmida ., “ Evaluation of in vivo antioxidant and hepatoprotective activity of *Portulaca oleracea* L. against paracetamol-induced.,” *Am J Pharmacol Toxicol*, vol. 5, no. 4, pp. 167–176, 2010.

- [38] E. S. Elkhayat, S. R. M. Ibrahim, and M. A. Aziz, "Portulene, a new diterpene from *Portulaca oleracea* L.," *J Asian Nat Prod Res*, vol. 10, no. 11, pp. 1039–1043, Nov. 2008, doi: 10.1080/10286020802320590.
- [39] W. G. Hozayen, W. Hozayen, M. Bastawy, and H. Elshafeey, "Effects of Aqueous Purslane (*Portulaca Oleracea*) Extract and Fish Oil on Gentamicin Nephrotoxicity in Albino Rats Protective Effect of Zingiber Officinale against CCl<sub>4</sub>-Induced Liver Fibrosis Is Mediated through Downregulating the TGF- $\beta$ 1/Smad3 and NF- $\kappa$ B Pathways View project antioxidant View project Effects of Aqueous Purslane (*Portulaca Oleracea*) Extract and Fish Oil on Gentamicin Nephrotoxicity in Albino Rats." [Online]. Available: <http://www.sciencepub.net/nature>  
<http://www.sciencepub.net/nature>
- [40] G. Karimi *et al.*, "Protective Effect of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Portulaca Oleracea* Against Cisplatin Induced Nephrotoxicity," 2010. [Online]. Available: [www.SID.ir](http://www.SID.ir)
- [41] A. S. Lee *et al.*, "An aqueous extract of *Portulaca oleracea* ameliorates diabetic nephropathy through suppression of renal fibrosis and inflammation in diabetic db/db mice," *American Journal of Chinese Medicine*, vol. 40, no. 3, pp. 495–510, 2012, doi: 10.1142/S0192415X12500383.
- [42] Dong LW, Wang WY, Yue YT, and Li M, "Effects of flavones extracted from *Portulaca oleracea* on ability of hypoxia tolerance in mice and its mechanism," *Journal of Chinese Integrative Medicine*, vol. 3, no. 6, pp. 450–454, 2005.
- [43] W. M. Wang, L. M. Gu, L. M. Dong, X. M. Wang, C. Ling, and M. Li, "Protective effect of *Portulaca oleracea* extracts on hypoxic nerve tissue and its mechanism," 2007.
- [44] W. Wanyin, D. Liwei, J. Lin, X. Hailiang, L. Changquan, and L. Min, "Ethanol extract of *Portulaca oleracea* L. protects against hypoxia-induced neuro damage through modulating endogenous erythropoietin expression," *J Nutr Biochem*, vol. 23, no. 4, pp. 385–391, Apr. 2012, doi: 10.1016/J.JNUTBIO.2010.12.015.
- [45] Z. Hongxing *et al.*, "Neuroprotective effects of purslane herb aqueous extracts against d-galactose induced neurotoxicity," *Chem Biol Interact*, vol. 170, no. 3, pp. 145–152, Dec. 2007, doi: 10.1016/J.CBI.2007.07.009.
- [46] Ahmed E. Abdel Moneim, "Neuronal activities of *Portulaca oleracea* in adult rats," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 6, no. 16, Apr. 2012, doi: 10.5897/jmpr11.1616.
- [47] A. E. Abdel Moneim, M. A. Dkhil, and S. Al-Quraishy, "The potential role of *Portulaca oleracea* as a neuroprotective agent in rotenone-induced neurotoxicity and apoptosis in the brain of rats," *Pestic Biochem Physiol*, vol. 105, no. 3, pp. 203–212, Mar. 2013, doi: 10.1016/J.PESTBP.2013.02.004.
- [48] O. Parry, J. A. Marks, and F. K. Okwuasaba, "The skeletal muscle relaxant action of *Portulaca oleracea*: role of potassium ions," *J Ethnopharmacol*, vol. 40, no. 3, pp. 187–194, Dec. 1993, doi: 10.1016/0378-8741(93)90067-F.

- [49] O. Parry, F. Okwuasaba, and C. Ejike, "Effect of an aqueous extract of *Portulaca oleracea* leaves on smooth muscle and rat blood pressure," *J Ethnopharmacol*, vol. 22, no. 1, pp. 33–44, Jan. 1988, doi: 10.1016/0378-8741(88)90228-0.
- [50] A. S. Lee *et al.*, "Portulaca oleracea ameliorates diabetic vascular inflammation and endothelial dysfunction in db/db mice," *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2012, 2012, doi: 10.1155/2012/741824.
- [51] L. A. A. Barakat and R. H. Mahmoud, "The antiatherogenic, renal protective and immunomodulatory effects of purslane, pumpkin and flax seeds on hypercholesterolemic rats," *N Am J Med Sci*, vol. 3, no. 9, pp. 351–357, Sep. 2011, doi: 10.4297/najms.2011.3351.
- [52] D. Gao, Q. Li, and Y. Fan, "Hypoglycemic effects and mechanisms of *Portulaca oleracea* L. in alloxan-induced diabetic rats," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 4, no. 19, 1996, [Online]. Available: <http://www.academicjournals.org/JMPR>
- [53] F. Gong, F. Li, L. Zhang, J. Li, Z. Zhang, and G. Wang, "Hypoglycemic effects of crude polysaccharide from purslane," *Int J Mol Sci*, vol. 10, no. 3, pp. 880–888, Mar. 2009, doi: 10.3390/ijms10030880.
- [54] A. Sharma, M. Vijayakumar, C. V. Rao, M. K. Unnikrishnan, and G. D. Reddy, "Action of *Portulaca oleracea* against streptozotocin-induced oxidative stress in experimental diabetic rats," *J Complement Integr Med*, vol. 6, no. 1, 2009, doi: 10.2202/1553-3840.1181.
- [55] K. Chan *et al.*, "The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea* L. subsp. *sativa* (Haw.) Celak," *J Ethnopharmacol*, vol. 73, no. 3, pp. 445–451, Dec. 2000, doi: 10.1016/S0378-8741(00)00318-4.
- [56] A. N. Rashed, F. U. Afifi, and A. M. Disi, "Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L. (growing in Jordan) in *Mus musculus* JVI-1," *J Ethnopharmacol*, vol. 88, no. 2–3, pp. 131–136, Oct. 2003, doi: 10.1016/S0378-8741(03)00194-6.
- [57] A. Kumar, A. Sharma, M. Vijayakumar, and C. V Rao, "ANTIULCEROGENIC EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF PORTULACA OLERACEA EXPERIMENTAL STUDY," 2010.
- [58] G. Karimi, H. Hosseinzadeh, and N. Ettehad, "Evaluation of the gastric antiulcerogenic effects of *Portulaca oleracea* L. extracts in mice," *Phytotherapy Research*, vol. 18, no. 6, pp. 484–487, 2004, doi: 10.1002/ptr.1463.
- [59] Londonkar R and Nayaka H.B., "Evaluation of anti implantation and abortifacient properties of *Portulaca oleracea* L. In albino rats," *Int J Pharma Bio Sci*, vol. 2, no. 4, pp. 501–508, 2011.
- [60] H. Nayaka, R. L. Londonkar, and U. M. K, "Evaluation of Potential Antifertility activity of Total Flavonoids, Isolated from *Portulaca oleracea* L on female albino rats."
- [61] M. A. Berezutsky, N. A. Durnova, A. S. Sheremetyewa, U. A. Matvienko, and M. N. Kurchatova, "Experimental Studies of Geroprotective and Anti-Aging Effects of

- Chemical Compounds of *Portulaca oleracea* L. (Review),” *Advances in Gerontology*, vol. 12, no. 2, pp. 122–127, Jun. 2022, doi: 10.1134/S2079057022020047.
- [62] Z. Cheng *et al.*, “LC determination and pharmacokinetic study of the main phenolic components of *Portulaca oleracea* L. extract in rat plasma after oral administration,” *Nat Prod Res*, vol. 26, no. 23, pp. 2247–2250, Dec. 2012, doi: 10.1080/14786419.2011.648193.
- [63] Z. Cheng *et al.*, “HPLC method for the simultaneous determination of four compounds in rat plasma after intravenous administration of *Portulaca oleracea* L. extract,” 2012.
- [64] Y. Meng *et al.*, “The anti-inflammation and pharmacokinetics of a novel alkaloid from *Portulaca oleracea* L.,” *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 68, no. 3, pp. 397–405, Mar. 2016, doi: 10.1111/jphp.12526.
- [65] L. Chen *et al.*, “Pharmacokinetics and biodistribution of aurantiamide and aurantiamide acetate in rats after oral administration of *portulaca oleracea* L. extracts,” *J Agric Food Chem*, vol. 64, no. 17, pp. 3445–3455, May 2016, doi: 10.1021/acs.jafc.6b00470.
- [66] F. Malek, M. H. Boskabady, M. T. Boroushaki, and M. Tohidi, “Bronchodilatory effect of *Portulaca oleracea* in airways of asthmatic patients,” *J Ethnopharmacol*, vol. 93, no. 1, pp. 57–62, Jul. 2004, doi: 10.1016/j.jep.2004.03.015.
- [67] S. A. Besong, M. O. Ezekwe, and E. I. Ezekwe, “Evaluating the effects of freeze-dried supplements of purslane (*Portulaca oleracea*) on blood lipids in hypercholesterolemic adults,” *Int J Nutr Metab*, vol. 3, no. 4, pp. 43–49, 2011.
- [68] J. Wainstein *et al.*, “Purslane extract and glucose homeostasis in adults with type 2 diabetes: A double-blind, placebo-controlled clinical trial of efficacy and safety,” *J Med Food*, vol. 19, no. 2, pp. 133–140, Feb. 2016, doi: 10.1089/jmf.2015.0090.
- [69] S. F. Shobeiri, S. Sharei, A. Heidari, S. Kianbakht, and D. A. Heidari, “*Portulaca oleracea* L. in the Treatment of Patients with Abnormal Uterine Bleeding: A Pilot Clinical Trial,” *Phytother. Res*, vol. 23, pp. 1411–1414, 2009, doi: 10.1002/ptr.
- [70] H. Zhu, Y. Wang, Y. Liu, Y. Xia, and T. Tang, “Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies,” *Food Anal Methods*, vol. 3, no. 2, pp. 90–97, Jun. 2010, doi: 10.1007/s12161-009-9091-2.
- [71] J. Yan *et al.*, “Homoisoflavonoids from the medicinal plant *Portulaca oleracea*,” *Phytochemistry*, vol. 80, pp. 37–41, Aug. 2012, doi: 10.1016/J.PHYTOCHEM.2012.05.014.
- [72] J. Park, J. E. Park, Y. W. Seo, and J. S. Han, “5,7-Dimethoxy-3-(2'-hydroxybenzyl)-4-chromanone inhibits  $\alpha$ -glucosidase in vitro and alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice,” *Eur J Pharmacol*, vol. 863, p. 172683, Nov. 2019, doi: 10.1016/J.EJPBAR.2019.172683.
- [73] V. Siddaiah, C. V. Rao, S. Venkateswarlu, A. V. Krishnaraju, and G. V. Subbaraju, “Synthesis, stereochemical assignments, and biological activities of



- homoisoflavonoids,” *Bioorg Med Chem*, vol. 14, no. 8, pp. 2545–2551, Apr. 2006, doi: 10.1016/J.BMC.2005.11.031.
- [74] L. Xiang, D. Xing, W. Wang, R. Wang, Y. Ding, and L. Du, “Alkaloids from *Portulaca oleracea* L.,” *Phytochemistry*, vol. 66, no. 21, pp. 2595–2601, Nov. 2005, doi: 10.1016/J.PHYTOCHEM.2005.08.011.
- [75] H. Sun *et al.*, “Effect of Oleracein E, a Neuroprotective Tetrahydroisoquinoline, on Rotenone-Induced Parkinson’s Disease Cell and Animal Models,” *ACS Chem Neurosci*, vol. 8, no. 1, pp. 155–164, Jan. 2017, doi: 10.1021/acchemneuro.6b00291.
- [76] J. L. Tian *et al.*, “Two new alkaloids from *Portulaca oleracea* and their cytotoxic activities,” *J Asian Nat Prod Res*, vol. 16, no. 3, pp. 259–264, Mar. 2014, doi: 10.1080/10286020.2013.866948.
- [77] F. Xiu, X. Li, W. Zhang, F. He, X. Ying, and D. Stien, “A new alkaloid from *Portulaca oleracea* L. and its antiacetylcholinesterase activity,” *Nat Prod Res*, vol. 33, no. 18, pp. 2583–2590, Jan. 2019, doi: 10.1080/14786419.2018.1460833.
- [78] T. Y. Jin *et al.*, “Catecholic Isoquinolines from *Portulaca oleracea* and Their Anti-inflammatory and  $\beta$  2 -Adrenergic Receptor Agonist Activity,” *J Nat Prod*, vol. 81, no. 4, pp. 768–777, Apr. 2018, doi: 10.1021/acs.jnatprod.7b00762.
- [79] M. E. Yue, T. F. Jiang, and Y. P. Shi, “Simultaneous determination of noradrenaline and dopamine in *Portulaca oleracea* L. by capillary zone electrophoresis,” *J Sep Sci*, vol. 28, no. 4, pp. 360–364, Mar. 2005, doi: 10.1002/jssc.200400045.
- [80] E. S. Elkhayat, S. R. M. Ibrahim, and M. A. Aziz, “Portulene, a new diterpene from *Portulaca oleracea* L.,” *J Asian Nat Prod Res*, vol. 10, no. 11, pp. 1039–1043, Nov. 2008, doi: 10.1080/10286020802320590.
- [81] V. Dubois, S. Breton, M. Linder, J. Fanni, and M. Parmentier, “Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential,” *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol. 109, no. 7, pp. 710–732, 2007. doi: 10.1002/ejlt.200700040.
- [82] A. Khursheed and V. Jain, “Phytochemical screening, antioxidant, and antimicrobial activity of different *Portulaca oleracea* L. extracts growing in Kashmir Valley,” *J Biochem Technol*, vol. 12, no. 3, pp. 1–8, 2021, [Online]. Available: <https://jbiochemtech.com/SFpNn91fUX://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
- [83] V. L. Singleton, R. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventós, “[14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent,” *Methods Enzymol*, vol. 299, pp. 152–178, Jan. 1999, doi: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- [84] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, “Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity,” *LWT - Food Science and Technology*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, Jan. 1995, doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

- [85] Χριστίνα Κονταρινή, “Κλωνοποίηση, έκφραση των ισοενζύμων της σιρτουίνης και μελέτη αλληλεπίδρασης με βιοδραστικά εκχυλίσματα,” Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Athens, 2020.
- [86] I. F. F. Benzie and J. J. Strain, “The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of ‘Antioxidant Power’: The FRAP Assay,” *Anal Biochem*, vol. 239, no. 1, pp. 70–76, Jul. 1996, doi: 10.1006/ABIO.1996.0292.
- [87] Αικατερίνη Μηνιώτη, “Ανάπτυξη νέων μεθόδων προσδιορισμού ολική αντιοξειδωτικής ενεργότητας και εφαρμογή στο ελαιόλαδο,” Διδακτορική Διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 2009.
- [88] R. E. Wrolstad, R. W. Durst, and J. Lee, “Tracking color and pigment changes in anthocyanin products,” *Trends Food Sci Technol*, vol. 16, no. 9, pp. 423–428, Sep. 2005, doi: 10.1016/J.TIFS.2005.03.019.
- [89] Lincoln Taiz and Eduardo Zeiger, *Φυσιολογία Φυτών*, 5th ed. Utopia, 2012.